(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 113543807 A
(43)申请公布日 2021.10.22

(21)申请号 202080018799.0

(22)申请日 2020.01.03

(30)优先权数据
62/788,497 2019.01.04 US
62/803,893 2019.02.11 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2021.09.03

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2020/012162 2020.01.03

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2020/142672 EN 2020.07.09

(71)申请人 马伦戈治疗公司
地址 美国马萨诸塞州

(72)发明人 A·洛 史蒂芬·阿尔金斯塔尔

(74)专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司 11262
代理人 贺淑东

(51)Int.Cl.
A61K 39/395(2006.01)
C07K 16/28(2006.01)
C07K 16/30(2006.01)
C07K 14/435(2006.01)
C07K 16/46(2006.01)
A61K 47/68(2006.01)
A61P 35/02(2006.01)

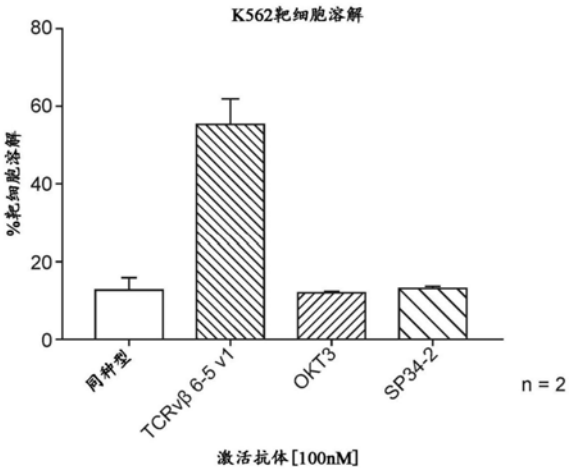
权利要求书14页 说明书207页 附图204页

(54)发明名称

抗TCR抗体分子及其用途

(57)摘要

本公开内容提供了离体扩增T细胞的方法，包括使T细胞接触与TCR Vβ区结合的抗体分子。在一些实施方案中，T细胞包括编码外源性细胞受体例如嵌合抗原受体(CAR)或外源性T细胞受体(TCR)的一个或多个核酸分子。



CN 113543807 A

1.一种离体扩增T细胞的方法,包括使多个T细胞与第一药剂接触,从而产生第一T细胞群,其中所述第一药剂包括与T细胞受体可变β链(TCRβV)区特异性结合的第一域。

2.如权利要求1所述的方法,其中所述第一药剂进一步包括第二域,所述第二域与在所述多个T细胞的T细胞群的表面上表达的蛋白质结合。

3.如权利要求2所述的方法,其中所述第一药剂是双特异性抗体分子。

4.如权利要求2或3所述的方法,其中所述第二域与T细胞受体可变β链(TCRβV)区特异性结合。

5.如权利要求4所述的方法,其中所述第二域和所述第一域与不同的T细胞受体可变β链(TCRβV)区特异性结合。

6.如权利要求4或5所述的方法,其中所述第二域和所述第一域与属于不同亚家族的TCRβV或相同TCRβV亚家族的不同成员特异性结合。

7.如权利要求4-6中任一项所述的方法,其中所述第一域与属于以下亚家族的TCRβV的TCRβV区特异性结合:TCRβV6亚家族、TCRβV10亚家族、TCRβV12亚家族、TCRβV5亚家族、TCRβV7亚家族、TCRβV11亚家族、TCRβV14亚家族、TCRβV16亚家族、TCRβV18亚家族、TCRβV9亚家族、TCRβV13亚家族、TCRβV4亚家族、TCRβV3亚家族、TCRβV2亚家族、TCRβV15亚家族、TCRβV30亚家族、TCRβV19亚家族、TCRβV27亚家族、TCRβV28亚家族、TCRβV24亚家族、TCRβV20亚家族、TCRβV25亚家族或TCRβV29亚家族,并且所述第二域与属于以下亚家族的TCRβV的TCRβV区特异性结合:TCRβV6亚家族、TCRβV10亚家族、TCRβV12亚家族、TCRβV5亚家族、TCRβV7亚家族、TCRβV11亚家族、TCRβV14亚家族、TCRβV16亚家族、TCRβV18亚家族、TCRβV9亚家族、TCRβV13亚家族、TCRβV4亚家族、TCRβV3亚家族、TCRβV2亚家族、TCRβV15亚家族、TCRβV30亚家族、TCRβV19亚家族、TCRβV27亚家族、TCRβV28亚家族、TCRβV24亚家族、TCRβV20亚家族、TCRβV25亚家族或TCRβV29亚家族。

8.如权利要求7所述的方法,其中所述第一域与属于TCRβV12亚家族的TCRβV的TCRβV区特异性结合。

9.如权利要求7或8所述的方法,其中所述第二域和所述第一域与属于不同亚家族的TCRβV特异性结合。

10.如权利要求7或8所述的方法,其中所述第二域和所述第一域与相同TCRβV亚家族的不同成员特异性结合。

11.如权利要求2或3所述的方法,其中所述第二域与抗体分子特异性结合。

12.如权利要求11所述的方法,其中所述抗体分子由所述多个T细胞的T细胞群表达。

13.如权利要求11或12所述的方法,其中所述抗体分子包括可变重链和可变轻链。

14.如权利要求11-13中任一项所述的方法,其中所述抗体分子是scFv或Fab。

15.如权利要求11-14所述的方法,其中所述第二域与所述抗体分子的轻链区特异性结合。

16.如权利要求11-15中任一项所述的方法,其中所述第二域与抗体分子的κ轻链区特异性结合。

17.如权利要求16所述的方法,其中所述第二域包括蛋白质L。

18.如权利要求1-17中任一项所述的方法,其中所述第一药剂与属于不同亚家族的至少两种TCRβV特异性结合。

19.如权利要求18所述的方法，其中所述第一药剂与属于不同亚家族的至少三种、四种、五种或六种TCRβV特异性结合。

20.如权利要求1-19中任一项所述的方法，其中所述第一药剂与相同TCRβV亚家族的至少两个不同成员特异性结合。

21.如权利要求20所述的方法，其中所述第一药剂与相同TCRβV亚家族的至少三个、四个、五个、六个或七个不同成员特异性结合。

22.如权利要求1-21中任一项所述的方法，进一步包括使所述多个T细胞与第二药剂接触，其中所述第二药剂包括与T细胞受体可变β链(TCRβV)区特异性结合的域，其中所述第一药剂和所述第二药剂与不同的TCRβV区特异性结合。

23.如权利要求22所述的方法，其中所述第一药剂包括与第一TCRβV的TCRβV区特异性结合的域，并且所述第二药剂包括与第二TCRβV的TCRβV区特异性结合的域，其中所述第一TCRβV和所述第二TCRβV属于不同的TCRβV亚家族或是相同TCRβV亚家族的不同成员。

24.如权利要求22或23所述的方法，其中所述第一域与属于以下亚家族的TCRβV的TCRβV区特异性结合：TCRβV6亚家族、TCRβV10亚家族、TCRβV12亚家族、TCRβV5亚家族、TCRβV7亚家族、TCRβV11亚家族、TCRβV14亚家族、TCRβV16亚家族、TCRβV18亚家族、TCRβV9亚家族、TCRβV13亚家族、TCRβV4亚家族、TCRβV3亚家族、TCRβV2亚家族、TCRβV15亚家族、TCRβV30亚家族、TCRβV19亚家族、TCRβV27亚家族、TCRβV28亚家族、TCRβV24亚家族、TCRβV20亚家族、TCRβV25亚家族或TCRβV29亚家族，并且所述第二域与属于以下亚家族的TCRβV的TCRβV区特异性结合：TCRβV6亚家族、TCRβV10亚家族、TCRβV12亚家族、TCRβV5亚家族、TCRβV7亚家族、TCRβV11亚家族、TCRβV14亚家族、TCRβV16亚家族、TCRβV18亚家族、TCRβV9亚家族、TCRβV13亚家族、TCRβV4亚家族、TCRβV3亚家族、TCRβV2亚家族、TCRβV15亚家族、TCRβV30亚家族、TCRβV19亚家族、TCRβV27亚家族、TCRβV28亚家族、TCRβV24亚家族、TCRβV20亚家族、TCRβV25亚家族或TCRβV29亚家族。

25.如权利要求24所述的方法，其中所述第一药剂包括与属于TCRβV12亚家族的第一TCRβV的TCRβV区特异性结合的域。

26.如权利要求22-25中任一项所述的方法，其中所述第一药剂和所述第二药剂各自与属于不同亚家族的TCRβV特异性结合。

27.如权利要求22-25中任一项所述的方法，其中所述第一药剂和所述第二药剂各自与相同TCRβV亚家族的不同成员特异性结合。

28.一种离体扩增T细胞的方法，包括使多个T细胞与多种药剂接触，从而产生第一T细胞群，其中所述多种药剂包括至少第一药剂和第二药剂，其中所述多种药剂中的每种药剂包括与不同的T细胞受体可变β链(TCRβV)区特异性结合的域。

29.如权利要求28所述的方法，其中所述第一药剂或所述第二药剂或两者与属于不同亚家族的至少两种TCRβV特异性结合。

30.如权利要求29所述的方法，其中所述第一药剂或所述第二药剂或两者与属于不同亚家族的至少三种、四种、五种或六种TCRβV特异性结合。

31.如权利要求28所述的方法，其中所述第一药剂或所述第二药剂或两者与相同TCRβV亚家族的至少两个不同成员特异性结合。

32.如权利要求31所述的方法，其中所述第一药剂或所述第二药剂或两者与相同TCRβV

亚家族的至少三个、四个、五个、六个或七个不同成员特异性结合。

33.如权利要求28-32中任一项所述的方法，其中所述多种药剂包括至少三种、四种、五种、六种、七种、八种、九种或十种药剂，其中所述多种药剂中的每一种药剂包括与不同的T细胞受体可变β链(TCRβV)区特异性结合的域。

34.如权利要求28-33中任一项所述的方法，其中所述多种药剂中的每一种药剂与不同TCRβV特异性结合，其中每种TCRβV属于不同TCRβV亚家族或是相同TCRβV亚家族的不同成员。

35.如权利要求28-34中任一项所述的方法，其中所述多种药剂中的每一种药剂包括与属于以下亚家族的TCRβV的TCRβV区特异性结合的域：TCRβV6亚家族、TCRβV10亚家族、TCRβV12亚家族、TCRβV5亚家族、TCRβV7亚家族、TCRβV11亚家族、TCRβV14亚家族、TCRβV16亚家族、TCRβV18亚家族、TCRβV9亚家族、TCRβV13亚家族、TCRβV4亚家族、TCRβV3亚家族、TCRβV2亚家族、TCRβV15亚家族、TCRβV30亚家族、TCRβV19亚家族、TCRβV27亚家族、TCRβV28亚家族、TCRβV24亚家族、TCRβV20亚家族、CRβV25亚家族或TCRβV29亚家族。

36.如权利要求28-35中任一项所述的方法，其中所述多种药剂中的至少一种药剂包括与属于TCRβV12亚家族的TCRβV的TCRβV区特异性结合的域。

37.如权利要求34所述的方法，其中所述多种药剂中的每种药剂与不同TCRβV特异性结合，其中每种TCRβV属于不同TCRβV亚家族。

38.如权利要求34所述的方法，其中所述多种药剂中的每一种药剂与不同TCRβV特异性结合，其中每种TCRβV是相同TCRβV亚家族的不同成员。

39.如任意前述权利要求所述的方法，其中所述第一T细胞群表现出以下至少一项(例如，至少2、3、4、5、6、7或8项)：

(i)IL-1β表达的水平较低，

(ii)IL-6表达的水平较低，

(iii)TNFα表达的水平较低，

(iv)TNFγ表达的水平较低，

(v)IL-10表达的水平较低，

(vi)IL-17表达的水平较低，

(vii)IL-2表达的水平较高或者

(viii)IL-15表达的水平较高，

以上是相对于接触过包括特异性结合CD3ε的域的药剂(例如，抗CD3ε抗体)的可比T细胞群。

40.如权利要求39所述的方法，其中表达通过确定从所述T细胞群分泌的蛋白质的水平来测量，如通过本文所述的测定所测量的。

41.如权利要求39或40所述的方法，其中所述IL-1β表达的水平比接触过包括特异性结合CD3ε的域的药剂的可比T细胞群所表达的水平低至少5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％或75％，如通过本文所述的测定所测量的。

42.如权利要求39-41中任一项所述的方法，其中所述IL-6表达的水平比接触过包括特异性结合CD3ε的域的药剂的可比T细胞群所表达的水平低至少5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％或75％，如通过本文所述的测定所测量

的。

43.如权利要求39-42中任一项所述的方法，其中所述IL-10表达的水平比接触过包括特异性结合CD3ε的域的药剂的可比T细胞群所表达的水平低至少5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％或75％，如通过本文所述的测定所测量的。

44.如权利要求39-43中任一项所述的方法，其中所述IL-17表达的水平比接触过包括特异性结合CD3ε的域的药剂的可比T细胞群所表达的水平低至少5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％或75％，如通过本文所述的测定所测量的。

45.如权利要求39-44中任一项所述的方法，其中所述IFN-γ表达的水平比接触过包括特异性结合CD3ε的域的药剂的可比T细胞群所表达的水平低至少5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％或75％，如通过本文所述的测定所测量的。

46.如权利要求39-45中任一项所述的方法，其中所述IFN-α表达的水平比接触过包括特异性结合CD3ε的域的药剂的可比T细胞群所表达的水平低至少5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％或75％，如通过本文所述的测定所测量的。

47.如权利要求39-46中任一项所述的方法，其中所述IL-15表达的水平比接触过包括特异性结合CD3ε的域的药剂的可比T细胞群所表达的水平高至少5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％或75％，如通过本文所述的测定所测量的。

48.如权利要求39-47中任一项所述的方法，其中所述IL-2表达的水平比接触过包括特异性结合CD3ε的域的药剂的可比T细胞群所表达的水平高至少5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％或75％，如通过本文所述的测定所测量的。

49.如任意前述权利要求所述的方法，其中所述第一T细胞群中的T细胞数目比所述多个T细胞中的T细胞数目高至少约10倍(例如，高至少50、100、500、1000或10000倍)。

50.如任意前述权利要求所述的方法，其中所述第一T细胞群中表达CD45R、表达CD95并表现出低CCR7表达或不可检测到CCR7表达的T细胞的数目比接触过包括特异性结合CD3ε的域的药剂(例如，抗CD3ε抗体)的可比群中表达CD45R、表达CD95并表现出低CCR7表达或不可检测到CCR7表达的T细胞的数目更高。

51.如权利要求50所述的方法，其中所述第一群中表达CD45R、表达CD95并表现出低CCR7表达或不可检测到CCR7表达的T细胞的数目比接触过包括特异性结合CD3ε的域的药剂(例如，抗CD3抗体)的可比群中表达CD45R、表达CD95并表现出低CCR7表达或不可检测到CCR7表达的T细胞的数目高至少2、3、4、5、10、15、20、50、100、500或1000倍。

52.如权利要求50或51所述的方法，其中所述CD45R、CD95和CCR7的表达通过确定所述细胞的表面上的蛋白质水平来测量(例如，如通过流式细胞术所测量的)。

53.如任意前述权利要求所述的方法，其中所述第一群中TEMRA T细胞的数目比接触过包括特异性结合CD3ε的域的药剂(例如，抗CD3ε抗体)的可比T细胞群中TEMRA T细胞的数目

更高。

54.如权利要求53所述的方法，其中所述第一群中TEMRA T细胞的数目比接触过包括特异性结合CD3ε的域的药剂(例如，抗CD3ε抗体)的可比T细胞群中TEMRA T细胞的数目高至少2、3、4、5、10、15、20、50、100、500或1000倍。

55.如任意前述权利要求所述的方法，其中所述接触包括将所述多个T细胞与所述第一药剂一起温育。

56.如任意前述权利要求所述的方法，其中接触包括将所述多个T细胞与所述第一药剂一起温育或培养至少约10分钟、20分钟、30分钟、1小时、6小时、10小时、12小时、24小时、36小时、48小时、72小时、5天、7天、10天、14天、15天或30天。

57.如任意前述权利要求所述的方法，其中接触包括将所述多个T细胞与所述第一药剂一起温育或培养至多约10分钟、20分钟、30分钟、1小时、6小时、10小时、12小时、24小时、36小时、48小时、72小时、5天、7天、10天、12天、14天、15天、21天、30天、45天或60天。

58.如任意前述权利要求所述的方法，其中接触包括将所述多个T细胞与所述第一药剂一起温育或培养约10-90分钟、10-60分钟、10-30分钟、1-30天、1-21天、1-14天、1-7天、1-5天、1-3天、21-30天、14-30天、7-30天、5-30天或3-30天。

59.如任意前述权利要求所述的方法，其中所述第一药剂偶联至固体表面(例如，珠粒、细胞培养板)。

60.如权利要求59所述的方法，其中所述偶联实现被所述第一药剂特异性结合的所述多个T细胞表面上的TCR的交联。

61.如任意前述权利要求所述的方法，其中所述第一药剂包括抗体域。

62.如任意前述权利要求所述的方法，其中所述第一药剂包括抗独特型抗体域。

63.如权利要求1-62中任一项所述的方法，其中所述第一药剂包括人抗体域或人源化抗体域。

64.如任意前述权利要求所述的方法，其中所述第一药剂包括包含单链Fv(scFv)或Fab的抗原结合域。

65.如任意前述权利要求所述的方法，其中所述第一药剂包括：包含两条抗体重链和两条抗体轻链的抗体，所述两条重链中的每一条包括可变区和恒定区，所述两条轻链中的每一条包括可变区和恒定区。

66.如任意前述权利要求所述的方法，其中所述多个T细胞包括包含外源性核酸的T细胞群。

67.如权利要求66所述的方法，其中所述外源性核酸编码细胞表面受体。

68.如权利要求67所述的方法，其中所述细胞表面受体是嵌合抗原受体(CAR)或T细胞受体(TCR)。

69.如任意前述权利要求所述的方法，进一步包括在使所述多个T细胞与所述第一药剂接触之前，将外源性核酸引入所述多个T细胞的至少一部分T细胞中。

70.如任意前述权利要求所述的方法，进一步包括在使所述多个T细胞与所述第一药剂接触之后，将外源性核酸引入所述多个T细胞的至少一部分T细胞中。

71.如权利要求66-70中任一项所述的方法，其中所述外源性核酸通过转导或转染而引入。

72.如任意前述权利要求所述的方法,其中所述多个T细胞是人类的。

73.如任意前述权利要求所述的方法,其中所述多个T细胞包括来自人类受试者的T细胞,当取得所述细胞时,所述人类受试者是健康的(例如,受试者未患有或未诊断出预定的疾病或病况,例如,癌症)。

74.如权利要求1-72中任一项所述的方法,其中所述多个T细胞包括来自人类受试者的T细胞,当取得所述细胞时,所述人类受试者已患有或诊断出疾病或病况(例如,诊断出预定的疾病或病况,例如,癌症)。

75.如权利要求74所述的方法,其中所述疾病是癌症。

76.一种治疗受试者的癌症的方法,所述方法包括施用权利要求1-75中任一项所述的第一细胞群的至少一部分或包括权利要求1-75中任一项所述的第一细胞群的至少一部分的药物组合物。

77.一种治疗受试者的癌症的方法,所述方法包括:从人类受试者取得多个T细胞;通过权利要求1-75中任一项所述的方法扩增来自所述人类受试者的所述多个T细胞的至少一部分,从而产生所述第一T细胞群;向所述人类受试者施用所述第一T细胞群的至少一部分,从而治疗所述受试者的癌症。

78.如权利要求77所述的方法,其中所述多个T细胞表达外源性细胞表面受体。

79.如权利要求78所述的方法,其中所述外源性细胞表面受体是嵌合抗原受体(CAR)或外源性T细胞受体(TCR)。

80.如权利要求77-79中任一项所述的方法,其中所述细胞对被施用所述细胞的受试者而言是自体的或同种异体的。

81.如权利要求77-79中任一项所述的方法,其中所述癌症是实体癌症或血液学癌症。

82.如权利要求81所述的方法,其中所述癌症是实体癌症。

83.如权利要求82所述的方法,其中所述实体癌症是前列腺癌、肺癌、肾癌、胃癌、结肠癌、卵巢癌、膀胱癌、乳腺癌、宫颈癌、食道癌、睾丸癌、肝癌、胰腺癌、直肠癌、甲状腺癌、子宫癌、皮肤癌、肌肉癌、软骨癌、骨癌、内皮癌、上皮癌、真皮癌、基底癌、视网膜癌、皮肤癌或脑癌。

84.如权利要求81所述的方法,其中所述癌症是血液学癌症。

85.如权利要求84所述的方法,其中所述血液学癌症是白血病、淋巴瘤或骨髓瘤。

86.如权利要求84所述的方法,其中所述血液学癌症是B细胞急性淋巴细胞性白血病(B-ALL)、T细胞急性淋巴细胞性白血病(T-ALL)、急性成淋巴细胞性白血病(ALL);慢性髓细胞性白血病(CML)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、B细胞幼淋巴细胞白血病、母细胞性浆细胞样树突细胞肿瘤、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、小细胞型滤泡性淋巴瘤、大细胞型滤泡性淋巴瘤、恶性淋巴增生性病况、MALT淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、多发性骨髓瘤、骨髓增生异常、骨髓增生异常综合征、非霍奇金淋巴瘤、浆母细胞淋巴瘤、浆细胞样树突细胞肿瘤、华氏巨球蛋白血症或白血病前期。

87.一种预防或减轻人类受试者的细胞因子释放综合征(CRS)的方法,所述方法包括:从人类受试者取得多个T细胞;通过权利要求1-73中任一项所述的方法扩增来自所述人类受试者的所述多个T细胞的至少一部分,从而产生所述第一T细胞群;向所述人类受试者施用所述第一T细胞群的至少一部分,其中在所述施用后(例如,在24小时、48小时、72小时、4

天、5天、6天、7天、14天、21天或30天之内)，所述受试者未显示细胞因子释放综合征的症状，或者相对于被施用通过使所述多个T细胞与结合CD3ε的药剂(例如，抗CD3ε抗体)接触来扩增所述T细胞而产生的可比T细胞群的至少一部分的人类受试者，CRS的至少一种症状的严重性降低。

88.如权利要求87所述的方法，其中所述至少一种症状选自表8、表9或表10中所列的症状。

89.如权利要求88所述的方法，其中所述至少一种症状选自噬血细胞性淋巴组织细胞增生症(HLH)、发热、恶心、呕吐、寒战、低血压、心动过速、心律失常、心肌病、急性心力衰竭、虚弱、头痛、皮疹、呼吸困难、脑病、失语、震颤、共济失调、轻偏瘫、麻痹、辨距障碍、癫痫发作、运动无力、意识丧失、幻觉、脑水肿、肝肿大、低纤维蛋白原血症、肝功能衰竭、腹泻、水肿、僵硬、关节痛、肌痛、急性肾功能衰竭、脾肿大、呼吸衰竭、肺水肿、缺氧、毛细血管渗漏综合征、巨噬细胞活化综合征，或呼吸急促。

90.如权利要求87-89中任一项所述的方法，其中在施用所述第一T细胞群的所述至少一部分的1、2、3、4、5、6、7、10、14、21或30天之内，所述受试者未表现出至少一种CRS症状(例如，如本文所述)。

91.如权利要求87-90中任一项所述的方法，其中所述受试者未表现出至少一种4级或5级CRS症状(例如，如本文所述)。

92.如权利要求87-91中任一项所述的方法，其中所述受试者未表现出任何4级或5级CRS症状(例如，如本文所述)。

93.如权利要求87-92中任一项所述的方法，其中在施用所述第一T细胞群的所述至少一部分后(例如，1小时、6小时、12小时、1天、2天、3天、4天、5天、6天、7天、10天、14天、21天、30天)，所述受试者的血清中选自IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、IFNγ、TNFα、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF的一种或多种蛋白质的水平处于被施用所述第一T细胞群的所述至少一部分之前(例如，10分钟、30分钟、1小时、6小时、12小时、24小时、48小时、72小时)的所述受试者的血清中所述一种或多种蛋白质的水平的±20%、±15%、±10%、±9%、±8%、±7%、±6%、±5%、±4%、±3%、±2%或±1%之内。

94.如权利要求87-93中任一项所述的方法，进一步包括基于确定以下至少一项来选择受试者进行权利要求1-75中任一项所述的第一T细胞群的施用：

(a)所述受试者发展出CRS的风险，

(b)如果施用了表达包括CD3ζ信号传导域的CAR的细胞，所述受试者发展出CRS的风险，

(c)所述受试者的CRS诊断，或者

(d)所述受试者的与施用表达包括CD3ζ信号传导域的CAR的细胞相关或由其诱导的CRS的诊断。

95.如权利要求94所述的方法，其中如果有以下情形，选择所述受试者进行施用：

(a)所述受试者存在发展出CRS的风险，

(b)如果施用了包括表达CAR CD3ζ信号传导域的CAR的细胞，所述受试者存在发展出CRS的风险，

(c)所述受试者已经诊断出CRS，或者

(d)所述受试者已经诊断出与施用表达包括CD3ζ信号传导域的CAR的细胞相关或由其

诱导的CRS。

96.如权利要求87-95中任一项所述的方法,其中所述细胞对被施用所述细胞的受试者而言是自体的或同种异体的。

97.如权利要求87-96中任一项所述的方法,其中所述癌症是实体癌症或血液学癌症。

98.如权利要求97所述的方法,其中所述癌症是实体癌症。

99.如权利要求98所述的方法,其中所述实体癌症是前列腺癌、肺癌、肾癌、胃癌、结肠癌、卵巢癌、膀胱癌、乳腺癌、宫颈癌、食道癌、睾丸癌、肝癌、胰腺癌、直肠癌、甲状腺癌、子宫癌、皮肤癌、肌肉癌、软骨癌、骨癌、内皮癌、上皮癌、真皮癌、基底癌、视网膜癌、皮肤癌或脑癌。

100.如权利要求97所述的方法,其中所述癌症是血液学癌症。

101.如权利要求100所述的方法,其中所述血液学癌症是白血病、淋巴瘤或骨髓瘤。

102.如权利要求100所述的方法,其中所述血液学癌症是B细胞急性淋巴细胞性白血病(B-ALL)、T细胞急性淋巴细胞性白血病(T-ALL)、急性成淋巴细胞性白血病(ALL);慢性髓细胞性白血病(CML)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、B细胞幼淋巴细胞白血病、母细胞性浆细胞样树突细胞肿瘤、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、小细胞型滤泡性淋巴瘤、大细胞型滤泡性淋巴瘤、恶性淋巴增生性病况、MALT淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、多发性骨髓瘤、骨髓增生异常、骨髓增生异常综合征、非霍奇金淋巴瘤、浆母细胞淋巴瘤、浆细胞样树突细胞肿瘤、华氏巨球蛋白血症或白血病前期。

103.一种编码嵌合抗原受体(CAR)的重组核酸分子,其中所述CAR包括:

(a)抗原结合域,其中所述抗原结合域不含有T细胞受体α(TCRα)可变区或T细胞受体β(TCRβ)可变区;

(b)跨膜域;和

(c)包括TCRβ恒定区胞内域的胞内信号传导域;其中所述胞内信号传导域不含有功能性CD3ζ信号传导域。

104.一种编码嵌合抗原受体(CAR)的重组核酸,其中所述CAR包括:

(a)抗原结合域,其中所述抗原结合域是单链可变片段(scFv)或单域抗体;

(b)跨膜域;和

(c)包括TCRβ胞内域的胞内信号传导域;其中所述胞内信号传导域不含有功能性CD3ζ信号传导域。

105.如权利要求103或104所述的重组核酸,其中所述嵌合抗原受体(CAR)不含有T细胞受体α(TCRα)可变区或T细胞受体β(TCRβ)可变区。

106.如权利要求103-105中任一项所述的重组核酸,其中所述抗原结合域、跨膜域和胞内信号传导域可操作地连接。

107.如权利要求103-106中任一项所述的重组核酸,其中所述CAR进一步包括TCRβ1恒定域或TCRβ2恒定域。

108.如权利要求103-107中任一项所述的重组核酸,其中所述跨膜域包括TCRβ恒定1域或TCRβ恒定2域。

109.如权利要求103-108中任一项所述的重组核酸,其中所述抗原结合域通过接头连接至所述跨膜域。

110.如权利要求103-109中任一项所述的重组核酸,其中所述TCRβ恒定胞内域包括TCRβ恒定1胞内域或TCRβ恒定2胞内域。

111.如权利要求103-110中任一项所述的重组核酸,其中所述胞内信号传导域进一步包括共刺激信号传导域。

112.如权利要求103-111中任一项所述的重组核酸,其中所述抗原结合域是人或人源化的单链可变片段(scFv)或单域抗体(sdAb)。

113.如权利要求103-112中任一项所述的重组核酸,其中所述抗原结合域与肿瘤相关抗原特异性结合。

114.如权利要求103-113中任一项所述的重组核酸,其中所编码的嵌合抗原受体(CAR)在框中表达并作为单条多肽链表达。

115.一种由权利要求103-114中任一项所述的重组核酸编码的多肽。

116.一种包括权利要求103-114中任一项所述的重组核酸分子的载体。

117.一种制备免疫效应细胞群的方法,包括用权利要求116所述的载体转导多个免疫效应细胞。

118.一种免疫效应细胞群,其中所述免疫效应细胞包括权利要求103-114中任一项所述的重组核酸。

119.如权利要求118所述的免疫效应细胞群,其中所述免疫效应细胞通过权利要求117所述的方法制备。

120.如权利要求118或119所述的免疫效应细胞群,其中在所述CAR的所述抗原结合域与细胞所表达的同源抗原结合后,所述免疫效应细胞群的至少一种促炎细胞因子的表达水平相对于可比免疫效应细胞群的所述至少一种促炎细胞因子的表达水平降低,所述可比免疫效应细胞群包含编码包括CD3ζ胞内信号传导域的CAR的核酸。

121.如权利要求118-120中任一项所述的免疫效应细胞群,其中在所述CAR的所述抗原结合域与细胞所表达的同源抗原结合后,所述免疫效应细胞群的至少一种促炎细胞因子的表达水平相对于可比免疫效应细胞群的所述至少一种促炎细胞因子的表达水平降低1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%,所述可比免疫效应细胞群包含编码包括CD3ζ胞内信号传导域的CAR的核酸。

122.如权利要求118-121中任一项所述的免疫效应细胞群,其中在存在抗原呈递细胞群的情况下,所述CAR的所述抗原结合域与细胞所表达的同源抗原结合后,所述抗原呈递细胞群的至少一种促炎细胞因子的表达水平相对于在存在可比免疫效应细胞群的情况下的可比抗原呈递细胞群的所述至少一种促炎细胞因子的表达水平降低,所述可比免疫效应细胞群包含编码包括CD3ζ胞内信号传导域的CAR的核酸。

123.如权利要求118-122中任一项所述的免疫效应细胞群,其中在存在抗原呈递细胞群的情况下,所述CAR的所述抗原结合域与细胞所表达的同源抗原结合后,所述抗原呈递细胞的至少一种促炎细胞因子的表达水平相对于在存在可比免疫效应细胞群的情况下的可比抗原呈递细胞群的所述至少一种促炎细胞因子的表达水平降低1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%,所述可比免疫效应细胞群包含编码包括CD3ζ胞内信号传导域的

CAR的核酸。

124.如权利要求118-123中任一项所述的免疫效应细胞群，其中所述至少一种促炎细胞因子选自IFNγ、TNFα、IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、IL-17、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF。

125.如权利要求120-121中任一项所述的免疫效应细胞群，其中所述至少一种促炎细胞因子的表达通过确定从所述免疫效应细胞群分泌的所述细胞因子的水平来测量，如通过本文所述的测定所测量的。

126.如权利要求122-123中任一项所述的免疫效应细胞群，其中所述至少一种促炎细胞因子的表达通过确定从所述抗原呈递细胞群分泌的所述细胞因子的水平来测量，如通过本文所述的测定所测量的。

127.如权利要求122、123或126中任一项所述的免疫效应细胞群，其中所述抗原呈递细胞群包括树突细胞、巨噬细胞或单核细胞。

128.一种药物组合物，包括权利要求118-127中任一项所述的免疫效应细胞群的至少一部分。

129.一种治疗受试者的癌症的方法，所述方法包括：向所述受试者施用权利要求118-128中任一项所述的免疫效应细胞群的至少一部分。

130.一种预防或减轻人类受试者的细胞因子释放综合征(CRS)的严重性的方法，所述方法包括：向所述受试者施用权利要求118-128中任一项所述的免疫效应细胞群的至少一部分。

131.如权利要求130所述的方法，其中所述受试者患有癌症。

132.如权利要求129-131中任一项所述的方法，其中在施用所述免疫细胞的1、2、3、4、5、6、7、10、14、21或30天之内，所述受试者未表现出至少一种CRS症状(例如，如本文所述)。

133.如权利要求129-132中任一项所述的方法，其中所述受试者未表现出至少一种4级或5级CRS症状(例如，如本文所述)。

134.如权利要求129-133中任一项所述的方法，其中所述受试者未表现出任何4级或5级CRS症状(例如，如本文所述)。

135.如权利要求129-134中任一项所述的方法，其中在施用所述细胞(例如，细胞群，例如，免疫效应细胞群)后(例如，1小时、6小时、12小时、1天、2天、3天、4天、5天、6天、7天、10天、14天、21天、30天)，所述受试者的血清中选自IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、IFNγ、TNFα、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF的一种或多种蛋白质的水平处于被施用所述免疫细胞之前(例如，10分钟、30分钟、1小时、6小时、12小时、24小时、48小时、72小时)的所述受试者的血清中所述一种或多种蛋白质的水平的±20％、±15％、±10％、±9％、±8％、±7％、±6％、±5％、±4％、±3％、±2％或±1％之内。

136.如权利要求129-135中任一项所述的方法，进一步包括基于确定以下至少一项来选择受试者进行权利要求86-100中任一项所述的免疫细胞的施用：

(a)所述受试者发展出CRS的风险，

(b)如果施用了表达包括CD3ζ信号传导域的CAR的细胞，所述受试者发展出CRS的风险，

(c)所述受试者的CRS诊断，或者

(d)所述受试者的与施用表达包括CD3ζ信号传导域的CAR的细胞相关或由其诱导的CRS

的诊断。

137.如权利要求136所述的方法,其中如果有以下情形,选择所述受试者进行施用:

(a)所述受试者存在发展出CRS的风险,

(b)如果施用了包括表达CAR CD3ζ信号传导域的细胞的CAR,所述受试者存在发展出CRS的风险,

(c)所述受试者已经诊断出CRS,或者

(d)所述受试者已经诊断出与施用表达包括CD3ζ信号传导域的CAR的细胞相关或由其诱导的CRS。

138.如权利要求129-137中任一项所述的方法,其中所述细胞对被施用所述细胞的受试者而言是自体的或同种异体的。

139.如权利要求129-138中任一项所述的方法,其中所述癌症是实体癌症或血液学癌症。

140.如权利要求139所述的方法,其中所述癌症是实体癌症。

141.如权利要求140所述的方法,其中所述实体癌症是前列腺癌、肺癌、肾癌、胃癌、结肠癌、卵巢癌、膀胱癌、乳腺癌、宫颈癌、食道癌、睾丸癌、肝癌、胰腺癌、直肠癌、甲状腺癌、子宫癌、皮肤癌、肌肉癌、软骨癌、骨癌、内皮癌、上皮癌、真皮癌、基底癌、视网膜癌、皮肤癌或脑癌。

142.如权利要求139所述的方法,其中所述癌症是血液学癌症。

143.如权利要求142所述的方法,其中所述血液学癌症是白血病、淋巴瘤或骨髓瘤。

144.如权利要求142所述的方法,其中所述血液学癌症是B细胞急性淋巴细胞性白血病(B-ALL)、T细胞急性淋巴细胞性白血病(T-ALL)、急性成淋巴细胞性白血病(ALL);慢性髓细胞性白血病(CML)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、B细胞幼淋巴细胞白血病、母细胞性浆细胞样树突细胞肿瘤、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、小细胞型滤泡性淋巴瘤、大细胞型滤泡性淋巴瘤、恶性淋巴增生性病况、MALT淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、多发性骨髓瘤、骨髓增生异常、骨髓增生异常综合征、非霍奇金淋巴瘤、浆母细胞淋巴瘤、浆细胞样树突细胞肿瘤、华氏巨球蛋白血症或白血病前期。

145.一种编码外源性T细胞受体(TCR)的重组核酸,其中所述TCR包括:

(a)TCRα链,其包括i)免疫球蛋白可变重域,ii)TCRα跨膜域,和iii)任选包括TCRα胞内域的胞内信号传导域;

(b)TCRβ链,其包括i)免疫球蛋白可变轻域,ii)TCRβ跨膜域,和iii)包括TCRβ胞内域的胞内信号传导域;

其中所述免疫球蛋白可变重域和所述免疫球蛋白可变轻域形成抗原结合域;

其中所述TCR不含有功能性CD3ζ胞内信号传导域;并且

其中所述TCR不包括T细胞受体α(TCRα)可变区或T细胞受体β(TCRβ)可变区。

146.一种编码外源性T细胞受体(TCR)的重组核酸,其中所述TCR包括:

(a)TCRα链,其包括i)免疫球蛋白可变轻域,ii)TCRα跨膜域,和iii)任选包括TCRα胞内域的胞内信号传导域;

(b)TCRβ链,其包括i)免疫球蛋白可变重域,ii)TCRβ跨膜域,和iii)包括TCRβ胞内域的胞内信号传导域;

其中所述免疫球蛋白可变重域和所述免疫球蛋白可变轻域形成抗原结合域;

其中所述TCR不含有功能性CD3ζ胞内信号传导域;并且

其中所述TCR不包括T细胞受体α(TCRα)可变区或T细胞受体β(TCRβ)可变区。

147.如权利要求145或146所述的重组核酸,其中所述TCRα链进一步包括TCRα恒定域。

148.一种编码外源性T细胞受体(TCR)的重组核酸,其中所述TCR包括:

(a)TCRα链,其包括i)抗原结合域(例如,scFv),ii)TCRα可变域,iii)TCRα恒定域,iv)TCRα跨膜域,和v)任选包括TCRα胞内域的胞内信号传导域;

(b)TCRβ链,其包括i)TCRβ可变域,ii)TCRβ恒定域,iii)TCRβ跨膜域,和iv)包括TCRβ胞内域的胞内信号传导域;并且

其中所述TCR不含有功能性CD3ζ胞内信号传导域。

149.一种编码外源性T细胞受体(TCR)的重组核酸,其中所述TCR包括:

(a)TCRα链,其包括i)TCRα可变域,ii)TCRα恒定域,iii)TCRα跨膜域,和iv)任选包括TCRα胞内域的胞内信号传导域;

(b)TCRβ链,其包括i)抗原结合域(例如,scFv),ii)TCRβ可变域,iii)TCRβ恒定域,v)TCRβ跨膜域,和v)包括TCRβ胞内域的胞内信号传导域;并且

其中所述TCR不含有功能性CD3ζ胞内信号传导域。

150.一种由权利要求145-149中任一项所述的重组核酸编码的多肽。

151.一种包括权利要求145-149中任一项所述的重组核酸的载体。

152.一种制备免疫效应细胞群的方法,包括用权利要求151所述的载体转导免疫效应细胞群。

153.一种免疫效应细胞群,其中所述免疫效应细胞包括权利要求145-149中任一项所述的重组核酸。

154.如权利要求153所述的免疫效应细胞群,其中所述免疫效应细胞通过权利要求152所述的方法制备。

155.如权利要求153或154所述的免疫效应细胞群,其中在所述TCR的所述抗原结合域与细胞所表达的同源抗原结合后,所述免疫效应细胞群的至少一种促炎细胞因子的表达水平相对于可比免疫效应细胞群的所述至少一种促炎细胞因子的表达水平降低,所述可比免疫效应细胞群包含编码包括CD3ζ胞内信号传导域的TCR的核酸。

156.如权利要求153-155中任一项所述的免疫效应细胞群,其中在所述TCR的所述抗原结合域与细胞所表达的同源抗原结合后,所述免疫效应细胞群的至少一种促炎细胞因子的表达水平相对于可比免疫效应细胞群的所述至少一种促炎细胞因子的表达水平降低1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%,所述可比免疫效应细胞群包含编码包括CD3ζ胞内信号传导域的TCR的核酸。

157.如权利要求153-156中任一项所述的免疫效应细胞群,其中在存在抗原呈递细胞群的情况下,所述TCR的所述抗原结合域与细胞所表达的同源抗原结合后,所述抗原呈递细胞群的至少一种促炎细胞因子的表达水平相对于在存在可比免疫效应细胞群的情况下的可比抗原呈递细胞群的所述至少一种促炎细胞因子的表达水平降低,所述可比免疫效应细胞群包含编码包括CD3ζ胞内信号传导域的TCR的核酸。

158.如权利要求153-157中任一项所述的免疫效应细胞群，其中在存在抗原呈递细胞群的情况下，所述TCR的所述抗原结合域与细胞所表达的同源抗原结合后，所述抗原呈递细胞的至少一种促炎细胞因子的表达水平相对于在存在可比免疫效应细胞群的情况下的可比抗原呈递细胞群的所述至少一种促炎细胞因子的表达水平降低1％、2％、3％、4％、5％、6％、7％、8％、9％、10％、15％、20％、25％、30％、40％、50％、60％、70％、80％、90％、95％、96％、97％、98％或99％，所述可比免疫效应细胞群包含编码包括CD3ζ胞内信号传导域的TCR的核酸。

159.如权利要求153-158中任一项所述的免疫效应细胞群，其中所述至少一种促炎细胞因子选自IFNγ、TNFα、IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、IL-17、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF。

160.如权利要求155-156中任一项所述的免疫效应细胞群，其中所述至少一种促炎细胞因子的表达通过确定从所述免疫效应细胞群分泌的所述细胞因子的水平来测量，如通过本文所述的测定所测量的。

161.如权利要求157-158中任一项所述的免疫效应细胞群，其中所述至少一种促炎细胞因子的表达通过确定从所述抗原呈递细胞群分泌的所述细胞因子的水平来测量，如通过本文所述的测定所测量的。

162.如权利要求157、158或161中任一项所述的免疫效应细胞群，其中所述抗原呈递细胞群包括树突细胞、巨噬细胞或单核细胞。

163.一种药物组合物，包括权利要求153-162中任一项所述的免疫效应细胞群的至少一部分。

164.一种治疗受试者的癌症的方法，所述方法包括：向所述受试者施用权利要求153-163中任一项所述的免疫效应细胞群的至少一部分。

165.一种预防或减轻人类受试者的细胞因子释放综合征(CRS)的严重性的方法，所述方法包括：向所述受试者施用权利要求153-163中任一项所述的免疫效应细胞群的至少一部分。

166.如权利要求165所述的方法，其中所述受试者患有癌症。

167.如权利要求164-166中任一项所述的方法，其中在施用所述免疫细胞的1、2、3、4、5、6、7、10、14、21或30天之内，所述受试者未表现出至少一种CRS症状(例如，如本文所述)。

168.如权利要求164-167中任一项所述的方法，其中所述受试者未表现出至少一种4级或5级CRS症状(例如，如本文所述)。

169.如权利要求164-168中任一项所述的方法，其中所述受试者未表现出任何4级或5级CRS症状(例如，如本文所述)。

170.如权利要求164-169中任一项所述的方法，其中在施用所述细胞(例如，细胞群，例如，免疫效应细胞群)后(例如，1小时、6小时、12小时、1天、2天、3天、4天、5天、6天、7天、10天、14天、21天、30天)，所述受试者的血清中选自IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、IFNγ、TNFα、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF的一种或多种蛋白质的水平处于被施用所述免疫细胞之前(例如，10分钟、30分钟、1小时、6小时、12小时、24小时、48小时、72小时)的所述受试者的血清中所述一种或多种蛋白质的水平的±20％、±15％、±10％、±9％、±8％、±7％、±6％、±5％、±4％、±3％、±2％或±1％之内。

171.如权利要求164-170中任一项所述的方法，进一步包括基于确定以下至少一项来选择受试者进行权利要求86-100中任一项所述的免疫细胞的施用：

(a)所述受试者发展出CRS的风险，

(b)如果施用了表达包括CD3ζ信号传导域的CAR的细胞，所述受试者发展出CRS的风险，

(c)所述受试者的CRS诊断，或者

(d)所述受试者的与施用表达包括CD3ζ信号传导域的CAR的细胞相关或由其诱导的CRS的诊断。

172.如权利要求171所述的方法，其中如果有以下情形，选择所述受试者进行施用：

(a)所述受试者存在发展出CRS的风险，

(b)如果施用了包括表达CAR CD3ζ信号传导域的细胞的CAR，所述受试者存在发展出CRS的风险，

(c)所述受试者已经诊断出CRS，或者

(d)所述受试者已经诊断出与施用表达包括CD3ζ信号传导域的CAR的细胞相关或由其诱导的CRS。

173.如权利要求164-172中任一项所述的方法，其中所述细胞对被施用所述细胞的受试者而言是自体的或同种异体的。

174.如权利要求164-173中任一项所述的方法，其中所述癌症是实体癌症或血液学癌症。

175.如权利要求174所述的方法，其中所述癌症是实体癌症。

176.如权利要求175所述的方法，其中所述实体癌症是前列腺癌、肺癌、肾癌、胃癌、结肠癌、卵巢癌、膀胱癌、乳腺癌、宫颈癌、食道癌、睾丸癌、肝癌、胰腺癌、直肠癌、甲状腺癌、子宫癌、皮肤癌、肌肉癌、软骨癌、骨癌、内皮癌、上皮癌、真皮癌、基底癌、视网膜癌、皮肤癌或脑癌。

177.如权利要求174所述的方法，其中所述癌症是血液学癌症。

178.如权利要求177所述的方法，其中所述血液学癌症是白血病、淋巴瘤或骨髓瘤。

179.如权利要求177所述的方法，其中所述血液学癌症是B细胞急性淋巴细胞性白血病(B-ALL)、T细胞急性淋巴细胞性白血病(T-ALL)、急性成淋巴细胞性白血病(ALL)；慢性髓细胞性白血病(CML)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、B细胞幼淋巴细胞白血病、母细胞性浆细胞样树突细胞肿瘤、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、小细胞型滤泡性淋巴瘤、大细胞型滤泡性淋巴瘤、恶性淋巴增生性病况、MALT淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、多发性骨髓瘤、骨髓增生异常、骨髓增生异常综合征、非霍奇金淋巴瘤、浆母细胞淋巴瘤、浆细胞样树突细胞肿瘤、华氏巨球蛋白血症或白血病前期。

抗TCR抗体分子及其用途

相关申请

[0001] 本申请要求于2019年1月4日提交的美国临时专利申请号62/788,497和于2019年2月11日提交的美国临时专利申请号62/803,893的权益,其各自的公开内容通过引用整体并入于此。

背景技术

[0002] 目前设计成离体激活和扩增编码外源性受体的T细胞(例如,CAR T细胞、表达外源性TCR的T细胞)以用于癌症免疫疗法的分子通常仅靶向T细胞受体(TCR)的CD3伊普西龙(CD3ε)亚基或者同时还靶向共刺激受体CD28。但是,这种方法存在局限性。先前的研究表明,使用这些抗CD3ε靶向分子可能产生T细胞,这些T细胞在注入受试者时会产生或刺激其他细胞产生与炎性病况相关的促炎细胞因子(例如,IL-1、IL-6和TNFα),该炎性病况是例如细胞因子释放综合征(CRS)、巨噬细胞活化综合征、神经毒性和肿瘤溶解综合征。因此,目前需要开发另外的离体激活和扩增T细胞且不会对患者造成这些重大风险的方法。

发明内容

[0003] 本公开内容至少部分基于以下超预期的发现:T细胞可以使用抗-TCR Vβ抗体离体激活和扩增;以及这些T细胞在体内显著降低与细胞因子释放综合征(CRS)、巨噬细胞活化综合征、神经毒性和肿瘤溶解综合征的诱导相关的促炎细胞因子如IFNγ、IL-10、IL-17A、IL-1α、IL-1β、IL-2、IL-6和TNFα的水平,同时还分泌更高或相似水平的IL-2。

[0004] 本文特别公开了使用针对TCR的β亚基的可变链(TCRβV)的抗体离体扩增T细胞的方法。在一些实施方案中,本文所述的方法导致与细胞因子释放综合征(CRS)相关的细胞因子例如IL-6、IL-1β和TNFα的产生减少或不产生;以及IL-2和IFNγ的产生增加和/或延迟。在一些实施方案中,本文所述的方法限制CRS例如与抗CD3e靶向相关的CRS的不良副作用。

[0005] 因此,在一方面,本文提供了离体扩增T细胞的方法,包括使多个T细胞与第一药剂接触,从而产生第一T细胞群,其中所述第一药剂包括与T细胞受体可变β链(TCRβV)区特异性结合的第一域。

[0006] 在一些实施方案中,所述第一药剂进一步包括第二域,所述第二域与在所述多个T细胞的T细胞群的表面上表达的蛋白质结合。

[0007] 在一些实施方案中,所述第一药剂是双特异性抗体分子。

[0008] 在一些实施方案中,所述第二域与T细胞受体可变β链(TCRβV)区特异性结合。

[0009] 在一些实施方案中,所述第二域和所述第一域与不同的T细胞受体可变β链(TCRβV)区特异性结合。

[0010] 在一些实施方案中,所述第二域和所述第一域与属于不同亚家族的TCRβV或相同TCRβV亚家族的不同成员特异性结合。

[0011] 在一些实施方案中,所述第一域与属于以下亚家族的TCRβV的TCRβV区特异性结合:TCRβV6亚家族、TCRβV10亚家族、TCRβV12亚家族、TCRβV5亚家族、TCRβV7亚家族、TCRβV11

亚家族、TCRβV14亚家族、TCRβV16亚家族、TCRβV18亚家族、TCRβV9亚家族、TCRβV13亚家族、TCRβV4亚家族、TCRβV3亚家族、TCRβV2亚家族、TCRβV15亚家族、TCRβV30亚家族、TCRβV19亚家族、TCRβV27亚家族、TCRβV28亚家族、TCRβV24亚家族、TCRβV20亚家族、TCRβV25亚家族或TCRβV29亚家族，并且所述第二域与属于以下亚家族的TCRβV的TCRβV区特异性结合：TCRβV6亚家族、TCRβV10亚家族、TCRβV12亚家族、TCRβV5亚家族、TCRβV7亚家族、TCRβV11亚家族、TCRβV14亚家族、TCRβV16亚家族、TCRβV18亚家族、TCRβV9亚家族、TCRβV13亚家族、TCRβV4亚家族、TCRβV3亚家族、TCRβV2亚家族、TCRβV15亚家族、TCRβV30亚家族、TCRβV19亚家族、TCRβV27亚家族、TCRβV28亚家族、TCRβV24亚家族、TCRβV20亚家族、TCRβV25亚家族或TCRβV29亚家族。

[0012] 在一些实施方案中，所述第一域与属于TCRβV12亚家族的TCRβV的TCRβV区特异性结合。

[0013] 在一些实施方案中，所述第二域和所述第一域与属于不同亚家族的TCRβV特异性结合。

[0014] 在一些实施方案中，所述第二域和所述第一域与相同TCRβV亚家族的不同成员特异性结合。

[0015] 在一些实施方案中，所述第二域与抗体分子特异性结合。在一些实施方案中，所述抗体分子由所述多个T细胞的T细胞群表达。在一些实施方案中，所述抗体分子包括可变重链和可变轻链。在一些实施方案中，所述抗体分子是scFv或Fab。

[0016] 在一些实施方案中，所述第二域与所述抗体分子的轻链区特异性结合。在一些实施方案中，所述第二域与抗体分子的κ轻链区特异性结合。在一些实施方案中，所述第二域包括蛋白质L。

[0017] 在一些实施方案中，所述第一域包括表2、表3、表4或表5中所述的抗体的LC CDR1、LC CDR2、LC CDR、HC CDR1、HC CDR 2和HC CDR 3。在一些实施方案中，所述第一域包括表2、表3、表4或表5中公开的抗体的VH链序列和VL链序列。

[0018] 在一些实施方案中，所述第一药剂包括表2、表3、表4或表5中所述的抗体的LC CDR1、LC CDR2、LC CDR、HC CDR1、HC CDR 2和HC CDR 3。在一些实施方案中，所述第一药剂包括表2、表3、表4或表5中公开的抗体的VH链序列和VL链序列。

[0019] 在一些实施方案中，所述第一药剂与属于不同亚家族的至少两种TCRβV特异性结合。

[0020] 在一些实施方案中，所述第一药剂与属于不同亚家族的至少三种、四种、五种或六种TCRβV特异性结合。

[0021] 在一些实施方案中，所述第一药剂与相同TCRβV亚家族的至少两个不同成员特异性结合。

[0022] 在一些实施方案中，所述第一药剂与相同TCRβV亚家族的至少三个、四个、五个、六个或七个不同成员特异性结合。

[0023] 在一些实施方案中，所述方法进一步包括使所述多个T细胞与第二药剂接触，其中所述第二药剂包括与T细胞受体可变β链(TCRβV)区特异性结合的域，其中所述第一药剂和所述第二药剂与不同的TCRβV区特异性结合。

[0024] 在一些实施方案中，所述第一药剂包括与第一TCRβV的TCRβV区特异性结合的域，

并且所述第二药剂包括与第二TCRβV的TCRβV区特异性结合的域，其中所述第一TCRβV和所述第二TCRβV属于不同的TCRβV亚家族或是相同TCRβV亚家族的不同成员。

[0025] 在一些实施方案中，所述第一域与属于以下亚家族的TCRβV的TCRβV区特异性结合：TCRβV6亚家族、TCRβV10亚家族、TCRβV12亚家族、TCRβV5亚家族、TCRβV7亚家族、TCRβV11亚家族、TCRβV14亚家族、TCRβV16亚家族、TCRβV18亚家族、TCRβV9亚家族、TCRβV13亚家族、TCRβV4亚家族、TCRβV3亚家族、TCRβV2亚家族、TCRβV15亚家族、TCRβV30亚家族、TCRβV19亚家族、TCRβV27亚家族、TCRβV28亚家族、TCRβV24亚家族、TCRβV20亚家族、TCRβV25亚家族或TCRβV29亚家族，并且所述第二域与属于以下亚家族的TCRβV的TCRβV区特异性结合：TCRβV6亚家族、TCRβV10亚家族、TCRβV12亚家族、TCRβV5亚家族、TCRβV7亚家族、TCRβV11亚家族、TCRβV14亚家族、TCRβV16亚家族、TCRβV18亚家族、TCRβV9亚家族、TCRβV13亚家族、TCRβV4亚家族、TCRβV3亚家族、TCRβV2亚家族、TCRβV15亚家族、TCRβV30亚家族、TCRβV19亚家族、TCRβV27亚家族、TCRβV28亚家族、TCRβV24亚家族、TCRβV20亚家族、TCRβV25亚家族或TCRβV29亚家族。

[0026] 在一些实施方案中，所述第一药剂包括与属于TCRβV12亚家族的第一TCRβV的TCRβV区特异性结合的域。

[0027] 在一些实施方案中，所述第一药剂和所述第二药剂各自与属于不同亚家族的TCRβV特异性结合。

[0028] 在一些实施方案中，所述第一药剂和所述第二药剂各自与相同TCRβV亚家族的不同成员特异性结合。

[0029] 在一些实施方案中，所述第一T细胞群表现出以下至少一项(例如，至少2、3、4、5、6、7或8项)：IL-1β表达的水平较低，IL-6表达的水平较低，TNFα表达的水平较低，TNFγ表达的水平较低，IL-10表达的水平较低，IL-17表达的水平较低，IL-2表达的水平较高或者IL-15表达的水平较高，以上是相对于接触过包括特异性结合CD3ε的域的药剂(例如，抗CD3ε抗体)的可比T细胞群。

[0030] 在一些实施方案中，表达通过确定从所述T细胞群分泌的蛋白质的水平来测量，如通过本文所述的测定所测量的。

[0031] 在一些实施方案中，IL-1β表达的水平比接触过包括特异性结合CD3ε的域的药剂的可比T细胞群所表达的水平低至少5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％或75％，如通过本文所述的测定所测量的。

[0032] 在一些实施方案中，IL-16表达的水平比接触过包括特异性结合CD3ε的域的药剂的可比T细胞群所表达的水平低至少5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％或75％，如通过本文所述的测定所测量的。

[0033] 在一些实施方案中，IL-10表达的水平比接触过包括特异性结合CD3ε的域的药剂的可比T细胞群所表达的水平低至少5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％或75％，如通过本文所述的测定所测量的。

[0034] 在一些实施方案中，IL-17表达的水平比接触过包括特异性结合CD3ε的域的药剂的可比T细胞群所表达的水平低至少5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％或75％，如通过本文所述的测定所测量的。

[0035] 在一些实施方案中，IFN-γ表达的水平比接触过包括特异性结合CD3ε的域的药剂

的可比T细胞群所表达的水平低至少5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％或75％，如通过本文所述的测定所测量的。

[0036] 在一些实施方案中，TNF-α表达的水平比接触过包括特异性结合CD3ε的域的药剂的可比T细胞群所表达的水平低至少5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％或75％，如通过本文所述的测定所测量的。

[0037] 在一些实施方案中，IL-15表达的水平比接触过包括特异性结合CD3ε的域的药剂的可比T细胞群所表达的水平高至少5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％或75％，如通过本文所述的测定所测量的。

[0038] 在一些实施方案中，IL-2表达的水平比接触过包括特异性结合CD3ε的域的药剂的可比T细胞群所表达的水平高至少5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％或75％，如通过本文所述的测定所测量的。

[0039] 在一些实施方案中，所述第一T细胞群中的T细胞数目比所述多个T细胞中的T细胞数目高至少约10倍(例如，高至少50、100、500、1000或10000倍)。

[0040] 在一些实施方案中，所述第一T细胞群中表达CD45R、表达CD95并表现出低CCR7表达或不可检测到CCR7表达的T细胞的数目比接触过包括特异性结合CD3ε的域的药剂(例如，抗CD3ε抗体)的可比群中表达CD45R、表达CD95并表现出低CCR7表达或不可检测到CCR7表达的T细胞的数目更高。

[0041] 在一些实施方案中，所述第一群中表达CD45R、表达CD95并表现出低CCR7表达或不可检测到CCR7表达的T细胞的数目比接触过包括特异性结合CD3ε的域的药剂(例如，抗CD3抗体)的可比群中表达CD45R、表达CD95并表现出低CCR7表达或不可检测到CCR7表达的T细胞的数目高至少2、3、4、5、10、15、20、50、100、500或1000倍。

[0042] 在一些实施方案中，CD45R、CD95和CCR7的表达通过确定所述细胞的表面上的蛋白质水平来测量(例如，如通过流式细胞术所测量的)。

[0043] 在一些实施方案中，所述第一群中TEMRA T细胞的数目比接触过包括特异性结合CD3ε的域的药剂(例如，抗CD3ε抗体)的可比T细胞群中TEMRA T细胞的数目更高。

[0044] 在一些实施方案中，所述第一群中TEMRA T细胞的数目比接触过包括特异性结合CD3ε的域的药剂(例如，抗CD3ε抗体)的可比T细胞群中TEMRA T细胞的数目高至少2、3、4、5、10、15、20、50、100、500或1000倍。

[0045] 在一些实施方案中，所述接触包括将所述多个T细胞与所述第一药剂一起温育。

[0046] 在一些实施方案中，接触包括将所述多个T细胞与所述第一药剂一起温育或培养至少约10分钟、20分钟、30分钟、1小时、6小时、10小时、12小时、24小时、36小时、48小时、72小时、5天、7天、10天、14天、15天或30天。

[0047] 在一些实施方案中，接触包括将所述多个T细胞与所述第一药剂一起温育或培养至多约10分钟、20分钟、30分钟、1小时、6小时、10小时、12小时、24小时、36小时、48小时、72小时、5天、7天、10天、12天、14天、15天、21天、30天、45天或60天。

[0048] 在一些实施方案中，接触包括将所述多个T细胞与所述第一药剂一起温育或培养约10-90分钟、10-60分钟、10-30分钟、1-30天、1-21天、1-14天、1-7天、1-5天、1-3天、21-30天、14-30天、7-30天、5-30天或3-30天。

[0049] 在一些实施方案中，所述第一药剂偶联至固体表面(例如，珠粒、细胞培养板)。在

一些实施方案中，所述偶联实现被所述第一药剂特异性结合的所述多个T细胞表面上的TCR的交联。

[0050] 在一些实施方案中，所述第一药剂包括抗体域。在一些实施方案中，所述第一药剂包括抗独特型抗体域。在一些实施方案中，所述第一药剂包括人抗体域或人源化抗体域。在一些实施方案中，所述第一药剂包括包含单链Fv(scFv)或Fab的抗原结合域。在一些实施方案中，所述第一药剂包括：包含两条抗体重链和两条抗体轻链的抗体，所述两条重链中的每一条包括可变区和恒定区，所述两条轻链中的每一条包括可变区和恒定区。

[0051] 在一些实施方案中，所述多个T细胞包括包含外源性核酸的T细胞群。在一些实施方案中，所述外源性核酸编码细胞表面受体。在一些实施方案中，所述细胞表面受体是嵌合抗原受体(CAR)或T细胞受体(TCR)。在一些实施方案中，所述方法进一步包括在使所述多个T细胞与所述第一药剂接触之前，将外源性核酸引入所述多个T细胞的至少一部分T细胞中。在一些实施方案中，所述方法进一步包括在使所述多个T细胞与所述第一药剂接触之后，将外源性核酸引入所述多个T细胞的至少一部分T细胞中。在一些实施方案中，所述外源性核酸通过转导或转染而引入。

[0052] 在一些实施方案中，所述多个T细胞是人类的。在一些实施方案中，所述多个T细胞包括来自人类受试者的T细胞，当取得所述细胞时，所述人类受试者是健康的(例如，受试者未患有或未诊断出预定的疾病或病况，例如，癌症)。在一些实施方案中，所述多个T细胞包括来自人类受试者的T细胞，当取得所述细胞时，所述人类受试者已患有或诊断出疾病或病况(例如，诊断出预定的疾病或病况，例如，癌症)。在一些实施方案中，所述疾病是癌症。

[0053] 在一方面，本文提供了离体扩增T细胞的方法，包括使多个T细胞与多种药剂接触，从而产生第一T细胞群，其中所述多种药剂包括至少第一药剂和第二药剂，其中所述多种药剂中的每种药剂包括与不同的T细胞受体可变β链(TCRβV)区特异性结合的域。

[0054] 在一些实施方案中，所述第一药剂或所述第二药剂或两者与属于不同亚家族的至少两种TCRβV特异性结合。

[0055] 在一些实施方案中，所述第一药剂或所述第二药剂或两者与属于不同亚家族的至少三种、四种、五种或六种TCRβV特异性结合。

[0056] 在一些实施方案中，所述第一药剂或所述第二药剂或两者与相同TCRβV亚家族的至少两个不同成员特异性结合。

[0057] 在一些实施方案中，所述第一药剂或所述第二药剂或两者与相同TCRβV亚家族的至少三个、四个、五个、六个或七个不同成员特异性结合。

[0058] 在一些实施方案中，所述多种药剂包括至少三种、四种、五种、六种、七种、八种、九种或十种药剂，其中所述多种药剂中的每一种药剂包括与不同的T细胞受体可变β链(TCRβV)区特异性结合的域。

[0059] 在一些实施方案中，所述多种药剂中的每一种药剂与不同TCRβV特异性结合，其中每种TCRβV属于不同TCRβV亚家族或是相同TCRβV亚家族的不同成员。

[0060] 在一些实施方案中，所述多种药剂中的每一种药剂包括与属于的以下亚家族的TCRβV的TCRβV区特异性结合的域：TCRβV6亚家族、TCRβV10亚家族、TCRβV12亚家族、TCRβV5亚家族、TCRβV7亚家族、TCRβV11亚家族、TCRβV14亚家族、TCRβV16亚家族、TCRβV18亚家族、TCRβV9亚家族、TCRβV13亚家族、TCRβV4亚家族、TCRβV3亚家族、TCRβV2亚家族、TCRβV15亚家

族、TCRβV30亚家族、TCRβV19亚家族、TCRβV27亚家族、TCRβV28亚家族、TCRβV24亚家族、TCRβV20亚家族、CRβV25亚家族或TCRβV29亚家族。

[0061] 在一些实施方案中，所述多种药剂中的至少一种药剂包括与属于TCRβV12亚家族的TCRβV的TCRβV区特异性结合的域。

[0062] 在一些实施方案中，所述多种药剂中的每一种药剂与不同TCRβV特异性结合，其中每种TCRβV属于不同TCRβV亚家族。

[0063] 在一些实施方案中，所述多种药剂中的每一种药剂与不同TCRβV特异性结合，其中每种TCRβV或是相同TCRβV亚家族的不同成员。

[0064] 在一些实施方案中，所述第一T细胞群表现出以下至少一项(例如，至少2、3、4、5、6、7或8项)：IL-1β表达的水平较低，IL-6表达的水平较低，TNFα表达的水平较低，TNFγ表达的水平较低，IL-10表达的水平较低，IL-17表达的水平较低，IL-2表达的水平较高或者IL-15表达的水平较高，以上是相对于接触过包括特异性结合CD3ε的域的药剂(例如，抗CD3ε抗体)的可比T细胞群。

[0065] 在一些实施方案中，表达通过确定从所述T细胞群分泌的蛋白质的水平来测量，如通过本文所述的测定所测量的。

[0066] 在一些实施方案中，IL-1β表达的水平比接触过包括特异性结合CD3ε的域的药剂的可比T细胞群所表达的水平低至少5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％或75％，如通过本文所述的测定所测量的。

[0067] 在一些实施方案中，IL-16表达的水平比接触过包括特异性结合CD3ε的域的药剂的可比T细胞群所表达的水平低至少5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％或75％，如通过本文所述的测定所测量的。

[0068] 在一些实施方案中，IL-10表达的水平比接触过包括特异性结合CD3ε的域的药剂的可比T细胞群所表达的水平低至少5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％或75％，如通过本文所述的测定所测量的。

[0069] 在一些实施方案中，IL-17表达的水平比接触过包括特异性结合CD3ε的域的药剂的可比T细胞群所表达的水平低至少5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％或75％，如通过本文所述的测定所测量的。

[0070] 在一些实施方案中，IFN-γ表达的水平比接触过包括特异性结合CD3ε的域的药剂的可比T细胞群所表达的水平低至少5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％或75％，如通过本文所述的测定所测量的。

[0071] 在一些实施方案中，TNF-α表达的水平比接触过包括特异性结合CD3ε的域的药剂的可比T细胞群所表达的水平低至少5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％或75％，如通过本文所述的测定所测量的。

[0072] 在一些实施方案中，IL-15表达的水平比接触过包括特异性结合CD3ε的域的药剂的可比T细胞群所表达的水平高至少5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％或75％，如通过本文所述的测定所测量的。

[0073] 在一些实施方案中，IL-2表达的水平比接触过包括特异性结合CD3ε的域的药剂的可比T细胞群所表达的水平高至少5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％或75％，如通过本文所述的测定所测量的。

[0074] 在一些实施方案中,所述第一T细胞群中的T细胞数目比所述多个T细胞中的T细胞数目高至少约10倍(例如,高至少50、100、500、1000或10000倍)。

[0075] 在一些实施方案中,所述第一T细胞群中表达CD45R、表达CD95并表现出低CCR7表达或不可检测到CCR7表达的T细胞的数目比接触过包括特异性结合CD3ε的域的药剂(例如,抗CD3ε抗体)的可比群中表达CD45R、表达CD95并表现出低CCR7表达或不可检测到CCR7表达的T细胞的数目更高。

[0076] 在一些实施方案中,所述第一群中表达CD45R、表达CD95并表现出低CCR7表达或不可检测到CCR7表达的T细胞的数目比接触过包括特异性结合CD3ε的域的药剂(例如,抗CD3抗体)的可比群中表达CD45R、表达CD95并表现出低CCR7表达或不可检测到CCR7表达的T细胞的数目高至少2、3、4、5、10、15、20、50、100、500或1000倍。

[0077] 在一些实施方案中,CD45R、CD95和CCR7的表达通过确定所述细胞的表面上的蛋白质水平来测量(例如,如通过流式细胞术所测量的)。

[0078] 在一些实施方案中,所述第一群中TEMRA T细胞的数目比接触过包括特异性结合CD3ε的域的药剂(例如,抗CD3ε抗体)的可比T细胞群中TEMRA T细胞的数目更高。

[0079] 在一些实施方案中,所述第一群中TEMRA T细胞的数目比接触过包括特异性结合CD3ε的域的药剂(例如,抗CD3ε抗体)的可比T细胞群中TEMRA T细胞的数目高至少2、3、4、5、10、15、20、50、100、500或1000倍。

[0080] 在一些实施方案中,所述接触包括将所述多个T细胞与所述第一药剂一起温育。

[0081] 在一些实施方案中,接触包括将所述多个T细胞与所述第一药剂一起温育或培养至少约10分钟、20分钟、30分钟、1小时、6小时、10小时、12小时、24小时、36小时、48小时、72小时、5天、7天、10天、14天、15天或30天。

[0082] 在一些实施方案中,接触包括将所述多个T细胞与所述第一药剂一起温育或培养至多约10分钟、20分钟、30分钟、1小时、6小时、10小时、12小时、24小时、36小时、48小时、72小时、5天、7天、10天、12天、14天、15天、21天、30天、45天或60天。

[0083] 在一些实施方案中,接触包括将所述多个T细胞与所述第一药剂一起温育或培养约10-90分钟、10-60分钟、10-30分钟、1-30天、1-21天、1-14天、1-7天、1-5天、1-3天、21-30天、14-30天、7-30天、5-30天或3-30天。

[0084] 在一些实施方案中,所述第一药剂偶联至固体表面(例如,珠粒、细胞培养板)。在一些实施方案中,所述偶联实现被所述第一药剂特异性结合的所述多个T细胞表面上的TCR的交联。

[0085] 在一些实施方案中,所述第一药剂包括抗体域。在一些实施方案中,所述第一药剂包括抗独特型抗体域。在一些实施方案中,所述第一药剂包括人抗体域或人源化抗体域。在一些实施方案中,所述第一药剂包括包含单链Fv(scFv)或Fab的抗原结合域。在一些实施方案中,所述第一药剂包括:包含两条抗体重链和两条抗体轻链的抗体,所述两条重链中的每一条包括可变区和恒定区,所述两条轻链中的每一条包括可变区和恒定区。

[0086] 在一些实施方案中,所述多个T细胞包括包含外源性核酸的T细胞群。在一些实施方案中,所述外源性核酸编码细胞表面受体。在一些实施方案中,所述细胞表面受体是嵌合抗原受体(CAR)或T细胞受体(TCR)。在一些实施方案中,所述方法进一步包括在使所述多个T细胞与所述第一药剂接触之前,将外源性核酸引入所述多个T细胞的至少一部分T细胞中。

在一些实施方案中,所述方法进一步包括在使所述多个T细胞与所述第一药剂接触之后,将外源性核酸引入所述多个T细胞的至少一部分T细胞中。在一些实施方案中,所述外源性核酸通过转导或转染而引入。

[0087] 在一些实施方案中,所述多个T细胞是人类的。在一些实施方案中,所述多个T细胞包括来自人类受试者的T细胞,当取得所述细胞时,所述人类受试者是健康的(例如,受试者未患有或未诊断出预定的疾病或病况,例如,癌症)。在一些实施方案中,所述多个T细胞包括来自人类受试者的T细胞,当取得所述细胞时,所述人类受试者已患有或诊断出疾病或病况(例如,诊断出预定的疾病或病况,例如,癌症)。在一些实施方案中,所述疾病是癌症。

[0088] 在一方面,本文提供了治疗受试者的癌症的方法,所述方法包括施用本文所述的第一细胞群的至少一部分或包括本文所述的第一细胞群的至少一部分的药物组合物。

[0089] 在一些实施方案中,所述多个T细胞表达外源性细胞表面受体。在一些实施方案中,所述外源性细胞表面受体是嵌合抗原受体(CAR)或外源性T细胞受体(TCR)。

[0090] 在一些实施方案中,所述细胞对被施用所述细胞的受试者而言是自体的或同种异体的。

[0091] 在一些实施方案中,所述癌症是实体癌症或血液学癌症。

[0092] 在一些实施方案中,所述癌症是实体癌症。

[0093] 在一些实施方案中,所述实体癌症是前列腺癌、肺癌、肾癌、胃癌、结肠癌、卵巢癌、膀胱癌、乳腺癌、宫颈癌、食道癌、睾丸癌、肝癌、胰腺癌、直肠癌、甲状腺癌、子宫癌、皮肤癌、肌肉癌、软骨癌、骨癌、内皮癌、上皮癌、真皮癌、基底癌、视网膜癌、皮肤癌或脑癌。

[0094] 在一些实施方案中,所述癌症是血液学癌症。

[0095] 在一些实施方案中,所述血液学癌症是白血病、淋巴瘤或骨髓瘤。

[0096] 在一些实施方案中,所述血液学癌症是B细胞急性淋巴细胞性白血病(B-ALL)、T细胞急性淋巴细胞性白血病(T-ALL)、急性成淋巴细胞性白血病(ALL);慢性髓细胞性白血病(CML)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、B细胞幼淋巴细胞白血病、母细胞性浆细胞样树突细胞肿瘤、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、小细胞型滤泡性淋巴瘤、大细胞型滤泡性淋巴瘤、恶性淋巴增生性病况、MALT淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、多发性骨髓瘤、骨髓增生异常、骨髓增生异常综合征、非霍奇金淋巴瘤、浆母细胞淋巴瘤、浆细胞样树突细胞肿瘤、华氏巨球蛋白血症或白血病前期。

[0097] 在一方面,本文提供了治疗受试者的癌症的方法,所述方法包括:从人类受试者取得多个T细胞;通过本文所述的方法扩增来自所述人类受试者的所述多个T细胞的至少一部分,从而产生所述第一T细胞群;向所述人类受试者施用所述第一T细胞群的至少一部分,从而治疗所述受试者的癌症。

[0098] 在一些实施方案中,所述多个T细胞表达外源性细胞表面受体。在一些实施方案中,所述外源性细胞表面受体是嵌合抗原受体(CAR)或外源性T细胞受体(TCR)。

[0099] 在一些实施方案中,所述细胞对被施用所述细胞的受试者而言是自体的或同种异体的。

[0100] 在一些实施方案中,所述癌症是实体癌症或血液学癌症。

[0101] 在一些实施方案中,所述癌症是实体癌症。

[0102] 在一些实施方案中,所述实体癌症是前列腺癌、肺癌、肾癌、胃癌、结肠癌、卵巢癌、

膀胱癌、乳腺癌、宫颈癌、食道癌、睾丸癌、肝癌、胰腺癌、直肠癌、甲状腺癌、子宫癌、皮肤癌、肌肉癌、软骨癌、骨癌、内皮癌、上皮癌、真皮癌、基底癌、视网膜癌、皮肤癌或脑癌。

[0103] 在一些实施方案中，所述癌症是血液学癌症。

[0104] 在一些实施方案中，所述血液学癌症是白血病、淋巴瘤或骨髓瘤。

[0105] 在一些实施方案中，所述血液学癌症是B细胞急性淋巴细胞性白血病(B-ALL)、T细胞急性淋巴细胞性白血病(T-ALL)、急性成淋巴细胞性白血病(ALL)；慢性髓细胞性白血病(CML)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、B细胞幼淋巴细胞白血病、母细胞性浆细胞样树突细胞肿瘤、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、小细胞型滤泡性淋巴瘤、大细胞型滤泡性淋巴瘤、恶性淋巴增生性病况、MALT淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、多发性骨髓瘤、骨髓增生异常、骨髓增生异常综合征、非霍奇金淋巴瘤、浆母细胞淋巴瘤、浆细胞样树突细胞肿瘤、华氏巨球蛋白血症或白血病前期。

[0106] 在一方面，本文提供了预防或减轻人类受试者的细胞因子释放综合征(CRS)的方法，所述方法包括：从人类受试者取得多个T细胞；通过本文所述的方法扩增来自所述人类受试者的所述多个T细胞的至少一部分，从而产生所述第一T细胞群；向所述人类受试者施用所述第一T细胞群的至少一部分，其中在所述施用后(例如，在24小时、48小时、72小时、4天、5天、6天、7天、14天、21天或30天之内)，所述受试者未显示细胞因子释放综合征的症状，或者相对于被施用通过使所述多个T细胞与结合CD3ε的药剂(例如，抗CD3ε抗体)接触来扩增所述T细胞而产生的可比T细胞群的至少一部分的人类受试者，CRS的至少一种症状的严重性降低。

[0107] 在一些实施方案中，所述至少一种症状选自表8、表9或表10中所列的症状。

[0108] 在一些实施方案中，所述至少一种症状选自噬血细胞性淋巴组织细胞增生症(HLH)、发热、恶心、呕吐、寒战、低血压、心动过速、心律失常、心肌病、急性心力衰竭、虚弱、头痛、皮疹、呼吸困难、脑病、失语、震颤、共济失调、轻偏瘫、麻痹、辨距障碍、癫痫发作、运动无力、意识丧失、幻觉、脑水肿、肝肿大、低纤维蛋白原血症、肝功能衰竭、腹泻、水肿、僵硬、关节痛、肌痛、急性肾功能衰竭、脾肿大、呼吸衰竭、肺水肿、缺氧、毛细血管渗漏综合征、巨噬细胞活化综合征，或呼吸急促。

[0109] 如权利要求87-89中任一项所述的方法，其中在施用所述第一T细胞群的所述至少一部分的1、2、3、4、5、6、7、10、14、21或30天之内，所述受试者未表现出至少一种CRS症状(例如，如本文所述)。

[0110] 在一些实施方案中，所述受试者未表现出至少一种4级或5级CRS症状(例如，如本文所述)。

[0111] 在一些实施方案中，所述受试者未表现出任何4级或5级CRS症状(例如，如本文所述)。

[0112] 在一些实施方案中，在施用所述第一T细胞群的所述至少一部分后(例如，1小时、6小时、12小时、1天、2天、3天、4天、5天、6天、7天、10天、14天、21天、30天)，所述受试者的血清中选自IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、IFNγ、TNFα、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF的一种或多种蛋白质的水平处于被施用所述第一T细胞群的所述至少一部分之前(例如，10分钟、30分钟、1小时、6小时、12小时、24小时、48小时、72小时)的所述受试者的血清中所述一种或多种蛋白质的水平的±20％、±15％、±10％、±9％、±8％、±7％、±6％、

±5%、±4%、±3%、±2%或±1%之内。

[0113] 在一些实施方案中,所述方法进一步包括基于确定以下至少一项来选择受试者进行本文所述的第一T细胞群的施用:所述受试者发展出CRS的风险;如果施用了表达包括CD3ζ信号传导域的CAR的细胞,所述受试者发展出CRS的风险;所述受试者的CRS诊断;或者所述受试者的与施用表达包括CD3ζ信号传导域的CAR的细胞相关或由其诱导的CRS的诊断。

[0114] 在一些实施方案中,如果有以下情形,选择所述受试者进行施用:所述受试者存在发展出CRS的风险;如果施用了包括表达CAR CD3ζ信号传导域的细胞的CAR,所述受试者存在发展出CRS的风险;所述受试者已经诊断出CRS;或者所述受试者已经诊断出与施用表达包括CD3ζ信号传导域的CAR的细胞相关或由其诱导的CRS。

[0115] 在一些实施方案中,所述细胞对被施用所述细胞的受试者而言是自体的或同种异体的。

[0116] 在一些实施方案中,所述癌症是实体癌症或血液学癌症。

[0117] 在一些实施方案中,所述癌症是实体癌症。

[0118] 在一些实施方案中,所述实体癌症是前列腺癌、肺癌、肾癌、胃癌、结肠癌、卵巢癌、膀胱癌、乳腺癌、宫颈癌、食道癌、睾丸癌、肝癌、胰腺癌、直肠癌、甲状腺癌、子宫癌、皮肤癌、肌肉癌、软骨癌、骨癌、内皮癌、上皮癌、真皮癌、基底癌、视网膜癌、皮肤癌或脑癌。

[0119] 在一些实施方案中,所述癌症是血液学癌症。

[0120] 在一些实施方案中,所述血液学癌症是白血病、淋巴瘤或骨髓瘤。

[0121] 在一些实施方案中,所述血液学癌症是B细胞急性淋巴细胞性白血病(B-ALL)、T细胞急性淋巴细胞性白血病(T-ALL)、急性成淋巴细胞性白血病(ALL);慢性髓细胞性白血病(CML)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、B细胞幼淋巴细胞白血病、母细胞性浆细胞样树突细胞肿瘤、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、小细胞型滤泡性淋巴瘤、大细胞型滤泡性淋巴瘤、恶性淋巴增生性病况、MALT淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、多发性骨髓瘤、骨髓增生异常、骨髓增生异常综合征、非霍奇金淋巴瘤、浆母细胞淋巴瘤、浆细胞样树突细胞肿瘤、华氏巨球蛋白血症或白血病前期。

[0122] 在一方面,本文提供了编码嵌合抗原受体(CAR)的重组核酸分子,其中所述CAR包括:(a)抗原结合域,其中所述抗原结合域不含有T细胞受体α(TCRα)可变区或T细胞受体β(TCRβ)可变区;(b)跨膜域;和(c)包括TCRβ恒定区胞内域的胞内信号传导域;其中所述胞内信号传导域不含有功能性CD3ζ信号传导域。

[0123] 在一些实施方案中,所述嵌合抗原受体(CAR)不含有T细胞受体α(TCRα)可变区或T细胞受体β(TCRβ)可变区。在一些实施方案中,所述抗原结合域、跨膜域和胞内信号传导域可操作地连接。在一些实施方案中,所述CAR进一步包括TCRβ1恒定域或TCRβ2恒定域。在一些实施方案中,所述跨膜域包括TCRβ恒定1域或TCRβ恒定2域。在一些实施方案中,所述抗原结合域通过接头连接至所述跨膜域。在一些实施方案中,所述TCRβ恒定胞内域包括TCRβ恒定1胞内域或TCRβ恒定2胞内域。在一些实施方案中,所述胞内信号传导域进一步包括共刺激信号传导域。在一些实施方案中,所述抗原结合域是人或人源化的单链可变片段(scFv)或单域抗体(sdAb)。在一些实施方案中,所述抗原结合域与肿瘤相关抗原特异性结合。在一些实施方案中,所编码的嵌合抗原受体(CAR)在框中表达并作为单条多肽链表达。

[0124] 在一方面,本文提供了编码嵌合抗原受体(CAR)的重组核酸,其中所述CAR包括:

(a)抗原结合域,其中所述抗原结合域是单链可变片段(scFv)或单域抗体;(b)跨膜域;和(c)包括TCRβ胞内域的胞内信号传导域;其中所述胞内信号传导域不含有功能性CD3ζ信号传导域。

[0125] 在一些实施方案中,所述嵌合抗原受体(CAR)不含有T细胞受体α(TCRα)可变区或T细胞受体β(TCRβ)可变区。在一些实施方案中,所述抗原结合域、跨膜域和胞内信号传导域可操作地连接。在一些实施方案中,所述CAR进一步包括TCRβ1恒定域或TCRβ2恒定域。在一些实施方案中,所述跨膜域包括TCRβ恒定1域或TCRβ恒定2域。在一些实施方案中,所述抗原结合域通过接头连接至所述跨膜域。在一些实施方案中,所述TCRβ恒定胞内域包括TCRβ恒定1胞内域或TCRβ恒定2胞内域。在一些实施方案中,所述胞内信号传导域进一步包括共刺激信号传导域。在一些实施方案中,所述抗原结合域是人或人源化的单链可变片段(scFv)或单域抗体(sdAb)。在一些实施方案中,所述抗原结合域与肿瘤相关抗原特异性结合。在一些实施方案中,所编码的嵌合抗原受体(CAR)在框中表达并作为单条多肽链表达。

[0126] 在一方面,本文提供了由本文所述的重组核酸编码的多肽。

[0127] 在一方面,本文提供了包括本文所述的重组核酸分子的载体。

[0128] 在一方面,本文提供了制备免疫效应细胞群的方法,包括用本文所述的载体转导多个免疫效应细胞。

[0129] 在一方面,本文提供了免疫效应细胞群,其中所述免疫效应细胞包括本文所述的重组核酸。

[0130] 在一些实施方案中,所述免疫效应细胞群通过本文所述的方法制备。

[0131] 在一些实施方案中,所述免疫效应细胞群在所述CAR的所述抗原结合域与细胞所表达的同源抗原结合后,所述免疫效应细胞群的至少一种促炎细胞因子的表达水平相对于可比免疫效应细胞群的所述至少一种促炎细胞因子的表达水平降低,该可比免疫效应细胞群包含编码包括CD3ζ胞内信号传导域的CAR的核酸。

[0132] 在一些实施方案中,所述免疫效应细胞群在所述CAR的所述抗原结合域与细胞所表达的同源抗原结合后,所述免疫效应细胞群的至少一种促炎细胞因子的表达水平相对于可比免疫效应细胞群的所述至少一种促炎细胞因子的表达水平降低1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%,该可比免疫效应细胞群包含编码包括CD3ζ胞内信号传导域的CAR的核酸。

[0133] 在一些实施方案中,所述免疫效应细胞群在存在抗原呈递细胞群的情况下,所述CAR的所述抗原结合域与细胞所表达的同源抗原结合后,所述抗原呈递细胞群的至少一种促炎细胞因子的表达水平相对于在存在可比免疫效应细胞群的情况下的可比抗原呈递细胞群的所述至少一种促炎细胞因子的表达水平降低,该可比免疫效应细胞群包含编码包括CD3ζ胞内信号传导域的CAR的核酸。

[0134] 在一些实施方案中,所述免疫效应细胞群在存在抗原呈递细胞群的情况下,所述CAR的所述抗原结合域与细胞所表达的同源抗原结合后,所述抗原呈递细胞的至少一种促炎细胞因子的表达水平相对于在存在可比免疫效应细胞群的情况下的可比抗原呈递细胞群的所述至少一种促炎细胞因子的表达水平降低1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、

98％或99％，该可比免疫效应细胞群包含编码包括CD3ζ胞内信号传导域的CAR的核酸。

[0135] 在一些实施方案中，所述至少一种促炎细胞因子选自IFNγ、TNFα、IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、IL-17、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF。

[0136] 在一些实施方案中，所述至少一种促炎细胞因子的表达通过确定从所述免疫效应细胞群分泌的细胞因子的水平来测量，如通过本文所述的测定所测量的。

[0137] 在一些实施方案中，所述至少一种促炎细胞因子的表达通过确定从所述抗原呈递细胞群分泌的细胞因子的水平来测量，如通过本文所述的测定所测量的。

[0138] 在一些实施方案中，所述抗原呈递细胞群包括树突细胞、巨噬细胞或单核细胞。

[0139] 在一方面，本文提供了药物组合物，其包括本文所述的免疫效应细胞群的至少一部分。

[0140] 在一方面，本文提供了治疗受试者的癌症的方法，所述方法包括：向所述受试者施用本文所述的免疫效应细胞群的至少一部分。

[0141] 在一方面，本文提供了预防或减轻人类受试者的细胞因子释放综合征(CRS)的严重性的方法，所述方法包括：向所述受试者施用本文所述的免疫效应细胞群的至少一部分。

[0142] 在一些实施方案中，所述受试者患有癌症。

[0143] 在一些实施方案中，在施用所述免疫细胞的1、2、3、4、5、6、7、10、14、21或30天之内，所述受试者未表现出至少一种CRS症状(例如，如本文所述)。

[0144] 在一些实施方案中，所述受试者未表现出至少一种4级或5级CRS症状(例如，如本文所述)。

[0145] 在一些实施方案中，所述受试者未表现出任何4级或5级CRS症状(例如，如本文所述)。

[0146] 在一些实施方案中，在施用所述细胞(例如，细胞群，例如，免疫效应细胞群)后(例如，1小时、6小时、12小时、1天、2天、3天、4天、5天、6天、7天、10天、14天、21天、30天)，所述受试者的血清中选自IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、IFNγ、TNFα、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF的一种或多种蛋白质的水平处于被施用所述免疫细胞之前(例如，10分钟、30分钟、1小时、6小时、12小时、24小时、48小时、72小时)的所述受试者的血清中所述一种或多种蛋白质的水平的±20％、±15％、±10％、±9％、±8％、±7％、±6％、±5％、±4％、±3％、±2％或±1％之内。

[0147] 在一些实施方案中，所述方法进一步包括基于确定以下至少一项来选择受试者进行权利要求86-100中任一项所述的免疫细胞的施用：所述受试者发展出CRS的风险；如果施用了表达包括CD3ζ信号传导域的CAR的细胞，所述受试者发展出CRS的风险；所述受试者的CRS诊断；或者所述受试者的与施用表达包括CD3ζ信号传导域的CAR的细胞相关或由其诱导的CRS的诊断。

[0148] 在一些实施方案中，如果有以下情形，选择所述受试者进行施用：所述受试者存在发展出CRS的风险；如果施用了包括表达CAR CD3ζ信号传导域的细胞的CAR，所述受试者存在发展出CRS的风险；所述受试者已经诊断出CRS；或者所述受试者已经诊断出与施用表达包括CD3ζ信号传导域的CAR的细胞相关或由其诱导的CRS。

[0149] 在一些实施方案中，所述细胞对被施用所述细胞的受试者而言是自体的或同种异体的。

[0150] 在一些实施方案中,所述癌症是实体癌症或血液学癌症。

[0151] 在一些实施方案中,所述癌症是实体癌症。

[0152] 在一些实施方案中,所述实体癌症是前列腺癌、肺癌、肾癌、胃癌、结肠癌、卵巢癌、膀胱癌、乳腺癌、宫颈癌、食道癌、睾丸癌、肝癌、胰腺癌、直肠癌、甲状腺癌、子宫癌、皮肤癌、肌肉癌、软骨癌、骨癌、内皮癌、上皮癌、真皮癌、基底癌、视网膜癌、皮肤癌或脑癌。

[0153] 在一些实施方案中,所述癌症是血液学癌症。

[0154] 在一些实施方案中,所述血液学癌症是白血病、淋巴瘤或骨髓瘤。

[0155] 在一些实施方案中,所述血液学癌症是B细胞急性淋巴细胞性白血病(B-ALL)、T细胞急性淋巴细胞性白血病(T-ALL)、急性成淋巴细胞性白血病(ALL);慢性髓细胞性白血病(CML)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、B细胞幼淋巴细胞白血病、母细胞性浆细胞样树突细胞肿瘤、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、小细胞型滤泡性淋巴瘤、大细胞型滤泡性淋巴瘤、恶性淋巴增生性病况、MALT淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、多发性骨髓瘤、骨髓增生异常、骨髓增生异常综合征、非霍奇金淋巴瘤、浆母细胞淋巴瘤、浆细胞样树突细胞肿瘤、华氏巨球蛋白血症或白血病前期。

[0156] 在一方面,本文提供了编码外源性T细胞受体(TCR)的重组核酸,其中所述TCR包括:TCRα链,其包括i)免疫球蛋白可变重域,ii)TCRα跨膜域,和iii)任选包括TCRα胞内域的胞内信号传导域;TCRβ链,其包括i)免疫球蛋白可变轻域,ii)TCRβ跨膜域,和iii)包括TCRβ胞内域的胞内信号传导域;其中所述免疫球蛋白可变重域和所述免疫球蛋白可变轻域形成抗原结合域;其中所述TCR不含有功能性CD3ζ胞内信号传导域;并且其中所述TCR不包括T细胞受体α(TCRα)可变区或T细胞受体β(TCRβ)可变区。

[0157] 在一些实施方案中,所述TCRα链进一步包括TCRα恒定域。

[0158] 在一方面,本文提供了编码外源性T细胞受体(TCR)的重组核酸,其中所述TCR包括:TCRα链,其包括i)免疫球蛋白可变轻域,ii)TCRα跨膜域,和iii)任选包括TCRα胞内域的胞内信号传导域;TCRβ链,其包括i)免疫球蛋白可变重域,ii)TCRβ跨膜域,和iii)包括TCRβ胞内域的胞内信号传导域;其中所述免疫球蛋白可变重域和所述免疫球蛋白可变轻域形成抗原结合域;其中所述TCR不含有功能性CD3ζ胞内信号传导域;并且其中所述TCR不包括T细胞受体α(TCRα)可变区或T细胞受体β(TCRβ)可变区。

[0159] 在一些实施方案中,所述TCRα链进一步包括TCRα恒定域。

[0160] 在一方面,本文提供了编码外源性T细胞受体(TCR)的重组核酸,其中所述TCR包括:TCRα链,其包括i)抗原结合域(例如,scFv),ii)TCRα可变域,iii)TCRα恒定域,iv)TCRα跨膜域,和v)任选包括TCRα胞内域的胞内信号传导域;TCRβ链,其包括i)TCRβ可变域,ii)TCRβ恒定域,iii)TCRβ跨膜域,和iv)包括TCRβ胞内域的胞内信号传导域;并且其中所述TCR不含有功能性CD3ζ胞内信号传导域。

[0161] 在一方面,本文提供了编码外源性T细胞受体(TCR)的重组核酸,其中所述TCR包括:TCRα链,其包括i)TCRα可变域,ii)TCRα恒定域,iii)TCRα跨膜域,和iv)任选包括TCRα胞内域的胞内信号传导域;TCRβ链,其包括i)抗原结合域(例如,scFv),ii)TCRβ可变域,iii)TCRβ恒定域,iv)TCRβ跨膜域,和v)包括TCRβ胞内域的胞内信号传导域;并且

其中所述TCR不含有功能性CD3ζ胞内信号传导域。

[0162] 在一方面,本文提供了由本文所述的重组核酸编码的多肽。

[0163] 在一方面，本文提供了包括本文所述的重组核酸的载体。

[0164] 在一方面，本文提供了制备免疫效应细胞群的方法，包括用本文所述的载体转导免疫效应细胞群。

[0165] 在一方面，本文提供了免疫效应细胞群，其中所述免疫效应细胞包括本文所述的重组核酸。

[0166] 在一些实施方案中，所述免疫效应细胞通过本文所述的方法制备。

[0167] 在一些实施方案中，所述免疫效应细胞在所述TCR的所述抗原结合域与细胞所表达的同源抗原结合后，所述免疫效应细胞群的至少一种促炎细胞因子的表达水平相对于可比免疫效应细胞群的所述至少一种促炎细胞因子的表达水平降低，该可比免疫效应细胞群包含编码包括CD3ζ胞内信号传导域的TCR的核酸。

[0168] 在一些实施方案中，所述免疫效应细胞在所述TCR的所述抗原结合域与细胞所表达的同源抗原结合后，所述免疫效应细胞群的至少一种促炎细胞因子的表达水平相对于可比免疫效应细胞群的所述至少一种促炎细胞因子的表达水平降低1％、2％、3％、4％、5％、6％、7％、8％、9％、10％、15％、20％、25％、30％、40％、50％、60％、70％、80％、90％、95％、96％、97％、98％或99％，该可比免疫效应细胞群包含编码包括CD3ζ胞内信号传导域的TCR的核酸。

[0169] 在一些实施方案中，所述免疫效应细胞在存在抗原呈递细胞群的情况下，所述TCR的所述抗原结合域与细胞所表达的同源抗原结合后，所述抗原呈递细胞群的至少一种促炎细胞因子的表达水平相对于在存在可比免疫效应细胞群的情况下的可比抗原呈递细胞群的所述至少一种促炎细胞因子的表达水平降低，该可比免疫效应细胞群包含编码包括CD3ζ胞内信号传导域的TCR的核酸。

[0170] 在一些实施方案中，所述免疫效应细胞在存在抗原呈递细胞群的情况下，所述TCR的所述抗原结合域与细胞所表达的同源抗原结合后，所述抗原呈递细胞的至少一种促炎细胞因子的表达水平相对于在存在可比免疫效应细胞群的情况下的可比抗原呈递细胞群的所述至少一种促炎细胞因子的表达水平降低1％、2％、3％、4％、5％、6％、7％、8％、9％、10％、15％、20％、25％、30％、40％、50％、60％、70％、80％、90％、95％、96％、97％、98％或99％，该可比免疫效应细胞群包含编码包括CD3ζ胞内信号传导域的TCR的核酸。

[0171] 在一些实施方案中，所述至少一种促炎细胞因子选自IFNγ、TNFα、IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、IL-17、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF。

[0172] 在一些实施方案中，所述至少一种促炎细胞因子的表达通过确定从所述免疫效应细胞群分泌的细胞因子的水平来测量，如通过本文所述的测定所测量的。

[0173] 在一些实施方案中，所述至少一种促炎细胞因子的表达通过确定从所述抗原呈递细胞群分泌的细胞因子的水平来测量，如通过本文所述的测定所测量的。

[0174] 在一些实施方案中，所述抗原呈递细胞群包括树突细胞、巨噬细胞或单核细胞。

[0175] 在一方面，本文提供了药物组合物，其包括本文所述的免疫效应细胞群的至少一部分。

[0176] 在一方面，本文提供了治疗受试者的癌症的方法，所述方法包括：向所述受试者施用本文所述的免疫效应细胞群的至少一部分。

[0177] 在一方面，本文提供了预防或减轻人类受试者的细胞因子释放综合征(CRS)的严

重性的方法,所述方法包括:向所述受试者施用本文所述的免疫效应细胞群的至少一部分。

[0178] 在一些实施方案中,所述受试者患有癌症。

[0179] 在一些实施方案中,在施用所述免疫细胞的1、2、3、4、5、6、7、10、14、21或30天之内,所述受试者未表现出至少一种CRS症状(例如,如本文所述)。

[0180] 在一些实施方案中,所述受试者未表现出至少一种4级或5级CRS症状(例如,如本文所述)。

[0181] 在一些实施方案中,所述受试者未表现出任何4级或5级CRS症状(例如,如本文所述)。

[0182] 在一些实施方案中,在施用所述细胞(例如,细胞群,例如,免疫效应细胞群)后(例如,1小时、6小时、12小时、1天、2天、3天、4天、5天、6天、7天、10天、14天、21天、30天),所述受试者的血清中选自IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、IFNγ、TNFα、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF的一种或多种蛋白质的水平处于被施用所述免疫细胞之前(例如,10分钟、30分钟、1小时、6小时、12小时、24小时、48小时、72小时)的所述受试者的血清中所述一种或多种蛋白质的水平的±20%、±15%、±10%、±9%、±8%、±7%、±6%、±5%、±4%、±3%、±2%或±1%之内。

[0183] 在一些实施方案中,所述方法进一步包括基于确定以下至少一项来选择受试者进行本文所述的免疫细胞的施用:所述受试者发展出CRS的风险;如果施用了表达包括CD3ζ信号传导域的CAR的细胞,所述受试者发展出CRS的风险;所述受试者的CRS诊断;或者所述受试者的与施用表达包括CD3ζ信号传导域的CAR的细胞相关或由其诱导的CRS的诊断。

[0184] 在一些实施方案中,如果有以下情形,选择所述受试者进行施用:所述受试者存在发展出CRS的风险;如果施用了包括表达CAR CD3ζ信号传导域的细胞的CAR,所述受试者存在发展出CRS的风险;所述受试者已经诊断出CRS;或者所述受试者已经诊断出与施用表达包括CD3ζ信号传导域的CAR的细胞相关或由其诱导的CRS。

[0185] 在一些实施方案中,所述细胞对被施用所述细胞的受试者而言是自体的或同种异体的。

[0186] 在一些实施方案中,所述癌症是实体癌症或血液学癌症。

[0187] 在一些实施方案中,所述癌症是实体癌症。

[0188] 在一些实施方案中,所述实体癌症是前列腺癌、肺癌、肾癌、胃癌、结肠癌、卵巢癌、膀胱癌、乳腺癌、宫颈癌、食道癌、睾丸癌、肝癌、胰腺癌、直肠癌、甲状腺癌、子宫癌、皮肤癌、肌肉癌、软骨癌、骨癌、内皮癌、上皮癌、真皮癌、基底癌、视网膜癌、皮肤癌或脑癌。

[0189] 在一些实施方案中,所述癌症是血液学癌症。

[0190] 在一些实施方案中,所述血液学癌症是白血病、淋巴瘤或骨髓瘤。

[0191] 在一些实施方案中,所述血液学癌症是B细胞急性淋巴细胞性白血病(B-ALL)、T细胞急性淋巴细胞性白血病(T-ALL)、急性成淋巴细胞性白血病(ALL);慢性髓细胞性白血病(CML)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、B细胞幼淋巴细胞白血病、母细胞性浆细胞样树突细胞肿瘤、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、小细胞型滤泡性淋巴瘤、大细胞型滤泡性淋巴瘤、恶性淋巴增生性病况、MALT淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、多发性骨髓瘤、骨髓增生异常、骨髓增生异常综合征、非霍奇金淋巴瘤、浆母细胞淋巴瘤、浆细胞样树突细胞肿瘤、华氏巨球蛋白血症或白血病前期。

[0192] 在一方面，本文提供了离体扩增T细胞群的方法，包括使所述T细胞群与一种或多种抗TCRβV抗体接触，并且提供了使用上述扩增的细胞群来治疗疾病或病症例如癌症的方法。

[0193] 本文所述的方法包括离体激活或扩增(或激活且扩增)T细胞的方法，包括使多个T细胞与第一药剂接触，从而产生第一T细胞群，其中所述第一药剂包括与T细胞受体β可变链(TCRβV)区特异性结合的第一域。

[0194] 在一些实施方案中，所述方法进一步包括使所述多个T细胞与第二药剂接触，其中所述第二药剂包括与T细胞受体β可变链(TCRβV)区特异性结合的域，其中所述第一药剂和所述第二药剂与不同的TCRβV区特异性结合。

[0195] 在一些实施方案中，所述第一药剂包括与第一TCRβV的TCRβV区特异性结合的域，并且所述第二药剂包括与第二TCRβV的TCRβV区特异性结合的域，其中所述第一TCRβV和所述第二TCRβV属于不同的TCRβV亚家族或是相同TCRβV亚家族的不同成员。

[0196] 在一些实施方案中，所述第一药剂包括与属于以下亚家族的第一TCRβV的TCRβV区特异性结合的域：TCRβV6亚家族、TCRβV10亚家族、TCRβV12亚家族、TCRβV5亚家族、TCRβV7亚家族、TCRβV11亚家族、TCRβV14亚家族、TCRβV16亚家族、TCRβV18亚家族、TCRβV9亚家族、TCRβV13亚家族、TCRβV4亚家族、TCRβV3亚家族、TCRβV2亚家族、TCRβV15亚家族、TCRβV30亚家族、TCRβV19亚家族、TCRβV27亚家族、TCRβV28亚家族、TCRβV24亚家族、TCRβV20亚家族、TCRβV25亚家族或TCRβV29亚家族；所述第二药剂包括与属于以下亚家族的TCRβV的第二TCRβV区特异性结合的域：TCRβV6亚家族、TCRβV10亚家族、TCRβV12亚家族、TCRβV5亚家族、TCRβV7亚家族、TCRβV11亚家族、TCRβV14亚家族、TCRβV16亚家族、TCRβV18亚家族、TCRβV9亚家族、TCRβV13亚家族、TCRβV4亚家族、TCRβV3亚家族、TCRβV2亚家族、TCRβV15亚家族、TCRβV30亚家族、TCRβV19亚家族、TCRβV27亚家族、TCRβV28亚家族、TCRβV24亚家族、TCRβV20亚家族、TCRβV25亚家族或TCRβV29亚家族，并且其中所述第一药剂和所述第二药剂各自与属于不同亚家族的TCRβV或相同TCRβV亚家族的不同成员特异性结合。

[0197] 在一些实施方案中，所述第一药剂和所述第二药剂各自特异性结合属于不同亚家族的TCRβV。在一些实施方案中，所述第一药剂和所述第二药剂各自特异性结合相同TCRβV亚家族的不同成员。

[0198] 在一些实施方案中，所述方法进一步包括使所述多个T细胞与一种或多种(例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多种)药剂接触，其中所述一种或多种药剂中的每一种包括与T细胞受体β可变链(TCRβV)区特异性结合的域，其中所述一种或多种药剂中的每一种与不同的T细胞受体β可变链(TCRβV)区特异性结合，并且其中所述一种或多种药剂特异性结合的每一个TCRβV区不用于所述第一药剂和所述第二药剂特异性结合的TCRβV区。

[0199] 在一些实施方案中，所述一种或多种(例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多种)药剂中的每一种与属于不同TCRβV亚家族的TCRβV或是相同TCRβV亚家族的不同成员特异性结合；并且其中所述一种或多种药剂中的每一种特异性结合属于不同TCRβV亚家族的不同于所述第一药剂和所述第二药剂所结合的TCRβV的TCRβV，或者所述一种或多种药剂中的每一种特异性结合相同TCRβV亚家族的与所述第一药剂、所述第二药剂或二者所结合的TCRβV相同的不同成员。

[0200] 在一些实施方案中，所述一种或多种(例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多种)药

剂各自包括与属于以下亚家族的TCRβV的TCRβV区特异性结合的域:TCRβV6亚家族、TCRβV10亚家族、TCRβV12亚家族、TCRβV5亚家族、TCRβV7亚家族、TCRβV11亚家族、TCRβV14亚家族、TCRβV16亚家族、TCRβV18亚家族、TCRβV9亚家族、TCRβV13亚家族、TCRβV4亚家族、TCRβV3亚家族、TCRβV2亚家族、TCRβV15亚家族、TCRβV30亚家族、TCRβV19亚家族、TCRβV27亚家族、TCRβV28亚家族、TCRβV24亚家族、TCRβV20亚家族、TCRβV25亚家族或TCRβV29亚家族。

[0201] 在一些实施方案中,所述一种或多种(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多种)药剂中的每一种特异性结合属于不同亚家族的TCRβV,并且其中所述一种或多种药剂中的每一种特异性结合属于不同亚家族的不同于所述第一药剂和所述第二药剂所结合的TCRβV的TCRβV。

[0202] 在一些实施方案中,所述第一药剂进一步包括第二域,所述第二域与在所述多个T细胞的一个或多个T细胞的表面上表达的蛋白质结合。在一些实施方案中,所述第一药剂是双特异性抗体分子。

[0203] 在一些实施方案中,所述第二域与T细胞受体β可变链(TCRβV)区特异性结合。在一些实施方案中,所述第二域和所述第一域与不同的T细胞受体β可变链(TCRβV)区特异性结合。在一些实施方案中,所述第二域和所述第一域特异性结合属于不同亚家族的TCRβV或相同TCRβV亚家族的不同成员。在一些实施方案中,所述第一域与属于以下亚家族的TCRβV的TCRβV区特异性结合:TCRβV6亚家族、TCRβV10亚家族、TCRβV12亚家族、TCRβV5亚家族、TCRβV7亚家族、TCRβV11亚家族、TCRβV14亚家族、TCRβV16亚家族、TCRβV18亚家族、TCRβV9亚家族、TCRβV13亚家族、TCRβV4亚家族、TCRβV3亚家族、TCRβV2亚家族、TCRβV15亚家族、TCRβV30亚家族、TCRβV19亚家族、TCRβV27亚家族、TCRβV28亚家族、TCRβV24亚家族、TCRβV20亚家族、TCRβV25亚家族或TCRβV29亚家族,并且所述第二域与属于以下亚家族的TCRβV的TCRβV区特异性结合:TCRβV6亚家族、TCRβV10亚家族、TCRβV12亚家族、TCRβV5亚家族、TCRβV7亚家族、TCRβV11亚家族、TCRβV14亚家族、TCRβV16亚家族、TCRβV18亚家族、TCRβV9亚家族、TCRβV13亚家族、TCRβV4亚家族、TCRβV3亚家族、TCRβV2亚家族、TCRβV15亚家族、TCRβV30亚家族、TCRβV19亚家族、TCRβV27亚家族、TCRβV28亚家族、TCRβV24亚家族、TCRβV20亚家族、TCRβV25亚家族或TCRβV29亚家族。在一些实施方案中,所述第二域和所述第一域特异性结合属于不同亚家族的TCRβV。在一些实施方案中,所述第二域和所述第一域特异性结合相同TCRβV亚家族的不同成员。

[0204] 在一些实施方案中,所述第二域与CD19或4-1BB特异性结合。

[0205] 在一些实施方案中,所述第二域与抗体分子特异性结合。在一些实施方案中,所述抗体分子由所述多个T细胞中的一个或多个T细胞表达。在一些实施方案中,所述抗体分子包括可变重链和可变轻链。在一些实施方案中,所述抗体分子是scFv或Fab。在一些实施方案中,所述第二域与所述抗体分子的轻链特异性结合。在一些实施方案中,所述第二域与抗体分子的κ轻链区特异性结合。在一些实施方案中,所述第二域包括蛋白质L。

[0206] 在一些实施方案中,所述第一T细胞群表现出以下一项或多项:(i)IL-1β的表达降低,(ii)IL-6的表达水平降低,(iii)TNFα的表达降低,(iv)IL-2的表达增加,(v)IFNγ的表达增加,(vi)IFNγ的表达维持和(vii)4-1BB的表达增加,以上是相对于接触过包括特异性结合CD3(例如CD3ε)的域的药剂的多个T细胞。

[0207] 在一些实施方案中,所述接触包括将所述多个T细胞与所述第一药剂一起温育。

[0208] 在一些实施方案中，接触包括将所述多个T细胞与所述第一药剂一起温育或培养至少约10分钟、20分钟、30分钟、1小时、6小时、10小时、12小时、24小时、36小时、48小时、72小时、5天、7天、10天、14天、15天或30天。在一些实施方案中，接触包括将所述多个T细胞与所述第一药剂一起温育或培养至多约10分钟、20分钟、30分钟、1小时、6小时、10小时、12小时、24小时、36小时、48小时、72小时、5天、7天、10天、12天、14天、15天、21天、30天、45天或60天。在一些实施方案中，接触包括将所述多个T细胞与所述第一药剂一起温育或培养约10-90分钟、10-60分钟、10-30分钟、1-30天、1-21天、1-14天、1-7天、1-5天、1-3天、21-30天、14-30天、7-30天、5-30天或3-30天。

[0209] 在一些实施方案中，所述第一药剂偶联至固体表面(例如，珠粒)。在一些实施方案中，所述第一药剂包括抗体域。

[0210] 在一些实施方案中，所述第一药剂包括抗独特型抗体域。在一些实施方案中，所述第一药剂包括小鼠抗体域。在一些实施方案中，所述第一药剂包括人抗体域。在一些实施方案中，所述第一药剂包括人源化抗体域。在一些实施方案中，所述第一药剂包括包含单链Fv(scFv)或Fab的抗原结合域。在一些实施方案中，所述第一药剂包括：包含两条抗体重链和两条抗体轻链的抗体，每条重链包括可变区和恒定区，每条轻链包括可变区和恒定区。

[0211] 在一些实施方案中，所述多个T细胞包括包含外源性核酸的一个或多个T细胞。

[0212] 在一些实施方案中，所述多个T细胞包括包含编码嵌合多肽的外源性核酸的一个或多个T细胞。在一些实施方案中，所述方法包括在使所述多个T细胞与所述第一药剂接触之前，将外源性核酸引入所述多个T细胞的一个或多个T细胞中。在一些实施方案中，所述方法包括在使所述多个T细胞与所述第一药剂接触之后，将外源性核酸引入所述多个T细胞的一个或多个T细胞中。在一些实施方案中，所述方法进一步包括在使所述多个T细胞与所述第一药剂接触之前，将编码嵌合多肽的外源性核酸引入所述多个T细胞的一个或多个T细胞中。在一些实施方案中，所述方法进一步包括在使所述多个T细胞与所述第一药剂接触之后，将编码嵌合多肽的外源性核酸引入所述多个T细胞的一个或多个T细胞中。在一些实施方案中，所述外源性核酸通过转导或转染而引入。

[0213] 在一些实施方案中，所述嵌合多肽是嵌合抗原受体(CAR)。在一些实施方案中，所述嵌合抗原受体(CAR)包括抗原结合区、跨膜区和胞内信号传导区。在一些实施方案中，所述胞内信号传导区包括一个或多个信号传导域。在一些实施方案中，所述胞内信号传导域包括来自CD27、CD28、4-1BB、ICOS、OX40、DAP10、DAP12、CD134、CD3-ζ或其片段或组合的信号传导域。在一些实施方案中，所述跨膜区包括来自CD8、CD28或CTLA4的跨膜区。

[0214] 在一些实施方案中，所述抗原结合区包括抗体域。在一些实施方案中，所述抗体域包括scFv或Fab。在一些实施方案中，所述抗原结合区特异性结合肿瘤相关抗原(例如，如本文所述)。

[0215] 在一些实施方案中，所述嵌合多肽是嵌合T细胞受体(TCR)。在一些实施方案中，所述嵌合TCR包括抗原结合区。在一些实施方案中，所述嵌合TCR进一步包括跨膜区。在一些实施方案中，所述嵌合TCR进一步包括胞内信号传导区。在一些实施方案中，所述嵌合TCR包括TCRα多肽和TCRβ多肽。在一些实施方案中，嵌合TCR包括TCRγ多肽和TCRδ多肽。在一些实施方案中，所述抗原结合区特异性结合肿瘤相关抗原。

[0216] 在一些实施方案中，所述多个T细胞包括来自人类受试者的一个或多个T细胞。

[0217] 在一些实施方案中,所述一个或多个T细胞经由单采血液成分术从所述人类受试者取得。

[0218] 在一些实施方案中,所述多个T细胞包括来自健康人类受试者(例如,受试者未患有或未诊断出预定的疾病或病况,例如,癌症)的一个或多个T细胞。在一些实施方案中,所述多个T细胞包括来自患有或诊断出疾病或病况(例如,诊断出特定的疾病或病况,例如,癌症)的哺乳动物(例如,人类)受试者的一个或多个T细胞。在一些实施方案中,所述疾病是癌症。在一些实施方案中,所述癌症是实体瘤或血液学癌症。在一些实施方案中,所述癌症选自白血病、淋巴瘤、骨髓瘤、前列腺癌、肺癌、肾癌、胃癌、结肠癌、卵巢癌、膀胱癌、乳腺癌、宫颈癌、食道癌、睾丸癌、肝癌、胰腺癌、直肠癌、甲状腺癌、子宫癌、皮肤癌、肌肉癌、软骨癌、骨癌、内皮癌、上皮癌、真皮癌、基底癌、视网膜癌、皮肤癌或脑癌。

[0219] 在一些实施方案中,所述多个T细胞包括一个或多个自体T细胞。在一些实施方案中,所述多个T细胞包括一个或多个同种异体T细胞。

[0220] 在一些实施方案中,所述第一T细胞群中的细胞数比接触所述第一药剂之前的所述多个T细胞的细胞数高至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、50、100或1000倍。

[0221] 在一些实施方案中,特异性结合CD3(例如,CD3ε)的所述药剂包括抗体域(例如,抗CD3抗体(例如,抗CD3ε抗体))。

[0222] 在一些实施方案中,特异性结合CD3的的所述药剂特异性结合CD3ε。

[0223] 在一些实施方案中,所述第一药剂在与所述TCRβV区结合后导致以下之一、二、三、四、五、六、七、八、九、十或更多(例如,全部)项:(i)IL-1β的水平,例如,表达水平,和/或活性的降低;(ii)IL-6的水平,例如,表达水平,和/或活性的降低;(iii)TNFα的水平,例如,表达水平,和/或活性的降低;(iv)IL-2的水平,例如,表达水平,和/或活性的增加;(v)IL-2的水平,例如,表达水平,和/或活性增加的延迟,例如,至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多小时的延迟;(vi)IFNγ的水平,例如,表达水平,和/或活性增加的延迟,例如,至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10小时的延迟;(vii)降低的T细胞增殖动力学;或(viii)减少的细胞因子风暴,例如,细胞因子释放综合征(CRS),例如,如通过本文所述的测定所测量的;(ix)细胞杀伤,例如,靶细胞杀伤,例如,癌细胞杀伤,例如,如通过本文所述的测定所测量的;(x)IL-15的水平,例如,表达水平,和/或活性的增加;或(xi)增加的天然杀伤(NK)细胞增殖,例如,扩增,以上是与结合CD3分子,例如,CD3ε(CD3e)分子;或TCR阿尔法(TCRα)分子的抗体相比较。

[0224] 在一些实施方案中,所述第一药剂在与所述TCRβV区结合后导致记忆T细胞群,例如,T效应记忆(TEM)细胞,例如,表达CD45RA的TEM细胞(TEMRA细胞)的扩增,例如,至少约1.1-10倍扩增(例如,至少1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、2、3、4、5、6、7、8、9或10倍扩增)。

[0225] 在一些实施方案中,所述第一T细胞群中的记忆效应T细胞(例如TEM细胞,例如,TEMRA细胞)群的扩增相比于采用与CD3分子结合的抗体的相似细胞群的扩增是增加的。

[0226] 在一些实施方案中,所扩增的T效应记忆细胞群包括以下细胞:(i)具有可检测水平的CD45RA,例如,表达或再表达CD45RA的细胞;(ii)具有低CCR7表达或无CCR7表达的细胞;和/或(iii)具有可检测水平的CD95,例如,表达CD95,例如,CD45RA+、CCR7-、CD95+T细胞群的细胞,任选地其中所述T细胞包括CD3+、CD4+或CD8+T细胞。

[0227] 在一些实施方案中,所述第一药剂与所述TCRβV区的结合导致以下之一、二、三、四、五、六、七、八、九、十或更多(例如,全部)项:(i)IL-1β的水平,例如,表达水平,和/或活

性的降低;(ii)IL-6的水平,例如,表达水平,和/或活性的降低;(iii)TNFα的水平,例如,表达水平,和/或活性的降低;(iv)IL-2的水平,例如,表达水平,和/或活性的增加;(v)IL-2的水平,例如,表达水平,和/或活性增加的延迟,例如,至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多小时的延迟;(vi)IFNγ的水平,例如,表达水平,和/或活性增加的延迟,例如,至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10小时的延迟;(vii)降低的T细胞增殖动力学;或(viii)减少的细胞因子风暴,例如,细胞因子释放综合征(CRS),例如,如通过本文所述的测定所测量的;(ix)细胞杀伤,例如,靶细胞杀伤,例如,癌细胞杀伤,例如,如通过本文所述的测定所测量的;(x)IL-15的水平,例如,表达水平,和/或活性的增加;或(xi)增加的天然杀伤(NK)细胞增殖,例如,扩增,以上是与结合CD3分子,例如,CD3ε(CD3e)分子;或TCR阿尔法(TCRα)分子的抗体相比较。

[0228] 在一些实施方案中,所述第一药剂与所述TCRβV区的结合导致IL-1β的表达水平和/或活性降低至少2、5、10、20、50、100或200倍或至少2-200倍(例如,5-150、10-100、20-50倍),如通过本文所述的测定所测量的。

[0229] 在一些实施方案中,所述第一药剂与所述TCRβV区的结合导致IL-6的表达水平和/或活性降低至少2、5、10、20、50、100、200、300、400、500、600、700、800、900或1000倍或至少2-1000倍(例如,5-900、10-800、20-700、50-600、100-500或200-400倍),如通过本文所述的测定所测量的。

[0230] 在一些实施方案中,所述第一药剂与所述TCRβV区的结合导致TNFα的表达水平和/或活性降低至少2、5、10、20、50、100、200、300、400、500、600、700、800、900、1000或2000倍或至少2-2000倍(例如,5-1000、10-900、20-800、50-700、100-600、200-500或300-400倍),如通过本文所述的测定所测量的。

[0231] 在一些实施方案中,所述第一药剂与所述TCRβV区的结合导致IL-2的表达水平和/或活性增加至少2、5、10、20、50、100、200、300、400、500、600、700、800、900、1000或2000倍或至少2-2000倍(例如,5-1000、10-900、20-800、50-700、100-600、200-500或300-400倍),如通过本文所述的测定所测量的。

[0232] 本文所述的方法包括离体扩增T细胞的方法,包括使多个T细胞与多种药剂接触,从而产生第一T细胞群,其中所述多种药剂包括两种、三种、四种、五种或更多种药剂,其中所述多种药剂中的每种药剂包括与不同的T细胞受体β可变链(TCRβV)区特异性结合的域。

[0233] 在一些实施方案中,所述多种药剂中的每一种药剂与不同TCRβV特异性结合,其中每种TCRβV属于不同TCRβV亚家族或是相同TCRβV亚家族的不同成员。

[0234] 在一些实施方案中,所述多种药剂中的每种药剂包括与属于以下亚家族的TCRβV的TCRβV区特异性结合的域:TCRβV6亚家族、TCRβV10亚家族、TCRβV12亚家族、TCRβV5亚家族、TCRβV7亚家族、TCRβV11亚家族、TCRβV14亚家族、TCRβV16亚家族、TCRβV18亚家族、TCRβV9亚家族、TCRβV13亚家族、TCRβV4亚家族、TCRβV3亚家族、TCRβV2亚家族、TCRβV15亚家族、TCRβV30亚家族、TCRβV19亚家族、TCRβV27亚家族、TCRβV28亚家族、TCRβV24亚家族、TCRβV20亚家族、TCRβV25亚家族或TCRβV29亚家族。

[0235] 在一些实施方案中,所述多种药剂中的每一种药剂与不同TCRβV特异性结合,其中每种TCRβV属于不同TCRβV亚家族。

[0236] 本文所述的方法包括离体扩增T细胞的方法,包括使多个T细胞与多种药剂接触,从而产生第一T细胞群,其中所述多种药剂包括至少第一药剂和第二药剂,其中所述多种药

剂中的每种药剂包括与不同的T细胞受体β可变链(TCRβV)区特异性结合的域。

[0237] 在一些实施方案中,所述多种药剂包括至少3、4、5、6、7、8、9、10或更多种药剂。

[0238] 在一些实施方案中,所述方法进一步包括使所述多个T细胞与第二药剂接触,其中所述第二药剂包括与T细胞受体β可变链(TCRβV)区特异性结合的域,其中所述第一药剂和所述第二药剂与不同的TCRβV区特异性结合。

[0239] 在一些实施方案中,所述第一药剂包括与第一TCRβV的TCRβV区特异性结合的域,并且所述第二药剂包括与第二TCRβV的TCRβV区特异性结合的域,其中所述第一TCRβV和所述第二TCRβV属于不同的TCRβV亚家族或是相同TCRβV亚家族的不同成员。

[0240] 在一些实施方案中,所述第一药剂包括与属于以下亚家族的第一TCRβV的TCRβV区特异性结合的域:TCRβV6亚家族、TCRβV10亚家族、TCRβV12亚家族、TCRβV5亚家族、TCRβV7亚家族、TCRβV11亚家族、TCRβV14亚家族、TCRβV16亚家族、TCRβV18亚家族、TCRβV9亚家族、TCRβV13亚家族、TCRβV4亚家族、TCRβV3亚家族、TCRβV2亚家族、TCRβV15亚家族、TCRβV30亚家族、TCRβV19亚家族、TCRβV27亚家族、TCRβV28亚家族、TCRβV24亚家族、TCRβV20亚家族、TCRβV25亚家族或TCRβV29亚家族;所述第二药剂包括与属于以下亚家族的TCRβV的第二TCRβV区特异性结合的域:TCRβV6亚家族、TCRβV10亚家族、TCRβV12亚家族、TCRβV5亚家族、TCRβV7亚家族、TCRβV11亚家族、TCRβV14亚家族、TCRβV16亚家族、TCRβV18亚家族、TCRβV9亚家族、TCRβV13亚家族、TCRβV4亚家族、TCRβV3亚家族、TCRβV2亚家族、TCRβV15亚家族、TCRβV30亚家族、TCRβV19亚家族、TCRβV27亚家族、TCRβV28亚家族、TCRβV24亚家族、TCRβV20亚家族、TCRβV25亚家族或TCRβV29亚家族,并且其中所述第一药剂和所述第二药剂各自与属于不同亚家族的TCRβV或相同TCRβV亚家族的不同成员特异性结合。

[0241] 在一些实施方案中,所述第一药剂和所述第二药剂各自特异性结合属于不同亚家族的TCRβV。在一些实施方案中,所述第一药剂和所述第二药剂各自特异性结合相同TCRβV亚家族的不同成员。

[0242] 在一些实施方案中,所述方法进一步包括使所述多个T细胞与一种或多种(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多种)药剂接触,其中所述一种或多种药剂中的每一种包括与T细胞受体β可变链(TCRβV)区特异性结合的域,其中所述一种或多种药剂中的每一种与不同的T细胞受体β可变链(TCRβV)区特异性结合,并且其中所述一种或多种药剂特异性结合的每一个TCRβV区不用于所述第一药剂和所述第二药剂特异性结合的TCRβV区。

[0243] 在一些实施方案中,所述一种或多种(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多种)药剂中的每一种与属于不同TCRβV亚家族的TCRβV或是相同TCRβV亚家族的不同成员特异性结合;并且其中所述一种或多种药剂中的每一种特异性结合属于不同TCRβV亚家族的不同于所述第一药剂和所述第二药剂所结合的TCRβV的TCRβV,或者所述一种或多种药剂中的每一种特异性结合相同TCRβV亚家族的与所述第一药剂、所述第二药剂或二者所结合的TCRβV相同的不同成员。

[0244] 在一些实施方案中,所述一种或多种(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多种)药剂各自包括与属于以下家族的TCRβV的TCRβV区特异性结合的域:TCRβV6亚家族、TCRβV10亚家族、TCRβV12亚家族、TCRβV5亚家族、TCRβV7亚家族、TCRβV11亚家族、TCRβV14亚家族、TCRβV16亚家族、TCRβV18亚家族、TCRβV9亚家族、TCRβV13亚家族、TCRβV4亚家族、TCRβV3亚家族、TCRβV2亚家族、TCRβV15亚家族、TCRβV30亚家族、TCRβV19亚家族、TCRβV27亚家族、TCRβV28

亚家族、TCRβV24亚家族、TCRβV20亚家族、TCRβV25亚家族或TCRβV29亚家族。

[0245] 在一些实施方案中，所述一种或多种(例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多种)药剂中的每一种特异性结合属于不同亚家族的TCRβV，并且其中所述一种或多种药剂中的每一种特异性结合属于不同亚家族的不同于所述第一药剂和所述第二药剂所结合的TCRβV的TCRβV。

[0246] 在一些实施方案中，所述第一药剂和/或所述第二药剂进一步包括第二域，所述第二域与在所述多个T细胞中的一个或多个T细胞的表面上表达的蛋白质结合。在一些实施方案中，所述第一药剂是双特异性抗体分子。

[0247] 在一些实施方案中，所述第二域与T细胞受体β可变链(TCRβV)区特异性结合。在一些实施方案中，所述第二域和所述第一域与不同的T细胞受体β可变链(TCRβV)区特异性结合。在一些实施方案中，所述第二域和所述第一域特异性结合属于不同亚家族的TCRβV或相同TCRβV亚家族的不同成员。在一些实施方案中，所述第一域与属于以下亚家族的TCRβV的TCRβV区特异性结合：TCRβV6亚家族、TCRβV10亚家族、TCRβV12亚家族、TCRβV5亚家族、TCRβV7亚家族、TCRβV11亚家族、TCRβV14亚家族、TCRβV16亚家族、TCRβV18亚家族、TCRβV9亚家族、TCRβV13亚家族、TCRβV4亚家族、TCRβV3亚家族、TCRβV2亚家族、TCRβV15亚家族、TCRβV30亚家族、TCRβV19亚家族、TCRβV27亚家族、TCRβV28亚家族、TCRβV24亚家族、TCRβV20亚家族、TCRβV25亚家族或TCRβV29亚家族，并且所述第二域与属于以下亚家族的TCRβV的TCRβV区特异性结合：TCRβV6亚家族、TCRβV10亚家族、TCRβV12亚家族、TCRβV5亚家族、TCRβV7亚家族、TCRβV11亚家族、TCRβV14亚家族、TCRβV16亚家族、TCRβV18亚家族、TCRβV9亚家族、TCRβV13亚家族、TCRβV4亚家族、TCRβV3亚家族、TCRβV2亚家族、TCRβV15亚家族、TCRβV30亚家族、TCRβV19亚家族、TCRβV27亚家族、TCRβV28亚家族、TCRβV24亚家族、TCRβV20亚家族、TCRβV25亚家族或TCRβV29亚家族。在一些实施方案中，所述第二域和所述第一域特异性结合属于不同亚家族的TCRβV。在一些实施方案中，所述第二域和所述第一域特异性结合相同TCRβV亚家族的不同成员。

[0248] 在一些实施方案中，所述第二域与CD19或4-1BB特异性结合。

[0249] 在一些实施方案中，所述第二域与抗体分子特异性结合。在一些实施方案中，所述抗体分子由所述多个T细胞中的一个或多个T细胞表达。在一些实施方案中，所述抗体分子包括可变重链和可变轻链。在一些实施方案中，所述抗体分子是scFv或Fab。在一些实施方案中，所述第二域与所述抗体分子的轻链特异性结合。在一些实施方案中，所述第二域与抗体分子的κ轻链区特异性结合。在一些实施方案中，所述第二域包括蛋白质L。

[0250] 在一些实施方案中，所述第一T细胞群表现出以下一项或多项：(i)IL-1β的表达降低，(ii)IL-6的表达水平降低，(iii)TNFα的表达降低，(iv)IL-2的表达增加，(v)IFNγ的表达增加，(vi)IFNγ的表达维持和(vii)4-1BB的表达增加，以上是相对于接触过包括特异性结合CD3(例如CD3ε)的域的药剂的多个T细胞。

[0251] 在一些实施方案中，所述接触包括将所述多个T细胞与所述第一药剂一起温育。

[0252] 在一些实施方案中，接触包括将所述多个T细胞与所述第一药剂一起温育或培养至少约10分钟、20分钟、30分钟、1小时、6小时、10小时、12小时、24小时、36小时、48小时、72小时、5天、7天、10天、14天、15天或30天。在一些实施方案中，接触包括将所述多个T细胞与所述第一药剂一起温育或培养至多约10分钟、20分钟、30分钟、1小时、6小时、10小时、12小

时、24小时、36小时、48小时、72小时、5天、7天、10天、12天、14天、15天、21天、30天、45天或60天。在一些实施方案中，接触包括将所述多个T细胞与所述第一药剂一起温育或培养约10-90分钟、10-60分钟、10-30分钟、1-30天、1-21天、1-14天、1-7天、1-5天、1-3天、21-30天、14-30天、7-30天、5-30天或3-30天。

[0253] 在一些实施方案中，所述第一药剂偶联至固体表面(例如，珠粒)。在一些实施方案中，所述第一药剂包括抗体域。在一些实施方案中，所述多种药剂中的每种药剂与一个或多个固体表面(例如，一个或多个珠粒)偶联。在一些实施方案中，所述多种药剂中的每种药剂包括抗体域。

[0254] 在一些实施方案中，所述第一药剂包括抗独特型抗体域。在一些实施方案中，所述第一药剂包括小鼠抗体域。在一些实施方案中，所述第一药剂包括人抗体域。在一些实施方案中，所述第一药剂包括人源化抗体域。在一些实施方案中，所述第一药剂包括包含单链Fv(scFv)或Fab的抗原结合域。在一些实施方案中，所述第一药剂包括：包含两条抗体重链和两条抗体轻链的抗体，每条重链包括可变区和恒定区，每条轻链包括可变区和恒定区。

[0255] 在一些实施方案中，所述多种药剂中的每种药剂包括抗独特型抗体域。在一些实施方案中，所述多种药剂中的每种药剂包括小鼠抗体域。在一些实施方案中，所述多种药剂中的每种药剂包括人抗体域。在一些实施方案中，所述多种药剂中的每种药剂包括人源化抗体域。在一些实施方案中，所述多种药剂中的每一种药剂包括包含单链Fv(scFv)或Fab的抗原结合域。在一些实施方案中，所述多种药剂中的每一种药剂包括：包含两条抗体重链和两条抗体轻链的抗体，每条重链包括可变区和恒定区，每条轻链包括可变区和恒定区。

[0256] 在一些实施方案中，所述多个T细胞包括包含外源性核酸的一个或多个T细胞。

[0257] 在一些实施方案中，所述多个T细胞包括包含编码嵌合多肽的外源性核酸的一个或多个T细胞。在一些实施方案中，所述方法包括在使所述多个T细胞与所述第一药剂接触之前，将外源性核酸引入所述多个T细胞的一个或多个T细胞中。在一些实施方案中，所述方法包括在使所述多个T细胞与所述第一药剂接触之后，将外源性核酸引入所述多个T细胞的一个或多个T细胞中。在一些实施方案中，所述方法进一步包括在使所述多个T细胞与所述第一药剂接触之前，将编码嵌合多肽的外源性核酸引入所述多个T细胞的一个或多个T细胞中。在一些实施方案中，所述方法进一步包括在使所述多个T细胞与所述第一药剂接触之后，将编码嵌合多肽的外源性核酸引入所述多个T细胞的一个或多个T细胞中。在一些实施方案中，所述外源性核酸通过转导或转染而引入。

[0258] 在一些实施方案中，所述嵌合多肽是嵌合抗原受体(CAR)。在一些实施方案中，所述嵌合抗原受体(CAR)包括抗原结合区、跨膜区和胞内信号传导区。在一些实施方案中，所述胞内信号传导区包括一个或多个信号传导域。在一些实施方案中，所述胞内信号传导域包括来自CD27、CD28、4-1BB、ICOS、OX40、DAP10、DAP12、CD134、CD3-ζ或其片段或组合的信号传导域。在一些实施方案中，所述跨膜区包括来自CD8、CD28或CTLA4的跨膜区。

[0259] 在一些实施方案中，所述抗原结合区包括抗体域。在一些实施方案中，所述抗体域包括scFv或Fab。在一些实施方案中，所述抗原结合区特异性结合肿瘤相关抗原。

[0260] 在一些实施方案中，所述嵌合多肽是嵌合T细胞受体(TCR)。在一些实施方案中，所述嵌合TCR包括抗原结合区。在一些实施方案中，所述嵌合TCR进一步包括跨膜区。在一些实施方案中，所述嵌合TCR进一步包括胞内信号传导区。在一些实施方案中，所述嵌合TCR包括

TCRα多肽和TCRβ多肽。在一些实施方案中，嵌合TCR包括TCRγ多肽和TCRδ多肽。在一些实施方案中，所述抗原结合区特异性结合肿瘤相关抗原。

[0261] 在一些实施方案中，所述多个T细胞包括来自人类受试者的一个或多个T细胞。在一些实施方案中，所述一个或多个T细胞经由单采血液成分术从所述人类受试者取得。在一些实施方案中，所述多个T细胞包括来自健康人类受试者(例如，受试者未患有或未诊断出预定的疾病或病况，例如，癌症)的一个或多个T细胞。在一些实施方案中，所述多个T细胞包括来自患有或诊断出疾病或病况(例如，诊断出特定的疾病或病况，例如，癌症)的哺乳动物(例如，人类)受试者的一个或多个T细胞。在一些实施方案中，所述疾病是癌症。在一些实施方案中，所述癌症是实体瘤或血液学癌症。在一些实施方案中，所述癌症选自白血病、淋巴瘤、骨髓瘤、前列腺癌、肺癌、肾癌、胃癌、结肠癌、卵巢癌、膀胱癌、乳腺癌、宫颈癌、食道癌、睾丸癌、肝癌、胰腺癌、直肠癌、甲状腺癌、子宫癌、皮肤癌、肌肉癌、软骨癌、骨癌、内皮癌、上皮癌、真皮癌、基底癌、视网膜癌、皮肤癌或脑癌。

[0262] 在一些实施方案中，所述多个T细胞包括一个或多个自体T细胞。在一些实施方案中，所述多个T细胞包括一个或多个同种异体T细胞。

[0263] 在一些实施方案中，所述第一T细胞群中的细胞数比接触所述第一药剂之前的所述多个T细胞的细胞数高至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、50、100或1000倍。

[0264] 在一些实施方案中，特异性结合CD3(例如，CD3ε)的所述药剂包括抗体域(例如，抗CD3抗体(例如，抗CD3ε抗体))。

[0265] 在一些实施方案中，特异性结合CD3的的所述药剂特异性结合CD3ε。

[0266] 在一些实施方案中，所述第一药剂在与所述TCRβV区结合后导致以下之一、二、三、四、五、六、七、八、九、十或更多(例如，全部)项：(i)IL-1β的水平，例如，表达水平，和/或活性的降低；(ii)IL-6的水平，例如，表达水平，和/或活性的降低；(iii)TNFα的水平，例如，表达水平，和/或活性的降低；(iv)IL-2的水平，例如，表达水平，和/或活性的增加；(v)IL-2的水平，例如，表达水平，和/或活性增加的延迟，例如，至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多小时的延迟；(vi)IFNγ的水平，例如，表达水平，和/或活性增加的延迟，例如，至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10小时的延迟；(vii)降低的T细胞增殖动力学；或(viii)减少的细胞因子风暴，例如，细胞因子释放综合征(CRS)，例如，如通过本文所述的测定所测量的；(ix)细胞杀伤，例如，靶细胞杀伤，例如，癌细胞杀伤，例如，如通过本文所述的测定所测量的；(x)IL-15的水平，例如，表达水平，和/或活性的增加；或(xi)增加的天然杀伤(NK)细胞增殖，例如，扩增，以上是与结合CD3分子，例如，CD3ε(CD3e)分子；或TCR阿尔法(TCRα)分子的抗体相比较。

[0267] 在一些实施方案中，所述第一药剂在与所述TCRβV区结合后导致记忆T细胞群，例如，T效应记忆(TEM)细胞，例如，表达CD45RA的TEM细胞(TEMRA细胞)的扩增，例如，至少约1.1-10倍扩增(例如，至少1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、2、3、4、5、6、7、8、9或10倍扩增)。

[0268] 在一些实施方案中，所述第一T细胞群中的记忆效应T细胞(例如，TEM细胞，例如，TEMRA细胞)群的扩增相比于采用与CD3分子结合的抗体的相似细胞群的扩增是增加的。

[0269] 在一些实施方案中，所扩增的T效应记忆细胞群包括以下细胞：(i)具有可检测水平的CD45RA，例如，表达或再表达CD45RA的细胞；(ii)具有低CCR7表达或无CCR7表达的细胞；和/或(iii)具有可检测水平的CD95，例如，表达CD95，例如，CD45RA+、CCR7-、CD95+T细胞群的细胞，任选地其中所述T细胞包括CD3+、CD4+或CD8+T细胞。

[0270] 在一些实施方案中，所述第一药剂与所述TCRβV区的结合导致以下之一、二、三、四、五、六、七、八、九、十或更多(例如，全部)项：(i)IL-1β的水平，例如，表达水平，和/或活性的降低；(ii)IL-6的水平，例如，表达水平，和/或活性的降低；(iii)TNFα的水平，例如，表达水平，和/或活性的降低；(iv)IL-2的水平，例如，表达水平，和/或活性的增加；(v)IL-2的水平，例如，表达水平，和/或活性增加的延迟，例如，至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多小时的延迟；(vi)IFNγ的水平，例如，表达水平，和/或活性增加的延迟，例如，至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10小时的延迟；(vii)降低的T细胞增殖动力学；或(viii)减少的细胞因子风暴，例如，细胞因子释放综合征(CRS)，例如，如通过本文所述的测定所测量的；(ix)细胞杀伤，例如，靶细胞杀伤，例如，癌细胞杀伤，例如，如通过本文所述的测定所测量的；(x)IL-15的水平，例如，表达水平，和/或活性的增加；或(xi)增加的天然杀伤(NK)细胞增殖，例如，扩增，以上是与结合CD3分子，例如，CD3ε(CD3e)分子；或TCR阿尔法(TCRα)分子的抗体相比较。

[0271] 在一些实施方案中，所述第一药剂与所述TCRβV区的结合导致IL-1β的表达水平和/或活性降低至少2、5、10、20、50、100或200倍或至少2-200倍(例如，5-150、10-100、20-50倍)，如通过本文所述的测定所测量的。

[0272] 在一些实施方案中，所述第一药剂与所述TCRβV区的结合导致IL-6的表达水平和/或活性降低至少2、5、10、20、50、100、200、300、400、500、600、700、800、900或1000倍或至少2-1000倍(例如，5-900、10-800、20-700、50-600、100-500或200-400倍)，如通过本文所述的测定所测量的。

[0273] 在一些实施方案中，所述第一药剂与所述TCRβV区的结合导致TNFα的表达水平和/或活性降低至少2、5、10、20、50、100、200、300、400、500、600、700、800、900、1000或2000倍或至少2-2000倍(例如，5-1000、10-900、20-800、50-700、100-600、200-500或300-400倍)，如通过本文所述的测定所测量的。

[0274] 在一些实施方案中，所述第一药剂与所述TCRβV区的结合导致IL-2的表达水平和/或活性增加至少2、5、10、20、50、100、200、300、400、500、600、700、800、900、1000或2000倍或至少2-2000倍(例如，5-1000、10-900、20-800、50-700、100-600、200-500或300-400倍)，如通过本文所述的测定所测量的。

[0275] 本文公开的方法包括治疗受试者的癌症的方法，所述方法包括：从人类受试者取得多个T细胞；扩增来自所述人类受试者的所述多个T细胞，从而产生第一T细胞群，所述扩增包括使所述多个T细胞与第一药剂接触，其中所述第一药剂包括与T细胞受体β可变链(TCRβV)区特异性结合的域；向所述人类受试者输注所述第一T细胞群的至少一部分，从而治疗所述受试者的癌症。

[0276] 在一些实施方案中，所述方法进一步包括使所述多个T细胞与第二药剂接触，其中所述第二药剂包括与T细胞受体β可变链(TCRβV)区特异性结合的域，其中所述第一药剂和所述第二药剂与不同的TCRβV区特异性结合。

[0277] 在一些实施方案中，所述第一药剂包括与第一TCRβV的TCRβV区特异性结合的域，并且所述第二药剂包括与第二TCRβV的TCRβV区特异性结合的域，其中所述第一TCRβV和所述第二TCRβV属于不同的TCRβV亚家族或是相同TCRβV亚家族的不同成员。

[0278] 在一些实施方案中，所述第一药剂包括与属于以下亚家族的第一TCRβV的TCRβV区特异性结合的域：TCRβV6亚家族、TCRβV10亚家族、TCRβV12亚家族、TCRβV5亚家族、TCRβV7亚

家族、TCRβV11亚家族、TCRβV14亚家族、TCRβV16亚家族、TCRβV18亚家族、TCRβV9亚家族、TCRβV13亚家族、TCRβV4亚家族、TCRβV3亚家族、TCRβV2亚家族、TCRβV15亚家族、TCRβV30亚家族、TCRβV19亚家族、TCRβV27亚家族、TCRβV28亚家族、TCRβV24亚家族、TCRβV20亚家族、TCRβV25亚家族或TCRβV29亚家族;所述第二药剂包括与属于以下亚家族的TCRβV的第二TCRβV区特异性结合的域:TCRβV6亚家族、TCRβV10亚家族、TCRβV12亚家族、TCRβV5亚家族、TCRβV7亚家族、TCRβV11亚家族、TCRβV14亚家族、TCRβV16亚家族、TCRβV18亚家族、TCRβV9亚家族、TCRβV13亚家族、TCRβV4亚家族、TCRβV3亚家族、TCRβV2亚家族、TCRβV15亚家族、TCRβV30亚家族、TCRβV19亚家族、TCRβV27亚家族、TCRβV28亚家族、TCRβV24亚家族、TCRβV20亚家族、TCRβV25亚家族或TCRβV29亚家族,并且其中所述第一药剂和所述第二药剂各自与属于不同亚家族的TCRβV或相同TCRβV亚家族的不同成员特异性结合。

[0279] 在一些实施方案中,所述第一药剂和所述第二药剂各自特异性结合属于不同亚家族的TCRβV。在一些实施方案中,所述第一药剂和所述第二药剂各自特异性结合相同TCRβV亚家族的不同成员。

[0280] 在一些实施方案中,所述方法进一步包括使所述多个T细胞与一种或多种(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多种)药剂接触,其中所述一种或多种药剂中的每一种包括与T细胞受体β可变链(TCRβV)区特异性结合的域,其中所述一种或多种药剂中的每一种与不同的T细胞受体β可变链(TCRβV)区特异性结合,并且其中所述一种或多种药剂特异性结合的每一个TCRβV区不用于所述第一药剂和所述第二药剂特异性结合的TCRβV区。

[0281] 在一些实施方案中,所述一种或多种(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多种)药剂中的每一种与属于不同TCRβV亚家族的TCRβV或是相同TCRβV亚家族的不同成员特异性结合;并且其中所述一种或多种药剂中的每一种特异性结合属于不同TCRβV亚家族的不同于所述第一药剂和所述第二药剂所结合的TCRβV的TCRβV,或者所述一种或多种药剂中的每一种特异性结合相同TCRβV亚家族的与所述第一药剂、所述第二药剂或二者所结合的TCRβV相同的不同成员。

[0282] 在一些实施方案中,所述一种或多种(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多种)药剂各自包括与属于以下亚家族的TCRβV的TCRβV区特异性结合的域:TCRβV6亚家族、TCRβV10亚家族、TCRβV12亚家族、TCRβV5亚家族、TCRβV7亚家族、TCRβV11亚家族、TCRβV14亚家族、TCRβV16亚家族、TCRβV18亚家族、TCRβV9亚家族、TCRβV13亚家族、TCRβV4亚家族、TCRβV3亚家族、TCRβV2亚家族、TCRβV15亚家族、TCRβV30亚家族、TCRβV19亚家族、TCRβV27亚家族、TCRβV28亚家族、TCRβV24亚家族、TCRβV20亚家族、TCRβV25亚家族或TCRβV29亚家族。

[0283] 在一些实施方案中,所述一种或多种(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多种)药剂中的每一种特异性结合属于不同亚家族的TCRβV,并且其中所述一种或多种药剂中的每一种特异性结合属于不同亚家族的不同于所述第一药剂和所述第二药剂所结合的TCRβV的TCRβV。

[0284] 在一些实施方案中,所述第一药剂进一步包括第二域,所述第二域与在所述多个T细胞的一个或多个T细胞的表面上表达的蛋白质结合。在一些实施方案中,所述第一药剂是双特异性抗体分子。

[0285] 在一些实施方案中,所述第二域与T细胞受体β可变链(TCRβV)区特异性结合。在一些实施方案中,所述第二域和所述第一域与不同的T细胞受体β可变链(TCRβV)区特异性结

合。在一些实施方案中，所述第二域和所述第一域特异性结合属于不同亚家族的TCRβV或相同TCRβV亚家族的不同成员。在一些实施方案中，所述第一域与属于以下亚家族的TCRβV的TCRβV区特异性结合：TCRβV6亚家族、TCRβV10亚家族、TCRβV12亚家族、TCRβV5亚家族、TCRβV7亚家族、TCRβV11亚家族、TCRβV14亚家族、TCRβV16亚家族、TCRβV18亚家族、TCRβV9亚家族、TCRβV13亚家族、TCRβV4亚家族、TCRβV3亚家族、TCRβV2亚家族、TCRβV15亚家族、TCRβV30亚家族、TCRβV19亚家族、TCRβV27亚家族、TCRβV28亚家族、TCRβV24亚家族、TCRβV20亚家族、TCRβV25亚家族或TCRβV29亚家族，并且所述第二域与属于以下亚家族的TCRβV的TCRβV区特异性结合：TCRβV6亚家族、TCRβV10亚家族、TCRβV12亚家族、TCRβV5亚家族、TCRβV7亚家族、TCRβV11亚家族、TCRβV14亚家族、TCRβV16亚家族、TCRβV18亚家族、TCRβV9亚家族、TCRβV13亚家族、TCRβV4亚家族、TCRβV3亚家族、TCRβV2亚家族、TCRβV15亚家族、TCRβV30亚家族、TCRβV19亚家族、TCRβV27亚家族、TCRβV28亚家族、TCRβV24亚家族、TCRβV20亚家族、TCRβV25亚家族或TCRβV29亚家族。在一些实施方案中，所述第二域和所述第一域特异性结合属于不同亚家族的TCRβV。在一些实施方案中，所述第二域和所述第一域特异性结合相同TCRβV亚家族的不同成员。

[0286] 在一些实施方案中，所述第二域与CD19或4-1BB特异性结合。

[0287] 在一些实施方案中，所述第二域与抗体分子特异性结合。在一些实施方案中，所述抗体分子由所述多个T细胞中的一个或多个T细胞表达。在一些实施方案中，所述抗体分子包括可变重链和可变轻链。在一些实施方案中，所述抗体分子是scFv或Fab。在一些实施方案中，所述第二域与所述抗体分子的轻链特异性结合。在一些实施方案中，所述第二域与抗体分子的κ轻链区特异性结合。在一些实施方案中，所述第二域包括蛋白质L。

[0288] 在一些实施方案中，所述第一T细胞群表现出以下一项或多项：(i)IL-1β的表达降低，(ii)IL-6的表达水平降低，(iii)TNFα的表达降低，(iv)IL-2的表达增加，(v)IFNγ的表达增加，(vi)IFNγ的表达维持和(vii)4-1BB的表达增加，以上是相对于接触过包括特异性结合CD3(例如CD3ε)的域的药剂的多个T细胞。

[0289] 在一些实施方案中，所述接触包括将所述多个T细胞与所述第一药剂一起温育。

[0290] 在一些实施方案中，接触包括将所述多个T细胞与所述第一药剂一起温育或培养至少约10分钟、20分钟、30分钟、1小时、6小时、10小时、12小时、24小时、36小时、48小时、72小时、5天、7天、10天、14天、15天或30天。在一些实施方案中，接触包括将所述多个T细胞与所述第一药剂一起温育或培养至多约10分钟、20分钟、30分钟、1小时、6小时、10小时、12小时、24小时、36小时、48小时、72小时、5天、7天、10天、12天、14天、15天、21天、30天、45天或60天。在一些实施方案中，接触包括将所述多个T细胞与所述第一药剂一起温育或培养约10-90分钟、10-60分钟、10-30分钟、1-30天、1-21天、1-14天、1-7天、1-5天、1-3天、21-30天、14-30天、7-30天、5-30天或3-30天。

[0291] 在一些实施方案中，所述第一药剂偶联至固体表面(例如，珠粒)。在一些实施方案中，所述第一药剂包括抗体域。

[0292] 在一些实施方案中，所述第一药剂包括抗独特型抗体域。在一些实施方案中，所述第一药剂包括小鼠抗体域。在一些实施方案中，所述第一药剂包括人抗体域。在一些实施方案中，所述第一药剂包括人源化抗体域。在一些实施方案中，所述第一药剂包括包含单链Fv(scFv)或Fab的抗原结合域。在一些实施方案中，所述第一药剂包括：包含两条抗体重链和

两条抗体轻链的抗体,每条重链包括可变区和恒定区,每条轻链包括可变区和恒定区。

[0293] 在一些实施方案中,所述多个T细胞包括包含外源性核酸的一个或多个T细胞。

[0294] 在一些实施方案中,所述多个T细胞包括包含编码嵌合多肽的外源性核酸的一个或多个T细胞。在一些实施方案中,所述方法包括在使所述多个T细胞与所述第一药剂接触之前,将外源性核酸引入所述多个T细胞的一个或多个T细胞中。在一些实施方案中,所述方法包括在使所述多个T细胞与所述第一药剂接触之后,将外源性核酸引入所述多个T细胞的一个或多个T细胞中。在一些实施方案中,所述方法进一步包括在使所述多个T细胞与所述第一药剂接触之前,将编码嵌合多肽的外源性核酸引入所述多个T细胞的一个或多个T细胞中。在一些实施方案中,所述方法进一步包括在使所述多个T细胞与所述第一药剂接触之后,将编码嵌合多肽的外源性核酸引入所述多个T细胞的一个或多个T细胞中。在一些实施方案中,所述外源性核酸通过转导或转染而引入。

[0295] 在一些实施方案中,所述嵌合多肽是嵌合抗原受体(CAR)。在一些实施方案中,所述嵌合抗原受体(CAR)包括抗原结合区、跨膜区和胞内信号传导区。在一些实施方案中,所述胞内信号传导区包括一个或多个信号传导域。在一些实施方案中,所述胞内信号传导域包括来自CD27、CD28、4-1BB、ICOS、OX40、DAP10、DAP12、CD134、CD3-ζ或其片段或组合的信号传导域。在一些实施方案中,所述跨膜区包括来自CD8、CD28或CTLA4的跨膜区。

[0296] 在一些实施方案中,所述抗原结合区包括抗体域。在一些实施方案中,所述抗体域包括scFv或Fab。在一些实施方案中,所述抗原结合区特异性结合肿瘤相关抗原。

[0297] 在一些实施方案中,所述嵌合多肽是嵌合T细胞受体(TCR)。在一些实施方案中,所述嵌合TCR包括抗原结合区。在一些实施方案中,所述嵌合TCR进一步包括跨膜区。在一些实施方案中,所述嵌合TCR进一步包括胞内信号传导区。在一些实施方案中,所述嵌合TCR包括TCRα多肽和TCRβ多肽。在一些实施方案中,嵌合TCR包括TCRγ多肽和TCRδ多肽。在一些实施方案中,所述抗原结合区特异性结合肿瘤相关抗原。

[0298] 在一些实施方案中,所述多个T细胞包括来自人类受试者的一个或多个T细胞。在一些实施方案中,所述一个或多个T细胞经由单采血液成分术从所述人类受试者取得。在一些实施方案中,所述多个T细胞包括来自健康人类受试者(例如,受试者未患有或未诊断出预定的疾病或病况,例如,癌症)的一个或多个T细胞。在一些实施方案中,所述多个T细胞包括来自患有或诊断出疾病或病况(例如,诊断出特定的疾病或病况,例如,癌症)的哺乳动物(例如,人类)受试者的一个或多个T细胞。在一些实施方案中,所述疾病是癌症。在一些实施方案中,所述癌症是实体瘤或血液学癌症。在一些实施方案中,所述癌症选自白血病、淋巴瘤、骨髓瘤、前列腺癌、肺癌、肾癌、胃癌、结肠癌、卵巢癌、膀胱癌、乳腺癌、宫颈癌、食道癌、睾丸癌、肝癌、胰腺癌、直肠癌、甲状腺癌、子宫癌、皮肤癌、肌肉癌、软骨癌、骨癌、内皮癌、上皮癌、真皮癌、基底癌、视网膜癌、皮肤癌或脑癌。

[0299] 在一些实施方案中,所述多个T细胞包括一个或多个自体T细胞。在一些实施方案中,所述多个T细胞包括一个或多个同种异体T细胞。

[0300] 在一些实施方案中,所述第一T细胞群中的细胞数比接触所述第一药剂之前的所述多个T细胞的细胞数高至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、50、100或1000倍。

[0301] 在一些实施方案中,特异性结合CD3(例如,CD3ε)的所述药剂包括抗体域(例如,抗CD3抗体(例如,抗CD3ε抗体))。

[0302] 在一些实施方案中,特异性结合CD3的的所述药剂特异性结合CD3ε。

[0303] 在一些实施方案中,所述第一药剂在与TCRβV区结合后导致以下之一、二、三、四、五、六、七、八、九、十或更多(例如,全部)项:(i)IL-1β的水平,例如,表达水平,和/或活性的降低;(ii)IL-6的水平,例如,表达水平,和/或活性的降低;(iii)TNFα的水平,例如,表达水平,和/或活性的降低;(iv)IL-2的水平,例如,表达水平,和/或活性的增加;(v)IL-2的水平,例如,表达水平,和/或活性增加的延迟,例如,至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多小时的延迟;(vi)IFNγ的水平,例如,表达水平,和/或活性增加的延迟,例如,至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10小时的延迟;(vii)降低的T细胞增殖动力学;或(viii)减少的细胞因子风暴,例如,细胞因子释放综合征(CRS),例如,如通过本文所述的测定所测量的;(ix)细胞杀伤,例如,靶细胞杀伤,例如,癌细胞杀伤,例如,如通过本文所述的测定所测量的;(x)IL-15的水平,例如,表达水平,和/或活性的增加;或(xi)增加的天然杀伤(NK)细胞增殖,例如,扩增,以上是与结合CD3分子,例如,CD3ε(CD3e)分子;或TCR阿尔法(TCRα)分子的抗体相比较。

[0304] 在一些实施方案中,所述第一药剂在与所述TCRβV区结合后导致记忆T细胞群,例如,T效应记忆(TEM)细胞,例如,表达CD45RA的TEM细胞(TEMRA细胞)的扩增,例如,至少约1.1-10倍扩增(例如,至少1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、2、3、4、5、6、7、8、9或10倍扩增)。

[0305] 在一些实施方案中,所述第一T细胞群中的记忆效应T细胞(例如TEM细胞,例如,TEMRA细胞)群的扩增相比于采用与CD3分子结合的抗体的相似细胞群的扩增是增加的。

[0306] 在一些实施方案中,所扩增的T效应记忆细胞群包括以下细胞:(i)具有可检测水平的CD45RA,例如,表达或再表达CD45RA的细胞;(ii)具有低CCR7表达或无CCR7表达的细胞;和/或(iii)具有可检测水平的CD95,例如,表达CD95,例如,CD45RA+、CCR7-、CD95+T细胞群的细胞,任选地其中所述T细胞包括CD3+、CD4+或CD8+T细胞。

[0307] 在一些实施方案中,所述第一药剂与所述TCRβV区的结合导致以下之一、二、三、四、五、六、七、八、九、十或更多(例如,全部)项:(i)IL-1β的水平,例如,表达水平,和/或活性的降低;(ii)IL-6的水平,例如,表达水平,和/或活性的降低;(iii)TNFα的水平,例如,表达水平,和/或活性的降低;(iv)IL-2的水平,例如,表达水平,和/或活性的增加;(v)IL-2的水平,例如,表达水平,和/或活性增加的延迟,例如,至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多小时的延迟;(vi)IFNγ的水平,例如,表达水平,和/或活性增加的延迟,例如,至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10小时的延迟;(vii)降低的T细胞增殖动力学;或(viii)减少的细胞因子风暴,例如,细胞因子释放综合征(CRS),例如,如通过本文所述的测定所测量的;(ix)细胞杀伤,例如,靶细胞杀伤,例如,癌细胞杀伤,例如,如通过本文所述的测定所测量的;(x)IL-15的水平,例如,表达水平,和/或活性的增加;或(xi)增加的天然杀伤(NK)细胞增殖,例如,扩增,以上是与结合CD3分子,例如,CD3ε(CD3e)分子;或TCR阿尔法(TCRα)分子的抗体相比较。

[0308] 在一些实施方案中,所述第一药剂与所述TCRβV区的结合导致IL-1β的表达水平和/或活性降低至少2、5、10、20、50、100或200倍或至少2-200倍(例如,5-150、10-100、20-50倍),如通过本文所述的测定所测量的。

[0309] 在一些实施方案中,所述第一药剂与所述TCRβV区的结合导致IL-6的表达水平和/或活性降低至少2、5、10、20、50、100、200、300、400、500、600、700、800、900或1000倍或至少2-1000倍(例如,5-900、10-800、20-700、50-600、100-500或200-400倍),如通过本文所述的测定所测量的。

[0310] 在一些实施方案中，所述第一药剂与所述TCRβV区的结合导致TNFα的表达水平和/或活性降低至少2、5、10、20、50、100、200、300、400、500、600、700、800、900、1000或2000倍或至少2-2000倍(例如，5-1000、10-900、20-800、50-700、100-600、200-500或300-400倍)，如通过本文所述的测定所测量的。

[0311] 在一些实施方案中，所述第一药剂与所述TCRβV区的结合导致IL-2的表达水平和/或活性增加至少2、5、10、20、50、100、200、300、400、500、600、700、800、900、1000或2000倍或至少2-2000倍(例如，5-1000、10-900、20-800、50-700、100-600、200-500或300-400倍)，如通过本文所述的测定所测量的。

[0312] 本文所述的方法包括预防或减轻人类受试者的细胞因子释放综合征(CRS)的方法，所述方法包括：从人类受试者取得多个T细胞；扩增来自所述人类受试者的所述多个T细胞，从而产生第一T细胞群，所述扩增包括使所述多个T细胞与第一药剂接触，其中所述第一药剂包括与T细胞受体β可变链(TCRβV)区特异性结合的域；向所述人类受试者输注所述第一T细胞群的至少一部分，其中所述受试者未显示CRS的症状，或者相对于被输注通过从所述受试者取得多个T细胞并且经由使所述多个T细胞与结合CD3(例如，CD3e)的药剂接触来扩增所述多个T细胞而产生的至少第一T细胞群的人类受试者，CRS症状(例如，本文所述的一种或多种症状)的严重性降低。

[0313] 在一些实施方案中，所述人类受试者患有癌症。

[0314] 在一些实施方案中，所述第一药剂包括与第一TCRβV的TCRβV区特异性结合的域，并且所述第二药剂包括与第二TCRβV的TCRβV区特异性结合的域，其中所述第一TCRβV和所述第二TCRβV属于不同的TCRβV亚家族或是相同TCRβV亚家族的不同成员。

[0315] 在一些实施方案中，所述第一药剂包括与属于以下亚家族的第一TCRβV的TCRβV区特异性结合的域：TCRβV6亚家族、TCRβV10亚家族、TCRβV12亚家族、TCRβV5亚家族、TCRβV7亚家族、TCRβV11亚家族、TCRβV14亚家族、TCRβV16亚家族、TCRβV18亚家族、TCRβV9亚家族、TCRβV13亚家族、TCRβV4亚家族、TCRβV3亚家族、TCRβV2亚家族、TCRβV15亚家族、TCRβV30亚家族、TCRβV19亚家族、TCRβV27亚家族、TCRβV28亚家族、TCRβV24亚家族、TCRβV20亚家族、TCRβV25亚家族或TCRβV29亚家族；所述第二药剂包括与属于以下亚家族的TCRβV的第二TCRβV区特异性结合的域：TCRβV6亚家族、TCRβV10亚家族、TCRβV12亚家族、TCRβV5亚家族、TCRβV7亚家族、TCRβV11亚家族、TCRβV14亚家族、TCRβV16亚家族、TCRβV18亚家族、TCRβV9亚家族、TCRβV13亚家族、TCRβV4亚家族、TCRβV3亚家族、TCRβV2亚家族、TCRβV15亚家族、TCRβV30亚家族、TCRβV19亚家族、TCRβV27亚家族、TCRβV28亚家族、TCRβV24亚家族、TCRβV20亚家族、TCRβV25亚家族或TCRβV29亚家族，并且其中所述第一药剂和所述第二药剂各自与属于不同亚家族的TCRβV或相同TCRβV亚家族的不同成员特异性结合。

[0316] 在一些实施方案中，所述第一药剂和所述第二药剂各自特异性结合属于不同亚家族的TCRβV。在一些实施方案中，所述第一药剂和所述第二药剂各自特异性结合相同TCRβV亚家族的不同成员。

[0317] 在一些实施方案中，所述方法进一步包括使所述多个T细胞与一种或多种(例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多种)药剂接触，其中所述一种或多种药剂中的每一种包括与T细胞受体β可变链(TCRβV)区特异性结合的域，其中所述一种或多种药剂中的每一种与不同的T细胞受体β可变链(TCRβV)区特异性结合，并且其中所述一种或多种药剂特异性结合的

每一个TCRβV区不用于所述第一药剂和所述第二药剂特异性结合的TCRβV区。

[0318] 在一些实施方案中，所述一种或多种(例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多种)药剂中的每一种与属于不同TCRβV亚家族的TCRβV或是相同TCRβV亚家族的不同成员特异性结合；并且其中所述一种或多种药剂中的每一种特异性结合属于不同TCRβV亚家族的不同于所述第一药剂和所述第二药剂所结合的TCRβV的TCRβV，或者所述一种或多种药剂中的每一种特异性结合相同TCRβV亚家族的与所述第一药剂、所述第二药剂或二者所结合的TCRβV相同的不同成员。

[0319] 在一些实施方案中，所述一种或多种(例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多种)药剂各自包括与属于以下家族的TCRβV的TCRβV区特异性结合的域：TCRβV6亚家族、TCRβV10亚家族、TCRβV12亚家族、TCRβV5亚家族、TCRβV7亚家族、TCRβV11亚家族、TCRβV14亚家族、TCRβV16亚家族、TCRβV18亚家族、TCRβV9亚家族、TCRβV13亚家族、TCRβV4亚家族、TCRβV3亚家族、TCRβV2亚家族、TCRβV15亚家族、TCRβV30亚家族、TCRβV19亚家族、TCRβV27亚家族、TCRβV28亚家族、TCRβV24亚家族、TCRβV20亚家族、TCRβV25亚家族或TCRβV29亚家族。

[0320] 在一些实施方案中，所述一种或多种(例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多种)药剂中的每一种特异性结合属于不同亚家族的TCRβV，并且其中所述一种或多种药剂中的每一种特异性结合属于不同亚家族的不同于所述第一药剂和所述第二药剂所结合的TCRβV的TCRβV。

[0321] 在一些实施方案中，所述第一药剂进一步包括第二域，所述第二域与在所述多个T细胞中的一个或多个T细胞的表面上表达的蛋白质结合。在一些实施方案中，所述第一药剂是双特异性抗体分子。

[0322] 在一些实施方案中，所述第二域与T细胞受体β可变链(TCRβV)区特异性结合。在一些实施方案中，所述第二域和所述第一域与不同的T细胞受体β可变链(TCRβV)区特异性结合。在一些实施方案中，所述第二域和所述第一域特异性结合属于不同亚家族的TCRβV或相同TCRβV亚家族的不同成员。在一些实施方案中，所述第一域与属于以下亚家族的TCRβV的TCRβV区特异性结合：TCRβV6亚家族、TCRβV10亚家族、TCRβV12亚家族、TCRβV5亚家族、TCRβV7亚家族、TCRβV11亚家族、TCRβV14亚家族、TCRβV16亚家族、TCRβV18亚家族、TCRβV9亚家族、TCRβV13亚家族、TCRβV4亚家族、TCRβV3亚家族、TCRβV2亚家族、TCRβV15亚家族、TCRβV30亚家族、TCRβV19亚家族、TCRβV27亚家族、TCRβV28亚家族、TCRβV24亚家族、TCRβV20亚家族、TCRβV25亚家族或TCRβV29亚家族，并且所述第二域与属于以下家族的TCRβV的TCRβV区特异性结合：TCRβV6亚家族、TCRβV10亚家族、TCRβV12亚家族、TCRβV5亚家族、TCRβV7亚家族、TCRβV11亚家族、TCRβV14亚家族、TCRβV16亚家族、TCRβV18亚家族、TCRβV9亚家族、TCRβV13亚家族、TCRβV4亚家族、TCRβV3亚家族、TCRβV2亚家族、TCRβV15亚家族、TCRβV30亚家族、TCRβV19亚家族、TCRβV27亚家族、TCRβV28亚家族、TCRβV24亚家族、TCRβV20亚家族、TCRβV25亚家族或TCRβV29亚家族。在一些实施方案中，所述第二域和所述第一域特异性结合属于不同亚家族的TCRβV。在一些实施方案中，所述第二域和所述第一域特异性结合相同TCRβV亚家族的不同成员。

[0323] 在一些实施方案中，所述第二域与CD19或4-1BB特异性结合。

[0324] 在一些实施方案中，所述第二域与抗体分子特异性结合。在一些实施方案中，所述抗体分子由所述多个T细胞中的一个或多个T细胞表达。在一些实施方案中，所述抗体分子

包括可变重链和可变轻链。在一些实施方案中,所述抗体分子是scFv或Fab。在一些实施方案中,所述第二域与所述抗体分子的轻链特异性结合。在一些实施方案中,所述第二域与抗体分子的κ轻链区特异性结合。在一些实施方案中,所述第二域包括蛋白质L。

[0325] 在一些实施方案中,所述第一T细胞群表现出以下一项或多项:(i)IL-1β的表达降低,(ii)IL-6的表达水平降低,(iii)TNFα的表达降低,(iv)IL-2的表达增加,(v)IFNγ的表达增加,(vi)IFNγ的表达维持和(vii)4-1BB的表达增加,以上是相对于接触过包括特异性结合CD3(例如CD3ε)的域的药剂的多个T细胞。

[0326] 在一些实施方案中,所述接触包括将所述多个T细胞与所述第一药剂一起温育。

[0327] 在一些实施方案中,接触包括将所述多个T细胞与所述第一药剂一起温育或培养至少约10分钟、20分钟、30分钟、1小时、6小时、10小时、12小时、24小时、36小时、48小时、72小时、5天、7天、10天、14天、15天或30天。在一些实施方案中,接触包括将所述多个T细胞与所述第一药剂一起温育或培养至多约10分钟、20分钟、30分钟、1小时、6小时、10小时、12小时、24小时、36小时、48小时、72小时、5天、7天、10天、12天、14天、15天、21天、30天、45天或60天。在一些实施方案中,接触包括将所述多个T细胞与所述第一药剂一起温育或培养约10-90分钟、10-60分钟、10-30分钟、1-30天、1-21天、1-14天、1-7天、1-5天、1-3天、21-30天、14-30天、7-30天、5-30天或3-30天。

[0328] 在一些实施方案中,所述第一药剂偶联至固体表面(例如,珠粒)。在一些实施方案中,所述第一药剂包括抗体域。

[0329] 在一些实施方案中,所述第一药剂包括抗独特型抗体域。在一些实施方案中,所述第一药剂包括小鼠抗体域。在一些实施方案中,所述第一药剂包括人抗体域。在一些实施方案中,所述第一药剂包括人源化抗体域。在一些实施方案中,所述第一药剂包括包含单链Fv(scFv)或Fab的抗原结合域。在一些实施方案中,所述第一药剂包括:包含两条抗体重链和两条抗体轻链的抗体,每条重链包括可变区和恒定区,每条轻链包括可变区和恒定区。

[0330] 在一些实施方案中,所述多个T细胞包括包含外源性核酸的一个或多个T细胞。

[0331] 在一些实施方案中,所述多个T细胞包括包含编码嵌合多肽的外源性核酸的一个或多个T细胞。在一些实施方案中,所述方法包括在使所述多个T细胞与所述第一药剂接触之前,将外源性核酸引入所述多个T细胞的一个或多个T细胞中。在一些实施方案中,所述方法包括在使所述多个T细胞与所述第一药剂接触之后,将外源性核酸引入所述多个T细胞的一个或多个T细胞中。在一些实施方案中,所述方法进一步包括在使所述多个T细胞与所述第一药剂接触之前,将编码嵌合多肽的外源性核酸引入所述多个T细胞的一个或多个T细胞中。在一些实施方案中,所述方法进一步包括在使所述多个T细胞与所述第一药剂接触之后,将编码嵌合多肽的外源性核酸引入所述多个T细胞的一个或多个T细胞中。在一些实施方案中,所述外源性核酸通过转导或转染而引入。

[0332] 在一些实施方案中,所述嵌合多肽是嵌合抗原受体(CAR)。在一些实施方案中,所述嵌合抗原受体(CAR)包括抗原结合区、跨膜区和胞内信号传导区。在一些实施方案中,所述胞内信号传导区包括一个或多个信号传导域。在一些实施方案中,所述胞内信号传导域包括来自CD27、CD28、4-1BB、ICOS、OX40、DAP10、DAP12、CD134、CD3-ζ或其片段或组合的信号传导域。在一些实施方案中,所述跨膜区包括来自CD8、CD28或CTLA4的跨膜区。

[0333] 在一些实施方案中,所述抗原结合区包括抗体域。在一些实施方案中,所述抗体域

包括scFv或Fab。在一些实施方案中，所述抗原结合区特异性结合肿瘤相关抗原。

[0334] 在一些实施方案中，所述嵌合多肽是嵌合T细胞受体(TCR)。在一些实施方案中，所述嵌合TCR包括抗原结合区。在一些实施方案中，所述嵌合TCR进一步包括跨膜区。在一些实施方案中，所述嵌合TCR进一步包括胞内信号传导区。在一些实施方案中，所述嵌合TCR包括TCRα多肽和TCRβ多肽。在一些实施方案中，嵌合TCR包括TCRγ多肽和TCRδ多肽。

[0335] 在一些实施方案中，所述多个T细胞包括来自人类受试者的一个或多个T细胞。在一些实施方案中，所述一个或多个T细胞经由单采血液成分术从所述人类受试者取得。在一些实施方案中，所述多个T细胞包括来自健康人类受试者(例如，受试者未患有或未诊断出预定的疾病或病况，例如，癌症)的一个或多个T细胞。在一些实施方案中，所述多个T细胞包括来自患有或诊断出疾病或病况(例如，诊断出特定的疾病或病况，例如，癌症)的哺乳动物(例如，人类)受试者的一个或多个T细胞。在一些实施方案中，所述疾病是癌症。在一些实施方案中，所述癌症是实体瘤或血液学癌症。在一些实施方案中，所述癌症选自白血病、淋巴瘤、骨髓瘤、前列腺癌、肺癌、肾癌、胃癌、结肠癌、卵巢癌、膀胱癌、乳腺癌、宫颈癌、食道癌、睾丸癌、肝癌、胰腺癌、直肠癌、甲状腺癌、子宫癌、皮肤癌、肌肉癌、软骨癌、骨癌、内皮癌、上皮癌、真皮癌、基底癌、视网膜癌、皮肤癌或脑癌。

[0336] 在一些实施方案中，所述多个T细胞包括一个或多个自体T细胞。在一些实施方案中，所述多个T细胞包括一个或多个同种异体T细胞。

[0337] 在一些实施方案中，所述第一T细胞群中的细胞数比接触所述第一药剂之前的所述多个T细胞的细胞数高至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、50、100或1000倍。

[0338] 在一些实施方案中，特异性结合CD3(例如，CD3ε)的所述药剂包括抗体域(例如，抗CD3抗体(例如，抗CD3ε抗体))。

[0339] 在一些实施方案中，特异性结合CD3的的所述药剂特异性结合CD3ε。

[0340] 在一些实施方案中，所述第一药剂在与所述TCRβV区结合后导致以下之一、二、三、四、五、六、七、八、九、十或更多(例如，全部)项：(i)IL-1β的水平，例如，表达水平，和/或活性的降低；(ii)IL-6的水平，例如，表达水平，和/或活性的降低；(iii)TNFα的水平，例如，表达水平，和/或活性的降低；(iv)IL-2的水平，例如，表达水平，和/或活性的增加；(v)IL-2的水平，例如，表达水平，和/或活性增加的延迟，例如，至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多小时的延迟；(vi)IFNγ的水平，例如，表达水平，和/或活性增加的延迟，例如，至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10小时的延迟；(vii)降低的T细胞增殖动力学；或(viii)减少的细胞因子风暴，例如，细胞因子释放综合征(CRS)，例如，如通过本文所述的测定所测量的；(ix)细胞杀伤，例如，靶细胞杀伤，例如，癌细胞杀伤，例如，如通过本文所述的测定所测量的；(x)IL-15的水平，例如，表达水平，和/或活性的增加；或(xi)增加的天然杀伤(NK)细胞增殖，例如，扩增，以上是与结合CD3分子，例如，CD3ε(CD3e)分子；或TCR阿尔法(TCRα)分子的抗体相比较。

[0341] 在一些实施方案中，所述第一药剂在与所述TCRβV区结合后导致记忆T细胞群，例如，T效应记忆(TEM)细胞，例如，表达CD45RA的TEM细胞(TEMRA细胞)的扩增，例如，至少约1.1-10倍扩增(例如，至少1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、2、3、4、5、6、7、8、9或10倍扩增)。

[0342] 在一些实施方案中，所述第一T细胞群中的记忆效应T细胞(例如，TEM细胞，例如，TEMRA细胞)群的扩增相比于采用与CD3分子结合的抗体的相似细胞群的扩增是增加的。

[0343] 在一些实施方案中，所扩增的T效应记忆细胞群包括以下细胞：(i)具有可检测水

平的CD45RA，例如，表达或再表达CD45RA的细胞；(ii)具有低CCR7表达或无CCR7表达的细胞；和/或(iii)具有可检测水平的CD95，例如，表达CD95，例如，CD45RA+、CCR7-、CD95+T细胞群的细胞，任选地其中所述T细胞包括CD3+、CD4+或CD8+T细胞。

[0344] 在一些实施方案中，所述第一药剂与所述TCRβV区的结合导致以下之一、二、三、四、五、六、七、八、九、十或更多(例如，全部)项：(i)IL-1β的水平，例如，表达水平，和/或活性的降低；(ii)IL-6的水平，例如，表达水平，和/或活性的降低；(iii)TNFα的水平，例如，表达水平，和/或活性的降低；(iv)IL-2的水平，例如，表达水平，和/或活性的增加；(v)IL-2的水平，例如，表达水平，和/或活性增加的延迟，例如，至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多小时的延迟；(vi)IFNγ的水平，例如，表达水平，和/或活性增加的延迟，例如，至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10小时的延迟；(vii)降低的T细胞增殖动力学；或(viii)减少的细胞因子风暴，例如，细胞因子释放综合征(CRS)，例如，如通过本文所述的测定所测量的；(ix)细胞杀伤，例如，靶细胞杀伤，例如，癌细胞杀伤，例如，如通过本文所述的测定所测量的；(x)IL-15的水平，例如，表达水平，和/或活性的增加；或(xi)增加的天然杀伤(NK)细胞增殖，例如，扩增，以上是与结合至CD3分子，例如，CD3ε(CD3e)分子；或TCR阿尔法(TCRα)分子的抗体相比较。

[0345] 在一些实施方案中，所述第一药剂与所述TCRβV区的结合导致IL-1β的表达水平和/或活性降低至少2、5、10、20、50、100或200倍或至少2-200倍(例如，5-150、10-100、20-50倍)，如通过本文所述的测定所测量的。

[0346] 在一些实施方案中，所述第一药剂与所述TCRβV区的结合导致IL-6的表达水平和/或活性降低至少2、5、10、20、50、100、200、300、400、500、600、700、800、900或1000倍或至少2-1000倍(例如，5-900、10-800、20-700、50-600、100-500或200-400倍)，如通过本文所述的测定所测量的。

[0347] 在一些实施方案中，所述第一药剂与所述TCRβV区的结合导致TNFα的表达水平和/或活性降低至少2、5、10、20、50、100、200、300、400、500、600、700、800、900、1000或2000倍或至少2-2000倍(例如，5-1000、10-900、20-800、50-700、100-600、200-500或300-400倍)，如通过本文所述的测定所测量的。

[0348] 在一些实施方案中，所述第一药剂与所述TCRβV区的结合导致IL-2的表达水平和/或活性增加至少2、5、10、20、50、100、200、300、400、500、600、700、800、900、1000或2000倍或至少2-2000倍(例如，5-1000、10-900、20-800、50-700、100-600、200-500或300-400倍)，如通过本文所述的测定所测量的。

[0349] 本文特别提供了编码嵌合抗原受体(CAR)的重组核酸，其中所述CAR包括：(a)抗原结合域，其中所述抗原结合域不含有T细胞受体α(TCRα)可变区或T细胞受体β(TCRβ)可变区；(b)跨膜域；和(c)包括TCRβ恒定区胞内域的胞内信号传导域；其中所述胞内信号传导域不含有功能性CD3ζ信号传导域。本文还特别提供了编码嵌合抗原受体(CAR)的重组核酸，其中所述CAR包括：(a)抗原结合域，其中所述抗原结合域是单链可变片段(scFv)或单域抗体；(b)跨膜域；和(c)包括TCRβ胞内域的胞内信号传导域；其中所述胞内信号传导域不含有功能性CD3ζ信号传导域。

[0350] 在一些实施方案中，所述嵌合抗原受体(CAR)不含有T细胞受体α(TCRα)可变区或T细胞受体β(TCRβ)可变区。

[0351] 在一些实施方案中,所述抗原结合域、跨膜域和胞内信号传导域可操作地连接。

[0352] 在一些实施方案中,所述CAR进一步包括TCRβ恒定域。在一些实施方案中,所述TCRβ恒定域是TCRβ1恒定域。在一些实施方案中,所述TCRβ恒定域是TCRβ2恒定域。在一些实施方案中,所述CAR包括与SEQ ID NO:296至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同源的TCRβ恒定域1。

[0353] 在一些实施方案中,所述CAR包括与SEQ ID NO:297至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同源的TCRβ恒定域1。

[0354] 在一些实施方案中,所述CAR包括与SEQ ID NO:300至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同源的TCRβ恒定域2。

[0355] 在一些实施方案中,所述CAR包括与SEQ ID NO:301至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同源的TCRβ恒定域2。

[0356] 在一些实施方案中,所述跨膜域包括选自T细胞受体β链、T细胞受体α链、CD28、CD3ε、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137或CD154的蛋白质的跨膜域。

[0357] 在一些实施方案中,所述跨膜域包括TCRβ恒定1域。在一些实施方案中,所述跨膜域包括TCRβ恒定2域。

[0358] 在一些实施方案中,所述跨膜域包括编码与SEQ ID NO:302至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同源的氨基酸序列的核酸。

[0359] 在一些实施方案中,所述跨膜域包括编码与SEQ ID NO:298至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同源的氨基酸序列的核酸。

[0360] 在一些实施方案中,所述抗原结合域通过接头连接至所述跨膜域。在一些实施方案中,所述接头包括甘氨酸和丝氨酸或由甘氨酸和丝氨酸组成。

[0361] 在一些实施方案中,所述TCRβ恒定胞内域包括TCRβ恒定1胞内域。在一些实施方案中,所述TCRβ恒定胞内域包括TCRβ恒定2胞内域。

[0362] 在一些实施方案中,所述TCRβ胞内域包括编码与SEQ ID NO:299至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同源的氨基酸序列的核酸。

[0363] 在一些实施方案中,所述TCRβ胞内域包括编码与SEQ ID NO:303至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同源的氨基酸序列的核酸。

[0364] 在一些实施方案中,所述胞内信号传导域进一步包括共刺激信号传导域。在一些实施方案中,所述胞内信号传导域从N到C末端包括一个或多个共刺激信号传导域和TCRβ恒定区胞内域。

[0365] 在一些实施方案中,所述共刺激信号传导域包括选自以下的一种或多种蛋白质的一个或多个功能性信号传导域:4-1BB(CD137)、OX40、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CDS、ICAM-1、B7-H3、ICOS(CD278)、GITR、BAFFR、LIGHT、HVEM(LIGHTR)、KIRDS2、SLAMF7、NKp80(KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL2Rβ、IL2Rβ、IL7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、ITGB7、NKG2D、NKG2C、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1(CD226)、SLAMF4(CD244、2B4)、CD84、CD96(触觉的)、CEACAM1、CRTAM、Ly9(CD229)、CD160(BY55)、PSGL1、CD100(SEMA4D)、CD69、SLAMF6(NTB-A、Ly108)、SLAM

(SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME(SLAMF8)、SELPLG(CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a、与CD83特异性结合的配体、MHC I类分子、TNF受体蛋白、免疫球蛋白样蛋白、细胞因子受体、整合素、信号传导淋巴细胞激活分子(SLAM蛋白)、活化NK细胞受体、BTLA和Toll配体受体。

[0366] 在一些实施方案中,所述抗原结合域是人或人源化的单链可变片段(scFv)或单域抗体(sdAb)。在一些实施方案中,所述抗原结合域包括单链可变片段(scFv)。在一些实施方案中,所述抗原结合域包括单域抗体(sdAb)。

[0367] 在一些实施方案中,所述抗原结合域与肿瘤相关抗原结合。

[0368] 在一些实施方案中,所编码的嵌合抗原受体(CAR)在框中表达并作为单条多肽链表达。

[0369] 本文特别提供了包括本文所述的核酸分子的载体。在一些实施方案中,所述载体是DNA载体、RNA载体、质粒、慢病毒载体、腺病毒载体或逆转录病毒载体。

[0370] 本文特别提供了制备免疫效应细胞的方法,包括用本文所述的载体转导所述免疫效应细胞。在一些实施方案中,所述免疫效应细胞是T细胞或NK细胞。在一些实施方案中,所述免疫效应细胞是自体或同种异体免疫效应细胞。

[0371] 本文特别提供了包括本文所述的核酸分子的免疫效应细胞。

[0372] 在一些实施方案中,所述免疫效应细胞通过本文所述的方法制备。在一些实施方案中,所述免疫效应细胞是T细胞或NK细胞。在一些实施方案中,所述免疫效应细胞是自体或同种异体免疫效应细胞。

[0373] 在一些实施方案中,在所述抗原结合域与细胞所表达的同源抗原结合后,所述免疫效应细胞的一种或多种促炎细胞因子(例如,IFNγ、TNFα、IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF)的表达(例如,释放)水平相对于包含编码包括CD3ζ胞内信号传导域的CAR的核酸的免疫效应细胞的所述一种或多种促炎细胞因子(例如,IFNγ、TNFα、IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF)的表达(例如,释放)水平降低。

[0374] 在一些实施方案中,在所述抗原结合域与细胞所表达的同源抗原结合后,所述免疫效应细胞的一种或多种促炎细胞因子(例如,IFNγ、TNFα、IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF)的表达(例如,释放)水平相对于包含编码包括CD3ζ胞内信号传导域的CAR的核酸的免疫效应细胞的所述一种或多种促炎细胞因子(例如,IFNγ、TNFα、IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF)的表达(例如,释放)水平降低至少1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%。

[0375] 在一些实施方案中,在存在一种或多种抗原呈递细胞的情况下所述抗原结合域与细胞所表达的同源抗原结合后,一种或多种(例如群体)抗原呈递细胞(例如,树突细胞或巨噬细胞)的一种或多种促炎细胞因子(例如,IL-6、IFNγ、TNFα、IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF)的表达(例如,释放)水平相对于在存在包含编码包括CD3ζ胞内信号传导域的CAR的核酸的免疫效应细胞的情况下一种或多种(例如群体)抗原呈递细胞的所述一种或多种促炎细胞因子(例如,IL-6、IFNγ、TNFα、IL-6、

IL-1β、IL-8、IL-10、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF)的表达(例如,释放)水平降低。

[0376] 在一些实施方案中,在存在一种或多种抗原呈递细胞的情况下所述抗原结合域与细胞所表达的同源抗原结合后,一种或多种(例如群体)抗原呈递细胞(例如,树突细胞或巨噬细胞)的一种或多种促炎细胞因子(例如,IL-6、IFNγ、TNFα、IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF)的表达(例如,释放)水平相对于在存在包含编码包括CD3ζ胞内信号传导域的CAR的核酸的免疫效应细胞的情况下一种或多种(例如群体)抗原呈递细胞的所述一种或多种促炎细胞因子(例如,IL-6、IFNγ、TNFα、IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF)的表达(例如,释放)水平降低至少1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%。

[0377] 在一些实施方案中,在存在一种或多种抗原呈递细胞的情况下所述抗原结合域与细胞所表达的同源抗原体外结合后,一种或多种(例如群体)抗原呈递细胞(例如,树突细胞或巨噬细胞)的一种或多种促炎细胞因子(例如,IL-6、IFNγ、TNFα、IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF)的表达(例如,释放)水平相对于在存在包含编码包括CD3ζ胞内信号传导域的CAR的核酸的免疫效应细胞的情况下一种或多种(例如群体)抗原呈递细胞的所述一种或多种促炎细胞因子(例如,IL-6、IFNγ、TNFα、IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF)的表达(例如,释放)水平降低。

[0378] 在一些实施方案中,在存在一种或多种抗原呈递细胞的情况下所述抗原结合域与细胞所表达的同源抗原体外结合后,一种或多种(例如群体)抗原呈递细胞(例如,树突细胞或巨噬细胞)的一种或多种促炎细胞因子(例如,IL-6、IFNγ、TNFα、IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF)的表达(例如,释放)水平相对于在存在包含编码包括CD3ζ胞内信号传导域的CAR的核酸的免疫效应细胞的情况下一种或多种(例如群体)抗原呈递细胞的所述一种或多种促炎细胞因子(例如,IL-6、IFNγ、TNFα、IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF)的表达(例如,释放)水平降低至少1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%。

[0379] 本文特别提供了包括本文所述的免疫效应细胞的药物组合物。

[0380] 本文特别提供了由本文所述的重组核酸编码的多肽。

[0381] 本文特别提供了产生RNA工程化细胞群的方法,包括将体外转录的RNA或合成RNA引入细胞中,其中所述RNA包括本文所述的核酸分子。

[0382] 本文特别提供了嵌合抗原受体(CAR),包括:(a)抗原结合域,其中所述抗原结合域不含有T细胞受体α(TCRα)可变区或T细胞受体β(TCRβ)可变区;(b)跨膜域;和(c)包括TCRβ恒定区胞内域的胞内信号传导域;其中所述胞内信号传导域不含有功能性CD3ζ胞内信号传导域。本文还特别提供了嵌合抗原受体(CAR),包括:(a)抗原结合域,其中所述抗原结合域是单链可变片段(scFv)或单域抗体;(b)跨膜域;和(c)包括TCRβ胞内域的胞内信号传导域;其中所述胞内信号传导域不含有功能性CD3ζ胞内信号传导域。

[0383] 在一些实施方案中,所述CAR不包括T细胞受体α(TCRα)可变区或T细胞受体β(TCR

β)可变区。

[0384] 在一些实施方案中,所述抗原结合域、跨膜域和胞内信号传导域可操作地连接。在一些实施方案中,所述跨膜域包括选自T细胞受体β链、T细胞受体α链、CD28、CD3ε、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137和CD154的蛋白质的跨膜域。

[0385] 在一些实施方案中,所述跨膜域包括TCRβ跨膜域。在一些实施方案中,所述跨膜域包括TCRβ1跨膜域。在一些实施方案中,所述跨膜域包括TCRβ2跨膜域。

[0386] 在一些实施方案中,所述跨膜域包括编码与SEQ ID NO:298至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同源的氨基酸序列的核酸。

[0387] 在一些实施方案中,所述跨膜域包括编码与SEQ ID NO:302至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同源的氨基酸序列的核酸。

[0388] 在一些实施方案中,所述抗原结合域通过接头连接至所述跨膜域。在一些实施方案中,所述接头包括甘氨酸和丝氨酸。

[0389] 在一些实施方案中,所述TCRβ恒定胞内域包括TCRβ恒定1胞内域。在一些实施方案中,所述TCRβ恒定胞内域包括TCRβ恒定2胞内域。

[0390] 在一些实施方案中,所述胞内信号传导域包括编码与SEQ ID NO:299至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同源的氨基酸序列的核酸。

[0391] 在一些实施方案中,所述胞内信号传导域包括编码与SEQ ID NO:303至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同源的氨基酸序列的核酸。

[0392] 在一些实施方案中,所述胞内信号传导域进一步包括共刺激信号传导域。在一些实施方案中,所述胞内信号传导域从N到C末端包括一个或多个共刺激信号传导域和TCRβ恒定区胞内域。在一些实施方案中,所述共刺激信号传导域包括选自以下的一种或多种蛋白质的一个或多个功能性信号传导域:4-1BB(CD137)、OX40、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CDS、ICAM-1、B7-H3、ICOS(CD278)、GITR、BAFFR、LIGHT、HVEM(LIGHTR)、KIRDS2、SLAMF7、NKp80(KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL2Rβ、IL2Rβ、IL7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、ITGB7、NKG2D、NKG2C、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1(CD226)、SLAMF4(CD244、2B4)、CD84、CD96(触觉的)、CEACAM1、CRTAM、Ly9(CD229)、CD160(BY55)、PSGL1、CD100(SEMA4D)、CD69、SLAMF6(NTB-A、Ly108)、SLAM(SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME(SLAMF8)、SELPLG(CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a、与CD83特异性结合的配体、MHC I类分子、TNF受体蛋白、免疫球蛋白样蛋白、细胞因子受体、整合素、信号传导淋巴细胞激活分子(SLAM蛋白)、活化NK细胞受体、BTLA和Toll配体受体。

[0393] 在一些实施方案中,所述抗原结合域是人或人源化的单链可变片段(scFv)和单域抗体。

[0394] 在一些实施方案中,所述抗原结合域包括单链可变片段(scFv)。在一些实施方案中,所述抗原结合域包括单域抗体(sdAb)。

[0395] 在一些实施方案中,所述抗原结合域与肿瘤相关抗原结合。

[0396] 在一些实施方案中,所述CAR通过本文所述的方法制造。

[0397] 本文特别提供了治疗受试者的癌症的方法，所述方法包括：向所述受试者施用表达本文所述的嵌合抗原受体(CAR)的细胞(例如，细胞群，例如，免疫效应细胞群)。

[0398] 在一些实施方案中，所述嵌合抗原受体(CAR)由本文所述的核酸分子编码。

[0399] 本文特别提供了预防患有癌症的受试者的细胞因子释放综合征(CRS)(例如，与施用嵌合抗原受体(CAR)细胞疗法相关或由其诱导的CRS)的方法，所述方法包括：向所述受试者施用表达本文所述的嵌合抗原受体(CAR)的细胞(例如，细胞群，例如，免疫效应细胞群)。

[0400] 在一些实施方案中，所述嵌合抗原受体(CAR)由本文所述的核酸分子编码。

[0401] 在一些实施方案中，在施用所述细胞(例如，细胞群，例如，免疫效应细胞群)的1、2、3、4、5、6、7、10、14、21或30天之内，所述受试者未表现出一种或多种CRS症状(例如，如本文所述)。在一些实施方案中，所述受试者未表现出一种或多种4级或5级CRS症状(例如，如本文所述)。在一些实施方案中，所述受试者未表现出任何4级或5级CRS症状(例如，如本文所述)。在一些实施方案中，在施用所述细胞(例如，细胞群，例如，免疫效应细胞群)后(例如，1小时、6小时、12小时、1天、2天、3天、4天、5天、6天、7天、10天、14天、21天、30天)，所述受试者的血清中选自IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、IFNγ、TNFα、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF的一种或多种蛋白质的水平处于被施用所述细胞(例如，细胞群，例如，免疫效应细胞群)之前(例如，10分钟、30分钟、1小时、6小时、12小时、24小时、48小时、72小时)的所述受试者的血清中所述一种或多种蛋白质的水平的±20％、±15％、±10％、±9％、±8％、±7％、±6％、±5％、±4％、±3％、±2％或±1％之内。

[0402] 在一些实施方案中，所述方法进一步包括基于确定以下一项或多项来选择受试者进行所述细胞(例如，细胞群，例如，免疫效应细胞群)的施用：所述受试者发展出CRS的风险；如果施用了表达包括CD3ζ信号传导域的CAR的细胞，所述受试者发展出CRS的风险；所述受试者的CRS诊断；所述受试者的与施用表达包括CD3ζ信号传导域的CAR的细胞相关或由其诱导的CRS的诊断。

[0403] 在一些实施方案中，如果有以下情形，选择所述受试者进行施用：所述受试者存在发展出CRS的风险；如果施用了包括表达CAR CD3ζ信号传导域的细胞的CAR，所述受试者存在发展出CRS的风险；所述受试者已经诊断出CRS；所述受试者已经诊断出与施用表达包括CD3ζ信号传导域的CAR的细胞相关或由其诱导的CRS。

[0404] 在一些实施方案中，所述细胞(例如，细胞群，例如，免疫效应细胞群)是本文所述的细胞。在一些实施方案中，所述细胞(例如，细胞群，例如，免疫效应细胞群)是T细胞或NK细胞。在一些实施方案中，所述细胞(例如，细胞群，例如，免疫效应细胞群)是自体的或同种异体的免疫效应细胞。

[0405] 在一些实施方案中，所述受试者是哺乳动物，例如，人类。

[0406] 在一些实施方案中，所述细胞(例如，细胞群，例如，免疫效应细胞群)与其他治疗剂联合施用。

[0407] 在一些实施方案中，所述癌症是实体癌症或血液学癌症。在一些实施方案中，所述癌症是实体癌症。在一些实施方案中，所述实体癌症是前列腺癌、肺癌、肾癌、胃癌、结肠癌、卵巢癌、膀胱癌、乳腺癌、宫颈癌、食道癌、睾丸癌、肝癌、胰腺癌、直肠癌、甲状腺癌、子宫癌、皮肤癌、肌肉癌、软骨癌、骨癌、内皮癌、上皮癌、真皮癌、基底癌、视网膜癌、皮肤癌或脑癌。在一些实施方案中，所述血液学癌症是白血病、淋巴瘤或骨髓瘤。在一些实施方案中，所述

血液学癌症是B细胞急性淋巴细胞性白血病(B-ALL)、T细胞急性淋巴细胞性白血病(T-ALL)、急性成淋巴细胞性白血病(ALL);慢性髓细胞性白血病(CML)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、B细胞幼淋巴细胞白血病、母细胞性浆细胞样树突细胞肿瘤、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、小细胞型滤泡性淋巴瘤、大细胞型滤泡性淋巴瘤、恶性淋巴增生性病况、MALT淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、多发性骨髓瘤、骨髓增生异常、骨髓增生异常综合征、非霍奇金淋巴瘤、浆母细胞淋巴瘤、浆细胞样树突细胞肿瘤、华氏巨球蛋白血症或白血病前期。

[0408] 本文特别提供了重组T细胞受体(TCR),包括:(a)TCRα链,其包括i)免疫球蛋白可变重域,ii)TCRα跨膜域,和iii)任选包括TCRα胞内域的胞内信号传导域;(b)TCRβ链,其包括i)免疫球蛋白可变轻域,ii)TCRβ跨膜域,和iii)包括TCRβ胞内域的胞内信号传导域;其中所述免疫球蛋白可变重域和所述免疫球蛋白可变轻域形成抗原结合域;其中所述重组TCR不含有功能性CD3ζ胞内信号传导域;并且其中所述重组TCR不包括T细胞受体α(TCRα)可变区或T细胞受体β(TCRβ)可变区。

[0409] 本文还特别提供了重组T细胞受体(TCR),包括:(a)TCRα链,其包括i)免疫球蛋白可变轻域,ii)TCRα跨膜域,和iii)任选包括TCRα胞内域的胞内信号传导域;(b)TCRβ链,其包括i)免疫球蛋白可变重域,ii)TCRβ跨膜域,和iii)包括TCRβ胞内域的胞内信号传导域;其中所述免疫球蛋白可变重域和所述免疫球蛋白可变轻域形成抗原结合域;其中所述重组TCR不含有功能性CD3ζ胞内信号传导域;并且其中所述重组TCR不包括T细胞受体α(TCRα)可变区或T细胞受体β(TCRβ)可变区。

[0410] 在一些实施方案中,所述TCRα链进一步包括TCRα恒定域。

[0411] 在一些实施方案中,所述TCRα链进一步包括与SEQ ID NO:293至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同源的TCRα恒定域。

[0412] 在一些实施方案中,所述TCRβ链进一步包括TCRβ恒定域。

[0413] 在一些实施方案中,所述TCRβ恒定域包括TCRβ恒定域1。

[0414] 在一些实施方案中,所述TCRβ恒定域包括TCRβ恒定域2。

[0415] 在一些实施方案中,所述TCRβ链包括与SEQ ID NO:296至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同源的TCRβ恒定域1。

[0416] 在一些实施方案中,所述TCRβ链包括与SEQ ID NO:297至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同源的TCRβ恒定域1。

[0417] 在一些实施方案中,所述TCRβ链进一步包括与SEQ ID NO:300至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同源的TCRβ恒定域2。

[0418] 在一些实施方案中,所述TCRβ链包括与SEQ ID NO:301至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同源的TCRβ恒定域2。

[0419] 在一些实施方案中,所述TCRβ跨膜域包括编码与SEQ ID NO:302至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同源的氨基酸序列的核酸。

[0420] 在一些实施方案中,所述TCRβ跨膜域包括编码与SEQ ID NO:298至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同源的氨基酸序列的核酸。

[0421] 在一些实施方案中,所述TCRα跨膜域包括编码与SEQ ID NO:294至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同源的氨基酸序列的核酸。

[0422] 在一些实施方案中,所述抗原结合域通过接头连接至所述跨膜域。在一些实施方案中,所述接头包括甘氨酸和丝氨酸或由甘氨酸和丝氨酸组成。

[0423] 在一些实施方案中,所述TCRβ胞内域包括TCRβ1胞内域。在一些实施方案中,所述TCRβ胞内域包括TCRβ2胞内域。

[0424] 在一些实施方案中,所述TCRβ胞内域包括编码与SEQ ID NO:299至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同源的氨基酸序列的核酸。

[0425] 在一些实施方案中,所述TCRβ胞内域包括编码与SEQ ID NO:303至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同源的氨基酸序列的核酸。

[0426] 在一些实施方案中,所述TCRα胞内域包括编码与SEQ ID NO:295至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同源的氨基酸序列的核酸。

[0427] 在一些实施方案中,所述TCRα胞内信号传导域进一步包括共刺激信号传导域。在一些实施方案中,所述TCRβ胞内信号传导域进一步包括共刺激信号传导域。

[0428] 在一些实施方案中,所述共刺激信号传导域包括选自以下的一种或多种蛋白质的一个或多个功能性信号传导域:4-1BB(CD137)、OX40、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CDS、ICAM-1、B7-H3、ICOS(CD278)、GITR、BAFFR、LIGHT、HVEM(LIGHTR)、KIRDS2、SLAMF7、NKp80(KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL2Rβ、IL2Rβ、IL7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、ITGB7、NKG2D、NKG2C、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1(CD226)、SLAMF4(CD244、2B4)、CD84、CD96(触觉的)、CEACAM1、CRTAM、Ly9(CD229)、CD160(BY55)、PSGL1、CD100(SEMA4D)、CD69、SLAMF6(NTB-A、Ly108)、SLAM(SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME(SLAMF8)、SELPLG(CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a、与CD83特异性结合的配体、MHC I类分子、TNF受体蛋白、免疫球蛋白样蛋白、细胞因子受体、整合素、信号传导淋巴细胞激活分子(SLAM蛋白)、活化NK细胞受体、BTLA和Toll配体受体。

[0429] 在一些实施方案中,i)所述免疫球蛋白可变重域和所述免疫球蛋白可变轻域是人源化的;或ii)所述免疫球蛋白可变重域和所述免疫球蛋白可变轻域是人的。

[0430] 在一些实施方案中,所述抗原结合域与肿瘤相关抗原结合。

[0431] 在一些实施方案中,所述重组T细胞受体(TCR)通过本文所述的方法制造。

[0432] 本文特别提供了编码本文所述的重组TCR的重组核酸。

[0433] 本文特别提供了编码本文所述的重组TCR的多肽,其由本文所述的核酸编码。

[0434] 本文特别提供了包括编码本文所述的重组TCR的核酸分子的载体。在一些实施方案中,所述载体是DNA载体、RNA载体、质粒、慢病毒载体、腺病毒载体或逆转录病毒载体。

[0435] 本文特别提供了制备免疫效应细胞的方法,包括用本文所述的载体转导所述免疫效应细胞。在一些实施方案中,所述免疫效应细胞是T细胞或NK细胞。在一些实施方案中,所述免疫效应细胞是自体或同种异体免疫效应细胞。

[0436] 本文特别提供了包括编码本文所述的重组TCR的本文所述的核酸分子的免疫效应细胞。

[0437] 在一些实施方案中,所述免疫效应细胞通过本文所述的方法制备。在一些实施方案中,所述免疫效应细胞是T细胞或NK细胞。在一些实施方案中,所述免疫效应细胞是自体

或同种异体免疫效应细胞。在一些实施方案中，在所述抗原结合域与细胞所表达的同源抗原结合后，所述免疫效应细胞的一种或多种促炎细胞因子(例如，IFNγ、TNFα、IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF)的表达(例如，释放)水平相对于包含编码包括CD3ζ胞内信号传导域的TCR的核酸的免疫效应细胞的所述一种或多种促炎细胞因子(例如，IFNγ、TNFα、IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF)的表达(例如，释放)水平降低。

[0438] 在一些实施方案中，在所述抗原结合域与细胞所表达的同源抗原结合后，所述免疫效应细胞的一种或多种促炎细胞因子(例如，IFNγ、TNFα、IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF)的表达(例如，释放)水平相对于包含编码包括CD3ζ胞内信号传导域的TCR的核酸的免疫效应细胞的所述一种或多种促炎细胞因子(例如，IFNγ、TNFα、IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF)的表达(例如，释放)水平降低至少1％、2％、3％、4％、5％、6％、7％、8％、9％、10％、15％、20％、25％、30％、40％、50％、60％、70％、80％、90％、95％、96％、97％、98％或99％。

[0439] 在一些实施方案中，在存在一种或多种抗原呈递细胞的情况下所述抗原结合域与细胞所表达的同源抗原结合后，一种或多种(例如群体)抗原呈递细胞(例如，树突细胞或巨噬细胞)的一种或多种促炎细胞因子(例如，IL-6、IFNγ、TNFα、IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF)的表达(例如，释放)水平相对于在存在包含编码包括CD3ζ胞内信号传导域的TCR的核酸的免疫效应细胞的情况下一种或多种(例如群体)抗原呈递细胞的所述一种或多种促炎细胞因子(例如，IL-6、IFNγ、TNFα、IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF)的表达(例如，释放)水平降低。

[0440] 在一些实施方案中，在存在一种或多种抗原呈递细胞的情况下所述抗原结合域与细胞所表达的同源抗原结合后，一种或多种(例如群体)抗原呈递细胞(例如，树突细胞或巨噬细胞)的一种或多种促炎细胞因子(例如，IL-6、IFNγ、TNFα、IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF)的表达(例如，释放)水平相对于在存在包含编码包括CD3ζ胞内信号传导域的TCR的核酸的免疫效应细胞的情况下一种或多种(例如群体)抗原呈递细胞的所述一种或多种促炎细胞因子(例如，IL-6、IFNγ、TNFα、IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF)的表达(例如，释放)水平降低至少1％、2％、3％、4％、5％、6％、7％、8％、9％、10％、15％、20％、25％、30％、40％、50％、60％、70％、80％、90％、95％、96％、97％、98％或99％。

[0441] 在一些实施方案中，在存在一种或多种抗原呈递细胞的情况下所述抗原结合域与细胞所表达的同源抗原体外结合后，一种或多种(例如群体)抗原呈递细胞(例如，树突细胞或巨噬细胞)的一种或多种促炎细胞因子(例如，IL-6、IFNγ、TNFα、IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF)的表达(例如，释放)水平相对于在存在包含编码包括CD3ζ胞内信号传导域的TCR的核酸的免疫效应细胞的情况下一种或多种(例如群体)抗原呈递细胞的所述一种或多种促炎细胞因子(例如，IL-6、IFNγ、TNFα、IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF)的表达(例如，释放)水平降低。

[0442] 在一些实施方案中，在存在一种或多种抗原呈递细胞的情况下所述抗原结合域与细胞所表达的同源抗原体外结合后，一种或多种(例如群体)抗原呈递细胞(例如，树突细胞或巨噬细胞)的一种或多种促炎细胞因子(例如，IL-6、IFNγ、TNFα、IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF)的表达(例如，释放)水平相对于在存在包含编码包括CD3ζ胞内信号传导域的TCR的核酸的免疫效应细胞的情况下一种或多种(例如群体)抗原呈递细胞的所述一种或多种促炎细胞因子(例如，IL-6、IFNγ、TNFα、IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF)的表达(例如，释放)水平降低至少1％、2％、3％、4％、5％、6％、7％、8％、9％、10％、15％、20％、25％、30％、40％、50％、60％、70％、80％、90％、95％、96％、97％、98％或99％。

[0443] 本文特别提供了包括本文所述的免疫效应细胞的药物组合物。

[0444] 本文特别提供了治疗受试者的癌症的方法，所述方法包括：向所述受试者施用表达本文所述的TCR的细胞(例如，细胞群，例如，免疫效应细胞群)。

[0445] 在一些实施方案中，所述重组T细胞受体(TCR)由本文所述的核酸分子编码。

[0446] 本文特别提供了预防患有癌症的受试者的细胞因子释放综合征(CRS)(例如，与施用重组T细胞受体(TCR)细胞疗法相关或由其诱导的CRS)的方法，所述方法包括：向所述受试者施用表达本文所述的重组T细胞受体(TCR)的细胞(例如，细胞群，例如，免疫效应细胞群)。

[0447] 在一些实施方案中，所述重组T细胞受体(TCR)由本文所述的核酸分子编码。

[0448] 在一些实施方案中，在施用所述细胞(例如，细胞群，例如，免疫效应细胞群)的1、2、3、4、5、6、7、10、14、21或30天之内，所述受试者未表现出一种或多种CRS症状(例如，如本文所述)。在一些实施方案中，所述受试者未表现出一种或多种4级或5级CRS症状(例如，如本文所述)。在一些实施方案中，所述受试者未表现出任何4级或5级CRS症状(例如，如本文所述)。在一些实施方案中，在施用所述细胞(例如，细胞群，例如，免疫效应细胞群)后(例如，1小时、6小时、12小时、1天、2天、3天、4天、5天、6天、7天、10天、14天、21天、30天)，所述受试者的血清中选自IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、IFNγ、TNFα、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF的一种或多种蛋白质的水平处于被施用所述细胞(例如，细胞群，例如，免疫效应细胞群)之前(例如，10分钟、30分钟、1小时、6小时、12小时、24小时、48小时、72小时)的所述受试者的血清中所述一种或多种蛋白质的水平的±20％、±15％、±10％、±9％、±8％、±7％、±6％、±5％、±4％、±3％、±2％或±1％之内。

[0449] 在一些实施方案中，所述方法进一步包括基于确定以下一项或多项来选择受试者进行所述细胞(例如，细胞群，例如，免疫效应细胞群)的施用：所述受试者发展出CRS的风险；如果施用了表达包括CD3ζ信号传导域的重组TCR的细胞，所述受试者发展出CRS的风险；所述受试者的CRS诊断；所述受试者的与施用表达包括CD3ζ信号传导域的重组TCR的细胞相关或由其诱导的CRS的诊断。

[0450] 在一些实施方案中，如果有以下情形，选择所述受试者进行施用：所述受试者存在发展出CRS的风险；如果施用了表达包括CD3ζ信号传导域的重组TCR的细胞，所述受试者存在发展出CRS的风险；所述受试者已经诊断出CRS；所述受试者已经诊断出与施用表达包括CD3ζ信号传导域的重组TCR的细胞相关或由其诱导的CRS。

[0451] 在一些实施方案中，所述细胞(例如，细胞群，例如，免疫效应细胞群)是本文所述

的细胞。在一些实施方案中，所述细胞(例如，细胞群，例如，免疫效应细胞群)是T细胞或NK细胞。在一些实施方案中，所述细胞(例如，细胞群，例如，免疫效应细胞群)是自体的或同种异体的免疫效应细胞。

[0452] 在一些实施方案中，所述受试者是哺乳动物，例如，人类。

[0453] 在一些实施方案中，所述细胞(例如，细胞群，例如，免疫效应细胞群)与其他治疗剂联合施用。

[0454] 在一些实施方案中，所述癌症是实体癌症或血液学癌症。在一些实施方案中，所述癌症是实体癌症。在一些实施方案中，所述实体癌症是前列腺癌、肺癌、肾癌、胃癌、结肠癌、卵巢癌、膀胱癌、乳腺癌、宫颈癌、食道癌、睾丸癌、肝癌、胰腺癌、直肠癌、甲状腺癌、子宫癌、皮肤癌、肌肉癌、软骨癌、骨癌、内皮癌、上皮癌、真皮癌、基底癌、视网膜癌、皮肤癌或脑癌。在一些实施方案中，所述癌症是血液学癌症。在一些实施方案中，所述血液学癌症是白血病、淋巴瘤或骨髓瘤。在一些实施方案中，所述血液学癌症是B细胞急性淋巴细胞性白血病(B-ALL)、T细胞急性淋巴细胞性白血病(T-ALL)、急性成淋巴细胞性白血病(ALL)；慢性髓细胞性白血病(CML)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、B细胞幼淋巴细胞白血病、母细胞性浆细胞样树突细胞肿瘤、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、小细胞型滤泡性淋巴瘤、大细胞型滤泡性淋巴瘤、恶性淋巴增生性病况、MALT淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、多发性骨髓瘤、骨髓增生异常、骨髓增生异常综合征、非霍奇金淋巴瘤、浆母细胞淋巴瘤、浆细胞样树突细胞肿瘤、华氏巨球蛋白血症或白血病前期。

[0455] 本文特别提供了重组T细胞受体(TCR)，包括：(a)TCRα链，其包括i)抗原结合域(例如，scFv)，ii)TCRα可变域，iii)TCRα恒定域，iv)TCRα跨膜域，和iii)任选包括TCRα胞内域的胞内信号传导域；(b)TCRβ链，其包括i)TCRβ可变域，ii)TCRβ恒定域，iii)TCRβ跨膜域，和iv)包括TCRβ胞内域的胞内信号传导域；并且其中所述重组TCR不含有功能性CD3ζ胞内信号传导域。本文特别提供了重组T细胞受体(TCR)，包括：

[0456] (a)TCRα链，其包括i)TCRα可变域，ii)TCRα恒定域，iii)TCRα跨膜域，和iv)任选包括TCRα胞内域的胞内信号传导域；(b)TCRβ链，其包括i)抗原结合域(例如，scFv)，ii)TCRβ可变域，iii)TCRβ恒定域，iii)TCRβ跨膜域，和iv)包括TCRβ胞内域的胞内信号传导域；并且其中所述重组TCR不含有功能性CD3ζ胞内信号传导域。

[0457] 在一些实施方案中，所述TCRα恒定域与SEQ ID NO:293至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同源。

[0458] 在一些实施方案中，所述TCRβ恒定域包括TCRβ恒定域1。

[0459] 在一些实施方案中，所述TCRβ恒定域包括TCRβ恒定域2。

[0460] 在一些实施方案中，所述TCRβ恒定域1与SEQ ID NO:296至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同源。

[0461] 在一些实施方案中，所述TCRβ恒定域1与SEQ ID NO:297至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同源。

[0462] 在一些实施方案中，所述TCRβ恒定域2与SEQ ID NO:300至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同源。

[0463] 在一些实施方案中，所述TCRβ恒定域2与SEQ ID NO:301至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同源。

[0464] 在一些实施方案中，所述TCRβ跨膜域包括编码与SEQ ID NO:302至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同源的氨基酸序列的核酸。

[0465] 在一些实施方案中，所述TCRβ跨膜域包括编码与SEQ ID NO:298至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同源的氨基酸序列的核酸。

[0466] 在一些实施方案中，所述TCRα跨膜域包括编码与SEQ ID NO:294至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同源的氨基酸序列的核酸。

[0467] 在一些实施方案中，所述抗原结合域通过接头连接至所述跨膜域。在一些实施方案中，所述接头包括甘氨酸和丝氨酸或由甘氨酸和丝氨酸组成。

[0468] 在一些实施方案中，所述TCRβ胞内域包括TCRβ1胞内域。在一些实施方案中，所述TCRβ胞内域包括TCRβ2胞内域。

[0469] 在一些实施方案中，所述TCRβ胞内域包括编码与SEQ ID NO:299至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同源的氨基酸序列的核酸。

[0470] 在一些实施方案中，所述TCRβ胞内域包括编码与SEQ ID NO:303至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同源的氨基酸序列的核酸。

[0471] 在一些实施方案中，所述TCRα胞内域包括编码与SEQ ID NO:295至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同源的氨基酸序列的核酸。

[0472] 在一些实施方案中，所述TCRα胞内信号传导域进一步包括共刺激信号传导域。在一些实施方案中，所述TCRβ胞内信号传导域进一步包括共刺激信号传导域。在一些实施方案中，所述共刺激信号传导域包括选自以下的一种或多种蛋白质的一个或多个功能性信号传导域：4-1BB(CD137)、OX40、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CDS、ICAM-1、B7-H3、ICOS(CD278)、GITR、BAFFR、LIGHT、HVEM(LIGHTR)、KIRDS2、SLAMF7、NKp80(KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL2Rβ、IL2Rβ、IL7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、ITGB7、NKG2D、NKG2C、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1(CD226)、SLAMF4(CD244、2B4)、CD84、CD96(触觉的)、CEACAM1、CRTAM、Ly9(CD229)、CD160(BY55)、PSGL1、CD100(SEMA4D)、CD69、SLAMF6(NTB-A、Ly108)、SLAM(SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME(SLAMF8)、SELPLG(CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a、与CD83特异性结合的配体、MHC I类分子、TNF受体蛋白、免疫球蛋白样蛋白、细胞因子受体、整合素、信号传导淋巴细胞激活分子(SLAM蛋白)、活化NK细胞受体、BTLA和Toll配体受体。

[0473] 在一些实施方案中，所述抗原结合域是scFv、单域抗体或纳米抗体。在一些实施方案中，所述抗原结合域与肿瘤相关抗原结合。

[0474] 在一些实施方案中，所述TCR通过本文所述的方法制造。

[0475] 本文特别提供了编码本文所述的重组TCR的重组核酸。

[0476] 本文特别提供了由本文所述的核酸编码的多肽。

[0477] 本文特别提供了包括本文所述的核酸分子的载体。

[0478] 在一些实施方案中，所述载体是DNA载体、RNA载体、质粒、慢病毒载体、腺病毒载体或逆转录病毒载体。

[0479] 本文特别提供了制备免疫效应细胞的方法，包括用本文所述的载体转导所述免疫效应细胞。在一些实施方案中，所述免疫效应细胞是T细胞或NK细胞。在一些实施方案中，所

述免疫效应细胞是自体或同种异体免疫效应细胞。

[0480] 本文特别提供了包括本文所述的核酸分子的免疫效应细胞。在一些实施方案中，所述免疫效应细胞通过本文所述的方法制备。在一些实施方案中，所述免疫效应细胞是T细胞或NK细胞。在一些实施方案中，所述免疫效应细胞是自体或同种异体免疫效应细胞。

[0481] 在一些实施方案中，在所述抗原结合域与细胞所表达的同源抗原结合后，所述免疫效应细胞的一种或多种促炎细胞因子(例如，IFNγ、TNFα、IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF)的表达(例如，释放)水平相对于包含编码包括CD3ζ胞内信号传导域的TCR的核酸的免疫效应细胞的所述一种或多种促炎细胞因子(例如，IFNγ、TNFα、IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF)的表达(例如，释放)水平降低。

[0482] 在一些实施方案中，在所述抗原结合域与细胞所表达的同源抗原结合后，所述免疫效应细胞的一种或多种促炎细胞因子(例如，IFNγ、TNFα、IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF)的表达(例如，释放)水平相对于包含编码包括CD3ζ胞内信号传导域的TCR的核酸的免疫效应细胞的所述一种或多种促炎细胞因子(例如，IFNγ、TNFα、IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF)的表达(例如，释放)水平降低至少1％、2％、3％、4％、5％、6％、7％、8％、9％、10％、15％、20％、25％、30％、40％、50％、60％、70％、80％、90％、95％、96％、97％、98％或99％。

[0483] 在一些实施方案中，在存在一种或多种抗原呈递细胞的情况下所述抗原结合域与细胞所表达的同源抗原结合后，一种或多种(例如群体)抗原呈递细胞(例如，树突细胞或巨噬细胞)的一种或多种促炎细胞因子(例如，IL-6、IFNγ、TNFα、IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF)的表达(例如，释放)水平相对于在存在包含编码包括CD3ζ胞内信号传导域的TCR的核酸的免疫效应细胞的情况下一种或多种(例如群体)抗原呈递细胞的所述一种或多种促炎细胞因子(例如，IL-6、IFNγ、TNFα、IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF)的表达(例如，释放)水平降低。

[0484] 在一些实施方案中，在存在一种或多种抗原呈递细胞的情况下所述抗原结合域与细胞所表达的同源抗原结合后，一种或多种(例如群体)抗原呈递细胞(例如，树突细胞或巨噬细胞)的一种或多种促炎细胞因子(例如，IL-6、IFNγ、TNFα、IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF)的表达(例如，释放)水平相对于在存在包含编码包括CD3ζ胞内信号传导域的TCR的核酸的免疫效应细胞的情况下一种或多种(例如群体)抗原呈递细胞的所述一种或多种促炎细胞因子(例如，IL-6、IFNγ、TNFα、IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF)的表达(例如，释放)水平降低至少1％、2％、3％、4％、5％、6％、7％、8％、9％、10％、15％、20％、25％、30％、40％、50％、60％、70％、80％、90％、95％、96％、97％、98％或99％。

[0485] 在一些实施方案中，在存在一种或多种抗原呈递细胞的情况下所述抗原结合域与细胞所表达的同源抗原体外结合后，一种或多种(例如群体)抗原呈递细胞(例如，树突细胞或巨噬细胞)的一种或多种促炎细胞因子(例如，IL-6、IFNγ、TNFα、IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF)的表达(例如，释放)水平相对于在

存在包含编码包括CD3ζ胞内信号传导域的TCR的核酸的免疫效应细胞的情况下一种或多种(例如群体)抗原呈递细胞的所述一种或多种促炎细胞因子(例如,IL-6、IFNγ、TNFα、IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF)的表达(例如,释放)水平降低。

[0486] 在一些实施方案中,在存在一种或多种抗原呈递细胞的情况下所述抗原结合域与细胞所表达的同源抗原体外结合后,一种或多种(例如群体)抗原呈递细胞(例如,树突细胞或巨噬细胞)的一种或多种促炎细胞因子(例如,IL-6、IFNγ、TNFα、IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF)的表达(例如,释放)水平相对于在存在包含编码包括CD3ζ胞内信号传导域的TCR的核酸的免疫效应细胞的情况下一种或多种(例如群体)抗原呈递细胞的所述一种或多种促炎细胞因子(例如,IL-6、IFNγ、TNFα、IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF)的表达(例如,释放)水平降低至少1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%。

[0487] 本文特别提供了包括本文所述的免疫效应细胞的药物组合物。

[0488] 本文特别提供了治疗受试者的癌症的方法,所述方法包括:向所述受试者施用表达本文所述的TCR的细胞(例如,细胞群,例如,免疫效应细胞群)。在一些实施方案中,所述重组T细胞受体(TCR)由本文所述的核酸分子编码。

[0489] 本文特别提供了预防患有癌症的受试者的细胞因子释放综合征(CRS)(例如,与施用重组T细胞受体(TCR)细胞疗法相关或由其诱导的CRS)的方法,所述方法包括:向所述受试者施用表达本文所述的重组T细胞受体(TCR)的细胞(例如,细胞群,例如,免疫效应细胞群)。

[0490] 在一些实施方案中,所述重组T细胞受体(TCR)由本文所述的核酸分子编码。

[0491] 在一些实施方案中,在施用所述细胞(例如,细胞群,例如,免疫效应细胞群)的1、2、3、4、5、6、7、10、14、21或30天之内,所述受试者未表现出一种或多种CRS症状(例如,如本文所述)。在一些实施方案中,所述受试者未表现出一种或多种4级或5级CRS症状(例如,如本文所述)。在一些实施方案中,所述受试者未表现出任何4级或5级CRS症状(例如,如本文所述)。在一些实施方案中,在施用所述细胞(例如,细胞群,例如,免疫效应细胞群)后(例如,1小时、6小时、12小时、1天、2天、3天、4天、5天、6天、7天、10天、14天、21天、30天),所述受试者的血清中选自IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、IFNγ、TNFα、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF的一种或多种蛋白质的水平处于被施用所述细胞(例如,细胞群,例如,免疫效应细胞群)之前(例如,10分钟、30分钟、1小时、6小时、12小时、24小时、48小时、72小时)的所述受试者的血清中所述一种或多种蛋白质的水平的±20%、±15%、±10%、±9%、±8%、±7%、±6%、±5%、±4%、±3%、±2%或±1%之内。

[0492] 在一些实施方案中,所述方法进一步包括基于确定以下一项或多项来选择受试者进行所述细胞(例如,细胞群,例如,免疫效应细胞群)的施用:所述受试者发展出CRS的风险;如果施用了表达包括CD3ζ信号传导域的重组TCR的细胞,所述受试者发展出CRS的风险;所述受试者的CRS诊断;所述受试者的与施用表达包括CD3ζ信号传导域的重组TCR的细胞相关或由其诱导的CRS的诊断。

[0493] 在一些实施方案中,如果有以下情形,选择所述受试者进行施用:所述受试者存在

发展出CRS的风险;如果施用了表达包括CD3ζ信号传导域的重组TCR的细胞,所述受试者存在发展出CRS的风险;所述受试者已经诊断出CRS;所述受试者已经诊断出与施用表达包括CD3ζ信号传导域的重组TCR的细胞相关或由其诱导的CRS。

[0494] 在一些实施方案中,所述细胞(例如,细胞群,例如,免疫效应细胞群)是本文所述的细胞。在一些实施方案中,所述细胞(例如,细胞群,例如,免疫效应细胞群)是T细胞或NK细胞。在一些实施方案中,所述细胞(例如,细胞群,例如,免疫效应细胞群)是自体的或同种异体的免疫效应细胞。

[0495] 在一些实施方案中,所述受试者是哺乳动物,例如,人类。

[0496] 在一些实施方案中,所述细胞(例如,细胞群,例如,免疫效应细胞群)与其他治疗剂联合施用。

[0497] 在一些实施方案中,所述癌症是实体癌症或血液学癌症。在一些实施方案中,所述癌症是实体癌症。在一些实施方案中,所述实体癌症是前列腺癌、肺癌、肾癌、胃癌、结肠癌、卵巢癌、膀胱癌、乳腺癌、宫颈癌、食道癌、睾丸癌、肝癌、胰腺癌、直肠癌、甲状腺癌、子宫癌、皮肤癌、肌肉癌、软骨癌、骨癌、内皮癌、上皮癌、真皮癌、基底癌、视网膜癌、皮肤癌或脑癌。在一些实施方案中,所述癌症是血液学癌症。在一些实施方案中,所述血液学癌症是白血病、淋巴瘤或骨髓瘤。在一些实施方案中,所述血液学癌症是B细胞急性淋巴细胞性白血病(B-ALL)、T细胞急性淋巴细胞性白血病(T-ALL)、急性成淋巴细胞性白血病(ALL);慢性髓细胞性白血病(CML)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、B细胞幼淋巴细胞白血病、母细胞性浆细胞样树突细胞肿瘤、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、小细胞型滤泡性淋巴瘤、大细胞型滤泡性淋巴瘤、恶性淋巴增生性病况、MALT淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、多发性骨髓瘤、骨髓增生异常、骨髓增生异常综合征、非霍奇金淋巴瘤、浆母细胞淋巴瘤、浆细胞样树突细胞肿瘤、华氏巨球蛋白血症或白血病前期。

附图说明

[0498] 图1描绘了TCRβV基因家族和亚家族的系统树,并映射了相应的抗体。亚家族身份如下:亚家族A:TCRβV6;亚家族B:TCRβV10;亚家族C:TCRβV12;亚家族D:TCRβV5;亚家族E:TCRβV7;亚家族F:TCRβV11;亚家族G:TCRβV14;亚家族H:TCRβV16;亚家族I:TCRβV18;亚家族J:TCRβV9;亚家族K:TCRβV13;亚家族L:TCRβV4;亚家族M:TCRβV3;亚家族N:TCRβV2;亚家族O:TCRβV15;亚家族P:TCRβV30;亚家族Q:TCRβV19;亚家族R:TCRβV27;亚家族S:TCRβV28;亚家族T:TCRβV24;亚家族U:TCRβV20;亚家族V:TCRβV25;以及亚家族W:TCRβV29亚家族。亚家族成员在本文标题为"TCR贝塔V(TCRβV)"的部分详细描述。

[0499] 图2A-图2C示出了被抗TCR Vβ13.1抗体(BHM1709)激活6天的人CD3+T细胞。使用磁珠分离(阴性选择)分离人CD3+T细胞,并用固定的(板包被的)抗TCR Vβ13.1(BHM1709)或抗CD3e(OKT3)抗体以100nM激活6天。图2A示出了先使用抗TCR Vβ13.1(BHM1709),后使用荧光物缀合的二抗用于流式细胞术分析而评估了TCR Vβ13.1表面表达的扩增T细胞的两个散点图(左:用OKT3激活;右:用BHM1709激活)。图2B示出了由抗TCR Vβ13.1(BHM1709)或抗CD3e(OKT3)激活的TCR Vβ13.1阳性T细胞相对于总T细胞(CD3+)的百分比(%)。图2C示出了通过以60μl/min的恒定速率对20秒内每个T细胞亚群门(CD3或TCR Vβ13.1)中的事件数进行计数而获得的相对细胞计数。数据为3个供体的平均值。

[0500] 图3A-图3B示出了被抗TCR Vβ13.1抗体(BHM1709)激活的人CD3+T细胞对转化细胞系RPMI 8226的溶细胞活性。图3A描述了用BHM1709或OKT3激活的人CD3+T细胞的靶细胞溶解。使用磁珠分离(阴性选择)分离人CD3+T细胞,并在指定的浓度下用固定的(板包被的)BHM1709或OKT3激活4天,然后与RPMI 8226细胞在5:1的(E:T)比下共培养2天。接下来,使用流式细胞术分析,通过CFSE/CD138标记的且膜不透性的DNA染料(DRAQ7)进行FACS染色,来分析样品中RPMI 8226细胞的细胞溶解。图3B示出了将被BHM1709或OKT3激活的人CD3+T细胞以5:1的(E:T)比与RPMI-8226温育6天,随后如上所述对RPMI 8226细胞进行细胞溶解分析而得到的靶细胞溶解。靶细胞溶解百分比(%)通过使用公式:((x-基础)/(100%-基础),其中x为样品的细胞溶解),对基础靶细胞溶解(即,无抗体处理)进行归一化来确定。示出的数据代表n=1个供体。

[0501] 图4A-图4B示出了用所示抗体激活的人PBMC产生IFNγ。从指定数量的供体的全血中分离人PBMC,然后用100Nm的所示抗体进行固相(板包被)刺激。在第1、2、3、5或6天收集上清液。图4A是比较在激活后第1、2、3、5或6天,用所示抗体激活(用抗TCR Vβ13.1抗体(BHM1709或BHM1710)或抗CD3e抗体(OKT3或SP34-2)激活)的人PBMC中的IFNγ产生的图。图4B示出了在激活后第1、2、3、5或6天,用所示抗体激活(用抗TCR Vβ13.1抗体或抗CD3e抗体(OKT3)激活)的人PBMC中的IFNγ产生。

[0502] 图5A示出了用所示抗体激活的人PBMC的IL-2产生。使用与图4A-图4B所述的类似实验设定。图5B示出了用所示抗体激活的人PBMC的IL-2产生。使用与图4A-图4B所述的类似实验设定。

[0503] 图6A示出了用所示抗体激活的人PBMC的IL-6产生。使用与图4A-图4B所述的类似实验设定。图6B示出了用所示抗体激活的人PBMC的IL-6产生。使用与图4A-图4B所述的类似实验设定。

[0504] 图7A示出了用所示抗体激活的人PBMC的TNF-α产生。使用与图4A-图4B所述的类似实验设定。图7B示出了用所示抗体激活的人PBMC的TNF-α产生。使用与图4A-图4B所述的类似实验设定。

[0505] 图8A是示出用所示抗体激活的人PBMC的IL-1β产生的线形图。8B是示出用所示抗体激活的人PBMC的IL-1β产生的线形图。使用与图4A-图4B所述的类似实验设定。

[0506] 图9A是示出与抗CD3e抗体OKT3激活的PBMC相比,抗TCR Vβ13.1抗体BHM1709激活的来自4个供体的人PMBC中的IFNγ分泌的延迟动力学的图。图9B是示出与抗CD3e抗体OKT3激活的PBMC相比,抗TCR Vβ13.1抗体BHM1709激活的来自4个供体的人PMBC中的IFNγ分泌的延迟动力学的图。示出的数据代表n=8个供体。

[0507] 图10描绘了与被抗CD3e抗体(OKT3或SP34-2)激活的PBMC相比,被抗TCR Vβ13.1抗体(BHM1709或BHM1710)激活的人PBMC中增加的CD8+TSCM和TEMRA T细胞亚群。

[0508] 图11A描绘了示例性T细胞刺激方法。图11B描绘了用所示抗体激活的人PBMC的IFNγ产生的图。图11C描绘了使用图11A所示的方法,用所示抗体激活的人PBMC的IFNγ产生的图。

[0509] 图12A描绘了示例性T细胞刺激方法。图12B描绘了使用图12A所示的方法,用所示抗体激活的人PBMC的IL-6产生的图。图12C描绘了使用图12A所示的方法,用所示抗体激活的人PBMC的IL-1β产生的图。图12D描绘了使用图12A所示的方法,用所示抗体激活的人PBMC

的IFNγ产生的图。

[0510] 图13描绘了本文所述的示例性T细胞受体(TCR)。TCR包括:TCRα多肽链,其包括免疫球蛋白可变重链或免疫球蛋白可变轻链、TCRα恒定域、TCRα跨膜域、TCRα胞内域和任选的一个或多个(例如,2或3个)共刺激域;和TCRβ多肽链,其包括免疫球蛋白可变重链或免疫球蛋白可变轻链、TCRβ恒定域(TCRβ恒定1域或TCRβ恒定2域)、TCRβ跨膜域、TCRβ胞内域和任选的一个或多个(例如,2或3个)共刺激域,其中免疫球蛋白域形成抗原结合域。

[0511] 图14描绘了本文所述的示例性嵌合抗原受体(CAR)。CAR包括抗原结合域(例如,scFv)、TCRβ恒定域(TCRβ恒定1域或TCRβ恒定2域)、TCRβ跨膜域、TCRβ胞内域和任选的一个或多个(例如,2或3个)共刺激域。

[0512] 图15描绘了实施例3中所用的抗CD-19嵌合抗原受体(CAR)盒。CAR包括EF1A启动子、CD8α信号肽、结合CD19的FMC63单链Fv、FLAG标签、CD28胞内共刺激域和CD3ζ胞内信号传导域。

[0513] 图16是示出在来自三个供体(供体010、供体541、供体871)之一的T细胞或CAR T细胞培养物的激活后6天的活细胞数的柱状图。使用三种激活条件之一。条件1:使用等量的TCRβV克隆型特异性抗体H131和16G8(在PBS中各50nM)激活;条件2:使用等量的TCRβV克隆型特异性抗体H131和16G8(在PBS中各50nM)和IL2(含有300U/mL rIL-2(目录号Pr21269,ProMab)的培养基)激活;条件3:使用等量的抗体CD3ε抗体和抗CD28抗体(在PBS中各50nM)激活。活细胞的数目通过FACS分析来确定。

[0514] 图17是示出在来自三个供体(供体010、供体541、供体871)之一的T细胞或CAR T细胞培养物的激活后9天的活细胞数的柱状图。使用三种激活条件之一。条件1:使用等量的TCRβV克隆型特异性抗体H131和16G8(在PBS中各50nM)激活;条件2:使用等量的TCRβV克隆型特异性抗体H131和16G8(在PBS中各50nM)和IL2(含有300U/mL rIL-2(目录号Pr21269,ProMab)的培养基)激活;条件3:使用等量的抗体CD3ε抗体和抗CD28抗体(在PBS中各50nM)激活。活细胞的数目通过FACS分析来确定。

[0515] 图18是示出在来自三个供体(供体010、供体541、供体871)之一的T细胞或CAR T细胞培养物的激活后9天的CD3+细胞数的柱状图。使用三种激活条件之一。条件1:使用等量的TCRβV克隆型特异性抗体H131和16G8(在PBS中各50nM)激活;条件2:使用等量的TCRβV克隆型特异性抗体H131和16G8(在PBS中各50nM)和IL2(含有300U/mL rIL-2(目录号Pr21269,ProMab)的培养基)激活;条件3:使用等量的抗体CD3ε抗体和抗CD28抗体(在PBS中各50nM)激活。CD3+细胞的数目通过FACS分析来确定。

[0516] 图19是示出在来自三个供体(供体010、供体541、供体871)之一的T细胞或CAR T细胞培养物的激活后9天的CD4+T细胞与CD8+T细胞之比的柱状图。使用三种激活条件之一。条件1:使用等量的TCRβV克隆型特异性抗体H131和16G8(在PBS中各50nM)激活;条件2:使用等量的TCRβV克隆型特异性抗体H131和16G8(在PBS中各50nM)和IL2(含有300U/mL rIL-2(目录号Pr21269,ProMab)的培养基)激活;条件3:使用等量的抗体CD3ε抗体和抗CD28抗体(在PBS中各50nM)激活。CD4+T细胞与CD8+T细胞之比通过FACS分析来确定。

[0517] 图20是示出在来自三个供体(供体010、供体541、供体871)之一的T细胞或CAR T细胞培养物的激活后9天的TCRβV+细胞百分比的柱状图。使用三种激活条件之一。条件1:使用等量的TCRβV克隆型特异性抗体H131和16G8(在PBS中各50nM)激活;条件2:使用等量的TCRβ

V克隆型特异性抗体H131和16G8(在PBS中各50nM)和IL2(含有300U/mL rIL-2(目录号Pr21269,ProMab)的培养基)激活;条件3:使用等量的抗体CD3ε抗体和抗CD28抗体(在PBS中各50nM)激活。CD4+T细胞与CD8+T细胞之比通过使用16G8-PE标记的抗体的FACS分析来确定。

[0518] 图21是示出在来自三个供体(供体010、供体541、供体871)之一的T细胞的激活后9天的CAR+T细胞百分比的柱状图。使用三种激活条件之一。条件1:使用等量的TCRβV克隆型特异性抗体H131和16G8(在PBS中各50nM)激活;条件2:使用等量的TCRβV克隆型特异性抗体H131和16G8(在PBS中各50nM)和IL2(含有300U/mL rIL-2(目录号Pr21269,ProMab)的培养基)激活;条件3:使用等量的抗体CD3ε抗体和抗CD28抗体(在PBS中各50nM)激活。CD4+T细胞与CD8+T细胞之比通过使用FLAG染色的FACS分析来确定,因为如图15所示的CAR构建体含有FLAG标签。

[0519] 图22是本文所述的T细胞(例如,CAR T细胞)扩增方案的图示。使用克隆型抗TCRβV抗体扩增的T细胞仅靶向并扩增T细胞的特异性亚群。而不是使用激活所有T细胞的抗CD3ε抗体。使用抗TCRβV抗体激活和扩增T细胞防止在施用于受试者时可能产生毒性(例如,CRS)的细胞因子全身释放。

[0520] 图23是示出使用抗TCRvb 6-5v1扩增TCRvb 6-5+T细胞超过8天的FACS图。

[0521] 图24是示出使用抗CD3ε抗体OKT3(100nM)扩增TCRvb 6-5+CD4+T细胞和TCRvb 6-5+CD8+T细胞超过8天的柱状图。

[0522] 图25是示出使用抗TCRvb 6-5v1抗体(100nM)扩增TCRvb 6-5+CD4+T细胞和TCRvb 6-5+CD8+T细胞超过8天的柱状图。

[0523] 图26是示出使用抗TCRvb 6-5v1或抗CD3ε抗体OKT3扩增TCRvb6-5+T细胞超过8天的FACS图。

[0524] 图27A是示出在用所示抗体培养8天后的PBMC培养物中的TCRβV 6-5+T细胞百分比的柱状图。示出了5次重复的数据。图27B是示出在用所示抗体培养8天后的纯化T细胞培养物中的TCRβV 6-5+T细胞百分比的柱状图。示出了5次重复的数据。

[0525] 图28A是示出在用所示抗体培养8天后的PBMC培养物中的TCRβV 6-5+T细胞相对计数的柱状图。图28B是示出在用所示抗体培养8天后的PBMC培养物中的TCRβV 6-5+T细胞相对计数的柱状图。

[0526] 图29A是示出在用所示抗体培养8天后的纯化T细胞培养物中的TCRβV 6-5+T细胞相对计数的柱状图。图29B是示出在用所示抗体培养8天后的纯化T细胞培养物中的TCRβV 6-5+T细胞相对计数的柱状图。

[0527] 图30是示出在用抗CD3ε抗体OKT3或抗TCRvb 6-5v1抗体培养T细胞8天后的总CD3+T细胞计数(倍数增加)的线形图。

[0528] 图31是示出TCRβV 6-5v1激活的T细胞或抗CD3ε(OKT3)激活的T细胞的靶细胞动力学的一系列线形图。使用来自三个不同供体的T细胞(供体6769、供体9880、供体5411)。

[0529] 图32A是示出在没有T细胞预激活的情况下通过TCRβV 6-5v1激活的T细胞或抗CD3ε(OKT3)激活的T细胞进行的T细胞的靶细胞溶解的百分比的散点图。呈现的是在靶细胞与效应T细胞共培养的第6天的数据。图32B是示出在T细胞预激活4天的情况下通过TCRβV 6-5v1激活的T细胞或抗CD3ε(OKT3)激活的T细胞进行的T细胞对靶细胞溶解的百分比的散点

图。呈现的是在靶细胞与效应T细胞共培养的第2天的数据(在T细胞预激活4天后)。

[0530] 图33是示出在T细胞预激活4天的情况下通过TCRβV 6-5v1激活的T细胞或抗CD3ε(OKT3)激活的T细胞进行的T细胞对靶细胞溶解的百分比的散点图。呈现的是在靶细胞与效应T细胞共培养的第2天的数据(在T细胞预激活4天后)。

[0531] 图34是示出通过TCRβV 6-5v1激活的T细胞或抗CD3ε(OKT3)激活的T细胞(各100nM抗体)进行的T细胞对靶细胞溶解的柱状图。数据包括每种实验条件的7次重复。

[0532] 图35是一系列FACS图,示出了在抗体激活后第0、1、2、4、6或8天时用SP34-2(抗CD3ε抗体)或抗TCRβV 6-5v1(抗TCRβV 6-5抗体)激活的CD4+TCRβV 6-5$^-$或CD4+TCRβV 6-5$^+$T细胞上CD3ε的细胞表面表达。

[0533] 图36是一系列FACS图,示出了在抗体激活后第0、1、2、4、6或8天时用SP34-2(抗CD3ε抗体)或抗TCRβV 6-5v1(抗TCRβV 6-5抗体)激活的CD8+TCRβV 6-5$^-$或CD8+TCRβV 6-5$^+$T细胞上CD3ε的细胞表面表达。

[0534] 图37是一系列FACS图,示出了在抗体激活后第0、1、2、4、6或8天时用SP34-2(抗CD3ε抗体)或抗TCRβV 6-5v1(抗TCRβV 6-5抗体)激活的CD4+TCRβV 6-5$^-$或CD4+TCRβV 6-5$^+$T细胞上TCRβV的细胞表面表达。

[0535] 图38是一系列FACS图,示出了在抗体激活后第0、1、2、4、6或8天时用SP34-2(抗CD3ε抗体)或抗TCRβV 6-5v1(抗TCRβV 6-5抗体)激活的CD8+TCRβV 6-5$^-$或CD8+TCRβV 6-5$^+$T细胞上TCRβV的细胞表面表达。

[0536] 图39A示出了在食蟹猴PBMC激活后7天未经刺激(左)或用抗TCRβV 6-5v1刺激(右)的TCRβV 6-5$^+$食蟹猴T细胞扩增的FACS图。

使用来自供体DW8N的PBMC(新鲜PBMC样品,雄性,8岁,体重7.9kg)。图39B示出了在食蟹猴PBMC激活后7天未经刺激(左)或用抗TCRβV 6-5v1刺激(右)的TCRβV 6-5$^+$食蟹猴T细胞扩增的FACS图。

使用来自供体G709的PBMC(冷冻保存的样品,雄性,6岁,体重4.7kg)。

[0537] 图40示出了在冷冻保存的供体DW8N食蟹猴PBMC激活后,未经刺激(左)、用SP34-2(抗CD3ε抗体)刺激(中间)或用抗TCRβV 6-5v1刺激(右)的TCRβV 6-5$^+$食蟹猴T细胞扩增的FACS图和相应显微图像。显微图像示出了细胞簇形成(由圆圈示出)。

[0538] 图41示出了FACS图的示意图,示出了γδT细胞纯化之前PBMC的FACS门控/染色。

[0539] 图42示出了FACS图的示意图,示出了纯化的γδT细胞群的FACS门控/染色。

[0540] 图43示出了用抗CD3ε抗体(SP34-2)(左)或抗TCRβV抗体(抗TCRβV 6-5v1)(右)对纯化的γδT细胞群的激活。

[0541] 图44A示出了用抗CD3ε抗体(SP34-2)激活、用抗TCRβV抗体(抗TCRβV 6-5v1)激活或未经刺激的纯化的γδT细胞群的IFNγ释放。图44B示出了用抗CD3ε抗体(SP34-2)激活、用抗TCRβV抗体(抗TCRβV 6-5v1)激活或未经刺激的纯化的γδT细胞群的IFNα释放。图44C示出了用抗CD3ε抗体(SP34-2)激活、用抗TCRβV抗体(抗TCRβV 6-5v1)激活或未经刺激的纯化的γδT细胞群的IL-2释放。图44D示出了用抗CD3ε抗体(SP34-2)激活、用抗TCRβV抗体(抗TCRβV 6-5v1)激活或未经刺激的纯化的γδT细胞群的IL-17A释放。图44E示出了用抗CD3ε抗体(SP34-2)激活、用抗TCRβV抗体(抗TCRβV 6-5v1)激活或未经刺激的纯化的γδT细胞群的IL-1α释放。图44F示出了用抗CD3ε抗体(SP34-2)激活、用抗TCRβV抗体(抗TCRβV 6-5v1)

激活或未经刺激的纯化的γδT细胞群的IL-1β释放。图44G示出了用抗CD3ε抗体(SP34-2)激活、用抗TCRβV抗体(抗TCRβV 6-5v1)激活或未经刺激的纯化的γδT细胞群的IL-6释放。图44H示出了用抗CD3ε抗体(SP34-2)激活、用抗TCRβV抗体(抗TCRβV 6-5v1)激活或未经刺激的纯化的γδT细胞群的IL-10释放。

[0542] 图45示出了全部TCRαV区段(基因的TRAV组)及其变体(上)、全部TCRβV区段6-5变体(TRBV6-5基因)(左下)和全部TCRβV区段及其除6-5之外的变体(右下)的相对表现度。

[0543] 图46A是示出用抗TCRβV抗体(抗TCRβV 6-5v1)扩增的CD4+T细胞的表型标志物的FACS图。限定的表型包括TEMRA(左上)、幼稚/TSCM(右上)、TEM(左下)和TCM(右下)。图46B是示出用抗CD3ε抗体(OKT3)扩增的CD4+T细胞的表型标志物的FACS图。限定的表型包括TEMRA(左上)、幼稚/TSCM(右上)、TEM(左下)和TCM(右下)。

[0544] 图47A是示出用抗TCRβV抗体(抗TCRβV 6-5v1)扩增的CD8+T细胞的表型标志物的FACS图。限定的表型包括TEMRA(左上)、幼稚/TSCM(右上)、TEM(左下)和TCM(右下)。图47B是示出用抗CD3ε抗体(OKT3)扩增的CD8+T细胞的表型标志物的FACS图。限定的表型包括TEMRA(左上)、幼稚/TSCM(右上)、TEM(左下)和TCM(右下)。

[0545] 图48A是示出用抗TCRβV抗体(抗TCRβV 6-5v1)激活、用抗CD3ε抗体(OKT3)激活或未经刺激的T细胞培养物中表达PD1的CD4+T细胞的百分比的柱状图。图48B是示出用抗TCRβV抗体(抗TCRβV 6-5v1)激活、用抗CD3ε抗体(OKT3)激活或未经刺激的T细胞培养物中表达PD1的CD8+T细胞的百分比的柱状图。

[0546] 图49A是示出用抗TCRβV抗体(抗TCRβV 6-5v1)激活、用抗CD3ε抗体(OKT3)激活或未经刺激的T细胞培养物中CD4+T细胞的Ki-67表达的柱状图。图49B是示出用抗TCRβV抗体(抗TCRβV 6-5v1)激活、用抗CD3ε抗体(OKT3)激活或未经刺激的T细胞培养物中CD8+T细胞的Ki-67表达的柱状图。

[0547] 图50A是示出使用抗TCRβV抗体(抗TCRβV 6-5v1)激活的表达CD57的TEMRA样CD8+T细胞的百分比(18.7%)的FACS图。图50B是示出使用抗CD3ε抗体(OKT3)激活的表达CD57的TEM样CD8+T细胞的百分比(46.8%)和使用抗CD3ε抗体(OKT3)激活的表达CD57的TCM样CD8+T细胞的百分比(18.9%)的FACS图。

[0548] 图51示出了用抗TCRβV抗体(抗TCRβV 6-5v1)激活、用抗CD3ε抗体(OKT3)激活或未经刺激的T细胞培养物中CD4+(顶部)或CD8+(底部)T细胞的CD27表达的一系列FACS图。

[0549] 图52示出了用抗TCRβV抗体(抗TCRβV 6-5v1)激活、用抗CD3ε抗体(OKT3)激活或未经刺激的T细胞培养物中CD4+(顶部)或CD8+(底部)T细胞的OX40、41BB和ICOS表达的一系列FACS图。

[0550] 图53示出了一系列FACS图,示出了穿过11(P11)、15(P15)和21(P21)通路的Jurkat细胞的TCRβV6-5表达水平。

[0551] 图54示出了一系列FACS图,示出了在用BCMA和抗TCR Vβ抗体抗TCR Vβ6-5v1激活后1、2、3、4、5、6和8天的CD3+(CD4门控)TCRβV 6-5+T细胞的百分比。

[0552] 图55A示出了一系列FACS图,示出了在激活后第0天使用同种型对照(IgG1 N297A)、抗TCRβV(抗TCR Vβ6-5v1)或抗CD3ε(OKT3)抗体扩增的CD4+T细胞的百分比。图55B示出了一系列FACS图,示出了在激活后第1天使用同种型对照(IgG1 N297A)、抗TCRβV(抗TCR Vβ6-5v1)或抗CD3ε(OKT3)抗体扩增的CD4+T细胞的百分比。图55C示出了一系列FACS

图,示出了在激活后第2天使用同种型对照(IgG1 N297A)、抗TCRβV(抗TCR Vβ6-5v1)或抗CD3ε(OKT3)抗体扩增的CD4+T细胞的百分比。图55D示出了一系列FACS图,示出了在激活后第3天使用同种型对照(IgG1 N297A)、抗TCRβV(抗TCR Vβ6-5v1)或抗CD3ε(OKT3)抗体扩增的CD4+T细胞的百分比。图55E示出了一系列FACS图,示出了在激活后第4天使用同种型对照(IgG1 N297A)、抗TCRβV(抗TCR Vβ6-5v1)或抗CD3ε(OKT3)抗体扩增的CD4+T细胞的百分比。图55F示出了一系列FACS图,示出了在激活后第5天使用同种型对照(IgG1 N297A)、抗TCRβV(抗TCR Vβ6-5v1)或抗CD3ε(OKT3)抗体扩增的CD4+T细胞的百分比。图55G示出了一系列FACS图,示出了在激活后第6天使用同种型对照(IgG1 N297A)、抗TCRβV(抗TCR Vβ6-5v1)或抗CD3ε(OKT3)抗体扩增的CD4+T细胞的百分比。图55H示出了一系列FACS图,示出了在激活后第8天使用同种型对照(IgG1 N297A)、抗TCRβV(抗TCR Vβ6-5v1)或抗CD3ε(OKT3)抗体扩增的CD4+T细胞的百分比。

[0553] 图56A是示出用抗TCRvb 6-5v1抗体激活的细胞与未经刺激的细胞之间的基因表达差异的分布图。图56B是示出用OKT3激活的细胞与未经刺激的细胞之间的基因表达差异的分布图。图56C是示出用SP34-2激活的细胞与未经刺激的细胞之间的基因表达差异的分布图。图56D是示出用抗TCRvb 6-5v1抗体激活的细胞与用OKT3激活的细胞之间的基因表达差异的分布图。图56E是示出用OKT3激活的细胞与用SP34-2激活的细胞之间检测到的无基因表达差异的分布图。

[0554] 图57A示出了用所述抗体进行T细胞刺激后差异地上调的基因分布。图57B示出了用所述抗体进行T细胞刺激后差异地下调的基因分布。图57C示出了用所述抗体进行T细胞刺激后差异地上调或下调的基因分布。图57D示出了用所述抗体进行T细胞刺激后差异地上调或下调的基因分布。

[0555] 图58示出了被差异地调节且与各种细胞途径相关的基因的途径评分的热图。纯化的T细胞样品包括未经刺激的(n=3)、OKT3刺激的(n=3)、SP34-2刺激的(n=3)和抗TCRβV 6-5v1刺激的(n=3)。

[0556] 图59A示出了用所示抗体激活而上调或下调的或未经刺激的细胞因子和趋化因子途径的图。图59B示出了用所示抗体激活而上调或下调的或未经刺激的TNF超家族和白介素途径的图。图59C示出了用所示抗体激活而上调或下调的或未经刺激的T细胞功能和衰老途径的图。图59D示出了用所示抗体激活而上调或下调的或未经刺激的细胞周期和细胞毒性途径的图。

[0557] 图60A示出了用所示抗体激活而上调或下调的或未经刺激的T细胞功能途径的图。图60B示出了用所示抗体激活而上调或下调的或未经刺激的衰老途径的图。

[0558] 图61A示出了用所示抗体激活的或未经刺激的细胞中粒酶B的差异调节。P≤0.01****;p≤0.05***;p≤0.5*;p≤0.5^{ns}。图61B示出了用所示抗体激活的或未经刺激的细胞中穿孔素的差异调节。P≤0.01****;p≤0.05***;p≤0.5*;p≤0.5^{ns}。图61C示出了用所示抗体激活的或未经刺激的细胞中IL-2的差异调节。P≤0.01****;p≤0.05***;p≤0.5*;p≤0.5^{ns}。图61D示出了用所示抗体激活的或未经刺激的细胞中LIF的差异调节。P≤0.01****;p≤0.05***;p≤0.5*;p≤0.5^{ns}。图61E示出了用所示抗体激活的或未经刺激的细胞中IFNγ的差异调节。P≤0.01****;p≤0.05***;p≤0.5*;p≤0.5^{ns}。图61F示出了用所示抗体激活的或未经刺激的细胞中IL-22的差异调节。P≤0.01****;p≤0.05***;p≤0.5*;p≤0.5^{ns}。图

61G示出了用所示抗体激活的或未经刺激的细胞中CD40LG的差异调节。P≤0.01****;p≤0.05***;p≤0.5*;p≤0.5^{ns}。图61H示出了用所示抗体激活的或未经刺激的细胞中ICOS的差异调节。P≤0.01****;p≤0.05***;p≤0.5*;p≤0.5^{ns}。图61I示出了用所示抗体激活的或未经刺激的细胞中CXCL9的差异调节。P≤0.01****;p≤0.05***;p≤0.5*;p≤0.5^{ns}。图61J示出了用所示抗体激活的或未经刺激的细胞中CXCL10的差异调节。P≤0.01****;p≤0.05***;p≤0.5*;p≤0.5^{ns}。

[0559] 图62示出了来自在用所示抗体激活T细胞后差异表达的与T细胞激活和耗尽相关的基因的主成分分析(PCA)的图。

[0560] 图63示出了来自在用所示抗体激活T细胞后表达的与共刺激相关的基因的主成分分析(PCA)的图。

[0561] 图64示出了来自在用所示抗体激活T细胞后表达的与调节功能相关的基因的主成分分析(PCA)的图。

[0562] 图65A是示出从用所示抗体激活的T细胞培养物的糖酵解产生的ATP的柱状图。图65B是示出从用所示抗体激活的T细胞培养物的氧化磷酸化产生的ATP的柱状图。

[0563] 图66是示出用所示抗体激活的T细胞从约0至75分钟的耗氧速率(OCR)的线形图。

[0564] 图67A示出了用所示抗体激活的T细胞在基础呼吸期间的耗氧速率(OCR)。图67B示出了用所示抗体激活的T细胞在最大呼吸期间的耗氧速率(OCR)。图67C示出了用所示抗体激活的T细胞在备用呼吸能力期间的耗氧速率(OCR)。图67D是显示如图67A和图67B分别所示的基础呼吸和最大呼吸的区域的线形图。

[0565] 图68A是示出从用抗TCRβV 6-5v1激活并用所示抗体再刺激的T细胞培养物的糖酵解产生的ATP的柱状图。图68B是示出从用抗TCRβV6-5v1激活并用所示抗体再刺激的T细胞培养物的氧化磷酸化产生的ATP的柱状图。

[0566] 图69A是示出来自所示供体(供体14497或供体14693)的CMV(pp65)特异性抗TCRβV 6-5v1激活的TCRvβ6-5+CD8+T细胞的百分比的FACS图。图69B是示出来自所示供体(供体14497或供体14693)的EBV(LMP2)特异性抗TCRβV 6-5v1激活的TCRvβ6-5+CD8+T细胞的百分比的FACS图。图69C是示出来自所示供体(供体14497或供体14693)的EBV(混合肽)特异性抗TCRβV 6-5v1激活的TCRvβ6-5+CD8+T细胞的百分比的FACS图。图69D是示出来自所示供体(供体14497或供体14693)的流感特异性抗TCRβV 6-5v1激活的TCRvβ6-5+CD8+T细胞的百分比的FACS图。图69E是示出来自所示供体(供体11011)的流感特异性抗TCRβV 6-5v1激活的TCRvβ6-5+CD8+T细胞的百分比的FACS图。图69F是示出所示病毒中的病毒肽特异性(CD8+T细胞)百分比的柱状图。

[0567] 图70是示出从用所示抗体激活的T细胞培养物扩增的NK细胞百分比的FACS图。

[0568] 图71是示出从用所示抗体激活的T细胞培养物扩增的NK细胞数目的柱状图。

[0569] 图72示出了一系列FACS图,示出了由用所示抗体激活的T细胞培养物诱导的NK细胞增殖。

[0570] 图73是示出实施例中所述的用于确定靶K562细胞的NK细胞介导裂解的测定的示意图。

[0571] 图74是示出由通过PBMC激活的NK细胞介导的靶细胞溶解百分比的柱状图,该PBMC用所示抗体激活。

[0572] 图75是示出用所示抗体(抗TCRβV 6-5v1、OKT3或SP34)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、3或5天)的T细胞所分泌的IFNγ水平的柱状图。

[0573] 图76是示出用所示抗体(抗TCRβV 6-5v1、OKT3或SP34)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、3或5天)的T细胞所分泌的IL-2水平的柱状图。

[0574] 图77是示出用所示抗体(抗TCRβV 6-5v1、OKT3或SP34)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、3或5天)的T细胞所分泌的IL-5水平的柱状图。

[0575] 图78是示出用所示抗体(抗TCRβV 6-5v1、OKT3或SP34)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、3或5天)的T细胞所分泌的IL-1β水平的柱状图。

[0576] 图79是示出用所示抗体(抗TCRβV 6-5v1、OKT3或SP34)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、3或5天)的T细胞所分泌的IL-6水平的柱状图。

[0577] 图80是示出用所示抗体(抗TCRβV 6-5v1、OKT3或SP34)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、3或5天)的T细胞所分泌的IL-10水平的柱状图。

[0578] 图81是示出用所示抗体(抗TCRβV 6-5v1或SP34)激活/扩增的T细胞所分泌的所示细胞因子的水平的柱状图。数据包括使用17个单独的PBMC供体。

[0579] 图82A是示出用所示抗体(抗TCRβV 6-5v1或OKT3)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、5或6天)的T细胞所分泌的IFNγ水平的柱状图。图82B是示出用所示抗体(抗TCRβV 6-5v1或OKT3)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、5或6天)的T细胞所分泌的IL-1β水平的柱状图。图82C是示出用所示抗体(抗TCRβV 6-5v1或OKT3)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、5或6天)的T细胞所分泌的IL-4水平的柱状图。图82D是示出用所示抗体(抗TCRβV 6-5v1或OKT3)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、5或6天)的T细胞所分泌的IL-6水平的柱状图。图82E是示出用所示抗体(抗TCRβV 6-5v1或OKT3)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、5或6天)的T细胞所分泌的IL-10水平的柱状图。图82F是示出用所示抗体(抗TCRβV 6-5v1或OKT3)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、5或6天)的T细胞所分泌的TNFα水平的柱状图。图82G是示出用所示抗体(抗TCRβV 6-5v1或OKT3)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、5或6天)的T细胞所分泌的IL-2水平的柱状图。

[0580] 图83A是示出用所示抗体(抗TCRβV 6-5v1、抗TCRβV 6-5v2、OKT3、SP34-2或同种型对照)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、5或6天)的T细胞所分泌的IFNγ水平的柱状图。图83B是示出用所示抗体(抗TCRβV 6-5v1、抗TCRβV 6-5v2、OKT3、SP34-2或同种型对照)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、5或6天)的T细胞所分泌的IL-1β水平的柱状图。图83C是示出用所示抗体(抗TCRβV 6-5v1、抗TCRβV 6-5v2、OKT3、SP34-2或同种型对照)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、5或6天)的T细胞所分泌的IL-4水平的柱状图。图83D是示出用所示抗体(抗TCRβV 6-5v1、抗TCRβV 6-5v2、OKT3、SP34-2或同种型对照)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、5或6天)的T细胞所分泌的IL-6水平的柱状图。图83E是示出用所示抗体(抗TCRβV 6-5v1、抗TCRβV 6-5v2、OKT3、SP34-2或同种型对照)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、5或6天)的T细胞所分泌的IL-10水平的柱状图。图83F是示出用所示抗体(抗TCRβV 6-5v1、抗TCRβV 6-5v2、OKT3、SP34-2或同种型对照)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、5或6天)的T细胞所分泌的TNFα水平的柱状图。图83G是示出用所示抗体(抗TCRβV 6-5v1、抗TCRβV 6-

5v2、OKT3、SP34-2或同种型对照)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、5或6天)的T细胞所分泌的IL-2水平的柱状图。

[0581] 图84A是示出用所示抗体(抗TCRβV 6-5v1、抗TCRβV 6-5v2、OKT3或SP34-2)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、4、5、6或8天)的T细胞所分泌的IFNγ水平的柱状图。图84B是示出用所示抗体(抗TCRβV 6-5v1、抗TCRβV 6-5v1、OKT3或SP34-2)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、4、5、6或8天)的T细胞所分泌的IL-1β水平的柱状图。图84C是示出用所示抗体(抗TCRβV6-5v1、抗TCRβV 6-5v2、OKT3或SP34-2)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、4、5、6或8天)的T细胞所分泌的IL-4水平的柱状图。图84D是示出用所示抗体(抗TCRβV 6-5v1、抗TCRβV 6-5v2、OKT3或SP34-2)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、4、5、6或8天)的T细胞所分泌的IL-6水平的柱状图。图84E是示出用所示抗体(抗TCRβV 6-5v1、抗TCRβV 6-5v2、OKT3或SP34-2)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、4、5、6或8天)的T细胞所分泌的IL-10水平的柱状图。图84F是示出用所示抗体(抗TCRβV 6-5v1、抗TCRβV 6-5v2、OKT3或SP34-2)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、4、5、6或8天)的T细胞所分泌的TNFα水平的柱状图。图84G是示出用所示抗体(抗TCRβV 6-5v1、抗TCRβV 6-5v2、OKT3或SP34-2)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、4、5、6或8天)的T细胞所分泌的IL-2水平的柱状图。

[0582] 图85A是示出用所示抗体(抗TCRβV 6-5v1、OKT3或SP34-2)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(2、5或7天)的T细胞所分泌的IL-17A水平的柱状图。图85B是示出用所示抗体(抗TCRβV 6-5v1、OKT3或SP34-2)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(2、5或8天)的T细胞所分泌的IL-17A水平的柱状图。图85C是示出用所示抗体(抗TCRβV 6-5v1、OKT3或SP34-2)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(2、5或7天)的T细胞所分泌的IL-17A水平的柱状图。图85D是示出用所示抗体(抗TCRβV 6-5v1或SP34-2)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、3、5或7天)的T细胞所分泌的IL-17A水平的柱状图。

[0583] 图86A是示出用所示抗体(同种型对照;抗TCRβV 6-5v1与抗BCMA抗体;抗TCRβV 6-5v1;抗TCRβV 123/4v1或SP34-2)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、4、5、6或8天)的T细胞所分泌的IFNγ水平的柱状图。图86B是示出用所示抗体(同种型对照;抗TCRβV 6-5v1与抗BCMA抗体;抗TCRβV 6-5v1;抗TCRβV 123/4v1或SP34-2)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、4、5、6或8天)的T细胞所分泌的IL-1β水平的柱状图。图86C是示出用所示抗体(同种型对照;抗TCRβV 6-5v1与抗BCMA抗体;抗TCRβV 6-5v1;抗TCRβV 123/4v1或SP34-2)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、4、5、6或8天)的T细胞所分泌的IL-4水平的柱状图。图86D是示出用所示抗体(同种型对照;抗TCRβV 6-5v1与抗BCMA抗体;抗TCRβV 6-5v1;抗TCRβV 123/4v1或SP34-2)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、4、5、6或8天)的T细胞所分泌的IL-6水平的柱状图。图86E是示出用所示抗体(同种型对照;抗TCRβV6-5v1与抗BCMA抗体;抗TCRβV 6-5v1;抗TCRβV 123/4v1或SP34-2)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、4、5、6或8天)的T细胞所分泌的IL-10水平的柱状图。图86F是示出用所示抗体(同种型对照;抗TCRβV 6-5v1与抗BCMA抗体;抗TCRβV 6-5v1;抗TCRβV 123/4v1或SP34-2)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、4、5、6或8天)的T细胞所分泌的TNFα水平的柱状图。图86G是示出用所示抗体(同种型对照;抗TCRβV 6-5v1与抗BCMA抗体;抗TCRβV 6-5v1;抗TCRβV 123/4v1或SP34-2)激活/扩增的并与所述抗体培养所

示天数(1、2、3、4、5、6或8天)的T细胞所分泌的IL-2水平的柱状图。图86H是示出用所示抗体(同种型对照;抗TCRβV6-5v1与抗BCMA抗体;抗TCRβV 6-5v1;抗TCRβV 123/4v1或SP34-2)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、4、5、6或8天)的T细胞所分泌的IL-12p70水平的柱状图。图86I是示出用所示抗体(同种型对照;抗TCRβV 6-5v1与抗BCMA抗体;抗TCRβV 6-5v1;抗TCRβV 123/4v1或SP34-2)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、4、5、6或8天)的T细胞所分泌的IL-13水平的柱状图。图86J是示出用所示抗体(同种型对照;抗TCRβV 6-5v1与抗BCMA抗体;抗TCRβV 6-5v1;抗TCRβV 123/4v1或SP34-2)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、4、5、6或8天)的T细胞所分泌的IL-8水平的柱状图。图86K是示出用所示抗体(同种型对照;抗TCRβV6-5v1与抗BCMA抗体;抗TCRβV 6-5v1;抗TCRβV 123/4v1或SP34-2)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、4、5、6或8天)的T细胞所分泌的exotaxin水平的柱状图。图86L是示出用所示抗体(同种型对照;抗TCRβV 6-5v1与抗BCMA抗体;抗TCRβV 6-5v1;抗TCRβV 123/4v1或SP34-2)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、4、5、6或8天)的T细胞所分泌的趋化因子-3水平的柱状图。图86M是示出用所示抗体(同种型对照;抗TCRβV 6-5v1与抗BCMA抗体;抗TCRβV 6-5v1;抗TCRβV 123/4v1或SP34-2)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、4、5、6或8天)的T细胞所分泌的IL-8水平的柱状图。图86N是示出用所示抗体(同种型对照;抗TCRβV 6-5v1与抗BCMA抗体;抗TCRβV 6-5v1;抗TCRβV 123/4v1或SP34-2)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、4、5、6或8天)的T细胞所分泌的IP-10水平的柱状图。图86O是示出用所示抗体(同种型对照;抗TCRβV 6-5v1与抗BCMA抗体;抗TCRβV 6-5v1;抗TCRβV 123/4v1或SP34-2)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、4、5、6或8天)的T细胞所分泌的MCP-1水平的柱状图。图86P是示出用所示抗体(同种型对照;抗TCRβV 6-5v1与抗BCMA抗体;抗TCRβV 6-5v1;抗TCRβV 123/4v1或SP34-2)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、4、5、6或8天)的T细胞所分泌的MCP-4水平的柱状图。图86Q是示出用所示抗体(同种型对照;抗TCRβV 6-5v1与抗BCMA抗体;抗TCRβV 6-5v1;抗TCRβV 123/4v1或SP34-2)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、4、5、6或8天)的T细胞所分泌的MDC水平的柱状图。图86R是示出用所示抗体(同种型对照;抗TCRβV 6-5v1与抗BCMA抗体;抗TCRβV 6-5v1;抗TCRβV 123/4v1或SP34-2)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、4、5、6或8天)的T细胞所分泌的MIP-1a水平的柱状图。图86S是示出用所示抗体(同种型对照;抗TCRβV 6-5v1与抗BCMA抗体;抗TCRβV 6-5v1;抗TCRβV 123/4v1或SP34-2)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、4、5、6或8天)的T细胞所分泌的MIP-1b水平的柱状图。图86T是示出用所示抗体(同种型对照;抗TCRβV 6-5v1与抗BCMA抗体;抗TCRβV 6-5v1;抗TCRβV 123/4v1或SP34-2)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、4、5、6或8天)的T细胞所分泌的TARC水平的柱状图。图86U是示出用所示抗体(同种型对照;抗TCRβV 6-5v1与抗BCMA抗体;抗TCRβV 6-5v1;抗TCRβV 123/4v1或SP34-2)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、4、5、6或8天)的T细胞所分泌的GMCSF水平的柱状图。图86V是示出用所示抗体(同种型对照;抗TCRβV 6-5v1与抗BCMA抗体;抗TCRβV 6-5v1;抗TCRβV 123/4v1或SP34-2)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、4、5、6或8天)的T细胞所分泌的IL-12-23p40水平的柱状图。图86W是示出用所示抗体(同种型对照;抗TCRβV 6-5v1与抗BCMA抗体;抗TCRβV 6-5v1;抗TCRβV 123/4v1或SP34-2)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、4、5、6或8天)的T细胞

所分泌的IL-15水平的柱状图。图86X是示出用所示抗体(同种型对照;抗TCRβV 6-5v1与抗BCMA抗体;抗TCRβV 6-5v1;抗TCRβV 123/4v1或SP34-2)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、4、5、6或8天)的T细胞所分泌的IL-16水平的柱状图。图86Y是示出用所示抗体(同种型对照;抗TCRβV 6-5v1与抗BCMA抗体;抗TCRβV 6-5v1;抗TCRβV 123/4v1或SP34-2)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、4、5、6或8天)的T细胞所分泌的IL-17a水平的柱状图。图86Z是示出用所示抗体(同种型对照;抗TCRβV 6-5v1与抗BCMA抗体;抗TCRβV 6-5v1;抗TCRβV 123/4v1或SP34-2)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、4、5、6或8天)的T细胞所分泌的IL-1a水平的柱状图。图86AA是示出用所示抗体(同种型对照;抗TCRβV 6-5v1与抗BCMA抗体;抗TCRβV 6-5v1;抗TCRβV 123/4v1或SP34-2)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、4、5、6或8天)的T细胞所分泌的IL-5水平的柱状图。图86BB是示出用所示抗体(同种型对照;抗TCRβV 6-5v1与抗BCMA抗体;抗TCRβV 6-5v1;抗TCRβV 123/4v1或SP34-2)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、4、5、6或8天)的T细胞所分泌的IL-7水平的柱状图。图86CC是示出用所示抗体(同种型对照;抗TCRβV 6-5v1与抗BCMA抗体;抗TCRβV 6-5v1;抗TCRβV 123/4v1或SP34-2)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、4、5、6或8天)的T细胞所分泌的TNF-B水平的柱状图。图86DD是示出用所示抗体(同种型对照;抗TCRβV 6-5v1与抗BCMA抗体;抗TCRβV 6-5v1;抗TCRβV 123/4v1或SP34-2)激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、2、3、4、5、6或8天)的T细胞所分泌的VEGF水平的柱状图。

[0584] 图87A是示出用所示抗体(抗TCRβV 6-5v1(板包被的)、抗CD3ε(板包被的)、抗TCRβV 6-5v1(溶液中)或抗CD3ε(溶液中))激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、3、5或7天)的T细胞所分泌的IFN-γ水平的柱状图。图87B是示出用所示抗体(抗TCRβV6-5v1(板包被的)、抗CD3ε(板包被的)、抗TCRβV 6-5v1(溶液中)或抗CD3ε(溶液中))激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、3、5或7天)的T细胞所分泌的IFN-γ水平的柱状图。图87C是示出用所示抗体(抗TCRβV 6-5v1(板包被的)、抗CD3ε(板包被的)、抗TCRβV 6-5v1(溶液中)或抗CD3ε(溶液中))激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、3、5或7天)的T细胞所分泌的IL-1b水平的柱状图。图87D是示出用所示抗体(抗TCRβV 6-5v1(板包被的)、抗CD3ε(板包被的)、抗TCRβV 6-5v1(溶液中)或抗CD3ε(溶液中))激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、3、5或7天)的T细胞所分泌的IL-6水平的柱状图。图87E是示出用所示抗体(抗TCRβV 6-5v1(板包被的)、抗CD3ε(板包被的)、抗TCRβV 6-5v1(溶液中)或抗CD3ε(溶液中))激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、3、5或7天)的T细胞所分泌的IL-10水平的柱状图。图87F是示出用所示抗体(抗TCRβV 6-5v1(板包被的)、抗CD3ε(板包被的)、抗TCRβV 6-5v1(溶液中)或抗CD3ε(溶液中))激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、3、5或7天)的T细胞所分泌的IL-15水平的柱状图。图87G是示出用所示抗体(抗TCRβV 6-5v1(板包被的)、抗CD3ε(板包被的)、抗TCRβV 6-5v1(溶液中)或抗CD3ε(溶液中))激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、3、5或7天)的T细胞所分泌的IL-17A水平的柱状图。图87H是示出用所示抗体(抗TCRβV6-5v1(板包被的)、抗CD3ε(板包被的)、抗TCRβV 6-5v1(溶液中)或抗CD3ε(溶液中))激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、3、5或7天)的T细胞所分泌的IL-1a水平的柱状图。图87I是示出用所示抗体(抗TCRβV 6-5v1(板包被的)、抗CD3ε(板包被的)、抗TCRβV 6-5v1(溶液中)或抗CD3ε(溶液中))激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、3、5或7天)

的T细胞所分泌的IL-1b水平的柱状图。图87J是示出用所示抗体(抗TCRβV 6-5v1(板包被的)、抗CD3ε(板包被的)、抗TCRβV 6-5v1(溶液中)或抗CD3ε(溶液中))激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、3、5或7天)的T细胞所分泌的IL-2水平的柱状图。图87K是示出用所示抗体(抗TCRβV 6-5v1(板包被的)、抗CD3ε(板包被的)、抗TCRβV 6-5v1(溶液中)或抗CD3ε(溶液中))激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、3、5或7天)的T细胞所分泌的IL-4水平的柱状图。图87L是示出用所示抗体(抗TCRβV 6-5v1(板包被的)、抗CD3ε(板包被的)、抗TCRβV 6-5v1(溶液中)或抗CD3ε(溶液中))激活/扩增的并与所述抗体培养所示天数(1、3、5或7天)的T细胞所分泌的TNF-a水平的柱状图。

[0585] 图88示出了不同TCRVB克隆型亚家族之间的序列关系的图形呈现。

[0586] 图89A是示出从使用所示抗体(抗TCRβV 12-3/4或SP34-2)激活/扩增八天的PBMC释放的细胞因子百分比的柱状图。图89B是示出从使用所示抗体(抗TCRβV 5或SP34-2)激活/扩增八天的PBMC释放的细胞因子百分比的柱状图。图89C是示出从使用所示抗体(抗TCRβV 10或SP34-2)激活/扩增八天的PBMC释放的细胞因子百分比的柱状图。

[0587] 图90示出了一系列FACS图,示出了来自用所示抗体(同种型对照或OKT3)激活/扩增的PBMC培养物的NK细胞的增殖。分析了来自三个供体(D1、D2和D3)的PBMC。

[0588] 图91示出了一系列FACS图,示出了来自用所示抗体(抗TCRvβ12-3/4v1或抗TCRvβ12-3/4v2)激活/扩增的PBMC培养物的NK细胞的增殖。分析了来自三个供体(D1、D2和D3)的PBMC。

[0589] 图92示出了一系列FACS图,示出了来自用所示抗体(抗TCRvβ12-3/4v3或SP34-2)激活/扩增的PBMC培养物的NK细胞的增殖。分析了来自三个供体(D1、D2和D3)的PBMC。

[0590] 图93A是示出用所示抗体激活/扩增所示天数(3或6天)的T细胞所分泌的IFNγ水平的柱状图。图93B是示出用所示抗体激活/扩增所示天数(3或6天)的T细胞所分泌的IL-10水平的柱状图。图93C是示出用所示抗体激活/扩增所示天数(3或6天)的T细胞所分泌的IL-17A水平的柱状图。图93D是示出用所示抗体激活/扩增所示天数(3或6天)的T细胞所分泌的IL-1α水平的柱状图。图93E是示出用所示抗体激活/扩增所示天数(3或6天)的T细胞所分泌的IL-1β水平的柱状图。图93F是示出用所示抗体激活/扩增所示天数(3或6天)的T细胞所分泌的IL-6水平的柱状图。图93G是示出用所示抗体激活/扩增所示天数(3或6天)的T细胞所分泌的TNFα水平的柱状图。图93H是示出用所示抗体激活/扩增所示天数(3或6天)的T细胞所分泌的IL-2水平的柱状图。

[0591] 图94是总结了来自使用所示抗TCRVβ抗体激活/扩增6天的PBMC的FACS分析的数据的柱状图。

[0592] 图95A是示出用所示抗体激活/扩增所示天数(1、3、5或7天)的T细胞所分泌的IFNγ水平的柱状图。图95B是示出用所示抗体激活/扩增所示天数(1、3、5或7天)的T细胞所分泌的IL-10水平的柱状图。图95C是示出用所示抗体激活/扩增所示天数(1、3、5或7天)的T细胞所分泌的IL-17A水平的柱状图。图95D是示出用所示抗体激活/扩增所示天数(1、3、5或7天)的T细胞所分泌的IL-1α水平的柱状图。图95E是示出用所示抗体激活/扩增所示天数(1、3、5或7天)的T细胞所分泌的IL-1β水平的柱状图。图95F是示出用所示抗体激活/扩增所示天数(1、3、5或7天)的T细胞所分泌的IL-6水平的柱状图。图95G是示出用所示抗体激活/扩增所示天数(1、3、5或7天)的T细胞所分泌的IL-4水平的柱状图。图95H是示出用所示抗体激

活/扩增所示天数(1、3、5或7天)的T细胞所分泌的IL-2水平的柱状图。

[0593] 图96是总结了来自使用所示抗TCRVβ抗体激活/扩增7天的PBMC的FACS分析的数据的柱状图。

[0594] 图97A是示出用所示抗体激活/扩增所示天数(3或6天)的T细胞所分泌的IFNγ水平的柱状图。图97B是示出用所示抗体激活/扩增所示天数(3或6天)的T细胞所分泌的IL-10水平的柱状图。图97C是示出用所示抗体激活/扩增所示天数(3或6天)的T细胞所分泌的IL-17A水平的柱状图。图97D是示出用所示抗体激活/扩增所示天数(3或6天)的T细胞所分泌的IL-1α水平的柱状图。图97E是示出用所示抗体激活/扩增所示天数(3或6天)的T细胞所分泌的IL-1β水平的柱状图。图97F是示出用所示抗体激活/扩增所示天数(3或6天)的T细胞所分泌的IL-6水平的柱状图。图97G是示出用所示抗体激活/扩增所示天数(3或6天)的T细胞所分泌的IL-4水平的柱状图。图97H是示出用所示抗体激活/扩增所示天数(3或6天)的T细胞所分泌的TNFα水平的柱状图。图97I是示出用所示抗体激活/扩增所示天数(3或6天)的T细胞所分泌的IL-2水平的柱状图。

[0595] 图98是示出在PBMC与或未与(仅MH3-2)TM23预温育的情况下MH3-2与来自两个供体之一的PBMC结合的能力的FACS图。

[0596] 图99是示出在PBMC与或未与(仅MH3-2)TM23预温育的情况下MH3-2与来自两个供体之一的PBMC结合的能力的FACS图。

[0597] 图100A是示出PBMC CD4+T细胞、用抗CD3抗体扩增的CD4+T细胞(CD3扩增的T细胞)、用抗TCRVβ6-5抗体扩增的CD4+T细胞(药物扩增的T细胞)的多功能强度指数(PSI)的柱状图。效应介质是粒酶B、IFNγ、MIP-1α、穿孔素、TNFα和TNFβ。刺激介质是IL-5。化学趋化介质是MIP-1b。图100B是示出PBMC CD8+T细胞、用抗CD3抗体扩增的CD8+T细胞(CD3扩增的T细胞)、用抗TCR Vβ6-5抗体扩增的CD8+T细胞(药物扩增的T细胞)的多功能强度指数(PSI)的柱状图。效应介质是粒酶B、IFNγ、MIP-1α、穿孔素和TNFβ。化学趋化介质是MIP-1b和RANTES。

[0598] 图101A是示出与所示抗体和培养基(或无病毒对照)培养的产自供体177PBMC的CAR T细胞在第0天、第7天、第9天和第11天时的细胞数的线形图。图101B是示出与所示抗体和培养基(或无病毒对照)培养的产自供体178PBMC的CAR T细胞在第0天、第7天、第9天和第11天时的细胞数的线形图。图101C是示出与所示抗体和培养基(或无病毒对照)培养的产自供体890PBMC的CAR T细胞在第0天、第7天、第9天和第11天时的细胞数的线形图。

[0599] 图102是第11天时用于染色CAR-T细胞的流式细胞术方案的示意图。

[0600] 图103是示出用所示抗体和培养基(或无病毒对照)培养的CAR T细胞在第11天的CAR-T细胞频率的柱状图。

[0601] 图104A是示出在第11天时基于产自供体177PBMC的CAR-T细胞的CD45RO-APC和CD62L-FITC染色的Teff、Tem、Tcm和Tn表型的CAR-T细胞百分比的柱状图。图104B是示出在第11天时基于产自供体178PBMC的CAR-T细胞的CD45RO-APC和CD62L-FITC染色的Teff、Tem、Tcm和Tn表型的CAR-T细胞百分比的柱状图。图104C是示出在第11天时基于产自供体890PBMC的CAR-T细胞的CD45RO-APC和CD62L-FITC染色的Teff、Tem、Tcm和Tn表型的CAR-T细胞百分比的柱状图。

[0602] 图105A示出了通过用所示抗体和介质激活而制备的来自供体177PBMC的CAR-T细

胞的细胞毒性。图105B示出了通过用所示抗体和介质激活而制备的来自供体178PBMC的CAR-T细胞的细胞毒性。图105C示出了通过用所示抗体和介质激活而制备的来自供体890PBMC的CAR-T细胞的细胞毒性。图105D是示出在添加靶细胞后8小时通过用所示抗体和介质激活而制备的CAR-T细胞的细胞毒性的总结的柱状图。图105E是示出在添加靶细胞后24小时通过用所示抗体和介质激活而制备的CAR-T细胞的细胞毒性的总结的柱状图。

[0603] 图106是示出用所示抗体激活并用于细胞毒性测定的CAR-T细胞的IFNγ产生的柱状图。

[0604] 图107示出8个功能性人TCRVβ6家族序列的序列比对——框显示了亚家族6-5中的三个独特氨基酸。

[0605] 图108A是示出与WT TCR受体结合的H131抗体的线形图。图108B是示出与Q78A TCR受体结合的H131抗体的线形图。图108C是示出与L101A TCR受体结合的H131抗体的线形图。图108D是示出与S102A TCR受体结合的H131抗体的线形图。

具体实施方式

[0606] 当前离体扩增T细胞的方法包括使T细胞与单独特异性结合T细胞受体(TCR)的CD3ε亚基的抗体分子接触,或使T细胞与特异性结合T细胞受体(TCR)的CD3ε亚基接触的同时结合靶向共刺激受体CD28。然而,该方法存在限制,这些限制可能会阻止使此类T细胞疗法的治疗潜力完全实现。先前研究显示,即使低"激活"剂量的抗CD3ε单克隆抗体(mAb)可以导致长期T细胞功能失调并发挥免疫抑制作用。此外,施用用抗CD3ε抗体激活/扩增的T细胞与炎症副作用相关,该炎症副作用包括细胞因子释放综合征(CRS)、巨噬细胞活化综合征、神经毒性和肿瘤溶解综合征。抗CD3ε抗体激活的T细胞分泌促炎细胞因子,如IFNγ、IL-1、IL-6和TNF-α,或分泌激活抗原呈递细胞的促炎细胞因子(例如,IFNγ),例如,巨噬细胞分泌促炎细胞因子如IL-1、IL-6和TNF-α,这可以诱导细胞因子释放综合征(CRS)、巨噬细胞活化综合征、神经毒性或肿瘤溶解综合征。因此,需要开发能够仅结合和激活效应T细胞亚群的抗体,例如,以减少CRS。

[0607] 本公开内容至少部分基于以下超预期的发现:T细胞可以使用抗TCRVβ抗体离体激活和扩增;以及这些T细胞在体内显著降低与细胞因子释放综合征(CRS)、巨噬细胞活化综合征、神经毒性和肿瘤溶解综合征的诱导相关的促炎细胞因子如IFNγ、IL-10、IL-17A、IL-1α、IL-1β、IL-2、IL-6和TNFα的水平,同时还分泌更高或相似水平的IL-2。本公开内容特别提供了使用抗体的方法,涉及使用抗TCRVβ抗体来离体扩增T细胞。本文公开的抗TCRVβ抗体分子的使用导致与CRS相关的细胞因子例如IL-6、IL-1β和TNFα的产生减少或不产生;以及IL-2和IFNγ的产生增加和/或延迟。在一些实施方案中,本文公开的抗TCRVβ抗体导致被称为T_{EMRA}的记忆效应T细胞亚群的扩增。在一些实施方案中,所扩增的细胞输注至受试者中以治疗疾病(例如,癌症)。在一些实施方案中,包含本公开内容的抗TCRVβ抗体分子的组合物可用于例如离体扩增T细胞(CAR-T细胞)以促进肿瘤细胞溶解,以用于癌症免疫疗法。在一些实施方案中,如本文公开的包括使T细胞与抗TCRVβ抗体分子接触的离体扩增T细胞的方法限制CRS,例如,与抗CD3e靶向和/或CD28靶向相关的CRS的有害副作用。

援引并入

[0608] 本文提及的所有出版物和专利均通过引用整体并入本文,如同每个单独的出版物

或专利均被特别地和单独地指出通过引用并入。

定义

[0609] 除非另有定义，否则本文使用的所有技术和科学术语具有与本领域普通技术人员通常理解的相同含义。

[0610] 范围：在整个公开内容中，多个方面均可以以范围形式呈现。应当理解，范围形式的描述仅仅是为了方便和简洁，不应理解为对范围的严格限制。因此，应该认为对范围的描述已经具体公开了所有可能的子范围以及该范围内的各个数值。例如，应该认为对诸如从1到6的范围的描述已经具体公开了例如从1到3、从1到4、从1到5、从2到4、从2到6、从3到6等的子范围，以及该范围内的各个数值，例如1、2、2.7、3、4、5、5.3和6。作为另一个示例，诸如95-99％同一性的范围包括具有95％、96％、97％、98％或99％同一性的事物，并且包括诸如96-99％、96-98％、96-97％、97-99％、97-98％和98-99％同一性的子范围。无论范围的广度如何，这都适用。

[0611] 术语“一(a)”和“一个(an)”是指一个或一个以上(即，至少一个)的冠词语法对象。例如，“一个元素”是指一个元素或一个以上元素。

[0612] 如本文所用，术语“T细胞受体β可变链”、“TCRβV”、“TCRβV”、“TCRβV”、“TCRβv”、“TCRβv”、“TCRβv”、“T细胞受体可变β链”、“TCRβV”、“TCR Vβ”、“TCRVβ”、“TCRβV”、“TCRvβ”或“TCR vβ”在本文中可互换使用并且是指包括T细胞受体的抗原识别域的T细胞受体β链的胞外区。术语TCRβV包括同工型、哺乳动物(例如，人)TCRβV、人的物种同源物，以及与TCRβV具有至少一个共同表位的类似物。人TCRβV包括基因家族，该基因家族包括亚家族，该亚家族包括但不限于：TCRβV6亚家族、TCRβV10亚家族、TCRβV12亚家族、TCRβV5亚家族、TCRβV7亚家族、TCRβV11亚家族、TCRβV14亚家族、TCRβV16亚家族、TCRβV18亚家族、TCRβV9亚家族、TCRβV13亚家族、TCRβV4亚家族、TCRβV3亚家族、TCRβV2亚家族、TCRβV15亚家族、TCRβV30亚家族、TCRβV19亚家族、TCRβV27亚家族、TCRβV28亚家族、TCRβV24亚家族、TCRβV20亚家族、TCRβV25亚家族或TCRβV29亚家族。在一些实施方案中，TCRβV6亚家族包括：TCRβV6-4*01、TCRβV6-4*02、TCRβV6-9*01、TCRβV6-8*01、TCRβV6-5*01、TCRβV6-6*02、TCRβV6-6*01、TCRβV6-2*01、TCRβV6-3*01或TCRβV6-1*01。在一些实施方案中，TCRβV包括TCRβV6-5*01。TCRβV6-5*01也称为TRBV65；TCRβV 6S5；TCRβV 13S1或TCRβV 13.1。TCRβV6-5*01例如人TCRβV6-5*01的氨基酸序列是本领域已知的，例如由IMGT ID L36092提供。

[0613] 如本文所用，术语“分子”包括全长的、天然存在的分子，以及变体，例如，功能变体(例如，其截短、片段、突变(例如，基本上相似的序列)或衍生形式)，只要未修饰的(例如，全长的、天然存在的)分子的至少一种功能和/或活性得到保留。

[0614] 术语“抗体”和“抗体分子”在本文中可互换使用并且是指包括至少一个免疫球蛋白可变域序列的蛋白质。术语抗体包括全长抗体、抗体片段(例如，其功能片段)和变体(例如，其功能变体)。抗体可以是单克隆或多克隆的、多链或单链的，或完整的免疫球蛋白，并且可以衍生自天然来源或重组来源。抗体可以是免疫球蛋白分子的四聚体。在一个实施方案中，抗体分子包括全长抗体的抗原结合片段或功能性片段，或全长免疫球蛋白链。例如，全长抗体是天然存在或通过正常免疫球蛋白基因片段重组过程形成的免疫球蛋白(Ig)分子(例如，IgG抗体)。在实施方案中，抗体分子是指免疫球蛋白分子的免疫活性的抗原结合部分，如抗体片段。术语“抗体片段”是指完整抗体的至少一部分，或其重组变体，并且是指

足以赋予抗体片段对靶标(如抗原)的识别和特异性结合的抗原结合域,例如,完整抗体的抗原决定可变区。抗体片段,例如,功能片段,是抗体的一部分,例如,Fab、Fab'、F(ab')$_2$、F(ab)$_2$、可变片段(Fv)、域抗体(dAb)或单链可变片段(scFv)。功能性抗体片段与完整(例如,全长)抗体识别的相同抗原结合。术语"抗体片段"或"功能片段"还包括由可变区组成的分离的片段(如由重链和轻链的可变区组成的"Fv"片段),或重组单链多肽分子,其中轻链和重链可变区通过肽接头连接("scFv蛋白")。在一些实施方案中,抗体片段不包括无抗原结合活性的抗体部分,如Fc片段或单个氨基酸残基。示例性抗体分子包括全长抗体和抗体片段,例如,dAb(域抗体)、单链、Fab、Fab'和F(ab')$_2$片段,以及单链可变片段(scFv)。抗体片段的实例包括但不限于Fab、Fab'、F(ab')$_2$和Fv片段、scFv抗体片段、线性抗体、单域抗体如sdAb(V_L或V_H)、骆驼V_HH域以及由抗体片段(例如包括由铰链区处的二硫键连接的两个Fab片段的二价片段)形成的多特异性抗体,以及抗体的分离的CDR或其他表位结合片段。抗原结合片段还可以并入单域抗体、大抗体(maxibody)、微抗体(minibody)、纳米抗体(nanobody)、内抗体(intrabody)、双抗体、三抗体、四抗体、v-NAR和bis-scFv中。抗原结合片段还可以移植到基于多肽的骨架中,例如III型纤连蛋白(Fn3)(参见例如美国专利号6,703,199,其描述了纤连蛋白多肽微抗体,并且通过引用并入本文)。抗原结合域可以包括纳米抗体。在一些实施方案中,抗原结合域可以是非抗体的靶向域。在一些实施方案中,抗原结合域可以是纳米抗体。

[0615] 术语"scFv"是指包括至少一个包含轻链可变区的抗体片段和至少一个包含重链可变区的抗体片段的融合蛋白,其中轻链和重链可变区是通过短的柔性多肽接头连续连接的,并且能够表达为单链多肽,并且其中scFv保留了其来源的完整抗体的特异性。除非另有说明,否则如本文所用,scFv可以具有任意顺序的V_L和V_H可变区,例如,相对于多肽的N末端和C末端,scFv可以包括V_L-接头-V_H或可以包括V_H-接头-V_L。

[0616] 术语"互补决定区"或"CDR"在本文中可互换使用,并且是指抗体可变区内的氨基酸序列,其赋予抗原特异性和结合亲和力。例如,通常每个重链可变区有3个CDR(例如HCDR1、HCDR2和HCDR3),且每个轻链可变区有3个CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3)。可以使用许多众所周知方案中的任何一种来确定给定CDR的精确氨基酸序列边界,包括以下描述的那些:Kaba等人(1991),"Sequences of Proteins of Immunological Interest,"第五版.Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,Md.("Kabat"编号方案)、Al-Lazikani等人,(1997)JMB 273,927-948("Chothia"编号方案)或其组合。在Kabat编号方案下,在一些实施方案中,重链可变域(V_H)中的CDR氨基酸残基编号为31-35(HCDR1)、50-65(HCDR2)和95-102(HCDR3);并且轻链可变域(V_L)中的CDR氨基酸残基编号为24-34(LCDR1)、50-56(LCDR2)和89-97(LCDR3)。在Chothia编号方案下,在一些实施方案中,V_H中的CDR氨基酸编号为26-32(HCDR1)、52-56(HCDR2)和95-102(HCDR3);并且V_L中的CDR氨基酸残基编号为26-32(LCDR1)、50-52(LCDR2)和91-96(LCDR3)。在Kabat和Chothia组合编号方案中,在一些实施方案中,CDR对应于是Kabat CDR、Chothia CDR或二者的部分的氨基酸残基。例如,在一些实施方案中,CDR对应于V_H(例如,哺乳动物V_H,例如人V_H)中的氨基酸残基26-35(HCDR1)、50-65(HCDR2)和95-102(HCDR3);和V_L(例如,哺乳动物V_L,例如人V_L)中的氨基酸残基24-34(LCDR1)、50-56(LCDR2)和89-97(LCDR3)。

[0617] 非人(例如,鼠)抗体的"人源化"形式是含有衍生自非人免疫球蛋白的最小序列的

嵌合的免疫球蛋白、免疫球蛋白链或其片段(如抗体的Fv、Fab、Fab'、$F(ab')_2$)或其他抗原结合子序列)。在大多数情况下,人源化抗体及其抗体片段是人免疫球蛋白(受体抗体或抗体片段),其中来自受体互补决定区(CDR)的残基被具有所需特异性、亲和力和能力的来自非人类物种(供体抗体)如小鼠、大鼠或兔的CDR的残基取代。在一些情况下,人免疫球蛋白的Fv构架区(FR)残基被相应的非人类残基取代。此外,人源化抗体/抗体片段可以包含既不在受体抗体中也不在导入的CDR或构架序列中发现的残基。这些修饰可以进一步改善和优化抗体或抗体片段的表现。一般而言,人源化抗体或其抗体片段将包含基本上所有的至少一种、通常为两种的可变域,其中所有或基本上所有的CDR区对应于非人免疫球蛋白的CDR区,并且所有或大部分的FR区是人免疫球蛋白序列的FR区。人源化抗体或抗体片段还可包含免疫球蛋白恒定区(Fc)的至少一部分,通常是人免疫球蛋白的一部分。其他细节请参见Jones等人,Nature,321:522-525,1986;Reichmann等人,Nature,332:323-329,1988;Presta,Curr.Op.Struct.Biol.,2:593-596,1992。

[0618] "完全人的"是指免疫球蛋白,如抗体或抗体片段,其中整个分子是人源的或由与人形式的抗体或免疫球蛋白相同的氨基酸序列组成。

[0619] 术语"特异性结合"是指抗体或配体,其识别并结合样品中存在的同源结合配偶体(例如,存在于T细胞上的刺激和/或共刺激分子)蛋白,但该抗体或配体基本上不识别或结合样品中的其他分子。

[0620] 如本文所用,"免疫细胞"是指在免疫系统中起作用以例如保护免受感染试剂和异物侵害的各种细胞中的任何一种。在实施方案中,该术语包括白细胞,例如嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞、淋巴细胞和单核细胞。固有的白细胞包括吞噬细胞(例如巨噬细胞、嗜中性粒细胞和树突细胞)、肥大细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞和天然杀伤细胞。固有白细胞通过经由接触来攻击更大的病原体或通过吞噬并杀死微生物来识别和消灭病原体,并且是激活适应性免疫应答的介质。适应性免疫系统的细胞是特殊类型的白细胞,称为淋巴细胞。B细胞和T细胞是重要的淋巴细胞类型,它们来源于骨髓中的造血干细胞。B细胞参与体液免疫应答,而T细胞参与细胞介导的免疫应答。术语"免疫细胞"包括免疫效应细胞。

[0621] 如本文所用,术语"免疫效应细胞"是指参与免疫应答,例如,促进免疫效应子应答的细胞。免疫效应细胞的实例包括但不限于T细胞(例如α/βT细胞、γ/δT细胞、CD4+T细胞、CD8+T细胞)、B细胞、天然杀伤(NK)细胞、天然杀伤T(NK T)细胞、单核细胞、巨噬细胞、嗜中性粒细胞、嗜碱性粒细胞、树突细胞和肥大细胞。

[0622] 术语"效应子功能"或"效应子应答"是指细胞的专有功能。T细胞的效应子功能例如可以是溶细胞活性(例如CD8+T细胞)或辅助活性(例如CD4+T细胞),包括细胞因子的分泌。

[0623] 术语"抗原呈递细胞"或"APC"是指在其表面呈递与主要组织相容性复合物(MHC)复合的外来抗原的免疫系统细胞,如辅助细胞(例如,B细胞、树突细胞等)。T细胞可以使用它们的T细胞受体(TCR)识别这些复合物。APC处理抗原并将其呈递给T细胞。

[0624] 术语"基本上纯化的细胞"或"基本上纯化的细胞群"是指基本上不含其他细胞类型的细胞或细胞群。基本上纯化的细胞也指已经与其他细胞类型分离的细胞,该基本上纯化的细胞通常以其天然存在的状态与其相关联。在一些情况下,基本上纯化的细胞群是指

同质的细胞群。在其他情况下，该术语简单地指与以天然状态与其天然关联的细胞分离的细胞。在一些方面，细胞在体外培养。在其他方面，细胞不在体外培养。

[0625] 如本文所用，术语“衍生自”表示第一分子与第二分子之间的关系。它通常是指第一分子与第二分子之间的结构相似性，并不意味着或包括对衍生自第二分子的第一分子的过程或来源的限制。例如，在衍生自CD3ζ分子的胞内信号传导域的情况下，胞内信号传导域保留了足够的CD3ζ结构，从而具有所需的功能，即在适当条件下产生信号的能力。它不意味着或包括对产生胞内信号传导域的特定过程的限制，例如，它并不意味着，为了提供胞内信号传导域，必须从CD3ζ序列开始并删除不需要的序列或引入突变才能到达胞内信号传导域。

[0626] 术语“编码”是指多核苷酸(例如基因、cDNA或mRNA)中核苷酸的特定序列用作生物过程中合成其他聚合物和大分子的模板的固有特性，该聚合物和大分子具有确定的核苷酸序列(例如，rRNA、tRNA和mRNA)或确定的氨基酸序列以及由此产生的生物学特性。因此，如果对应于基因的mRNA的转录和翻译在细胞或其他生物系统中产生蛋白质，则该基因、cDNA或RNA编码该蛋白质。编码链(其核苷酸序列与mRNA序列相同，且通常在序列表中提供)和非编码链(用作基因或cDNA转录的模板)都可以称为编码该基因或cDNA的蛋白质或其他产物。

[0627] 除非另有说明，否则“编码氨基酸序列的核苷酸序列”包括彼此简并形式并且编码相同氨基酸序列的所有核苷酸序列。编码蛋白质或RNA的短语核苷酸序列也可以包括内含子，其程度使得编码该蛋白质的核苷酸序列在某些形式中可以含有一个或多个内含子。

[0628] 如本文所用，术语“分离的”是指从其来源或天然环境(例如，自然环境，如果其天然存在的话)中取出的材料。例如，存在于活体动物中的天然存在的多核苷酸或多肽是没有分离的，而是通过人为干预从天然系统中的某些或全部共存物质中分离的相同多核苷酸或多肽则是分离的。这样的多核苷酸可以是载体的一部分，并且/或者这样的多核苷酸或多肽可以是组合物的一部分，并且仍然是分离的，因为这样的载体或组合物不是其在自然界中发现的环境的一部分。分离的核酸或蛋白质可以以基本上纯化的形式存在，或者可以在非天然环境例如宿主细胞中存在。

[0629] 本文所述的一些组合物和方法包括具有指定序列或与其基本相同或相似的序列(例如与指定序列至少80％、85％、90％、95％相同或更高相同的序列)的多肽和核酸。在氨基酸序列的上下文中，本文使用的术语“基本上相同”是指包含足够或最少数目的氨基酸残基的第一氨基酸，所述氨基酸残基与第二氨基酸序列中的比对氨基酸残基i)相同，或ii)具有保守置换，使得第一氨基酸序列和第二氨基酸序列可以具有共同的结构域和/或共同的功能活性。例如，氨基酸序列含有与参考序列(例如本文提供的序列)具有至少约80％、85％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％的同一性的共同结构域。在核苷酸序列的上下文中，本文使用的术语“基本上相同”是指第一核酸序列包含与第二核酸序列中的比对核苷酸相同的足够或最小数目的核苷酸，使得第一核苷酸序列和第二核苷酸序列编码具有共同功能活性的多肽，或编码共同的结构多肽域或共同的功能多肽活性的多肽。例如，与参考序列(例如本文提供的序列)具有至少约80％、85％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％同一性的核苷酸序列。

[0001] 术语“同源性”和“序列同一性”在本文中可互换使用，并且是指两个聚合分子之间，例如两个核酸分子之间，例如两个DNA分子或两个RNA分子之间，或两个多肽分子之间的

亚基序列同一性。当两个分子中的一个亚基位置被相同单体亚基占据时;例如,如果两个DNA分子的每一个中的一个位置被腺嘌呤占据,则它们在该位置同源或相同。两个序列之间的同源性是匹配或同源位置数目的直接函数;例如,如果两个序列中一半的位置(例如,聚合物中十个亚基长度的五个位置)是同源的,则两个序列有50%同源性;如果90%的位置(例如,10个中的9个)匹配或同源,则两个序列有90%同源性。序列间同源性的计算如下进行。为了确定两个氨基酸序列或两个核酸序列的同一性百分比,出于最佳比较目的而对序列进行比对(例如,可以在第一和第二氨基酸或核酸序列中的一个或两个中引入空位,以供最佳比对,并且出于比较的目的可以忽略非同源序列)。在一个优选的实施方案中,出于比较目的的比对的参考序列的长度为参考序列长度的至少30%,优选至少40%,更优选至少50%、60%,并且甚至更优选至少70%、80%、90%、100%。然后比较相应氨基酸位置或核苷酸位置的氨基酸残基或核苷酸。当第一序列中的位置被与第二序列中相应位置的相同氨基酸残基或核苷酸占据时,则分子在该位置是相同的(如本文所用,氨基酸或核酸的"同一性"等同于氨基酸酸或核酸"同源性")。在考虑到需要将其引入以供两个序列进行最佳比对的空位的数目和每个空位的长度的情况下,两个序列之间的同一性百分比是由该序列共享的相同位置的数目的函数。可以使用数学算法来完成序列的比较和两个序列之间的同一性百分比的确定。在一个优选的实施方案中,使用Needleman和Wunsch((1970)J.Mol.Biol.48:444-453)算法(已结合到GCG软件包中的GAP程序中(可从http://www.gcg.com获取)),使用Blossum 62矩阵或PAM250矩阵以及空位权重为16、14、12、10、8、6或4以及长度权重为1、2、3、4、5或6,来确定两个氨基酸序列之间的同一性百分比。在又一个优选的实施方案中,使用GCG软件包(可从http://www.gcg.com获得)中的GAP程序,使用NWSgapdna.CMP矩阵,空位权重为40、50、60、70或80以及长度权重为1、2、3、4、5或6,来确定两个核苷酸序列之间的同一性百分比。一组特别优选的参数(除非另有说明,否则应使用的一组参数)是Blossum 62评分矩阵,其空位罚分为12,空位延伸罚分为4,移码空位罚分为5。可以使用E.Meyers和W.Miller((1989)CABIOS,4:11-17)的算法(已结合至ALIGN程序(2.0版)中),使用PAM120权重残基表,空位长度罚分为12和空位罚分为4,来确定两个氨基酸或核苷酸序列之间的同一性百分比。本文所述的核酸和蛋白质序列可以用作"查询序列"以对公共数据库进行搜索,从而例如鉴定其他家族成员或相关序列。可以使用Altschul等人,(1990)J.Mol.Biol.215:403-10的NBLAST和XBLAST程序(2.0版)进行搜索。可以用NBLAST程序(评分=100,字长=12)进行BLAST核苷酸搜索,以获得与核酸分子同源的核苷酸序列。可以使用XBLAST程序(评分=50,字长=3)进行BLAST蛋白质搜索,以获得与蛋白质分子同源的氨基酸序列。为了获得用于比较目的的空位比对,可以利用Altschul等人,(1997)Nucleic Acids Res.25:3389-3402中描述的空位BLAST。使用BLAST和空位BLAST程序时,可以使用各个程序(例如XBLAST和NBLAST)的默认参数。应当理解,分子可以具有另外的保守或非必需氨基酸置换,该置换对它们的功能没有实质性影响。

[0002] 术语"氨基酸"旨在涵盖所有分子,无论是天然的还是合成的,其既包括氨基官能团又包括酸官能团并且能够被包括在天然存在的氨基酸的聚合物中。示例性的氨基酸包括天然存在的氨基酸;类似物、衍生物和同类物;具有变异侧链的氨基酸类似物;以及前述的任一种的所有立体异构体。如本文所用,术语"氨基酸"包括D-或L-旋光异构体和拟肽。

[0003] "保守氨基酸置换"是其中氨基酸残基被具有相似侧链的氨基酸残基置换的一种

置换。具有相似侧链的氨基酸残基家族已在本领域中定义。这些家族包括具有碱性侧链的氨基酸(例如赖氨酸、精氨酸、组氨酸)、具有酸性侧链的氨基酸(例如天冬氨酸、谷氨酸)、具有不带电荷的极性侧链的氨基酸(例如甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、半胱氨酸)、具有非极性侧链的氨基酸(例如丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、蛋氨酸、色氨酸)、具有β支链侧链的氨基酸(例如苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸)和具有芳香族侧链的氨基酸(例如酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸)。此类保守修饰包括氨基酸置换、添加和缺失。通过本领域已知的标准技术,如定点诱变和PCR介导的诱变,可以将修饰引入抗体或抗体片段。保守置换是其中氨基酸残基被具有相似侧链的氨基酸残基取代的置换。具有相似侧链的氨基酸残基家族已在本领域中定义。这些家族包括具有碱性侧链的氨基酸(例如赖氨酸、精氨酸、组氨酸)、具有酸性侧链的氨基酸(例如天冬氨酸、谷氨酸)、具有不带电荷的极性侧链的氨基酸(例如甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、半胱氨酸、色氨酸)、具有非极性侧链的氨基酸(例如丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、蛋氨酸)、具有β支链侧链的氨基酸(例如苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸)和具有芳香族侧链的氨基酸(例如酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸)。因此,CAR内的一个或多个氨基酸残基可以被来自相同侧链家族的其他氨基酸残基取代,并且改变的CAR可以使用本文所述的功能测定进行测试。

[0004] 本文可互换地使用的术语“多肽”、“肽”和“蛋白质”(如果是单链的话)是指任何长度的氨基酸的聚合物。该聚合物可以是直链或支链的,它可以包含修饰的氨基酸,并且可以被非氨基酸中断。该术语还涵盖已被修饰的氨基酸聚合物,所述修饰是例如,二硫键形成、糖基化、脂化、乙酰化、磷酸化或任何其他操作,例如与标记组分的缀合。多肽可以从天然来源中分离,可以通过重组技术从真核或原核宿主中产生,或者可以是合成方法的产物。

[0005] 术语“核酸”、“核酸序列”、“核苷酸序列”或“多核苷酸序列”和“多核苷酸”可在本文中互换使用。它们是指任何长度的核苷酸的聚合形式,即脱氧核糖核苷酸或核糖核苷酸或其类似物。多核苷酸可以是单链或双链的,并且如果是单链的,则可以是编码链或非编码(反义)链。多核苷酸可以包含修饰的核苷酸,例如甲基化的核苷酸和核苷酸类似物。核苷酸的序列可以被非核苷酸组分中断。多核苷酸可在聚合后进一步被修饰,例如与标记组分缀合。核酸可以是重组多核苷酸,或者是基因组、cDNA、半合成或合成来源的多核苷酸,其不是天然存在的,或是以非天然的方式与另一多核苷酸连接。使用以下常见核酸碱基的缩写。“A”指腺苷,“C”指胞嘧啶,“G”指鸟苷,“T”指胸苷,并且“U”指尿苷。

[0006] 术语“内源性”是指来自生物体、细胞、组织或系统或在其内产生的任何材料。

[0007] 术语“外源性”是指从生物体、细胞、组织或系统引入或在其外产生的任何材料。

[0008] 术语“表达”是指由启动子驱动的特定核苷酸序列的转录和/或翻译。

[0009] 术语“转移载体”是指包含分离的核酸并且可用于将分离的核酸递送至细胞内部的物质组合物。许多载体是本领域已知的,包括但不限于线性多核苷酸、与离子或两亲化合物相关的多核苷酸、质粒和病毒。因此,术语“转移载体”包括自主复制的质粒或病毒。该术语还应被解释为进一步包括促进核酸转移到细胞中的非质粒和非病毒化合物,例如聚赖氨酸化合物、脂质体等。病毒转移载体的实例包括但不限于腺病毒载体、腺相关病毒载体、逆转录病毒载体、慢病毒载体等。

[0010] 术语“表达载体”是指包含重组多核苷酸的载体,该重组多核苷酸包含与要表达的

核苷酸序列可操作地连接的表达控制序列。表达载体包含足够的用于表达的顺式作用元件;其他用于表达的元件可以由宿主细胞或在体外表达系统中提供。表达载体包括本领域已知的所有表达载体,包括掺入重组多核苷酸的粘粒、质粒(例如,裸露的或包含在脂质体中的)和病毒(例如,慢病毒、逆转录病毒、腺病毒和腺相关病毒)。

[0011] 如本文所用,术语"载体"是指可用于递送和/或表达核酸分子的任何载体。它可以是如本文所述的转移载体或表达载体。

[0012] 术语"慢病毒"是指逆转录病毒科的一个属。慢病毒在逆转录病毒中是独一无二的,它能够感染非分裂细胞;它们可以将大量遗传信息传递到宿主细胞的DNA中,因此它们是基因递送载体的最有效方法之一。

[0013] 术语"慢病毒载体"是指衍生自慢病毒基因组的至少一部分的载体,尤其包括如Milone等人,Mol.Ther.17(8):1453-1464(2009)中提供的自灭活慢病毒载体。可用于临床的慢病毒载体的其他实例包括但不限于例如来自Oxford BioMedica的LENTIVECTOR®基因递送技术、来自Lentigen的LENTIMAX™载体系统等。非临床类型的慢病毒载体也是可用的,并且是本领域技术人员已知的。

[0014] 术语"可操作地连接"或"转录控制"是指调节序列与异源核酸序列之间的功能连接,导致后者的表达。例如,当第一核酸序列与第二核酸序列处于功能关系时,第一核酸序列与第二核酸序列可操作地连接。例如,如果启动子影响编码序列的转录或表达,则启动子与编码序列可操作地连接。可操作连接的DNA序列可以彼此相邻,并且例如在需要接合两个蛋白质编码区时处于同一阅读框中。

[0015] 免疫原性组合物的术语"肠胃外"施用包括例如皮下(s.c.)、静脉内(i.v.)、肌内(i.m.)或胸骨内注射、瘤内或输注技术。

[0016] 术语"启动子"是指被细胞的合成机制或引入的合成机制识别的DNA序列,需要其来启动多核苷酸序列的特异性转录。

[0017] 术语"启动子/调控序列"是指与启动子/调控序列可操作地连接的基因产物的表达所需的核酸序列。在一些情况下,该序列可以是核心启动子序列,而在其他情况下,该序列还可以包括增强子序列和基因产物表达所需的其他调控元件。例如,启动子/调节序列可以是以组织特异性方式表达基因产物的启动子/调节序列。

[0018] 术语"组成型启动子"是指这样的核苷酸序列,当其与编码或指定基因产物的多核苷酸可操作地连接时,在细胞的大部分或所有生理条件下导致该基因产物在该细胞中产生。

[0019] 术语"诱导型启动子"是指这样的核苷酸序列,当其与编码或指定基因产物的多核苷酸可操作地连接时,基本上仅当对应于该启动子的诱导物存在于细胞中时才导致该基因产物在该细胞中产生。

[0020] 术语"组织特异性启动子"是指这样的核苷酸序列,当其与编码基因或由基因指定的多核苷酸可操作地连接时,基本上仅当细胞是对应于启动子的组织类型的细胞时才导致该基因产物在该细胞中产生。

[0021] 如本文所用,"瞬时"是指非整合转基因的持续数小时、数天或数周的表达,其中该表达时间段小于被整合到基因组中或包含在宿主细胞中的稳定质粒复制子中的基因的表达时间段。

[0022] 术语“转染的”或“转化的”或“转导的”是指将外源性核酸转移或引入宿主细胞的过程。“转染的”或“转化的”或“转导的”细胞是用外源性核酸转染、转化或转导的细胞。该细胞包括初代受试者细胞及其后代。

[0023] 术语“嵌合抗原受体”或替代的“CAR”在本文中可互换使用，并且是指重组多肽构建体，其至少包括胞外抗原结合域、跨膜域和包含衍生自如下定义的刺激分子的功能性信号传导域的胞质信号传导域(本文也称为“胞内信号传导域”)。在一些实施方案中，CAR多肽构建体中的域在相同的多肽链中，例如，包括嵌合融合蛋白。在一些实施方案中，CAR多肽构建体中的域彼此不连续，例如在不同的多肽链中。在一方面，CAR的刺激分子是与T细胞受体复合物相关的ζ链。在一方面，胞质信号传导域包括初级信号传导域(例如，CD3-ζ的初级信号传导域)。在一方面，胞质信号传导域进一步包括一个或多个功能性信号传导域，其衍生自至少一种如下定义的共刺激分子。在一方面，共刺激分子选自4-1BB(即CD137)、CD27、ICOS和/或CD28。在一方面，CAR包括嵌合融合蛋白，该嵌合融合蛋白包括胞外抗原识别域、跨膜域和包含衍生自刺激分子的功能性信号传导域的胞内信号传导域。在一方面，CAR包括嵌合融合蛋白，该嵌合融合蛋白包括胞外抗原识别域、跨膜域和包含衍生自共刺激分子的功能性信号传导域和衍生自刺激分子的功能性信号传导域的胞内信号传导域。在一方面，CAR包括嵌合融合蛋白，该嵌合融合蛋白包括胞外抗原识别域、跨膜域和包含衍生自一个或多个共刺激分子的两个功能性信号传导域和衍生自刺激分子的功能性信号传导域的胞内信号传导域。在一方面，CAR包括嵌合融合蛋白，该嵌合融合蛋白包括胞外抗原识别域、跨膜域和包含衍生自一个或多个共刺激分子的至少两个功能性信号传导域和衍生自刺激分子的功能性信号传导域的胞内信号传导域。在一方面，CAR在CAR融合蛋白的氨基末端(N-ter)包括任选的前导序列。在一方面，CAR进一步包括在胞外抗原识别域的N末端的前导序列，其中在CAR的细胞处理和CAR定位到细胞膜期间，前导序列任选地从抗原识别域(例如，scFv)切割。

[0024] 如本文所用，术语“信号传导域”是指蛋白质的功能部分，其通过产生第二信使通过在细胞内传递信息以经由确定的信号传导途径来调节细胞活性而起作用，或通过响应此类信使而作为效应物起作用。

[0025] 如本文所用，术语“胞内信号传导域”是指分子的细胞内部分。胞内信号传导域可产生促进含CAR细胞例如CART细胞或表达CAR的NK细胞的免疫效应子功能的信号。例如在CART细胞或表达CAR的NK细胞中的免疫效应子功能的示例包括细胞溶解活性和辅助活性，包括细胞因子的分泌。在实施方案中，胞内信号传导域转导效应子功能信号并指导细胞执行特定功能。虽然可以使用整个胞内信号传导域，但在许多情况下没有必要使用整个链。如果使用胞内信号传导域的截短部分，这种截短部分可用于代替完整链，只要它转导效应子功能信号即可。因此，术语胞内信号传导域意在包括足以转导效应子功能信号的胞内信号传导域的任何截短部分。在一些实施方案中，胞内信号传导域包括初级胞内信号传导域。示例性的初级胞内信号传导域包括衍生自负责初级刺激或抗原依赖性刺激的分子的那些。在一个实施方案中，胞内信号传导域可以包括共刺激胞内域。示例性的共刺激胞内信号传导域包括衍生自负责共刺激信号或抗原非依赖性刺激的分子的那些。例如，在表达CAR的免疫效应细胞，例如CART细胞或表达CAR的NK细胞的情况下，初级胞内信号传导域可包括T细胞受体的胞质序列，并且共刺激胞内信号传导域可包括来自共受体或共刺激分子的胞质序

列。初级胞内信号传导域可包括信号传导基序，其称为基于免疫受体酪氨酸的激活基序或ITAM。含有初级胞质信号传导序列的ITAM的实例包括但不限于衍生自CD3ζ、FcRγ、FcRδ、CD3γ、CD3δ、CD3ε、CDS、CD22、CD79a、CD79b、CD278(“ICOS”)、FcεRI、CD66d、DAP10和DAP12的那些。

[0026] 术语“ζ”或替代的“ζ链”、“CD3ζ”或“TCRζ”被定义为作为GenBan登录号BAG36664.1提供的蛋白质，或来自非人类物种，例如小鼠、啮齿动物、猴、猿等的等同残基，并且“ζ刺激域”或替代的“CD3ζ刺激域”或备选地“TCRζ刺激域”被定义为来自ζ链胞质域的氨基酸残基，其足以在功能上传递T细胞激活所需的初始信号。在一方面，ζ的胞质域包括GenBank登录号BAG36664.1的52至164位残基，或作为其功能性直向同源物的来自非人类物种，例如小鼠、啮齿动物、猴、猿等的等同残基。

[0027] 术语“共刺激分子”是指T细胞上的同源结合配偶体，其与共刺激配体特异性结合，从而介导T细胞的共刺激反应，例如但不限于增殖。共刺激分子是有效免疫应答所需的除抗原受体或其配体之外的细胞表面分子。共刺激分子包括但不限于MHC I类分子、TNF受体蛋白、免疫球蛋白样蛋白、细胞因子受体、整联蛋白、信号传导淋巴细胞激活分子(SLAM蛋白)、激活性NK细胞受体、BTLA、Toll配体受体、OX40、CD2、CD7、CD27、CD28、CD30、CD40、CDS、ICAM-1、LFA-1(CD11a/CD18)、4-1BB(CD137)、B7-H3、CDS、ICAM-1、ICOS(CD278)、GITR、BAFFR、LIGHT、HVEM(LIGHTR)、KIRDS2、SLAMF7、NKp80(KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL2Rβ、IL2Rγ、IL7Rα、ITGA4、V_LA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、V_LA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、NKG2D、NKG2C、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1(CD226)、SLAMF4(CD244、2B4)、CD84、CD96(触觉的)、CEACAM1、CRTAM、Ly9(CD229)、CD160(BY55)、PSGL1、CD100(SEMA4D)、CD69、SLAMF6(NTB-A、Ly108)、SLAM(SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME(SLAMF8)、SELPLG(CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a和与CD83特异性结合的配体。

[0028] “共刺激胞内信号传导域”是指共刺激分子的细胞内部分。胞内信号传导域可以包括其来源分子的整个胞内部分或整个天然胞内信号传导域，或其功能片段。

[0029] 如本文所用，术语“信号转导途径”是指在将信号从细胞的一部分传递到细胞的另一部分中起作用的多种信号转导分子之间的生化关系。

[0030] 如本文所用，术语“细胞表面受体”包括能够接收信号并跨细胞膜传递信号的分子和分子复合物。

[0031] 在本文中可互换使用的术语“抗肿瘤作用”或“抗癌作用”是指可以通过各种方式表现的生物学作用，包括但不限于，例如，肿瘤体积减小、肿瘤细胞数目减少、转移次数减少、预期寿命增加、肿瘤细胞增殖减少、肿瘤细胞存活减少或与癌症状况相关的各种生理症状的改善。“抗肿瘤作用”还可以通过肽、多核苷酸、细胞和抗体首先预防肿瘤发生的能力来表现。

[0032] 在本文中可互换使用的“癌症”或“肿瘤”涵盖所有类型的致癌过程和/或癌性生长。在实施方案中，癌症包括原发性肿瘤以及转移组织或恶性转化的细胞、组织或器官。在实施方案中，癌症涵盖所有组织病理学和阶段，例如癌症的浸润性/严重性的阶段。在实施方案中，癌症包括复发性和/或耐药性癌症。例如，两个术语都包括实体瘤和液体瘤。如本文

所用,术语癌症包括恶变前以及恶性癌症和肿瘤。

[0033] 术语“自体的”是指所源自的个体与后续被重新引入至的个体相同的任何材料。

[0034] 术语“同种异体的”是指源自与被引入材料的个体相同物种的不同动物的任何材料。当一个或多个基因座上的基因不相同时,两个或更多个个体被称为彼此同种异体。在一些方面,来自相同物种个体的同种异体材料在遗传上可能足够不同以在抗原性上相互作用。

[0035] 术语“异种的”是指源自不同物种动物的移植物。

[0036] 如本文所用,“单采血液成分术”是指本领域公认的体外过程,通过该过程将供体或患者的血液从供体或患者体内取出并通过分离出选定的一种或多种特定成分并(例如通过回输)将剩余部分返回至供体或患者的循环的装置。因此,在“单采血液成分术样品”的上下文中是指使用单采血液成分术获得的样品。

[0037] 术语“联合”是指在一个剂量单位形式的固定组合,或联合施用,其中化合物和组合伴侣(例如如下解释的另一种药物,也称为“治疗剂”或“共试剂”)可以同时独立施用或在时间间隔内分别施用,尤其是这些时间间隔允许组合伴侣表现出合作效应,例如,协同效应的情况。单个组分可以包装在试剂盒中,或单独包装。这些组分的一种或两种(例如,粉末或液体)可以在施用前重构或稀释成所需剂量。如本文所用,术语“共同施用”或“联合施用”等意在包括将所选组合伴侣施用至有需要的单个受试者(例如患者),并且旨在包括这样的治疗方案:在该治疗方案中药剂不一定通过相同的施用途径施用,也不一定在同时施用。如本文所用,术语“药物组合”指由一种以上活性成分混合或组合而成的产物,并且包括活性成分的固定和非固定组合。术语“固定组合”是指活性成分,例如,化合物和组合伴侣都以单一实体或剂量的形式同时施用至患者。术语“非固定组合”是指活性成分,例如,化合物和组合伴侣都作为单独的实体在没有特定时间限制的情况下同时、并行或顺序施用至患者,其中这样的施用在患者体内提供治疗有效水平的两种化合物。后者也适用于鸡尾酒疗法,例如,施用三种或更多种活性成分。

[0038] 术语“有效量”或“治疗有效量”在本文中可互换使用,并且是指如本文所述的有效实现特定生物学结果的化合物、制剂、材料或组合物的量。

[0039] 如本文所用,术语“治疗”是指由施用一种或多种疗法(例如,一种或多种治疗剂,如CAR)引起的增殖性病症的进展、严重性和/或持续时间的减少或改善,或增殖性病症的一种或多种症状(优选地,一种或多种可辨别的症状)的改善。在具体实施方案中,术语“治疗”是指增殖性病症的不一定可由患者辨别的至少一种可测量的物理参数(例如肿瘤生长)的改善。在其他实施方案中,术语“治疗”是指增殖性病症的进展的抑制,该抑制是通过在物理上例如稳定可辨别的症状而抑制,或是在生理上通过例如稳定物理参数而抑制,或两者兼有。在其他实施方案中,术语“治疗”是指减少或稳定肿瘤大小或癌细胞计数。

[0040] 如本文所用,术语“治疗性”是指治疗。治疗性效果通过减少、抑制、缓解或根除疾病状态而获得。

[0041] 如本文所用,术语“预防性”是指预防或保护性地治疗疾病或疾病状态。

[0042] 术语“受试者”旨在包括可以在其中引发免疫应答的活生物体(例如,哺乳动物、人)。

T细胞的来源和分离

[0043] 在本文所述的一些方面，在激活和扩增之前，从受试者(例如，人类受试者)获得T细胞。受试者的实例包括人、狗、猫、小鼠、大鼠及其转基因物种。T细胞可以获自多种来源，包括但不限于血液、外周血单核细胞(PBMC)、骨髓、淋巴结组织、脐带血、胸腺组织、感染部位的组织、腹水、胸腔积液、脾脏组织和肿瘤。在一些实施方案中，使用本领域技术人员已知的多种技术，例如聚蔗糖(ficoll)分离，从从受试者采集的血液单位中获得T细胞。

[0044] 在一些实施方案中，来自个体循环血液的细胞通过单采血液成分术或白细胞单采术获得。单采血液成分术产物可以含有淋巴细胞，包括T细胞、单核细胞、粒细胞、B细胞、其他有核的白血细胞、红血细胞和血小板。在一些实施方案中，洗涤通过单采血液成分术收集的细胞以去除血浆部分并将细胞置于合适的缓冲液或介质中以用于后续处理步骤。在一些实施方案中，用磷酸盐缓冲盐水(PBS)洗涤细胞。在一些实施方案中，洗涤液缺少钙、缺少镁、缺少钙和镁，或缺少所有二价阳离子。本领域普通技术人员将容易理解，洗涤步骤可以通过本领域技术人员已知的方法完成，例如通过使用半自动“无逆流(flow-through)”离心机(例如，Cobe 2991细胞处理器、Baxter CytoMate或Haemonetics Cell Saver 5)根据制造商的说明来完成。在一些实施方案中，在洗涤后，将细胞重悬在各种生物相容性缓冲液中，例如，不含Ca、不含Mg的PBS、PlasmaLyte A或其他含有或不含有缓冲剂的盐水溶液。替代地，在一些实施方案中，单采血液成分术样品的不需要组分被去除，并且细胞直接重悬在培养基中。

[0045] 所收集的单采血液成分术产物可以根据下游程序而以多种方式处理。诸如Haemonetics Cell Saver 5+、COBE2991和Fresenius Kabi LOVO等设备具有去除粗大的红细胞和血小板污染物的能力。Terumo Elutra和Biosafe Sepax系统提供基于大小的细胞分级分离，以用于耗尽单核细胞和分离淋巴细胞。诸如CliniMACS Plus和Prodigy系统等仪器允许使用Miltenyi珠粒在细胞洗涤后富集特定的T细胞亚群，如$CD4^+$、$CD8^+$、$CD25^+$或$CD62L^+$T细胞。

[0046] 可以使用针对阴性选择细胞所特有的表面标志物的抗体组合来实现通过阴性选择富集T细胞群。例如，一种方法是通过负磁性免疫粘附或流式细胞术进行细胞分选和/或选择，其使用针对存在于阴性选择的细胞上的细胞表面标志物的单克隆抗体混合物。例如，为了通过阴性选择富集CD4+细胞，单克隆抗体混合物通常包括针对CD14、CD20、CD11b、CD16、HLA-DR和CD8的抗体。在某些实施方案中，可能需要富集或正选择调节性T细胞，该调节性T细胞通常表达CD4+、CD25+、CD62Lhi、GITR+和FoxP3+。替代地，在某些实施方案中，通过抗CD25缀合的珠粒或其他类似的选择方法来耗尽T调节细胞。

[0047] 为了通过正选择或阴性选择分离所需的细胞群，可以改变细胞和表面(例如，颗粒，例如，珠粒)的浓度。在某些实施方案中，可能需要显著减少珠粒和细胞混合在一起的体积(即增加细胞浓度)，以确保细胞和珠粒的最大接触。例如，在一个实施方案中，使用20亿个细胞/ml的浓度。在一个实施方案中，使用10亿个细胞/ml的浓度。在进一步的实施方案中，使用大于1亿个细胞/ml。在进一步的实施方案中，使用1000、1500、2000、2500、3000、3500、4000、4500或5000万个细胞/ml的细胞浓度。在又一个的实施方案中，使用7500、8000、8500、9000、9500万或1亿个细胞/ml的细胞浓度。在进一步的实施方案中，可以使用1.25亿或1.5亿个细胞/ml的浓度。使用高浓度可以导致细胞产率、细胞激活和细胞扩增增加。此外，使用高细胞浓度允许更有效地捕获可能弱表达感兴趣的靶抗原的细胞，如CD28阴性T细

胞,或来自存在许多肿瘤细胞的样品(即白血病血液、肿瘤组织等)的细胞。这样的细胞群可能具有治疗价值并且需要获得。例如,使用高浓度细胞允许更有效地选择通常具有较弱CD28表达的CD8+T细胞。

[0048] 在一些实施方案中,在离体扩增之前通过多种方法(包括抗CD14包被的珠粒或柱)将单核细胞群(即CD14+细胞)从血液制剂中耗尽,或利用这些细胞的吞噬活性来促进去除,或通过使用逆流离心淘洗。在某些实施方案中,使用大小足以被吞噬性单核细胞吞入的顺磁性颗粒。在某些实施方案中,顺磁性颗粒是可商购的珠粒,例如Dynal AS以商品名Dynabeads™生产的珠粒。在这方面,示例性Dynabeads™是M-280、M-450和M-500。在一些实施方案中,通过用"不相关"蛋白质(例如,血清蛋白质或抗体)包被顺磁性颗粒来去除其他非特异性细胞。不相关的蛋白质和抗体包括不特异性靶向待扩增的T细胞的那些蛋白质和抗体或其片段。在某些实施方案中,不相关的珠粒包括用绵羊抗小鼠抗体、山羊抗小鼠抗体和人血清白蛋白包被的珠粒。

[0049] 在一些实施方案中,在治疗剂(例如,施用至受试者以治疗癌症的药剂)后,直接从患者获得T细胞。在这方面,已经观察到,在某些癌症治疗后,特别是使用损害免疫系统的药物治疗后,在患者通常从该治疗中恢复期间的治疗后的短暂时间内,所获得的T细胞的质量在体外扩增的能力方面可能是最佳的或改善的。类似地,在使用本文所述的方法进行离体操作后,这些细胞可能处于增强植入和体内扩增的优选状态。因此,在上下文中考虑在该恢复阶段收集血细胞,包括T细胞、树突细胞或造血谱系的其他细胞。此外,在某些实施方案中,动员(例如,用GM-CSF动员)和调理方案可用于在受试者中创造一种条件,其中特定细胞类型的再增殖、再循环、再生和/或扩增是有利的,在疗法后的规定时间窗口内尤其如此。示例性细胞类型包括T细胞、B细胞、树突细胞和免疫系统的其他细胞。

[0050] 在一些实施方案中,在生物相容的基本上无毒的表面上离体培养T细胞。在一些实施方案中,该表面包括结合到表面的药剂/或配体。生物相容性表面可以是可生物降解的或不可生物降解的。表面可以是天然的或合成的(例如,聚合物)。

[0051] 在一些实施方案中,通过本领域已知和可用的多种方法将药剂附接或偶联到表面或整合到表面中。在一些实施方案中,药剂是天然配体、蛋白质配体或合成配体。附接可以是共价的或非共价的、静电的或疏水的,并且可以通过多种附接方式完成,包括例如化学、机械、酶促、静电或由此使配体能够刺激细胞的其他方式。例如,可以首先将配体的抗体附接到表面,或者可以将抗生物素蛋白或链霉亲和素附接到表面以与生物素化配体结合。配体的抗体可以通过抗独特型抗体附接于表面。另一个示例包括使用蛋白A或蛋白G,或其他非特异性抗体结合分子,其附接到表面以结合抗体。替代地,配体可以通过化学方式附接到表面,例如使用可商购的交联试剂(Pierce,Rockford,Ill.)或其他方式交联到表面。在某些实施方案中,配体与表面共价结合。

[0052] 在一些实施方案中,药剂,如某些配体,是单一来源或多重来源的。在一些实施方案中,药剂是抗体或其功能片段。此外,本领域普通技术人员将认识到,可用于激活和诱导T细胞亚群的增殖的任何配体也可以固定在生物相容性物质的表面上。此外,虽然配体与表面的共价结合是一种优选的方法,但也可以使用二级单克隆抗体的吸附或捕获。如果表面是珠粒的表面,则可以通过流式细胞术分析容易地确定附接到表面的特定配体的量,而如果表面是例如组织培养皿、网、纤维、袋子,则可以通过酶联免疫吸附试验(ELISA)确定附接

到表面的特定配体的量。

[0053] 在一些实施方案中，在需要如本文所述的扩增细胞之前的一段时间，从受试者收集血液样品或白细胞单采术产品。因此，可以在任何必要的时间点收集待扩增的细胞源，并分离和冷冻所需的细胞如T细胞，以便后续用于T细胞疗法以治疗将受益于T细胞疗法的任何数目的疾病或病症，例如本文所述的那些。在一个实施方案中，血液样品或白细胞采集物取自总体健康的受试者。在某些实施方案中，血液样品或白细胞采集物取自存在发展出疾病的风险但尚未发展疾病的总体健康受试者，并且分离和冷冻感兴趣的细胞以备后续使用。在某些实施方案中，T细胞可以被扩增、冷冻并在以后使用。在某些实施方案中，在诊断出如本文所述的特定疾病后不久且在任何治疗之前从患者收集样品。在进一步的实施方案中，在任何数目的相关治疗方式之前从来自受试者的血液样品和白细胞采集物分离细胞，该相关治疗方式包括但不限于采用药剂如抗病毒剂、化疗、辐射、免疫抑制剂(如环孢菌素、硫唑嘌呤、甲氨蝶呤、霉酚酸酯和FK506)、抗体或其他免疫消融剂(如CAMPATH、抗CD3抗体、细胞毒素、氟达利滨、环孢菌素、FK506、雷帕霉素、霉酚酸、类固醇、FR901228和辐射的治疗)。这些药物抑制钙依赖性磷酸酶——钙调神经磷酸酶(环孢菌素和FK506)或抑制对生长因子诱导的信号传导很重要的p70S6激酶(雷帕霉素)。(Liu等人,Cell 66:807-815,1991;Henderson等人,Immun.73:316-321,1991;Bierer等人,Curr.Opin.Immun.5:763-773,1993;Isoniemi(同上))。在进一步的实施方案中，为患者分离细胞并将其冷冻用于后续与以下(例如，在其之前、同时或之后)联合使用:骨髓移植、使用化疗剂(如氟达拉滨、外束辐射疗法(XRT)、环磷酰胺)或抗体(如OKT3或CAMPATH)的T细胞消融疗法。在另一个实施方案中，细胞在治疗前分离，并且可以被冷冻以供后续在B细胞消融疗法例如与CD20反应的药剂(例如，利妥昔单抗)之后用于治疗。

[0054] 在一些实施方案中，分离后，T细胞在培养装置中的细胞培养基中温育一段时间或直到细胞达到汇合，然后将细胞传送到另一个培养装置。培养装置可以是通常用于在体外培养细胞的任何培养装置。一段时间可以是适合在体外细胞培养的任何时间。T细胞培养基可以在T细胞培养过程中随时更换。在一些实施方案中，大约每2至3天更换T细胞培养基。在一些实施方案中，然后从培养装置中收获T细胞，于是T细胞可立即使用或冷冻保存储存以备后续使用。在一些实施方案中，通过胰蛋白酶消化、EDTA处理或用于从培养装置收获细胞的任何其他程序来收获T细胞。

激活和扩增T细胞

[0055] 本文特别提供了离体激活和扩增T细胞的方法。在一些实施方案中，该方法包括使用抗TCRβV剂，例如，抗TCRβV抗体或其功能片段或功能变体来离体扩增T细胞。因此，在一些实施方案中，本文所述的方法允许离体激活和扩增任何T细胞群并且在扩增后显著增加T细胞的数目以供后续使用。因此，在一些方面，本文提供了使用本文公开的方法离体增殖、扩增或其他方式培养从受试者分离的T细胞的方法。

[0056] 在一些实施方案中，抗TCRβV剂，例如，抗TCRβV抗体，偶联至固体表面(例如，珠粒、细胞培养板等)。

[0057] 在一些实施方案中，至少多个被扩增的T细胞包括外源性核酸或多肽。在一些实施方案中，外源性核酸编码嵌合多肽。在一些实施方案中，外源性核酸编码外源性多肽。在一些实施方案中，嵌合多肽编码嵌合抗原受体或嵌合T细胞受体。在一些实施方案中，外源性

核酸编码外源性细胞受体。在一些实施方案中，所述外源性细胞受体是外源性T细胞受体。在一些实施方案中，该多肽包括嵌合抗原受体或嵌合T细胞受体。在一些实施方案中，该多肽包括外源性细胞受体。在一些实施方案中，所述外源性细胞受体是外源性T细胞受体。

[0058] 在一些实施方案中，本文所述的方法包括在使多个T细胞与抗TCRβV剂，例如，抗TCRβV抗体接触之前，将外源性核酸引入多个T细胞中。在一些实施方案中，本文所述的方法包括在使多个T细胞与抗TCRβV剂，例如，抗TCRβV抗体接触之后，将外源性核酸引入多个T细胞中。在一些实施方案中，本文所述的方法包括使多个T细胞与抗TCRβV剂，例如，抗TCRβV抗体接触，然后将外源性核酸引入多个T细胞中，同时继续使多个T细胞与抗TCRβV剂，例如，抗TCRβV抗体接触。在一些实施方案中，外源性核酸编码嵌合抗原受体(CAR)。在一些实施方案中，外源性核酸编码T细胞受体。

[0059] 在一些实施方案中，离体扩增T细胞的方法包括使多个T细胞与第一药剂接触，从而产生第一T细胞群，其中第一药剂包括与TCRβV区特异性结合的域。在一些实施方案中，第一T细胞群表现出以下一项或多项：IL-1β的表达降低，IL-6的表达水平降低，TNFα的表达降低，IL-2的表达增加，IFNγ的表达降低，以上是相对于接触过包括特异性结合CD3ε的域的药剂的多个T细胞。

[0060] 在一些实施方案中，接触包括将多个T细胞与抗TCRβV抗体(例如本文所述)一起温育或培养至少约10分钟、20分钟、30分钟、1小时、6小时、10小时、12小时、24小时、36小时、48小时、72小时、5天、7天、10天、14天、15天或30天。在一些实施方案中，接触包括将多个T细胞与抗TCRβV抗体(例如本文所述)一起温育或培养至多约10分钟、20分钟、30分钟、1小时、6小时、10小时、12小时、24小时、36小时、48小时、72小时、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、21天、30天、45天或60天。在一些实施方案中，接触包括将多个T细胞与抗TCRβV抗体(例如本文所述)一起温育或培养约10-60分钟、10-30分钟、1-30天、1-21天、1-14天、1-10天、1-9天、1-8天、1-7天、1-6天、1-5天、1-4天、1-3天、1-2天、21-30天、14-30天、7-30天、5-30天或3-30天。

[0061] 在一些实施方案中，激活或扩增T细胞的方法包括使多个T细胞与多种抗TCRβV抗体(例如本文所述)接触，从而产生第一T细胞群，其中多种药剂包括至少二、三、四、五、六、七、八、九或十种药剂，其中多种抗TCRβV抗体中的每一种抗TCRβV抗体包括与不同TCRβV区特异性结合的域。在一些实施方案中，多种抗TCRβV抗体中的每一种抗TCRβV抗体与不同TCRβV特异性结合，其中每种TCRβV属于不同TCRβV亚家族或是相同TCRβV亚家族的不同成员。在一些实施方案中，多种抗TCRβV抗体中的每一种抗TCRβV抗体包括与属于以下亚家族的TCRβV的TCRβV区特异性结合的域：TCRβV6亚家族、TCRβV10亚家族、TCRβV12亚家族、TCRβV5亚家族、TCRβV7亚家族、TCRβV11亚家族、TCRβV14亚家族、TCRβV16亚家族、TCRβV18亚家族、TCRβV9亚家族、TCRβV13亚家族、TCRβV4亚家族、TCRβV3亚家族、TCRβV2亚家族、TCRβV15亚家族、TCRβV30亚家族、TCRβV19亚家族、TCRβV27亚家族、TCRβV28亚家族、TCRβV24亚家族、TCRβV20亚家族、TCRβV25亚家族或TCRβV29亚家族。在一些实施方案中，多种药剂中的每一种药剂与不同TCRβV特异性结合，其中每种TCRβV属于不同TCRβV亚家族。

[0062] 在一些实施方案中，第一抗TCRβV抗体进一步包括第二域，该第二域与在多个T细胞的T细胞群的表面上表达的蛋白质结合。在一些实施方案中，第一抗TCRβV抗体是双特异性抗体分子。在一些实施方案中，第二域与TCRβV区特异性结合。在一些实施方案中，第二域

和第一域特异性结合不同的TCRβV区。在一些实施方案中，第二域和第一域特异性结合属于不同亚家族的TCRβV或相同TCRβV亚家族的不同成员。在一些实施方案中，第一域与属于以下亚家族的TCRβV的TCRβV区特异性结合：TCRβV6亚家族、TCRβV10亚家族、TCRβV12亚家族、TCRβV5亚家族、TCRβV7亚家族、TCRβV11亚家族、TCRβV14亚家族、TCRβV16亚家族、TCRβV18亚家族、TCRβV9亚家族、TCRβV13亚家族、TCRβV4亚家族、TCRβV3亚家族、TCRβV2亚家族、TCRβV15亚家族、TCRβV30亚家族、TCRβV19亚家族、TCRβV27亚家族、TCRβV28亚家族、TCRβV24亚家族、TCRβV20亚家族、TCRβV25亚家族或TCRβV29亚家族，并且第二域与属于以下亚家族的TCRβV的TCRβV区特异性结合：TCRβV6亚家族、TCRβV10亚家族、TCRβV12亚家族、TCRβV5亚家族、TCRβV7亚家族、TCRβV11亚家族、TCRβV14亚家族、TCRβV16亚家族、TCRβV18亚家族、TCRβV9亚家族、TCRβV13亚家族、TCRβV4亚家族、TCRβV3亚家族、TCRβV2亚家族、TCRβV15亚家族、TCRβV30亚家族、TCRβV19亚家族、TCRβV27亚家族、TCRβV28亚家族、TCRβV24亚家族、TCRβV20亚家族、TCRβV25亚家族或TCRβV29亚家族。在一些实施方案中，第二域和第一域特异性结合属于不同亚家族的TCRβV。在一些实施方案中，第二域和第一域特异性结合相同TCRβV亚家族的不同成员。在一些实施方案中，第二域与CD19或4-1BB特异性结合。

人T细胞受体(TCR)复合物

[0063] T细胞受体(TCR)在T细胞表面上表达。TCR识别呈现在(例如结合在)细胞(例如抗原呈递细胞)表面上的主要组织相容性复合物(MHC)分子上的抗原(例如肽)。TCR是异源二聚体分子，并且可以包含α链、β链、γ链或δ链。包含α链和β链的TCR也称为TCRαβ。TCRβ链由以下区域(也称为区段)组成：可变(V)、多样(D)、连接(J)和恒定(C)(参见Mayer G.和Nyland J.(2010)第10章:Major Histocompatibility Complex and T-cell Receptors-Role in Immune Responses.In:Microbiology and Immunology on-line,University of South Carolina School of Medicine)。TCRα链由V区、J区和C区组成。通过可变(V)、多样(D)、连接(J)和恒定(C)区的体细胞重组而进行的T细胞受体(TCR)重排是T细胞发育和成熟的决定性事件。TCR基因重排发生在胸腺中。

[0064] TCR可包含被称为TCR复合物的受体复合物，其包含由α链和β链组成的TCR异源二聚体和二聚体信号分子，例如CD3共受体，例如CD3δ/ε和/或CD3γ/ε。

TCRβV

[0065] 免疫系统的多样性使得能够对多种病原体提供保护。由于种系基因组的大小受到限制，因此多样性不仅可以通过V(D)J重组的过程来实现，而且可以通过核苷酸的连接(V-D和D-J区段之间的连接)缺失和伪随机非模板核苷酸的添加来实现。TCRβ基因经过基因排列产生多样性。

[0066] 由于例如在功能性基因区段中经常出现7种失活多态性以及涵盖2个Vβ基因区段的大的与插入/缺失相关的多态性，TCR Vβ的所有组成成分因个体和群体而异。

[0067] 本公开内容特别提供了抗体分子及其功能片段，其结合(例如特异性结合)至人TCRβV链(TCRβV)，例如TCRβV基因家族，例如TCRβV亚家族，例如，如本文所述。TCRβV家族和亚家族是本领域已知的，例如，如Yassai等人，(2009)Immunogenetics 61(7)pp:493-502;Wei S.和Concannon P.(1994)Human Immunology 41(3)pp:201-206所述。本文所述的抗体可以是重组抗体，例如重组非鼠抗体，例如重组人或人源化抗体。

[0068] 在一方面，本公开内容提供了抗TCRβV抗体分子，其结合至人TCRβV，例如TCRβV家

族，例如基因家族。在一些实施方案中，TCRβV基因家族包括一个或多个亚家族，例如，如本文在例如图1中所述。在一些实施方案中，TCRβV基因家族包括的亚家族包括：TCRβV6亚家族、TCRβV10亚家族、TCRβV12亚家族、TCRβV5亚家族、TCRβV7亚家族、TCRβV11亚家族、TCRβV14亚家族、TCRβV16亚家族、TCRβV18亚家族、TCRβV9亚家族、TCRβV13亚家族、TCRβV4亚家族、TCRβV3亚家族、TCRβV2亚家族、TCRβV15亚家族、TCRβV30亚家族、TCRβV19亚家族、TCRβV27亚家族、TCRβV28亚家族、TCRβV24亚家族、TCRβV20亚家族、TCRβV25亚家族或TCRβV29亚家族。

[0069] TCRβV6亚家族亦称TCRβV13.1。在一些实施方案中，TCRβV6亚家族包括：TCRβV6-4*01、TCRβV6-4*02、TCRβV6-9*01、TCRβV6-8*01、TCRβV6-5*01、TCRβV6-6*02、TCRβV6-6*01、TCRβV6-2*01、TCRβV6-3*01或TCRβV6-1*01。在一些实施方案中，TCRβV6包括TCRβV6-5*01。在一些实施方案中，TCRβV6例如TCRβV6-5*01由SEQ ID NO:11和/或SEQ ID NO:10识别，例如，结合。

[0070] TCRβV10亚家族亦称TCRβV12。在一些实施方案中，TCRβV10亚家族包括：TCRβV10-1*01、TCRβV10-1*02、TCRβV10-3*01或TCRβV10-2*01。

[0071] TCRβV12亚家族亦称TCRβV8.1。在一些实施方案中，TCRβV12亚家族包括：TCRβV12-4*01、TCRβV12-3*01或TCRβV12-5*01。在一些实施方案中，TCRβV12由SEQ ID NO:58识别，例如，结合。

[0072] 在一些实施方案中，TCRβV5亚家族选自：TCRβV5-5*01、TCRβV5-6*01、TCRβV5-4*01、TCRβV5-8*01、TCRβV5-1*01。在一些实施方案中，TCRβV7亚家族包括TCRβV7-7*01、TCRβV7-6*01、TCRβV7-8*02、TCRβV7-4*01、TCRβV7-2*02、TCRβV7-2*03、TCRβV7-2*01、TCRβV7-3*01、TCRβV7-9*03或TCRβV7-9*01。在一些实施方案中，TCRβV11亚家族包括：TCRβV11-1*01、TCRβV11-2*01或TCRβV11-3*01。

[0073] 在一些实施方案中，TCRβV14亚家族包括TCRβV14*01。在一些实施方案中，TCRβV16亚家族包括TCRβV16*01。在一些实施方案中，TCRβV18亚家族包括TCRβV18*01。在一些实施方案中，TCRβV9亚家族包括TCRβV9*01或TCRβV9*02。在一些实施方案中，TCRβV13亚家族包括TCRβV13*01。在一些实施方案中，TCRβV4亚家族包括TCRβV4-2*01、TCRβV4-3*01或TCRβV4-1*01。在一些实施方案中，TCRβV3亚家族包括TCRβV3-1*01。在一些实施方案中，TCRβV2亚家族包括TCRβV2*01。在一些实施方案中，TCRβV15亚家族包括TCRβV15*01。在一些实施方案中，TCRβV30亚家族包括TCRβV30*01或TCRβV30*02。在一些实施方案中，TCRβV19亚家族包括TCRβV19*01或TCRβV19*02。在一些实施方案中，TCRβV27亚家族包括TCRβV27*01。在一些实施方案中，TCRβV28亚家族包括TCRβV28*01。在一些实施方案中，TCRβV24亚家族包括TCRβV24-1*01。在一些实施方案中，TCRβV20亚家族包括TCRβV20-1*01或TCRβV20-1*02。在一些实施方案中，TCRβV25亚家族包括TCRβV25-1*01。在一些实施方案中，TCRβV29亚家族包括TCRβV29-1*01。

表1.TCRβV亚家族和亚家族成员的列表

图 1 中的参照	亚家族	亚家族成员
A	TCRβ V6 *也被称为:* *TCR VB 13.1*	TCRβ V6-4*01、TCRβ V6-4*02、TCRβ V6-9*01、TCRβ V6-8*01、TCRβ V6-5*01、TCRβ V6-6*02、TCRβ V6-6*01、TCRβ V6-2*01、TCRβ V6-3*01 或 TCRβ V6-1*01.
B	TCRβ V10 *也被称为:* *TCRβ V12*	TCRβ V10-1*01、TCRβ V10-1*02、TCRβ V10-3*01 or TCRβ V10-2*01
C	TCRβ V12 *也被称为:* *TCRβ V8.1*	TCRβ V12-4*01、TCRβ V12-3*01 或 TCRβ V12-5*01
D	TCRβ V5	TCRβ V5-5*01、TCRβ V5-6*01、TCRβ V5-4*01、TCRβ V5-8*01、TCRβ V5-1*01
E	TCRβ V7	TCRβ V7-7*01、TCRβ V7-6*01、TCRβ V7 -8*02、TCRβ V7 -4*01、TCRβ V7-2*02、TCRβ V7-2*03、TCRβ V7-2*01、TCRβ V7-3*01、TCRβ V7-9*03 或 TCRβ V7-9*01
F	TCRβ V11	TCRβ V11-1*01、TCRβ V11-2*01 或 TCRβ V11-3*01
G	TCRβ V14	TCRβ V14*01
H	TCRβ V16	TCRβ V16*01
I	TCRβ V18	TCRβ V18*01
J	TCRβ V9	TCRβ V9*01 或 TCRβ V9*02
K	TCRβ V13	TCRβ V13*01
L	TCRβ V4	TCRβ V4-2*01、TCRβ V4-3*01 或 TCRβ V4-1*01
M	TCRβ V3	TCRβ V3-1*01
N	TCRβ V2	TCRβ V2*01
O	TCRβ V15	TCRβ V15*01
P	TCRβ V30	TCRβ V30*01 或 TCRβ V30*02
Q	TCRβ V19	TCRβ V19*01 或 TCRβ V19*02
R	TCRβ V27	TCRβ V27*01.
S	TCRβ V28	TCRβ V28*01.
T	TCRβ V24	TCRβ V24-1*01
U	TCRβ V20	TCRβ V20-1*01 或 TCRβ V20-1*02
V	TCRβ V25	TCRβ V25-1*01
W	TCRβ V29	TCRβ V29-1*01

抗TCRβV抗体

[0074] 在一些实施方案中,本文提供的方法包括使T细胞群与至少一种抗TCRβV抗体分子离体接触,该抗TCRβV抗体分子结合人TCRβV,例如TCRβV基因家族,例如,一个或多个TCRβV亚家族,例如本文在例如图1、表1中所述。在一些实施方案中,本文所述的抗TCRβV抗体与表

1中公开的家族或亚家族的人TCRβV蛋白结合。在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子与选自以下亚家族的一个或多个TCRβV亚家族结合：TCRβV6亚家族、TCRβV10亚家族、TCRβV12亚家族、TCRβV5亚家族、TCRβV7亚家族、TCRβV11亚家族、TCRβV14亚家族、TCRβV16亚家族、TCRβV18亚家族、TCRβV9亚家族、TCRβV13亚家族、TCRβV4亚家族、TCRβV3亚家族、TCRβV2亚家族、TCRβV15亚家族、TCRβV30亚家族、TCRβV19亚家族、TCRβV27亚家族、TCRβV28亚家族、TCRβV24亚家族、TCRβV20亚家族、TCRβV25亚家族或TCRβV29亚家族。在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子与TCRβV6亚家族结合，该亚家族包括：TCRβV6-4*01、TCRβV6-4*02、TCRβV6-9*01、TCRβV6-8*01、TCRβV6-5*01、TCRβV6-6*02、TCRβV6-6*01、TCRβV6-2*01、TCRβV6-3*01或TCRβV6-1*01。在一些实施方案中，TCRβV6亚家族包括TCRβV6-5*01。在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子与TCRβV10亚家族结合，该亚家族包括：TCRβV10-1*01、TCRβV10-1*02、TCRβV10-3*01或TCRβV10-2*01。在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子与TCRβV12亚家族结合，该亚家族包括：TCRβV12-4*01、TCRβV12-3*01或TCRβV12-5*01。在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子与TCRβV5亚家族结合，该亚家族包括：TCRβV5-5*01、TCRβV5-6*01、TCRβV5-4*01、TCRβV5-8*01、TCRβV5-1*01。

[0075] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体与表1中的亚家族中的至少两个TCRβV亚家族结合。例如，在一些实施方案中，抗TCRβV抗体结合TCRβV6-4*01、TCRβV6-4*02、TCRβV6-9*01、TCRβV6-8*01、TCRβV6-5*01、TCRβV6-6*02、TCRβV6-6*01、TCRβV6-2*01、TCRβV6-3*01或TCRβV6-1*01中的至少两个(例如，至少3、4、5或6个)。在一些实施方案中，抗TCRβV抗体结合TCRβV10-1*01、TCRβV10-1*02、TCRβV10-3*01或TCRβV10-2*01中的至少两个(例如，至少3、4、5或6个)。在一些实施方案中，抗TCRβV抗体结合TCRβV12-4*01、TCRβV12-3*01或TCRβV12-5*01中的至少两个(例如，至少3、4、5或6个)。在一些实施方案中，抗TCRβV抗体结合TCRβV5-5*01、TCRβV5-6*01、TCRβV5-4*01、TCRβV5-8*01、TCRβV5-1*01中的至少两个(例如，至少3、4、5或6个)。在一些实施方案中，抗TCRβV抗体结合TCRβV7-7*01、TCRβV7-6*01、TCRβV7-8*02、TCRβV7-4*01、TCRβV7-2*02、TCRβV7-2*03、TCRβV7-2*01、TCRβV7-3*01、TCRβV7-9*03或TCRβV7-9*01中的至少两个(例如，至少3、4、5或6个)。在一些实施方案中，抗TCRβV抗体结合TCRβV11-1*01、TCRβV11-2*01或TCRβV11-3*01中的至少两个(例如，至少3、4、5或6个)。在一些实施方案中，抗TCRβV抗体结合TCRβV9*01或TCRβV9*02中的至少两个。在一些实施方案中，抗TCRβV抗体结合TCRβV4-2*01、TCRβV4-3*01或TCRβV4-1*01中的至少两个(例如，至少3个)。在一些实施方案中，抗TCRβV抗体结合TCRβV30*01或TCRβV30*02中的至少两个。在一些实施方案中，抗TCRβV抗体结合TCRβV19*01或TCRβV19*02中的至少两个。在一些实施方案中，抗TCRβV抗体结合TCRβV20-1*01或TCRβV20-1*02中的至少两个。

[0076] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体结合至少两个不同的TCRVB亚家族。例如，在一些实施方案中，抗TCRβV抗体结合属于以下亚家族的TCRβV的第一TCRβV区：TCRβV6亚家族、TCRβV10亚家族、TCRβV12亚家族、TCRβV5亚家族、TCRβV7亚家族、TCRβV11亚家族、TCRβV14亚家族、TCRβV16亚家族、TCRβV18亚家族、TCRβV9亚家族、TCRβV13亚家族、TCRβV4亚家族、TCRβV3亚家族、TCRβV2亚家族、TCRβV15亚家族、TCRβV30亚家族、TCRβV19亚家族、TCRβV27亚家族、TCRβV28亚家族、TCRβV24亚家族、TCRβV20亚家族、TCRβV25亚家族或TCRβV29亚家族，并且第二域特异性结合属于以下亚家族的TCRβV的TCRβV区：TCRβV6亚家族、TCRβV10亚家族、TCRβV12亚家族、TCRβV5亚家族、TCRβV7亚家族、TCRβV11亚家族、TCRβV14亚家族、TCRβV16亚家

族、TCRβV18亚家族、TCRβV9亚家族、TCRβV13亚家族、TCRβV4亚家族、TCRβV3亚家族、TCRβV2亚家族、TCRβV15亚家族、TCRβV30亚家族、TCRβV19亚家族、TCRβV27亚家族、TCRβV28亚家族、TCRβV24亚家族、TCRβV20亚家族、TCRβV25亚家族或TCRβV29亚家族；并且还结合属于以下亚家族的TCRβV的第二TCRβV区：TCRβV6亚家族、TCRβV10亚家族、TCRβV12亚家族、TCRβV5亚家族、TCRβV7亚家族、TCRβV11亚家族、TCRβV14亚家族、TCRβV16亚家族、TCRβV18亚家族、TCRβV9亚家族、TCRβV13亚家族、TCRβV4亚家族、TCRβV3亚家族、TCRβV2亚家族、TCRβV15亚家族、TCRβV30亚家族、TCRβV19亚家族、TCRβV27亚家族、TCRβV28亚家族、TCRβV24亚家族、TCRβV20亚家族、TCRβV25亚家族或TCRβV29亚家族，并且第二域特异性结合属于以下亚家族的TCRβV的TCRβV区：TCRβV6亚家族、TCRβV10亚家族、TCRβV12亚家族、TCRβV5亚家族、TCRβV7亚家族、TCRβV11亚家族、TCRβV14亚家族、TCRβV16亚家族、TCRβV18亚家族、TCRβV9亚家族、TCRβV13亚家族、TCRβV4亚家族、TCRβV3亚家族、TCRβV2亚家族、TCRβV15亚家族、TCRβV30亚家族、TCRβV19亚家族、TCRβV27亚家族、TCRβV28亚家族、TCRβV24亚家族、TCRβV20亚家族、TCRβV25亚家族或TCRβV29亚家族；其中第一TCRβV区和第二TCRβV区属于不同TCRβV亚家族(例如，TCRβV 5亚家族和TCRβV 7亚家族)。

[0077] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体包括抗体序列，例如US20180256716中公开的CDR、VH、VL、人源化VH和人源化VL链序列，其内容通过引用整体并入本文。

[0078] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体是独特型抗体。在一些实施方案中，抗TCRβV抗体是人抗体。在一些实施方案中，抗TCRβV抗体是鼠抗体。在一些实施方案中，抗TCRβV抗体是人源化抗体。在一些实施方案中，抗TCRβV抗体是单链Fv(scFv)或Fab。在一些实施方案中，抗TCRβV抗体是全抗体，其包括：两条抗体重链，每条重链包括可变区和恒定区；和两条抗体轻链，每条轻链包括可变区和恒定区。

[0079] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子不与TCRβV12结合，或者与TCRβV12结合的亲和力和/或结合特异性小于如美国专利5,861,155中所述的16G8鼠抗体或其人源化形式的亲和力和/或结合特异性(例如，小约10％、20％、30％、40％、50％、60％、70％、80％、90％或约2-、5-或10-倍)，其通过引用并入本文。

[0080] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子与TCRβV12结合的亲和力和/或结合特异性大于如美国专利5,861,155中所述的16G8鼠抗体或其人源化形式的亲和力和/或结合特异性(例如，大了约10％、20％、30％、40％、50％、60％、70％、80％、90％或约2-、5-或10-倍)，其通过引用并入本文。

[0081] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子与除TCRβV12之外的TCRβV区(例如，如本文所述的TCRβV区，例如，TCRβV6亚家族(例如，TCRβV6-5*01))结合的亲和力和/或结合特异性大于如美国专利5,861,155中所述的16G8鼠抗体或其人源化形式的亲和力和/或结合特异性(例如，大了约10％、20％、30％、40％、50％、60％、70％、80％、90％或约2-、5-或10-倍)，其通过引用并入本文。

[0082] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子不与TCRβV5-5*01和TCRβV5-1*01结合，或者与TCRβV5-5*01或TCRβV5-1*01结合的亲和力和/或结合特异性小于如美国专利5,861,155中所述的TM23鼠抗体或其人源化形式的亲和力和/或结合特异性(例如，小约10％、20％、30％、40％、50％、60％、70％、80％、90％或约2-、5-或10-倍)，其通过引用并入本文。

[0083] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子与TCRβV5-5*01或TCRβV5-1*01结合的亲和

力和/或结合特异性大于如美国专利5,861,155中所述的TM23鼠抗体或其人源化形式的亲和力和/或结合特异性(例如,大了约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或约2-、5-或10-倍),其通过引用并入本文。

[0084] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子与除TCRβV5-5*01或TCRβV5-1*01之外的TCRβV区(例如,如本文所述的TCRβV区,例如,TCRβV6亚家族(例如,TCRβV6-5*01))结合的亲和力和/或结合特异性大于如美国专利5,861,155中所述的TM23鼠抗体或其人源化形式的亲和力和/或结合特异性(例如,大了约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或约2-、5-或10-倍),其通过引用并入本文。

[0085] 在一个实施方案中,第一抗TCRβV抗体是抗TCRβV6抗体。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子与人TCRβV6例如TCRβV6亚家族结合,该亚家族包括:TCRβV6-4*01、TCRβV6-4*02、TCRβV6-9*01、TCRβV6-8*01、TCRβV6-5*01、TCRβV6-6*02、TCRβV6-6*01、TCRβV6-2*01、TCRβV6-3*01或TCRβV6-1*01。在一些实施方案中,TCRβV6亚家族包括TCRβV6-5*01。在一些实施方案中,抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体包括来自本文所述的抗体(例如,如表2所述的抗体)或与任意前述序列基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列的轻链可变区的至少一个、两个或三个互补决定区(CDR)。在一些实施方案中,抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体包括来自包含表2中所示的或由表2中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列的轻链可变区的至少一个、两个或三个CDR(或所有CDR)。在一个实施方案中,一个或多个CDR(或所有CDR)相对于表2中所示的或由表2中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列具有一个、两个、三个、四个、五个、六个或更多个改变,例如,氨基酸置换或缺失。

[0086] 在一些实施方案中,抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体包括具有CDR1、CDR2和CDR3的重链(HC);其中根据组合的CDR1、CDR2和CDR3定义,CDR1、CDR2和CDR3分别具有如SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2和SEQ ID NO:3中所示的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子包括具有CDR1、CDR2和CDR3的重链(HC);其中根据Kabat CDR1、CDR2和CDR3定义,CDR1、CDR2和CDR3分别具有如SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:2和SEQ ID NO:3中所示的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子包括具有CDR1、CDR2和CDR3的重链(HC);其中根据Chothia CDR1、CDR2和CDR3定义,CDR1、CDR2和CDR3分别具有如SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6和SEQ ID NO:3中所示的序列。

[0087] 在一些实施方案中,抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体包括具有CDR1、CDR2和CDR3的轻链(LC);其中根据组合的CDR1、CDR2和CDR3定义,CDR1、CDR2和CDR3分别具有如SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8和SEQ ID NO:9中所示的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子包括具有CDR1、CDR2和CDR3的轻链(LC);其中根据Kabat CDR1、CDR2和CDR3定义,CDR1、CDR2和CDR3分别具有如SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8和SEQ ID NO:9中所示的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体包括具有CDR1、CDR2和CDR3的轻链(LC);其中根据Chothia CDR1、CDR2和CDR3定义,CDR1、CDR2和CDR3分别具有如SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8和SEQ ID NO:9中所示的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体包括如SEQ ID NO:12中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:12基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子包括如SEQ ID

NO:13中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:13基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子包括如SEQ ID NO:14中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:14基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子包括如SEQ ID NO:15中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:15基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子包括如SEQ ID NO:12中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:12基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子包括如SEQ ID NO:17中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:17基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子包括如SEQ ID NO:16中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:16基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。

[0088] 在一些实施方案中,抗TCRβ抗体包括如表3所述的序列,或与如表3所述的序列基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。

[0089] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括具有CDR1、CDR2和CDR3的重链(HC);其中根据组合的CDR1、CDR2和CDR3定义,CDR1、CDR2和CDR3分别具有如SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50和SEQ ID NO:51中所示的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括具有CDR1、CDR2和CDR3的重链(HC);其中根据Kabat CDR1、CDR2和CDR3定义,CDR1、CDR2和CDR3分别具有如SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:50和SEQ ID NO:51中所示的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括具有CDR1、CDR2和CDR3的重链(HC);其中根据Chothia CDR1、CDR2和CDR3定义,CDR1、CDR2和CDR3分别具有如SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:54和SEQ ID NO:51中所示的序列。

[0090] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括具有CDR1、CDR2和CDR3的轻链(LC);其中根据组合的CDR1、CDR2和CDR3定义,CDR1、CDR2和CDR3分别具有如SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56和SEQ ID NO:57中所示的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括具有CDR1、CDR2和CDR3的轻链(LC);其中根据Kabat CDR1、CDR2和CDR3定义,CDR1、CDR2和CDR3分别具有如SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56和SEQ ID NO:57中所示的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括具有CDR1、CDR2和CDR3的轻链(LC);其中根据Chothia CDR1、CDR2和CDR3定义,CDR1、CDR2和CDR3分别具有如SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56和SEQ ID NO:57中所示的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:61中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:61基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:60中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:60基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:63中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:64基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV

抗体分子包括如SEQ ID NO:66中所示的重链(HC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:66基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:64中所示的重链(HC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:64基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:63中所示的重链(HC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:63基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:62中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:62基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:65中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:65基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:67中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:67基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:68中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:68基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:69中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:69基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。

[0091] 在一些实施方案中,抗TCRβ抗体包括如表4所述的序列,或与如表4所述的序列基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。

[0092] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括具有CDR1、CDR2和CDR3的重链(HC);其中根据组合的CDR1、CDR2和CDR3定义,CDR1、CDR2和CDR3分别具有如SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:71和SEQ ID NO:72中所示的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括具有CDR1、CDR2和CDR3的重链(HC);其中根据Kabat CDR1、CDR2和CDR3定义,CDR1、CDR2和CDR3分别具有如SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74和SEQ ID NO:72中所示的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括具有CDR1、CDR2和CDR3的重链(HC);其中根据Chothia CDR1、CDR2和CDR3定义,CDR1、CDR2和CDR3分别具有如SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:71和SEQ ID NO:72中所示的序列。

[0093] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括具有CDR1、CDR2和CDR3的轻链(LC);其中根据组合的CDR1、CDR2和CDR3定义,CDR1、CDR2和CDR3分别具有如SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77和SEQ ID NO:78中所示的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括具有CDR1、CDR2和CDR3的轻链(LC);其中根据Kabat CDR1、CDR2和CDR3定义,CDR1、CDR2和CDR3分别具有如SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77和SEQ ID NO:78中所示的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括具有CDR1、CDR2和CDR3的轻链(LC);其中根据Chothia CDR1、CDR2和CDR3定义,CDR1、CDR2和CDR3分别具有如SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77和SEQ ID NO:78中所示的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:82中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:82基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:81中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:81基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、

95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:83中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:83基本相同(例如,至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:84中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:84基本相同(例如,至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:85中所示的重链(HC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:85基本相同(例如,至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:86中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:86基本相同(例如,至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:87中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:87基本相同(例如,至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:88中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:88基本相同(例如,至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:89中所示的轻链(HC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:89基本相同(例如,至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:90中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:90基本相同(例如,至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:91中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:91基本相同(例如,至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:92中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:92基本相同(例如,至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:93中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:93基本相同(例如,至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:94中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:94基本相同(例如,至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:95中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:95基本相同(例如,至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。

[0094] 在一些实施方案中,抗TCRβ抗体包括如表5所述的序列,或与如表5所述的序列基本相同(例如,至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。

[0095] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:108中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:108基本相同(例如,至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:109中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:109基本相同(例如,至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:110中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:110基本相同(例如,至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:111中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID

NO:111基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:112中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:112基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:113中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:113基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:114中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:114基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。

[0096] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:127中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:127基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:128中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:128基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:129中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:129基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:130中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:130基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:131中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:131基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。

[0097] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:132中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:132基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:133中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:133基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:134中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:134基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:135中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:135基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:136中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:136基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。

[0098] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:149中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:149基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:150中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:150基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:151中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:151基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方

案中，抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:152中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:152基本相同(例如，至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:153中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:153基本相同(例如，至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。

[0099] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:154中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:154基本相同(例如，至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:155中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:155基本相同(例如，至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:156中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:156基本相同(例如，至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:157中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:157基本相同(例如，至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:158中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:158基本相同(例如，至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。

[0100] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:170中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:170基本相同(例如，至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:171中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:171基本相同(例如，至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:172中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:172基本相同(例如，至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:173中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:173基本相同(例如，至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:174中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:174基本相同(例如，至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。

[0101] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:175中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:175基本相同(例如，至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:176中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:176基本相同(例如，至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:177中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:177基本相同(例如，至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:178中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:178基本相同(例如，至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:179中所示的轻链(LC)可变

区(VL)或与SEQ ID NO:179基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:180中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:180基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:181中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:181基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。

[0102] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:194中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:194基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:195中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:195基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:196中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:196基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:197中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:197基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:198中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:198基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:199中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:199基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。

[0103] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:200中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:200基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:201中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:201基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:202中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:202基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:203中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:203基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:204中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:204基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:205中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:205基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。

[0104] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:217中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:217基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:218中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:218基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分

子包括如SEQ ID NO:219中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:219基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:220中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:220基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:221中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:221基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。

[0105] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:222中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:222基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:223中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:223基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:224中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:224基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:225中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:225基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:226中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:226基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:227中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:227基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。

[0106] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:262中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:262基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:263中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:263基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:264中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:264基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:310中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:265基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:311中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:265基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。

[0107] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:266中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:266基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:267中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:267基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:268中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:268基本相同(例

如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:269中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:269基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。

[0108] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:240中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:240基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:241中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:241基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:242中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:242基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:243中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:243基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。

[0109] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:244中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:244基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:245中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:245基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:246中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:246基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:247中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:247基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:248中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:248基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:249中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:249基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。

[0110] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:282中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:282基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:283中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:283基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:284中所示的重链(HC)可变区(VH)或与SEQ ID NO:284基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。

[0111] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:285中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:285基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:286中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:286基本相同(例如,至少80%、85%、

90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:287中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:287基本相同(例如,至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括如SEQ ID NO:288中所示的轻链(LC)可变区(VL)或与SEQ ID NO:288基本相同(例如,至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。

[0112] 在一些实施方案中,第一药剂在与TCRβV区结合后导致T细胞离体扩增。在一些实施方案中,第一药剂与TCRβV区的结合导致IL-2的表达水平和/或活性增加至少2、5、10、20、50、100、200、300、400、500、600、700、800、900、1000或2000倍或至少2-2000倍(例如,5-1000、10-900、20-800、50-700、100-600、200-500或300-400倍),如通过本文所述的测定所测量的。

[0113] 在一些实施方案中,本文所述的方法导致T细胞离体扩增,伴随与CRS相关的细胞因子例如IL-6、IL-1β和TNFα的产生减少或不产生;以及IL-2和IFNγ的产生增加和/或延迟。在一些实施方案中,第一药剂在与TCRβV区结合后导致以下之一、二、三、四、五、六、七、八、九、十或更多(例如,全部)项:(i)IL-1β的水平,例如,表达水平,和/或活性的降低;(ii)IL-6的水平,例如,表达水平,和/或活性的降低;(iii)TNFα的水平,例如,表达水平,和/或活性的降低;(iv)IL-2的水平,例如,表达水平,和/或活性的增加;(v)IL-2的水平,例如,表达水平,和/或活性增加的延迟,例如,至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多小时的延迟;(vi)IFNγ的水平,例如,表达水平,和/或活性增加的延迟,例如,至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10小时的延迟;(vii)降低的T细胞增殖动力学;或(viii)减少的细胞因子风暴,例如,细胞因子释放综合征(CRS),例如,如通过本文所述的测定所测量的;(ix)细胞杀伤,例如,靶细胞杀伤,例如,癌细胞杀伤,例如,如通过本文所述的测定所测量的;(x)IL-15的水平,例如,表达水平,和/或活性的增加;或(xi)增加的天然杀伤(NK)细胞增殖,例如,扩增,以上是与结合CD3分子,例如,CD3ε(CD3e)分子;或TCR阿尔法(TCRα)分子的抗体相比较。

[0114] 在一些实施方案中,本文所述的离体扩增T细胞的方法导致记忆效应T细胞亚群,例如,T效应记忆(TEM)细胞,例如,表达CD45RA的TEM细胞(TEMRA细胞)的亚群的扩增。在一些实施方案中,第一药剂在与TCRβV区结合后导致记忆T细胞(例如,TEMRA细胞)群的扩增,例如,至少约1.1-10倍扩增(例如,至少1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、2、3、4、5、6、7、8、9或10倍扩增)。在一些实施方案中,所扩增的T效应记忆细胞群包括以下细胞:(i)具有可检测水平的CD45RA,例如,表达或再表达CD45RA的细胞;(ii)具有低CCR7表达或无CCR7表达的细胞;和/或(iii)具有可检测水平的CD95,例如,表达CD95,例如,CD45RA+、CCR7-、CD95+T细胞群的细胞,任选地其中T细胞包括CD3+、CD4+或CD8+T细胞。在一些实施方案中,与在不存在第一药剂的情况下扩增的记忆T细胞群相比,第一药剂与TCRβV区的结合导致IL-1β的表达水平和/或活性降低至少2、5、10、20、50、100或200倍或至少2-200倍(例如,5-150、10-100、20-50倍),如通过本文所述的测定所测量的。

[0115] 在一些实施方案中,与在不存在第一药剂的情况下扩增的记忆T细胞群相比,第一药剂与TCRβV区的结合导致IL-6的表达水平和/或活性降低至少2、5、10、20、50、100、200、300、400、500、600、700、800、900或1000倍或至少2-1000倍(例如,5-900、10-800、20-700、50-600、100-500或200-400倍),如通过本文所述的测定所测量的。

[0116] 在一些实施方案中，与在不存在第一药剂的情况下扩增的记忆T细胞群相比，第一药剂与TCRβV区的结合导致TNFα的表达水平和/或活性降低至少2、5、10、20、50、100、200、300、400、500、600、700、800、900、1000或2000倍或至少2-2000倍(例如，5-1000、10-900、20-800、50-700、100-600、200-500或300-400倍)，如通过本文所述的测定所测量的。

[0117] 在一些实施方案中，T细胞被激活和扩增，并使用本文所述的抗TCRβV抗体离体扩增。在一些实施方案中，TCRβV抗体包括如表2、3、4或5中列出的人源化抗体CDR或可变区，或与任意前述序列基本相同(例如，至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子包括IgG4例如人IgG4的重链恒定区。在另一实施方案中，抗TCRβV抗体分子包括IgG1例如人IgG1的重链恒定区。在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子具有选自例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA1、IgA2、IgD和IgE的重链恒定区的重链恒定区(Fc)。在一些实施方案中，Fc区选自IgG1、IgG2、IgG3和IgG4的重链恒定区。在一些实施方案中，Fc区选自IgG1或IgG2(例如，人IgG1或IgG2)的重链恒定区。在一些实施方案中，重链恒定区是人IgG1。在一个实施方案中，重链恒定区包括表6中所示的氨基序列或与其基本相同(例如，至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。

[0118] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子或其部分可以是选自名为BHM1709、H131、H131-3、TM29、16G8、TM23、MPB2D5、CAS1.1.3、IMMU222、REA1062、JOVI-3、S511、MH3-2和4H11的抗体的人源化形式。

[0119] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子是全抗体或其片段(例如，Fab、$F(ab')_2$、Fv或单链Fv片段(scFv))。在实施方案中，抗TCRβV抗体分子是单克隆抗体或具有单一特异性的抗体。在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子还可以是人源化的、嵌合的、骆驼的、鲨鱼的或体外产生的抗体分子。在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子是人源化抗体分子。抗TCRβV抗体分子的重链和轻链可以是全长的(例如，抗体可以包括至少一条且优选两条的完整重链和至少一条且优选两条的完整轻链)，或者可以包括抗原结合片段(例如，Fab、F(ab')2、Fv、单链Fv片段、单域抗体、双抗体(dAb)、二价抗体或双特异性抗体或其片段、其单域变体或骆驼抗体)。

[0120] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子是多特异性分子的形式，例如，双特异性分子，例如，如本文所述。

抗TCRβV6抗体

[0121] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子与人TCRβV6(例如，TCRβV6亚家族)结合，所述TCRβV6亚家族包括：TCRβV6-4*01、TCRβV6-4*02、TCRβV6-9*01、TCRβV6-8*01、TCRβV6-5*01、TCRβV6-6*02、TCRβV6-6*01、TCRβV6-2*01、TCRβV6-3*01或TCRβV6-1*01。在一些实施方案中，TCRβV6亚家族包括TCRβV6-5*01。

[0122] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子，例如抗TCRβV6(例如，抗TCRβV6-5*01)抗体分子是非鼠抗体分子，例如人或人源化抗体分子。在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子，例如抗TCRβV6(例如，抗TCRβV6-5*01)抗体分子是人抗体分子。在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子，例如抗TCRβV6(例如，抗TCRβV6-5*01)抗体分子是人源化抗体分子。

[0123] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子，例如抗TCRβV6(例如，抗TCRβV6-5*01)抗体分子是分离的或重组的。

[0124] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子，例如抗TCRβV6(例如抗TCRβV6-5*01)抗体分子，包括来自本文所述抗体(例如表2中所述的抗体)的至少一个抗原结合区例如其可变区或抗原结合片段，或者与前述序列中的任何序列基本上相同(例如，至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。

[0125] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子，例如，抗TCRβV6(例如，抗TCRβV6-5*01)抗体分子，包括来自本文所述抗体(例如表2中所述的抗体)的至少一个、两个、三个或四个可变区，或者与前述序列中的任何序列基本上相同(例如，至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。

[0126] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子，例如，抗TCRβV6(例如，抗TCRβV6-5*01)抗体分子，包括来自本文所述抗体(例如表2中所述的抗体)的至少一个或两个重链可变区，或者与前述序列中的任何序列基本上相同(例如，至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。

[0127] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子，例如，抗TCRβV6(例如，抗TCRβV6-5*01)抗体分子，包括来自本文所述抗体(例如，表2中所述的抗体)的至少一个或两个轻链可变区，或者与前述序列中的任何序列基本上相同(例如，至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。

[0128] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子，例如抗TCRβV6(例如，抗TCRβV6-5*01)抗体分子包括IgG4例如人IgG4的重链恒定区。在又一个实施方案中，抗TCRβV抗体分子，例如，抗TCRβV6(例如，抗TCRβV6-5*01)抗体分子包括IgG1例如人IgG1的重链恒定区。在一个实施方案中，重链恒定区包含表6中列出的氨基酸序列，或者与其基本相同(例如，至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。

[0129] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子，例如，抗TCRβV6(例如，抗TCRβV6-5*01)抗体分子包括κ轻链恒定区，例如，人κ轻链恒定区。在一个实施方案中，轻链恒定区包含表6中列出的氨基酸序列，或与其基本上相同(例如，至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。

[0130] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子，例如抗TCRβV6(例如抗TCRβV6-5*01)抗体分子，包括来自本文所述抗体(例如选自BHM1709或BHM1710的抗体，或表2中所述的抗体，或由表2中的核苷酸序列编码的抗体)的重链可变区的至少一个、两个或三个互补决定区(CDR)，或与前述序列中任何序列基本相同(例如，至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。

[0131] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子，例如抗TCRβV6(例如抗TCRβV6-5*01)抗体分子，包括来自包含表2所示氨基酸序列或由表2所示核苷酸序列编码的氨基酸序列的重链可变区的至少一个、两个或三个CDR(或所有CDR)。在一个实施方案中，相对于表2中所示的氨基酸序列，或由表2中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列，一个或多个CDR(或所有CDR)具有1、2、3、4、5、6个或更多个改变，例如氨基酸置换或缺失。

[0132] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子，例如抗TCRβV6(例如，抗TCRβV6-5*01)抗体分子，包括来自本文所述抗体(例如表2中所述的抗体的轻链可变区的至少一个、两个或三个互补决定区(CDR)，或与前述序列中任何序列基本相同(例如，至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列)。

[0133] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子，例如抗TCRβV6(例如抗TCRβV6-5*01)抗体分子，包括来自包含表2所示氨基酸序列或由表2所示核苷酸序列编码的氨基酸序列的轻链可变区的至少一个、两个或三个CDR(或所有CDR)。在一个实施方案中，相对于表2中所示的氨基酸序列，或由表2中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列，一个或多个CDR(或所有CDR)具有1、2、3、4、5、6个或更多个改变，例如氨基酸置换或缺失。

[0134] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子，例如抗TCRβV6(例如抗TCRβV6-5*01)抗体分子，包括来自包含表2所示氨基酸序列或由表2所示核苷酸序列编码的氨基酸序列的重链可变区和轻链可变区的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR(或所有CDR)。在一个实施方案中，相对于表2中所示的氨基酸序列，或由表2中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列，一个或多个CDR(或所有CDR)具有1、2、3、4、5、6个或更多个改变，例如氨基酸置换或缺失。

[0135] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子，例如抗TCRβV6(例如，抗TCRβV6-5*01)抗体分子，包括来自本文所述抗体(例如表2中所述的抗体)的所有六个CDR，或密切相关的CDR，例如相同CDR或具有至少一个氨基酸改变但不超过两个、三个或四个改变(例如，置换、缺失或插入，例如保守置换)的CDR。在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子，例如抗TCRβV6(例如，抗TCRβV6-5*01)抗体分子可以包括本文所述的任何CDR。

[0136] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子，例如抗TCRβV6(例如，抗TCRβV6-5*01)抗体分子包括来自本文所述抗体(例如表2中所述的抗体)的重链可变区的根据Kabat等人的至少一个、两个或三个CDR(例如，表2所列的根据Kabat定义的至少一个、两个或三个CDR)，或与前述序列中任何序列基本相同(例如，至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列；或相对于表2中所示的根据Kabat等人的一个、两个或三个CDR具有至少一个氨基酸改变，但不超过两个、三个或四个改变(例如，置换、缺失或插入，例如保守置换)的至少一个、两个或三个CDR。

[0137] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子，例如抗TCRβV6(例如，抗TCRβV6-5*01)抗体分子包括来自本文所述抗体(例如表2中所述的抗体)的轻链可变区的根据Kabat等人的至少一个、两个或三个CDR(例如，表2所列的根据Kabat定义的至少一个、两个或三个CDR)，或与前述序列中任何序列基本相同(例如，至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列；或相对于表2中所示的根据Kabat等人的一个、两个或三个CDR具有至少一个氨基酸改变，但不超过两个、三个或四个改变(例如，置换、缺失或插入，例如保守置换)的至少一个、两个或三个CDR。

[0138] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子，例如抗TCRβV6(例如，抗TCRβV6-5*01)抗体分子包括来自本文所述抗体(例如表2中所述的抗体，或由表2中的核苷酸序列编码的抗体)的重链可变区和轻链可变区的根据Kabat等人的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR(例如，表2所列的根据Kabat定义的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR)；或与前述序列中任何序列基本相同(例如，至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列；或相对于表2中所示的根据Kabat等人的一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR具有至少一个氨基酸改变，但不超过两个、三个或四个改变(例如，置换、缺失或插入，例如保守置换)的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR。

[0139] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子，例如抗TCRβV6(例如，抗TCRβV6-5*01)抗体

分子包括来自本文所述抗体(例如表2中所述的抗体,或由表2中的核苷酸序列编码的抗体)的重链可变区和轻链可变区的根据Kabat等人的所有六个CDR(例如,表2所列的根据Kabat定义的所有六个CDR);或与前述序列中任何序列基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列;或相对于表2中所示的根据Kabat等人的所有六个CDR具有至少一个氨基酸改变,但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换)的所有六个CDR。在一个实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子可以包括本文所述的任何CDR。

[0140] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子,包括至少一个、两个或三个具有与本文所述抗体的相应高变环相同的规范结构(例如与本文所述抗体的重链和/或轻链可变域的至少环1和/或环2具有相同的规范结构)的高变环。高变环规范结构的描述参见,例如Chothia等人,(1992)J.Mol.Biol.227:799-817;Tomlinson等人,(1992)J.Mol.Biol.227:776-798。这些结构可以通过查看这些参考文献中描述的表来确定。

[0141] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子包括来自本文所述抗体(例如表2中所述的抗体)的重链可变区的根据Chothia等人所述的至少一个、两个或三个CDR(例如,表2所列的根据Chothia定义的至少一个、两个或三个CDR),或与前述序列中任何序列基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列;或相对于表2中所示的根据Chothia等人的一个、两个或三个CDR具有至少一个氨基酸改变,但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换)的至少一个、两个或三个CDR。

[0142] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子包括来自本文所述抗体(例如表2中所述的抗体)的轻链可变区的根据Chothia等人所述的至少一个、两个或三个CDR(例如,表2所列的根据Chothia定义的至少一个、两个或三个CDR),或与前述序列中任何序列基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列;或相对于表2中所示的根据Chothia等人的一个、两个或三个CDR具有至少一个氨基酸改变,但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换)的至少一个、两个或三个CDR。

[0143] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子包括来自本文所述抗体(例如表2中所述的抗体,或由表2中的核苷酸序列编码的抗体)的重链可变区和轻链可变区的根据Chothia等人所述的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR(例如,表2所列的根据Chothia定义的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR);或与前述序列中任何序列基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列;或相对于表2中所示的根据Chothia等人的一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR具有至少一个氨基酸改变,但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换)的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR。

[0144] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子包括来自本文所述抗体(例如表2中所述的抗体,或由表2中的核苷酸序列编码的抗体)的重链可变区和轻链可变区的根据Chothia等人所述的所有六个CDR(例如,表8所列的根据Chothia定义的所有六个CDR);或与前述序列中任何序列基本相同(例如,至少80%、85%、

90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列;或相对于表2中所示的根据Chothia等人的所有六个CDR具有至少一个氨基酸改变,但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换)的所有六个CDR。在一个实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子可以包括本文所述的任何CDR。

[0145] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子包括根据Kabat等人、Chothia等人定义或如表2所述的CDR或高变环的组合。

[0146] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子可包含根据Kabat和Chothia定义的CDR或高变环的任何组合。

[0147] 在一些实施方案中,如表2列出的组合的CDR是包括Kabat CDR和Chothia CDR的CDR。

[0148] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子包括CDR或高变环的组合,其在表2中被标识为组合的CDR。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子可包含根据表2中所述的“组合的”CDR的CDR或高变环的任何组合。

[0149] 在一个实施方案中,例如在包含可变区、CDR(例如组合的CDR、Chothia CDR或Kabat CDR)或本文在例如表2中提及的其他序列的实施方案中,抗体分子是单特异性抗体分子、双特异性抗体分子、二价抗体分子、双互补位抗体分子,或包含抗体的抗原结合片段(例如,半抗体或半抗体的抗原结合片段)的抗体分子。在某些实施方案中,抗体分子包括多特异性分子,例如双特异性分子,例如,如本文所述的。

[0150] 在一个实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子包括:(i)SEQ ID NO:10的轻链互补决定区1(LC CDR1)、轻链互补决定区2(LC CDR2)和轻链互补决定区3(LC CDR3)的一个、两个或全部,和/或(ii)SEQ ID NO:11的重链互补决定区1(HC CDR1)、重链互补决定区2(HC CDR2)和重链互补决定区3(HC CDR3)的一个、两个或全部。

[0151] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子包括SEQ ID NO:10的LC CDR1、LC CDR2和LC CDR3,以及SEQ ID NO:11的HC CDR1、HC CDR2和HC CDR3。

[0152] 在一个实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子的轻链或重链可变构架(例如包括至少FR1、FR2、FR3和任选FR4的区域)可以选自:(a)轻链或重链可变构架,包括至少80％、85％、87％、90％、92％、93％、95％、97％、98％或100％的来自人轻链或重链可变构架的氨基酸残基,例如来自人成熟抗体、人种系序列或人共有序列的轻链或重链可变构架残基;(b)轻链或重链可变构架,包括20％至80％、40％至60％、60％至90％或70％至95％的来自人轻链或重链可变构架的氨基酸残基,例如来自人成熟抗体、人种系序列或人共有序列的轻链或重链可变构架残基;(c)非人构架(例如,啮齿动物构架);或(d)已被修饰的非人构架,例如去除抗原或细胞毒性决定簇,例如去免疫或部分人源化的非人构架。在一个实施方案中,轻链或重链可变构架区(特别是FR1、FR2和/或FR3)包括与人种系基因的VL或VH区段的构架相同或至少70、75、80、85、87、88、90、92、94、95、96、97、98、99％相同的轻链或重链可变构架序列。

[0153] 在一些实施方案中,抗体包括相比于SEQ ID No:19-21共有至少80％、85％、90％、

92％、95％、97％、98％、99％或100％同一性的重链；抗体包括相比于SEQ ID No:22-23共有至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或100％同一性的轻链。在一些实施方案中，抗体包括相比于SEQ ID No:24-48共有至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或100％同一性的单链Fv。

表2鼠、嵌合和人源化抗体分子的氨基酸和核苷酸序列。抗体分子包括鼠单克隆抗体H131、H131的若干人源化变化形式，以及使用H131的人源化变化形式的若干scFv。

H131（鼠） **结合至人 TCRVβ 6-5**		
SEQ ID NO: 1	HC CDR1（组合的）	GYSFTTYYIH
SEQ ID NO: 2	HC CDR2（组合的）	WFFPGSGNIKYNEKFKG
SEQ ID NO: 3	HC CDR3（组合的）	SYYSYDVLDY
SEQ ID NO: 4	HC CDR1（Kabat）	TYYIH
SEQ ID NO: 2	HC CDR2（Kabat）	WFFPGSGNIKYNEKFKG
SEQ ID NO: 3	HC CDR3（Kabat）	SYYSYDVLDY
SEQ ID NO: 5	HC CDR1（Chothia）	GYSFTTY
SEQ ID NO: 6	HC CDR2（Chothia）	FPGSGN
SEQ ID NO: 3	HC CDR3（Chothia）	SYYSYDVLDY
SEQ ID NO: 7	LC CDR1（组合的）	KASQNVGINVV
SEQ ID NO: 8	LC CDR2（组合的）	SSSHRYS
SEQ ID NO: 9	LC CDR3（组合的）	QQFKSYPLT

SEQ ID NO: 7	LC CDR1（Kabat）	KASQNVGINVV
SEQ ID NO: 8	LC CDR2（Kabat）	SSSHRYS
SEQ ID NO: 9	LC CDR3（Kabat）	QQFKSYPLT
SEQ ID NO: 7	LC CDR1（Chothia）	KASQNVGINVV
SEQ ID NO: 8	LC CDR2（Chothia）	SSSHRYS
SEQ ID NO: 9	LC CDR3（Chothia）	QQFKSYPLT
SEQ ID NO: 10	VL	DILMTQSQKFMSTSLGDRVSVSC KASQNVGINVVWHQQKPGQSPK ALIYSSSHRYSGVPDRFTGSGSGT DFTLTINNVQSEDLAEYFCQQFKS YPLTFGAGTKLELK
SEQ ID NO: 11	VH	QVQLQQSGPELVKPGTSVKISCK ASGYSFTTYYIHWVKQRPGQGLE WIGWFFPGSGNIKYNEKFKGKAT LTADTSSSTAYMQLSSLTSEESAV YFCAG SYYSYDVLDYWGHGTTLTVSS
BHM1709（人源化）本文中也称为 TRVβ 6-5 v1 和 BJM0816 结合至人 TCRVβ 6-5		
SEQ ID NO: 1	HC CDR1（组合的）	GYSFTTYYIH
SEQ ID NO: 2	HC CDR2（组合的）	WFFPGSGNIKYNEKFKG
SEQ ID NO: 3	HC CDR3（组合的）	SYYSYDVLDY
SEQ ID NO: 4	HC CDR1（Kabat）	TYYIH
SEQ ID NO: 2	HC CDR2（Kabat）	WFFPGSGNIKYNEKFKG
SEQ ID NO: 3	HC CDR3（Kabat）	SYYSYDVLDY
SEQ ID NO: 5	HC CDR1（Chothia）	GYSFTTY
SEQ ID NO: 6	HC CDR2（Chothia）	FPGSGN
SEQ ID NO: 3	HC CDR3（Chothia）	SYYSYDVLDY
SEQ ID NO: 7	LC CDR1（组合的）	KASQNVGINVV

SEQ ID NO: 8	LC CDR2（组合的）	SSSHRYS
SEQ ID NO: 9	LC CDR3（组合的）	QQFKSYPLT
SEQ ID NO: 7	LC CDR1（Kabat）	KASQNVGINVV
SEQ ID NO: 8	LC CDR2（Kabat）	SSSHRYS
SEQ ID NO: 9	LC CDR3（Kabat）	QQFKSYPLT
SEQ ID NO: 7	LC CDR1（Chothia）	KASQNVGINVV
SEQ ID NO: 8	LC CDR2（Chothia）	SSSHRYS
SEQ ID NO: 9	LC CDR3（Chothia）	QQFKSYPLT
SEQ ID NO: 12	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSC KASGYSFTTYYIHWVRQAPGQGL EWMGWFFPGSGNIKYNEKFKGR VTITADTSTSTAYMELSSLRSEDT AVYYCAGSYYSYDVLDYWGQG TTVTVSS
SEQ ID NO: 13	DNA VH	CAGGTGCAGCTGGTTCAGTCTG GCGCCGAAGTGAAGAAACCTGG CTCCTCCGTGAAGGTGTCCTGC AAGGCTTCCGGCTACTCCTTCAC CACCTACTACATCCACTGGGTC CGACAGGCCCCTGGACAAGGAT TGGAATGGATGGGCTGGTTCTT CCCCGGCTCCGGCAACATCAAG TACAACGAGAAGTTCAAGGGCC GCGTGACCATCACCGCCGACAC CTCTACCTCTACCGCCTACATGG AACTGTCCAGCCTGAGATCTGA GGACACCGCCGTGTACTACTGC GCCGGCTCCTACTACTCTTACGA CGTGCTGGATTACTGGGGCCAG

		GGCACCACAGTGACAGTGTCCT CT
SEQ ID NO: 14	VL	DIQMTQSPSFLSASVGDRVTITCK ASQNVGINVVWHQQKPGKAPKA LIYSSSHRYSGVPSRFSGSGSGTEF TLTISSLQPEDFATYFCQQFKSYP LTFGQGTKLEIK
SEQ ID NO: 15	DNA VL	GACATCCAGATGACCCAGTCTC CATCCTTCCTGTCCGCCTCTGTG GGCGACAGAGTGACCATCACAT GCAAGGCCTCTCAGAACGTGGG CATCAACGTCGTGTGGCACCAG CAGAAGCCTGGCAAGGCTCCTA AGGCTCTGATCTACTCCTCCAGC CACCGGTACTCTGGCGTGCCCT CTAGATTTTCCGGCTCTGGCTCT GGCACCGAGTTTACCCTGACAA TCTCCAGCCTGCAGCCTGAGGA CTTCGCCACCTACTTTTGCCAGC AGTTCAAGAGCTACCCTCTGAC CTTTGGCCAGGGCACCAAGCTG GAAATCAAG
BHM1710（人源化）本文中也称为 TRVβ 6-5 v2 结合至人 TCRVβ 6-5		
SEQ ID NO: 1	HC CDR1（组合的）	GYSFTTYYIH
SEQ ID NO: 2	HC CDR2（组合的）	WFFPGSGNIKYNEKFKG
SEQ ID NO: 3	HC CDR3（组合的）	SYYSYDVLDY
SEQ ID NO: 4	HC CDR1（Kabat）	TYYIH
SEQ ID NO: 2	HC CDR2（Kabat）	WFFPGSGNIKYNEKFKG

SEQ ID NO: 3	HC CDR3（Kabat）	SYYSYDVLDY
SEQ ID NO: 5	HC CDR1（Chothia）	GYSFTTY
SEQ ID NO: 6	HC CDR2（Chothia）	FPGSGN
SEQ ID NO: 3	HC CDR3（Chothia）	SYYSYDVLDY
SEQ ID NO: 7	LC CDR1（组合的）	KASQNVGINVV
SEQ ID NO: 8	LC CDR2（组合的）	SSSHRYS
SEQ ID NO: 9	LC CDR3（组合的）	QQFKSYPLT
SEQ ID NO: 7	LC CDR1（Kabat）	KASQNVGINVV
SEQ ID NO: 8	LC CDR2（Kabat）	SSSHRYS
SEQ ID NO: 9	LC CDR3（Kabat）	QQFKSYPLT
SEQ ID NO: 7	LC CDR1（Chothia）	KASQNVGINVV
SEQ ID NO: 8	LC CDR2（Chothia）	SSSHRYS
SEQ ID NO: 9	LC CDR3（Chothia）	QQFKSYPLT
SEQ ID NO: 12	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSC KASGYSFTTYYIHWVRQAPGQGL EWMGWFFPGSGNIKYNEKFKGR VTITADTSTSTAYMELSSLRSEDT AVYYCAGSYYSYDVLDYWGQG TTVTVSS
SEQ ID NO: 13	DNA VH	CAGGTGCAGCTGGTTCAGTCTG GCGCCGAAGTGAAGAAACCTGG CTCCTCCGTGAAGGTGTCCTGC AAGGCTTCCGGCTACTCCTTCAC CACCTACTACATCCACTGGGTC CGACAGGCCCCTGGACAAGGAT TGGAATGGATGGGCTGGTTCTT CCCCGGCTCCGGCAACATCAAG TACAACGAGAAGTTCAAGGGCC GCGTGACCATCACCGCCGACAC

		CTCTACCTCTACCGCCTACATGG AACTGTCCAGCCTGAGATCTGA GGACACCGCCGTGTACTACTGC GCCGGCTCCTACTACTCTTACGA CGTGCTGGATTACTGGGGCCAG GGCACCACAGTGACAGTGTCCT CT
SEQ ID NO: 16	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCK ASQNVGINVVWHQQKPGKVPKA LIYSSSHRYSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDVATYFCQQFKSY PLTFGQGTKLEIK
SEQ ID NO: 17	DNA VL	GACATCCAGATGACCCAGTCTC CATCCTCTCTGTCCGCCTCTGTG GGCGACAGAGTGACCATCACAT GCAAGGCCTCTCAGAACGTGGG CATCAACGTCGTGTGGCACCAG CAGAAACCTGGCAAGGTGCCCA AGGCTCTGATCTACTCCTCCAGC CACAGATACTCCGGCGTGCCCT CTAGATTCTCCGGCTCTGGCTCT GGCACCGACTTTACCCTGACAA TCTCCAGCCTGCAGCCTGAGGA CGTGGCCACCTACTTTTGCCAGC AGTTCAAGAGCTACCCTCTGAC CTTTGGCCAGGGCACCAAGCTG GAAATCAAG
H131-3（人源化） **结合至人 TCRVβ 6-5**		

SEQ ID NO: 1	HC CDR1（组合的）	GYSFTTYYIH
SEQ ID NO: 2	HC CDR2（组合的）	WFFPGSGNIKYNEKFKG
SEQ ID NO: 3	HC CDR3（组合的）	SYYSYDVLDY
SEQ ID NO: 4	HC CDR1（Kabat）	TYYIH
SEQ ID NO: 2	HC CDR2（Kabat）	WFFPGSGNIKYNEKFKG
SEQ ID NO: 3	HC CDR3（Kabat）	SYYSYDVLDY
SEQ ID NO: 5	HC CDR1（Chothia）	GYSFTTY
SEQ ID NO: 6	HC CDR2（Chothia）	FPGSGN
SEQ ID NO: 3	HC CDR3（Chothia）	SYYSYDVLDY
SEQ ID NO: 7	LC CDR1（组合的）	KASQNVGINVV
SEQ ID NO: 8	LC CDR2（组合的）	SSSHRYS
SEQ ID NO: 9	LC CDR3（组合的）	QQFKSYPLT
SEQ ID NO: 7	LC CDR1（Kabat）	KASQNVGINVV
SEQ ID NO: 8	LC CDR2（Kabat）	SSSHRYS
SEQ ID NO: 9	LC CDR3（Kabat）	QQFKSYPLT
SEQ ID NO: 7	LC CDR1（Chothia）	KASQNVGINVV
SEQ ID NO: 8	LC CDR2（Chothia）	SSSHRYS
SEQ ID NO: 9	LC CDR3（Chothia）	QQFKSYPLT
SEQ ID NO: 12	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSC KASGYSFTTYYIHWVRQAPGQGL EWMGWFFPGSGNIKYNEKFKGR VTITADTSTSTAYMELSSLRSEDT AVYYCAGSYYSYDVLDYWGQG TTVTVSS
SEQ ID NO: 18	VL	QSVLTQPPSVSEAPRQRVTISCKA SQNVGINVVWHQQLPGKAPKALI YSSSHRYSGVSDRFSGSGSGTSFS LAISGLQSEDEADYFCQQFKSYPL TFGTGTKVTVL

H131（人源化 - 成熟的）VH 结合至人 TCRVβ 6-5		
SEQ ID NO: 19	VH - 1	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSC KASGTDFKLTYIHWVRQAPGQGL EWMGRIFPGSGNVKYNEKFKGR VTITADTSTSTAYMELSSLRSEDT AVYYCAGSYYSYDVLDYWGQG TTVTVSS
SEQ ID NO: 20	VH - 2	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSC KASGTDFKLTYIHWVRQAPGQGL EWMGRIFPGSGNVKYNEKFKGR VTITADTSTSTAYMELSSLRSEDT AVYYCAVSYYSYDVLDYWGQG TTVTVSS
SEQ ID NO: 21	VH - 3	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSC KASGHDFRLTYIHWVRQAPGQG LEWMGRISAGSGNVKYNEKFKG RVTITADTSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCAVSYYSYDVLDYWGQ GTTVTVSS
H131（人源化 - 成熟的）VL 结合至人 TCRVβ 6-5		
SEQ ID NO: 22	VL - 1	DIQMTQSPSFLSASVGDRVTITCKA SQNVDNRVAWYQQKPGKAPKALI YSSSHRYKGVPSRFSGSGSGTEFTL TISSLQPEDFATYFCQQFKSYPLTFG QGTKLEIK
SEQ ID NO: 23	VL - 2	DIQMTQSPSFLSASVGDRVTITCKA SQNVADRVAWYQQKPGKAPKALI

		YSSSHRYKGVPSRFSGSGSGTEFTL TISSLQPEDFATYFCQQFKSYPLTFG QGTKLEIK
H131 scFv 结合至人 TCRVβ 6-5		
SEQ ID NO: 24	ScFv - 1	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKA SGTDFDKIYIHWVRQAPGQGLEWM GRISAGSGNVKYNEKFKGRVTITAD TSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCA GSYYSYDVLDYWGQGTTVTVSSG GGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMT QSPSFLSASVGDRVTITCKASQNVE DRVAWYQQKPGKAPKALIYSSSHR YKGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQP EDFATYFCQQFKSYPLTFGQGTKLE IK
SEQ ID NO: 25	ScFv - 2	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKA SGHDFRDFYIHWVRQAPGQGLEW MGRVYPGSGSYRYNEKFKGRVTIT ADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYY CAGSYYSYDVLDYWGQGTTVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ MTQSPSFLSASVGDRVTITCKASQN VDDRVAWYQQKPGKAPKALIYSSS HRYKGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL QPEDFATYFCQQFKSYPLTFGQGTK LEIK
SEQ ID NO: 26	ScFv - 3	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKA SGHDFKLTYIHWVRQAPGQGLEW

		MGRISAGSGNVKYNEKFKGRVTIT ADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYY CAGSYYSYDVLDYWGQGTTVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ MTQSPSFLSASVGDRVTITCKASQN VDNRVAWYQQKPGKAPKALIYSSS HRYKGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL QPEDFATYFCQQFKSYPLTFGQGTK LEIK
SEQ ID NO: 27	ScFv - 4	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKA SGTDFKLTYIHWVRQAPGQGLEW MGRIFPGSGNVKYNEKFKGRVTITA DTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC AGSYYSYDVLDYWGQGTTVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ MTQSPSFLSASVGDRVTITCKASQN VENKVAWHQQKPGKAPKALIYSSS HRYKGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL QPEDFATYFCQQFKSYPLTFGQGTK LEIK
SEQ ID NO: 28	ScFv - 5	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKA SGHDFDKFYIHWVRQAPGQGLEW MGRVSAGSGNVKYNEKFKGRVTIT ADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYY CAGSYYSYDVLDYWGQGTTVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ MTQSPSFLSASVGDRVTITCKASQN VGNRVAWYQQKPGKAPKALIYSSS HRYKGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL

		QPEDFATYFCQQFKSYPLTFGQGTK LEIK
SEQ ID NO: 29	ScFv - 6	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKA SGHDFDKFYIHWVRQAPGQGLEW MGRIFAGSGNVKYNEKFKGRVTIT ADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYY CAGSYYSYDVLDYWGQGTTVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ MTQSPSFLSASVGDRVTITCKASQN VGDRVAWYQQKPGKAPKALIYSSS HRYKGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL QPEDFATYFCQQFKSYPLTFGQGTK LEIK
SEQ ID NO: 30	ScFv - 7	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKA SGTDFKLTYIHWVRQAPGQGLEW MGRVSPGSGNVKYNEKFKGRVTIT ADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYY CAGSYYSYDVLDYWGQGTTVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ MTQSPSFLSASVGDRVTITCKASQN VGDRVAWYQQKPGKAPKALIYSSS HRYKGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL QPEDFATYFCQQFKSYPLTFGQGTK LEIK
SEQ ID NO: 31	ScFv - 8	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKA SGTDFKLTYIHWVRQAPGQGLEW MGRIFPGSGNVKYNEKFKGRVTITA DTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC AGSYYSYDVLDYWGQGTTVTVSS

		GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ MTQSPSFLSASVGDRVTITCKASQN VDNRVAWYQQKPGKAPKALIYSSS HRYKGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL QPEDFATYFCQQFKSYPLTFGQGTK LEIK
SEQ ID NO: 32	ScFv - 9	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKA SGGTFRLTYIHWVRQAPGQGLEWM GRISAGSGNVKYNEKFKGRVTITAD TSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCA GSYYSYDVLDYWGQGTTVTVSSG GGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMT QSPSFLSASVGDRVTITCKASQNVG DRVAWYQQKPGKAPKALIYSSSHR YKGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQP EDFATYFCQQFKSYPLTFGQGTKLE IK
SEQ ID NO: 33	ScFv - 10	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKA SGTDFKLTYIHWVRQAPGQGLEW MGRISAGSGNVKYNEKFKGRVTIT ADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYY CAGSYYSYDVLDYWGQGTTVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ MTQSPSFLSASVGDRVTITCKASQN VDNKVAWHQQKPGKAPKALIYSSS HRYKGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL QPEDFATYFCQQFKSYPLTFGQGTK LEIK
SEQ ID NO: 34	ScFv - 11	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKA

		SGTDFKLTYIHWVRQAPGQGLEW MGRISAGSGNVKYNEKFKGRVTIT ADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYY CAGSYYSYDVLDYWGQGTTVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ MTQSPSFLSASVGDRVTITCKASQN VDNKVAWHQQKPGKAPKALIYSSS HRYKGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL QPEDFATYFCQQFKSYPLTFGQGTK LEIK
SEQ ID NO: 35	ScFv - 12	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKA SGHDFRLTYIHWVRQAPGQGLEW MGRISAGSGNVKYNEKFKGRVTIT ADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYY CAGSYYSYDVLDYWGQGTTVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ MTQSPSFLSASVGDRVTITCKASQN VADRVAWYQQKPGKAPKALIYSSS HRYKGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL QPEDFATYFCQQFKSYPLTFGQGTK LEIK
SEQ ID NO: 36	ScFv - 13	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKA SGHDFHLWYIHWVRQAPGQGLEW MGRVSAGSGNVKYNEKFKGRVTIT ADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYY CAGSYYSYDVLDYWGQGTTVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ MTQSPSFLSASVGDRVTITCKASQN VDNKVAWHQQKPGKAPKALIYSSS

		HRYKGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL QPEDFATYFCQQFKSYPLTFGQGTK LEIK
SEQ ID NO: 37	ScFv - 14	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKA SGTDFKLTYIHWVRQAPGQGLEW MGRVSAGSGNVKYNEKFKGRVTIT ADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYY CAGSYYSYDVLDYWGQGTTVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ MTQSPSFLSASVGDRVTITCKASQN VGNRVAWYQQKPGKAPKALIYSSS HRYKGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL QPEDFATYFCQQFKSYPLTFGQGTK LEIK
SEQ ID NO: 38	ScFv - 15	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKA SGHDFHLWYIHWVRQAPGQGLEW MGRISPGSGNVKYNEKFKGRVTITA DTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC AGSYYSYDVLDYWGQGTTVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ MTQSPSFLSASVGDRVTITCKASQN VGDRVAWHQQKPGKAPKALIYSSS HRYKGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL QPEDFATYFCQQFKSYPLTFGQGTK LEIK
SEQ ID NO: 39	ScFv - 16	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKA SGHDFKLTYIHWVRQAPGQGLEW MGRISAGSGNVKYNEKFKGRVTIT ADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYY

		CAGSYYSYDVLDYWGQGTTVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ MTQSPSFLSASVGDRVTITCKASQN VDDRVAWYQQKPGKAPKALIYSSS HRYKGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL QPEDFATYFCQQFKSYPLTFGQGTK LEIK
SEQ ID NO: 40	ScFv - 17	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKA SGTDFHLWYIHWVRQAPGQGLEW MGRVFAGSGSYRYNEKFKGRVTIT ADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYY CAGSYYSYDVLDYWGQGTTVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ MTQSPSFLSASVGDRVTITCKASQN VDDRVAWYQQKPGKAPKALIYSSS HRYKGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL QPEDFATYFCQQFKSYPLTFGQGTK LEIK
SEQ ID NO: 41	ScFv - 18	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKA SGHDFDKTYIHWVRQAPGQGLEW MGRVSAGSGNVKYNEKFKGRVTIT ADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYY CAGSYYSYDVLDYWGQGTTVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ MTQSPSFLSASVGDRVTITCKASQN VEDRVAWYQQKPGKAPKALIYSSS HRYKGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL QPEDFATYFCQQFKSYPLTFGQGTK LEIK

SEQ ID NO: 42	ScFv - 19	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKA SGHDFDKTYIHWVRQAPGQGLEW MGRIYPGSGNVKYNEKFKGRVTIT ADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYY CAGSYYSYDVLDYWGQGTTVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ MTQSPSFLSASVGDRVTITCKASQN VADRVAWYQQKPGKAPKALIYSSS HRYKGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL QPEDFATYFCQQFKSYPLTFGQGTK LEIK
SEQ ID NO: 43	ScFv - 20	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKA SGTDFDKTYIHWVRQAPGQGLEW MGRISAGSGNVKYNEKFKGRVTIT ADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYY CAGSYYSYDVLDYWGQGTTVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ MTQSPSFLSASVGDRVTITCKASQN VDDRVAWYQQKPGKAPKALIYSSS HRYKGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL QPEDFATYFCQQFKSYPLTFGQGTK LEIK
SEQ ID NO: 44	ScFv - 21	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKA SGTDFDKIYIHWVRQAPGQGLEWM GRISAGSGNIKYNEKFKGRVTITAD TSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCA GSYYSYDVLDYWGQGTTVTVSSG GGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMT QSPSFLSASVGDRVTITCKASQNVD

		DRVAWYQQKPGKAPKALIYSSSHR YKGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQP EDFATYFCQQFKSYPLTFGQGTKLE IK
SEQ ID NO: 45	ScFv - 22	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKA SGTDFDKIYIHWVRQAPGQGLEWM GRISAGSGNVKYNEKFKGRVTITAD TSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCA GSYYSYDVLDYWGQGTTVTVSSG GGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMT QSPSFLSASVGDRVTITCKASQNVG DRVAWYQQKPGKAPKALIYSSSHR YKGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQP EDFATYFCQQFKSYPLTFGQGTKLE IK
SEQ ID NO: 46	ScFv - 23	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKA SGGTFKLTYIHWVRQAPGQGLEW MGRVSAGSGNVKYNEKFKGRVTIT ADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYY CAGSYYSYDVLDYWGQGTTVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ MTQSPSFLSASVGDRVTITCKASQN VDDRVAWYQQKPGKAPKALIYSSS HRYKGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL QPEDFATYFCQQFKSYPLTFGQGTK LEIK
SEQ ID NO: 47	ScFv - 24	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKA SGTDFKLTYIHWVRQAPGQGLEW MGRISPGSGNVKYNEKFKGRVTITA

		DTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC AGSYYSYDVLDYWGQGTTVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ MTQSPSFLSASVGDRVTITCKASQN VDNRVAWHQQKPGKAPKALIYSSS HRYKGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL QPEDFATYFCQQFKSYPLTFGQGTK LEIK
SEQ ID NO: 48	ScFv - 25	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKA SGTDFDKFYIHWVRQAPGQGLEW MGRVSAGSGNVKYNEKFKGRVTIT ADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYY CAGSYYSYDVLDYWGQGTTVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ MTQSPSFLSASVGDRVTITCKASQN VGDRVVWYQQKPGKAPKALIYSSS HRYKGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL QPEDFATYFCQQFKSYPLTFGQGTK LEIK

抗TCRβV12抗体

[0154] 因此,一方面,本公开内容提供了与人TCRβV12,例如,TCRβV12亚家族结合的抗TCRβV抗体分子,所述TCRβV12亚家族包括:TCRβV12-4*01,TCRβV12-3*01或TCRβV12-5*01。在一些实施方案中,TCRβV12亚家族包括TCRβV12-4*01。在一些实施方案中,TCRβV12亚家族包括TCRβV12-3*01。

[0155] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如,抗TCRβV12抗体分子,是非鼠抗体分子,例如,人或人源化抗体分子。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如,抗TCRβV12抗体分子,是人抗体分子。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子是人源化抗体分子。

[0156] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子是分离的或重组的。

[0157] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子,包含来自本文所述抗体(例如,表3中所述抗体,或由表3中的核苷酸序列编码的抗体)的至少一个抗原结合区,例如可变区或其抗原结合片段,或与前述序列中任何序列基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。

[0158] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子,包含来自本文所

述抗体(例如,表3中所述抗体,或由表3中的核苷酸序列编码的抗体)的至少一个、两个、三个或四个可变区,或与前述序列中任何序列基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。

[0159] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子,包含来自本文所述抗体(例如,表3中所述抗体,或由表3中的核苷酸序列编码的抗体)的至少一个或两个重链可变区,或与前述序列中任何序列基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。

[0160] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子,包含来自本文所述抗体(例如,表3中所述抗体,或由表3中的核苷酸序列编码的抗体)的至少一个或两个轻链可变区,或与前述序列中任何序列基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。

[0161] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子,包含IgG4(例如人IgG4)的重链恒定区。在另一实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子,包含IgG1(例如人IgG1)的重链恒定区。在一个实施方案中,重链恒定区包含表6中列出的氨基酸序列,或与其基本上相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。

[0162] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子,包括κ轻链恒定区,例如人κ轻链恒定区。在一个实施方案中,轻链恒定区包含表6中列出的氨基酸序列,或与其基本上相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。

[0163] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子,包含来自本文所述抗体(例如,表3中所述抗体,或由表3中的核苷酸序列编码的抗体)的重链可变区的至少一个、两个或三个互补决定区(CDR),或与前述序列中任何序列基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。

[0164] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如,抗TCRβV12抗体分子,包括来自包含表3中所示氨基酸序列或由表3中所示核苷酸序列编码的氨基酸序列的重链可变区的至少一个、两个或三个CDR(或所有CDR)。在一个实施方案中,相对于表3中所示的氨基酸序列,或由表3中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列,一个或多个CDR(或所有CDR)具有1、2、3、4、5、6个或更多个改变(例如,氨基酸置换或缺失)。

[0165] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如,抗TCRβV12抗体分子,包括来自本文所述抗体(例如,表3中所述的抗体或由表3中的核苷酸序列编码的抗体)的轻链可变区的至少一个、两个或三个互补决定区(CDR),或与前述序列中的任何序列基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。

[0166] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如,抗TCRβV12抗体分子,包括来自包含表3中所示氨基酸序列或由表3中所示核苷酸序列编码的氨基酸序列的轻链可变区的至少一个、两个或三个CDR(或所有CDR)。在一个实施方案中,相对于表3中所示的氨基酸序列,或由表3中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列,一个或多个CDR(或所有CDR)具有1、2、3、4、5、6个或更多个改变(例如,氨基酸置换或缺失)。

[0167] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如,抗TCRβV12抗体分子,包括来自包含

表3中所示氨基酸序列或由表3中所示核苷酸序列编码的氨基酸序列的重链和轻链可变区的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR(或所有CDR)。在一个实施方案中,相对于表3中所示的氨基酸序列,或由表3中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列,一个或多个CDR(或所有CDR)具有1、2、3、4、5、6个或更多个改变(例如,氨基酸置换或缺失)。

[0168] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如,抗TCRβV12抗体分子,包含来自本文所述抗体(例如,表3中所述抗体,或由表3中的核苷酸序列编码的抗体)的所有六个CDR,或密切相关的CDR,例如相同CDR或具有至少一个氨基酸改变但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换)的CDR,或与前述序列中任何序列基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如,抗TCRβV12抗体分子,可以包括本文所述的任何CDR。

[0169] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括来自本文所述抗体(例如表3中所述选择的抗体)的重链可变区的根据Kabat等人的至少一个、两个或三个CDR(例如,表3所列的根据Kabat定义的至少一个、两个或三个CDR),或与前述序列中任何序列基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列;或相对于表3中所示的根据Kabat等人的一个、两个或三个CDR具有至少一个氨基酸改变,但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换)的至少一个、两个或三个CDR。

[0170] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括来自本文所述抗体(例如表3中所述的抗体)的轻链可变区的根据Kabat等人的至少一个、两个或三个CDR(例如,表3所列的根据Kabat定义的至少一个、两个或三个CDR),或与前述序列中任何序列基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列;或相对于表3中所示的根据Kabat等人的一个、两个或三个CDR具有至少一个氨基酸改变,但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换)的至少一个、两个或三个CDR。

[0171] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括来自本文所述抗体(例如表3中所述的抗体,或由表3中的核苷酸序列编码的抗体)的重链可变区和轻链可变区的根据Kabat等人的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR(例如,表3所列的根据Kabat定义的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR);或与前述序列中任何序列基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列;或相对于表3中所示的根据Kabat等人的一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR具有至少一个氨基酸改变,但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换)的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR。

[0172] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括来自本文所述抗体(例如表3中所述的抗体,或由表3中的核苷酸序列编码的抗体)的重链可变区和轻链可变区的根据Kabat等人的所有六个CDR(例如,表9所列的根据Kabat定义的所有六个CDR);或与前述序列中任何序列基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列;或相对于表3中所示的根据Kabat等人的所有六个CDR具有至少一个氨基酸改变,但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换)的所有六个CDR。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子可以包括本

文所述的任何CDR。

[0173] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子，例如抗TCRβV12抗体分子包括至少一个、两个或三个具有与本文所述抗体(例如表3中所述的抗体)的相应高变环相同的规范结构(例如与本文所述抗体的重链和/或轻链可变域的至少环1和/或环2具有相同的规范结构)的高变环。高变环规范结构的描述参见，例如Chothia等人，(1992)J.Mol.Biol.227:799-817；Tomlinson等人，(1992)J.Mol.Biol.227:776-798。这些结构可以通过查看这些参考文献中描述的表来确定。

[0174] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子，例如抗TCRβV12抗体分子包括来自本文所述抗体(例如表3中所述选择的抗体)的重链可变区的根据Chothia等人的至少一个、两个或三个CDR(例如，表3所列的根据Chothia定义的至少一个、两个或三个CDR)，或与前述序列中任何序列基本相同(例如，至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列；或相对于表3中所示的根据Chothia等人的一个、两个或三个CDR具有至少一个氨基酸改变，但不超过两个、三个或四个改变(例如，置换、缺失或插入，例如保守置换)的至少一个、两个或三个CDR。

[0175] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子，例如抗TCRβV12抗体分子包括来自本文所述抗体(例如表3中所述的抗体)的轻链可变区的根据Chothia等人的至少一个、两个或三个CDR(例如，表3所列的根据Chothia定义的至少一个、两个或三个CDR)，或与前述序列中任何序列基本相同(例如，至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列；或相对于表3中所示的根据Chothia等人的一个、两个或三个CDR具有至少一个氨基酸改变，但不超过两个、三个或四个改变(例如，置换、缺失或插入，例如保守置换)的至少一个、两个或三个CDR。

[0176] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子，例如抗TCRβV12抗体分子包括来自本文所述抗体(例如表3中所述的抗体，或由表3中的核苷酸序列编码的抗体)的重链可变区和轻链可变区的根据Chothia等人的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR(例如，表3所列的根据Chothia定义的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR)；或与前述序列中任何序列基本相同(例如，至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列；或相对于表3中所示的根据Chothia等人的一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR具有至少一个氨基酸改变，但不超过两个、三个或四个改变(例如，置换、缺失或插入，例如保守置换)的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR。

[0177] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子，例如抗TCRβV12抗体分子包括来自本文所述抗体(例如表3中所述的抗体，或由表3中的核苷酸序列编码的抗体)的重链可变区和轻链可变区的根据Chothia等人的所有六个CDR(例如，表9所列的根据Chothia定义的所有六个CDR)；或与前述序列中任何序列基本相同(例如，至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列；或相对于表3中所示的根据Chothia等人的所有六个CDR具有至少一个氨基酸改变，但不超过两个、三个或四个改变(例如，置换、缺失或插入，例如保守置换)的所有六个CDR。在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子，例如抗TCRβV12抗体分子可以包括本文所述的任何CDR。

[0178] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子，例如抗TCRβV12抗体分子包括来自本文所述抗体(例如表3中所述选择的抗体)的重链可变区的根据组合的CDR的至少一个、两个或三

个CDR(例如,表3所列的根据组合的CDR定义的至少一个、两个或三个CDR),或与前述序列中任何序列基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列;或相对于表3中所示的根据组合的CDR的一个、两个或三个CDR具有至少一个氨基酸改变,但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换)的至少一个、两个或三个CDR。

[0179] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括来自本文所述抗体(例如表3中所述的抗体)的轻链可变区的根据组合的CDR的至少一个、两个或三个CDR(例如,表3所列的根据组合的CDR定义的至少一个、两个或三个CDR),或与前述序列中任何序列基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列;或相对于表3中所示的根据组合的CDR的一个、两个或三个CDR具有至少一个氨基酸改变,但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换)的至少一个、两个或三个CDR。

[0180] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括来自本文所述抗体(例如表3中所述的抗体,或由表3中的核苷酸序列编码的抗体)的重链可变区和轻链可变区的根据组合的CDR的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR(例如,表3所列的根据组合的CDR定义的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR);或与前述序列中任何序列基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列;或相对于表3中所示的根据组合的CDR的一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR具有至少一个氨基酸改变,但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换)的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR。

[0181] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括来自本文所述抗体(例如表3中所述的抗体,或由表3中的核苷酸序列编码的抗体)的重链可变区和轻链可变区的根据组合的CDR的所有六个CDR(例如,表3所列的根据组合的CDR定义的所有六个CDR);或与前述序列中任何序列基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列;或相对于表3中所示的根据组合的CDR的所有六个CDR具有至少一个氨基酸改变,但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换)的所有六个CDR。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子可以包括本文所述的任何CDR。

[0182] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括CDR或高变环的组合,其在表3中被标识为组合的CDR。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子,可以包含根据表3中所述的“组合的”CDR的CDR或高变环的任何组合。

[0183] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括根据Kabat等人和Chothia等人定义的或如表3所述的CDR或高变环的组合。

[0184] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子,可以包含根据Kabat和Chothia定义的CDR或高变环的任何组合。

[0185] 在一个实施方案中,例如在包含可变区、CDR(例如组合的CDR、Chothia CDR或Kabat CDR)或本文在例如表3中提及的其他序列的实施方案中,抗体分子是单特异性抗体分子、双特异性抗体分子、二价抗体分子、双互补位抗体分子,或包含抗体的抗原结合片段(例如,半抗体或半抗体的抗原结合片段)的抗体分子。在某些实施方案中,抗体分子包括多

特异性分子,例如双特异性分子,例如,如本文所述的。

[0186] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括:(i)SEQ ID NO:59的轻链互补决定区1(LC CDR1)、轻链互补决定区2(LC CDR2)和轻链互补决定区3(LC CDR3)中的一个、两个或全部,和/或(ii)SEQ ID NO:58的重链互补决定区1(HC CDR1)、重链互补决定区2(HC CDR2)和重链互补决定区3(HC CDR3)中的一个、两个或全部。

[0187] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子的重链或轻链可变域或两者包含氨基酸序列,其与本文公开的氨基酸基本相同,例如与本文所述抗体(例如,如表3所述的抗体,或由表3的核苷酸序列编码的抗体)的可变区至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同;或与本文所述抗体的可变区相差至少1或5个残基,但相差少于40、30、20或10个残基。

[0188] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子,包含至少一个、两个、三个或四个抗原结合区(例如,可变区),该抗原结合区具有表3所列的氨基酸序列或与其基本相同的序列(例如,序列与其至少约85%、90%、95%、99%或更加相同),或与表3中所示序列相差不超过1、2、5、10或15个氨基酸残基的序列。在另一实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子,包括由具有表3所列的核苷酸序列或与其基本相同的序列(例如,序列与其至少约85%、90%、95%、99%或更加相同),或与表3中所示序列相差不超过3、6、15、30或45个核苷酸的序列的核酸编码的VH和/或VL结构域。

[0189] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子是完整的抗体或其片段(例如,Fab、$F(ab')_2$、Fv或单链Fv片段(scFv))。在实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子是单克隆抗体或具有单一特异性的抗体。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子也可以是人源化的、嵌合的、骆驼的、鲨鱼的或体外产生的抗体分子。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子是人源化抗体分子。抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子的重链和轻链可以是全长的(例如,抗体可以包括至少一条,优选两条完整的重链,以及至少一条,优选两条完整的轻链)或可以包含抗原结合片段(例如Fab、$F(ab')_2$、Fv、单链Fv片段、单域抗体、双抗体(dAb)、二价抗体,或双特异性抗体或其片段、其单域变体或骆驼抗体)。

[0190] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子为多特异性分子,例如双特异性分子的形式,例如如本文所述。

[0191] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子,具有选自例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA1、IgA2、IgD和IgE的重链恒定区的重链恒定区(Fc)。在一些实施方案中,Fc区选自IgG1、IgG2、IgG3和IgG4的重链恒定区。在一些实施方案中,Fc区选自IgG1或IgG2(例如人IgG1或IgG2)的重链恒定区。在一些实施方案中,重链恒定区是人IgG1。

[0192] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子未结合至TCRβV12,或者以比美国专利5,861,155中所述的16G8鼠抗体或其人源化形式的亲和力和/或结合特异性小(例如,小于约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或约2倍、5倍或10倍)的亲和力和/或结合特异性结合至TCRβV12。

[0193] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子以比美国专利5,861,155中所述的16G8鼠抗体或其人源化形式的亲和力和/或结合特异性大(例如,大于约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或约2倍、5倍或10倍)的亲和力和/或结合特异性结合至TCRβ

V12。

[0194] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子以比美国专利5,861,155中所述的16G8鼠抗体或其人源化形式的亲和力和/或结合特异性大(例如，大于约10％、20％、30％、40％、50％、60％、70％、80％、90％或约2倍、5倍或10倍)的亲和力和/或结合特异性结合至除了TCRβV12之外的TCRβV区(例如，本文所述的TCRβV区，例如，TCRβV6亚家族(例如，TCRβV6-5*01)。

[0195] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子不包含16G8鼠抗体的CDR。

[0196] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子未结合至TCRβV5-5*01或TCRβV5-1*01，或者以比美国专利5,861,155中所述的TM23鼠抗体或其人源化形式的亲和力和/或结合特异性小(例如，小于约10％、20％、30％、40％、50％、60％、70％、80％、90％或约2倍、5倍或10倍)的亲和力和/或结合特异性结合至TCRβV5-5*01或TCRβV5-1*01。

[0197] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子以比美国专利5,861,155中所述的TM23鼠抗体或其人源化形式的亲和力和/或结合特异性大(例如，大于约10％、20％、30％、40％、50％、60％、70％、80％、90％或约2倍、5倍或10倍)的亲和力和/或结合特异性结合至TCRβV5-5*01或TCRβV5-1*01。

[0198] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子以比美国专利5,861,155中所述的TM23鼠抗体或其人源化形式的亲和力和/或结合特异性大(例如，大于约10％、20％、30％、40％、50％、60％、70％、80％、90％或约2倍、5倍或10倍)的亲和力和/或结合特异性结合至除了TCRβV5-5*01或TCRβV5-1*01之外的TCRβV区(例如，本文所述的TCRβV区，例如，TCRβV6亚家族(例如，TCRβV6-5*01)。

[0199] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子不包含TM23鼠抗体的CDR。

[0200] 在一些实施方案中，抗体包含与SEQ ID No:63、64或66共有至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或100％同一性的重链；抗体包含与SEQ ID No:62、65或67-69共有至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或100％同一性的轻链。

[0201] 表3.鼠和人源化抗体分子的氨基酸和核苷酸序列。抗体分子包括鼠单克隆抗体16G8以及16G8的若干人源化形式。

16G8（鼠）（也称为 TM27） 结合至人 TCRVβ 12-3/12-4		
SEQ ID NO: 49	HC CDR1（组合的）	GFTFSNFGMH
SEQ ID NO: 50	HC CDR2（组合的）	YISSGSSTIYYADTLKG
SEQ ID NO: 51	HC CDR3（组合的）	RGEGAMDY
SEQ ID NO: 52	HC CDR1（Kabat）	NFGMH
SEQ ID NO: 50	HC CDR2（Kabat）	YISSGSSTIYYADTLKG
SEQ ID NO: 51	HC CDR3（Kabat）	RGEGAMDY
SEQ ID NO: 53	HC CDR1（Chothia）	GFTFSNF
SEQ ID NO: 54	HC CDR2（Chothia）	SSGSST
SEQ ID NO: 51	HC CDR3（Chothia）	RGEGAMDY
SEQ ID NO: 55	LC CDR1（组合的）	RASSSVNYIY
SEQ ID NO: 56	LC CDR2（组合的）	YTSNLAP

SEQ ID NO: 57	LC CDR3（组合的）	QQFTSSPFT
SEQ ID NO: 55	LC CDR1（Kabat）	RASSSVNYIY
SEQ ID NO: 56	LC CDR2（Kabat）	YTSNLAP
SEQ ID NO: 57	LC CDR3（Kabat）	QQFTSSPFT
SEQ ID NO: 55	LC CDR1（Chothia）	RASSSVNYIY
SEQ ID NO: 56	LC CDR2（Chothia）	YTSNLAP
SEQ ID NO: 57	LC CDR3（Chothia）	QQFTSSPFT
SEQ ID NO: 58	VH	DVQLVESGGGLVQPGGSRKL SCAASGFTFSNFGMHWVRQA PDKGLEWVAYISSGSSTIYYA DTLKGRFTISRDNPKNTLFLQ MTSLRSEDTAMYYCARRGEG AMDYWGQGTSVTVSS
SEQ ID NO: 59	VL	ENVLTQSPAIMSASLGEKVTM SCRASSSVNYIYWYQQKSDA SPKLWIYYTSNLAPGVPTRFS GSGSGNSYSLTISSMEGEDAA TYYCQQFTSSPFTFGSGTKLEI K
TM29（人源化） 结合人 TCRVβ 12-3/12-4		
SEQ ID NO: 49	HC CDR1（组合的）	GFTFSNFGMH
SEQ ID NO: 50	HC CDR2（组合的）	YISSGSSTIYYADTLKG
SEQ ID NO: 51	HC CDR3（组合的）	RGEGAMDY
SEQ ID NO: 52	HC CDR1（Kabat）	NFGMH
SEQ ID NO: 50	HC CDR2（Kabat）	YISSGSSTIYYADTLKG
SEQ ID NO: 51	HC CDR3（Kabat）	RGEGAMDY
SEQ ID NO: 53	HC CDR1（Chothia）	GFTFSNF
SEQ ID NO: 54	HC CDR2（Chothia）	SSGSST

SEQ ID NO: 51	HC CDR3（Chothia）	RGEGAMDY
SEQ ID NO: 55	LC CDR1（组合的）	RASSSVNYIY
SEQ ID NO: 56	LC CDR2（组合的）	YTSNLAP
SEQ ID NO: 57	LC CDR3（组合的）	QQFTSSPFT
SEQ ID NO: 55	LC CDR1（Kabat）	RASSSVNYIY
SEQ ID NO: 56	LC CDR2（Kabat）	YTSNLAP
SEQ ID NO: 57	LC CDR3（Kabat）	QQFTSSPFT
SEQ ID NO: 55	LC CDR1（Chothia）	RASSSVNYIY
SEQ ID NO: 56	LC CDR2（Chothia）	YTSNLAP
SEQ ID NO: 57	LC CDR3（Chothia）	QQFTSSPFT
SEQ ID NO: 60	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASSSVNYIYWYQQTPGKA PKLLIYYTSNLAPGVPSRFSGS GSGTDYTFTISSLQPEDIATYY CQQFTSSPFTFGQGTKLQIT
SEQ ID NO: 61	VH	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLS CSSSGFTFSNFGMHWVRQAP GKGLEWVAYISSGSSTIYYAD TLKGRFTISRDNSKNTLFLQM DSLRPEDTGVYFCARRGEGA MDYWGQG TPVTVSS
16G8（人源化-1） 结合至人 TCRVβ 12-3/12-4		
SEQ ID NO: 49	HC CDR1（组合的）	GFTFSNFGMH
SEQ ID NO: 50	HC CDR2（组合的）	YISSGSSTIYYADTLKG
SEQ ID NO: 51	HC CDR3（组合的）	RGEGAMDY
SEQ ID NO: 52	HC CDR1（Kabat）	NFGMH
SEQ ID NO: 50	HC CDR2（Kabat）	YISSGSSTIYYADTLKG
SEQ ID NO: 51	HC CDR3（Kabat）	RGEGAMDY

SEQ ID NO: 53	HC CDR1（Chothia）	GFTFSNF
SEQ ID NO: 54	HC CDR2（Chothia）	SSGSST
SEQ ID NO: 51	HC CDR3（Chothia）	RGEGAMDY
SEQ ID NO: 55	LC CDR1（组合的）	RASSSVNYIY
SEQ ID NO: 56	LC CDR2（组合的）	YTSNLAP
SEQ ID NO: 57	LC CDR3（组合的）	QQFTSSPFT
SEQ ID NO: 55	LC CDR1（Kabat）	RASSSVNYIY
SEQ ID NO: 56	LC CDR2（Kabat）	YTSNLAP
SEQ ID NO: 57	LC CDR3（Kabat）	QQFTSSPFT
SEQ ID NO: 55	LC CDR1（Chothia）	RASSSVNYIY
SEQ ID NO: 56	LC CDR2（Chothia）	YTSNLAP
SEQ ID NO: 57	LC CDR3（Chothia）	QQFTSSPFT
SEQ ID NO: 62	VL	DNQLTQSPSFLSASVGDRVTI TCRASSSVNYIYWYQQKPGK APKLLIYYTSNLAPGVPSRFSG SGSGNEYTLTISSLQPEDFATY YCQQFTSSPFTFGQGTKLEIK
SEQ ID NO: 63	VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRL SCAASGFTFSNFGMHWVRQA PGKGLEWVAYISSGSSTIYYA DTLKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARRGEG AMDYWGQGTTVTVSS
16G8（人源化-2）本文中也称为 TCRVβ 12-3/4 v1 和 BHM1675 结合人 TCRVβ 12-3/12-4		
SEQ ID NO: 62	VL	DNQLTQSPSFLSASVGDRVTI TCRASSSVNYIYWYQQKPGK APKLLIYYTSNLAPGVPSRFSG SGSGNEYTLTISSLQPEDFATY

		YCQQFTSSPFTFGQGTKLEIK
SEQ ID NO: 64	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSNFGMHWVRQAP GKGLEWVSYISSGSSTIYYAD TLKGRFTISRDNSKNTLYLQM NSLRAEDTAVYYCARRGEGA MDYWGQGTTVTVSS
16G8（人源化-3）本文中也称为 TCRVβ 12-3/4 v2 结合至人 TCRVβ 12-3/12-4		
SEQ ID NO: 62	VL	DNQLTQSPSFLSASVGDRVTI TCRASSSVNYIYWYQQKPGK APKLLIYYTSNLAPGVPSRFSG SGSGNEYTLTISSLQPEDFATY YCQQFTSSPFTFGQGTKLEIK
SEQ ID NO: 63	VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRL SCAASGFTFSNFGMHWVRQA PGKGLEWVAYISSGSSTIYYA DTLKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARRGEG AMDYWGQGTTVTVSS
16G8（人源化-4）本文中也称为 TCRVβ 12-3/4 v3 结合至人 TCRVβ 12-3/12-4		
SEQ ID NO: 65	VL	DNQLTQSPSSLSASVGDRVTI TCRASSSVNYIYWYQQKPGK APKLLIYYTSNLAPGVPSRFSG SGSGNDYTLTISSLQPEDFATY YCQQFTSSPFTFGQGTKLEIK
SEQ ID NO: 63	VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRL SCAASGFTFSNFGMHWVRQA

		PGKGLEWVAYISSGSSTIYYA DTLKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARRGEG AMDYWGQGTTVTVSS
16G8（人源化）VH 结合至人 TCRVβ 12-3/12-4		
SEQ ID NO: 66	VH - 1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSNFGMHWVRQAP GKGLEWVSYISSGSSTIYYAD TLKGRFTISRDNAKNSLYLQM NSLRAEDTAVYYCARRGEGA MDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 64	VH - 2	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSNFGMHWVRQAP GKGLEWVSYISSGSSTIYYAD TLKGRFTISRDNSKNTLYLQM NSLRAEDTAVYYCARRGEGA MDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 63	VH - 3	QVQLVESGGGVVQPGRSLRL SCAASGFTFSNFGMHWVRQA PGKGLEWVAYISSGSSTIYYA DTLKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARRGEG AMDYWGQGTTVTVSS
16G8（人源化）VL 结合至人 TCRVβ 12-3/12-4		
SEQ ID NO: 62	VL - 1	DNQLTQSPSFLSASVGDRVTI TCRASSSVNYIYWYQQKPGK APKLLIYYTSNLAPGVPSRFSG

		SGSGNEYTLTISSLQPEDFATY YCQQFTSSPFTFGQGTKLEIK
SEQ ID NO: 65	VL - 2	DNQLTQSPSSLSASVGDRVTI TCRASSSVNYIYWYQQKPGK APKLLIYYTSNLAPGVPSRFSG SGSGNDYTLTISSLQPEDFATY YCQQFTSSPFTFGQGTKLEIK
SEQ ID NO: 67	VL - 3	ENVLTQSPATLSVSPGERATL SCRASSSVNYIYWYQQKPGQ APRLLIYYTSNLAPGIPARFSG SGSGNEYTLTISSLQSEDFAVY YCQQFTSSPFTFGQGTKLEIK
SEQ ID NO: 68	VL - 4	QNVLTQPPSASGTPGQRVTIS CRASSSVNYIYWYQQLPGTAP KLLIYYTSNLAPGVPDRFSGS GSGNSYSLAISGLRSEDEADY YCQQFTSSPFTFGTGTKVTVL
SEQ ID NO: 69	VL - 5	SNELTQPPSVSVSPGQTARITC RASSSVNYIYWYQQKSGQAP VLVIYYTSNLAPGIPERFSGSG SGNMYTLTISGAQVEDEADY YCQQFTSSPFTFGTGTKVTVL

[0202] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子包括来自本文所述抗体(例如，表4或表5中所述的抗体，或由表4或表5中的核苷酸序列编码的抗体)的至少一个抗原结合区例如可变区或其抗原结合片段，或与前述序列中的任何序列基本相同(例如，至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。

[0203] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子包括来自本文所述抗体(例如，表4或表5中所述的抗体，或由表4或表5中的核苷酸序列编码的抗体)的至少一个、两个、三个或四个可变区，或与前述序列中的任何序列基本相同(例如，至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。

[0204] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子包括来自本文所述抗体(例如，表4或表5中所述的抗体，或由表4或表5中的核苷酸序列编码的抗体)的至少一个或两个重链可变区，或与前述序列中的任何序列基本相同(例如，至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。

[0205] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子包括来自本文所述抗体(例如，表4或表5中所述的抗体，或由表4或表5中的核苷酸序列编码的抗体)的至少一个或两个轻链可变区，或与前述序列中的任何序列基本相同(例如，至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。

[0206] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子包括IgG4(例如，人IgG4)的重链恒定区。在又一个实施方案中，抗TCRβV抗体分子包括IgG1(例如，人IgG1)的重链恒定区。在一个实施方案中，重链恒定区包括表6中列出的氨基酸序列，或与其基本相同(例如，至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。

[0207] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子包括κ轻链恒定区，例如，人κ轻链恒定区。在一个实施方案中，轻链恒定区包括表6中列出的氨基酸序列，或与其基本相同(例如，至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。

[0208] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子包括来自本文所述抗体(例如，表4或表5中所述的抗体，或由表4或表5中的核苷酸序列编码的抗体)的重链可变区的至少一个、两个或三个互补决定区(CDR)，或与前述序列中的任何序列基本相同(例如，至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。

[0209] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子包括来自包含表4或表5中所示的氨基酸序列或由表4或表5所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列的重链可变区的至少一个、两个或三个CDR(或所有CDR)。在一个实施方案中，相对于表4或表5中所示的氨基酸序列，或由表4或表5中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列，一个或多个CDR(或所有CDR)具有1、2、3、4、5、6个或更多个改变，例如氨基酸置换或缺失。

[0210] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子包括来自本文所述抗体(例如，表4或表5中所述的抗体，或由表4或表5中的核苷酸序列编码的抗体)的轻链可变区的至少一个、两个或三个互补决定区(CDR)，或与前述序列中的任何序列基本相同(例如，至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。

[0211] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子包括来自包含表4或表5所示氨基酸序列或由表4或表5所示核苷酸序列编码的氨基酸序列的轻链可变区的至少一个、两个或三个CDR(或所有CDR)。在一个实施方案中，相对于表4或表5中所示的氨基酸序列，或由表4或表5中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列，一个或多个CDR(或所有CDR)具有1、2、3、4、5、6个或更多个改变，例如氨基酸置换或缺失。

[0212] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子包括来自包含表4或表5中所示氨基酸序列或由表4或表5所示核苷酸序列编码的氨基酸序列的重链可变区和轻链可变区的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR(或所有CDR)。在一个实施方案中，相对于表4或表5中所示的氨基酸序列，或由表4或表5中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列，一个或多个CDR(或所有CDR)具有1、2、3、4、5、6个或更多个改变，例如氨基酸置换或缺失。

[0213] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子包括来自本文所述抗体(例如表4或表5中所述的抗体，或由表4或表5中的核苷酸序列编码的抗体)的所有六个CDR，或密切相关的CDR，例如相同CDR或具有至少一个氨基酸改变但不超过两个、三个或四个改变(例如，置换、缺失或插入，例如保守置换)的CDR。在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子可以包括本文所述的任何CDR。

[0214] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括来自本文所述抗体(例如表4或表5中所述选择的抗体)的重链可变区的根据Kabat等人的至少一个、两个或三个CDR(例如,表4或表5所列的根据Kabat定义的至少一个、两个或三个CDR),或与前述序列中任何序列基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列;或相对于表4或表5中所示的根据Kabat等人的一个、两个或三个CDR具有至少一个氨基酸改变,但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换)的至少一个、两个或三个CDR。

[0215] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括来自本文所述抗体(例如表4或表5中所述的抗体)的轻链可变区的根据Kabat等人的至少一个、两个或三个CDR(例如,表4或表5所列的根据Kabat定义的至少一个、两个或三个CDR),或与前述序列中的任何序列基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列;或相对于表4或表5中所示的根据Kabat等人的一个、两个或三个CDR具有至少一个氨基酸改变,但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换)的至少一个、两个或三个CDR。

[0216] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括来自本文所述抗体(例如表4或表5中所述的抗体,或由表4或表5中的核苷酸序列编码的抗体)的重链可变区和轻链可变区的根据Kabat等人的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR(例如,表4或表5所列的根据Kabat定义的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR);或与前述序列中任何序列基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列;或相对于表4或表5中所示的根据Kabat等人的一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR具有至少一个氨基酸改变,但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换)的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR。

[0217] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括来自本文所述抗体(例如,表4或表5中所述抗体,或由表4或表5中的核苷酸序列编码的抗体;或由表4或表5中的核苷酸序列编码的抗体)的重链可变区和轻链可变区的根据Kabat等人的所有六个CDR(例如,表2所列的根据Kabat定义的所有六个CDR),或与前述序列中任何序列基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列;或相对于表4或表5中所示的根据Kabat等人的所有六个CDR具有至少一个氨基酸改变,但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换)的所有六个CDR。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如,抗TCRβV12抗体分子可以包括本文所述的任何CDR。

[0218] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括至少一个、两个或三个具有与本文所述抗体(例如在表4或表5中所述的抗体)的相应高变环相同的规范结构(例如与本文所述抗体的重链和/或轻链可变域的至少环1和/或环2具有相同的规范结构)的高变环。高变环规范结构的描述参见,例如Chothia等人,(1992)J.Mol.Biol.227:799-817;Tomlinson等人,(1992)J.Mol.Biol.227:776-798。这些结构可以通过查看这些参考文献中描述的表来确定。

[0219] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括来自本文所述抗体(例如,表4或表5中所述选择的抗体)的重链可变区的根据Chothia等人的至少一个、两个或三个CDR(例如,表4或表5列出的根据Chothia定义的至少一个、两个或三个CDR),或与前述序列中的任何序列

基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列;或相对于表4或表5所示的根据Chothia等人的一个、两个或三个CDR具有至少一个氨基酸改变但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,例如,保守置换)的至少一个、两个或三个CDR。

[0220] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括来自本文所述抗体(例如,表4或表5中所述的抗体)的轻链可变区的根据Chothia等人的至少一个、两个或三个CDR(例如,表4或表5列出的根据Chothia定义的至少一个、两个或三个CDR),或与前述序列中的任何序列基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列;或相对于表4或表5所示的根据Chothia等人的一个、两个或三个CDR具有至少一个氨基酸改变但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,例如,保守置换)的至少一个、两个或三个CDR。

[0221] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括来自本文所述抗体(例如,表4或表5中所述的抗体,或由表4或表5中的核苷酸序列编码的抗体)的重链可变区和轻链可变区的根据Chothia等人的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR(例如,表4或表5列出的根据Chothia定义的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR),或与前述序列中的任何序列基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列;或相对于表4或表5所示的根据Chothia等人的一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR具有至少一个氨基酸改变但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,例如,保守置换)的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR。

[0222] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括来自本文所述抗体(例如,表4或表5中所述的抗体,或由表4或表5中的核苷酸序列编码的抗体)的重链可变区和轻链可变区的根据Chothia等人的所有六个CDR(例如,表9列出的根据Chothia定义的所有六个CDR),或与前述序列中的任何序列基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列;或相对于表4或表5所示的根据Chothia等人的所有六个CDR具有至少一个氨基酸改变但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,例如,保守置换)的所有六个CDR。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如,抗TCRβV12抗体分子可以包括本文所述的任何CDR。

[0223] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括来自本文所述抗体(例如表4或表5中所述选择的抗体)的重链可变区的根据组合的CDR的至少一个、两个或三个CDR(例如,表4或表5所列的根据组合的CDR定义的至少一个、两个或三个CDR),或与前述序列中的任何序列基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列;或相对于表4或表5中所示的根据组合的CDR的一个、两个或三个CDR具有至少一个氨基酸改变,但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换)的至少一个、两个或三个CDR。

[0224] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括来自本文所述抗体(例如表4或表5中所述的抗体)的轻链可变区的根据组合的CDR的至少一个、两个或三个CDR(例如,表4或表5所列的根据组合的CDR定义的至少一个、两个或三个CDR),或与前述序列中的任何序列基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列;或相对于表4或表5中所示的根据组合的CDR的一个、两个或三个CDR具有至少一个氨基酸改变,但不

超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换)的至少一个、两个或三个CDR。

[0225] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括来自本文所述抗体(例如表4或表5中所述的抗体,或由表4或表5中的核苷酸序列编码的抗体)的重链可变区和轻链可变区的根据组合的CDR的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR(例如,表4或表5所列的根据组合的CDR定义的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR);或与前述序列中任何序列基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列;或相对于表4或表5中所示的根据组合的CDR的一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR具有至少一个氨基酸改变,但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换)的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR。

[0226] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括来自本文所述抗体(例如表4或表5中所述的抗体,或由表4或表5中的核苷酸序列编码的抗体)的重链可变区和轻链可变区的根据组合的CDR的所有六个CDR(例如,表4或表5所列的根据组合的CDR定义的所有六个CDR);或与前述序列中任何序列基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列;或相对于表4或表5中所示的根据组合的CDR的所有六个CDR具有至少一个氨基酸改变,但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换)的所有六个CDR。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子可以包括本文所述的任何CDR。

[0227] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括CDR或高变环的组合,其在表4或表5中被标识为组合的CDR。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包含根据表4或表5中所述的“组合的”CDR的CDR或高变环的任何组合,。

[0228] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括根据Kabat等人和Chothia等人定义的或如表4或表5所述的CDR或高变环的组合。

[0229] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子可以包含根据Kabat和Chothia定义的CDR或高变环的任何组合。

[0230] 在一个实施方案中,例如在包含可变区、CDR(例如组合的CDR、Chothia CDR或Kabat CDR)或本文在例如表4或表5中提及的其他序列的实施方案中,抗体分子是单特异性抗体分子、双特异性抗体分子、二价抗体分子、双互补位抗体分子,或包含抗体的抗原结合片段(例如,半抗体或半抗体的抗原结合片段)的抗体分子。在某些实施方案中,抗体分子包括多特异性分子,例如双特异性分子,例如,如本文所述的。

[0231] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子的重链或轻链可变域或两者包含氨基酸序列,其与本文公开的氨基酸基本相同,例如与本文所述抗体(例如表4或表5所述的抗体,或由表4或表5的核苷酸序列编码的抗体)的可变区至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同;或与本文所述抗体的可变区相差至少1或5个残基,但相差少于40、30、20或10个残基。

[0232] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子包含至少一个、两个、三个或四个抗原结合区(例如,可变区),该抗原结合区具有表4或表5所列的氨基酸序列或与其基本相同的序列(例如,序列与其至少约85%、90%、95%、99%或更加相同),或与表4或表5中所示序列相差不超过1、2、5、10或15个氨基酸残基的序列。在另一实施方案中,抗TCRβV抗体分子包括由具有表4或表5所列的核苷酸序列或与其基本相同的序列(例如,序列与其至少约85%、90%、

95％、99％或更加相同)，或与表4或表5中所示序列相差不超过3、6、15、30或45个核苷酸的序列的核酸编码的VH和/或VL结构域。

[0233] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子是全长抗体或其片段(例如，Fab、F(ab')$_2$、Fv或单链Fv片段(scFv))。在实施方案中，抗TCRβV抗体分子是单克隆抗体或具有单一特异性的抗体。在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子也可以是人源化的、嵌合的、骆驼的、鲨鱼的或体外产生的抗体分子。在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子是人源化抗体分子。抗TCRβV抗体分子的重链和轻链可以是全长的(例如，抗体可以包括至少一条，优选两条完整的重链，以及至少一条，优选两条完整的轻链)或可以包含抗原结合片段(例如Fab、F(ab')$_2$、Fv、单链Fv片段、单域抗体、双抗体(dAb)、二价抗体，或双特异性抗体或其片段、其单域变体或骆驼抗体)。

[0234] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子为多特异性分子，例如双特异性分子的形式，例如如本文所述。

[0235] 在一些实施方案中，抗TCRβV抗体分子具有选自例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA1、IgA2、IgD和IgE的重链恒定区的重链恒定区(Fc)。在一些实施方案中，Fc区选自IgG1、IgG2、IgG3和IgG4的重链恒定区。在一些实施方案中，Fc区选自IgG1或IgG2(例如人IgG1或IgG2)的重链恒定区。在一些实施方案中，重链恒定区是人IgG1。

[0236] 在一些实施方案中，抗体包括与SEQ ID No:83-87共有至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或100％同一性的重链；抗体包括与SEQ ID No:88-95共有至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或100％同一性的轻链。

[0237] 在一些实施方案中，抗体包括与SEQ ID No:108-111共有至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或100％同一性的重链；抗体包括与SEQ ID No:112-114共有至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或100％同一性的轻链。

[0238] 在一些实施方案中，抗体包括与SEQ ID No:127-131共有至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或100％同一性的重链；抗体包括与SEQ ID No:132-136共有至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或100％同一性的轻链。

[0239] 在一些实施方案中，抗体包括与SEQ ID No:149-153共有至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或100％同一性的重链；抗体包括与SEQ ID No:154-158共有至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或100％同一性的轻链。

[0240] 在一些实施方案中，抗体包括与SEQ ID No:170-174共有至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或100％同一性的重链；抗体包括与SEQ ID No:175-181共有至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或100％同一性的轻链。

[0241] 在一些实施方案中，抗体包括与SEQ ID No:194-199共有至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或100％同一性的重链；抗体包括与SEQ ID No:200-204共有至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或100％同一性的轻链。

[0242] 在一些实施方案中，抗体包括与SEQ ID No:217-221共有至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或100％同一性的重链；抗体包括与SEQ ID No:222-227共有至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或100％同一性的轻链。

[0243] 在一些实施方案中，抗体包括与SEQ ID No:240-243共有至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或100％同一性的重链；抗体包括与SEQ ID No:244-249共有至

少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或100％同一性的轻链。

[0244] 在一些实施方案中，抗体包括与SEQ ID No:262-265共有至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或100％同一性的重链；抗体包括与SEQ ID No:266-269共有至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或100％同一性的轻链。

[0245] 在一些实施方案中，抗体包括与SEQ ID No:282-284共有至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或100％同一性的重链；抗体包括与SEQ ID No:285-288共有至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或100％同一性的轻链。

表4.鼠抗体分子和人源化抗体分子的氨基酸序列。抗体分子包括鼠单克隆抗体TM23(也称为4H11)和人源化单克隆抗体。TM23也公开在美国专利5,861,155中，该美国专利通过引用并入本文中。

TM23（鼠）（也称为 4H11 和 BJM1162） 结合至人 TCRVβ 5-5,5-6		
SEQ ID NO: 70	HC CDR1（Kabat）	AYGVN
SEQ ID NO: 71	HC CDR2（Kabat）	MIWGDGNTDYNSALKS
SEQ ID NO: 72	HC CDR3（Kabat）	DRVTATLYAMDY
SEQ ID NO: 73	HC CDR1（Chothia）	GFSLTAY
SEQ ID NO: 74	HC CDR2（Chothia）	WGDGN
SEQ ID NO: 72	HC CDR3（Chothia）	DRVTATLYAMDY
SEQ ID NO: 75	HC CDR1（组合的）	GFSLTAYGVN
SEQ ID NO: 71	HC CDR2（组合的））	MIWGDGNTDYNSALKS
SEQ ID NO: 72	HC CDR3（组合的）	DRVTATLYAMDY
SEQ ID NO: 76	LC CDR1（Kabat）	SASQGISNYLN
SEQ ID NO: 77	LC CDR2（Kabat）	YTSSLHS

SEQ ID NO: 78	LC CDR3（Kabat）	QQYSKLPRT
SEQ ID NO: 76	LC CDR1（Chothia）	SASQGISNYLN
SEQ ID NO: 77	LC CDR2（Chothia）	YTSSLHS
SEQ ID NO: 78	LC CDR3（Chothia）	QQYSKLPRT
SEQ ID NO: 76	LC CDR1（组合的）	SASQGISNYLN
SEQ ID NO: 77	LC CDR2（组合的）	YTSSLHS
SEQ ID NO: 78	LC CDR3（组合的）	QQYSKLPRT
SEQ ID NO: 79	VL	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTIS CSASQGISNYLNWYQQKPDG TVKLLIYYTSSLHSGVPSRFSG SGSGTDYSLTISNLEPEDIATY YCQQYSKLPRTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 80	VH	QVQLKESGPGLVAPSQSLSIT CTVSGFSLTAYGVNWVRQPP GKGLEWLGMIWGDGNTDYN SALKSRLSISKDNSKSQVFLK MNSLQTDDTARYYCARDRVT ATLYAMDYWGQGTSVTVSS
TM23（人源化-1） 结合至人 TCRVβ 5-5,5-6		
SEQ ID NO: 70	HC CDR1（Kabat）	AYGVN
SEQ ID NO: 71	HC CDR2（Kabat）	MIWGDGNTDYNSALKS
SEQ ID NO: 72	HC CDR3（Kabat）	DRVTATLYAMDY
SEQ ID NO: 73	HC CDR1（Chothia）	GFSLTAY
SEQ ID NO: 74	HC CDR2（Chothia）	WGDGN
SEQ ID NO: 72	HC CDR3（Chothia）	DRVTATLYAMDY
SEQ ID NO: 75	HC CDR1（组合的）	GFSLTAYGVN
SEQ ID NO: 71	HC CDR2（组合的））	MIWGDGNTDYNSALKS
SEQ ID NO: 72	HC CDR3（组合的）	DRVTATLYAMDY

SEQ ID NO: 76	LC CDR1（Kabat）	SASQGISNYLN
SEQ ID NO: 77	LC CDR2（Kabat）	YTSSLHS
SEQ ID NO: 78	LC CDR3（Kabat）	QQYSKLPRT
SEQ ID NO: 76	LC CDR1（Chothia）	SASQGISNYLN
SEQ ID NO: 77	LC CDR2（Chothia）	YTSSLHS
SEQ ID NO: 78	LC CDR3（Chothia）	QQYSKLPRT
SEQ ID NO: 76	LC CDR1（组合的）	SASQGISNYLN
SEQ ID NO: 77	LC CDR2（组合的）	YTSSLHS
SEQ ID NO: 78	LC CDR3（组合的）	QQYSKLPRT
SEQ ID NO: 81	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CSASQGISNYLNWYQQTPGK APKLLIYYTSSLHSGVPSRFSG SGSGTDYTFTISSLQPEDIATY YCQQYSKLPRTFGQGTKLQIT
SEQ ID NO: 82	VH	QVQLQESGPGLVRPSQTLSLT CTVSGFSLTAYGVNWVRQPP GRGLEWLGMIWGDGNTDYN SALKSRVTMLKDTSKNQFSLR LSSVTAADTAVYYCARDRVT ATLYAMDYW GQGSLVTVSS
TM23（人源化）VH 结合至人 TCRVβ 5-5,5-6		
SEQ ID NO: 83	VH - 1	QVTLKESGPVLVKPTETLTLT CTVSGFSLTAYGVNWVRQPP GKALEWLGMIWGDGNTDYN SALKSRLTISKDNSKSQVVLT MTNMDPVDTATYYCARDRV TATLYAMDYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO: 84	VH - 2	QVTLKESGPALVKPTQTLTLT CTVSGFSLTAYGVNWVRQPP GKALEWLGMIWGDGNTDYN SALKSRLTISKDNSKSQVVLT MTNMDPVDTATYYCARDRV TATLYAMDYWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 85	VH - 3	QVQLQESGPGLVKPSGTLSLT CAVSGFSLTAYGVNWVRQPP GKGLEWLGMIWGDGNTDYN SALKSRLTISKDNSKSQVSLK LSSVTAADTAVYYCARDRVT ATLYAMDYWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 86	VH - 4	EVQLVESGGGLVQPGPSLRLS CTVSGFSLTAYGVNWVRQAP GKGLEWLGMIWGDGNTDYN SALKSRLTISKDNSKSIVYLQ MNSLKTEDTAVYYCARDRVT ATLYAMDYWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 87	VH - 5	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLT CAVSGFSLTAYGVNWVRQSP SRGLEWLGMIWGDGNTDYNS ALKSRLTINKDNSKSQVSLQL NSVTPEDTAVYYCARDRVTA TLYAMDYWGQGTLVTVSS
TM23（人源化）VL 结合至人 TCRVβ 5-5,5-6		
SEQ ID NO: 88	VL - 1	DIQMTQSPSFLSASVGDRVTIT CSASQGISNYLNWYQQKPGK AVKLLIYYTSSLHSGVPSRFSG

		SGSGTEYTLTISSLQPEDFATY YCQQYSKLPRTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 89	VL - 2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CSASQGISNYLNWYQQKPGK AVKLLIYYTSSLHSGVPSRFSG SGSGTDYTLTISSLQPEDFATY YCQQYSKLPRTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 90	VL - 3	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CSASQGISNYLNWYQQKPGK VVKLLIYYTSSLHSGVPSRFSG SGSGTDYTLTISSLQPEDVAT YYCQQYSKLPRTFGGGTKVEI K
SEQ ID NO: 91	VL - 4	AIRMTQSPFSLSASVGDRVTIT CSASQGISNYLNWYQQKPAK AVKLFIYYTSSLHSGVPSRFSG SGSGTDYTLTISSLQPEDFATY YCQQYSKLPRTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 92	VL - 5	DIQMTQSPSAMSASVGDRVTI TCSASQGISNYLNWYQQKPG KVVKRLIYYTSSLHSGVPSRF SGSGSGTEYTLTISSLQPEDFA TYYCQQYSKLPRTFGGGTKV EIK
SEQ ID NO: 93	VL - 6	EIVMTQSPPTLSLSPGERVTLS CSASQGISNYLNWYQQKPGQ AVKLLIYYTSSLHSGIPARFSG SGSGTDYTLTISSLQPEDFAVY YCQQYSKLPRTFGGGTKVEIK

SEQ ID NO: 94	VL - 7	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASIS CSASQGISNYLNWYLQKPGQ SVKLLIYYTSSLHSGVPDRFSG SGSGTDYTLKISRVEAEDVGV YYCQQYSKLPRTFGGGTKVEI K
SEQ ID NO: 95	VL - 8	DIVMTQSPAFLSVTPGEKVTIT CSASQGISNYLNWYQQKPDQ AVKLLIYYTSSLHSGVPSRFSG SGSGTDYTFTISSLEAEDAAT YYCQQYSKLPRTFGGGTKVEI K

表5.鼠抗体分子和人源化抗体分子的氨基酸序列。抗体分子包括结合人TCRβV的鼠抗体和人源化抗体。该表中公开的抗体包括MPB2D5、CAS1.1.3、IMMU222、REA1062、JOVI-3、S5111、MH3-2、4H11。MPB2D5结合人TCRβV2(TRβV 20-1)。CAS1.1.3结合人TCRβV14(TRβV 27)。IMMU 222结合人TCRβV13.1(TRβV 6-5、6-6、6-9)。REA1062结合人TCRβV5.1(TRβV 5-1)。JOVI-3结合人TCRβV3.1(TRβV 28)。S511结合人TCRβV12(TRβV 10-1、10-2、10-3)。MH3结合人TCRβV5(TRβV 5-5、5-6)。4H11结合人TCRβV5(TRβV5-5、5-6)。

MPB2D5（鼠），在此也称为 BJ1188、BJ1190 和 REA654 结合至人 TCRVβ 20-1		
SEQ ID NO: 96	HC CDR1（Kabat）	SAYMH
SEQ ID NO: 97	HC CDR2（Kabat）	RIDPATGKTKYAPKFQA
SEQ ID NO: 98	HC CDR3（Kabat）	SLNWDYGLDY
SEQ ID NO: 99	HC CDR1（Chothia）	GFNIKSA
SEQ ID NO: 100	HC CDR2（Chothia）	DPATGK

SEQ ID NO: 98	HC CDR3（Chothia）	SLNWDYGLDY
SEQ ID NO: 101	HC CDR1（组合的）	GFNIKSAYMH
SEQ ID NO: 97	HC CDR2(组合的))	RIDPATGKTKYAPKFQA
SEQ ID NO: 98	HC CDR3（组合的）	SLNWDYGLDY
SEQ ID NO: 102	LC CDR1（Kabat）	RASKSVSILGTHLIH
SEQ ID NO: 103	LC CDR2（Kabat）	AASNLES
SEQ ID NO: 104	LC CDR3（Kabat）	QQSIEDPWT
SEQ ID NO: 105	LC CDR1（Chothia）	SKSVSILGTHL
SEQ ID NO: 103	LC CDR2（Chothia）	AASNLES
SEQ ID NO: 104	LC CDR3（Chothia）	QQSIEDPWT
SEQ ID NO: 102	LC CDR1（组合的）	RASKSVSILGTHLIH
SEQ ID NO: 103	LC CDR2（组合的）	AASNLES
SEQ ID NO: 104	LC CDR3（组合的）	QQSIEDPWT
SEQ ID NO: 106	VL	DIVLTQSPASLAVSLGQRATIS CRASKSVSILGTHLIHWYQQK PGQPPKLLIYAASNLESGVPA RFSGSGSETVFTLNIHPVEEED AATYFCQQSIEDPWTFGGGTK LGIK
SEQ ID NO: 107	VH	EVQLQQSVADLVRPGASLKL SCTASGFNIKSAYMHWVIQRP DQGPECLGRIDPATGKTKYAP KFQAKATITADTSSNTAYLQL SSLTSEDTAIYYCTRSLNWDY GLDYWGQGTSVTVSS
MPB2D5（人源化）VH 结合至人 TCRVβ 20-1		
SEQ ID NO: 108	VH - 1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGFNIKSAYMHWVRQA

		PGQGLEWMGRIDPATGKTKY APKFQARVTMTADTSTNTAY MELSSLRSEDTAVYYCARSLN WDYGLDYWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 109	VH - 2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGFNIKSAYMHWVRQA PGQEPGCMGRIDPATGKTKY APKFQARVTMTADTSINTAYT ELSSLRSEDTATYYCARSLNW DYGLDYWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 110	VH - 3	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGFNIKSAYMHWVRQA PGQGLEWMGRIDPATGKTKY APKFQARVTITADTSTNTAYM ELSSLRSEDTAVYYCARSLN WDYGLDYWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 111	VH - 4	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGFNIKSAYMHWVRQA PGQRLEWMGRIDPATGKTKY APKFQARVTITADTSANTAY MELSSLRSEDTAVYYCARSLN WDYGLDYWGQGTLVTVSS
MPB2D5（人源化）VL 结合至人 TCRVβ 20-1		
SEQ ID NO: 112	VL - 1	EIVLTQSPATLSLSPGERATLS CRASKSVSILGTHLIHWYQQK PGQAPRLLIYAASNLESGIPAR FSGSGSETDFTLTISSLEPEDFA VYFCQQSIEDPFGGGTKVEIK

SEQ ID NO: 113	VL - 2	EIVLTQSPATLSLSPGERATLS CRASKSVSILGTHLIHWYQQK PGLAPRLLIYAASNLESGIPDR FSGSGSETDFTLTISRLEPEDF AVYFCQQSIEDPFGGGTKVEI K
SEQ ID NO: 114	VL - 3	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLS CRASKSVSILGTHLIHWYQQK PGQAPRLLIYAASNLESGIPDR FSGSGSETDFTLTISRLEPEDF AVYFCQQSIEDPFGGGTKVEI K
CAS1.1.3（鼠）本文中也称为 BJ1460 结合至人 TCRVβ 27		
SEQ ID NO: 115	HC CDR1（Kabat）	DTYMY
SEQ ID NO: 116	HC CDR2（Kabat）	RIDPANGNTKYDPKFQD
SEQ ID NO: 117	HC CDR3（Kabat）	GSYYYAMDY
SEQ ID NO: 118	HC CDR1（Chothia）	GFKTEDT
SEQ ID NO: 119	HC CDR2（Chothia）	DPANGN
SEQ ID NO: 117	HC CDR3（Chothia）	GSYYYAMDY
SEQ ID NO: 120	HC CDR1（组合的）	GFKTEDTYMY
SEQ ID NO: 116	HC CDR2(组合的))	RIDPANGNTKYDPKFQD
SEQ ID NO: 117	HC CDR3（组合的）	GSYYYAMDY
SEQ ID NO: 121	LC CDR1（Kabat）	RASESVDSYGNSFMH
SEQ ID NO: 122	LC CDR2（Kabat）	RASNLES
SEQ ID NO: 123	LC CDR3（Kabat）	QQSNEDPYT
SEQ ID NO: 124	LC CDR1（Chothia）	SESVDSYGNSF
SEQ ID NO: 122	LC CDR2（Chothia）	RASNLES
SEQ ID NO: 123	LC CDR3（Chothia）	QQSNEDPYT

SEQ ID NO: 121	LC CDR1（组合的）	RASESVDSYGNSFMH
SEQ ID NO: 122	LC CDR2（组合的）	RASNLES
SEQ ID NO: 123	LC CDR3（组合的）	QQSNEDPYT
SEQ ID NO: 125	VL	DIVLTQSPASLAVSLGQRATIS CRASESVDSYGNSFMHWYQQ KPGQPPKLLIYRASNLESGIPA RFSGSGSRTDFTLTINPVEADD VATYYCQQSNEDPYTFGGGT KLEIK
SEQ ID NO: 126	VH	EVQLQQSGAELVKPGASVKL SCTASGFKTEDTYMYWVKQR PEQGLEWIGRIDPANGNTKYD PKFQDKATITADSSSNTAYLQ LSSLPSEDTAVYYCARGSYYY AMDYWGQGTSVTVSS
CAS1.1.3（人源化）VH 结合至人 TCRVβ 27		
SEQ ID NO: 127	VH - 1	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGFKTEDTYMYWVRQA PGQGLEWIGRIDPANGNTKY DPKFQDRATITADSSTNTAYM ELSSLRSEDTAVYYCARGSYY YAMDYWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 128	VH - 2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGFKTEDTYMYWVRQA PGQRLEWIGRIDPANGNTKYD PKFQDRATITADSSANTAYME LSSLRSEDTAVYYCARGSYY YAMDYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO: 129	VH - 3	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGFKTEDTYMYWVRQAS GKGLEWIGRIDPANGNTKYD PKFQDRATISADSSKNTAYLQ MNSLKTEDTAVYYCARGSYY YAMDYWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 130	VH - 4	EVQLVQSGAEVKKPGESLRIS CKASGFKTEDTYMYWVRQM PGKGLEWIGRIDPANGNTKY DPKFQDQATISADSSINTAYL QWSSLKASDTAMYYCARGSY YYAMDYWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 131	VH - 5	QVQLVQSGSELKKPGASVKV SCKASGFKTEDTYMYWVRQA PGQGLEWIGRIDPANGNTKY DPKFQDRAVISADSSVNTAYL QISSLKAEDTAVYYCARGSYY YAMDYWGQGTLVTVSS
CAS1.1.3（人源化）VL 结合至人 TCRVβ 27		
SEQ ID NO: 132	VL - 1	DIVLTQSPDSLAVSLGERATIN CRASESVDSYGNSFMHWYQQ KPGQPPKLLIYRASNLESGVP DRFSGSGSRTDFTLTISSLQAE DVAVYYCQQSNEDPYTFGQG TKLEIK
SEQ ID NO: 133	VL - 2	EIVLTQSPATLSLSPGERATLS CRASESVDSYGNSFMHWYQQ KPGQAPKLLIYRASNLESGIPA

		RFSGSGSRTDFTLTISRLEPED FAVYYCQQSNEDPYTFGQGT KLEIK
SEQ ID NO: 134	VL - 3	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASESVDSYGNSFMHWYQQ KPGQAPKLLIYRASNLESGVP SRFSGSGSRTDFTLTISSLQPE DVATYYCQQSNEDPYTFGQG TKLEIK
SEQ ID NO: 135	VL - 4	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASESVDSYGNSFMHWYQQ KPGKAPKLLIYRASNLESGVP SRFSGSGSRTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQSNEDPYTFGQG TKLEIK
SEQ ID NO: 136	VL - 5	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTIT CRASESVDSYGNSFMHWYQQ KPDQSPKLLIYRASNLESGVPS RFSGSGSRTDFTLTINSLEAED AATYYCQQSNEDPYTFGQGT KLEIK
IMMU222（鼠）也称为 BJ1461 结合至人 TCRVβ 6-5,6-6,6-9		
SEQ ID NO: 137	HC CDR1（Kabat）	SYAMS
SEQ ID NO: 138	HC CDR2（Kabat）	HISNGGDYIYYADTVKG
SEQ ID NO: 139	HC CDR3（Kabat）	PSYYSDPWFFDV
SEQ ID NO: 140	HC CDR1（Chothia）	GFTFRSY
SEQ ID NO: 141	HC CDR2（Chothia）	SNGGDY
SEQ ID NO: 139	HC CDR3（Chothia）	PSYYSDPWFFDV

SEQ ID NO: 142	HC CDR1（组合的）	GFTFRSYAMS
SEQ ID NO: 138	HC CDR2(组合的))	HISNGGDYIYYADTVKG
SEQ ID NO: 139	HC CDR3（组合的）	PSYYSDPWFFDV
SEQ ID NO: 143	LC CDR1（Kabat）	SAGSSVSFMH
SEQ ID NO: 144	LC CDR2（Kabat）	DTSKLAS
SEQ ID NO: 145	LC CDR3（Kabat）	LQGSGFPLT
SEQ ID NO: 146	LC CDR1（Chothia）	GSSVSF
SEQ ID NO: 144	LC CDR2（Chothia）	DTSKLAS
SEQ ID NO: 145	LC CDR3（Chothia）	LQGSGFPLT
SEQ ID NO: 143	LC CDR1（组合的）	SAGSSVSFMH
SEQ ID NO: 144	LC CDR2（组合的）	DTSKLAS
SEQ ID NO: 145	LC CDR3（组合的）	LQGSGFPLT
SEQ ID NO: 147	VL	ENVLTQSPAIMSASPGEKVTM TCSAGSSVSFMHWYQQKSST SPKLWIYDTSKLASGVPGRFS GSGSGNSFSLTISSMEAEDVAI YYCLQGSGFPLTFGSGTKLEI K
SEQ ID NO: 148	VH	DVKLVESGEGLVKPGGSLKLS CAASGFTFRSYAMSWVRQTP EKRLEWVAHISNGGDYIYYA DTVKGRFTISRDNARNTLYLQ MSSLKSEDTAMYYCTRPSYY SDPWFFDVWGTGTTVTVSS
IMMU222（人源化）VH 结合至人 TCRVβ 6-5,6-6,6-9		
SEQ ID NO: 149	VH - 1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFRSYAMSWVRQAP GKGLEWVAHISNGGDYIYYA

		DTVKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYYCTRPSYY SDPWFFDVWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 150	VH - 2	QVQLVESGGGVVQPGRSLRL SCAASGFTFRSYAMSWVRQA PGKGLEWVAHISNGGDYIYY ADTVKGRFTISRDNSKNTLYL QMSSLRAEDTAVYYCTRPSY YSDPWFFDVWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 151	VH - 3	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFRSYAMSWVRQAP GKGLEWVAHISNGGDYIYYA DTVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCTRPSYY SDPWFFDVWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 152	VH - 4	QVQLVQSGSELKKPGASVKV SCKASGFTFRSYAMSWVRQA PGQGLEWVAHISNGGDYIYY ADTVKGRFVISRDNSVNTLYL QISSLKAEDTAVYYCTRPSYY SDPWFFDVWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 153	VH - 5	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGFTFRSYAMSWVRQA PGQRLEWVAHISNGGDYIYY ADTVKGRFTITRDNSANTLY MELSSLRSEDTAVYYCTRPSY YSDPWFFDVWGQGTTVTVSS
IMMU222（人源化）VL 结合至人 TCRVβ 6-5,6-6,6-9		

SEQ ID NO: 154	VL - 1	ENVLTQSPATLSLSPGERATLS CSAGSSVSFMHWYQQKPGQA PKLLIYDTSKLASGIPARFSGS GSGNDFTLTISSLEPEDFAVYY CLQGSGFPLTFGQGTKLEIK
SEQ ID NO: 155	VL - 2	ENVLTQSPDFQSVTPKEKVTI TCSAGSSVSFMHWYQQKPDQ SPKLLIYDTSKLASGVPSRFSG SGSGNDFTLTINSLEAEDAAT YYCLQGSGFPLTFGQGTKLEI K
SEQ ID NO: 156	VL - 3	DNQLTQSPSSLSASVGDRVTI TCSAGSSVSFMHWYQQKPGK VPKLLIYDTSKLASGVPSRFSG SGSGNDFTLTISSLQPEDVATY YCLQGSGFPLTFGQGTKLEIK
SEQ ID NO: 157	VL - 4	ANQLTQSPSSLSASVGDRVTI TCSAGSSVSFMHWYQQKPGK APKLLIYDTSKLASGVPSRFSG SGSGNDFTLTISSLQPEDFATY YCLQGSGFPLTFGQGTKLEIK
SEQ ID NO: 158	VL - 5	DNVLTQSPDSLAVSLGERATI NCSAGSSVSFMHWYQQKPGQ PPKLLIYDTSKLASGVPDRFSG SGSGNDFTLTISSLQAEDVAV YYCLQGSGFPLTFGQGTKLEI K
REA1062（鼠）也称为 BJ1189 结合至人 TCRVβ 5-1		

SEQ ID NO: 159	HC CDR1（Kabat）	DYNIH
SEQ ID NO: 160	HC CDR2（Kabat）	YINPYNGRTGYNQKFKA
SEQ ID NO: 161	HC CDR3（Kabat）	WDGSSYFDY
SEQ ID NO: 162	HC CDR1（Chothia）	GYTFTDYNIH
SEQ ID NO: 163	HC CDR2（Chothia）	NPYNGR
SEQ ID NO: 161	HC CDR3（Chothia）	WDGSSYFDY
SEQ ID NO: 162	HC CDR1（组合的）	GYTFTDYNIH
SEQ ID NO: 160	HC CDR2(组合的))	YINPYNGRTGYNQKFKA
SEQ ID NO: 161	HC CDR3（组合的）	WDGSSYFDY
SEQ ID NO: 164	LC CDR1（Kabat）	SASSSVSYMH
SEQ ID NO: 165	LC CDR2（Kabat）	EISKLAS
SEQ ID NO: 166	LC CDR3（Kabat）	QQWNYPLLT
SEQ ID NO: 167	LC CDR1（Chothia）	SSSVSY
SEQ ID NO: 165	LC CDR2（Chothia）	EISKLAS
SEQ ID NO: 166	LC CDR3（Chothia）	QQWNYPLLT
SEQ ID NO: 164	LC CDR1（组合的）	SASSSVSYMH
SEQ ID NO: 165	LC CDR2（组合的）	EISKLAS
SEQ ID NO: 166	LC CDR3（组合的）	QQWNYPLLT
SEQ ID NO: 168	VL	EIVLTQSPAITAASLGQKVTIT CSASSSVSYMHWYQQKSGTS PKPWIYEISKLASGVPARFSGS GSGTSYSLTISSMEAEDAAIY YCQQWNYPLLTFGAGTKLEL K
SEQ ID NO: 169	VH	EVQLQQSGPVLVKPGASVRM SCKASGYTFTDYNIHWVKQS HGRSLEWVGYINPYNGRTGY NQKFKAKATLTVDKSSSTAY MDLRSLTSEDSAVYYCARWD

		GSSYFDYWGQGTTLTVSS
REA1062（人源化）VH 结合至人 TCRVβ 5-1		
SEQ ID NO: 170	VH - 1	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFTDYNIHWVRQA PGQGLEWVGYINPYNGRTGY NQKFKARATLTVDKSTSTAY MELSSLRSEDTAVYYCARWD GSSYFDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 171	VH - 2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTDYNIHWVRQA PGQGLEWVGYINPYNGRTGY NQKFKARATLTVDKSTSTAY MELRSLRSDDMAVYYCARW DGSSYFDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 172	VH - 3	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTDYNIHWVRQA TGQGLEWVGYINPYNGRTGY NQKFKARATLTVNKSISTAY MELSSLRSEDTAVYYCARWD GSSYFDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 173	VH - 4	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLS CTASGYTFTDYNIHWVRQAP GKGLEWVGYINPYNGRTGYN QKFKARATLSVDKSKSIAYLQ MNSLKTEDTAVYYCARWDG SSYFDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 174	VH - 5	QVQLVQSGSELKKPGASVKV SCKASGYTFTDYNIHWVRQA

		PGQGLEWVGYINPYNGRTGY NQKFKARAVLSVDKSVSTAY LQISSLKAEDTAVYYCARWD GSSYFDYWGQGTTVTVSS
REA1062（人源化）VL 结合至人 TCRVβ 5-1		
SEQ ID NO: 175	VL - 1	EIVLTQSPATLSLSPGERATLS CSASSSVSYMHWYQQKPGQA PKLLIYEISKLASGIPARFSGSG SGTDYTLTISSLEPEDFAVYYC QQWNYPLLTFGQGTKLEIK
SEQ ID NO: 176	VL - 2	EIVLTQSPATLSLSPGERATLS CSASSSVSYMHWYQQKPGQA PKLLIYEISKLASGIPARFSGSG SGTDYTLTISRLEPEDFAVYY CQQWNYPLLTFGQGTKLEIK
SEQ ID NO: 177	VL - 3	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTIT CSASSSVSYMHWYQQKPDQS PKLLIYEISKLASGVPSRFSGS GSGTDYTLTINSLEAEDAATY YCQQWNYPLLTFGQGTKLEI K
SEQ ID NO: 178	VL - 4	DIQLTQSPSFLSASVGDRVTIT CSASSSVSYMHWYQQKPGKA PKLLIYEISKLASGVPSRFSGS GSGTEYTLTISSLQPEDFATYY CQQWNYPLLTFGQGTKLEIK
SEQ ID NO: 179	VL - 5	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTIT CSASSSVSYMHWYQQKPGKA

		PKLLIYEISKLASGVPSRFSGS GSGTDYTLTISSLQPEDFATY YCQQWNYPLLTFGQGTKLEI K
SEQ ID NO: 180	VL - 6	AIRLTQSPFSLSASVGDRVTIT CSASSSVSYMHWYQQKPAKA PKLFIYEISKLASGVPSRFSGS GSGTDYTLTISSLQPEDFATY YCQQWNYPLLTFGQGTKLEI K
SEQ ID NO: 181	VL - 7	DIVLTQSPDSLAVSLGERATIN CSASSSVSYMHWYQQKPGQP PKLLIYEISKLASGVPDRFSGS GSGTDYTLTISSLQAEDVAVY YCQQWNYPLLTFGQGTKLEI K
JOVI-3（鼠）也称为 BJ1187 结合至人 TCRVβ 28		
SEQ ID NO: 182	HC CDR1（Kabat）	GSWMN
SEQ ID NO: 183	HC CDR2（Kabat）	RIYPGDGDTDYSGKFKG
SEQ ID NO: 184	HC CDR3（Kabat）	SGYFNYVPVFDY
SEQ ID NO: 185	HC CDR1（Chothia）	GYTFSGS
SEQ ID NO: 186	HC CDR2（Chothia）	YPGDGD
SEQ ID NO: 184	HC CDR3（Chothia）	SGYFNYVPVFDY
SEQ ID NO: 187	HC CDR1（组合的）	GYTFSGSWMN
SEQ ID NO: 183	HC CDR2(组合的))	RIYPGDGDTDYSGKFKG
SEQ ID NO: 184	HC CDR3（组合的）	SGYFNYVPVFDY
SEQ ID NO: 188	LC CDR1（Kabat）	SANSTVGYIH
SEQ ID NO: 189	LC CDR2（Kabat）	TTSNLAS

SEQ ID NO: 190	LC CDR3（Kabat）	HQWSFYPT
SEQ ID NO: 191	LC CDR1（Chothia）	NSTVGY
SEQ ID NO: 189	LC CDR2（Chothia）	TTSNLAS
SEQ ID NO: 190	LC CDR3（Chothia）	HQWSFYPT
SEQ ID NO: 188	LC CDR1（组合的）	SANSTVGYIH
SEQ ID NO: 189	LC CDR2（组合的）	TTSNLAS
SEQ ID NO: 190	LC CDR3（组合的）	HQWSFYPT
SEQ ID NO: 192	VL	QIVLTQSPAIMSASLGEEIALT CSANSTVGYIHWYQQKSGTS PKLLIYTTSNLASGVPSRFSGS GSGTFYSLTISSVEAEDAADY FCHQWSFYPTFGGGTKLEIK
SEQ ID NO: 193	VH	QIQLQQSGPEVVKPGASVQIS CKASGYTFSGSWMNWVKQR PGKGLEWIGRIYPGDGDTDYS GKFKGRATLTADKSSSTAYM RLSSLTSEDSAVYFCARSGYF NYVPVFDYWGQGTTLSVSS
JOVI-3（人源化）VH 结合至人 TCRVβ 28		
SEQ ID NO: 194	VH - 1	QIQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFSGSWMNWVRQ APGQGLEWIGRIYPGDGDTD YSGKFKGRATLTADKSTSTA YMELSSLRSEDTAVYYCARS GYFNYVPVFDYWGQGTTVTV SS
SEQ ID NO: 195	VH - 2	QIQLVQSGAEVKKPGSSVKVS CKASGYTFSGSWMNWVRQA

		PGQGLEWIGRIYPGDGDTDYS GKFKGRATLTADKSTSTAYM ELSSLRSEDTAVYYCARSGYF NYVPVFDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 196	VH - 3	EIQLVQSGAEVKKPGESLKISC KASGYTFSGSWMNWVRQMP GKGLEWIGRIYPGDGDTDYS GKFKGQATLSADKSISTAYLQ WSSLKASDTAMYYCARSGYF NYVPVFDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 197	VH - 4	QIQLVQSGSELKKPGASVKVS CKASGYTFSGSWMNWVRQA PGQGLEWIGRIYPGDGDTDYS GKFKGRAVLSADKSVSTAYL QISSLKAEDTAVYYCARSGYF NYVPVFDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 198	VH - 5	QIQLVQSGSELKKPGASVKVS CKASGYTFSGSWMNWVRQA PGQGLEWIGRIYPGDGDTDYS GKFKGRAVLSADKSVSMAYL QISSLKAEDTAVYYCARSGYF NYVPVFDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 199	VH - 6	EIQLVESGGGLVQPGRSLRLS CTASGYTFSGSWMNWVRQAP GKGLEWIGRIYPGDGDTDYS GKFKGRATLSADKSKSIAYLQ MNSLKTEDTAVYYCARSGYF NYVPVFDYWGQGTTVTVSS
JOVI-3（人源化）VL		

结合至人 TCRVβ 28		
SEQ ID NO: 200	VL - 1	EIVLTQSPATLSLSPGERATLS CSANSTVGYIHWYQQKPGQA PKLLIYTTSNLASGIPARFSGS GSGTDYTLTISSLEPEDFAVYF CHQWSFYPTFGQGTKLEIK
SEQ ID NO: 201	VL - 2	DIQLTQSPSFLSASVGDRVTIT CSANSTVGYIHWYQQKPGKA PKLLIYTTSNLASGVPSRFSGS GSGTEYTLTISSLQPEDFATYF CHQWSFYPTFGQGTKLEIK
SEQ ID NO: 202	VL - 3	EIVLTQSPATLSLSPGERATLS CSANSTVGYIHWYQQKPGQA PKLLIYTTSNLASGIPARFSGS GPGTDYTLTISSLEPEDFAVYF CHQWSFYPTFGQGTKLEIK
SEQ ID NO: 203	VL - 4	DIVLTQSPDSLAVSLGERATIN CSANSTVGYIHWYQQKPGQP PKLLIYTTSNLASGVPDRFSGS GSGTDYTLTISSLQAEDVAVY FCHQWSFYPTFGQGTKLEIK
SEQ ID NO: 204	VL - 5	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTIT CSANSTVGYIHWYQQKPDQS PKLLIYTTSNLASGVPSRFSGS GSGTDYTLTINSLEAEDAATY FCHQWSFYPTFGQGTKLEIK
S511（鼠）本文中也称为 TCRvb10 结合至人 TCRVβ 10-1,10-2,10-3		
SEQ ID NO: 205	HC CDR1（Kabat）	SYGMS

SEQ ID NO: 206	HC CDR2（Kabat）	LISSGGSYTYYTDSVKG
SEQ ID NO: 207	HC CDR3（Kabat）	HGGNFFDY
SEQ ID NO: 208	HC CDR1（Chothia）	GFTFRSY
SEQ ID NO: 209	HC CDR2（Chothia）	SSGGSY
SEQ ID NO: 207	HC CDR3（Chothia）	HGGNFFDY
SEQ ID NO: 210	HC CDR1（组合的）	GFTFRSYGMS
SEQ ID NO: 206	HC CDR2(组合的))	LISSGGSYTYYTDSVKG
SEQ ID NO: 207	HC CDR3（组合的）	HGGNFFDY
SEQ ID NO: 211	LC CDR1（Kabat）	SVSSSVSYMH
SEQ ID NO: 212	LC CDR2（Kabat）	DTSKLAS
SEQ ID NO: 213	LC CDR3（Kabat）	QQWSSNPQYT
SEQ ID NO: 214	LC CDR1（Chothia）	SSSVSY
SEQ ID NO: 212	LC CDR2（Chothia）	DTSKLAS
SEQ ID NO: 213	LC CDR3（Chothia）	QQWSSNPQYT
SEQ ID NO: 211	LC CDR1（组合的）	SVSSSVSYMH
SEQ ID NO: 212	LC CDR2（组合的）	DTSKLAS
SEQ ID NO: 213	LC CDR3（组合的）	QQWSSNPQYT
SEQ ID NO: 215	VL	QIVLTQSPSIMSASPGEKVTM TCSVSSSVSYMHWYQQKSGT SPKRWIYDTSKLASGVPARFS GSGSGTSYSLTISSMEAEDAA TYYCQQWSSNPQYTFGGGTK LEIK
SEQ ID NO: 216	VH	EVQLVESGGDLVKPGGSLKLS CAVSGFTFRSYGMSWVRQTP DKRLEWVALISSGGSYTYYT DSVKGRFTISRDNAKNTLYLQ MSSLKSEDTAIYYCSRHGGNF FDYWGQGTTLTVSS

S511（人源化）VH 结合至人 TCRVβ 10-1,10-2,10-3		
SEQ ID NO: 217	VH - 1	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLS CAVSGFTFRSYGMSWVRQAP GKGLEWVALISSGGSYTYYT DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLKTEDTAVYYCSRHGGN FFDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 218	VH - 2	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAVSGFTFRSYGMSWVRQAP GKGLEWVALISSGGSYTYYT DSVKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYYCSRHGGN FFDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 219	VH - 3	QVQLQESGPGLVKPSGTLSLT CAVSGFTFRSYGMSWVRQPP GKGLEWVALISSGGSYTYYT DSVKGRFTISRDNSKNQLSLK LSSVTAADTAVYYCSRHGGN FFDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 220	VH - 4	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKVSGFTFRSYGMSWVRQA PGQRLEWVALISSGGSYTYYT DSVKGRFTITRDNSANTLYME LSSLRSEDTAVYYCSRHGGNF FDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 221	VH - 5	EVQLVQSGAEVKKPGESLKIS CKVSGFTFRSYGMSWVRQMP GKGLEWVALISSGGSYTYYT

		DSVKGQFTISRDNPINTLYLQ WSSLKASDTAMYYCSRHGGN FFDYWGQGTTVTVSS
SH11（人源化）VL 结合至人 TCRVβ 10-1,10-2,10-3		
SEQ ID NO: 222	VL - 1	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTIT CSVSSSVSYMHWYQQKPGKA PKLLIYDTSKLASGVPSRFSGS GSGTDYTLTISSLQPEDFATY YCQQWSSNPQYTFGQGTKLEI K
SEQ ID NO: 223	VL - 2	DIQLTQSPSFLSASVGDRVTIT CSVSSSVSYMHWYQQKPGKA PKLLIYDTSKLASGVPSRFSGS GSGTEYTLTISSLQPEDFATYY CQQWSSNPQYTFGQGTKLEIK
SEQ ID NO: 224	VL - 3	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTIT CSVSSSVSYMHWYQQKPDQS PKLLIYDTSKLASGVPSRFSGS GSGTDYTLTINSLEAEDAATY YCQQWSSNPQYTFGQGTKLEI K
SEQ ID NO: 225	VL - 4	EIVLTQSPATLSLSPGERATLS CSVSSSVSYMHWYQQKPGQA PKLLIYDTSKLASGIPARFSGS GSGTDYTLTISSLEPEDFAVY YCQQWSSNPQYTFGQGTKLEI K
SEQ ID NO: 226	VL - 5	DIVLTQSPLSLPVTPGEPASISC

		SVSSSVSYMHWYLQKPGQSP KLLIYDTSKLASGVPDRFSGS GSGTDYTLKISRVEAEDVGVY YCQQWSSNPQYTFGQGTKLEI K
SEQ ID NO: 227	VL - 6	EITLTQSPAFMSATPGDKVNIS CSVSSSVSYMHWYQQKPGEA PKFIIYDTSKLASGIPPRFSGSG YGTDYTLTINNIESEDAAYYY CQQWSSNPQYTFGQGTKLEIK
MH3-2（鼠）本文中也称为 TCRvb5 结合至人 TCRVβ 5-5,5-6		
SEQ ID NO: 228	HC CDR1（Kabat）	SSWMN
SEQ ID NO: 229	HC CDR2（Kabat）	RIYPGDGDTKYNGKFKG
SEQ ID NO: 230	HC CDR3（Kabat）	RGTGGWYFDV
SEQ ID NO: 231	HC CDR1（Chothia）	GYAFSSS
SEQ ID NO: 232	HC CDR2（Chothia）	YPGDGD
SEQ ID NO: 230	HC CDR3（Chothia）	RGTGGWYFDV
SEQ ID NO: 233	HC CDR1（组合的）	GYAFSSSWMN
SEQ ID NO: 229	HC CDR2(组合的))	RIYPGDGDTKYNGKFKG
SEQ ID NO: 230	HC CDR3（组合的）	RGTGGWYFDV
SEQ ID NO: 234	LC CDR1（Kabat）	RASESVDSSGNSFMH
SEQ ID NO: 235	LC CDR2（Kabat）	RASNLES
SEQ ID NO: 236	LC CDR3（Kabat）	QQSFDDPFT
SEQ ID NO: 237	LC CDR1（Chothia）	SESVDSSGNSF
SEQ ID NO: 235	LC CDR2（Chothia）	RASNLES
SEQ ID NO: 236	LC CDR3（Chothia）	QQSFDDPFT
SEQ ID NO: 234	LC CDR1（组合的）	RASESVDSSGNSFMH
SEQ ID NO: 235	LC CDR2（组合的）	RASNLES

SEQ ID NO: 236	LC CDR3（组合的）	QQSFDDPFT
SEQ ID NO: 238	VL	DIVLTQSPASLAVSLGQRATIS CRASESVDSSGNSFMHWYQQ KPGQPPQLLIYRASNLESGIPA RFSGSGSRTDFTLTINPVEADD VATFYCQQSFDDPFTFGSGTK LEIK
SEQ ID NO: 239	VH	QVQLQQSGPELVKPGASVKIS CKASGYAFSSSWMNWVKQR PGQGLEWIGRIYPGDGDTKY NGKFKGKATLTADKSSSTAY MHLSSLTSVDSAVYFCARRG TGGWYFDVWGAGTTVTVSS
MH3-2（人源化）VH 结合至人 TCRVβ 5-5,5-6		
SEQ ID NO: 240	VH - 1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYAFSSSWMNWVRQ APGQGLEWIGRIYPGDGDTK YNGKFKGRATLTADKSTSTA YMELSSLRSEDTAVYYCARR GTGGWYFDVWGQGTTVTVS S
SEQ ID NO: 241	VH - 2	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYAFSSSWMNWVRQ APGQGLEWIGRIYPGDGDTK YNGKFKGRATLTADKSTSTA YMELSSLRSEDTAVYYCARR GTGGWYFDVWGQGTTVTVS S

SEQ ID NO: 242	VH - 3	EVQLVQSGAEVKKPGESLKIS CKASGYAFSSSWMNWVRQM PGKGLEWIGRIYPGDGDTKY NGKFKGQATLSADKSISTAYL QWSSLKASDTAMYYCARRGT GGWYFDVWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 243	VH - 4	QVQLVQSGSELKKPGASVKV SCKASGYAFSSSWMNWVRQ APGQGLEWIGRIYPGDGDTK YNGKFKGRAVLSADKSVSMA YLQISSLKAEDTAVYYCARRG TGGWYFDVWGQGTTVTVSS
MH3-2（人源化）VL 结合至人 TCRVβ 5-5,5-6		
SEQ ID NO: 244	VL - 1	DIVLTQSPDSLAVSLGERATIN CRASESVDSSGNSFMHWYQQ KPGQPPQLLIYRASNLESGVP DRFSGSGSRTDFTLTISSLQAE DVAVYYCQQSFDDPFTFGQG TKLEIK
SEQ ID NO: 245	VL - 2	EIVLTQSPATLSLSPGERATLS CRASESVDSSGNSFMHWYQQ KPGQAPQLLIYRASNLESGIPA RFSGSGSRTDFTLTISSLEPEDF AVYYCQQSFDDPFTFGQGTK LEIK
SEQ ID NO: 246	VL - 3	EIVLTQSPATLSLSPGERATLS CRASESVDSSGNSFMHWYQQ KPGQAPQLLIYRASNLESGIPA

		RFSGSGSRTDFTLTISRLEPED FAVYYCQQSFDDPFTFGQGT KLEIK
SEQ ID NO: 247	VL - 4	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASESVDSSGNSFMHWYQQ KPGKVPQLLIYRASNLESGVP SRFSGSGSRTDFTLTISSLQPE DVATYYCQQSFDDPFTFGQG TKLEIK
SEQ ID NO: 248	VL - 5	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTIT CRASESVDSSGNSFMHWYQQ KPDQSPQLLIYRASNLESGVPS RFSGSGSRTDFTLTINSLEAED AATYYCQQSFDDPFTFGQGT KLEIK
SEQ ID NO: 249	VL - 6	DIVLTQTPLSLPVTPGEPASISC RASESVDSSGNSFMHWYLQK PGQSPQLLIYRASNLESGVPD RFSGSGSRTDFTLKISRVEAED VGVYYCQQSFDDPFTFGQGT KLEIK
ZOE（鼠）也称为 BJ1538 结合至人 TCRVβ 4-1,4-2,4-3		
SEQ ID NO: 250	HC CDR1（Kabat）	DYYMY
SEQ ID NO: 251	HC CDR2（Kabat）	TISGGGSYTYSPDSVKG
SEQ ID NO: 252	HC CDR3（Kabat）	ERDIYYGNFNAMVY
SEQ ID NO: 253	HC CDR1（Chothia）	GFTFSDY
SEQ ID NO: 254	HC CDR2（Chothia）	SGGGSY
SEQ ID NO: 252	HC CDR3（Chothia）	ERDIYYGNFNAMVY

SEQ ID NO: 255	HC CDR1（组合的）	GFTFSDYYMY
SEQ ID NO: 251	HC CDR2(组合的))	TISGGGSYTYSPDSVKG
SEQ ID NO: 252	HC CDR3（组合的）	ERDIYYGNFNAMVY
SEQ ID NO: 256	LC CDR1（Kabat）	RASKSVSTSGYSYMH
SEQ ID NO: 257	LC CDR2（Kabat）	LASNLES
SEQ ID NO: 258	LC CDR3（Kabat）	QHSRDLPWT
SEQ ID NO: 259	LC CDR1（Chothia）	SKSVSTSGYSY
SEQ ID NO: 257	LC CDR2（Chothia）	LASNLES
SEQ ID NO: 258	LC CDR3（Chothia）	QHSRDLPWT
SEQ ID NO: 256	LC CDR1（组合的）	RASKSVSTSGYSYMH
SEQ ID NO: 257	LC CDR2（组合的）	LASNLES
SEQ ID NO: 258	LC CDR3（组合的）	QHSRDLPWT
SEQ ID NO: 260	VL	DIVLTQSPVSLTVSLGQRATIS CRASKSVSTSGYSYMHWYQQ KPGQPPKLLIYLASNLESGVP ARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEE DAATYYCQHSRDLPWTFGGG TKLEIK
SEQ ID NO: 261	VH	EVQLVESGGGLVKPGGSLKLS CAASGFTFSDYYMYWVRQTP EKRLEWVATISGGGSYTYSPD SVKGRFTISRDNAKNNLYLQ MSSLRSEDTAMYFCARERDIY YGNFNAMVYWGRGTSVTVSS
ZOE（人源化）VH 结合至人 TCRVβ 4-1,4-2,4-3		
SEQ ID NO: 262	VH - 1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSDYYMYWVRQAP GKGLEWVATISGGGSYTYSP

		DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARERDI YYGNFNAMVYWGRGTLVTV SS
SEQ ID NO: 263	VH - 2	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSDYYMYWVRQAP GKGLEWVATISGGGSYTYSP DSVKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARERDI YYGNFNAMVYWGRGTLVTV SS
SEQ ID NO: 264	VH - 3	QVQLVESGGGVVQPGRSLRL SCAASGFTFSDYYMYWVRQA PGKGLEWVATISGGGSYTYSP DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARERDI YYGNFNAMVYWGRGTLVTV SS
SEQ ID NO: 265	VH - 4	QVQLVESGGGLVKPGGSLRL SCAASGFTFSDYYMYWIRQA PGKGLEWVATISGGGSYTYSP DSVKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARERDI YYGNFNAMVYWGRGTLVTV SS
ZOE（人源化）VL 结合至人 TCRVβ 4-1,4-2,4-3		
SEQ ID NO: 266	VL - 1	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLS CRASKSVSTSGYSYMHWYQQ

		KPGQAPRLLIYLASNLESGIPD RFSGSGSGTDFTLTISRLEPED FAVYYCQHSRDLPWTFGGGT KVEIK
SEQ ID NO: 267	VL - 2	EIVLTQSPATLSLSPGERATLS CRASKSVSTSGYSYMHWYQQ KPGQAPRLLIYLASNLESGIPA RFSGSGSGTDFTLTISSLEPED FAVYYCQHSRDLPWTFGGGT KVEIK
SEQ ID NO: 268	VL - 3	DIQLTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASKSVSTSGYSYMHWYQQ KPGKAPKLLIYLASNLESGVP SRFSGSGSGTEFTLTISSLQPD DFATYYCQHSRDLPWTFGGG TKVEIK
SEQ ID NO: 269	VL - 4	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASKSVSTSGYSYMHWYQQ KPGKAPKLLIYLASNLESGVP SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQHSRDLPWTFGGG TKVEIK
抗 TCRvb19（鼠）也称为 BJ1465 结合至人 TCRVβ 19		
SEQ ID NO: 270	HC CDR1（Kabat）	GYFWN
SEQ ID NO: 271	HC CDR2（Kabat）	YISYDGSNNYNPSLKN
SEQ ID NO: 272	HC CDR3（Kabat）	PSPGTGYAVDY
SEQ ID NO: 273	HC CDR1（Chothia）	GYSITSGY
SEQ ID NO: 274	HC CDR2（Chothia）	SYDGSN

SEQ ID NO: 272	HC CDR3（Chothia）	PSPGTGYAVDY
SEQ ID NO: 275	HC CDR1（组合的）	GYSITSGYFWN
SEQ ID NO: 271	HC CDR2(组合的))	YISYDGSNNYNPSLKN
SEQ ID NO: 272	HC CDR3（组合的）	PSPGTGYAVDY
SEQ ID NO: 276	LC CDR1（Kabat）	RSSQSLVHSNGNTYLH
SEQ ID NO: 277	LC CDR2（Kabat）	KVSNRFS
SEQ ID NO: 278	LC CDR3（Kabat）	SQSTHVPFT
SEQ ID NO: 279	LC CDR1（Chothia）	SQSLVHSNGNTY
SEQ ID NO: 277	LC CDR2（Chothia）	KVSNRFS
SEQ ID NO: 278	LC CDR3（Chothia）	SQSTHVPFT
SEQ ID NO: 276	LC CDR1（组合的）	RSSQSLVHSNGNTYLH
SEQ ID NO: 277	LC CDR2（组合的）	KVSNRFS
SEQ ID NO: 278	LC CDR3（组合的）	SQSTHVPFT
SEQ ID NO: 280	VL	NVVMTQTPLSLPVSLGDQASI SCRSSQSLVHSNGNTYLHWY LQKPGQSPKFLIYKVSNRFSG VPDRFSGGGSGTEFTLKISRVE AEDLGVYFCSQSTHVPFTFGS GTKLEIK
SEQ ID NO: 281	VH	NVQLQESGPGLVKPSQSLSLT CSVAGYSITSGYFWNWIRQFP GNKLEWMGYISYDGSNNYNP SLKNRISITRDTSKNQFFLKLN SVTTEDTATYYCASPSPGTGY AVDYWGQGTSVTVSS
抗 TCRvb19（人源化）VH 结合至人 TCRVβ 19		
SEQ ID NO: 282	VH - 1	QVQLQESGPGLVKPSETLSLT CTVSGYSITSGYFWNWIRQPP

		GKGLEWIGYISYDGSNNYNPS LKNRVTISRDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCASPSPGTGY AVDYWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 283	VH - 2	QVQLQESGPGLVKPSETLSLT CTVSGYSITSGYFWNWIRQPP GKGLEWIGYISYDGSNNYNPS LKNRVTISRDTSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCASPSPGTGY AVDYWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 284	VH - 3	QVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCSVSGYSITSGYFWNWVRQ APGKGLEWVGYISYDGSNNY NPSLKNRFTISRDTSKNTFYLQ MNSLRAEDTAVYYCASPSPG TGYAVDYWGQGTLVTVSS
抗 TCRvb19（人源化）VL 结合至人 TCRVβ 19		
SEQ ID NO: 285	VL - 1	VVMTQSPGTLSLSPGERATLS CRSSQSLVHSNGNTYLHWYQ QKPGQAPRFLIYKVSNRFSGIP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPE DFAVYFCSQSTHVPFTFGQGT KLEIK
SEQ ID NO: 286	VL - 2	EVVMTQSPATLSLSPGERATL SCRSSQSLVHSNGNTYLHWY QQKPGQAPRFLIYKVSNRFSG IPARFSGSGSGTDFTLTISSLEP EDFAVYFCSQSTHVPFTFGQG

		TKLEIK
SEQ ID NO: 287	VL - 3	EVVMTQSPATLSVSPGERATL SCRSSQSLVHSNGNTYLHWY QQKPGQAPRFLIYKVSNRFSG IPARFSGSGSGTEFTLTISSLQS EDFAVYFCSQSTHVPFTFGQG TKLEIK
SEQ ID NO: 288	VL - 4	DVQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCRSSQSLVHSNGNTYLHWY QQKPGKAPKFLIYKVSNRFSG VPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQ PEDIATYFCSQSTHVPFTFGQG TKLEIK
BL37.2（鼠）也称为 BJ1539 结合至人 TCRVβ 9		
SEQ ID NO: 314	HC CDR1（Kabat）	DYIVH
SEQ ID NO: 315	HC CDR2（Kabat）	WINTYTGTPTYADDFEG
SEQ ID NO: 316	HC CDR3（Kabat）	SWRRGIRGIGFDY
SEQ ID NO: 317	HC CDR1（Chothia）	GYTFTDY
SEQ ID NO: 318	HC CDR2（Chothia）	NTYTGT
SEQ ID NO: 316	HC CDR3（Chothia）	SWRRGIRGIGFDY
SEQ ID NO: 319	HC CDR1（组合的）	GYTFTDYIVH
SEQ ID NO: 315	HC CDR2(组合的))	WINTYTGTPTYADDFEG
SEQ ID NO: 316	HC CDR3（组合的）	SWRRGIRGIGFDY
SEQ ID NO: 320	LC CDR1（Kabat）	KASKSINKYLA
SEQ ID NO: 321	LC CDR2（Kabat）	DGSTLQS
SEQ ID NO: 322	LC CDR3（Kabat）	QQHNEYPPT
SEQ ID NO: 323	LC CDR1（Chothia）	SKSINKY
SEQ ID NO: 321	LC CDR2（Chothia）	DGSTLQS

SEQ ID NO: 322	LC CDR3（Chothia）	QQHNEYPPT
SEQ ID NO: 320	LC CDR1（组合的）	KASKSINKYLA
SEQ ID NO: 321	LC CDR2（组合的）	DGSTLQS
SEQ ID NO: 322	LC CDR3（组合的）	QQHNEYPPT
SEQ ID NO: 324	VL	DVQMTQSPYNLAASPGESVSI NCKASKSINKYLAWYQQKPG KPNKLLIYDGSTLQSGIPSRFS GSGSGTDFTLTIRGLEPEDFGL YYCQQHNEYPPTFGAGTKLE LK
SEQ ID NO: 325	VH	QLQLVQSGPELREPGESVKIS CKASGYTFTDYIVHWVKQAP GKGLKWMGWINTYTGTPTY ADDFEGRFVFSLEASASTANL QISNLKNEDTATYFCARSWRR GIRGIGFDYWGQGVMVTVSS
BL37.2（人源化）VH 结合至人 TCRVβ 9		
SEQ ID NO: 326	VH - 1	QLQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTDYIVHWVRQA PGQGLEWMGWINTYTGTPTY ADDFEGWVTMTLDASISTAY MELSRLRSDDTAVYYCARSW RRGIRGIGFDYWGQGTMVTV SS
SEQ ID NO: 327	VH - 2	QLQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTDYIVHWVRQA PGQGLEWMGWINTYTGTPTY ADDFEGRVTMTLDASTSTAY

		MELSSLRSEDTAVYYCARSW RRGIRGIGFDYWGQGTMVTV SS
SEQ ID NO: 328	VH - 3	QLQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTDYIVHWVRQA PGQRLEWMGWINTYTGTPTY ADDFEGRVTITLDASASTAYM ELSSLRSEDMAVYYCARSWR RGIRGIGFDYWGQGTMVTVS S
SEQ ID NO: 329	VH - 4	QLQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTDYIVHWVRQA TGQGLEWMGWINTYTGTPTY ADDFEGRVTMTLNASISTAY MELSSLRSEDTAVYYCARSW RRGIRGIGFDYWGQGTMVTV SS
BL37.2（人源化）VL 结合至人 TCRVβ 9		
SEQ ID NO: 330	VL - 1	EVVMTQSPGTLSLSPGERATL SCKASKSINKYLAWYQQKPG QAPRLLIYDGSTLQSGIPDRFS GSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YYCQQHNEYPPTFGQGTKLEI K
SEQ ID NO: 331	VL - 2	EVVMTQSPATLSLSPGERATL SCKASKSINKYLAWYQQKPG QAPRLLIYDGSTLQSGIPARFS GSGSGTDFTLTISSLEPEDFAV

		YYCQQHNEYPPTFGQGTKLEIK
SEQ ID NO: 332	VL - 3	DVQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASKSINKYLAWYQQKPGKAPKLLIYDGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHNEYPPTFGQGTKLEIK
SEQ ID NO: 333	VL - 4	AVRMTQSPSSFSASTGDRVTITCKASKSINKYLAWYQQKPGKAPKLLIYDGSTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISCLQSEDFATYYCQQHNEYPPTFGQGTKLEIK
IG125（鼠） 结合至 TRVβ 11-2		
SEQ ID NO: 334	HC CDR1（Kabat）	NYGVH
SEQ ID NO: 335	HC CDR2（Kabat）	VIWSDGSTDYDTAFIS
SEQ ID NO: 336	HC CDR3（Kabat）	RAVVADFDY
SEQ ID NO: 337	HC CDR1（Chothia）	GFSLTN
SEQ ID NO: 338	HC CDR2（Chothia）	VIWSDGSTD
SEQ ID NO: 336	HC CDR3（Chothia）	RAVVADFDY
SEQ ID NO: 339	HC CDR1（组合的）	GFSLTNYGVH
SEQ ID NO: 335	HC CDR2（组合的）	VIWSDGSTDYDTAFIS
SEQ ID NO: 336	HC CDR3（组合的）	RAVVADFDY
SEQ ID NO: 340	LC CDR1（Kabat）	KASKEVTIFGSISALH
SEQ ID NO: 341	LC CDR2（Kabat）	NGAKLES
SEQ ID NO: 342	LC CDR3（Kabat）	LQNKEVPFT
SEQ ID NO: 340	LC CDR1（Chothia）	KASKEVTIFGSISALH

SEQ ID NO: 341	LC CDR2（Chothia）	NGAKLES
SEQ ID NO: 342	LC CDR3（Chothia）	LQNKEVPFT
SEQ ID NO: 340	LC CDR1（组合的）	KASKEVTIFGSISALH
SEQ ID NO: 341	LC CDR2（组合的）	NGAKLES
SEQ ID NO: 342	LC CDR3（组合的）	LQNKEVPFT
SEQ ID NO: 343	VH	QVQLKQSGPGLLQPSQSLSIT CTVSGFSLTNYGVHWVRQSP GKGLEWLGVIWSDGSTDYDT AFISRLSISKDNSKSQVFFKLN SLQADDTAIYYCARRAVVAD FDYWGQGTTLTVSS
SEQ ID NO: 344	VL	DIVLTQSPASLAVSLGQKATIS CKASKEVTIFGSISALHWYQQ KPGQPPKLIYNGAKLESGVSA RFSDSGSQNRSPFGNQLSFTLT IAPVEADDAATYYCLQNKEV PFTFGSGTKLEIK
IG125（人源化）VH 结合至 TRVβ 11-2		
SEQ ID NO: 345	VH-1	QVTLKESGPVLVKPTETLTLT CTVSGFSLTNYGVHWVRQPP GKALEWLGVIWSDGSTDYDT AFISRLTISKDNSKSQVVLTMT NMDPVDTATYYCARRAVVA DFDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 346	VH-2	QVQLQESGPGLVKPSGTLSLT CAVSGFSLTNYGVHWVRQPP GKGLEWLGVIWSDGSTDYDT AFISRLTISKDNSKSQVSLKLS

		SVTAADTAVYYCARRAVVAD FDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 347	VH-3	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLT CAVSGFSLTNYGVHWVRQSP SRGLEWLGVIWSDGSTDYDT AFISRLTINKDNSKSQVSLQLN SVTPEDTAVYYCARRAVVAD FDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 348	VH-4	1. EVQLVESGGGLVQPGPSL RLSCTVSGFSLTNYGVH WVRQAPGKGLEWLGVI WSDGSTDYDTAFISRLTI SKDNSKSIVYLQMNSLK TEDTAVYYCARRAVVA DFDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 349	VH-5	EVQLVQSGAEVKKPGESLRIS CKVSGFSLTNYGVHWVRQMP GKGLEWLGVIWSDGSTDYDT AFISQLTISKDNSISTVYLQWS SLKASDTAMYYCARRAVVAD FDYWGQGTTVTVSS
IG125（人源化）VL 结合至 TRVβ 11-2		
SEQ ID NO: 350	VL-1	DIVLTQSPDSLAVSLGERATIN CKASKEVTIFGSISALHWYQQ KPGQPPKLLYNGAKLESGVS ARFGVPDRFSRSGSGLDFTLTI SSLQAEDVAVYYCLQNKEVP FTFGQGTKLEIK

SEQ ID NO: 351	VL-2	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTIT CKASKEVTIFGSISALHWYQQ KPDQSPKLLYNGAKLESGVS ARFGVPSRFSRSGSGLDFTLTI NSLEAEDAATYYCLQNKEVP FTFGQGTKLEIK
SEQ ID NO: 352	VL-3	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTIT CKASKEVTIFGSISALHWYQQ KPGKAPKLLYNGAKLESGVS ARFGVPSRFSRSGSGLDFTLTI SSLQPEDFATYYCLQNKEVPF TFGQGTKLEIK
SEQ ID NO: 353	VL-4	DIVLTQTPLSLSVTPGQPASIS CKASKEVTIFGSISALHWYLQ KPGQPPKLLYNGAKLESGVS ARFGVPDRFSRSGSGLDFTLKI SRVEAEDVGVYYCLQNKEVP FTFGQGTKLEIK
Medi - 1		
SEQ ID NO: 354	HC CDR1	TFTEN
SEQ ID NO: 355	HC CDR2	IDPEDGTTDYVEKFKN
SEQ ID NO: 356	HC CDR3	GVGSGDYVMDA
SEQ ID NO: 357	LC CDR1	RASQSVSISRHNLIH
SEQ ID NO: 358	LC CDR2	RASNLAS
SEQ ID NO: 359	LC CDR3	QQSGESPRT
Medi - 2		
SEQ ID NO: 360	VL	LSLGQRATISCRASQSVSISRH NLIHWYQQKPGQQPKLLIYR ASNLASGIPARFSGSGSGTDFT

		LTINPVQADDVATYYCQQSG ESPRTFGGGTKLELK
SEQ ID NO: 361	VH	GRGRAQSVVVQASGYTFTEN YIYWVKQRPKQGLELIGRIDP EDGTTDYVEKFKNKATLTVD TSSKTAYMQLSSLTSEDTASY FCARGVGSGDYVMDAWGQG ASVTVSS
Medi - 3		
SEQ ID NO: 362	HC CDR1	GYTFTAYYIS
SEQ ID NO: 363	HC CDR2	RIDPEDGSTDYVEKFK
SEQ ID NO: 364	HC CDR3	GNSDYVMDA
SEQ ID NO: 365	LC CDR1	RASQSVSISGINLMH
SEQ ID NO: 366	LC CDR2	RASSLAS
SEQ ID NO: 367	LC CDR3	QQSWESPRT
Medi -4		
SEQ ID NO: 368	HC CDR1	GYTFTAYY
SEQ ID NO: 369	HC CDR2	IDPEDGST
SEQ ID NO: 370	HC CDR3	CARGNSD
SEQ ID NO: 371	LC CDR1	QSVSISGINL
SEQ ID NO: 366	LC CDR2	RASSLAS
SEQ ID NO: 372	LC CDR3	CQQSWESPRT
Medi - 5		
SEQ ID NO: 373	VL	LCLRQRATISCRASQSVSISGI NLMHWYQQRPGQQPKLLIYR ASSLASGIPARFSGRGSGTDFT LTIDPVQADDIAAYFCQQSWE SPRTF GGGTQLELKR
SEQ ID NO: 374	VH	DWNSRTGLSQVSCKASGYTF

		TAYYISWVKQRPKQGLELIG RIDPEDGSTD YVEKFKIKATLTADTSSNTAY MQFSSLTFEDTATYFCARGNS DYVMDAWGQGASVTVSS

表6.人IgG重链和人κ轻链的恒定区氨基酸序列。

人κ恒定区 SEQ ID NO: 289	LC	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTL TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
IgG4 (S228P) 突变恒定区 （EU 编号） SEQ ID NO: 290	HC	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPP CPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSLG
IgG1 野生型 SEQ ID NO: 291	HC	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK

IgG1 (N297A) 突变恒定区 (EU 编号) SEQ ID NO: 292	HC	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY ASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK

嵌合抗原受体(CAR)

[0246] 在一些实施方案中,本文所述的T细胞表达嵌合抗原受体(CAR)并且在本文中被称为CAR T细胞。在一些实施方案中,本文所述的方法包括将一个或多个编码嵌合抗原受体(CAR)的外源性核酸分子引入T细胞群中。在一些实施方案中,一个或多个编码嵌合抗原受体(CAR)的外源性核酸分子通过本文所述的方法被引入扩增后的T细胞群中。在一些实施方案中,一个或多个编码嵌合抗原受体(CAR)的外源性核酸分子通过本文所述的方法被引入扩增前的T细胞群中。

[0247] 在一些实施方案中,CAR多肽包括包含抗原结合区的胞外区(胞外域)、跨膜区以及任选地胞内区(胞内域)。在一些实施方案中,胞内区进一步包括一个或多个胞内信号传导区。在一些实施方案中,本文所述的CAR包括抗原结合区、跨膜区、一个或多个共刺激区或域,以及用于T细胞激活的信号传导区。

[0248] 在一些实施方案中,抗原结合区包括单克隆抗体的互补决定区(例如,三个重链CDR和三个轻链CDR)、单克隆抗体的可变区和/或其抗原结合片段。在一些情形中,抗原结合区包括F(ab')$_2$、Fab'、Fab、Fv或scFv。在一些实施方案中,抗原结合区是scFv。在一些实施方案中,抗原结合区是Fab。在一些实施方案中,抗原结合区是Fab'。在一些实施方案中,抗原结合区是F(ab')$_2$。在一些实施方案中,抗原结合区是Fv。

[0249] 在一些实施方案中,CAR包括与以下的表位结合的抗原结合区:CD19、CD123、CD22、CD30、CD171、CS-1、C型凝集素样分子-1、CD33、表皮生长因子受体变体III(EGFRvIII)、神经节苷脂G2(GD2)、神经节苷脂GD3、TNF受体家族成员B细胞细胞成熟(BCMA)、Tn抗原((Tn Ag)或(GalNAcα-Ser/Thr))、前列腺特异性膜抗原(PSMA)、受体酪氨酸激酶样孤儿受体1(ROR1)、Fms样酪氨酸激酶3(FLT3)、肿瘤相关糖蛋白72(TAG72)、CD38、CD44v6、癌胚抗原(CEA)、上皮细胞粘附分子(EPCAM)、B7H3(CD276)、KIT(CD117)、白介素13受体亚单位α-2、间皮素、白介素11受体α(IL-11Ra)、前列腺干细胞抗原(PSCA)、丝氨酸蛋白酶21、血管内皮生长因子受体2(VEGFR2)、路易斯(Y)抗原、CD24、血小板衍生生长因子受体β(PDGFR-β)、阶段特异胚胎抗原-4(SSEA-4)、CD20、叶酸受体α、受体酪氨酸蛋白激酶ERBB2(Her2/neu)、细胞表面相关的黏蛋白1(MUC1)、表皮生长因子受体(EGFR)、神经细胞粘附分子(NCAM)、前列腺酶(Prostase)、前列腺酸性磷酸酶(PAP)、突变的延伸因子2(ELF2M)、肝配蛋白B2、纤维母细

胞活化蛋白α(FAP)、胰岛素样生长因子1受体(IGF-I受体)、碳酸酐酶IX(CAIX)、蛋白酶体(Prosome,Macropain)亚单位,β型,9(LMP2)、糖蛋白100(gp100)、由裂点簇区(BCR)和Abelson鼠白血病病毒癌基因同源物1(Abl)(bcr-abl)组成的癌基因融合蛋白、酪氨酸酶、肝配蛋白A型受体2(EphA2)、岩藻糖基GM1、唾液酰基路易斯粘附分子(sLe)、神经节苷脂GM3、转谷氨酰胺酶5(TGS5)、高分子量-黑色素瘤-相关抗原(HMWMAA)、邻乙酰基-GD2神经节苷脂(OAcGD2)、叶酸受体β、肿瘤内皮标志1(TEM1/CD248)、肿瘤内皮标志7-相关(TEM7R)、密封蛋白6(CLDN6)、促甲状腺激素受体(TSHR)、G蛋白偶联受体C类5组成员D(GPRC5D)、X染色体开放阅读框61(CXORF61)、CD97、CD179a、间变性淋巴瘤激酶(ALK)、聚唾液酸、胎盘特异性1(PLAC1)、globoH糖酰胺的己糖部分(GloboH)、乳腺分化抗原(NY-BR-1)、尿溶蛋白2(uroplakin2,UPK2)、甲型肝炎病毒细胞受体1(HAVCR1)、肾上腺素受体β3(ADRB3)、泛连接蛋白3(pannexin 3,PANX3)、G蛋白偶联受体20(GPR20)、淋巴细胞抗原6复合物、基因座K 9(LY6K)、嗅觉受体51E2(OR51E2)、TCRγ交替阅读框蛋白(TARP)、威尔姆氏肿瘤蛋白(WT1)、癌/睾丸抗原1(NY-ESO-1)、癌/睾丸抗原2(LAGE-1a)、黑色素瘤相关抗原1(MAGE-A1)、位于染色体12p上的ETS易位-变体基因6(ETV6-AML)、精子蛋白17(SPA17)、X抗原家族成员1A(XAGE1)、血管生成素结合细胞表面受体2(Tie2)、黑色素瘤癌睾丸抗原-1(MAD-CT-1)、黑色素瘤癌睾丸抗原-2(MAD-CT-2)、Fos-相关抗原1、肿瘤蛋白p53(p53)、p53突变体、prostein、存活蛋白、端粒酶、前列腺癌抗原-1、T细胞1识别的黑色素瘤抗原、大鼠肉瘤(Ras)突变体、人端粒酶逆转录酶(hTERT)、肉瘤易位裂点、黑色素瘤凋亡抑制因子(ML-IAP)、ERG(跨膜丝氨酸蛋白酶2(TMPRSS2)ETS融合基因)、N-乙酰基葡萄糖氨基-转移酶V(NA17)、配对盒蛋白Pax-3(PAX3)、雄激素受体、细胞周期蛋白B1、v-myc禽骨髓细胞瘤病毒癌基因神经母细胞瘤源性同源物(MYCN)、Ras同源物家族成员C(RhoC)、酪氨酸酶相关蛋白2(TRP-2)、细胞色素P450 1B1(CYP1B1)、CCCTC-结合因子(锌指蛋白)样物、T细胞识别的鳞状细胞癌抗原3(SART3)、配对盒蛋白Pax-5(PAX5)、前顶体素(proacrosin)结合蛋白sp32(OY-TES1)、淋巴细胞特异性蛋白酪氨酸激酶(LCK)、A型激酶锚定蛋白4(AKAP-4)、滑膜肉瘤X裂点2(SSX2)、晚期糖基化终产物受体(RAGE-1)、肾泛1(RU1)(renal ubiquitous 1(RU1))、肾泛2(RU2)、豆球蛋白(legumain)、人乳头瘤病毒E6(HPV E6)、人乳头瘤病毒E7(HPV E7)、肠羧基酯酶、突变性热激蛋白70-2(mut hsp70-2)、CD79a、CD79b、CD72、白细胞相关的免疫球蛋白样受体1(LAIR1)、IgA受体的Fc片段(FCAR或CD89)、白细胞免疫球蛋白样受体亚家族A成员2(LILRA2)、CD300分子样家族成员f(CD300LF)、C型凝集素域家族12成员A(CLEC12A)、骨髓间质细胞抗原2(BST2)、含有EGF样模件的黏蛋白样激素受体样2(EMR2)、淋巴细胞抗原75(LY75)、磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3(GPC3)、Fc受体样5(FCRL5)或免疫球蛋白λ样多肽1(IGLL1)。

[0250] 在一些实施方案中,多肽包括源于天然或合成来源的跨膜区或跨膜域。在来源是天然的情况中,所述区可以源于任何膜结合蛋白或跨膜蛋白。适合的跨膜区可以包括但不限于,T-细胞受体的α、β或ζ链的一个或多个跨膜区;或来自CD28、CD3ε、CD3ζ、CD45、CD4、CD5、CD8α、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD152(CTLA-4)或CD154的跨膜区。可替代地,跨膜区或跨膜域可以是合成的,并且可以包含疏水残基例如亮氨酸和缬氨酸。在一些实施方案中,苯丙氨酸、色氨酸和缬氨酸的三联体存在于合成跨膜域的一个末端或两个末端处。任选地,短寡核苷酸接头或在一些实施方案中长度介于2个和10

个氨基酸之间的多肽接头可以在CAR的跨膜域与胞质信号传导域之间形成连接。在一些实施方案中，接头是甘氨酸-丝氨酸接头。在一些实施方案中，跨膜区包含CD8α跨膜域、CD152(CTLA-4)、TCRα、TCRβ、TCRγ1、TCRδ或CD3ζ跨膜域。

[0251] 在一些实施方案中，CAR包含胞内区。在一些实施方案中，所述胞内区包含初级信号传导域。示例性初级信号传导域包括但不限于CD3ζ、FcRγ、FcRβ、CD3γ、CD3δ、CD3ε、CD5、CD22、CD79a、CD79b或CD66d的胞内域。在一些实施方案中，初级信号传导域包括CD3ζ的胞内域。在一些实施方案中，所述胞内区包含初级信号传导域和一个或多个共刺激域。示例性共刺激域包括但不限于CD3ζ、CD8、CD27、CD28、4-1BB(CD137)、ICOS、DAP10、DAP12、OX40(CD134)或其功能片段或变体，或其任何组合。在一些情形中，本文所述的CAR包含两个、三个、四个或五个共刺激域。

[0252] 在一些实施方案中，本文中提供了不包含CD3ζ信号传导域的嵌合抗原受体。在一些实施方案中，(a)抗原结合域，其中该抗原结合域不包含T细胞受体α(TCRα)可变区、T细胞受体β(TCRβ)可变区或二者，(b)跨膜域；以及(c)胞内信号传导域，其包含TCRβ恒定区胞内信号传导域，其中CAR不包含CD3ζ胞内信号传导域。在一些实施方案中，(a)抗原结合域，其中该抗原结合域是单链可变片段(scFv)或单域抗体；(b)跨膜域；以及(c)胞内信号传导域，其包含TCRβ胞内信号传导域，并且其中CAR不包含CD3ζ胞内信号传导域。

[0253] 在一些实施方案中，在CAR中缺少CD3ζ信号传导域防止由输注免疫效应细胞(例如，T细胞和NK细胞)群而诱导的细胞因子释放综合征。在一些实施方案中，在CAR中缺少CD3ζ信号传导域防止由输注免疫效应细胞(例如，T细胞和NK细胞)群而诱导的细胞因子释放综合征，其中抗原提呈细胞释放较低水平的一个或多个促炎细胞因子(例如，IL-6、IFNγ、TNFα、IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF)。在一些实施方案中，在CAR中缺少CD3ζ信号传导域防止由输注免疫效应细胞(例如，T细胞和NK细胞)群而诱导的细胞因子释放综合征，其中表达CAR的免疫效应细胞释放较低水平的一个或多个促炎细胞因子(例如，IFNγ、TNFα、IL-6、IL-1β、IL-8、IL-10、sIL2Rα、sgp130、sIL6R、MCP1、MIP1α、MIP1β和GM-CSF)。在一些实施方案中，该CAR包含TCRβ胞内域。

[0254] 在一些实施方案中，编码本文所述的CAR的核酸分子利用载体而被引入T细胞中。在一些实施方案中，载体是质粒、病毒载体或非病毒载体。在一些实施方案中，病毒载体是慢病毒载体、腺病毒载体、腺伴随病毒载体或逆转录病毒载体。在一些实施方案中，编码CAR的核酸分子通过转染或转导而被引入细胞群中。在一些实施方案中，核酸分子被整合到宿主基因组中。在一些实施方案中，核酸分子通过转座子/转座酶系统、CRISPR系统、锌指核酸酶系统或Talen系统而被整合到宿主基因组中。在一些实施方案中，CRISPR系统包含至少一个gRNA和内切核酸酶(例如，Cas9)。在一些实施方案中，核酸分子通过病毒载体(例如，慢病毒载体、腺病毒载体、腺伴随病毒载体或逆转录病毒载体)而被整合到宿主基因组中。

[0255] 在一些实施方案中，编码所述CAR的核酸被整合到宿主基因组中。在一些实施方案中，所述核酸被靶向整合在特定基因组基因座处。在一些实施方案中，所述核酸被靶向整合在TRAC或TCRB基因序列中。在一些实施方案中，所述核酸被靶向整合在免疫检查点基因序列(例如，本文所述的免疫检查点基因)内。在一些实施方案中，所述核酸未靶向整合在特定基因组基因座处。

外源性T细胞受体(TCR)

[0256] 在一些实施方案中，本文所述的T细胞表达外源性T细胞受体。在一些实施方案中，本文所述的方法包括引入编码外源性T细胞受体(TCR)的一个或多个核酸分子。在一些实施方案中，编码该外源性T细胞受体的一个或多个核酸分子在通过本文所述的方法已扩增T细胞之后被引入T细胞群中。在一些实施方案中，编码该外源性T细胞受体的一个或多个核酸分子在通过本文所述的方法已扩增T细胞之前被引入T细胞群中。

[0257] T细胞受体由在T细胞的表面上配对而形成异二聚受体(αβ对或γδ对)的两条链(αβ或γδ)构成。每条链(α、β、γ和δ)由两个域构成：恒定域(C)，所述恒定域将蛋白锚定到细胞膜并且与CD3信号传导体(apparatus)的不变亚单位相关联；和可变域(V)，所述可变域(V)通过六个环(称为互补决定区(CDR))而赋予抗原识别。在一些情况中，每个V域包括三个CDR；例如，CDR1、CDR2和CDR3，其中CDR3作为高变区。这些CDR与在由主要组织相容性复合物(pepMHC)(例如，HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-DPA1、HLA-DPB1、HLA-DQA1、HLA-DQB1、HLA-DRA或HLA-DRB1复合物)编码的蛋白结合的抗原肽之间形成的复合物相互作用。在一些情形中，恒定域进一步包括将恒定域连接到可变域的连接区。在一些情况中，β链进一步包括短多样性区，其构成该连接区的一部分。

[0258] 在一些实施方案中，所述外源性T细胞受体结合至肽/MHC复合物，其中所述肽源于CD19、CD123、CD22、CD30、CD171、CS-1、C型凝集素样分子-1、CD33、表皮生长因子受体变体III(EGFRvIII)、神经节苷脂G2(GD2)、神经节苷脂GD3、TNF受体肽家族成员B细胞成熟(BCMA)、Tn抗原((Tn Ag)或(GalNAcα-Ser/Thr))、前列腺特异性膜抗原(PSMA)、受体酪氨酸激酶样孤儿受体1(ROR1)、Fms样酪氨酸激酶3(FLT3)、肿瘤相关糖蛋白72(TAG72)、CD38、CD44v6、癌胚抗原(CEA)、上皮细胞粘附分子(EPCAM)、B7H3(CD276)、KIT(CD117)、白介素13受体亚单位α-2、间皮素、白介素11受体α(IL-11Ra)、前列腺干细胞抗原(PSCA)、丝氨酸蛋白酶21、血管内皮生长因子受体2(VEGFR2)、路易斯(Y)抗原、CD24、血小板衍生生长因子受体β(PDGFR-β)、阶段特异胚胎抗原-4(SSEA-4)、CD20、叶酸受体α、受体酪氨酸蛋白激酶ERBB2(Her2/neu)、细胞表面相关的黏蛋白1(MUC1)、表皮生长因子受体(EGFR)、神经细胞粘附分子(NCAM)、前列腺酶(Prostase)、前列腺酸性磷酸酶(PAP)、突变的延伸因子2(ELF2M)、肝配蛋白B2、纤维母细胞激活蛋白α(FAP)、胰岛素样生长因子1受体(IGF-I受体)、碳酸酐酶IX(CAIX)、蛋白酶体(Prosome，Macropain)，亚单位，β型，9(LMP2)、糖蛋白100(gp100)、由裂点簇区(BCR)和Abelson鼠白血病病毒癌基因同源物1(Abl)(bcr-abl)组成的癌基因融合蛋白、酪氨酸酶、肝配蛋白A型受体2(EphA2)、岩藻糖基GM1、唾液酰基路易斯粘附分子(sLe)、神经节苷脂GM3、转谷氨酰胺酶5(TGS5)、高分子量-黑色素瘤相关抗原(HMWMAA)、邻乙酰基-GD2神经节苷脂(OAcGD2)、叶酸受体β、肿瘤内皮标志1(TEM1/CD248)、肿瘤内皮标志7-相关(TEM7R)、密封蛋白6(CLDN6)、促甲状腺激素受体(TSHR)、G蛋白偶联受体C类5组成员D(GPRC5D)、X染色体开放阅读框61(CXORF61)、CD97、CD179a、间变性淋巴瘤激酶(ALK)、聚唾液酸、胎盘特异性1(PLAC1)、globoH糖酰胺的己糖部分(GloboH)、乳腺分化抗原(NY-BR-1)、尿溶蛋白2(UPK2)、甲型肝炎病毒细胞受体1(HAVCR1)、肾上腺素受体β3(ADRB3)、泛连接蛋白3(PANX3)、G蛋白偶联受体20(GPR20)、淋巴细胞抗原6复合物、基因座K9(LY6K)、嗅觉受体51E2(OR51E2)、TCRγ交替读框蛋白(TARP)、威尔姆氏肿瘤蛋白(WT1)、癌/睾丸抗原1(NY-ESO-1)、癌/睾丸抗原2(LAGE-1a)、黑色素瘤相关抗原1(MAGE-A1)、位于染色体12p上的ETS易位-变体基因6(ETV6-AML)、精子蛋白17(SPA17)、X抗原家族成员1A(XAGE1)、血管生成素

结合细胞表面受体2(Tie 2)、黑色素瘤癌睾丸抗原-1(MAD-CT-1)、黑色素瘤癌睾丸抗原-2(MAD-CT-2)、Fos-相关抗原1、肿瘤蛋白p53(p53)、p53突变体、prostein、存活蛋白、端粒酶、前列腺癌抗原-1、T细胞1识别的黑色素瘤抗原、大鼠肉瘤(Ras)突变体、人端粒酶逆转录酶(hTERT)、肉瘤易位裂点、黑色素瘤凋亡抑制因子(ML-IAP)、ERG(跨膜丝氨酸蛋白酶2(TMPRSS2)ETS融合基因)、N-乙酰基葡萄糖氨基-转移酶V(NA17)、配对盒蛋白Pax-3(PAX3)、雄激素受体、细胞周期蛋白B1、v-myc禽骨髓细胞瘤病毒癌基因神经母细胞瘤源性同源物(MYCN)、Ras同源物肽家族成员C(RhoC)、酪氨酸酶相关蛋白2(TRP-2)、细胞色素P450 1B1(CYP1B1)、CCCTC-结合因子(锌指蛋白)样物、T细胞识别的鳞状细胞癌抗原3(SART3)、配对盒蛋白Pax-5(PAX5)、前顶体素结合蛋白sp32(OY-TES1)、淋巴细胞特异性蛋白酪氨酸激酶(LCK)、A型激酶锚定蛋白4(AKAP-4)、滑膜肉瘤、X裂点2(SSX2)、晚期糖基化终产物受体(RAGE-1)、肾泛1(RU1)、肾泛2(RU2)、豆球蛋白、人乳头瘤病毒E6(HPV E6)、人乳头瘤病毒E7(HPV E7)、肠羧基酯酶、突变性热激蛋白70-2(mut hsp70-2)、CD79a、CD79b、CD72、白细胞相关免疫球蛋白样受体1(LAIR1)、IgA受体的Fc片段(FCAR或CD89)、白细胞免疫球蛋白样受体亚家族成员2(LILRA2)、CD300分子样肽家族成员f(CD300LF)、C型凝集素域家族12成员A(CLEC12A)、骨髓间质细胞抗原2(BST2)、包含EGF-样模件的黏蛋白样激素受体样2(EMR2)、淋巴细胞抗原75(LY75)、磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3(GPC3)、Fc受体样5(FCRL5)或免疫球蛋白λ样多肽1(IGLL1)。在一些实施方案中,在MHC的情形中,外源性TCR与在患者肿瘤(即,由肿瘤表达的患者特异性体细胞非同义突变)内表达的癌抗原结合。在一些实施方案中,在MHC的情形中,外源性TCR与在患者肿瘤(即,由肿瘤表达的患者特异性体细胞非同义突变)内表达的癌新抗原结合。在一些实施方案中,过程化的TCR是亲和力增强的。

[0259] 在一些实施方案中,使用国际免疫遗传学(IMGT)TCR命名法并且链接至TCR序列的IMGT公共数据库对TCR进行描述。例如,可以存在由它们的框架、CDR1、CDR2和CDR3序列区分的若干类型的α链可变(Vα)区和若干类型的β链可变(Vβ)区。因此,Vα类型可以在IMGT命名法中以唯一TRAV编号命名。例如,“TRAV21”定义了TCR Vα区,该TCR Vα区具有独特的框架以及CDR1和CDR2序列及CDR3序列,该CDR3序列部分地由在TCR之间保守的氨基酸序列定义但还包括在TCR之间有所不同的氨基酸序列。类似地,“TRBV5-1”定义了TCR Vβ区,该TCR Vβ区具有独特的框架和CDR1和CDR2序列,但具有仅部分定义的CDR3序列。在一些情况中,β链多样性区在IMGT命名法中以缩写TRBD命名。在一些情况中,由IMGT命名法定义的独特的序列是广泛已知的并且是TCR领域中工作人员可得的。例如,它们可以存在于IMGT公共数据库以及在“T cell Receptor Factsbook,”(2001)LeFranc和LeFranc,学术出版社,ISBN 0-12-441352-8中。

[0260] 在一些实施方案中,αβ异二聚体TCR作为具有胞质域和跨膜域二者的全长链而被转染。在一些实施方案中,TCR包含相应的恒定域的残基之间引入的二硫键,如例如WO 2006/000830中所述。

[0261] 在一些实施方案中,本文所述的TCR是单链形式,例如参见WO2004/033685。单链形式包括Vα-L-Vβ、Vβ-L-Vα、Vα-Cα-L-Vβ、Vα-L-Vβ-Cβ、Vα-Cα-L-Vβ-Cβ类型的αβTCR多肽,其中Vα和Vβ分别是TCRα和β可变区,Cα和Cβ分别是TCRα和β恒定区,并且L是接头序列。在某些实施方案中,本发明的单链TCR可以具有相应的恒定域的残基之间引入的二硫键,如WO2004/033685中所述,其通过引用并入本文中。

[0262] 在一些实施方案中，本文所述的编码外源性TCR的核酸分子利用载体而被引入T细胞中。在一些实施方案中，该载体是质粒、病毒载体或非病毒载体。在一些实施方案中，该病毒载体是慢病毒载体、腺病毒载体、腺伴随病毒载体或逆转录病毒载体。在一些实施方案中，编码外源性TCR的核酸分子通过转染或转导而被引入细胞群中。在一些实施方案中，所述核酸分子被整合到宿主基因组中。在一些实施方案中，所述核酸分子通过转座子/转座酶系统、CRISPR系统、锌指核酸酶系统或Talen系统而被整合到宿主基因组中。在一些实施方案中，CRISPR系统包含至少一个gRNA和内切核酸酶(例如，Cas9)。在一些实施方案中，所述核酸分子通过病毒载体(例如，慢病毒载体、腺病毒载体、腺伴随病毒载体或逆转录病毒载体)而被整合到宿主基因组中。

[0263] 在一些实施方案中，编码所述外源性T细胞受体的核酸被整合到宿主基因组中。在一些实施方案中，所述核酸被靶向整合在特定的基因组基因座处。在一些实施方案中，所述核酸被靶向整合在TRAC或TCRB基因序列中。在一些实施方案中，所述核酸被靶向整合在免疫检查点基因序列(例如，本文所述的免疫检查点基因)内。在一些实施方案中，所述核酸未被靶向整合在特定的基因组基因座处。

[0264] 示例性TCR序列公开在表7中。

表7.示例性TCR序列

TCRα 恒定域	IQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCL FTDFDSQTNVSQSKDSDVYITDK TVLDMRSMDFKSNSAVAWSNKS DFACANAFNNSIIPEDTFFPSPESS CDVKLVEKSFETDTNLNFQNLS	293
TCRα 跨膜域	VIGFRILLLKVAGFNLLMTLRLW	294
TCRα 胞内域	SS	295
TCRβ 恒定 1 域（无信号序列）	PEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCL ATGFFPDHVELSWWVNGKEVHS GVSTDPQPLKEQPALNDSRYCLS SRLRVSATFWQNPRNHFRCQVQ FYGLSENDEWTQDRAKPVT	296
TCRβ 恒定 1 域（有信号序列）	DLNKVFPPEVAVFEPSEAEISHTQ KATLVCLATGFFPDHVELSWWV NGKEVHSGVSTDPQPLKEQPALN DSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNH FRCQVQFYGLSENDEWTQDRAK PVTQIVSAEAWGRADCGFTSVSY QQGVLSATILYE	297
TCRβ 恒定 1 跨膜域	ILLGKATLYAVLVSALVLMAM	298
TCRβ 恒定 1 胞内域	VKRKDF	299
TCRβ 恒定 2 域（无信号序列）	PKVAVFEPSEAEISHTQKATLVCL ATGFYPDHVELSWWVNGKEVHS GVSTDPQPLKEQPALNDSRYCLS SRLRVSATFWQNPRNHFRCQVQ	300

	FYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVS AEAWGRADCGFTSESYQQGVLS A	
TCRβ 恒定 2 域（有信号序列）	DLKNVFPPKVAVFEPSEAEISHTQ KATLVCLATGFYPDHVELSWWV NGKEVHSGVSTDPQPLKEQPALN DSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNH FRCQVQFYGLSENDEWTQDRAK PVTQIVSAEAWGRADCGFTSESY QQGVLSA	301
TCRβ 恒定 2 跨膜域	TILYEILLGKATLYAVLVSALVL	302
TCRβ 恒定 2 胞内域	MAMVKRKDSRG	303

异源靶向构建体

[0265] 在一些实施方案中，本文所述的T细胞表达异源靶向构建体，该异源靶向构建体包括胞外抗原结合域以及与该抗原结合域可操作地连接的跨膜域，其中该异源靶向构建体缺少能够激活该细胞的胞内域。在一些实施方案中，该构建体进一步包括将该抗原结合域可操作地连接到跨膜域的交流(talk)域。在一些实施方案中，该抗原结合域包括单链可变片段(scFv)、单克隆抗体、Fab片段、B细胞受体、T细胞受体、抗体支架、受体特异性配体或配体特异性受体。在一些实施方案中，在抗原结合域结合靶抗原时异源靶向构建体的聚类基本上不激活工程化的T细胞中的TCR途径。在一些实施方案中，抗原结合域结合肿瘤相关抗原(例如，本文所述的)。在一些实施方案中，抗原结合域与在健康细胞上表达的靶抗原的结合通过相对于具有功能性胞内域的参考细胞的工程化的T细胞来触发显著较低的细胞溶解。在一些实施方案中，抗原结合域与在健康细胞上表达的靶抗原的结合基本没有通过工程化的T细胞触发细胞溶解。在一些实施方案中，抗原结合域与在肿瘤细胞或感染细胞上表达的靶抗原的结合基本通过工程化的T细胞触发细胞溶解。

免疫检查点蛋白

[0266] 在一些实施方案中，本文所述的T细胞包括导致免疫检查点蛋白的表达降低或完全抑制的基因组改变。在一些实施方案中，所述免疫检查点蛋白正常地表达在细胞的表面上。在一些实施方案中，所述免疫检查点蛋白正常地被细胞内表达。在一些实施方案中，所述免疫检查点蛋白选自：腺苷A2a受体(ADORA)、细胞因子诱导的含有SH2的蛋白(CISH)、CD276、含有V-类域的T细胞激活抑制因子1(VTCN1)、B和T淋巴细胞相关(BTLA)、吲哚胺2,3-双加氧酶1(IDO1)、杀伤细胞免疫球蛋白样受体三个域长细胞质尾1(KIR3DL1)、淋巴细胞激活基因3(LAG3)、甲型肝炎病毒细胞受体2(HAVCR2)、T细胞激活的V域免疫球蛋白抑制剂(VISTA)、天然杀伤细胞受体2B4(CD244)、次黄嘌呤磷酸核糖转移酶1(HPRT)、腺伴随病毒整合位点1(AAVS1)或趋化因子(C-C基序)受体5(基因/假基因)(CCR5)、CD160分子(CD160)、具有Ig和ITIM域的T-细胞免疫受体(TIGIT)、CD96分子(CD96)、细胞毒性和调节性T-细胞分子

(CRTAM)、白细胞相关免疫球蛋白样受体1(LAIR1)、唾液酸结合Ig样凝集素7(SIGLEC7)、唾液酸结合Ig样凝集素9(SIGLEC9)、肿瘤坏死因子受体超家族成员10b(TNFRSF10B)、肿瘤坏死因子受体超家族成员10a(TNFRSF10A)、胱天蛋白酶8(CASP8)、胱天蛋白酶10(CASP10)、胱天蛋白酶3(CASP3)、胱天蛋白酶6(CASP6)、胱天蛋白酶7(CASP7)、经由死亡域Fas相关(FADD)、Fas细胞表面死亡受体(FAS)、转化生长因子β受体II(TGFBRII)、转化生长因子β受体I(TGFBR1)、SMAD家族成员2(SMAD2)、SMAD家族成员3(SMAD3)、SMAD家族成员4(SMAD4)、SKI原癌基因(SKI)、SKI样原癌基因(SKIL)、TGFB诱导因子同源异型框1(TGIF1)、程序性细胞死亡1(PD-1)、细胞毒性T-淋巴细胞相关蛋白4(CTLA4)、白介素10受体亚单位α(IL10RA)、白介素10受体亚单位β(IL10RB)、血红素氧化酶2(HMOX2)、白介素6受体(IL6R)、白介素6信号转导物(IL6ST)、c-src酪氨酸激酶(CSK)、具有鞘糖脂微域的磷蛋白膜锚定1(PAG1)、信号传导阈值调节跨膜衔接子1(SIT1)、叉头框蛋白P3(FOXP3)、PR域1(PRDM1)、碱性亮氨酸拉链转录因子、ATF样(BATF)、鸟苷酸环化酶1可溶性α2(GUCY1A2)、鸟苷酸环化酶1可溶性α3(GUCY1A3)、鸟苷酸环化酶1可溶性β2(GUCY1B2)、蛋白的脯氨酰羟化酶域(PHD1、PHD2、PHD3)家族或鸟苷酸环化酶1可溶性β3(GUCY1B3)、egl-9家族低氧诱导的因子1(EGLN1)、egl-9家族低氧诱导的因子2(EGLN2)、egl-9家族低氧-诱导的因子3(EGLN3)和蛋白质磷酸酶1调节亚单位12C(PPP1R12C)。

接头

[0267] 在多肽的上下文中使用的术语“接头”是指由将多肽的两个区连接在一起的氨基酸组成的肽接头。在一些实施方案中,接头包含或由甘氨酸残基、丝氨酸残基或甘氨酸和丝氨酸残基组成。在一些实施方案中,接头是Gly/Ser接头并且包含氨基酸序列(Gly-Gly-Gly-Ser)n,其中n是等于或大于1的正整数。例如,n=1、n=2、n=3。n=4、n=5和n=6、n=7、n=8、n=9和n=10。在一些实施方案中,接头包含$(Gly_4Ser)_4$或$(Gly_4Ser)_3$。在一些实施方案中,接头包含多个重复的(Gly_2Ser)、(GlySer)或(Gly_3Ser)。还包括在范围内的是WO2012/138475中所述的接头,其通过引用并入本文中。

[0268] 其他示例性接头包括但不限于以下氨基酸序列:GGG;DGGGS(SEQ ID NO:304);TGEKP(SEQ ID NO:305);GGRR(SEQ ID NO:306);$(GGGGS)_n$其中=1、2、3、4或5(SEQ ID NO:307);EGKSSGSGSESKVD(SEQ ID NO:308);KESGSVSSEQLAQFRSLD(SEQ ID NO:309);GGRRGGGS(SEQ ID NO:310);LRQRDGERP(SEQ ID NO:311);LRQKDGGGSERP(SEQ ID NO:312);LRQKD$(GGGS)_2$ERP(SEQ ID NO:313)。可替代地,柔性接头可以利用能够模型化DNA结合位点和肽本身的计算机程序或通过噬菌体展示方法进行合理地设计。

使用方法和药物组合物

[0269] 通常,如本文所述激活和扩增的T细胞可以用于治疗各种疾病。药物组合物可以以适合于待治疗的疾病的方式进行施用。施用的量和频率将取决于因素诸如患者的状况,以及患者疾病的类型和严重性,但是适合的剂量可以通过临床试验来确定。

[0270] 在一些实施方案中,本文所述的方法可以用于生产用于治疗过度增生性疾病(例如癌症)、自身免疫性疾病,或用于治疗感染(例如病毒感染、细菌感染或寄生物感染)的表达多核苷酸和/或多肽的细胞。在一些实施方案中,所述抗原是在癌细胞、自身免疫细胞中或在受病毒、细菌或寄生物感染的细胞中升高的抗原。可被靶向的病原体包括但不限于疟原虫、锥虫、曲霉病(Aspergillus)、念珠菌属(Candida)、甲型肝炎、乙型肝炎、丙型肝炎、

HSV、HPV、RSV、EBV、CMV、JC病毒、BK病毒或埃博拉病原体。自身免疫性疾病可以包括移植物抗宿主病、风湿性关节炎、狼疮、乳糜泻、克罗恩病、Sjogren综合征、多发性肌痛风湿、多发性硬化、视神经脊髓炎、强直性脊柱炎、1型糖尿病、斑秃、脉管炎、颞动脉炎、大疱性类天疱疮、银屑病、寻常型天疱疮或自身免疫性葡萄膜炎。

[0271] 在一些实施方案中，所述疾病是癌症或感染。在一些实施方案中，所述癌症是急性成淋巴细胞性白血病、急性淋巴细胞性白血病、急性髓细胞性白血病、再生障碍性贫血、慢性髓细胞性白血病、结缔组织增生性小圆细胞肿瘤、尤因肉瘤、霍奇金氏病、多发性骨髓瘤、脊髓发育不良、非霍奇金淋巴瘤、阵发性睡眠性血红蛋白尿症、辐射中毒、慢性淋巴细胞性白血病、AL型淀粉样变性、特发性血小板增多症、真性红细胞增多症、重度再生障碍性贫血、神经母细胞瘤、乳腺瘤、卵巢瘤、肾细胞癌、自身免疫疾病诸如系统性硬化症、骨硬化症、遗传性代谢性疾病、幼年型慢性关节炎、肾上腺脑白质营养不良、无巨核细胞血小板减少症、镰状细胞病、严重先天性免疫缺陷、Griscelli综合征II型、Hurler综合征、Kostmann综合征、克拉伯病、异染性脑白质营养不良、地中海贫血、噬血细胞性淋巴组织细胞增多症和Wiskott-Aldrich综合征、白血病、淋巴瘤、黑色素瘤、神经内分泌肿瘤、癌和肉瘤。可用本文提供的化合物、药物组合物或方法治疗的示例性癌症包括淋巴瘤、肉瘤、膀胱癌、骨癌、脑瘤、宫颈癌、结肠癌、食管癌、胃癌、头颈癌、肾癌、骨髓瘤、甲状腺癌、白血病、前列腺癌、乳腺癌(例如，三阴性、ER阳性、ER阴性、化疗耐药性、赫赛汀耐药性、HER2阳性、多柔比星耐药性、他莫昔芬耐药性、导管癌、小叶癌、原发性、转移性)、卵巢癌、胰腺癌、肝癌(例如，肝细胞癌)、肺癌(例如非小细胞肺癌、鳞状细胞肺癌、腺癌、大细胞肺癌、小细胞肺癌、类癌、肉瘤)、多形性成胶质细胞瘤、神经胶质瘤、黑色素瘤、前列腺癌、去势抵抗性前列腺癌、乳腺癌、三阴性乳腺癌、胶质母细胞瘤、卵巢癌、肺癌、鳞状细胞癌(例如，头、颈或食道)、结肠直肠癌、白血病、急性髓系白血病、淋巴瘤、B细胞淋巴瘤或多发性骨髓瘤。额外的示例包括，甲状腺癌、内分泌系统癌、脑癌、乳腺癌、宫颈癌、结肠癌、头颈癌、食管癌、肝癌、肾癌、肺癌、非小细胞肺癌、黑色素瘤、间皮瘤、卵巢癌、肉瘤、胃癌、子宫癌或髓母细胞瘤、霍奇金氏病、非霍奇金淋巴瘤、多发性骨髓瘤、神经母细胞瘤、神经胶质瘤、多形性成胶质细胞瘤、卵巢癌、横纹肌肉瘤、原发性血小板增多症、原发性巨球蛋白血症、原发性脑瘤、癌、恶性胰腺胰岛素瘤、恶性类癌、泌尿膀胱癌、恶变前皮肤病损、睾丸癌、淋巴瘤、甲状腺癌、神经母细胞瘤、食道癌、生殖泌尿道癌、恶性高钙血症、子宫内膜癌、肾上腺皮质癌、内分泌或外分泌胰腺赘生、甲状腺髓样癌、甲状腺髓样癌、黑色素瘤、结肠直肠癌、甲状腺乳头状癌、肝细胞癌、乳头Paget疾病、叶状瘤、小叶癌、导管癌、胰腺星形细胞癌、肝脏星形细胞癌，或前列腺癌。在一些实施方案中，所述癌是实体瘤。在一些实施方案中，所述癌是血液学癌症。

[0272] 在一些实施方案中，感染是真菌感染、细菌感染或病毒感染。示例性病原体包括以下科的病原体：腺病毒科(Adenoviridae)、Epstein-Barr病毒(EBV)、巨细胞病毒(CMV)、呼吸道合胞病毒(RSV)、JC病毒、BK病毒、HSV、HHV病毒科、细小RNA病毒科(Picornaviridae)、疱疹病毒科(Herpesviridae)、肝DNA病毒科(Hepadnaviridae)、黄病毒科(Flaviviridae)、逆转录病毒科(Retroviridae)、正粘病毒科(Orthomyxoviridae)、副粘液病毒科(Paramyxoviridae)、乳多空病毒科(Papovaviridae)、多瘤病毒(Polyomavirus)、弹状病毒科(Rhabdoviridae)和披膜病毒科(Togaviridae)。示例性致病病毒引起天花、流感、腮腺炎、麻疹、水痘、埃博拉和风疹。示例性致病真菌包括念珠菌属(Candida)、曲霉菌属

(Aspergillus)、隐球菌属(Cryptococcus)、组织胞浆菌属(Histoplasma)、肺囊虫(Pneumocystis)和葡萄穗霉菌属(Stachybotrys)。示例性致病细菌包括链球菌属(Streptococcus)、假单胞菌属(Pseudomonas)、志贺氏菌属(Shigella)、弯曲杆菌属(Campylobacter)、葡萄球菌属(Staphylococcus)、螺杆菌属(Helicobacter)、大肠杆菌(E.coli)、立克次氏体属(Rickettsia)、芽孢杆菌属(Bacillus)、博德特菌属(Bordetella)、衣原体属(Chlamydia)、螺旋菌属(Spirochetes)和沙门氏菌属(Salmonella)。在一些实施方案中,病原体受体Dectin-1可以用于产生识别真菌诸如曲霉菌属的细胞壁上的碳水化合物结构的CAR。

[0273] 通过施用激活和扩增的T细胞在受试者中诱导的免疫应答(其中T细胞被刺激和扩增到治疗性水平)可以包括由能够杀伤肿瘤细胞和被感染细胞的细胞毒性T细胞介导的细胞免疫应答、调节性T细胞应答和辅助性T细胞应答。也可以诱导主要由能够激活B细胞因此导致抗体产生的辅助性T细胞介导的体液免疫应答。各种技术可以用于分析由组合物诱导的免疫应答类型,在本领域中有充分描述,例如,Coligan等人,Current Protocols in Immunology,John Wiley&Sons Inc.(1994)。

[0274] 通常可以陈述包含本文所述的T细胞的药物组合物可以以10^4至10^9个细胞/kg体重、优选10^5至10^6个细胞/kg体重的剂量施用,包括在那些范围内的所有整数值。T细胞组合物还可以以这些剂量多次施用。细胞可以通过使用免疫治疗中普遍已知的输注技术进行施用(参见,例如,Rosenberg等人,New Eng.J.of Med.319:1676,1988)。针对特定患者的最佳剂量和治疗方案可以由医药领域的技术人员通过监测患者的疾病体征并且相应地调整治疗来容易地确定。

[0275] 通常,在过继性免疫治疗研究中,抗原特异性T细胞以大约2×10^9至2×10^{11}个细胞施用于患者。(参见,例如,美国专利号5,057,423)。在一些方面,特别是在使用同种异体或异种细胞时,可以施用较低数量的细胞,10^6/千克(10^6-10^{11}/患者)。在某些实施方案中,将T细胞以1×10^5、1×10^6、1×10^7、1×10^8、2×10^8、2×10^9、1×10^{10}、2×10^{10}、1×10^{11}、5×10^{11}或1×10^{12}个细胞施用于受试者。T细胞组合物可以以这些范围内的剂量多次施用。细胞可以是正经受治疗的患者自体的或异源的。如果期望,治疗还可以包括施用如本文所述的丝裂原(例如,PHA)或淋巴因子、细胞因子和/或趋化因子(例如,GM-CSF、IL-4、IL-7、IL-13、FIt3-L、RANTES、MIP1α等)以增强诱导免疫应答。

[0276] 在某些实施方案中,可以期望将激活的T细胞施用于受试者并且随后再抽取血液(或进行白细胞单采术)、从其激活T细胞并且用这些激活的和扩增的T细胞对患者再输注。此过程可以每几周进行多次。在某些实施方案中,T细胞可以从抽取10cc至400cc的血激活。在某些实施方案中,T细胞从抽取20cc、30cc、40cc、50cc、60cc、70cc、80cc、90cc或100cc的血被激活。不受理论的束缚,利用此多次抽血/多次再输注操作方案,可以选择出某些T细胞群。

[0277] 施用本主题的组合物可以以任何方便的方式进行,包括通过气雾剂吸入、注射、摄入、输注、植入或移植。本文所述的组合物可以向患者皮下、皮内、瘤内、结节内、髓内、肌内、静脉内(i.v.)注射或腹膜内进行施用。在一个实施方案中,T细胞组合物通过皮内或皮下注射而施用于患者。在另一实施方案中,T细胞组合物优选地通过静脉内注射进行施用。T细胞组合物可以被直接注射到肿瘤、淋巴结或感染部位中。

[0278] 在另一实施方案中，药物组合物可以在受控释放系统中进行递送。在一个实施方案中，可以使用泵(参见，Langer，1990，Science249:1527-1533；Sefton 1987，CRC Crit.Ref.Biomed.Eng.14:201；Buchwald等人，1980；Surgery 88:507；Saudek等人，1989，N.Engl.J.Med.321:574)。在另一实施方案中，可以使用聚合材料(参见，Medical Applications of Controlled Release，1974，Langer和Wise(编)，CRC Pres.，Boca Raton，Fla.；Controlled Drug Bioavailability，Drug Product Design和Performance，1984，Smolen和Ball(编)，Wiley，New York；Ranger和Peppas，1983；J.Macromol.Sci.Rev.Macromol.Chem.23:61；还参见，Levy等人，1985，Science 228:190；During等人，1989，Ann.Neurol.25:351；Howard等人，1989，J.Neurosurg.71:105)。在另一实施方案中，受控释放系统可以置于治疗靶附近，因此仅需要全身剂量的部分(参见，例如，Medical Applications of Controlled Release，1984，Langer和Wise(编)，CRC Pres.，Boca Raton，Fla.，第2卷，第115-138页)。

[0279] T细胞组合物还可以利用任何数量的基质进行施用。基质已经多年来用于组织工程化的情形内(参见，例如，Principles of Tissue Engineering(Lanza、Langer和Chick(编))，1997。可用于所述组合物、装置和方法中的基质类型是几乎无限的并且可以包括生物基质和合成基质二者。在一个具体实施例中，使用美国专利号5,980,889；5,913,998；5,902,745；5,843,069；5,787,900；或5,626,561陈述的组合物和装置。基质包括在施用于哺乳动物宿主时通常与生物相容性相关的特征。基质可以由天然材料或合成材料形成。基质在期望在动物体内保留永久结构或可移除结构诸如植入物中的情形中可以是非生物可降解的；或者生物可降解的。基质可以采用以下形式：海绵、植入物、管、telfa垫、纤维、中空纤维、冻干组分、凝胶、粉末、多孔组合物或纳米颗粒。此外，基质可以被设计为允许持续释放接种的细胞或产生的细胞因子或其他活性剂。在某些实施方案中，基质是柔性和弹性的，并且可以描述为半固体支架，其可透过物质例如无机盐、含水流体和溶解的包含氧的气态剂。

[0280] 在某些实施方案中，将利用本文所述的方法或本领域已知的其他方法激活和扩增的细胞(其中T细胞被扩增至治疗性水平)与任何数量的相关治疗模式(例如，之前、同时或之后)联合施用于患者，该相关治疗模式包括但不限于用药剂治疗，诸如抗病毒疗法、西多福韦和白介素-2、阿糖胞苷(也称为ARA-C)或那他珠单抗治疗MS患者或依法珠单抗治疗银屑病患者或对PML患者的其他治疗。在其他实施方案中，T细胞可以与以下联用：化疗、辐射、免疫抑制剂(诸如环孢菌素、硫唑嘌呤、甲氨蝶呤、霉酚酸酯和FK506)、抗体或其他免疫消融剂(例如CAM PATH、抗CD3抗体或其他抗体治疗、细胞毒素、氟达拉滨、环孢菌素、FK506、雷帕霉素、霉酚酸、类固醇、FR901228、细胞因子和辐射)。这些药物抑制钙依赖性磷酸酶钙调磷酸酶(环孢素和FK506)或抑制对生长因子诱导的信号传导而言重要的p70S6激酶(雷帕霉素)。(Liu等人，Cell 66:807-815，1991；Henderson等人，Immun.73:316-321，1991；Bierer等人，Curr.Opin.Immun.5:763-773，1993；Isoniemi(同上))。在另一实施方案中，细胞组合物与以下(例如，之前、同时或之后)联合施用于患者：骨髓移植、使用化疗剂(例如氟达拉滨、外束辐射疗法(XRT)、环磷酰胺)或抗体(例如OKT3或CAMPATH)的T细胞消融疗法。在另一实施方案中，细胞组合物在B-细胞消融疗法例如与CD20反应的治疗剂(例如利妥昔单抗)之后施用。例如，在一个实施方案中，受试者可以经受高剂量化疗的标准治疗，随后进行外周血干细胞移植。在某些实施方案中，在移植之后，受试者接受扩增的免疫细胞的输注。在附

加的实施方案中，扩增的细胞在手术之前或之后进行施用。

[0281] 要向患者施用的上述治疗的剂量将随着正被治疗的病况的确切性质和治疗接受者而改变。可以根据本领域认可的实践来放大人的施用剂量。例如，CAMPATH的剂量对于成年患者一般将在1至约100mg，通常在1至30天期间每日施用。优选的每日剂量是1至10mg/天，但是，在一些情形中，可以使用高达40mg/天的较大剂量(在美国专利号6,120,766中所述)。

[0282] 在一个实施方案中，获得的扩增的抗原特异性T细胞群偏向于产生CD8+细胞群。在一个实施方案中，获得的扩增的抗原特异性T细胞群偏向于产生CD4+细胞群。在一个实施方案中，本公开内容的方法用于提供包括CD4+T细胞群的细胞群，例如Th1群。本文中使用的Th1群旨在是指CD4+群，其中5％或更多的细胞，例如10、20、30、40、50、60、70、80、90％或更多的细胞被分类为Th1。记忆T细胞是Th1细胞的组成部分。在一个实施方案中，本公开内容的方法用于提供包括CD8+T细胞群的细胞群。

[0283] 在一个实施方案中，从所述方法获得的细胞群包括记忆T细胞的亚群，例如记忆T细胞相当于扩增的细胞的10、20、30、40、50或60％，并且一般将表达效应记忆标志物例如CD27、CD28、CD62L和CD45RO。这将显著地高于扩增前的记忆细胞群。

[0284] 在一些实施方案中，由于这些是潜在有益的，因此在最终细胞群中残余的CD3-、CD56+和NK细胞是可接受的。

[0285] 在一些实施方案中，利用本公开内容的方法扩增的细胞群包括期望的T细胞群和最小百分比的不期望的细胞群。在一些实施方案中，施用于患者的最终产品包含最小百分比的所述方法未靶向扩增的其他细胞。在一些实施方案中，所述最终产品包含至少90％、95％、98％、99％或100％的期望的CD4+T细胞群和/或CD8+T细胞群。细胞群的频率可以通过本领域技术人员已知的例如利用细胞因子测定(例如，IFNγELISPOT测定)或通过测量细胞表面蛋白的表达来测量。

[0286] 在一些实施方案中，从本文所述的方法获得的T细胞群在通过血清分型分析时是多样性的并未出现显性克隆。在一些实施方案中，在起始样品中T细胞多样性基本上呈现在扩增的T细胞中，即扩增一般不是单克隆的扩增。在一些实施方案中，从本文所述的方法获得的T细胞群在通过血清分型分析时不是多样性的，其特征在于出现显性克隆。

[0287] 在一些实施方案中，通过本文所述的方法产生的T细胞群包括在表面上表达T细胞受体的多个T细胞。在一些实施方案中，通过本文所述的方法产生的T细胞群，与用抗CD3ε抗体激活/扩增而制得的细胞相比，具有一个或多个有利性质。在一些实施方案中，一个或多个有利性质包括，与用抗CD3ε抗体激活/扩增而制得细胞的方法相比，与细胞因子释放综合征(CRS)相关的细胞因子例如，IL-6、IL-1β和TNFα产生较少或不产生；以及IL-2和IFNγ的产生增加和/或延迟产生。例如，在一些实施方案中，IL-6产量可以比用抗CD3ε抗体激活/扩增而制得的T细胞少至少2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、11倍、12倍、13倍、14倍、15倍、16倍、17倍、18倍、19倍、20倍、21倍、22倍、23倍、24倍、25倍、26倍、26倍、27倍、28倍、29倍、30倍、31倍、32倍、33倍、34倍、35倍、36倍、37倍、38倍、39倍、39倍、40倍、41倍、42倍、43倍、44倍、45倍、46倍、47倍、48倍、49倍或至少50倍。例如，在一些实施方案中，IL-1β产量可以比用抗CD3ε抗体激活/扩增而制得的T细胞少至少2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、11倍、12倍、13倍、14倍、15倍、16倍、17倍、18倍、19倍、20倍、21倍、22倍、23倍、24

倍、25倍、26倍、26倍、27倍、28倍、29倍、30倍、31倍、32倍、33倍、34倍、35倍、36倍、37倍、38倍、39倍、39倍、40倍、41倍、42倍、43倍、44倍、45倍、46倍、47倍、48倍、49倍或至少50倍。例如，在一些实施方案中，TNFα产量可以比用抗CD3ε抗体激活/扩增而制得的T细胞少至少2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、11倍、12倍、13倍、14倍、15倍、16倍、17倍、18倍、19倍、20倍、21倍、22倍、23倍、24倍、25倍、26倍、26倍、27倍、28倍、29倍、30倍、31倍、32倍、33倍、34倍、35倍、36倍、37倍、38倍、39倍、39倍、40倍、41倍、42倍、43倍、44倍、45倍、46倍、47倍、48倍、49倍或至少50倍。在一些实施方案中，相比于用抗CD3ε抗体激活/扩增而制得的T细胞，可以在通过本文所述的方法制得的T细胞中观察到IL-2增加至少1.1倍、2倍、5倍、10倍或约20倍或约50倍。在一些实施方案中，可以观察到IL-2的水平，例如表达水平，和/或活性增加的延迟，例如，至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多小时的延迟。在一些实施方案中，可以观察到IFNγ的水平，例如表达水平，和/或活性增加的延迟，例如，至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10小时的延迟。在一些实施方案中，一个或多个有利性质包括限制CRS(例如，与抗CD3靶向相关的CRS)的不需要的副作用。

[0288] 有利性质包括但不限于，较低水平的IFNγ分泌，体内增殖，T细胞激活标记(例如T细胞受体)的上调相对于该群中抗原特异性T细胞的总数而言可以是高的。

[0289] 在一些实施方案中，相比于用抗CD3ε抗体激活/扩增而制得的细胞，通过本文所述的方法制得的T细胞表现出增强的抗原特异性。

[0290] 在一些实施方案中，相比于用抗CD3ε抗体激活/扩增而制得的细胞群，通过本文所述的方法制得的T细胞表现出相当的(无显著不同的)亲和力。

[0291] 在一些实施方案中，通过本文公开的方法制得的并且施用于受试者的治疗性T细胞群可以实际上在组合物中是亚治疗性剂量。但是，在输注入受试者中之后，细胞扩增，进一步分析T细胞是否适合于在体内扩增可以利用体外测试例如利用细胞增殖测定例如CFSE测定进行测试。细胞增殖可以通过用荧光化合物CFSE标记细胞以监测给定刺激下的分裂来测定。简言之，将细胞用CFSE标记并且加入抗原，这刺激一些细胞分裂。这些细胞可以被监测，因为当它们分裂时每个子细胞中的染料量是一半，因此通过流式细胞术检测的细胞的亮度减半。因此，可以确定细胞群已进行的分裂数。在一些实施方案中，扩增的T细胞能够在体外和体内进一步扩增，显著的扩增水平包括例如2、3、4、5倍或更多倍扩增。在一些实施方案中，如通过染料排斥法或流式细胞术测量的，至少70％的相关细胞是存活的，例如至少75％、80％、85％、90％、95％、96％、97％、98％或99％的细胞是存活的。

[0292] 在一些实施方案中，一旦最终制剂已经制备好，其就将被填装到适合的容器例如输注袋或冷冻管中。在一些实施方案中，根据本公开内容的方法包括将T细胞群或其药物制剂填装到适合的容器例如输注袋中并且将其密封的附加步骤。在一些实施方案中，将填装有本公开内容的T细胞群或包含其的药物组合物的容器冷冻以便储存和运输，例如在约-135℃下储存。在一些实施方案中，本公开内容的方法包括将本公开内容的T细胞群或包含其的药物组合物冷冻的附加步骤。在一些实施方案中，将所述“产品”以每分钟使温度降低1℃进行冷冻以确保形成的结晶不破坏细胞结构。此方法可以继续进行直至样品已达到约-100℃为止。根据本公开内容的产品意在是指本公开内容的培养的细胞群或包含其的药物组合物。在一些实施方案中，将该产品以冷冻的形式转移、输送、运输至患者的位置。在一些实施方案中，根据本公开内容的产品以适合于肠胃外施用的形式例如输注、缓慢注射或快

速浓注来提供。在一个实施方案中，该制剂以适合于静脉内输注的形式来提供。在一些实施方案中，本公开内容提供了将根据本公开内容的产品从生成位置或便利的收集点运输到预期的患者附近的方法，例如，其中该T细胞产品在运输期间被储存在0℃或低于0℃，例如低于-100℃下。在一些实施方案中，将蛋白稳定剂在生产之后添加到细胞培养物，例如白蛋白尤其人血清白蛋白，其可以充当稳定剂。在所述制剂中白蛋白的用量可以是1至50％w/w，例如10至50％w/w，例如约2.25、4.5或12.5％w/w。在一些实施方案中，所述制剂还包含冷冻保存剂，例如甘油或DMSO。DMSO的量一般是12％或更小，例如约10％w/w。在一些实施方案中，所述方法包括通过添加药学上可接受的赋形剂(尤其本文所述的赋形剂，例如稀释剂、稳定剂和/或防腐剂)来制备药物制剂的附加步骤。本文使用的赋形剂是覆盖添加至T细胞群的没有生物或生理功能的所有成分的一般性术语。

[0293] 在一些实施方案中，通过本文所述的方法产生的T细胞具有95％或更小的平均细胞直径，例如最大细胞直径的90％或更小，例如85％或更小，更具体地80％或更小。在一些实施方案中，在相关T细胞群中细胞的平均细胞直径在10至14微米范围，并且平均细胞直径是约10、11、12、13或14微米。

CRS评级

[0294] 本文所述的方法包括预防或减轻人类受试者的细胞因子释放综合征(CRS)的严重性的方法。在一些实施方案中，所述方法包括：从人类受试者取得多个T细胞，扩增来自所述人类受试者的多个T细胞，从而产生第一T细胞群，所述扩增包括使所述多个T细胞与第一药剂接触，其中所述第一药剂包括与T细胞受体β可变链(TCRβV)区特异性结合的域，向所述人类受试者输注所述第一T细胞群的至少一部分，其中所述受试者表现出无CRS症状，或相对于输注至少第一T细胞群的人类受试者表现出较少的CRS严重症状(例如，一个或多个本文所述的症状)，所述第一T细胞群通过从人类受试者取得多个T细胞并且通过使所述多个T细胞与结合CD3(例如，CD3e)的药剂接触来扩增所述多个T细胞而产生。

[0295] 在一些实施方案中，本文所述的方法包括将通过本文所述的方法制得的细胞施用于受试者。在一些实施方案中，CRS被预防。在一些实施方案中，受试者没有或具有较少的严重CRS。在一些实施方案中，在施用所述细胞后1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、14、21、30或更多天之后，所述受试者没有或具有较少的严重CRS。CRS可以按严重性进行如下1-5评级。1-3级是较轻严重性的CRS。4-5级是严重CRS。对于1级CRS，仅需要对症治疗(例如，恶心、发热、疲劳、肌痛、全身乏力、头痛)并且症状不危及生命。对于2级CRS，症状需要中等干预并且一般对中等干预有反应。具有2级CRS的受试者患有对流体或一剂低剂量血管加压药有反应的低血压；或它们患有2级器官毒性或对低流量氧气(<40％氧气)有反应的轻度呼吸症状。在3级CRS受试者中，低血压一般无法通过流体疗法或一剂低剂量血管加压药来逆转。这些受试者通常需要比低流量氧气更多的氧并且具有3级器官毒性(例如，肾或心脏功能障碍或凝血病)和/或4级转氨炎(transaminitis)。3级CRS受试者需要更积极的干预，例如40％或更高的氧气、高剂量的一剂或多剂的血管加压药和/或多次血管加压药。4级CRS受试者患有即刻危及生命的症状，包括4级器官毒性或需要机械通气。4级CRS受试者一般没有转氨炎。在5级CRS受试者中，所述毒性导致死亡。本文提供了如表8、表9和表10的CRS评级的标准集合。除非另外指明，否则本文中使用的CRS是指根据表9的标准的CRS。在实施方案中，根据表8对CRS进行评级。在实施方案中，根据表9对CRS进行评级。在实施方案中，根据表10对CRS进行

评级。

表8.CRS评级

Gr1	仅支持性护理
Gr2	IV 治疗+/-住院治疗。
Gr3	需要 IV 流体或低剂量血管活性物的低血压，或需要氧气、CPAP 或 BIPAP 的低氧血症。
Gr4	需要高剂量血管活性物的低血压，或需要机械通气的低氧血症。
Gr5	死亡

表9.CTCAE v 4.0 CRS评级量表

CRS 分级	特征
1 级	轻度；无输注中断；无干预
2 级	显示出输注中断但针对症状治疗（例如，抗组胺药 NSAIDS、麻醉药、IV 流体）快速地反应；预防服药法显示<= 24 hr
3 级	长期的（例如，对症状性药物和/或输注的短暂中断无快速反应）；在初期改善之后症状复发；住院治疗显示出临床后遗症（例如，肾损伤、肺浸润）
4 级	危及生命的后果；增压剂或呼吸机支持

表10.NCI CRS评级量表

CRS 分级	特征
1 级	不危及生命并且仅需要对症治疗的症状；例如，发热、恶心、疲劳、头痛、肌痛、全身乏力
2 级	需要中等干预并且对中等干预有反应的症状；氧需求<40%，或对流体或低剂量增压剂有反应的低血压，或 2 级器官毒性
3 级	需要积极干预并且对积极干预有反应的症状；氧需求>=40%，或对高剂量或多次增压剂有反应的低血压，或 3 级器官毒性；或 4 级转氨炎
4 级	危及生命的症状，需要呼吸机支持，或 4 级器官毒性（不包括转氨炎）

巨噬细胞活化综合征、神经毒性和肿瘤溶解综合征

[0296] 本文所述的方法包括，预防或减轻人类受试者的巨噬细胞活化综合征、神经毒性或肿瘤溶解综合征的严重性的方法。

[0297] 在一些实施方案中，所述方法包括：从人类受试者取得多个T细胞，扩增来自该人类受试者的所述多个T细胞，从而产生第一T细胞群，所述扩增包括使所述多个T细胞与第一药剂接触，其中该第一药剂包含与T细胞受体β可变链(TCRβV)区特异性结合的域，向所述人类受试者输注所述第一T细胞群的至少一部分，其中所述受试者表现出无巨噬细胞活化综合征症状，或相对于输注至少第一T细胞群的人类受试者表现出较少的巨噬细胞活化综合征的严重症状(例如，一个或多个本文所述的症状)，所述第一T细胞群通过从人类受试者取得多个T细胞并且通过使所述多个T细胞与结合CD3(例如，CD3e)的药剂接触来扩增所述多个T细胞而产生。巨噬细胞活化综合征的症状包括但不限于发热、头痛、淋巴结病、肝脾大、凝血病、疹、心动过速、心律失常、心肌病、嗜睡、全血细胞减少、肝功能障碍、弥散性血管内凝血、血纤维蛋白原过少、高铁蛋白血症或高甘油三酯血症。在一些实施方案中，至少一个症状是发热、头痛、淋巴结病、肝脾大、凝血病、疹、心动过速、心律失常、心肌病、嗜睡、全血细胞减少、肝功能障碍、弥散性血管内凝血、血纤维蛋白原过少、高铁蛋白血症或高甘油三酯血症。

[0298] 在一些实施方案中，所述方法包括：从人类受试者取得多个T细胞，扩增来自所述人类受试者的多个T细胞，从而产生第一T细胞群，所述扩增包括使所述多个T细胞与第一药剂接触，其中所述第一药剂包括与T细胞受体β可变链(TCRβV)区特异性结合的域，所述人类受试者输注所述第一T细胞群的至少一部分，其中所述受试者表现出无神经毒性症状，或相对于输注至少第一T细胞群的人类受试者表现出较少的神经毒性的严重症状(例如，一个或多个本文所述的症状)，所述第一T细胞群通过从人类受试者取得多个T细胞并且通过使所述多个T细胞与结合CD3(例如，CD3e)的药剂接触来扩增所述多个T细胞而产生。神经毒性的症状包括但不限于脑病、失语、震颤、共济失调、轻偏瘫、麻痹、辨距障碍、癫痫发作、运动无

力、意识丧失或脑水肿。在一些实施方案中，至少一个症状是脑病、失语、震颤、共济失调、轻偏瘫、麻痹、辨距障碍、癫痫发作、运动无力、意识丧失或脑水肿。

[0299] 在一些实施方案中，所述方法包括：从人类受试者取得多个T细胞，扩增来自该人类受试者的多个T细胞，从而产生第一T细胞群，所述扩增包括使所述多个T细胞与第一药剂接触，其中该第一药剂包括与T细胞受体β可变链(TCRβV)区特异性结合的域，向所述人类受试者输注所述第一T细胞群的至少一部分，其中所述受试者表现出无肿瘤溶解综合征症状，或相对于输注至少第一T细胞群的人类受试者表现出较少的肿瘤溶解综合征的严重症状(例如，一个或多个本文所述的症状)，所述第一T细胞群通过从人类受试者取得多个T细胞并且通过使所述多个T细胞与结合CD3(例如，CD3e)的药剂接触来扩增所述多个T细胞而产生。神经毒性的症状包括但不限于恶心、呕吐、腹泻、肌肉痉挛、肌肉颤搐、乏力、麻木、刺痛、疲劳、嗜睡、排尿减少、脑病、失语、震颤、共济失调、轻偏瘫、麻痹、辨距障碍、癫痫发作、运动无力、意识丧失、脑水肿或幻觉。在一些实施方案中，至少一个症状是恶心、呕吐、腹泻、肌肉痉挛、肌肉颤搐、乏力、麻木、刺痛、疲劳、嗜睡、排尿减少、脑病、失语、震颤、共济失调、轻偏瘫、麻痹、辨距障碍、癫痫发作、运动无力、意识丧失、脑水肿或幻觉。

实施例

实施例1：抗TCRβV抗体的特征

[0300] 将人CD3+T细胞利用磁珠分离(阴性选择)来分离并且用固定的(板包被的)BHM1709或OKT3(抗CD3ε)抗体以100nM激活6天。使由BHM1709阳性染色定义的T细胞扩增(从在第0天～5％的T细胞扩增至在第6天细胞培养物的总T细胞的几乎60％)(图2A-2C)。当与纯化的CD3+T细胞共培养时扩增的Vb13.1+T细胞显示出对转化的细胞系RPMI-8226的细胞溶解活性(图3A-3B)。

[0301] 将用抗TCRβV抗体激活的PBMC的细胞因子产量与用以下物质激活的PBMC的细胞因子产量比较：(i)抗CD3ε抗体(OKT3或SP34-2)；(ii)抗TCRＡV抗体(抗TCRＡV 12.1抗体6D6.6、抗TCRＡV 24JA18抗体6B11)；(iii)抗TCRαβ抗体(T10B9)；或者(iv)同种型对照(BGM0109)。测试的抗TCRβV抗体包括：人源化抗TCRβV 13.1抗体BHM1709和BHM 1710、鼠抗TCRβV 5抗体MH3-2、鼠抗TCRβV 8.1抗体16G8，以及鼠抗TCRβV 12抗体S511。在用所示抗体激活PBMC后第1、2、3、5和6天时获取上清液样品。

[0302] 与使用抗CD3ε抗体(OKT3或SP34-2)激活的PBMC相比，显示出IFNγ分泌降低的用板结合的BHM1709或BHM1710激活的PBMC被用于激活人PBMC(图4A和图5B)。相对于由抗CD3ε抗体(OKT3和SP34-2)激活的CD3+T细胞产生IFNγ的动力学，抗TCRβV抗体BHM1709激活的CD3+T细胞产生IFNγ的动力学延迟(图9A和9B)。

[0303] 相比于用抗CD3ε抗体(OKT3或SP34-2)激活的PBMC，用BHM1709和BHM1710激活的PBMC导致IL-2产量增加(图5A)和动力学延迟(图5B)。抗TCRβV抗体激活的PBMC在激活后第5天或第6天时表现出IL-2的峰值产量(图5B)。相比之下，在用OKT3激活的PBMC中在激活后第2天IL-2达到峰值(图5B)。如同IFNγ，在测试的所有抗TCRβV抗体中，IL-2效果(例如，IL-2的产量增加和动力学延迟)都是相似的(图5B)。

[0304] 与细胞因子风暴(例如，CRS)相关的细胞因子IL-6、IL-1β和TNF-α的产量也在相似的条件下进行评估。图6A、7A和8A表明，虽然用抗CD3ε抗体激活的PBMC证明IL-6(图6A)、TNF-α(图7A)和IL-1β(图8A)的产生，但是对于用抗TCRβV抗体BHM1709或BHM1710激活的

PBMC，观察到对这些细胞因子没有诱导或诱导很少。如图7B和图8B中所示，用所述抗TCRβV抗体中的任何抗体激活PBMC没有诱导TNF-α和IL-1β的产生。

[0305] 记忆效应T细胞(称为TEMRA细胞)亚群在由抗TCRβV抗体BHM1709或BHM1710激活的CD8+T细胞中优选地扩增(图10)。将分离的人PBMC用固定的(板包被的)抗CD3ε抗体或抗TCRβV13.1抗体以100nM激活6天。在温育6天之后，通过FACS染色以下细胞的表面标志物来鉴定T细胞亚群：幼稚T细胞(CD8+、CD95-、CD45RA+、CCR7+)、T干细胞记忆(TSCM;CD8+、CD95+、CD45RA+、CCR7+)、T中枢记忆(TCM;CD8+、CD95+、CD45RA-、CCR7+)、T效应记忆(TEM;CD8+、CD95+、CD45RA-、CCR7-)和T效应记忆再表达CD45RA(即TEMRA)(CD8+、CD95+、CD45RA+、CCR7-)。相比于由抗CD3e抗体(OKT3或SP34-2)激活的PBMC，抗TCR Vβ13.1抗体(BHM1709或BHM1710)激活的人PBMC增加了CD8+TSCM和TEMRA T细胞亚群(图10)。对于CD4+T细胞，观察到相似的扩增。

[0306] 此实施例中提供的数据表明，抗TCRβV抗体可以优选地激活T细胞亚群，导致TERMA细胞的扩增。这些细胞可以促进肿瘤细胞溶解而不诱导细胞因子风暴(例如，细胞因子释放综合征)。因此，离体T细胞(例如，CAR T细胞、TIL、T细胞表达外源性受体(例如，外源性TCR))可以在施用于受试者时利用抗TCRβV抗体来激活和扩增而没有CRS或减轻CRS严重性。

实施例2：体外再激活抗TCRβV抗体激活和扩增的纯化T细胞没有诱导CRS相关的细胞因子

[0307] 首先用抗TCRβV抗体与板结合的抗体将健康供体PBMC或纯化的T细胞离体激活5天。然后，在T细胞耗尽的自体PBMC存在(图11A)或不存在(图12A)的情况下用新鲜板结合的抗TCRβV抗体或抗CD3ε抗体刺激抗TCRβV抗体激活和扩增的细胞2天。

[0308] 当板结合的抗TCRβV抗体用于激活人PBMC作为初级刺激时，T细胞细胞因子IFNγ被诱导(图11B)。在初级刺激之后，将板结合的抗TCRβV抗体或抗CD3ε抗体(OKT3)用于再刺激来自初级刺激的人PBMC。相比于用抗CD3ε抗体再刺激的抗TCRβV抗体激活的T细胞，用抗TCRβV抗体再刺激抗TCRβV抗体激活的T细胞导致更高的IFNγ诱导(图11C)。

[0309] 当板结合的抗TCRβV抗体用于激活人PBMC作为初级刺激，然后用板结合的抗TCRβV抗体再刺激时，相比于用板结合的抗CD3ε抗体激活人PBMC作为初级刺激而后用板结合的抗CD3ε抗体再刺激，T细胞诱导的IL-6和IL-1β的水平较低(图12B和图12C)。此外，当板结合的抗TCRβV抗体用于激活人PBMC作为初级刺激而后用板结合的抗TCRβV抗体再刺激时，T细胞诱导IFNγ，正如用板结合的抗TCRβV抗体激活人PBMC作为初级刺激而后用板结合的抗CD3ε抗体再刺激也诱导IFNγ(图12D)。数据表明，抗TCRβV抗体扩增的T细胞保持功能活性，并且在用抗TCRβV抗体或抗CD3抗体再激发时没有诱导CRS相关的细胞因子。

实施例3：抗TCRβV抗体激活和扩增的CAR T细胞的离体扩增

[0310] 对于以下所有激活条件，将抗体以100nM(在PBS中)在37℃下涂覆到24孔BD Falcon平底板上2小时。然后，在使用前，将板用500μl新鲜PBS洗涤一次。测试的三个单独条件包括：条件1：等量的TCRβV克隆型特异性抗体H131和16G8(在PBS中各50nM)；条件2：等量的TCRβV克隆型特异性抗体H131和16G8(在PBS中各50nM)和IL2(含有300U/mL rIL-2(目录号Pr21269，ProMab)的培养基；条件3：使用等量的抗CD3ε和抗CD28抗体(在PBS中各50nM)。

[0311] 将来自三个单独的健康人供体的PBMC以1x 10^6个细胞/ml在培养基(AIM V-AlbuMAXmedium(ThermoFisher)，含有10％FBS和10ng/ml IL-2(ThermoFisher))中稀释。在

激活的第1天，将0.5ml(0.5x 10^6/孔)的PBMC接种到抗体包被的24孔板(上述条件)上并且温育24小时。在激活的第2天，将PBMC用包含抗CD19嵌合抗原受体(CAR)盒(Promab目录号PM-CAR1007，CD19SCFV-FLAG-CD28-CD3ζ)的慢病毒颗粒转导(图15)。在转导之前，抽吸培养基并且用含有TransPlus转导增强子(1μl的TransPlus，ProMab目录号V050，在500μl培养基中)的新鲜培养基将其更换。将包含CD19 CAR-T构建体的慢病毒颗粒以10:1的MOI添加至每个孔，并且使板振摇以充分混合。将所有条件的细胞从此点在IL2(含有300U/mL rIL-2(目录号Pr21269，ProMab)的培养基)的存在下进一步扩增。使T细胞继续扩增9天，并且在激活后第5天和第9天时收集样品以确定T细胞计数。激活后九天时，收集细胞，并且通过流式细胞术来分析CAR-T表达。16G8-PE标记的抗体用于确定克隆型βV阳性CAR-T细胞增加的百分比。分析了在已用慢病毒转导的细胞上的总CAR表达(抗CD19-Flag-CAR)；并且确定了CD3+T细胞的CD4/CD8 T细胞的比率。

[0312] 在激活后6天(图16)和9天(图17)时，来自条件2和条件3培养物的活细胞数近似于或相当于条件1培养物的活细胞数。在激活后9天时，来自条件2和条件3培养物的CD3+T细胞数近似于或相当于条件1培养物的CD3+T细胞数(图18)。在激活后9天时，来自条件2和条件3培养物的CD4:CD8+T细胞的比率近似于或相当于条件1培养物的CD4:CD8+T细胞的比率(图19)。如上所述，16G8-PE标记的抗体用于确定克隆型βV阳性CAR-T细胞增加的百分比。如图20中所示，相比于条件1，克隆型βV阳性CAR-T细胞的百分比在条件2和条件3中增高。如上所述，CAR构建体中的FLAG标签用于确定表达CAR的T细胞的百分比。图21中所示数据表明，在条件1和条件2下激活的T细胞包含大约相同或更大百分比的表达嵌合抗原受体的T细胞。

[0313] 激活后九天时，分析了每种条件中的细胞数(表11)。如表11中所示，CAR-T细胞在实验条件1和条件2中扩增。

表11.激活后9天时的细胞计数

细胞	激活的方法		
	抗 CD3/CD28 抗体 (条件 1)	抗 TCRβV 抗体 +IL2 (条件 2)	抗 TCRβV 抗体 (条件 3)
	细胞计数（百万）		
供体 010 T 细胞	72	38.7	32.2
供体 010 CAR T 细胞	69.6	34.4	36.9
供体 541 T 细胞	62.4	39.4	29.6
供体 541 CAR T 细胞	63.6	45.3	38.4

供体871 T细胞	31.2	17	20
供体871 CAR T细胞	39.6	21.9	23.1

实施例4:TCRβV 6-5刺激之后T细胞扩增的动力学

[0314] 为了评估抗TCRβv 6-5扩增的T细胞的动力学和绝对计数——将PBMC或纯化的T细胞用板固定的抗TCRvb 6-5抗体以100nM的T细胞激活抗体刺激8天。测试的T细胞激活抗体包括:i)抗TCRvb6-5v1抗体;ii)抗TCRvb 6-5v2;iii)OKT3(抗CD3ε抗体);iv)SP34-2(抗CD3ε抗体);和v)IgG1 N297A(同种型对照)。每天收集细胞团块并且染色CD3、CD4、CD8和TCRvb 6-5以供流式分析。

[0315] 用抗TCRvb 6-5v1扩增TCRvb 6-5+T细胞超过8天,示于图23中,通过流式细胞术进行评估。数据是针对单个代表性供体;并且对于来自另两个独立供体的PBMC,发现相似的结果。图25进一步显示通过TCRvb 6-5v1、TCRvb 6-5+CD4+T细胞和TCRvb 6-5+CD8+T细胞的特异性扩增。相比之下,通过OKT3没有特异性TCRvb 6-5+T细胞扩增(图24;图26)。图27A和图27B显示在人PBMC(图27A)和纯化的T细胞(图27B)中TCRβV 6-5+T细胞的选择性扩增。

[0316] 图28A-30表明,在PBMC培养物(图28A和28B)或纯化的T细胞培养物(图29A和29B))中,在8天后,抗TCRβV和抗CD3ε抗体使T细胞扩增至相当的水平,如通过TCRVB 6-5+T细胞的相对计数(图28A-29B)和总CD3+T细胞的相对计数(图28A-30)测量的。

实施例5:激活的TCRvb 6-5+T细胞发挥细胞溶解功能

[0317] 为了评估用抗TCRVβ激活/扩增的T细胞的介导肿瘤细胞溶解的能力——将纯化的T细胞用固定化的T细胞激活抗体以100nM刺激超过6天。测试的T细胞激活抗体包括:i)TCRvb 6-5v1抗体;ii)OKT3(抗CD3ε抗体);或iii)IgG1 N297A(同种型对照)。每天添加靶细胞(RPMI-8226细胞)并且与激活的T细胞以5:1的初始效应T细胞:靶(E:T)细胞比率温育48小时。使用CFSE/CD138和DRAQ7 FACS染色来测量靶细胞溶解的量化。使用了三种不同的T细胞供体(供体6769、供体9880、供体54111)。数据表明,TCRVb 6-5v1激活的T细胞的靶细胞溶解的动力学与TCRvb 6-5+T细胞的扩增相关(图31)。

[0318] 为了进一步评估靶细胞溶解,将OKT3或TCRvb 6-5v1抗体固定(板包被),从100nM的最高剂量浓度以1/2 log系列稀释,用于纯化的T细胞(分离的pan CD3)激活。在添加靶细胞之前,将纯化的T细胞用激活板刺激0(即,无抗体预激活)至4(即用抗体预激活)天。将靶细胞(RPMI8226)添加至激活板(以初始E:T细胞比率,5:1)长达6天(即,对于板0,E:T共同培养6天,而对于板4,E:T共同培养2天),然后通过CFSE/CD138和DRAQ7 FACS染色进行靶细胞溶解量化。数据表明,在没有T细胞预激活的情况下,大约3%的Vb细胞能够在第6天(以较高浓度)杀死靶细胞(图32A);而在T细胞预激活的情况下,大约25%的Vb细胞能够第6天杀死靶细胞(杀伤曲线向左偏移)(图32B)。在T细胞被预激活4天时,当与抗CD3ε相比时,TCRvb 6-5v1激活的T细胞表现出相当的最大靶细胞溶解(图33)。在100nM下,TCRvb 6-5v1激活显示出与抗CD3ε激活(图34)(取决于在靶细胞存在下培养48h的供体和培养物而在4-6天之间预激活)相当的靶细胞杀伤。

实施例6:评估抗TCRvb 6-5抗体所致的TCRvb下调/内化

[0319] 为了评估抗TCRvb 6-5介导的T细胞激活对TCRvb的细胞表面表达的影响——将纯化的T细胞用所示的T细胞激活抗体(板结合的)以100nM刺激超过8天。T细胞激活抗体包括:i)抗TCRvb 6-5v1抗体;或ii)SP34-2(抗CD3ε抗体)。每天收集细胞团块并且染色CD3、CD4、CD8和TCRβV 6-5以供流式细胞术分析。测试了总共三个供体,每一个都显示相似的结果。

[0320] 结果表明,抗CD3ε和抗TCRvb抗体二者激活的CD4+T细胞(图35)和激活的CD8+T细胞(图36)显示出减少的CD3ε细胞表面表达;而在T细胞激活后在CD4+T细胞(图37)和CD8+T细胞(图38)上的TCRvb 6-5细胞表面表达保持可检测到的。结果表明,在由抗CD3ε或抗TCRvb抗体激活的T细胞中,CD3ε亚单位被下调/内化;而在T细胞激活后TCRvb 6-5保持可检测到的。此外,CD4和CD8染色没有显示这些受体被两种抗体中的任一种下调的任何迹象。

实施例7:抗TCRβV抗体的食蟹猴交叉反应性

[0321] 为了评估抗TCRβV抗体对食蟹猴TCRβV克隆型的交叉反应性——将新鲜的和冷冻保存的食蟹猴PBMC在完全培养基(含有10%FBS的RPMI)中在组织培养物处理的平底96孔板(其预涂覆有抗TCRβV 6-5v1或抗CD3ζ抗体,100nM浓度)中培养。阴性对照或未经刺激的孔仅仅接受PBS。利用CytoFlex流式细胞仪(Beckmann Coulter)评价培养物中6天后TCRβV 6-5的表达并对其成像。使用了两个供体样品:供体DW8N——新鲜PBMC样品,雄性,8岁,体重7.9kg(数据示于图39A中);供体G709——冷冻保存的样品,雄性,6岁,体重4.7kg(数据示于图39B中)。数据表明,食蟹猴T细胞被抗TCRβV 6-5v1激活和扩增(图39A和图39B)。将来自供体DW8N的已显示TCRvb 6-5扩增的新鲜食蟹猴PBMC冷冻保存并且在冷冻保存一周之后,将细胞解冻并且用抗CD3ξ和抗TCRvb 6-5v1刺激七天。簇形成和扩增二者均可再现,如图40中所示。

实施例8:抗TCRβV抗体未激活γδT细胞

[0322] 为了确定抗TCRvb抗体是否能够激活γδT细胞——将γδT细胞通过磁珠分离而从人PBMC纯化。将γδT细胞固定在板包被的抗CD3ε(SP34-2)或抗TCRvb 6-5(抗TCRvb 6-5v1)抗体上24小时并且通过流式细胞术分析CD69和CD25表达。激活后2天、5天和7天时收集上清液,并且利用Meso Scale Discovery(MSD)测定来分析细胞因子。在γδT细胞纯化之前,对PBMC进行FACS门控/染色,显示出γδT细胞是vβ6-5阴性(供体12657——基于FMO对γδT和TCRvβ6-5门控)(图41)。对纯化的γδT细胞进行FACS门控/染色,表明纯化的γδT细胞是vβ6-5阴性(供体12657——基于FMO对γδT和TCRvβ6-5门控)(图42)。如图43中所示,抗TCR Vβ6-5抗体(抗TCRvb 6-5v1)没有激活γδT细胞;而抗CD3ε抗体(SP34-2)激活γδT细胞。细胞因子分析表明,抗TCRβV 6-5v1不诱导γδT细胞释放细胞因子,分析的细胞因子包括IFNγ、TNFα、IL-2、IL-17A、IL-1α、IL-1β、IL-6和IL-10(图44A-44H)。

实施例9:抗TCRVβ抗体所致的多克隆T细胞扩增

[0323] 为了评估抗TCRVβ抗体诱导多克隆T细胞扩增的能力——将人CD3+T细胞用磁珠分离(阴性选择)来分离并且用固定的(板包被的)抗TCRβV 6-5v1以100nM激活6天。将扩增的T细胞群洗涤并且用Takara单细胞溶解缓冲剂溶解以供SMART(er)TCR cDNA合成和测序。进行了TCR测序,并且确定了不同TCRαV和J区段和TCRβV、D和J区段的绝对计数以及相对表示,以及它们各自的不同变体,其产生于在V(D)J重组期间Artemis/TdT活性,并且对应于T细胞的独有克隆。图45显示以下结构的相对表示:所有TCRαV区段(基因的TRAV组)及其变体(顶部)、所有TCRβV区段6-5变体(TRBV6-5基因)(左下部)以及所有TCRβV区段及不包括6-5的变

体(右底部)。数据表明,抗TCRVβ抗体刺激在TRBV6-5阳性群内不诱导特异性T细胞克隆的增殖,因为在该群中克隆代表的相对差异与TRBV6-5阴性群和总的TRAV使用相当。

实施例10:抗TCRβV扩增的T细胞代表最近激活的效应T细胞的新亚群

[0324] 为了评估抗TCRβV扩增的T细胞的表型——将纯化的T细胞用固相抗TCRβV抗体以100nM的所示T细胞激活抗体刺激8天:i)抗TCRvb 6-5v1抗体;ii)抗TCRvb 6-5v2;iii)OKT3(抗CD3ε抗体);或iv)IgG1 N297A(同种型对照)。通过FACS染色特异性表面标志物来鉴定T细胞亚群:幼稚T细胞(CD4/CD8+、CD45RA+、CCR7+);T干细胞记忆(TSCM;CD4/CD8+、CD95+、CD45RA+、CCR7+);T中枢记忆(TCM;CD4/CD8+、CD95+、CD45RA-、CCR7+);T效应记忆(TEM;CD4/CD8+、CD95+、CD45RA-、CCR7-);T效应记忆再表达CD45RA(TEMRA;CD4/CD8+、CD95+、CD45RA+、CCR7-);和CD27、CD28、4-1BB、OX40和ICOS。数据代表了超过5个独立实验。

[0325] 数据表明,由抗TCR Vβ抗体(图46A)而非OKT3(图46B)扩增的CD4+T细胞与T_{EMRA}亚群共有表型标志物。同样,数据表明,由抗TCR Vβ抗体(图47A)而非OKT3(图47B)扩增的CD4+T细胞与T_{EMRA}亚群共有表型标志物。对PD1表达的进一步分析表明,相对于抗CD3ε激活的CD4+T细胞(图48A)和CD8+T细胞(图48B),抗TCR Vβ激活的CD4+T细胞(图48A)和CD8+T细胞(图48B)显示出的PD1表达增加。相对于抗CD3ε激活的CD4+T细胞(图49A)和CD8+T细胞(图49B),这些抗TCR Vβ激活的CD4+T细胞(图49A)(PD-1+TEMRA表型)和抗TCR Vβ激活的CD8+T细胞(图49B)(PD-1+TEMRA表型)表现出Ki-67富集的表型。

[0326] 对CD57表达的进一步分析表明,相对于抗CD3ε激活的CD8+T细胞(图50B),抗TCR Vβ激活的CD8+T细胞(图50A)没有显示出增加的CD57表达。同样,对CD27和CD28表达的分析表明,相对于抗CD3ε激活的CD8+T细胞(图51),抗TCR Vβ激活的CD4+T细胞(图51顶部)和抗TCR Vβ激活的CD8+T细胞(图51底部)没有显示出增加的CD27和CD28表达。

[0327] 对OX40、41BB和ICOS表达的进一步分析表明,相对于抗CD3ε激活的CD8+T细胞(图52),抗TCR Vβ激活的CD4+T细胞(图52顶部)和抗TCR Vβ激活的CD8+T细胞(图52底部)显示出增加的OX40、41BB和ICOS表达。

[0328] 利用时移流式细胞术来进一步分析抗TCR Vβ抗体扩增的T细胞的TEMRA样表型以评价激活后不同的时间点CD45RA和CCR7的表达。将分离的人T细胞用固定的(板包被的)抗CD3ε或抗TCR Vβ以100nM激活1-8天。在每天(第1、2、3、4、5、6、8天)激活之后,通过FACS染色以下细胞的表面标志物来鉴定T细胞亚群:幼稚/TSCM T细胞(CD4+/CD8+、CD45RA+、CCR7+)、T中枢记忆(TCM;CD4+/CD8+、CD95+、CD45RA-、CCR7+)、T效应记忆(TEM;CD4+/CD8+、CD95+、CD45RA-、CCR7-)和T效应记忆再表达CD45RA(TEMRA;CD4+/CD8+、CD95+、CD45RA+、CCR7-)。TCRβV+T细胞通过TCR Vβ+染色来鉴定。FACS染色的样品通过流式细胞术分析进行分析。数据示出来自3个供体之一的CD4+T细胞的代表。

[0329] 图54显示一系列FACS图,示出用BCMA和抗TCR Vβ抗体抗TCR Vβ6-5v1激活后1、2、3、4、5、6和8天时CD3+(CD4门控的)TCRβV 6-5+T细胞的百分比。分析了用同种型对照(IgG1N297A)、抗TCRβV(抗TCR Vβ6-5v1)或抗CD3ε(OKT3)抗体扩增的CD4+T细胞在激活后第0天(图55A)、激活后第1天(图55B)、激活后第2天(图55C)、激活后第3天(图55D)、激活后第4天(图55E)、激活后第5天(图55F)、激活后第6天(图55G)和激活后第8天(图55H)时的百分比。相比于用OKT3抗体扩增的那些,在用抗TCR Vβ6-5v1抗体扩增的CD4+TCR Vβ6-5+T细胞培养物中,表达CD45RA和CCR7二者的TEMRA样T细胞的百分比显示TEMRA样细胞群的增加。相

似结果在CD8+T细胞的情况中可见。结果进一步表明，当相比于通过抗CD3ε(OKT3)激活的纯化的T细胞时，通过抗TCRβV 6-5激活的纯化的人T细胞直接分化成TEMRA亚群并且增殖。

[0330] 总之，数据表明，抗TCRβV抗体激活和扩增的T细胞代表最近激活的效应T细胞的新亚群，其与T_{EMRA}共有表型标志物。这不同于抗CD3e扩增的T细胞，其分化成T_{CM}和T_{EM}。TCRβV扩增的T细胞是高增殖性的并且没有上调衰老标志物CD57 OX40，在抗TCRβV激活的T细胞上4-1BB和ICOS被上调。

实施例11:通过多次传代Jurkat细胞上TCRβV6-5的表达水平

[0331] 为了评估TCRβV6-5+Jurkat的传代次数和培养条件对TCRβV6-5表达水平的影响——将TCRβV+Jurkat细胞维持在IMDM生长培养基(其含有10％Hi-FBS、2mM L-Glu、1％Pen/Strep、55μM BME)中，并且将亲代E6.1 Jurkat细胞维持在含有10％Hi-FBS的RPMI生长培养基中，细胞密度在1x105与1x106个细胞/mL之间。收获细胞并且用AOPi染色溶液(Nexcelom)进行计数。将$2x10^5$细胞(96-97％存活率)点种(plate)至96孔V底平板的每个孔并且用PBS洗涤两次。将细胞在100μL生存力染料中(eBioscience Fixable Viability Dye eFluor 780，目录号65-0865-14，1:1000稀释在PBS中)在4C下在暗处温育30分钟。将细胞在PBS中洗涤两次并且在100μL的市售抗TCRβV 6-5-PE Ab(Beckman Coulter，目录号IM2292，1:10稀释在FACS缓冲液(PBS+0.5％BSA)中)中在4C下在暗处温育30分钟。为了补偿，将珠粒分别用存活力染料或Ab染色并且在4C下在暗处温育30分钟。将细胞和珠粒在FACS缓冲液中洗涤两次，并在100μL固定缓冲液(4％PFA/PBS，Biolegend，目录号420801)中在4C下在暗处温育30分钟。将细胞在FACS缓冲液中洗涤两次，并将细胞和珠粒重悬在120μL FACS缓冲液中并在Cytoflex S上获取以供分析。数据表明，TCRβV6-5^+Jurkat细胞的传代次数和培养条件不影响TCRβV6-5的表达水平(图53)。

实施例12:抗TCRβV激活的细胞中的差异化基因表达

[0332] 将纯化的T细胞用固相抗TCRβV抗体用所示的T细胞激活抗体以100nM刺激超过6天:i)抗TCRvb 6-5v1抗体;ii)OKT3(抗CD3ε抗体);或iii)SP34-2(抗CD3ε抗体)。将扩增的T细胞通过离心而后通过RNA提取进行收集。利用nCounter Technology(Nanostring)而后用nSolver分析工具分析基因表达来计数778个免疫学相关基因。数据代表3个供体。发现了在用抗TCRvb 6-5v1抗体激活的细胞与未经刺激的细胞之间(图56A)；在用OKT3激活的细胞与未经刺激的细胞之间(图56B)；在用SP34-2激活的细胞与未经刺激的细胞之间(图56C)；以及在用抗TCRvb 6-5v1抗体激活的细胞与OKT3激活细胞之间(图56D)的基因表达差异。但是，在用OKT3激活的细胞与用SP34-2激活的细胞之间没有检测到基因表达差异(图56E)。发现了在不同激活的T细胞之间，差异性表达的基因的大部分是相似的(图57A-57D)。图58示出被差异地调节并与各种细胞途径相关的基因的途径评分的热图。纯化的T细胞样品包括未经刺激的(n＝3)、OKT3刺激的(n＝3)、SP34-2刺激的(n＝3)，以及抗TCRβV 6-5v1刺激的(n＝3)。在OKT3刺激的T细胞与SP34-2刺激的T细胞之间观察到相似的模式。

[0333] 图59A-59D示出通过用所示抗体激活而被上调或下调的或未经刺激的途径，包括细胞因子和趋化因子途径(图59A)；TNF超家族和白介素途径(图59B)；T细胞功能和衰老途径(图59C)；以及细胞周期和细胞毒性途径(图59D)。

[0334] 图60A示出通过用所示抗体激活而被差异性表达的T细胞功能途径中的基因的总体途径评分；图60B示出通过用所示抗体激活而被差异性表达的衰老途径中的基因的总体

途径评分。数据表明，αTCRβV6-5v1激活的T细胞是功能性的并且可存活的。

[0335] 图61A-图61J示出用所示抗体、OKT3、SP34-2或抗TCRβV 6-5v1激活的细胞或未经刺激的细胞中的基因的差异性调节。被分析的基因包括粒酶B(图61A)和穿孔素(图61B)，示出用αTCRβV 6-5v1抗体激活的细胞中与细胞毒性功能相关的基因的上调。用抗TCRβV 6-5v1抗体激活的T细胞对IL-2(图61C)和LIF(图61D)的表达增加表明抗TCRβV 6-5v1扩增的T细胞是高增殖性的。用抗TCRβV 6-5v1抗体激活的T细胞对IFNγ(图61E)和IL-22(图61F)的表达增加表明抗TCRβV 6-5v1扩增的T细胞是高活性的。用抗TCRβV 6-5v1抗体激活的T细胞示出抗TCRβV 6-5v1还表现出对共刺激性分子CD40LG(图61G)和ICOS(图61H)的表达增加。用抗TCRβV 6-5v1抗体激活的T细胞示出抗TCRβV 6-5v1还表现出对IFNγ-介导的抗肿瘤细胞因子CCXL9(图61I)和CXCL10(图61J)的表达增加。

[0336] 对激活和耗尽检查点标志物PD-1(PDCD1)、LAG3、Tim-3(HAVCR2)、CTLA4、BTLA、CD244(2B4)、CD160、CD39(ENTPD1)和TIGIT的主成分分析表明，相比于用抗CD3ε抗体激活的T细胞(图62)，αTCRβV 6-5v1扩增的T细胞表现出较少的消耗。对共刺激性标志物CD27、CD28、CD96、CD40LG、ICOS、TNFRSF9(4-1BB)、CD276、CSF2(GM-CSF)、CD80、CD86、CCL3和CCL4的主成分分析显示出差异性上调，其中在用αTCRβV 6-5v1抗体激活的T细胞中上调CSF2(GM-CSF)、CD80、CD86、CCL3和CCL4；而在用抗CD3ε激活的T细胞中上调CD27、CD28、CD96、CD40LG、ICOS、TNFRSF9(4-1BB)和CD276(图63)。该分析进一步显示，在用αTCRβV 6-5v1抗体激活的T细胞中趋化因子介导的激活基因CXCR3、CXCL9和CXCL10的上调(图63)。对调节性基因的主成分分析显示，αTCRβV 6-5v1扩增的T细胞缺少调节功能(图64)。

[0337] 总之，数据显示，CD3ε扩增的T细胞或αTCRβV 6-5v1扩增的T细胞共有许多差异性表达的基因；并且αTCRβV 6-5v1激活的T细胞表达高水平的细胞溶解效应物、增殖性标志物，并且相比于CD3ε激活的T细胞显示较少的消耗。

实施例13：αTCRβV激活的T细胞的代谢状态

[0338] 为了评价用αTCRβV抗体激活的T细胞的代谢表型——将来自PBMC的幼稚T细胞用板结合的抗CD3抗体(OKT3)或抗TCRβV抗体(抗TCRβV 6-5v1抗体)刺激和扩增5天。然后，在激活的T细胞被冷冻保存之前置于包含IL-2的培养基中2天。在测定设置之前，将细胞解冻，并且分别用板结合的抗CD3 Ab(克隆OKT3)或抗TCRβV抗体(抗TCRβV 6-5v1抗体)再刺激3天。将等数量的肝细胞点种在海马盒(Seahorse cartridge)上并且根据生产商的说明进行实时ATP速率测定。数据表明，相比于用OKT3抗体激活的T细胞，在来自3个供体(来自单供体的代表性结果示于图65A-65B中)的用抗TCRβV 6-5v1抗体激活的T细胞中由糖酵解(图65A)氧化磷酸化(图65B)产生的ATP增加(观察到ATP产量增长平均3倍)；而一个供体在抗TCRβV 6-5v1和OKT3 Ab刺激的细胞中表现出相等水平的ATP产量(数据未示出)。

[0339] 相比于用OKT3抗体激活的T细胞，在用抗TCRβV 6-5v1抗体激活的T细胞中增加的线粒体呼吸进一步示于图66中，其示出用所示抗体激活的T细胞从约0至75分钟的耗氧速率(OCR)。图66中的数据来自单个供体；测试的第二供体表现出在抗TCRβV 6-5v1和OKT3 Ab刺激的细胞中的相等水平的ATP产量(数据未示出)。图67A-67C示出在基础呼吸期间用所示抗体激活的T细胞的耗氧速率(OCR)(图67A)、最大呼吸(图67B)和备用呼吸能力(图67C)。将细胞点种在含有葡萄糖和谷氨酰胺的培养基中以测量基础OCR。将FCCP(ETC加速剂)添加到细胞培养基中以确定最大呼吸能力/最大OCR。将抗霉素&鱼藤酮(ETC抑制剂)添加到细胞培养

基中以确定备用呼吸能力和非线粒体耗氧量。数据示于图67A-67C中，相比于α-CD3(OKT3)激活的T细胞，α-TCRβV 6-5v1激活的T细胞具有显著增加的基础呼吸、最大呼吸和备用呼吸能力(数据来自单个供体)。测试了第二供体，其表现出在抗TCRβV 6-5v1和OKT3 Ab刺激的细胞中相等水平的ATP产量(数据未示出)。图67D显示分别示于图67A和图67B中的基础呼吸和最大呼吸的区域。

[0340] 为了确定观察到的代谢增加是由于T细胞刺激的差异，还是用抗TCRβV抗体激活的T细胞的分化阶段所固有的，将TCRβV 6-5+T细胞用板结合的抗TCRβV 6-5v1 Ab扩增5天。然后将细胞置于含有IL-2的培养基中2天并冷冻保存。一经解冻，就将细胞用抗TCRβV6-5v1再刺激3天。然后对细胞进行计数，并将等数量的肝细胞再接种并分别用板结合的抗CD3 Ab(克隆OKT3)或抗TCRβV 6-5v1刺激24小时。将等数量的肝细胞接种在海马盒上并且进行实时ATP速率测定。

[0341] 结果表明，一经用α-CD3抗体OKT3相比于用α-TCRβV 6-5v1抗体进行再刺激，用抗TCRβV 6-5v1激活的T细胞的糖酵解(图68A)和氧化磷酸化(图68B)产生的ATP显著增加。观察到的用抗TCRβV6-5v1激活的T细胞的代谢增加似乎由于在分化成这些细胞时固有的差异。相比于CD3激活的T细胞，用抗TCRβV 6-5v1激活的T细胞具有增加的代谢，其可以借助OKT3用强T细胞刺激来进一步增强。

[0342] 总之，结果表明，用抗TCRβV抗体激活的T细胞具有代谢记忆表型。由于耗尽的T细胞已降低代谢，所以细胞未被代谢耗尽。α-TCRβV 6-5v1-刺激诱导T细胞分化阶段，其是高代谢活性的，表示效应记忆表型。当这些细胞被其他T细胞接合物(OKT3)再刺激时，此代谢表型得以保持。

实施例14:TCRβV 6-5+T细胞未呈现病毒特异性记忆T细胞

[0343] 为了评估TCRβV 6-5+T细胞是否呈现病毒特异性记忆T细胞——利用两种不同方法来制备TCRβV 6-5+T细胞。方法1:将全部CD3 T细胞首先通过磁珠阴性选择(Miltenyi Biotec)进行分离，而后用微珠(以2:1T细胞:珠粒比率)(涂覆有抗CD2/CD3/CD28抗体(Miltenyi Biotec，每1亿个珠粒、每个抗体10ug)和重组人IL-2(Roche，20U/ml))激活FACS分选的TCRβV 6-5+T细胞(>95％纯度)或pan T细胞6天;并将激活/扩增的TCRβV 6-5+T细胞针对与供体细胞HLA-匹配的病毒特异性四聚体染色，并且通过流式细胞术进行分析。方法2:首先通过磁珠阴性选择(Miltenyi Biotec)分离全部CD3 T细胞，而后用板结合的抗TCRβV 6-5抗体v1(100nM)或OKT3(100nM)刺激全部T细胞6天，而后添加rhIL-2(Roche，50U/ml)再继续2天;以及将激活/扩增的TCRβV 6-5+T细胞针对与供体细胞HLA-匹配的病毒特异性四聚体染色，并且通过流式细胞术进行分析。

[0344] 数据表明，TCRvβ6-5+CD8+T细胞不是CMV(pp65)特异性的(图69A)(方法1);EBV(LMP2)特异性的(图69B)(方法1);EBV(混合肽)特异性的(图69C)(方法1);流感特异性的(图69D(方法1);图69E(方法2))。结果的总结进一步提供在图69F中。总之，数据表明，TCRβV 6-5+T细胞似乎未呈现通常的病毒特异性(CMV、EBV和流感)特异性CD8+T细胞。上述两种方法(方法1和方法2)表现出相似的肽结合结果。

实施例15:抗TCRβV刺激的PBMC介导对NK细胞扩增的刺激

[0345] 为了评估抗TCRβV刺激的PBMC是否介导NK细胞的体外扩增——用100nM的板包被的抗TCRβV 6-5v1抗CD3ε(OKT3和SP34-2)刺激人PBMC长达7天。通过FACS染色CD3-/CD56+/

CD16+/NKp46+群来鉴定NK细胞。通过恒定的μl样品(表示为每个供体的相对计数)来确定NK细胞计数。NK细胞介导的靶细胞溶解在刺激后6天来确定,其中收获PBMC并且将其与K562靶细胞共培养4小时以通过DRAQ7存活力FACS染色来确定细胞杀伤。

[0346] 结果表明,相比于OKT3刺激,抗TCRβV刺激增加NK细胞数(图70;图71)。FACS CFSE染色进一步显示NK细胞增殖(图72)。图73和图74显示NK细胞介导的靶K562细胞溶解。总之,抗TCRβV 6-5抗体诱导NK细胞在PBMC中扩增;并且此作用不可能通过NK细胞上的FcR介导,因为抗CD3ε抗体不扩增NK细胞。抗TCRβV 6-5v1扩增的NK细胞介导体外有效的靶细胞(K562)溶解。

[0347] 除了以上使用抗TCRβV 6-5v1抗体进行的实验之外,还利用识别不同克隆型的抗TCRβV抗体进行相似实验。在一个实验中,抗TCRβV 12抗体:抗TCRvβ12-3/4v1、抗TCRvβ12-3/4v2和抗TCRvβ12-3/4v3用于激活/扩增PBMC,利用所示T细胞激活抗体以100nM固相(板包被的)刺激6天,如上所述。使用NKp46和CD56(CD3阴性)对NK细胞进行流动分析。数据从3个供体产生并且代表1个独立实验。

[0348] 用同种型对照或抗CD3ε抗体OKT3或SP34-2激活/扩增PBMC未诱导NK细胞的扩增(图90;图92)。但是,用抗TCRvβ12-3/4v1(图91)、抗TCRvβ12-3/4v2(图91)和抗TCRvβ12-3/4v3(图92)激活/扩增PBMC都诱导NK细胞扩增。总之,数据表明,抗TCRvb12抗体能够体外诱导来自PBMC培养物的NK细胞的扩增。

实施例16:体外抗TCRβV刺激的浓度反应

[0349] 用所示T细胞激活抗体以所示不同浓度固相(板包被的)刺激人PBMC:i)抗TCRvb6-5v1抗体;ii)OKT3(抗CD3ε抗体)或iii)SP34-2(抗CD3ε抗体)。在第1天、第3天和第5天收集上清液,并且通过利用Meso Scale Discovery(MSD)测定对细胞因子进行量化。分析了细胞因子IFNγ(图75)、IL-2(图76)、IL-15(图77)、IL-1β(图78)、IL-6(图79)和IL-10(图80)的产量。结果表明,用抗TCRvb激活的T细胞缺乏CRS相关细胞因子诱导,这不是由于高抗体浓度引起的抑制或毒性的结果。

实施例17:抗TCRβV抗体激活的T细胞相比于用抗CD3ε抗体激活的T细胞具有不同的细胞因子释放曲线

[0350] 为了评估与用抗CD3ε抗体相比,用抗TCRβV抗体激活/扩增的T细胞的细胞因子释放曲线——将PBMC在细胞培养板(其涂覆有固定的抗TCRβV抗体抗TCRβV 6-5v1或抗CD3ε抗体,OKT3或SP37-2)中进行培养。将细胞培养1-8天,收集上清液,并用Meso Scale Discovery(MSD)测定来分析细胞因子。测试了来自多个不同人供体的T细胞样品。

[0351] 图81示出来自17个供体的数据汇总。来自时间点(第3天及以后)的最高总体细胞因子分泌用于进一步分析。对于每个供体,将每个数据点相对于最高分泌进行归一化,并且显示为占最高的相对%(置信区间为0.95百分位数)。数据表明,相比于用抗CD3ε抗体激活/扩增的T细胞,用抗TCRβV抗体激活/扩增的T细胞释放较少IFNγ、TNFα、IL-1β、IL-4、IL-6、IL10和IL-17;同时释放增加量的IL-2(图81)。

[0352] 采用前述方法但改变培养时间的一系列实验利用来自不同供体的PBMC进行。在一个实验中,将来自四个不同供体的PBMC在板(其涂覆有固定的抗TCRβV抗体抗TCRβV 6-5v1或抗CD3ε抗体OKT3或SP37-2)中培养1-6天。数据证实,相比于抗CD3ε抗体激活/扩增的T细胞,用抗TCRβV抗体激活/扩增的T细胞释放较低水平的IFNγ(图82A)、IL-1β(图82B)、IL-4

(图82C)、IL-6(图82D)、IL10(图82E)和TNFα(图82F)和较高水平的IL-2(图82G)。

[0353] 在第二实验中,将来自六个不同供体的PBMC在板(其涂覆有固定的抗TCRβV抗体抗TCRβV 6-5v1或抗TCRβV 6-5v1;或抗CD3ε抗体OKT3或SP37-2,或同种型对照)中培养1-6天。数据证实,相比于抗CD3ε抗体激活/扩增的T细胞,用抗TCRβV抗体激活/扩增的T细胞释放较低水平的IFNγ(图83A)、IL-1β(图83B)、IL-4(图83C)、IL-6(图83D)、IL10(图83E)和TNFα(图83F)和较高水平的IL-2(图83G)。

[0354] 在第三实验中,将来自三个不同供体的PBMC在板(其涂覆有固定的抗TCRβV抗体抗TCRβV 6-5v1或抗TCRβV 6-5v1;或抗CD3ε抗体OKT3或SP37-2,或同种型对照)中培养1-8天。数据证实,相比于抗CD3ε抗体激活/扩增的T细胞,用抗TCRβV抗体激活/扩增的T细胞释放较低水平的IFNγ(图84A)、IL-1β(图84B)、IL-4(图84C)、IL-6(图84D)、IL10(图84E)和TNFα(图84F)和较高水平的IL-2(图84G)。

[0355] 在第四实验中,将来自两个不同供体的PBMC在板(其涂覆有固定的抗TCRβV抗体抗TCRβV 6-5v1或抗TCRβV 6-5v1;或抗CD3ε抗体OKT3或SP37-2,或同种型对照)中培养2-7天。数据证实,相比于抗CD3ε抗体激活/扩增的T细胞,用抗TCRβV抗体激活/扩增的T细胞释放较低水平的IL-17A(图85A)。在第五实验中,将来自四个不同供体的PBMC在板(其涂覆有固定的抗TCRβV抗体抗TCRβV 6-5v1或抗TCRβV 6-5v1;或抗CD3ε抗体OKT3或SP37-2,或同种型对照)中培养2-8天。数据证实,相比于抗CD3ε抗体激活/扩增的T细胞,用抗TCRβV抗体激活/扩增的T细胞释放较低水平的IL-17A(图85B)。在第六实验中,将来自两个不同供体的PBMC在板(其涂覆有固定的抗TCRβV抗体抗TCRβV 6-5v1或抗TCRβV6-5v1;或抗CD3ε抗体OKT3或SP37-2,或同种型对照)中培养2-7天。数据证实,相比于抗CD3ε抗体激活/扩增的T细胞,用抗TCRβV抗体激活/扩增的T细胞释放较低水平的IL-17A(图85C)。在第七实验中,将来自两个不同供体的PBMC在板(其涂覆有固定的抗TCRβV抗体抗TCRβV 6-5v1或抗TCRβV 6-5v1;或抗CD3ε抗体OKT3或SP37-2,或同种型对照)中培养2-7天。数据证实,相比于抗CD3ε抗体激活/扩增的T细胞,用抗TCRβV抗体激活/扩增的T细胞释放较低水平的IL-17A(图85D)。

[0356] 利用TCRβV抗体抗TCRβV 6-5v1或抗TCRvb 12-3/4v1进行一系列相似实验以进一步评估相比于抗CD3ε抗体激活/扩增的T细胞,用抗TCRβV抗体激活/扩增的T细胞的细胞因子释放曲线。如上所述,将PBMC在细胞培养板(其涂覆有固定的抗TCRβV抗体抗TCRβV 6-5v1或抗TCRvb 12-3/4v1;或抗CD3ε抗体OKT3或SP37-2,同种型对照;或与抗TCRβV 6-5v1组合)中培养。将细胞培养1-8天,收集上清液,并用Meso Scale Discovery(MSD)测定来分析细胞因子。数据产生于2个供体并且代表2个独立实验。

[0357] 数据证实,相比于抗CD3ε抗体(OKT3或SP37-2)激活/扩增的T细胞,用抗TCRβV抗体抗TCRβV 6-5v1或抗TCRvb 12-3/4v1激活/扩增的T细胞分泌较低水平的IFNγ(图86A)、IL-1β(图86B)、IL-4(图86C)、IL-6(图86D)、IL10(图86E)、TNFα(图86F)和较高水平的IL-2(图86G)。其中还测试了分泌的IL-12p70(图86H)、IL-13(图86I)、IL-8(图86J)、趋化因子(Eotaxin)(图86K)、趋化因子-3(图86L)、IL-8(图86M)、IP-10(图86N)、MCP-1(图86O)、MCP-4(图86P)、MDC(图86Q)、MIP-1a(图86R)、MIP-1b(图86S)、TARC(图86T)、GMCSF(图86U)、IL-12-23p40(图86V)、IL-15(图86W)、IL-16(图86X)、IL-17a(图86Y)、IL-1a(图86Z)、IL-5(图86AA)、IL-7(图86BB)、TNF-B(图86CC)和VEGF(图86DD)。

[0358] 除了确定(上述)用αTCRβV抗体αTCRβV 6-5v1和αTCRβV6-5v2激活的T细胞的细胞

因子曲线之外，还用识别不同克隆型的额外的αTCRβV抗体进行测定。

[0359] 在一系列实验中，测试的抗体包括抗TCRvb 12-3/4v1、抗TCRvb 10和抗TCRvb 5。根据上述操作方案，将人PBMC用所示T细胞激活抗体(抗TCRvb 12-3/4v1、抗TCRvb 10、抗TCRvb 5或抗CD3ε抗体SP34)以100nM进行固相(板包被的)刺激。在第1天至第8天收集上清液，并且通过利用Meso Scale Discovery(MSD)测定对细胞因子进行量化。图88提供不同克隆型之间的序列的图形表示，突显了在此系列实验中测试的四个亚家族。相比于用抗CD3ε抗体SP34-2激活/扩增的PBMC，用抗TCRvb 12-3/4v1抗体(图89A)、抗TCRvb 10抗体(图89B)或抗TCRvb抗体(图89C)激活/扩增的PBMC表现出较低分泌水平的细胞因子释放综合征相关的细胞因子，包括IFNγ、TNFα、IL-1β、IL-2、IL-6和IL-10。

[0360] 在第二系列实验中，测试的抗体包括抗TCRVβ抗体：BJ1460、BJ1461、BJ1465、BJ1187、BJM1709；抗CD3ε抗体OKT3，和仅细胞对照。在第0天，将来自供体10749的PBMC解冻，并且连同来自两个新鲜供体(13836和14828)的PBMC进行计数。将200,000个在180uL的X-vivo培养基/孔(1x10e6个细胞/mL)的PBMC添加到圆底96孔板中——一个供体占板的1/3。将20uL的10X TCRVβ抗体以100nM或15μg/mL添加到该板的孔，并且一式三份之一的孔仅添加细胞。将该板保持在含有5％CO_2的37℃培养箱中。将细胞用所选的抗体刺激3天，并且从板采集50μL的上清液并储存在-20℃。将50μL的培养基添加回每孔，并且将该板保持在含有5％CO_2的37℃培养箱中。在第6天，将50μL的上清液从板的每个孔采集并储存在-20℃。将来自一式三份中的两个孔的细胞合并并且添加补充有huIL-2的培养基，将每个供体的细胞悬浮液转移到12-孔板中。将细胞温育过夜以允许静置并在IL-2中扩增。然后，对细胞进行特异性Vβ-克隆染色以便通过FACS分析来检测特异性Vβ-克隆扩增。利用Meso Scale Discovery(MSD)测定，在第3天和第6天的上清液样品中分析培养基中细胞因子(包括IFNγ、IL-10、IL-17A、IL-1α、IL-1β、IL-2、IL-6和TNFα)的浓度。数据证实，使用抗TCRβV抗体——BJ1460、BJ1461、BJ1465、BJ1187、BJM1709——中的任何抗体激活/扩增的PBMC细胞分泌较低水平的IFNγ(图93A)、IL-10(图93B)、IL-17A(图93C)、IL-1α(图93D)、IL-1β(图93E)、IL-6(图93F)、TNFα(图93G)和较高水平的IL-2(图93H)。FACS分析进一步表明表达所示TCRVβ克隆的T细胞的扩增(图94)。

[0361] 在第三系列实验中，测试的抗体包括抗TCRVβ抗体：BHM1675、BJM0816、BJ1188、BJ1189、BJ1190；和抗CD3ε抗体SP34-2。将所述抗体以100nM或15μg/mL的浓度以在PBS中的200μl/孔涂覆在96-孔圆底板中，在4℃下过夜或在37℃下保持最少2小时。在第二天将板用200μL的PBS和来自以下供体：CTL_123、CTL_323和CTL_392的0.2x10^6PBMC/孔进行洗涤。在第1天、第3天、第5天和第7天收集上清液样品。对上清液进行10-plex Meso Scale Discovery(MSD)测定以确定细胞因子(包括IFNγ、IL-10、IL-17A、IL-1α、IL-1β、IL-6、IL-4和IL-2)的浓度。在第7天之后，使细胞制成团块并且添加补充有IL-2的培养基再培养一天以允许扩增。通过FACS染色利用相同的激活抗体，然后是二抗人/小鼠FITC抗体来分析表达TCRVβ克隆的T细胞的扩增。活/死的CD4+和CD8+T细胞也用BHM1675、BJM0816、BJ1189和BJ1190抗体进行染色。数据证实，使用以下抗TCRβV抗体中的任何抗体——BHM1675、BJM0816、BJ1188、BJ1189、BJ1190——激活/扩增的PBMC细胞分泌较低水平的IFNγ(图95A)、IL-10(图95B)、IL-17A(图95C)、IL-1α(图95D)、IL-1β(图95E)、IL-6(图95F)、IL-4(图95G)和较高水平的IL-2(图95H)。FACS分析进一步表明，TCRVβ亚克隆T细胞被它们相应的激

活抗体扩增(图96)。

[0362] 在第四系列的实验中,测试的抗体包括抗TCRVβ抗体:BJ1538、BJ1539、BJ1558、BJ1559、BHM1709;和抗CD3ε抗体OKT3。将所示抗体以100nM或15μg/mL的浓度以在PBS中200μl/孔涂覆在96孔圆底板中,在4℃下过夜或在37℃下保持最少2小时。在第二天将板用200μL的PBS和来自以下供体:10749、5078和15562(冷冻和解冻的样品)的0.2x10^PBMC/孔进行洗涤。在第3天和第6天收集上清液样品。对上清液进行10-plex Meso Scale Discovery(MSD)测定以确定细胞因子(包括IFNγ、IL-10、IL-17A、IL-1α、IL-1β、IL-6、IL-4、TNFα和IL-2)的浓度。数据证实,使用以下抗TCRβV抗体中的任何抗体——BJ1538、BJ1539、BJ1558、BJ1559、BHM1709——激活/扩增的PBMC细胞分泌较低水平的IFNγ(图97A)、IL-10(图97B)、IL-17A(图97C)、IL-1α(图97D)、IL-1β(图97E)、IL-6(图97F)、IL-4(图97G)TNFα(图97H)和较高水平的IL-2(图97I)。

[0363] 总之,数据表明,识别不同TCRvb亚型的抗TCRvb抗体不诱导与CRS相关的细胞因子。

实施例18:在不交联的情况下抗TCRvb不激活T细胞

[0364] 为了评估在不交联的情况下二价抗TCRvb抗体是否激活T细胞——将来自2个供体的纯化的T细胞用板包被的或溶液中的抗TCRvb(TCRvb 6-5v1)或抗CD3e(SP34)刺激。在刺激后第1天、第3天、第5天和第7天收集上清液。利用MSD 10plex试剂盒(IFN-g、IL-10、IL-15、IL-17A、IL-1a、IL-1b、IL-2、IL-4、IL-6和TNF-a)来检测细胞因子分泌。

[0365] 结果表明,相比于用固定的抗TCRvb 6-5v1抗体(允许交联)激活/扩增的PBMC,用溶液中的抗TCRvb 6-5v1抗体激活/扩增的PBMC不诱导非常少的IFNγ分泌(图87A和图87B)。结果表明,用溶液中的抗TCRvb 6-5v1抗体激活/扩增的PBMC不诱导非常少的或无IL-1b(图87C和图87D)、IL-10(图87E)、IL-15(图87F)、IL-17A(图87G)、IL-1a(图87H)、IL-1b(图87I)、IL-2(图87J)、IL-4(图87K)、IL-6(图87L)和TNF-a(图87M)分泌。总之,数据表明,抗CD3ε在溶液中(无交联)激活T细胞;而抗TCRvb抗体在溶液中不激活T细胞。

实施例19:抗TCRVβ5-5,5-6抗体竞争结合

[0366] 为了评估结合TCRVβ5-5、5-6、TM23和MH3-2,不共有实质性的序列同源性的两个抗体是否竞争结合至重叠的表位——将纯化的MH3-2抗体缀合至AF647;并且将来自两个供体的T细胞与或不与500nM TM23一起预温育,然后用MH3-2 AF647染色。数据表明,与TM23预温育阻断MH3-2结合(图98和图99)。

实施例20.抗TCRVβ6-5抗体扩增的T细胞的多功能强度指数

[0367] 将PBMC的多功能强度指数(PSI)与抗CD3ε抗体扩增的CD4+T细胞(图100A)和CD8+T细胞(图100B)和抗TCRVβ6-5抗体扩增的(药物扩增的T细胞)CD4+T细胞(图100A)和CD8+T细胞(图100B)进行比较。PSI被定义为样品中多功能细胞的百分比乘以分泌的细胞因子的强度。数据表明,在用抗TCRVβ6-5抗体扩增的所有组中在CD4+T细胞(图100A)和CD8+T细胞(图100B)中PSI的上调较大。

实施例21:抗TCRVβ抗体激活和扩增的CAR T细胞的离体扩增

[0368] 在第0天将板涂覆抗体并将冷冻保存的PBMC(NK细胞耗尽)解冻并添加至板。将6个孔涂覆0.1μg/ml的CD3/CD28单克隆抗体,并将6个孔涂覆抗TCRVβ抗体BHM1675和BHM1709。PBMC来自三个供体177、178和890之一。将PBMC以1或2百万个细胞/ml悬浮于在有或没有IL-

2(10ng/ml)的CAR-T细胞培养基中。12种培养物概述于下表12中。在第1天添加具有转导增强子的病毒。将23μlPMC152病毒(FLAG-标记的抗CD19 CAR)连同IL-2(仅在第0天添加在不与IL-2一起温育的孔中)添加至每个孔。在第2天,添加(17μl)PMC152病毒(FLAG-标记的抗CD19 CAR)。在第4-11天,将细胞在培养物中扩增,并且在第7、9和11天对细胞数进行计数。在第11天对细胞进行分析。通过流式细胞术来分析细胞的CAR以及(1)CD45RA和CCR7或(2)CD26L和CD45RO的表达。流式细胞术染色方案示于图102中。将细胞用PE-抗FLAG A-AAD和CCR7-APC+CD45RA-FITC或CD26L-FITC和CD45RO-APC染色。对肝细胞进行门控。利用xCELLigence进行实时细胞分析(RTCA)细胞毒性测定进一步分析细胞。使用了HeLa-CD19靶细胞,并且通过ELISA对测定培养基进行IFNγ和IL-2水平测定。还将细胞冷冻保存——6个小瓶,每个小瓶每种培养物含有5-6百万个细胞。

表12.十二种培养条件

抗体	细胞	病毒	在第0天IL-2
α-CD3/CD28	1百万个/ml PBMC #177	无病毒	+IL-2
α-CD3/CD28	1百万个/ml PBMC #177	PMC152	+IL-2
BHM1675/BHM1709	2百万个/ml PBMC #177	PMC152	+IL-2
BHM1675/BHM1709	2百万个/ml PBMC #177	PMC152	无IL-2
α-CD3/CD28	1百万个/ml PBMC #178	无病毒	+IL-2
α-CD3/CD28	1百万个/ml PBMC #178	PMC152	+IL-2
BHM1675/BHM1709	2百万个/ml PBMC #178	PMC152	+IL-2
BHM1675/BHM1709	2百万个/ml PBMC #178	PMC152	无IL-2
α-CD3/CD28	1百万个/ml PBMC #890	无病毒	+IL-2
α-CD3/CD28	1百万个/ml PBMC #890	PMC152	+IL-2
BHM1675/BHM1709	2百万个/ml PBMC #890	PMC152	+IL-2
BHM1675/BHM1709	2百万个/ml PBMC #890	PMC152	无IL-2

[0369] 如图101A-101C中所示,在用抗TCRVβ抗体BHM1675和BHM1709激活时,相比于用α-CD3/CD28抗体激活的CAR-T细胞,CAR-T细胞相似地(稍微较低)扩增。数据进一步显示,当用抗TCRVβ抗体BHM1675和BHM1709激活CAR-T细胞时,第一天不需要IL-2(图101A-101C)。图103显示,相比于用α-CD3/CD28抗体激活CAR-T细胞,当将细胞用抗TCRVβ抗体BHM1675和BHM1709激活时,CAR-T细胞频率稍微更高(如通过流式细胞术测定的),并且IL-2没有以剂量依赖性方式影响CAR-T频率。图104A-104C显示,相比于用α-CD3/CD28抗体激活CAR-T细胞,当用抗TCRVβ抗体BHM1675和BHM1709激活细胞时,CAR-T细胞更加分化,并且取决于供体,IL-2可以增大CAR-T细胞分化。图105A-图105E显示,用抗TCRVβ抗体BHM1675和BHM1709激活的CAR-T细胞表现出与用α-CD3/CD28抗体激活的CAR-T细胞相当的细胞毒性;并且取决于供体,IL-2可以增大CAR-T细胞细胞毒性。图106显示,相比于用α-CD3/CD28抗体激活的

CAR-T细胞,用抗TCRVβ抗体BHM1675和BHM1709激活的CAR-T细胞产生较少的IFNγ。

实施例22:H131的表位映射

[0370] 将抗hFc生物传感器在PBS中平衡。配体:将BJM0898-20191004在PBS中稀释至10ug/mL。分析物:将BIM0444或BJM1170或BJM1171或BJM1172在PBS中稀释至250nM,然后沿着板连续稀释两倍。根据表13中的步骤进行测定。

表13.测定步骤

步骤时间	步骤类型名称
30	基线
至0.5nm	加载
30	基线
60	缔合
300	分解

[0371] 8个功能性人TCRVβ6家族序列的序列比对显示,在亚家族6-5中(图107)位置Q79、L101和S102处的3个独特的氨基酸是TCRVβ6-5独有的。相比于WT受体,在位置Q79、L101和S102处的丙氨酸置换显著地降低抗体H131与TCR的结合(图108A-108D)。

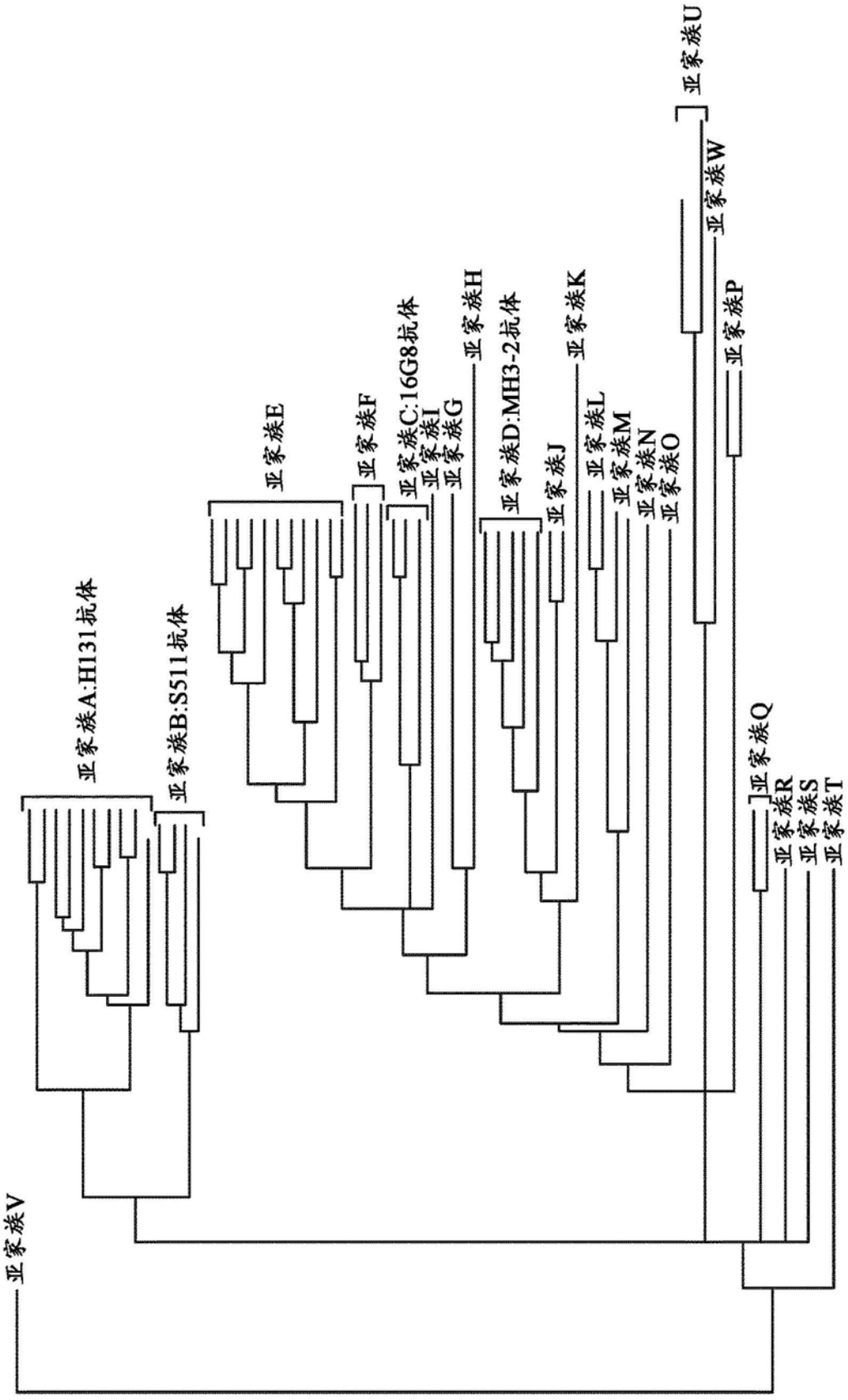

亚家族V
亚家族A:HI131抗体
亚家族B:S511抗体
亚家族E
亚家族F
亚家族C:16G8抗体
亚家族I
亚家族G
亚家族H
亚家族D:MH3-2抗体
亚家族J
亚家族K
亚家族L
亚家族M
亚家族N
亚家族O
亚家族U
亚家族W
亚家族P
亚家族Q
亚家族R
亚家族S
亚家族T

图1

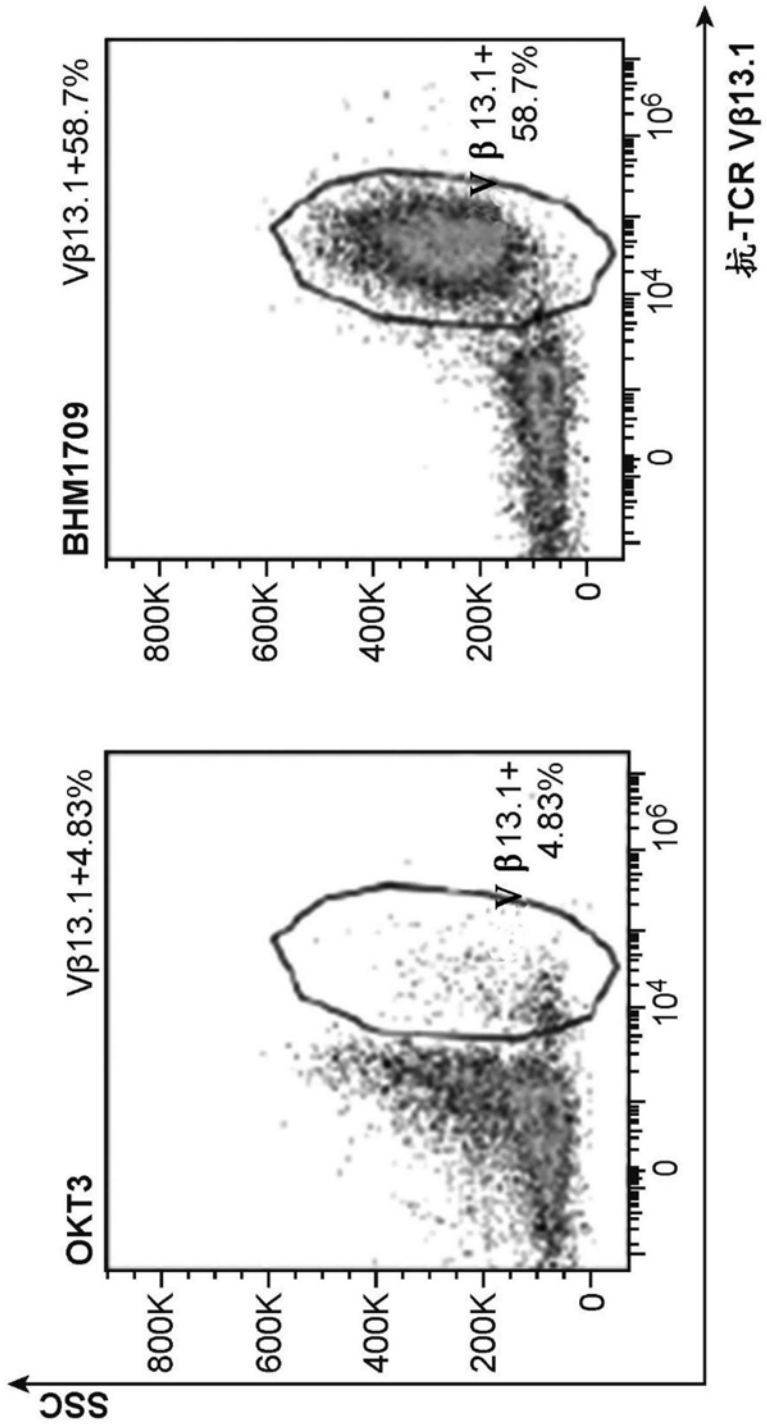

BHM1709
Vβ13.1+58.7%
Vβ13.1+
58.7%
OKT3
Vβ13.1+4.83%
Vβ13.1+
4.83%
800K
600K
400K
200K
0
SSC
0
10^4
10^6
抗-TCR Vβ13.1

图2A

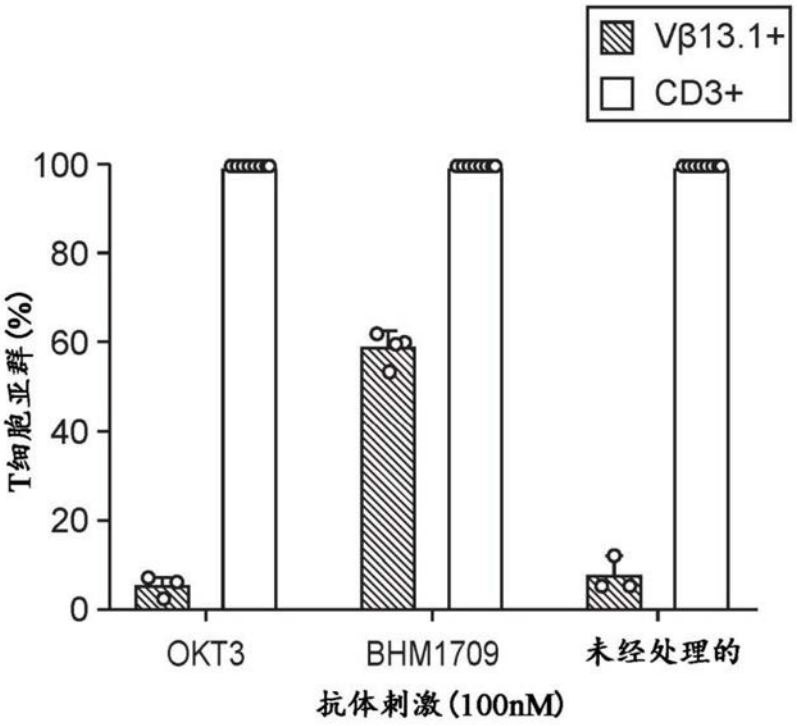

Vβ13.1+
CD3+
100
80
60
40
20
0
T细胞亚群(%)
OKT3
BHM1709
未经处理的
抗体刺激(100nM)

图2B

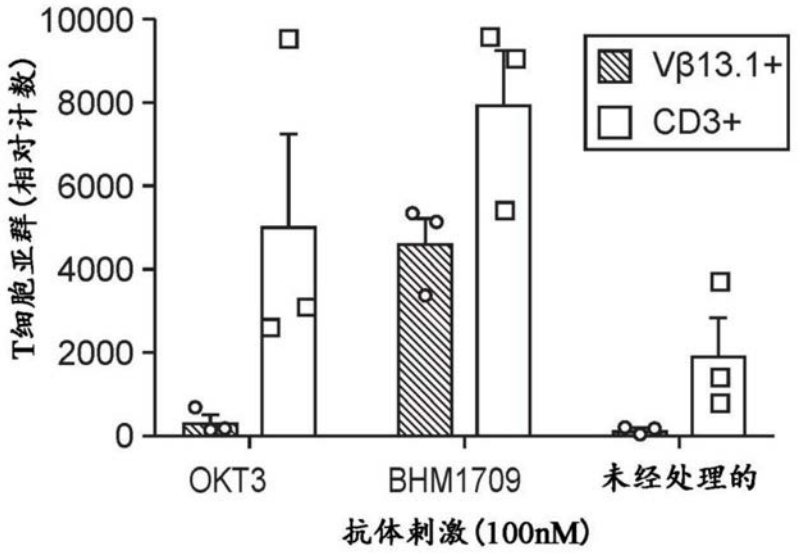

10000
8000
6000
4000
2000
0
T细胞亚群(相对计数)
Vβ13.1+
CD3+
OKT3
BHM1709
未经处理的
抗体刺激(100nM)

图2C

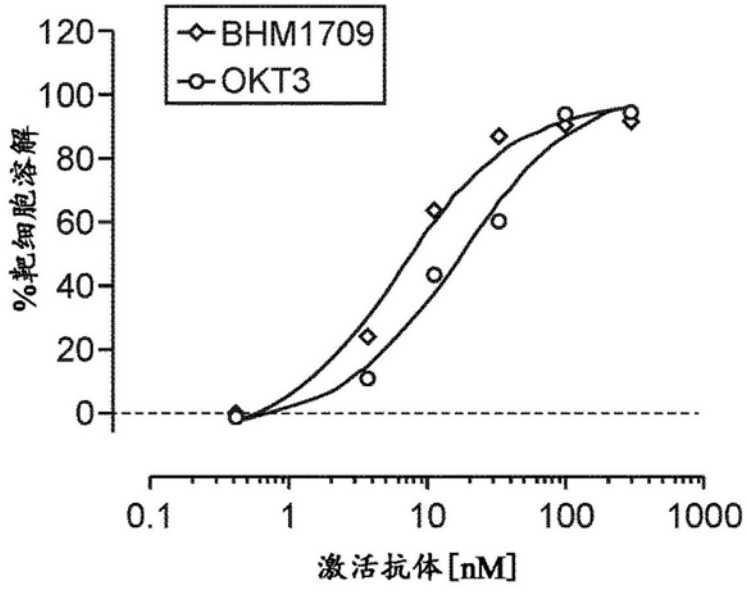

BHM1709
OKT3
%靶细胞溶解
120
100
80
60
40
20
0
0.1
1
10
100
1000
激活抗体[nM]

图3A

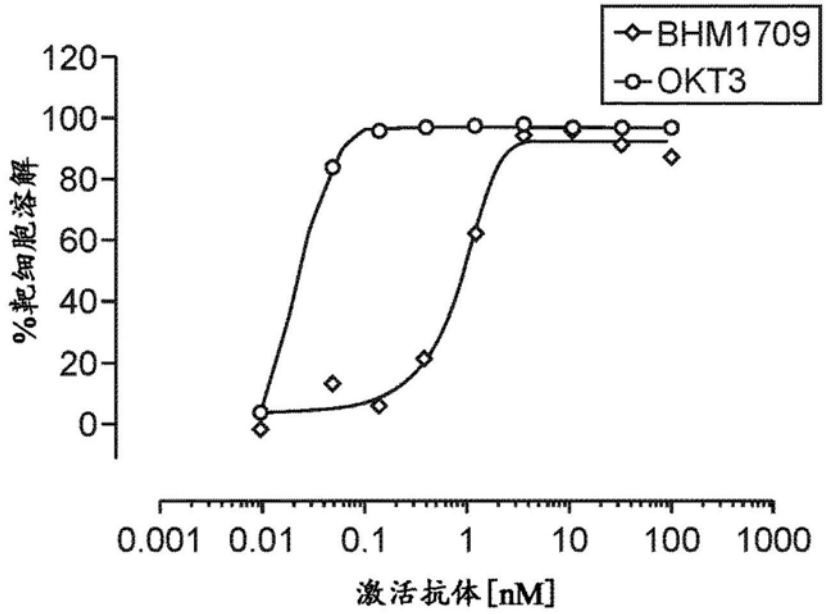

BHM1709
OKT3
%靶细胞溶解
120
100
80
60
40
20
0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
激活抗体[nM]

图3B

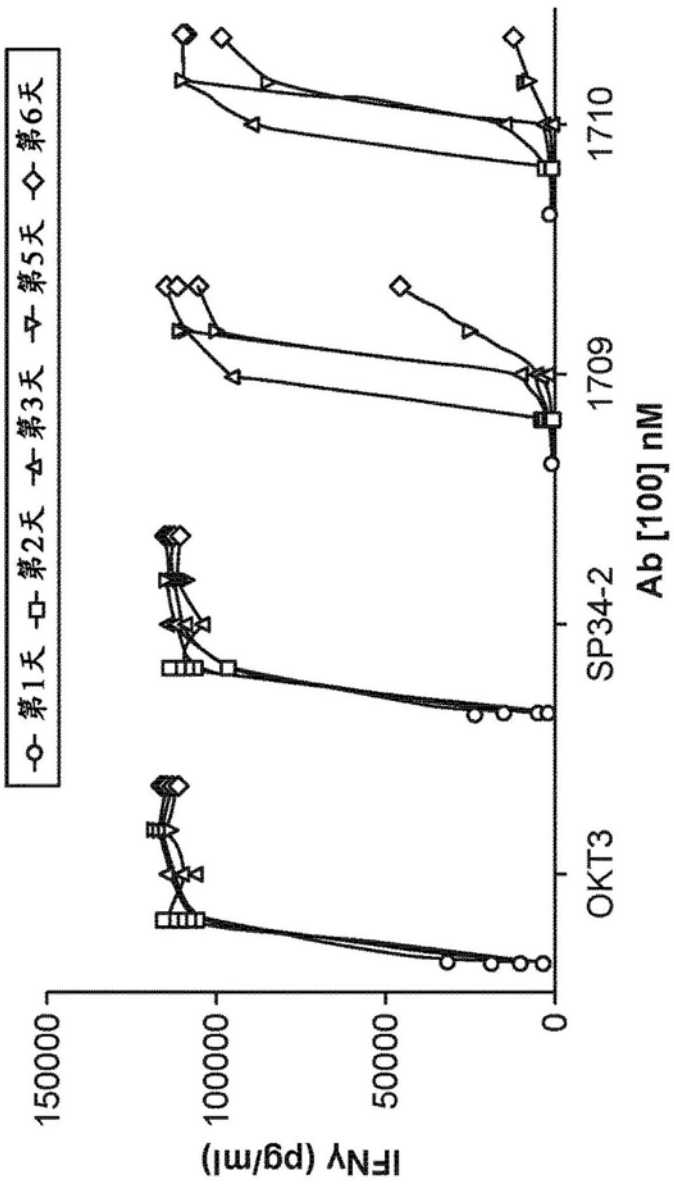

第1天
第2天
第3天
第5天
第6天
IFNγ (pg/ml)
150000
100000
50000
0
OKT3
SP34-2
1709
1710
Ab [100] nM

图4A

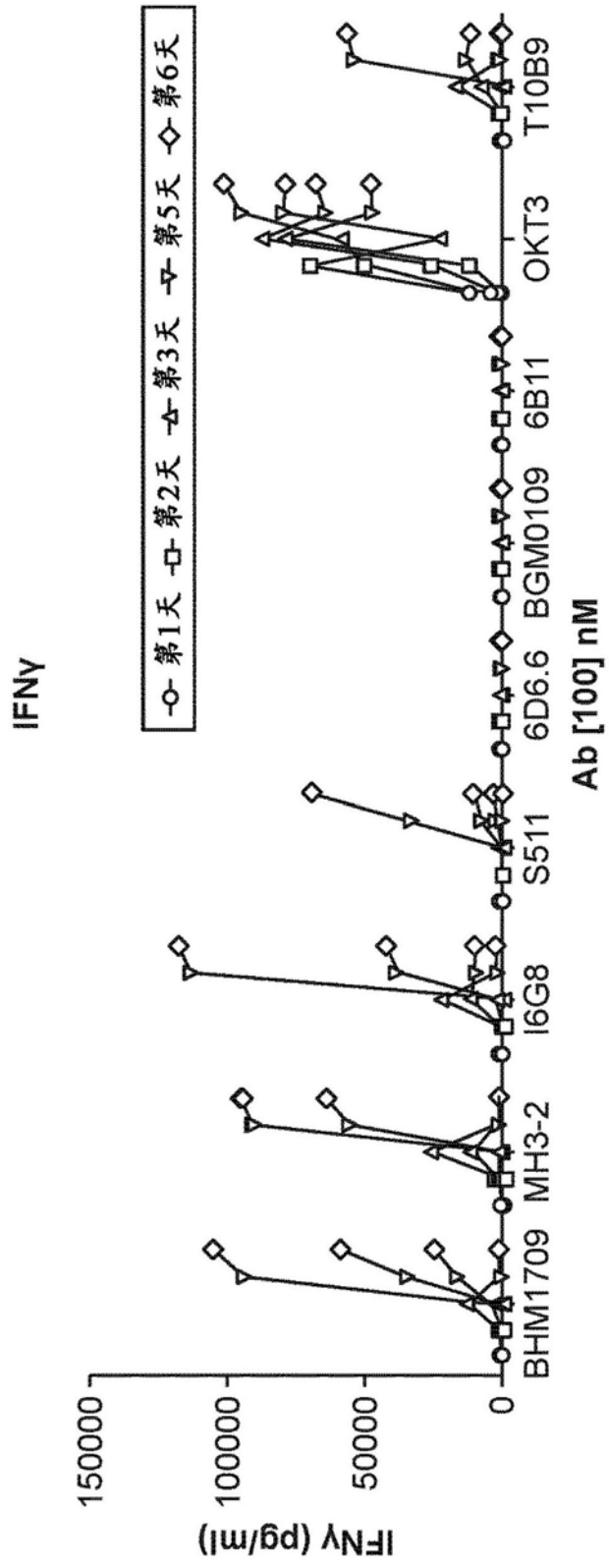

IFNγ
第1天
第2天
第3天
第5天
第6天
IFNγ (pg/ml)
150000
100000
50000
0
BHM1709
MH3-2
I6G8
S511
6D6.6
BGM0109
6B11
OKT3
T10B9
Ab [100] nM

图4B

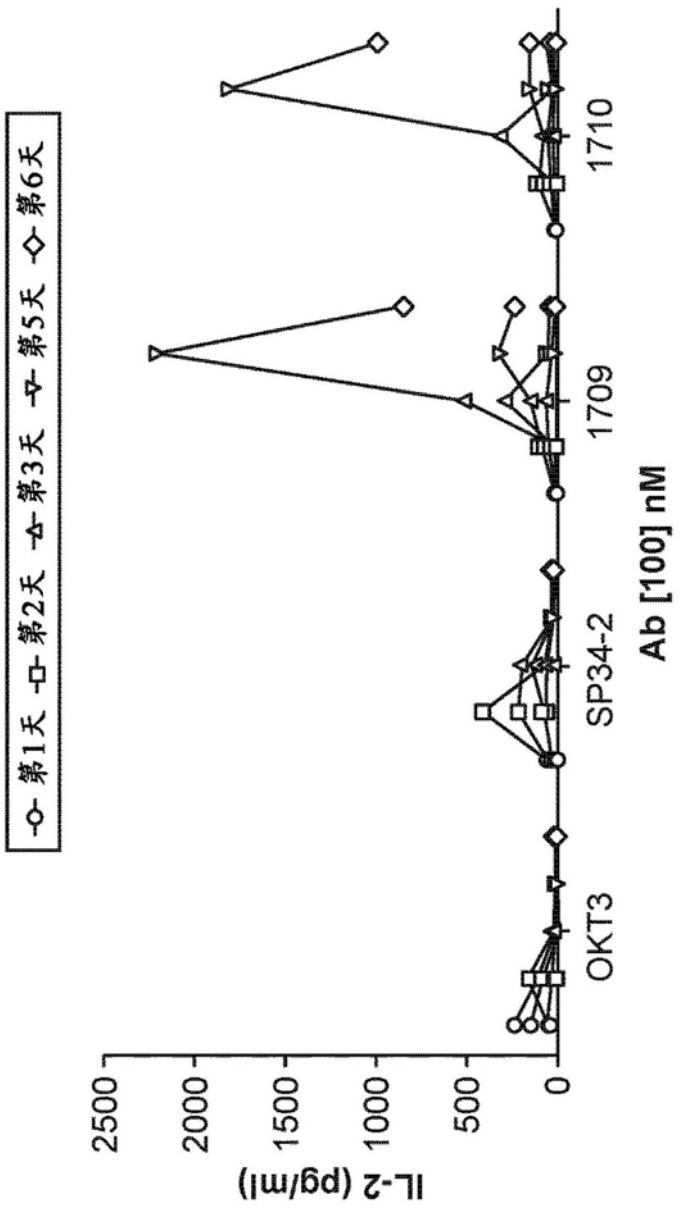

第1天
第2天
第3天
第5天
第6天
IL-2 (pg/ml)
2500
2000
1500
1000
500
0
OKT3
SP34-2
1709
1710
Ab [100] nM

图5A

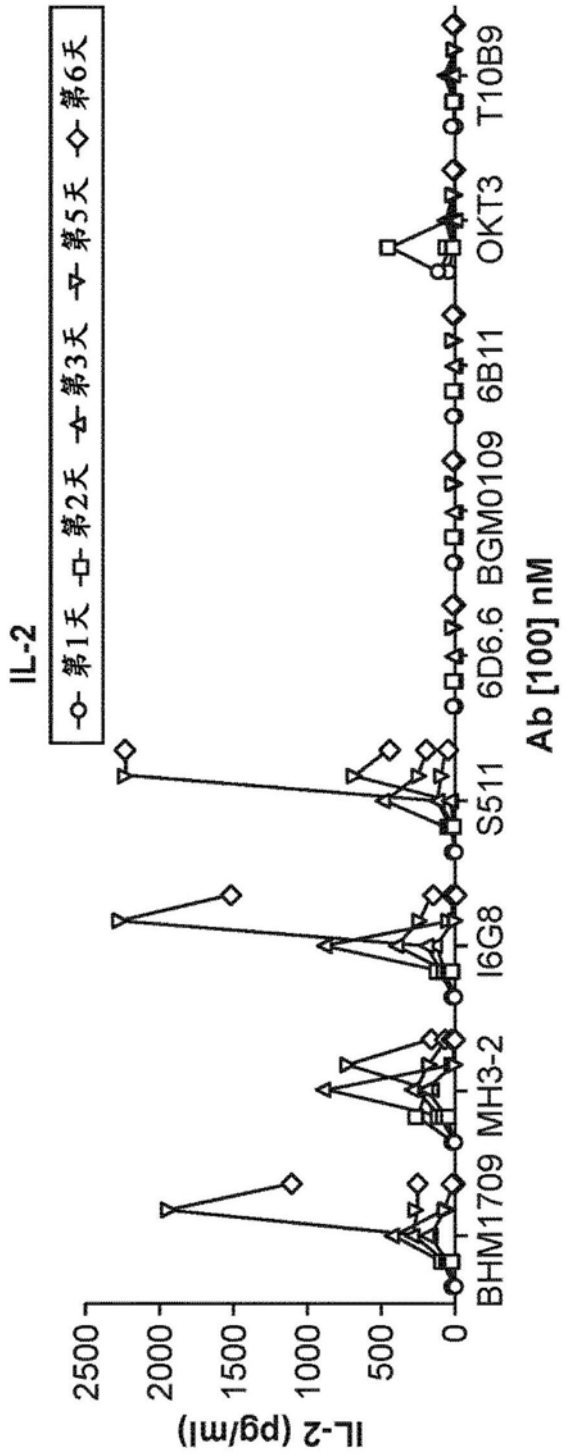

IL-2
第1天
第2天
第3天
第5天
第6天
IL-2 (pg/ml)
2500
2000
1500
1000
500
0
BHM1709
MH3-2
I6G8
S511
6D6.6
BGM0109
6B11
OKT3
T10B9
Ab [100] nM

图5B

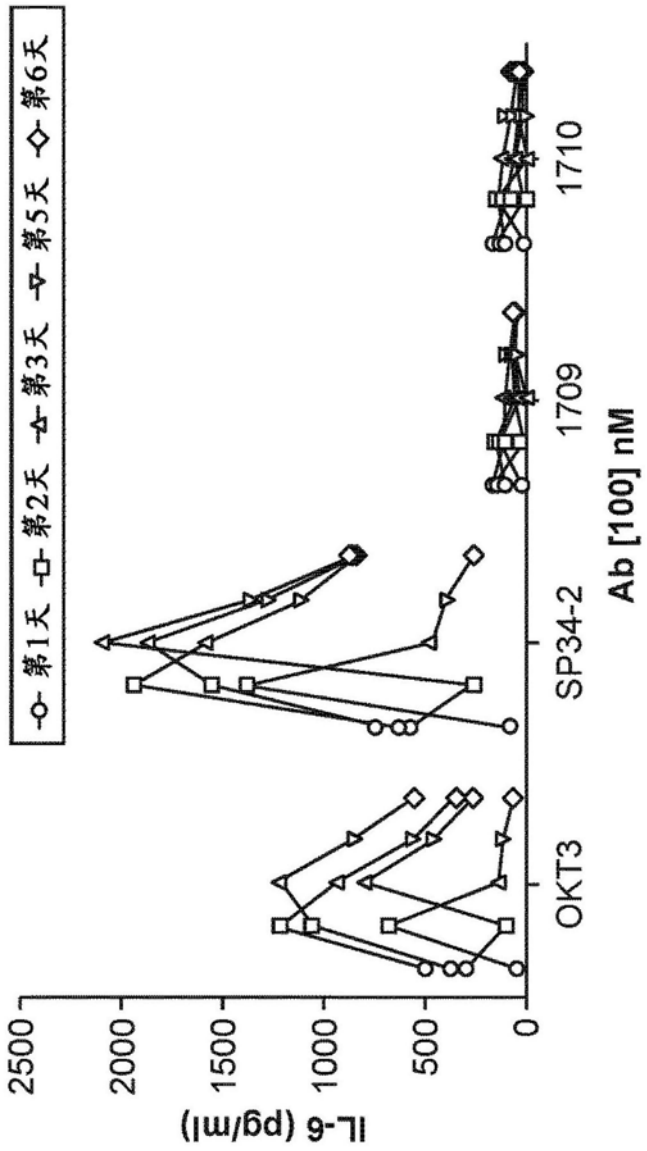

第1天
第2天
第3天
第5天
第6天
IL-6 (pg/ml)
2500
2000
1500
1000
500
0
OKT3
SP34-2
1709
1710
Ab [100] nM

图6A

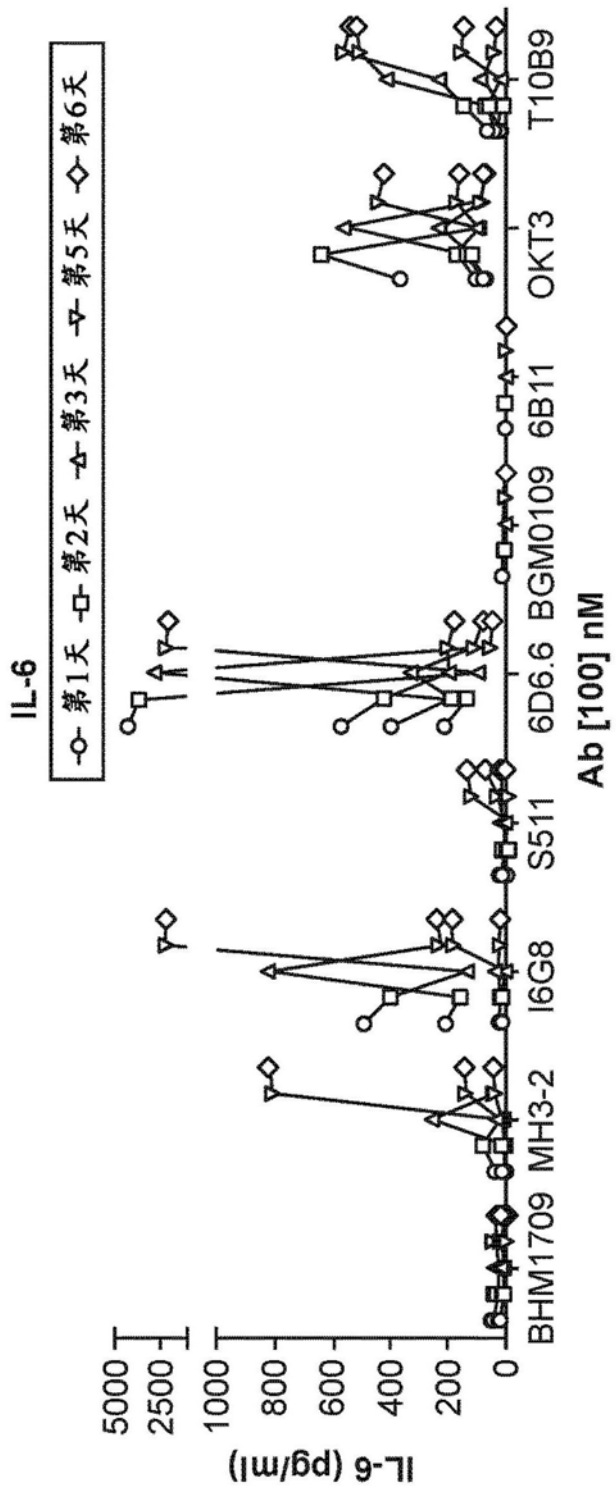

IL-6
第1天
第2天
第3天
第5天
第6天
IL-6 (pg/ml)
5000
2500
1000
800
600
400
200
0
BHM1709
MH3-2
I6G8
S511
6D6.6
BGM0109
6B11
OKT3
T10B9
Ab [100] nM

图6B

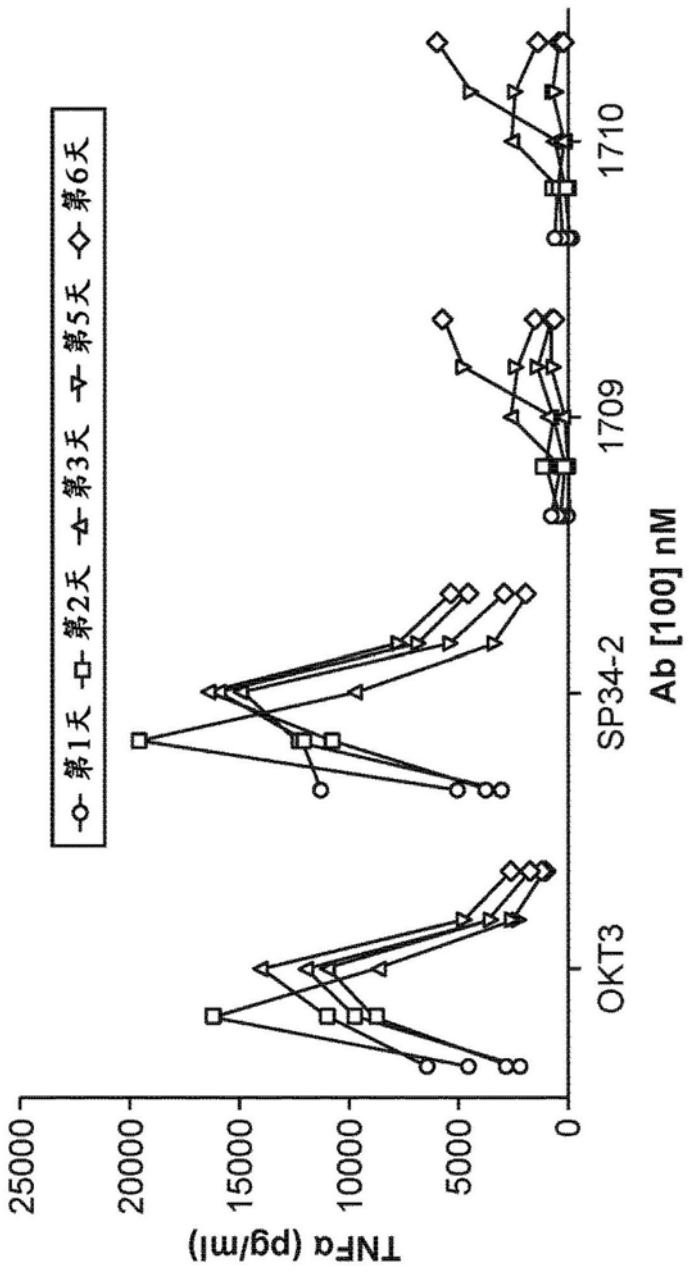

第1天
第2天
第3天
第5天
第6天
TNFα (pg/ml)
25000
20000
15000
10000
5000
0
OKT3
SP34-2
1709
1710
Ab [100] nM

图7A

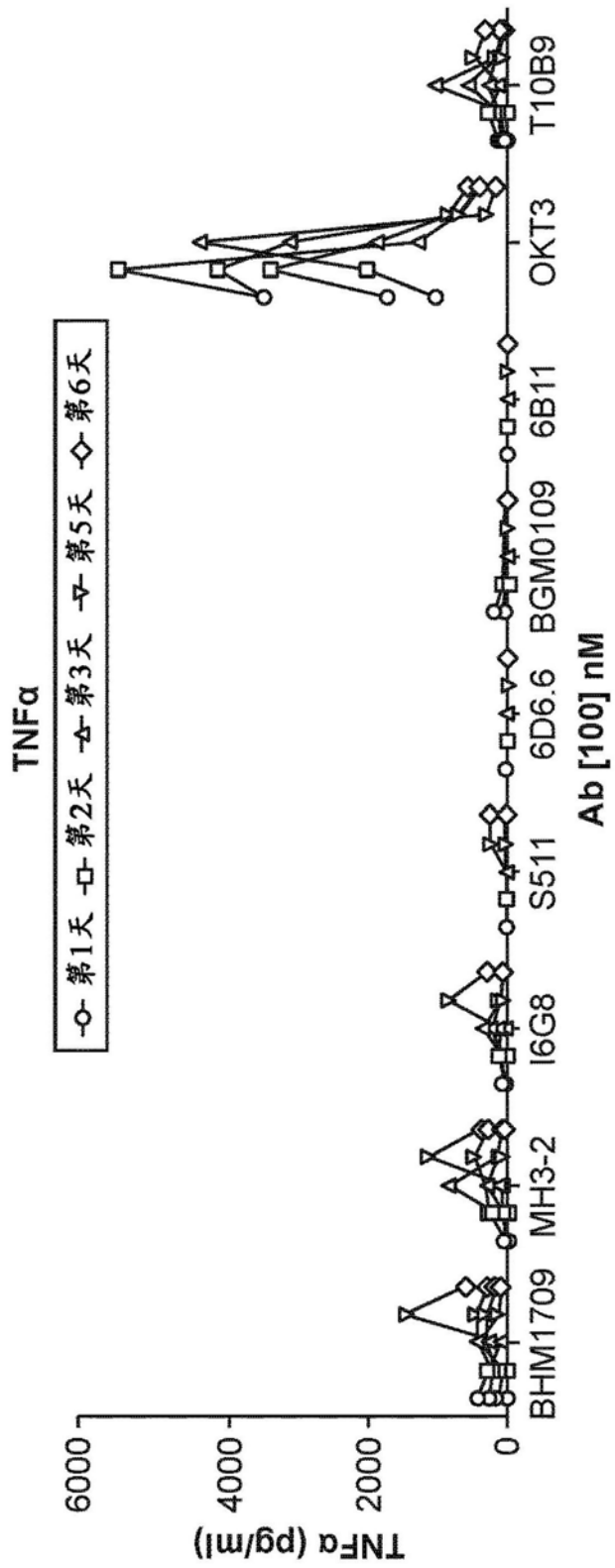

TNFα
第1天
第2天
第3天
第5天
第6天
TNFα (pg/ml)
6000
4000
2000
0
BHM1709
MH3-2
I6G8
S511
6D6.6
BGM0109
6B11
OKT3
T10B9
Ab [100] nM

图7B

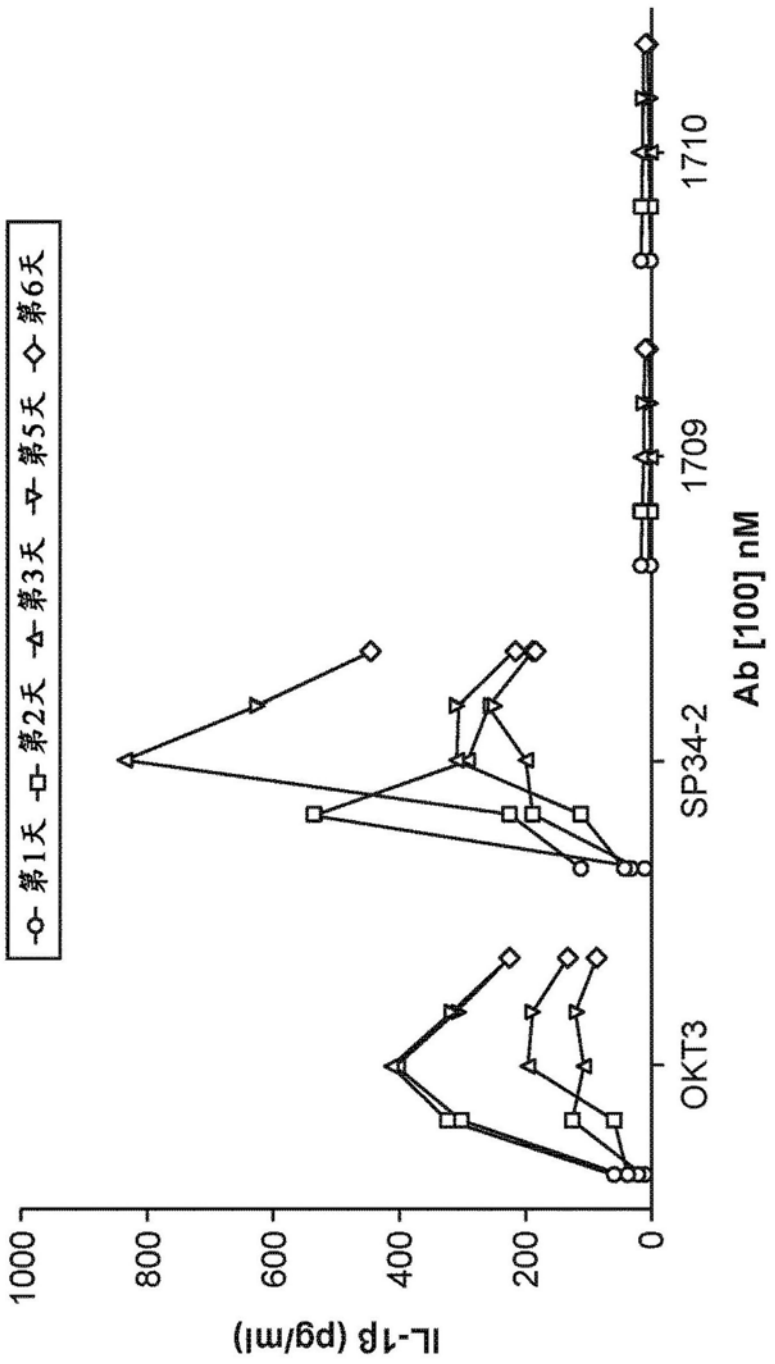

第1天
第2天
第3天
第5天
第6天
IL-1β (pg/ml)
1000
800
600
400
200
0
OKT3
SP34-2
1709
1710
Ab [100] nM

图8A

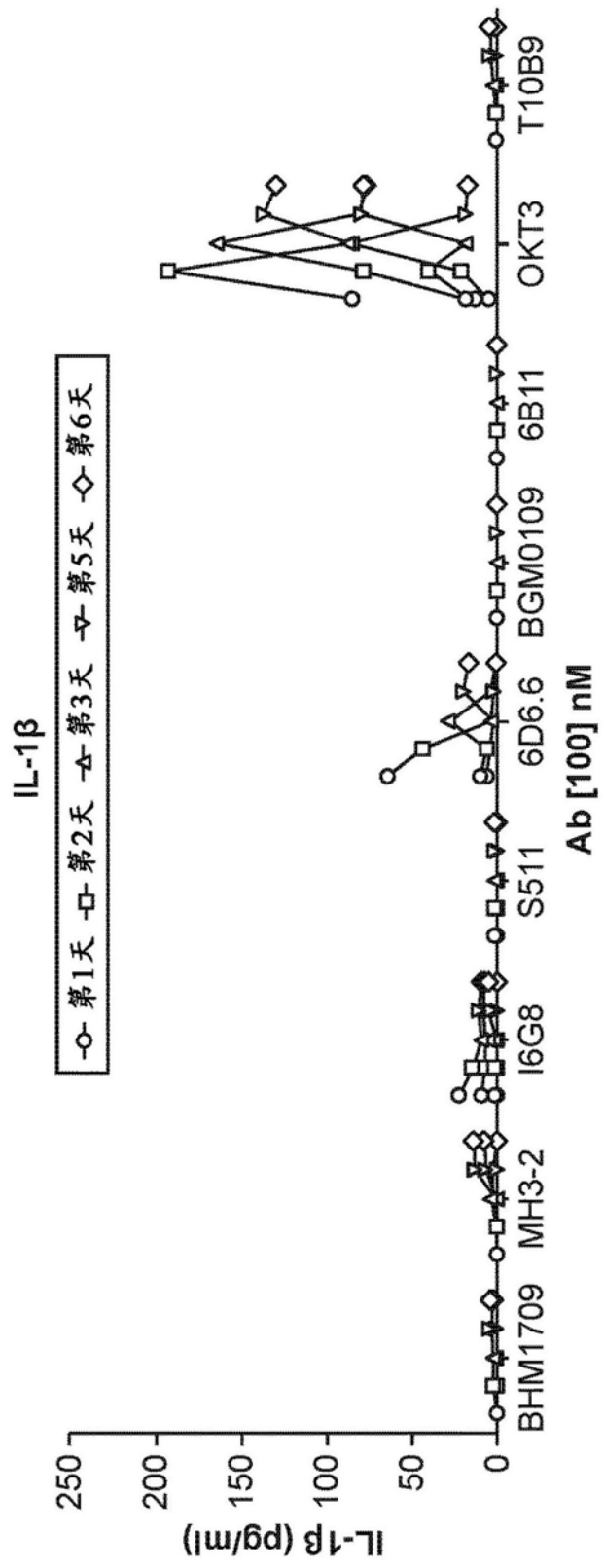

IL-1β
第1天
第2天
第3天
第5天
第6天
IL-1β (pg/ml)
250
200
150
100
50
0
BHM1709
MH3-2
I6G8
S511
6D6.6
BGM0109
6B11
OKT3
T10B9
Ab [100] nM

图8B

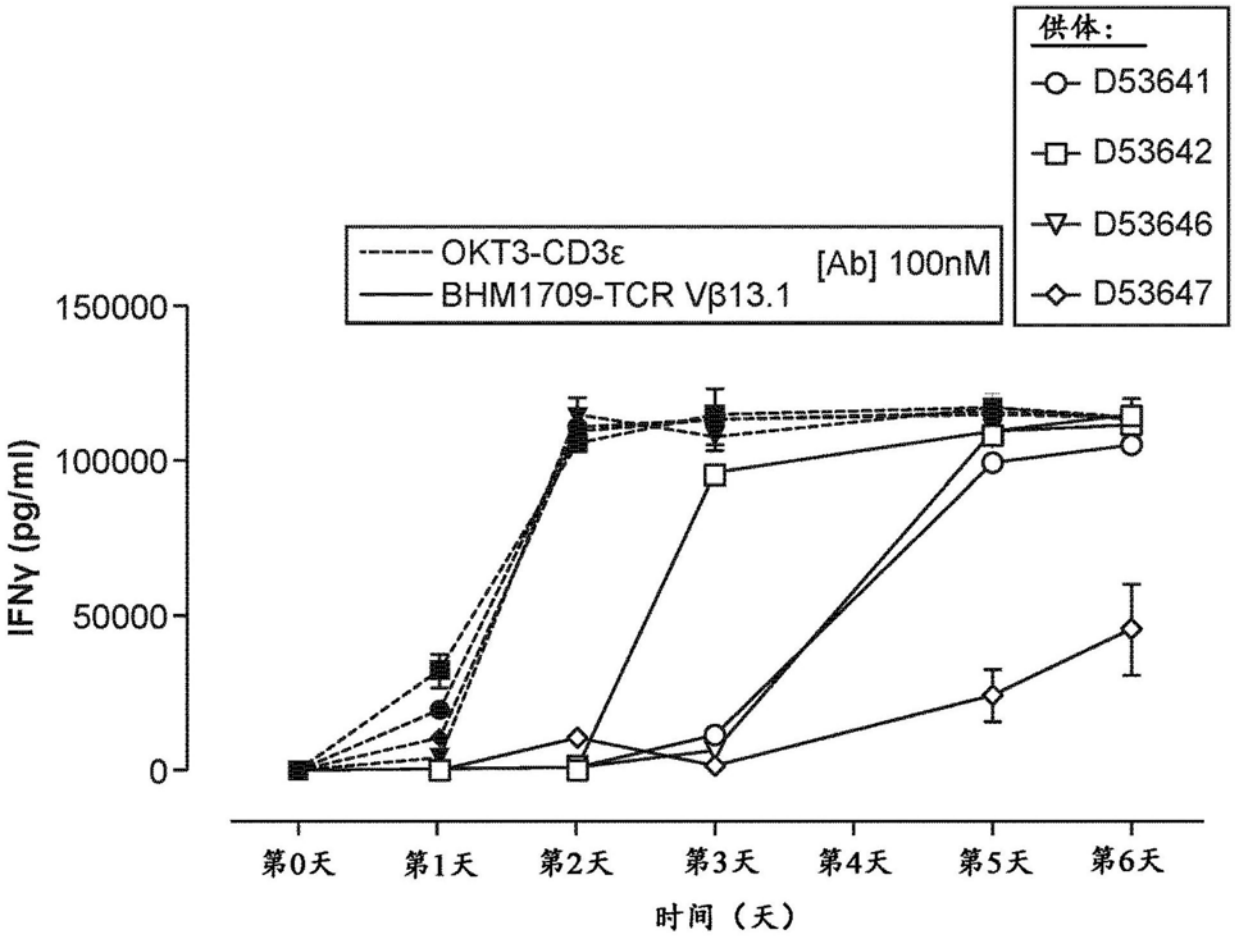

供体:
D53641
D53642
D53646
D53647
OKT3-CD3ε
BHM1709-TCR Vβ13.1
[Ab] 100nM
IFNγ (pg/ml)
150000
100000
50000
0
第0天
第1天
第2天
第3天
第4天
第5天
第6天
时间（天）

图9A

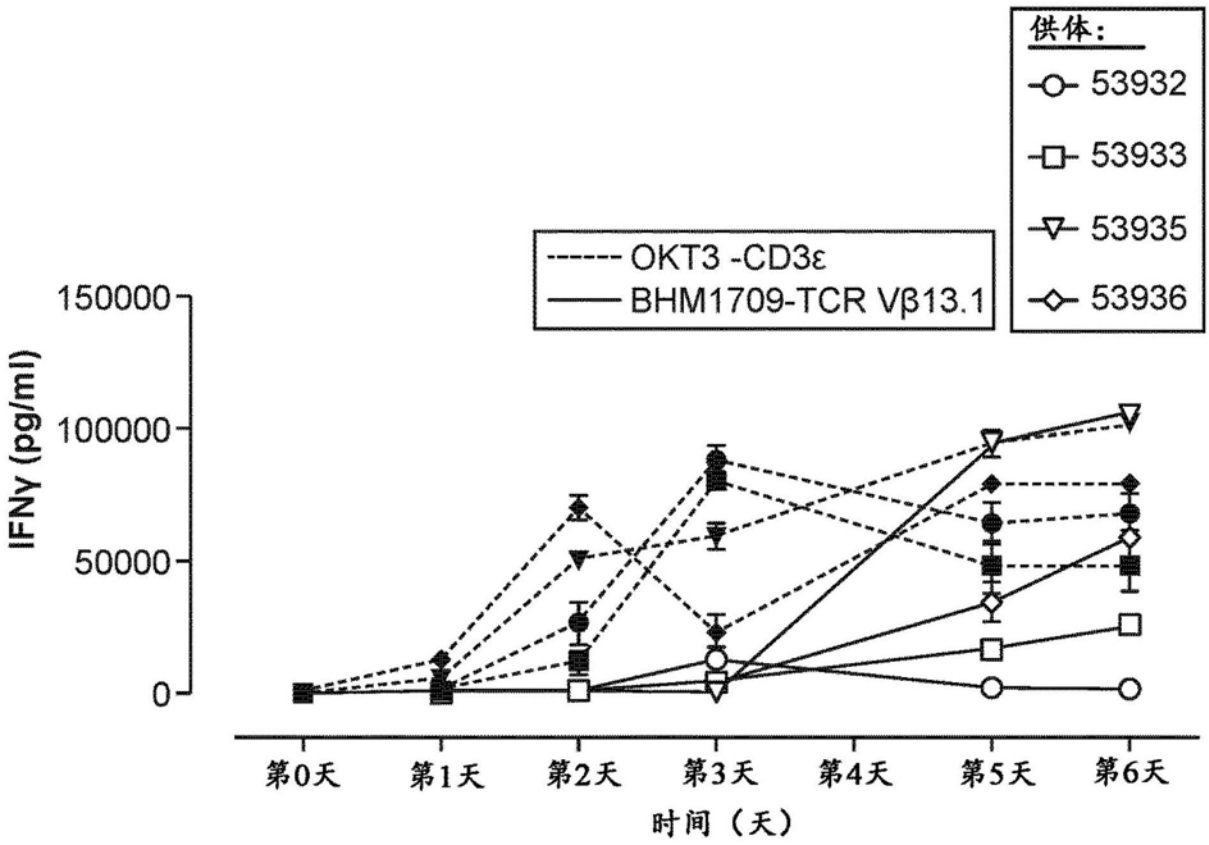

供体:
53932
53933
53935
53936
OKT3 -CD3ε
BHM1709-TCR Vβ13.1
IFNγ (pg/ml)
150000
100000
50000
0
第0天
第1天
第2天
第3天
第4天
第5天
第6天
时间（天）

图9B

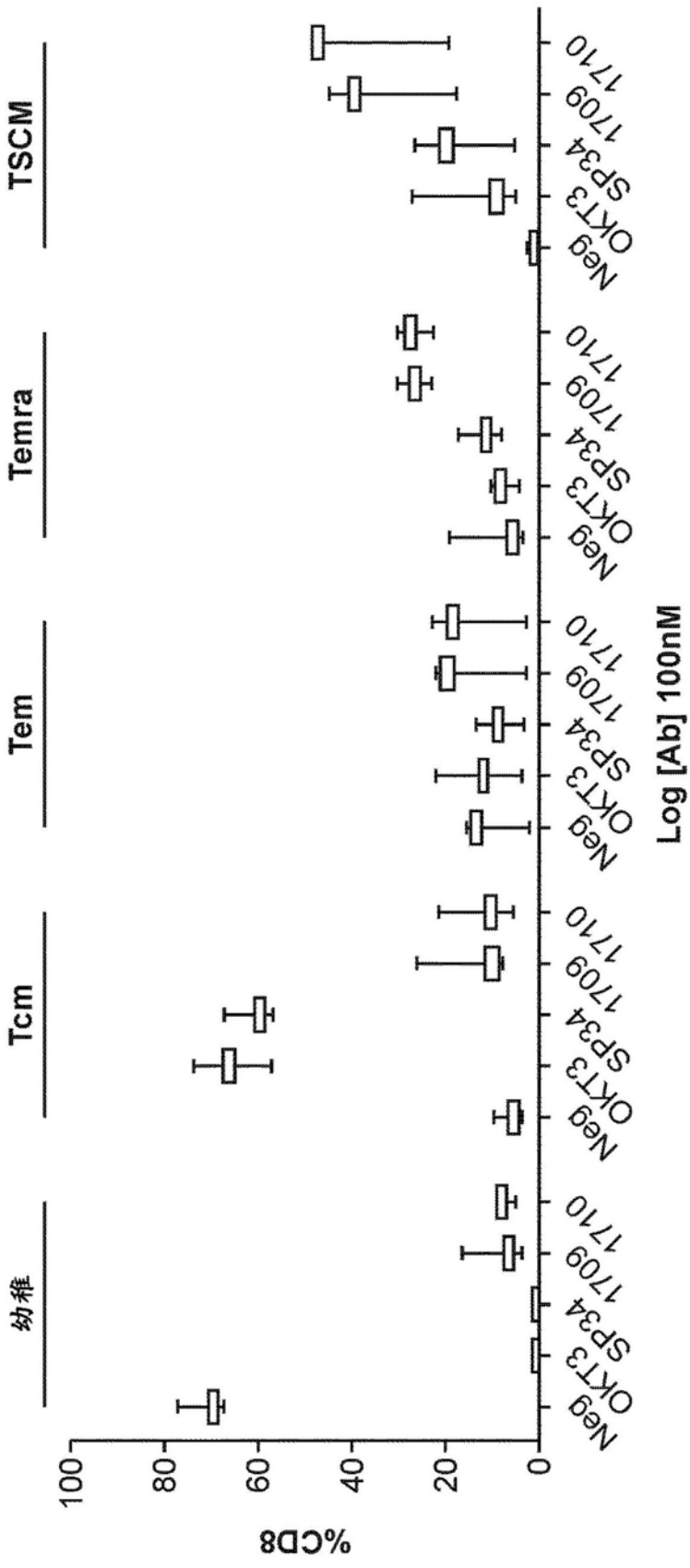

%CD8
100
80
60
40
20
0
幼稚
Tcm
Tem
Temra
TSCM
Neg
OKT3
SP34
1709
1710
Log [Ab] 100nM

图10

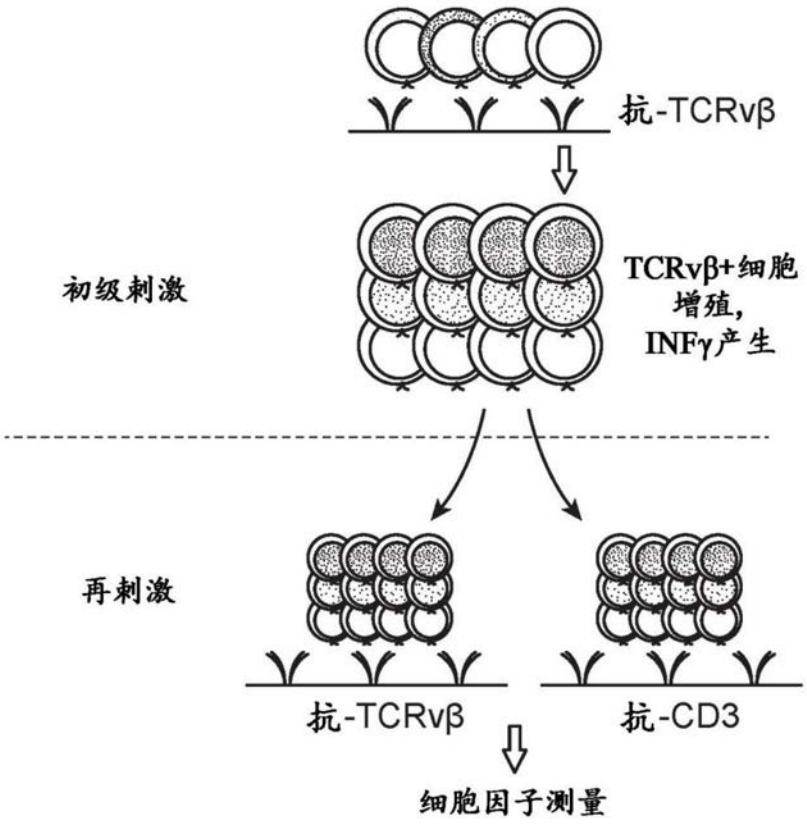

抗-TCRvβ
初级刺激
TCRvβ+细胞
增殖,
INFγ产生
再刺激
抗-TCRvβ
抗-CD3
细胞因子测量

图11A

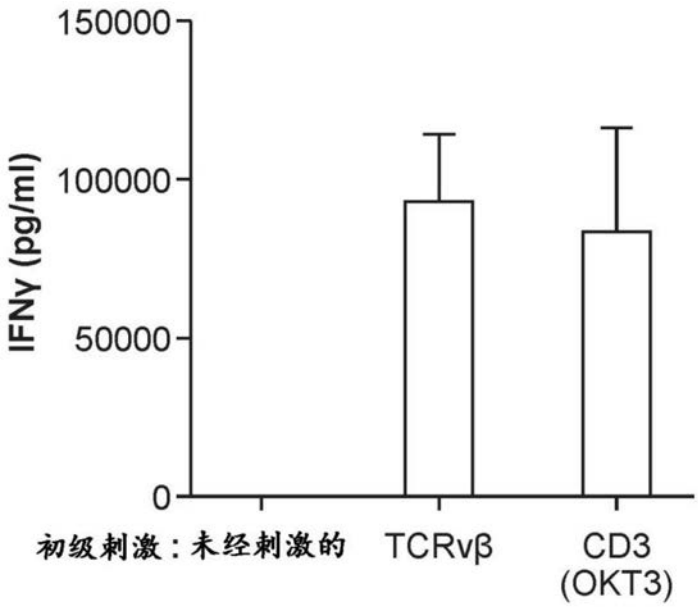

150000
100000
50000
0
IFNγ (pg/ml)
初级刺激：未经刺激的
TCRvβ
CD3
(OKT3)

图11B

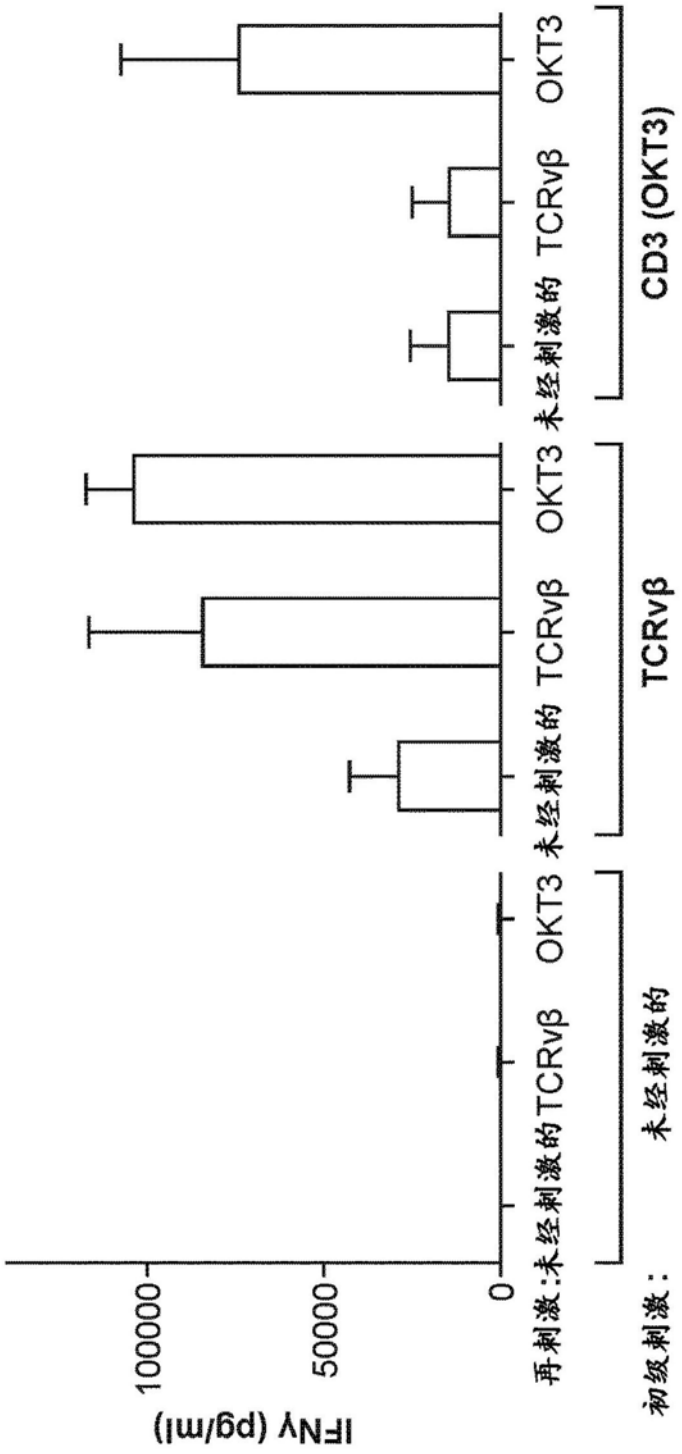

IFNγ (pg/ml)
100000
50000
0
再刺激:未经刺激的 TCRvβ OKT3 未经刺激的 TCRvβ OKT3 未经刺激的 TCRvβ OKT3
初级刺激: 未经刺激的 TCRvβ CD3 (OKT3)

图11C

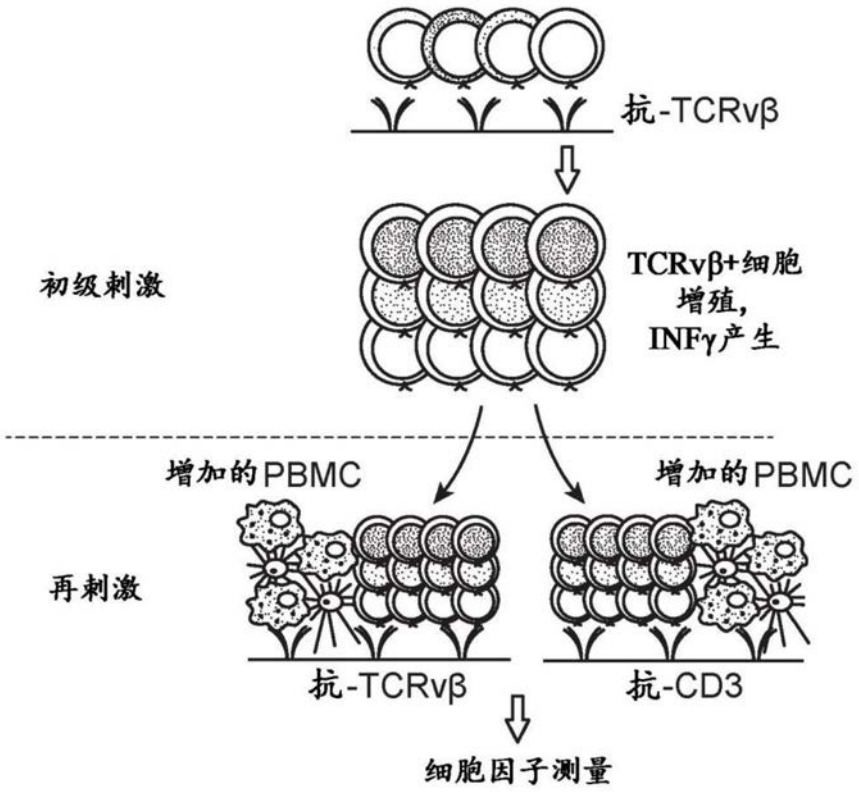

抗-TCRvβ
初级刺激
TCRvβ+细胞
增殖,
INFγ产生
增加的PBMC
增加的PBMC
再刺激
抗-TCRvβ
抗-CD3
细胞因子测量

图12A

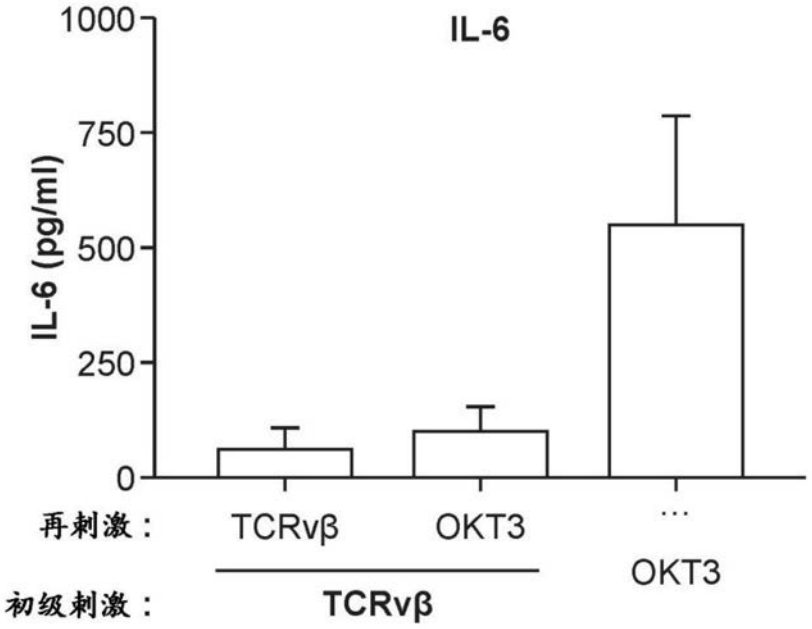

IL-6
IL-6 (pg/ml)
1000
750
500
250
0
再刺激：
TCRvβ
OKT3
…
OKT3
初级刺激：
TCRvβ

图12B

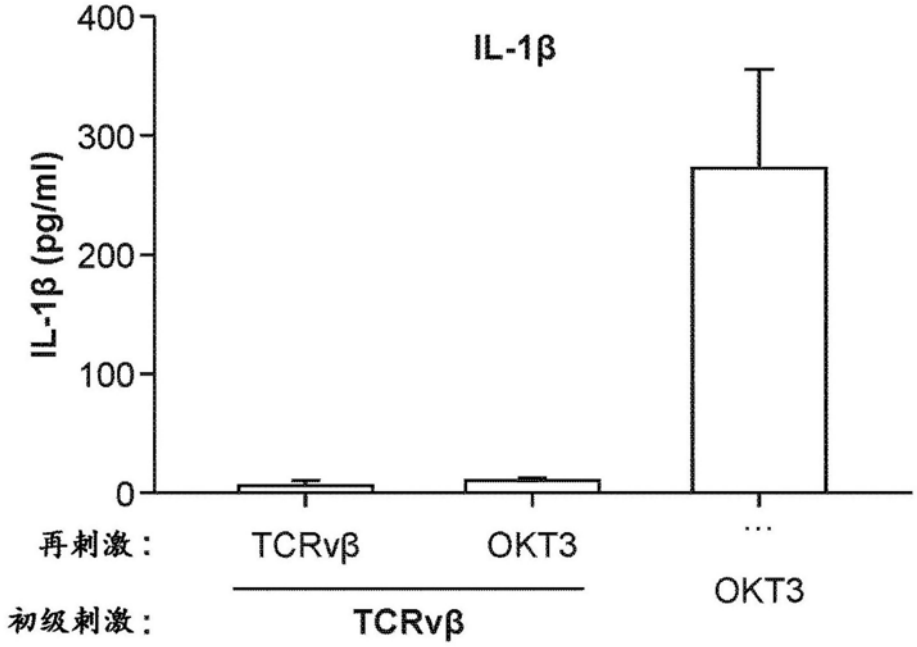

IL-1β
IL-1β (pg/ml)
400
300
200
100
0
再刺激：
TCRvβ
OKT3
…
初级刺激：
TCRvβ
OKT3

图12C

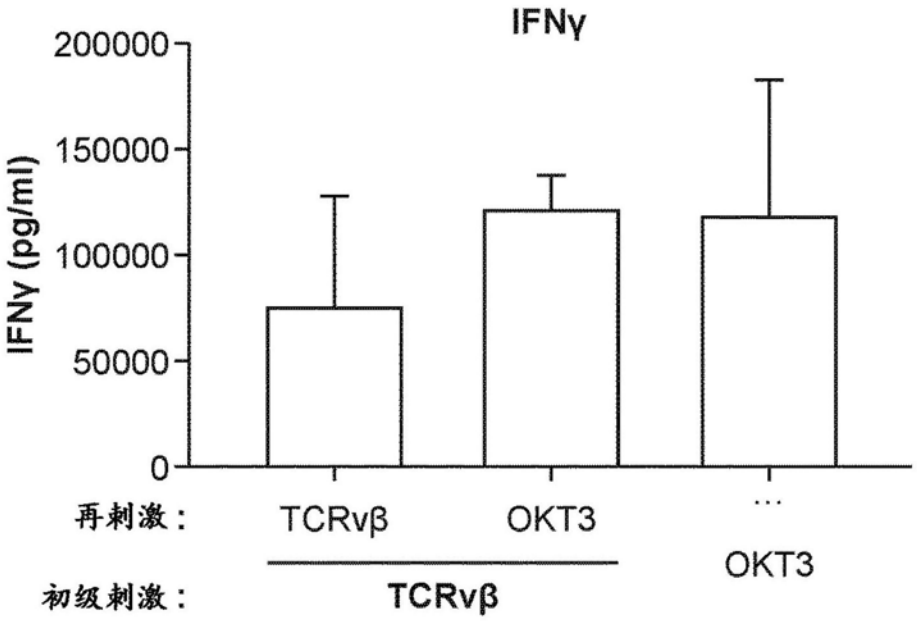

IFNγ
IFNγ (pg/ml)
200000
150000
100000
50000
0
再刺激：
TCRvβ
OKT3
…
初级刺激：
TCRvβ
OKT3

图12D

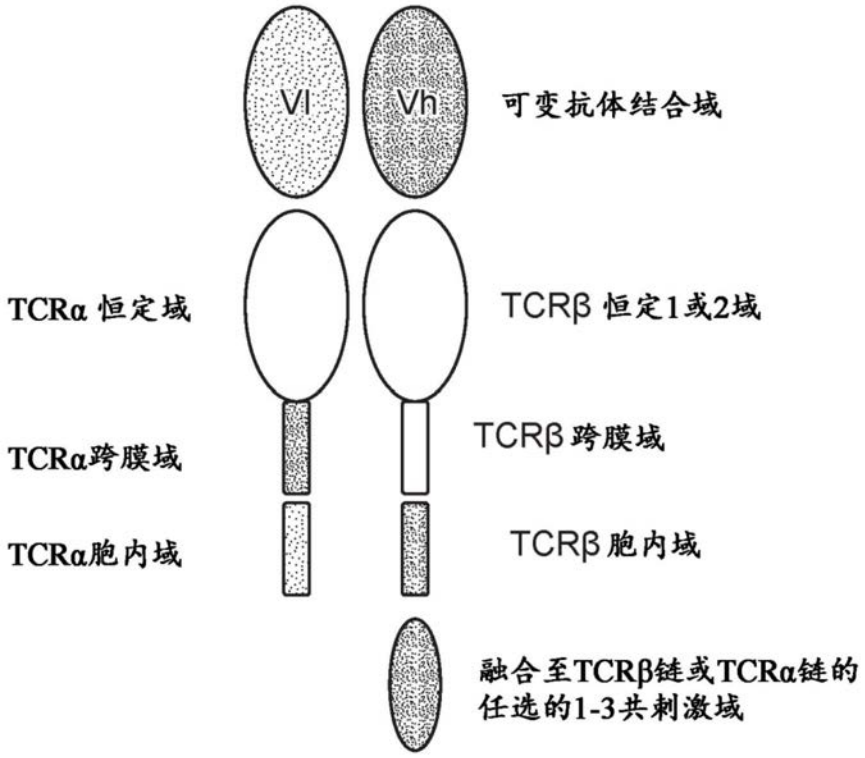

Vl
Vh
可变抗体结合域
TCRα 恒定域
TCRβ 恒定1或2域
TCRα跨膜域
TCRβ 跨膜域
TCRα胞内域
TCRβ 胞内域
融合至TCRβ链或TCRα链的
任选的1-3共刺激域

图13

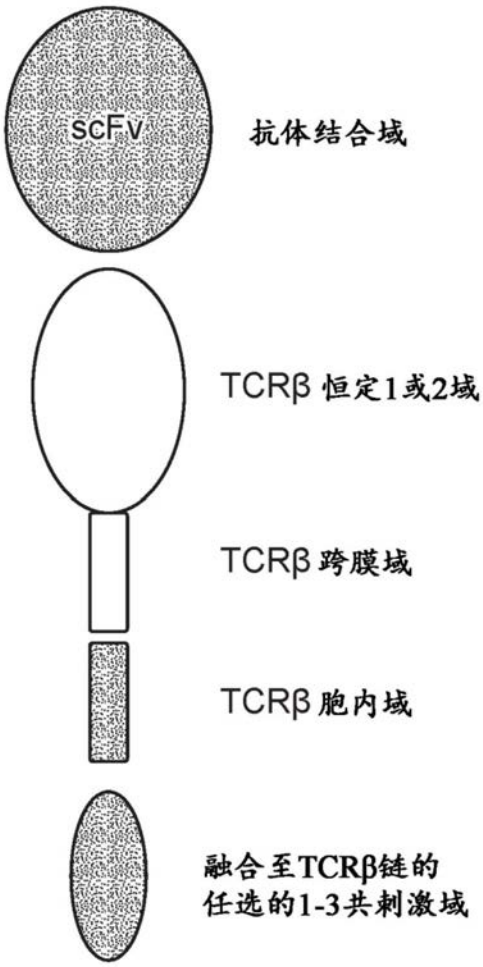

scFv
抗体结合域
TCRβ 恒定1或2域
TCRβ 跨膜域
TCRβ 胞内域
融合至TCRβ链的
任选的1-3共刺激域

图14

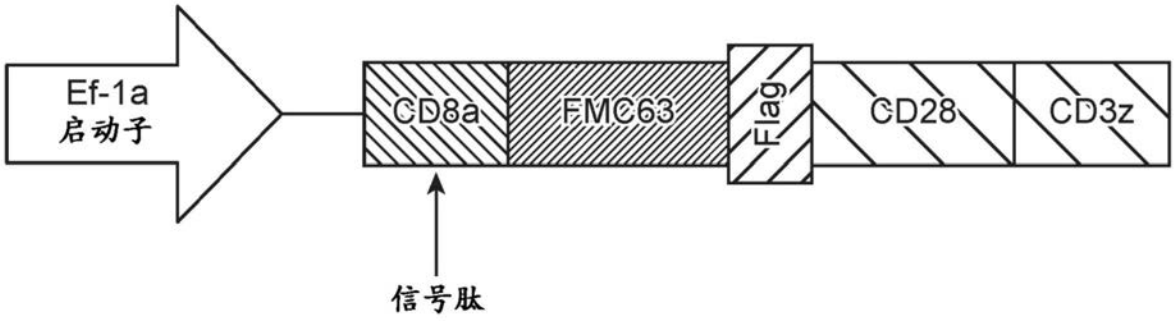

Ef-1a
启动子
CD8a
FMC63
Flag
CD28
CD3z
信号肽

图15

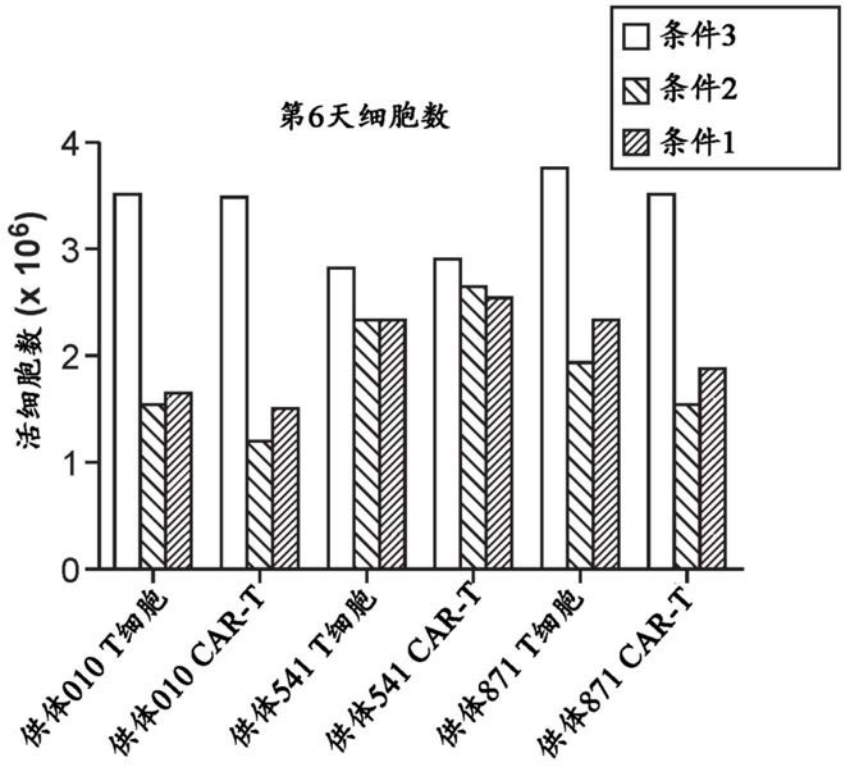

第6天细胞数
条件3
条件2
条件1
活细胞数 (x 10^6)
0
1
2
3
4
供体010 T细胞
供体010 CAR-T
供体541 T细胞
供体541 CAR-T
供体871 T细胞
供体871 CAR-T

图16

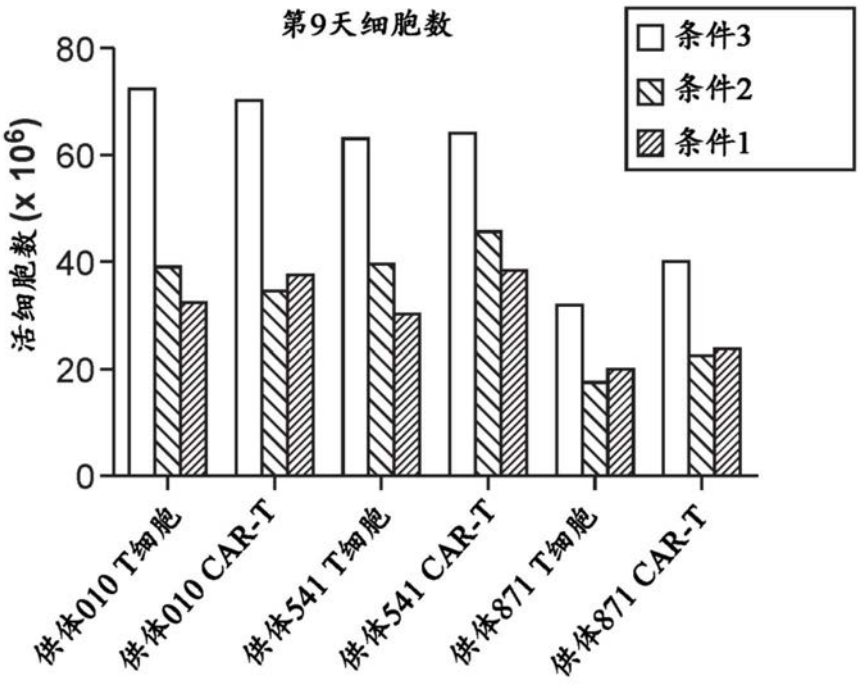

第9天细胞数
条件3
条件2
条件1
活细胞数 (x 10^6)
0
20
40
60
80
供体010 T细胞
供体010 CAR-T
供体541 T细胞
供体541 CAR-T
供体871 T细胞
供体871 CAR-T

图17

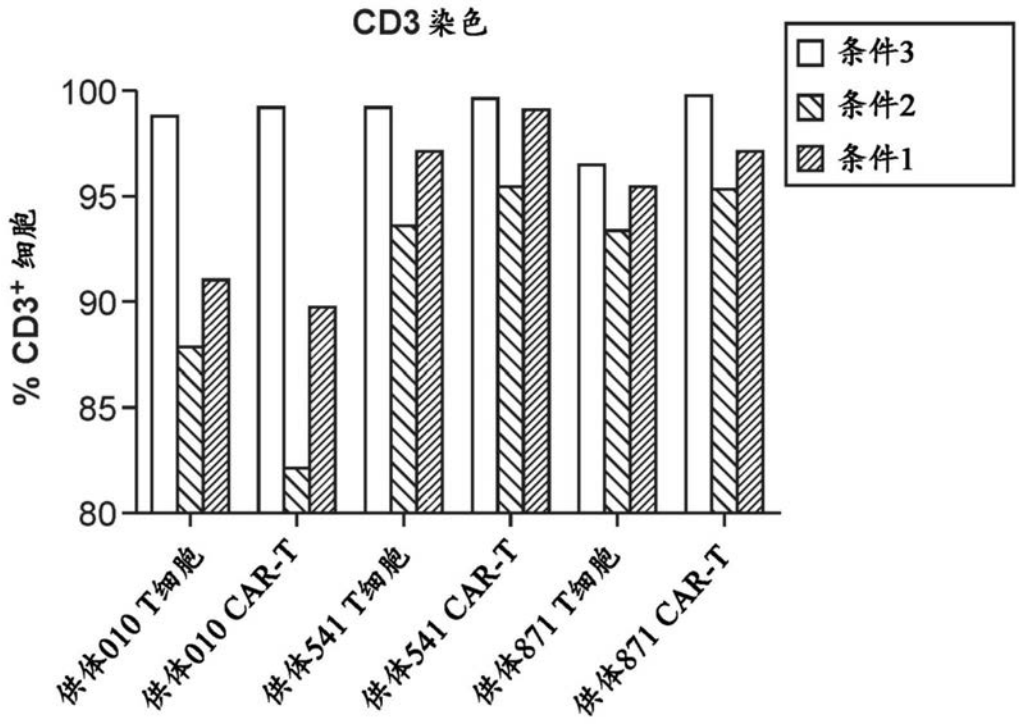

CD3 染色
% CD3+ 细胞
100
95
90
85
80
条件3
条件2
条件1
供体010 T细胞
供体010 CAR-T
供体541 T细胞
供体541 CAR-T
供体871 T细胞
供体871 CAR-T

图18

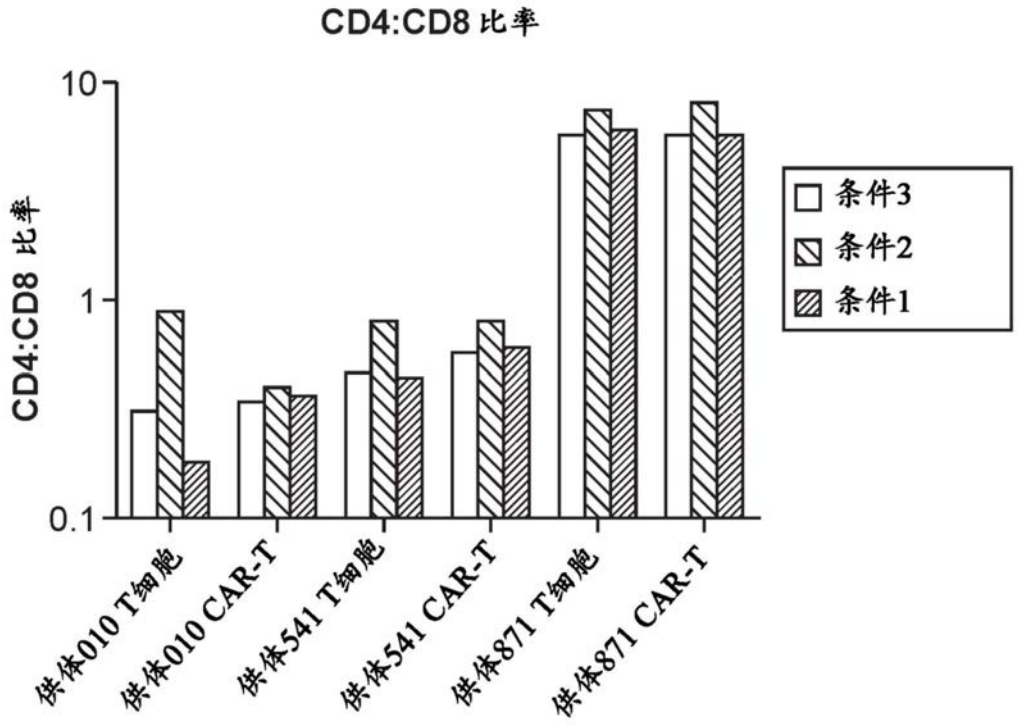

CD4:CD8 比率
CD4:CD8 比率
10
1
0.1
条件3
条件2
条件1
供体010 T细胞
供体010 CAR-T
供体541 T细胞
供体541 CAR-T
供体871 T细胞
供体871 CAR-T

图19

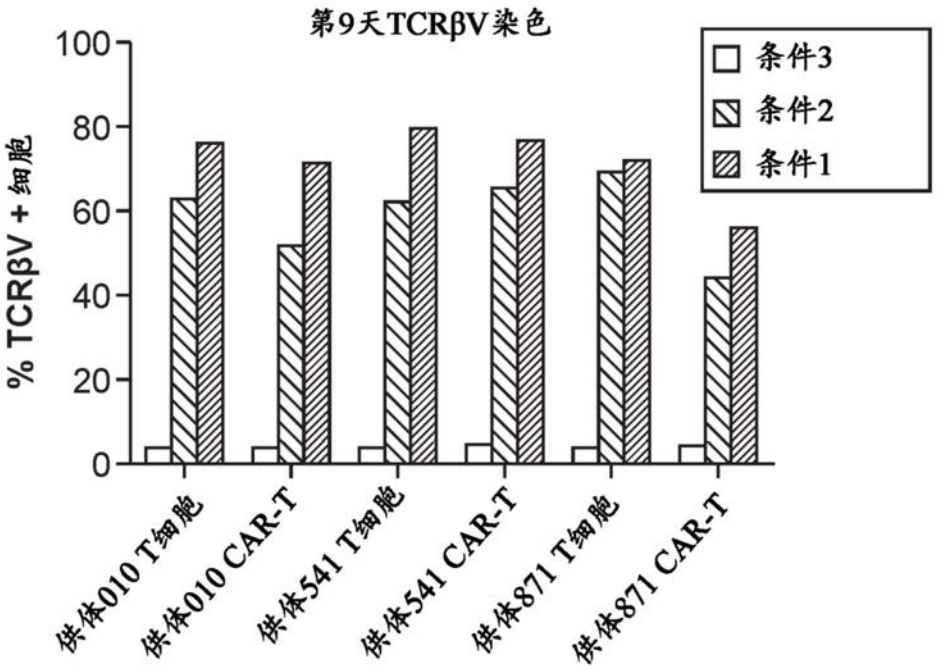

第9天TCRβV染色
% TCRβV + 细胞
100
80
60
40
20
0
条件3
条件2
条件1
供体010 T细胞
供体010 CAR-T
供体541 T细胞
供体541 CAR-T
供体871 T细胞
供体871 CAR-T

图20

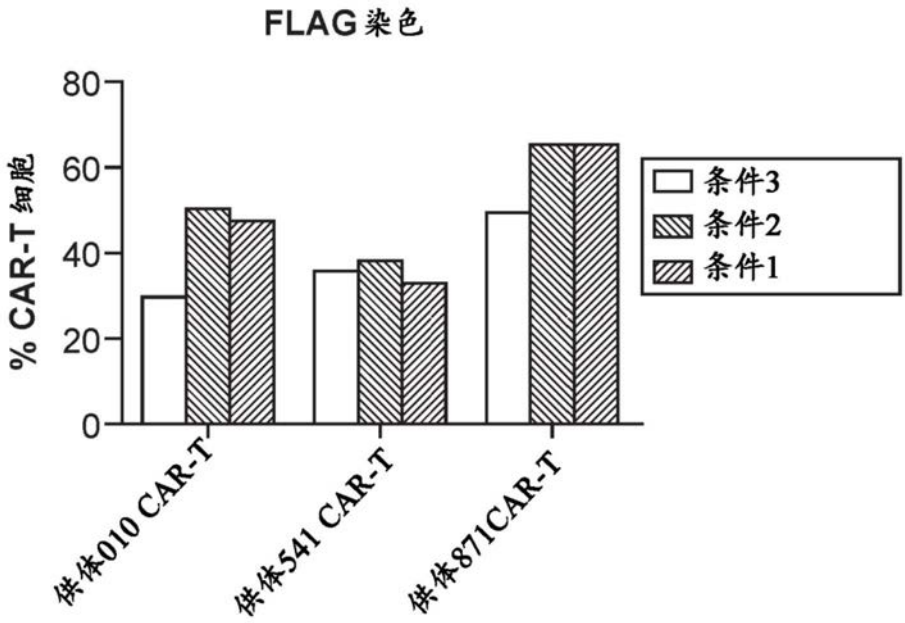

FLAG染色
% CAR-T 细胞
80
60
40
20
0
条件3
条件2
条件1
供体010 CAR-T
供体541 CAR-T
供体871CAR-T

图21

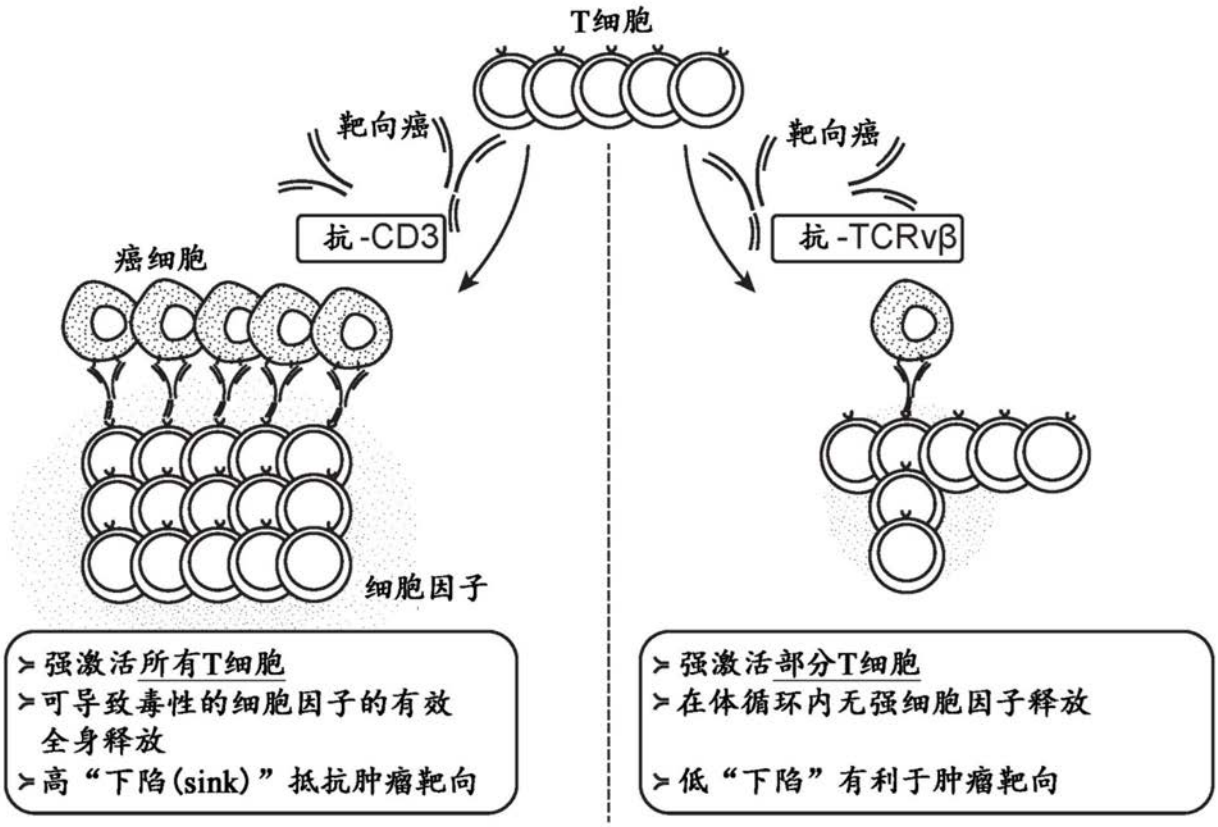

T细胞
靶向癌
抗-CD3
癌细胞
细胞因子
强激活所有T细胞
可导致毒性的细胞因子的有效全身释放
高“下陷(sink)”抵抗肿瘤靶向
靶向癌
抗-TCRvβ
强激活部分T细胞
在体循环内无强细胞因子释放
低“下陷”有利于肿瘤靶向

图22

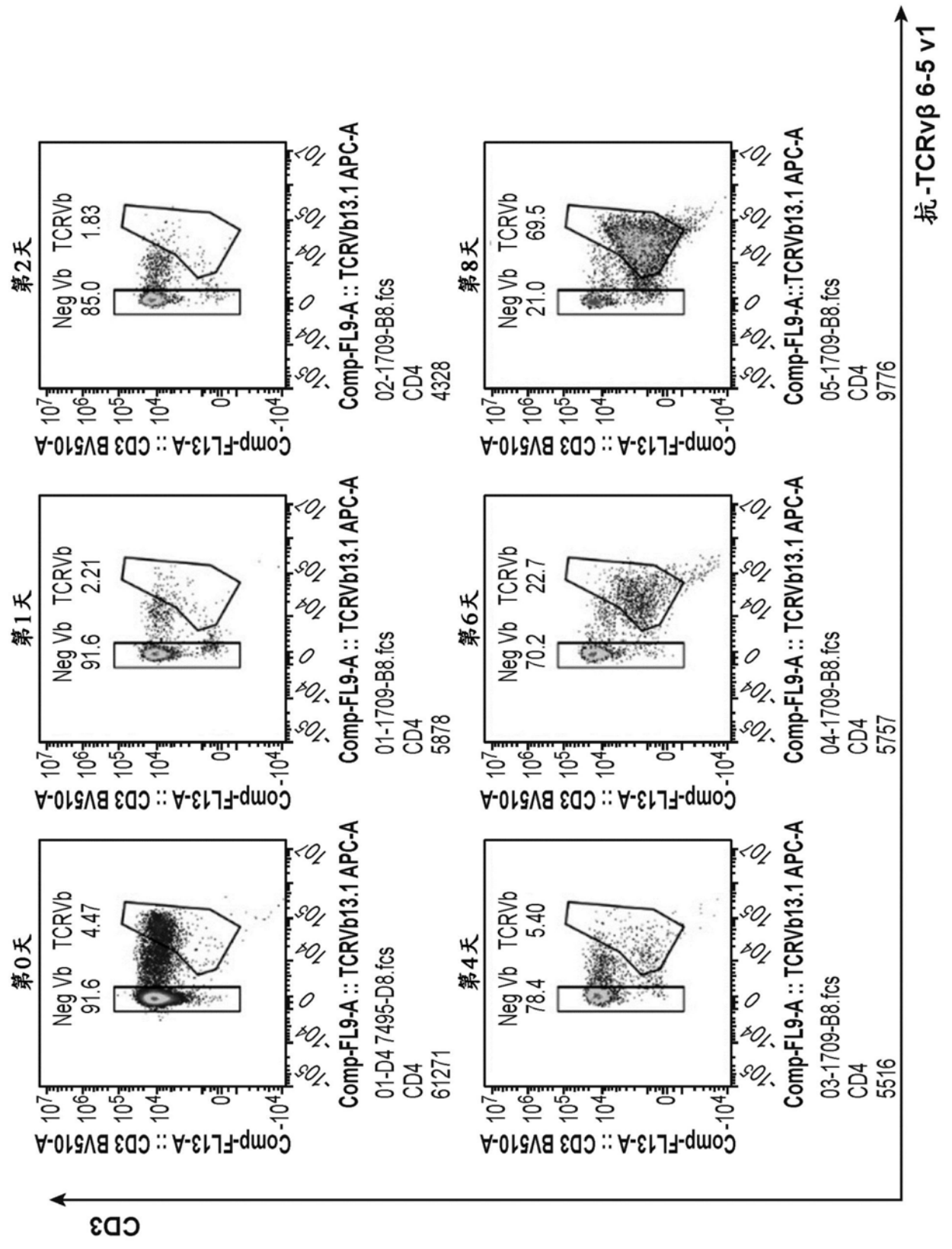

第0天
Neg Vb 91.6
TCRVb 4.47
01-D4 7495-D8.fcs
CD4
61271
第1天
Neg Vb 91.6
TCRVb 2.21
01-1709-B8.fcs
CD4
5878
第2天
Neg Vb 85.0
TCRVb 1.83
02-1709-B8.fcs
CD4
4328
第4天
Neg Vb 78.4
TCRVb 5.40
03-1709-B8.fcs
CD4
5516
第6天
Neg Vb 70.2
TCRVb 22.7
04-1709-B8.fcs
CD4
5757
第8天
Neg Vb 21.0
TCRVb 69.5
05-1709-B8.fcs
CD4
9776
Comp-FL13-A :: CD3 BV510-A
Comp-FL9-A :: TCRVb13.1 APC-A
CD3
抗-TCRvβ 6-5 v1

图23

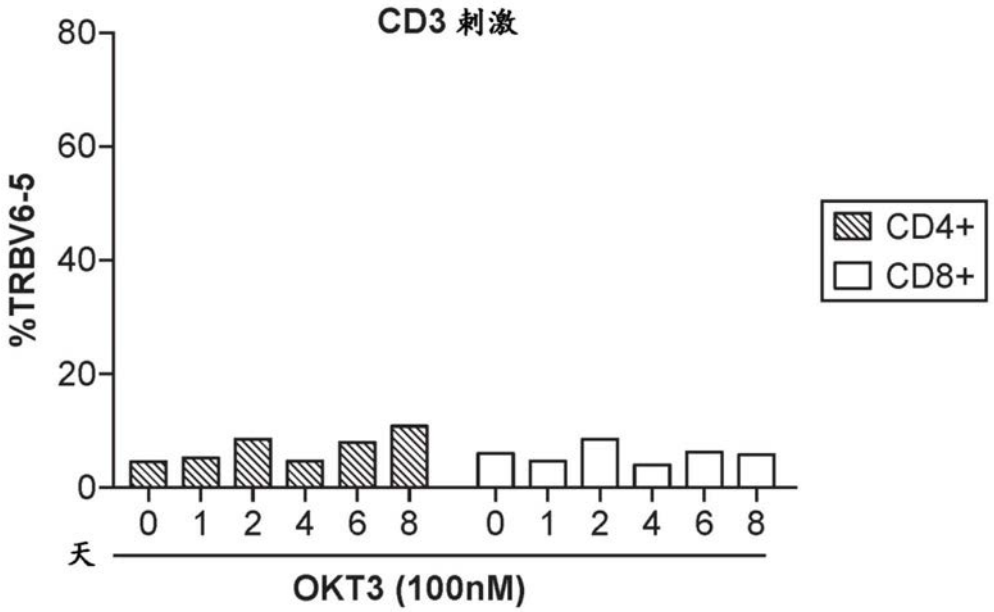

CD3 刺激
%TRBV6-5
80
60
40
20
0
CD4+
CD8+
0 1 2 4 6 8 0 1 2 4 6 8
天
OKT3 (100nM)

图24

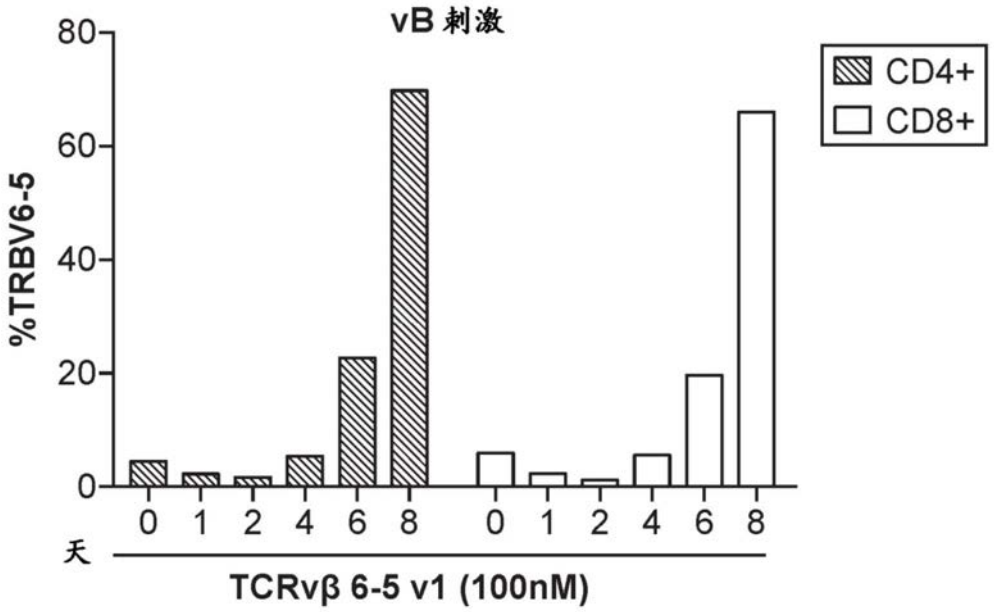

vB 刺激
%TRBV6-5
80
60
40
20
0
CD4+
CD8+
0 1 2 4 6 8 0 1 2 4 6 8
天
TCRvβ 6-5 v1 (100nM)

图25

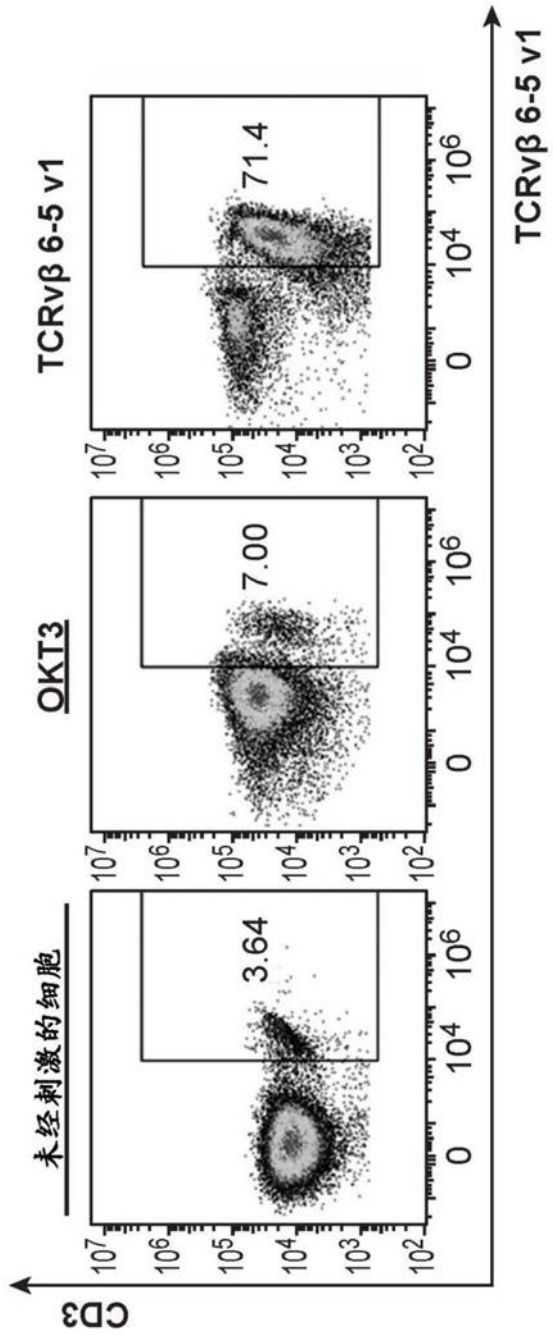

未经刺激的细胞
OKT3
CD3
TCRvβ 6-5 v1
TCRvβ 6-5 v1
3.64
7.00
71.4
0
10^4
10^6
10^2
10^3
10^5
10^7

图26

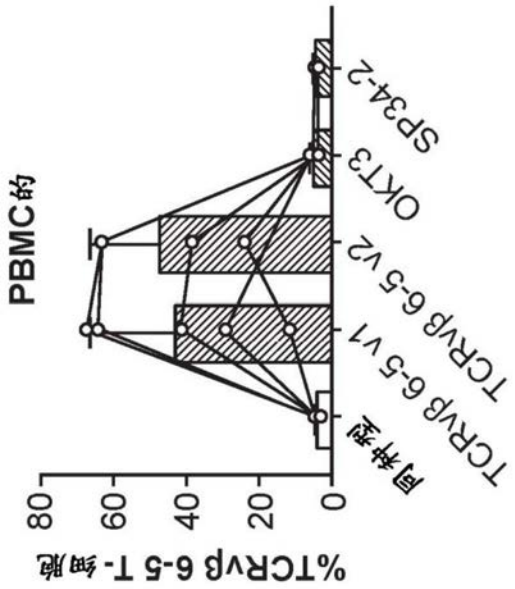

PBMC的
%TCRVβ 6-5 T-细胞
0
20
40
60
80
阴性对
TCRVβ 6-5 V1
TCRVβ 6-5 V2
OKT3
SP34-2

图27A

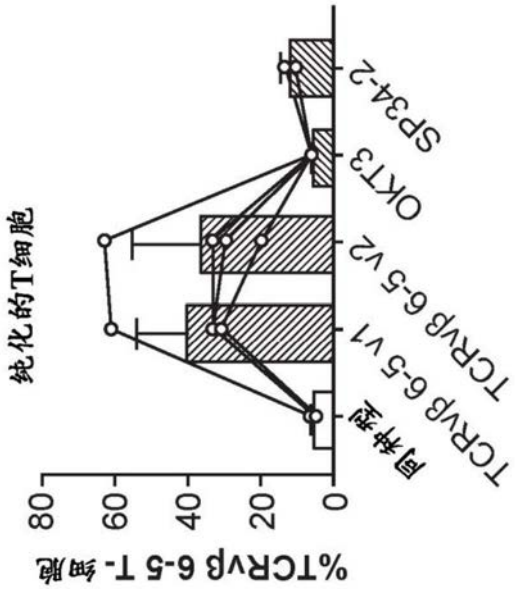

纯化的T细胞
%TCRVβ 6-5 T-细胞
0
20
40
60
80
阴性对
TCRVβ 6-5 V1
TCRVβ 6-5 V2
OKT3
SP34-2

图27B

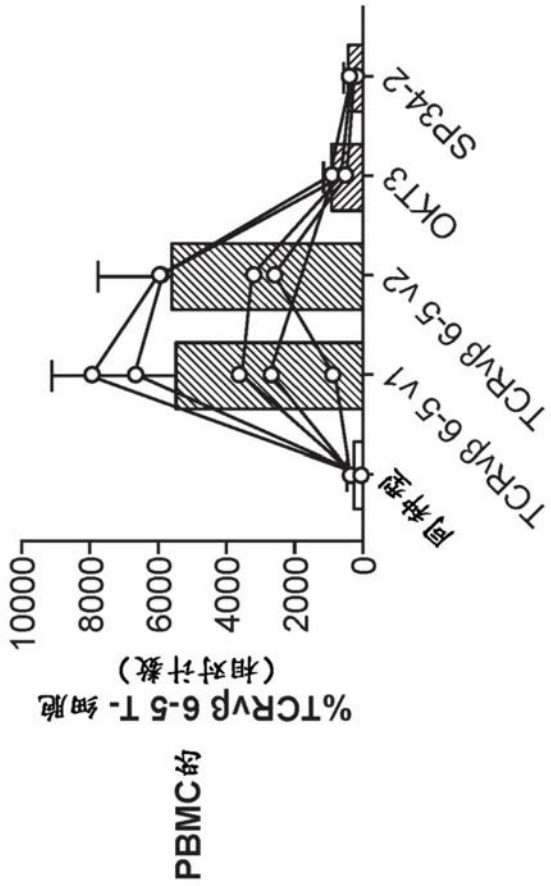

PBMC的
%TCRVβ 6-5 T- 细胞
（相对计数）
10000
8000
6000
4000
2000
0
阴性对
TCRVβ 6-5 V1
TCRVβ 6-5 V2
OKT3
SP34-2

图28A

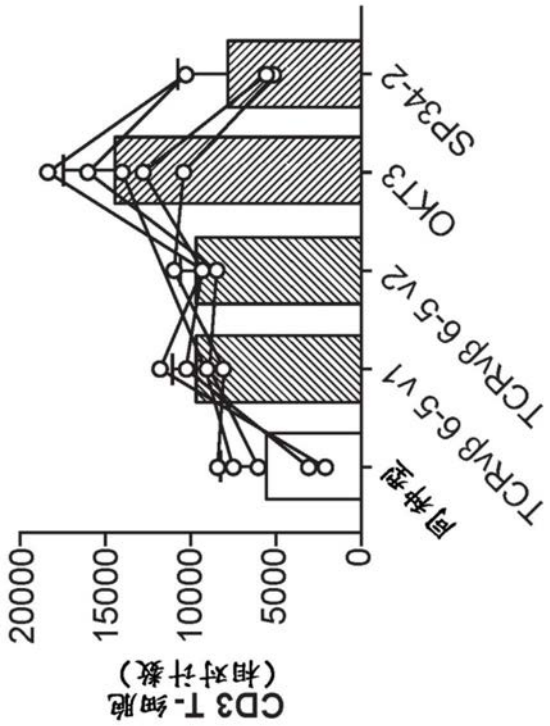

CD3 T-细胞
(相对计数)
20000
15000
10000
5000
0
阴性对
TCRVB 6-5 V1
TCRVB 6-5 V2
OKT3
SP34-2

图28B

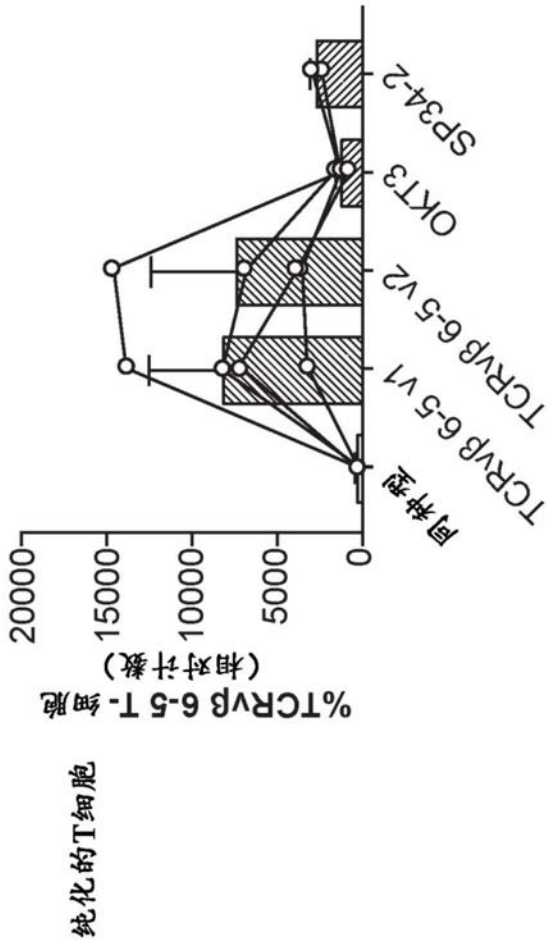

纯化的T细胞
%TCRVβ 6-5 T- 细胞
(相对计数)
20000
15000
10000
5000
0
同种型
TCRVβ 6-5 V1
TCRVβ 6-5 V2
OKT3
SP34-2

图29A

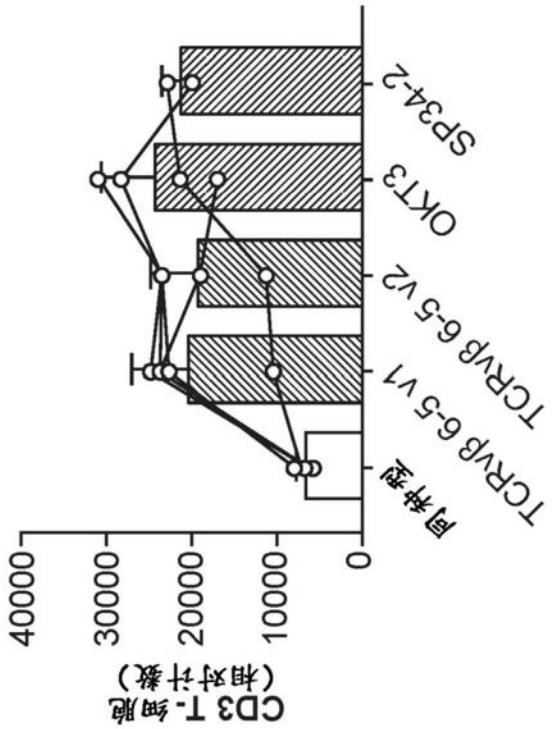

SP34-2
OKT3
TCRVB 6-5 V2
TCRVB 6-5 V1
阴性对
0
10000
20000
30000
40000
CD3 T-细胞
(相对计数)

图29B

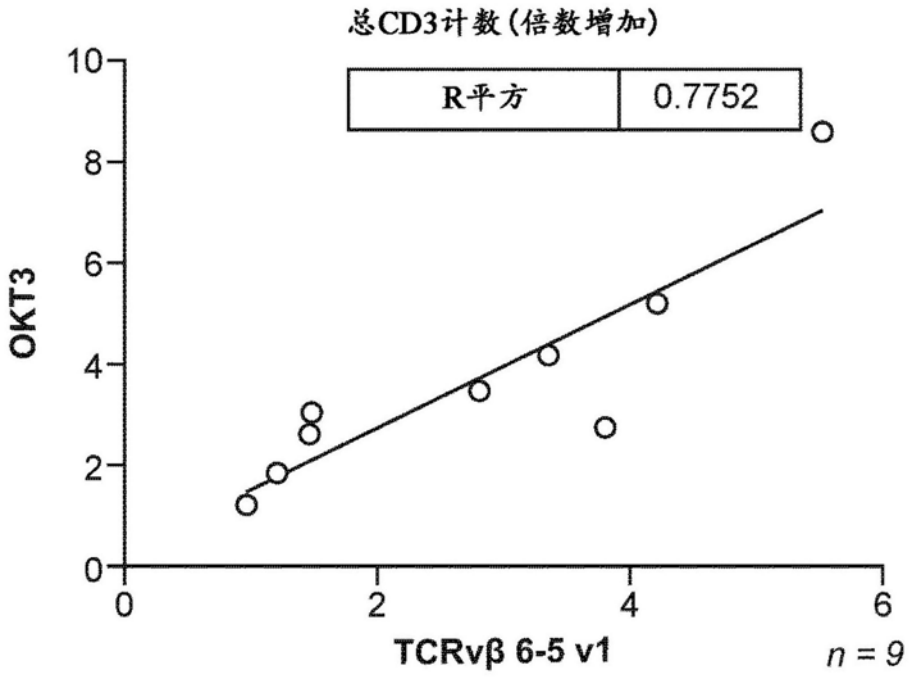

总CD3计数(倍数增加)
R平方
0.7752
OKT3
TCRvβ 6-5 v1
n = 9
0
2
4
6
8
10

图30

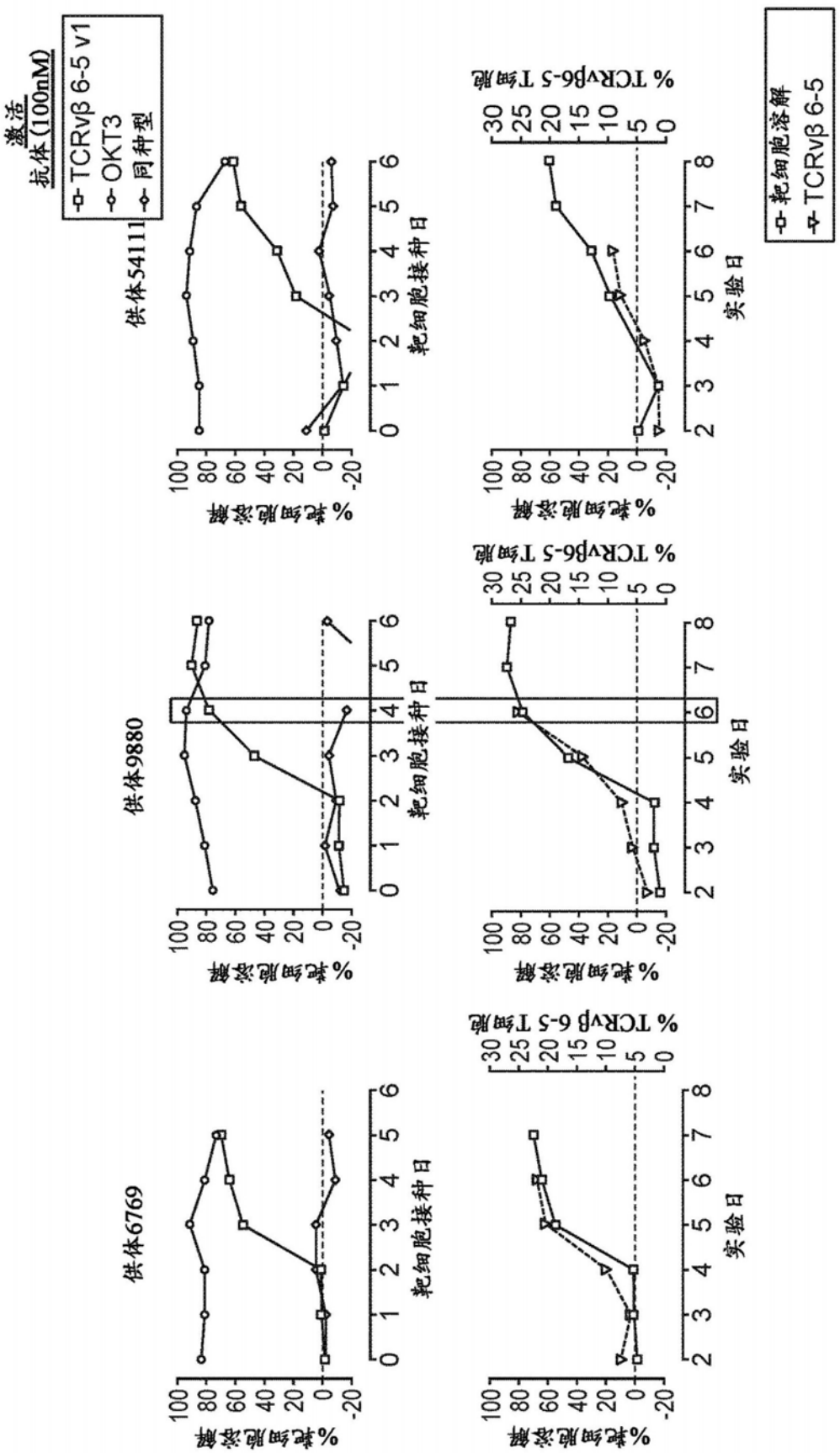
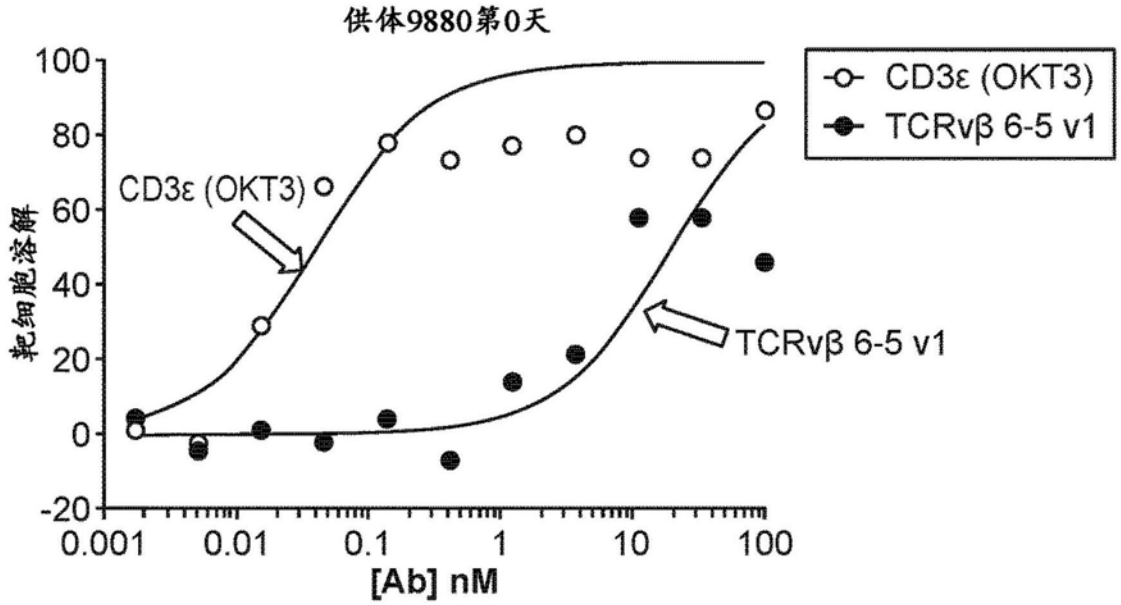
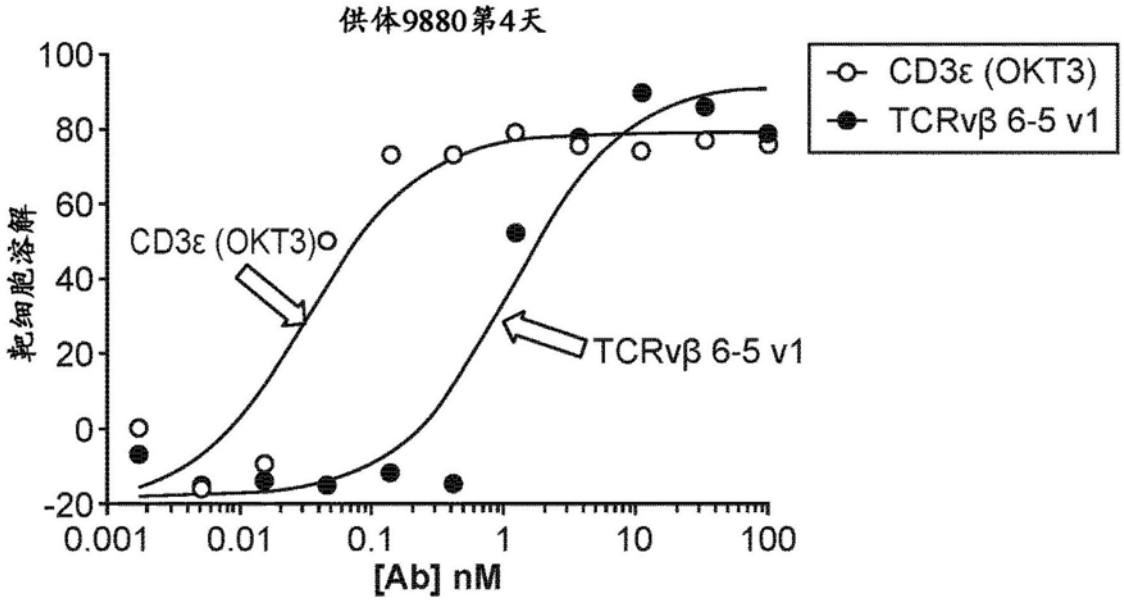

激活
抗体(100nM)
TCRvβ 6-5 v1
OKT3
同种型
靶细胞溶解
% TCRvβ6-5 T细胞
靶细胞接种日
实验日
供体54111
供体9880
供体6769
靶细胞溶解
TCRvβ 6-5

图31



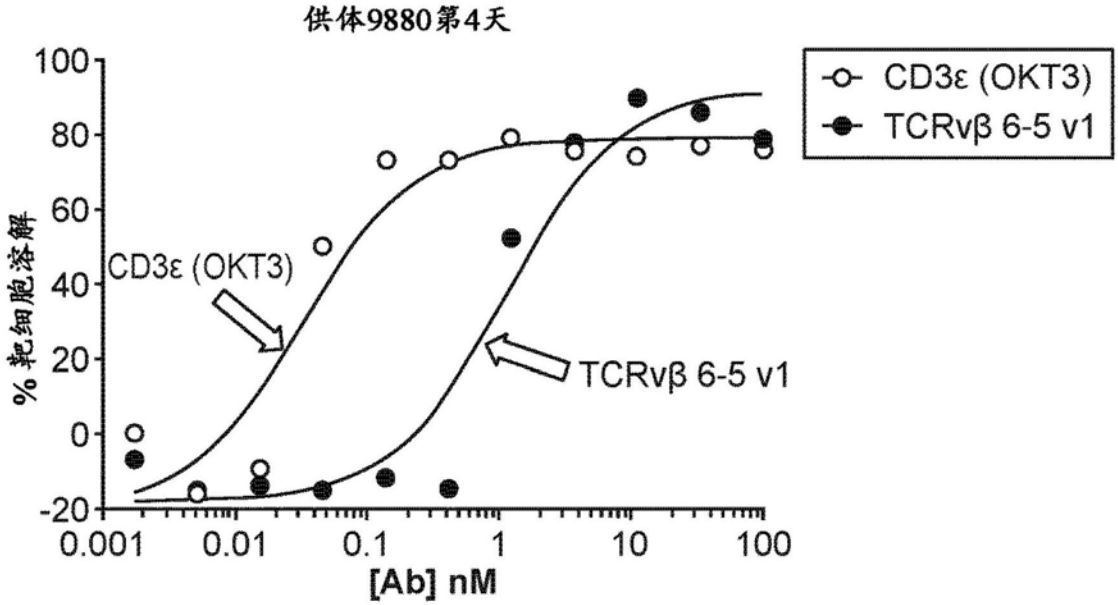
	OKT3	TCRvβ 6-5 v1
EC50	0.01729	7.458

图32A



	OKT3	TCRvβ 6-5 v1
EC50	0.03211	1.128

图32B



	OKT3	TCRvβ 6-5 v1
EC50	0.03211	1.128

图33

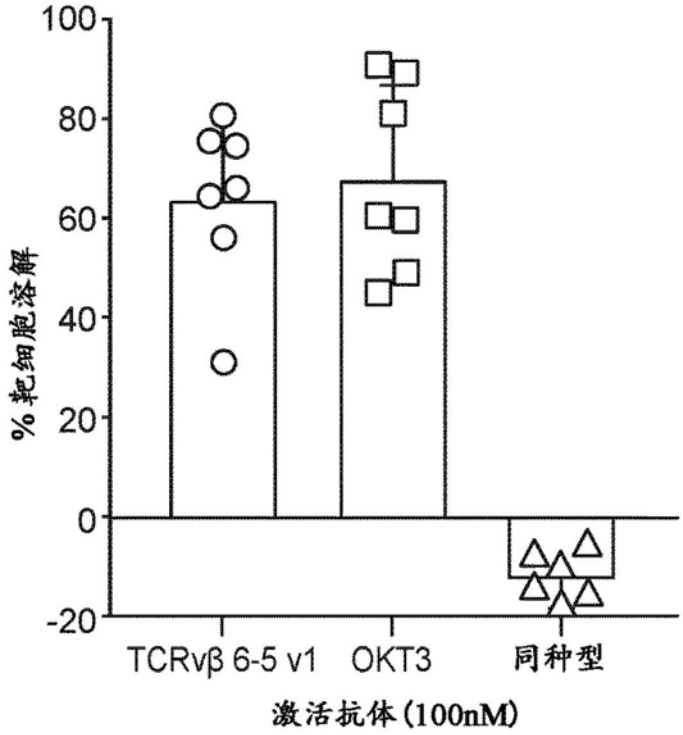


图34

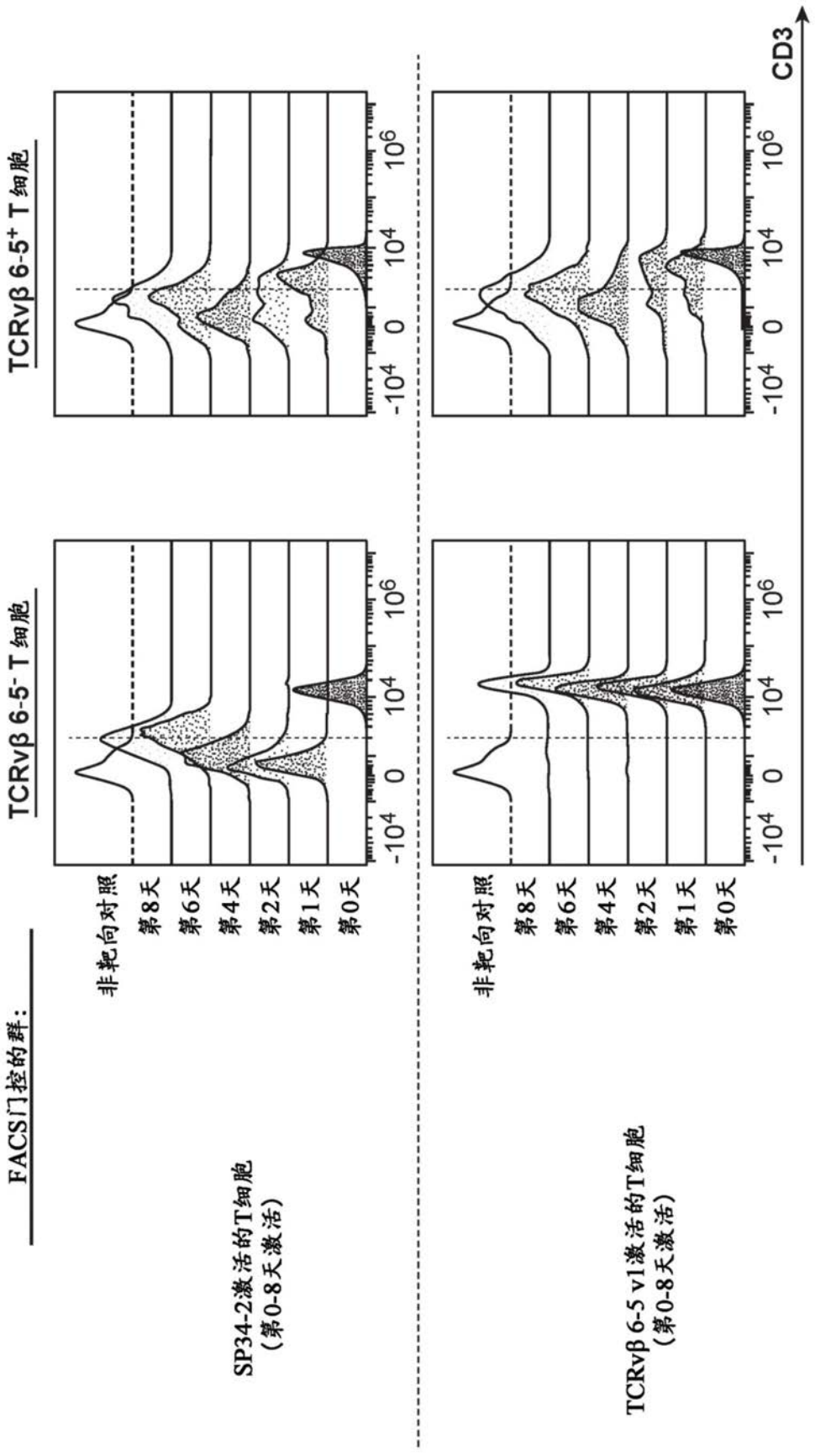

FACS门控的群：
TCRvβ 6-5⁻ T细胞
TCRvβ 6-5⁺ T细胞
非靶向对照
第8天
第6天
第4天
第2天
第1天
第0天
-10⁴ 0 10⁴ 10⁶
CD3
SP34-2激活的T细胞
（第0-8天激活）
TCRvβ 6-5 v1激活的T细胞
（第0-8天激活）

图35

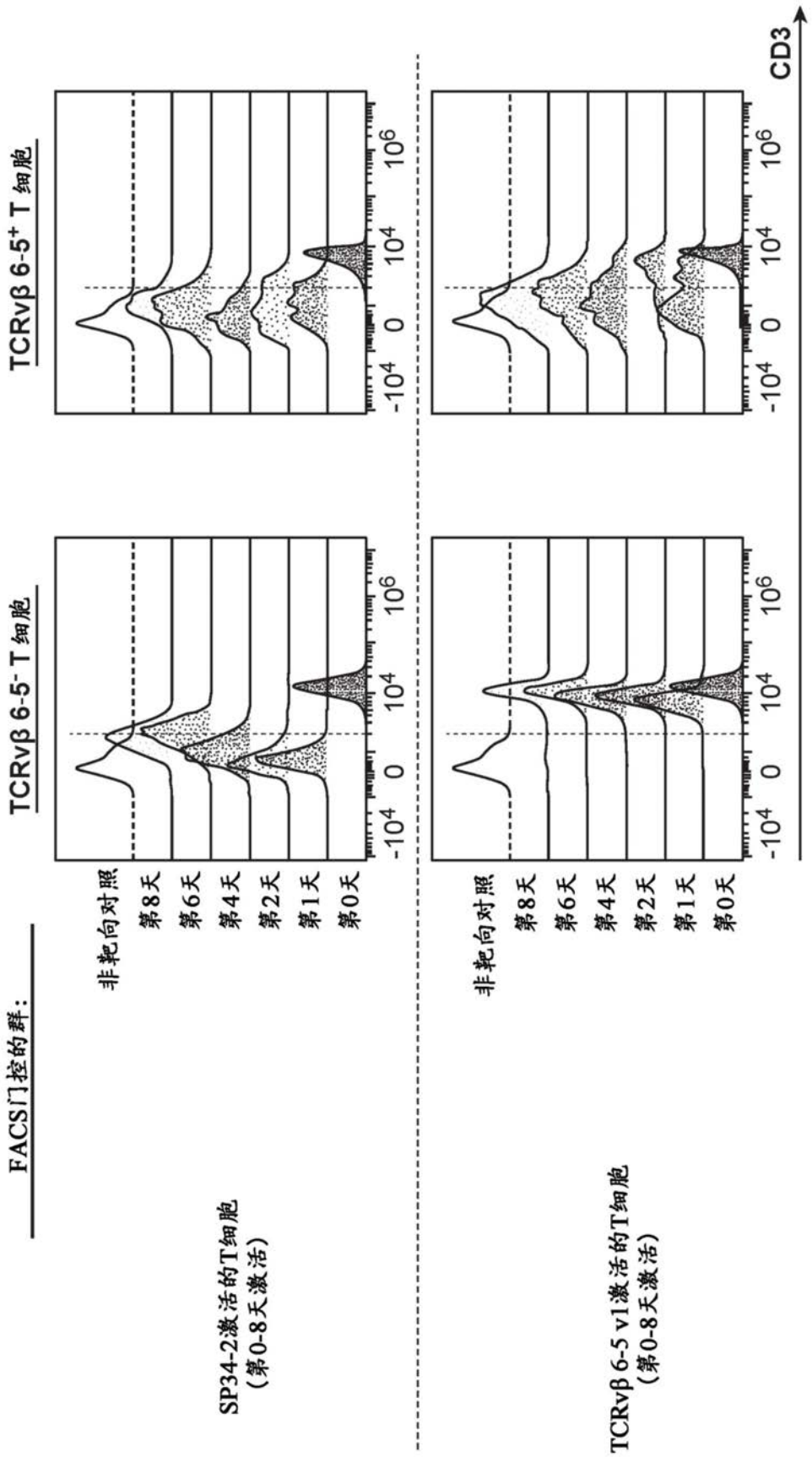

FACS门控的群:
TCRvβ 6-5⁻ T细胞
TCRvβ 6-5⁺ T细胞
非靶向对照
第8天
第6天
第4天
第2天
第1天
第0天
SP34-2激活的T细胞
(第0-8天激活)
TCRvβ 6-5 v1激活的T细胞
(第0-8天激活)
-10⁴ 0 10⁴ 10⁶
CD3

图36

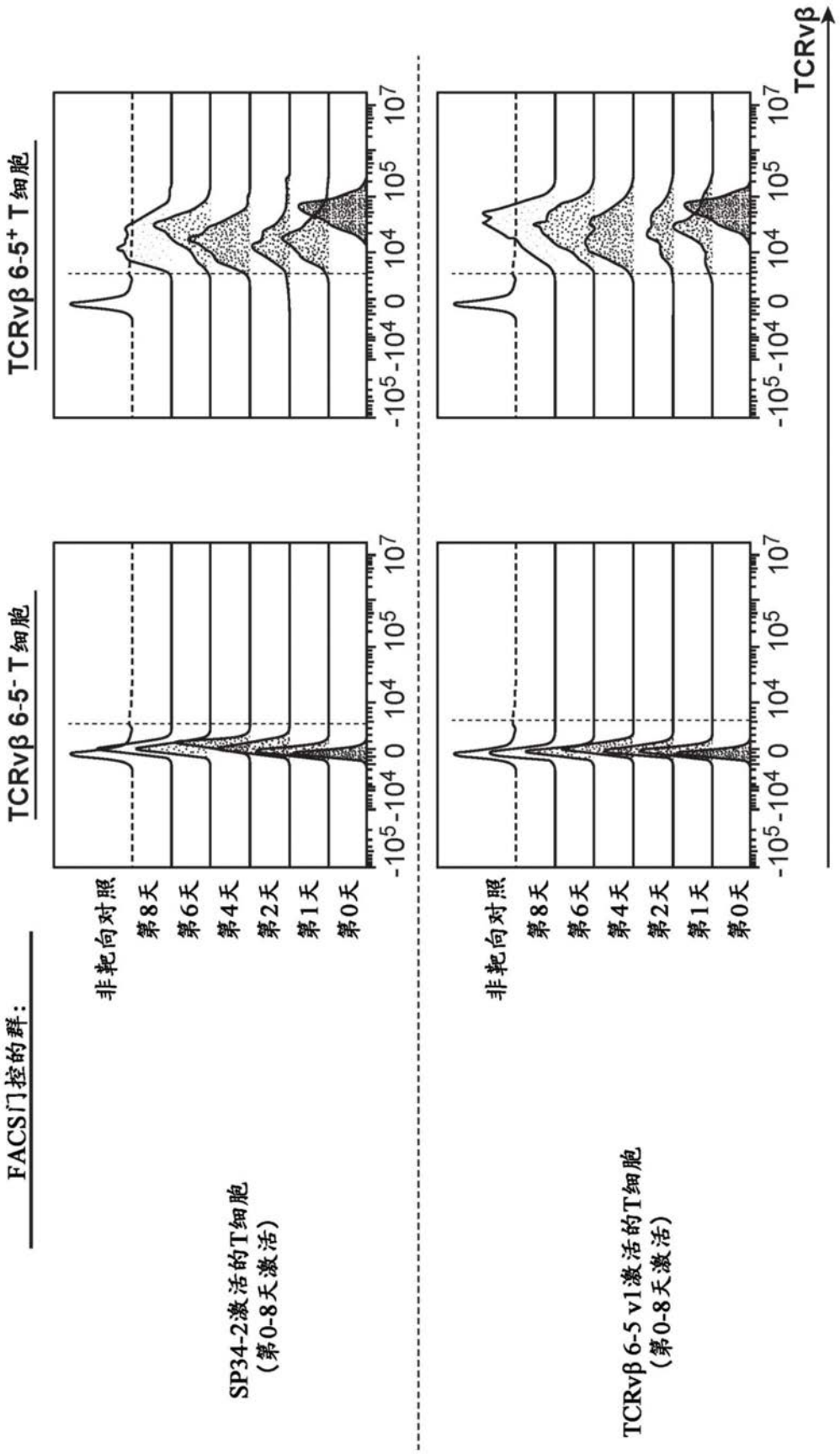

FACS门控的群：
TCRvβ 6-5⁻ T细胞
TCRvβ 6-5⁺ T细胞
非靶向对照
第8天
第6天
第4天
第2天
第1天
第0天
SP34-2激活的T细胞
（第0-8天激活）
TCRvβ 6-5 v1激活的T细胞
（第0-8天激活）
-10⁵ -10⁴ 0 10⁴ 10⁵ 10⁷
TCRvβ

图37

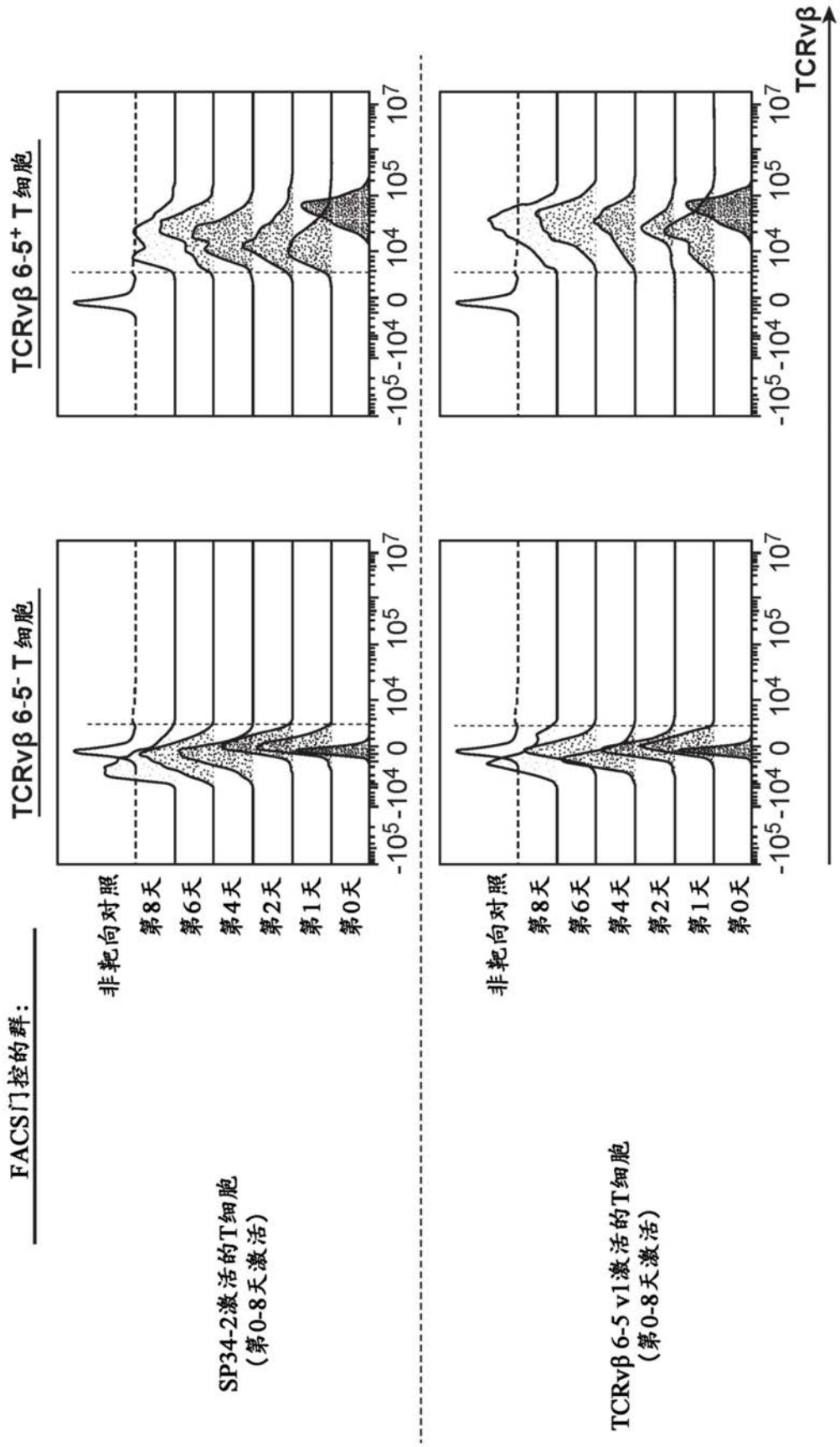

FACS门控的群:
TCRvβ 6-5⁻ T细胞
TCRvβ 6-5⁺ T细胞
非靶向对照
第8天
第6天
第4天
第2天
第1天
第0天
SP34-2激活的T细胞
(第0-8天激活)
TCRvβ 6-5 v1激活的T细胞
(第0-8天激活)
-10⁵ -10⁴ 0 10⁴ 10⁵ 10⁷
TCRvβ

图38

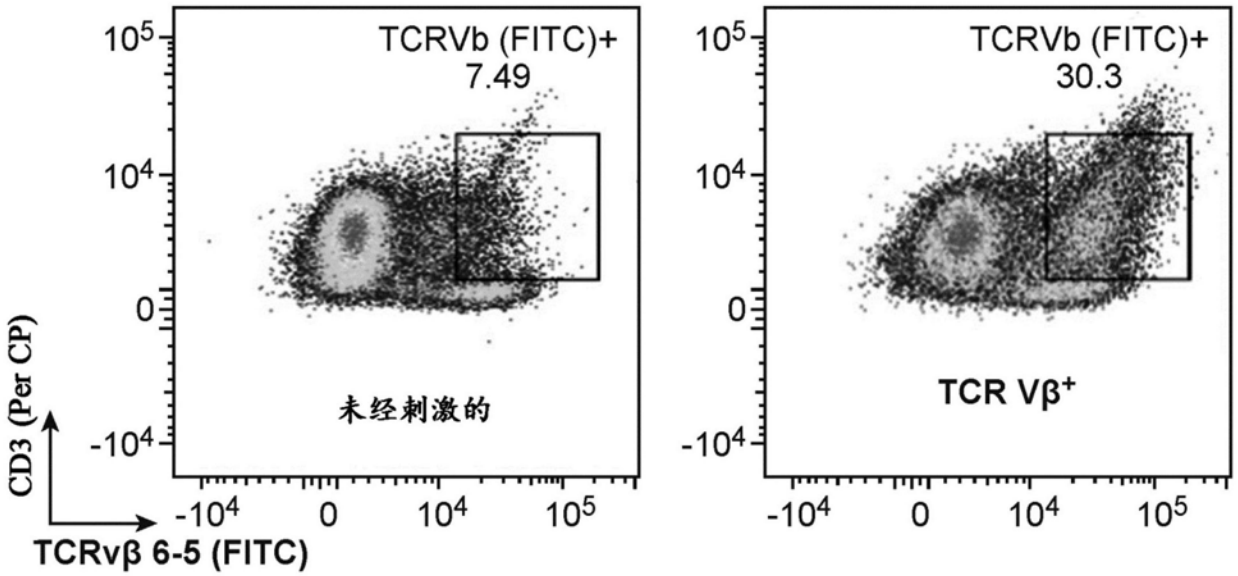

TCRVb (FITC)+
7.49
未经刺激的
TCRVb (FITC)+
30.3
TCR Vβ+
CD3 (Per CP)
TCRvβ 6-5 (FITC)

图39A

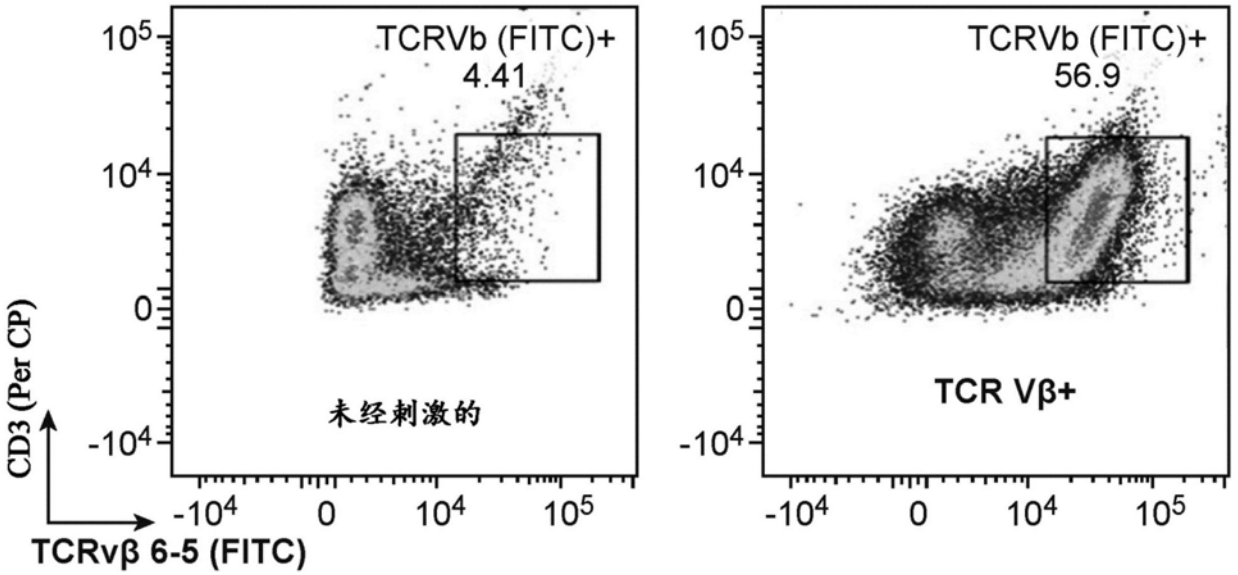

TCRVb (FITC)+
4.41
未经刺激的
TCRVb (FITC)+
56.9
TCR Vβ+
CD3 (Per CP)
TCRvβ 6-5 (FITC)

图39B

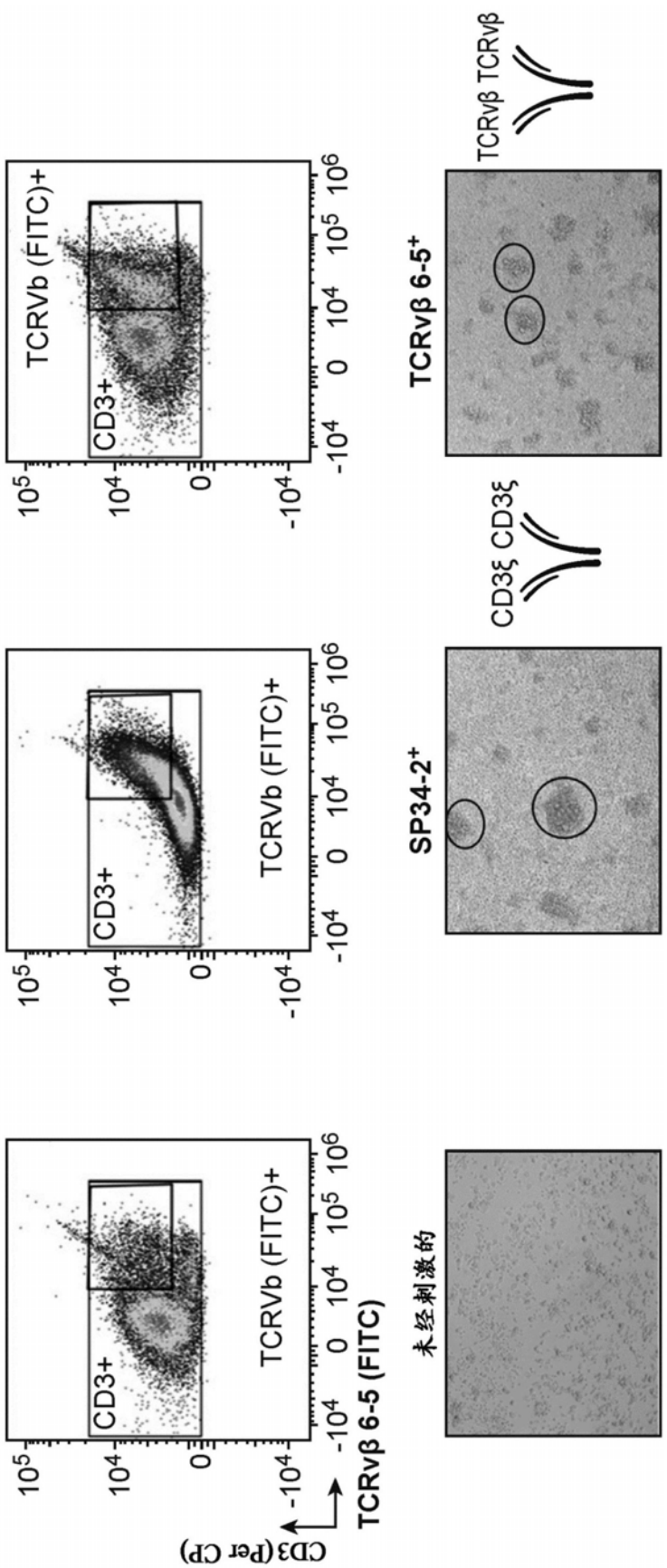

CD3(Per CP)
TCRvβ 6-5 (FITC)
CD3+
TCRVb (FITC)+
未经刺激的
SP34-2+
CD3ξ CD3ξ
TCRvβ TCRvβ
TCRvβ 6-5+

图40

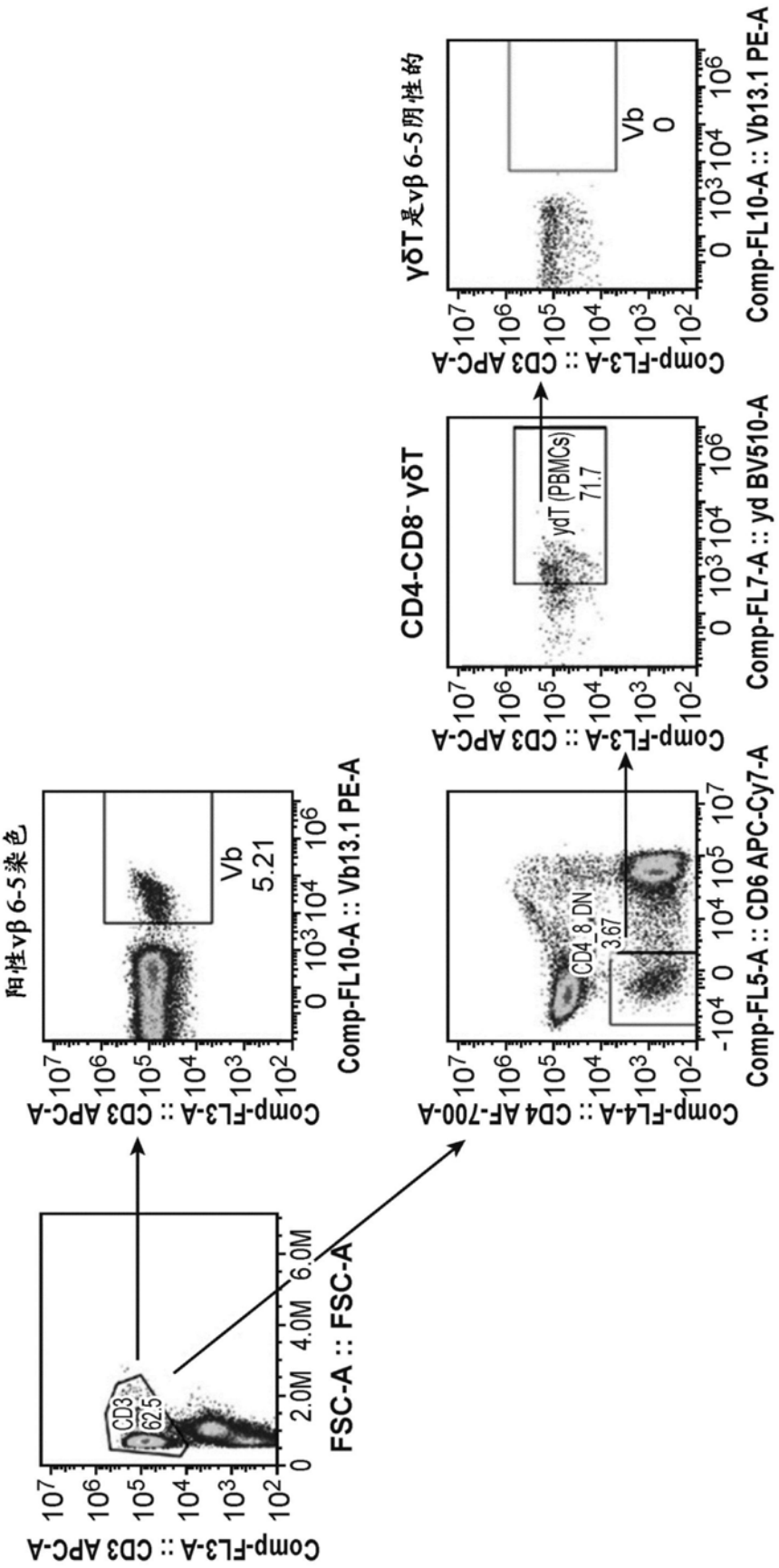

FSC-A :: FSC-A
Comp-FL3-A :: CD3 APC-A
CD3 62.5
Comp-FL4-A :: CD4 AF-700-A
CD4 8.DN 3.67
Comp-FL5-A :: CD6 APC-Cy7-A
Comp-FL10-A :: Vb13.1 PE-A
Vb 5.21
阳性vβ 6-5染色
Comp-FL7-A :: γd BV510-A
CD4-CD8- γδT
γdT (PBMCs) 71.7
γδT是vβ 6-5阴性的
Vb 0

图41

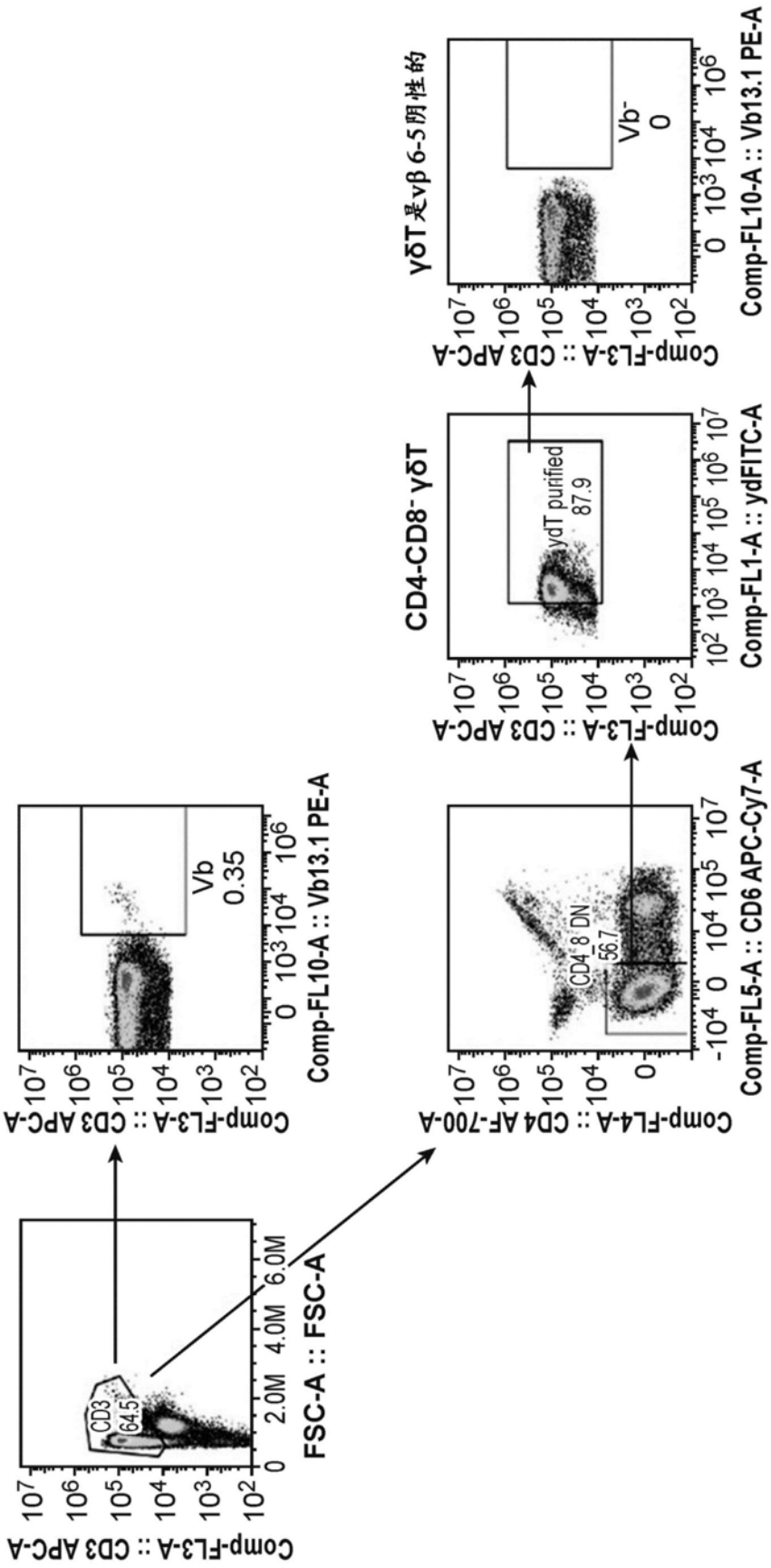

FSC-A :: FSC-A
Comp-FL3-A :: CD3 APC-A
CD3
64.5
Comp-FL4-A :: CD4 AF-700-A
Comp-FL5-A :: CD6 APC-Cy7-A
CD4+8- DN
56.7
Comp-FL1-A :: ydFITC-A
Comp-FL10-A :: Vb13.1 PE-A
CD4-CD8- γδT
γdT purified
87.9
Vb
0.35
γδT 是vβ 6-5阴性的
Vb-
0

图42

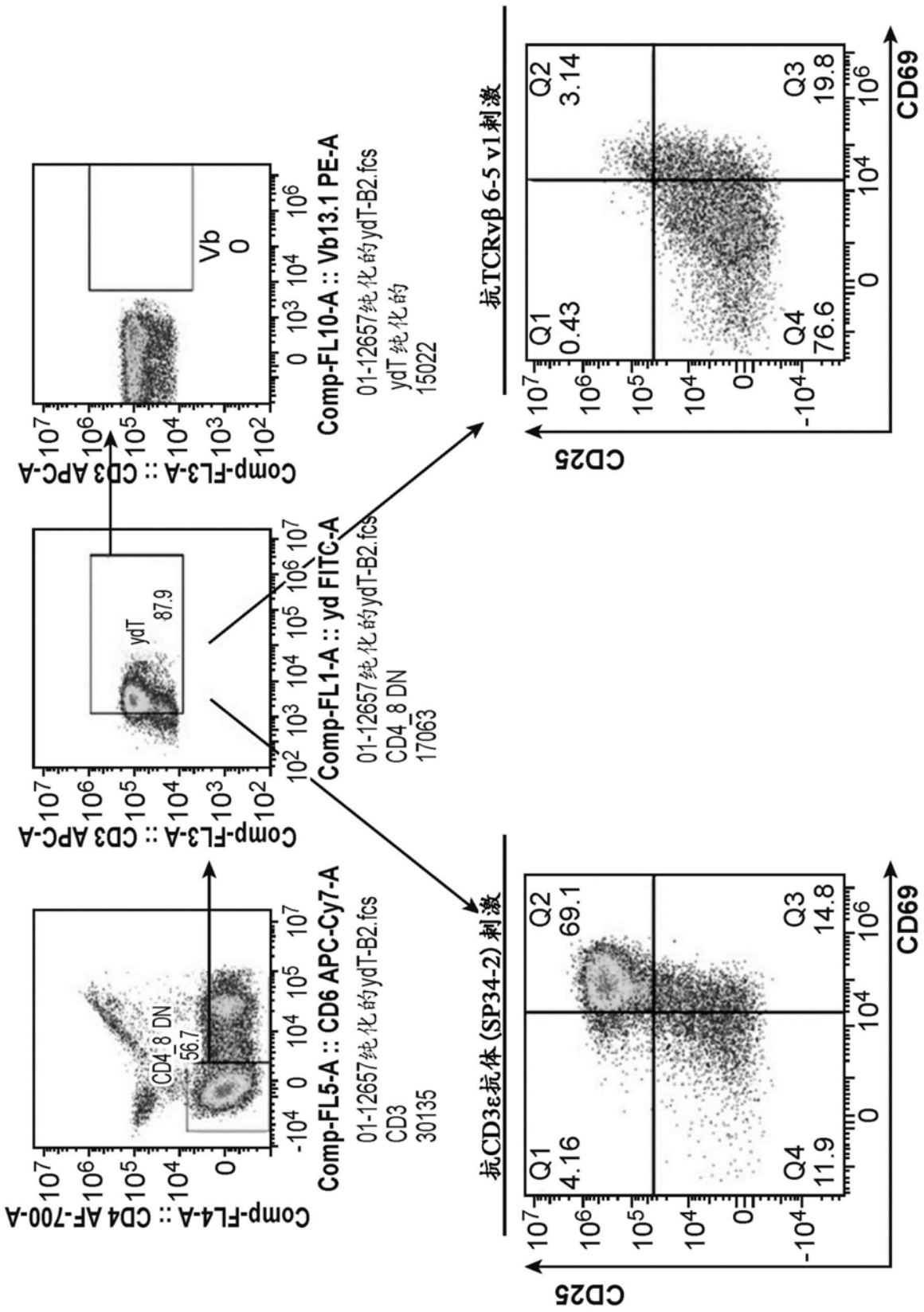

Comp-FL4-A :: CD4 AF-700-A
Comp-FL5-A :: CD6 APC-Cy7-A
01-12657纯化的ydT-B2.fcs
CD3
30135
CD4_8 DN
56.7
Comp-FL3-A :: CD3 APC-A
Comp-FL1-A :: yd FITC-A
01-12657纯化的ydT-B2.fcs
CD4_8 DN
17063
ydT
87.9
Comp-FL3-A :: CD3 APC-A
Comp-FL10-A :: Vb13.1 PE-A
01-12657纯化的ydT-B2.fcs
ydT纯化的
15022
Vb
0
抗CD3ε抗体(SP34-2)刺激
CD25
CD69
Q1
4.16
Q2
69.1
Q3
14.8
Q4
11.9
抗TCRvβ 6-5 v1刺激
CD25
CD69
Q1
0.43
Q2
3.14
Q3
19.8
Q4
76.6

图43

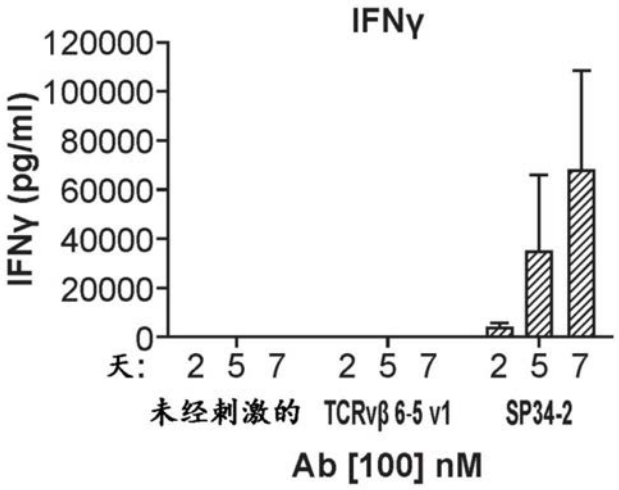

IFNγ
IFNγ (pg/ml)
120000
100000
80000
60000
40000
20000
0
天: 2 5 7 2 5 7 2 5 7
未经刺激的 TCRvβ 6-5 v1 SP34-2
Ab [100] nM

图44A

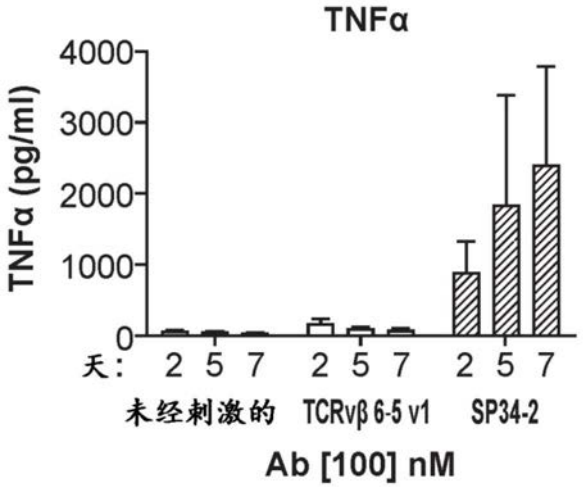

TNFα
TNFα (pg/ml)
4000
3000
2000
1000
0
天: 2 5 7 2 5 7 2 5 7
未经刺激的 TCRvβ 6-5 v1 SP34-2
Ab [100] nM

图44B

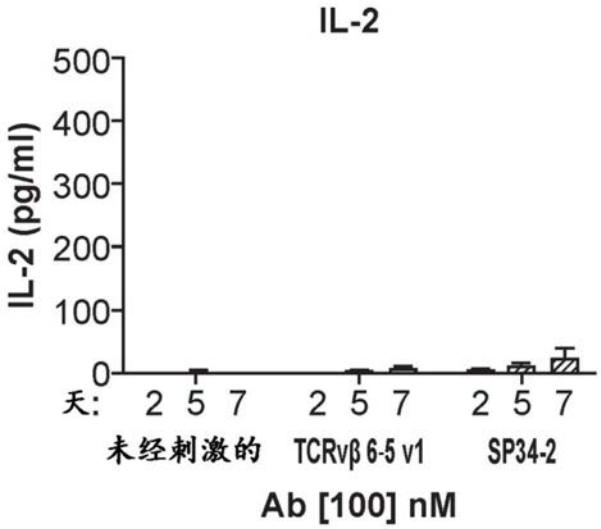

IL-2
IL-2 (pg/ml)
500
400
300
200
100
0
天: 2 5 7 2 5 7 2 5 7
未经刺激的
TCRvβ 6-5 v1
SP34-2
Ab [100] nM

图44C

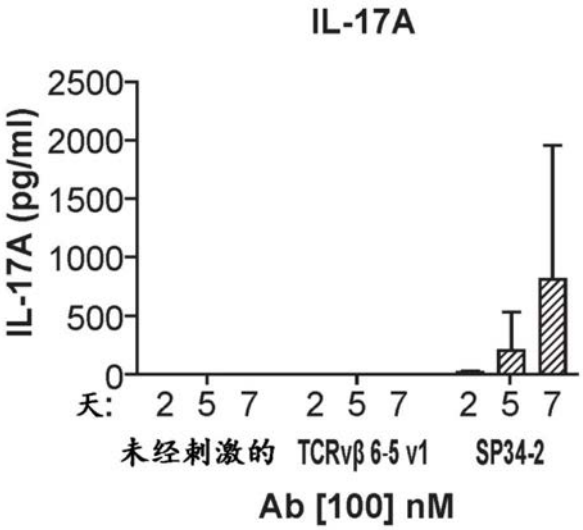

IL-17A
IL-17A (pg/ml)
2500
2000
1500
1000
500
0
天: 2 5 7 2 5 7 2 5 7
未经刺激的
TCRvβ 6-5 v1
SP34-2
Ab [100] nM

图44D

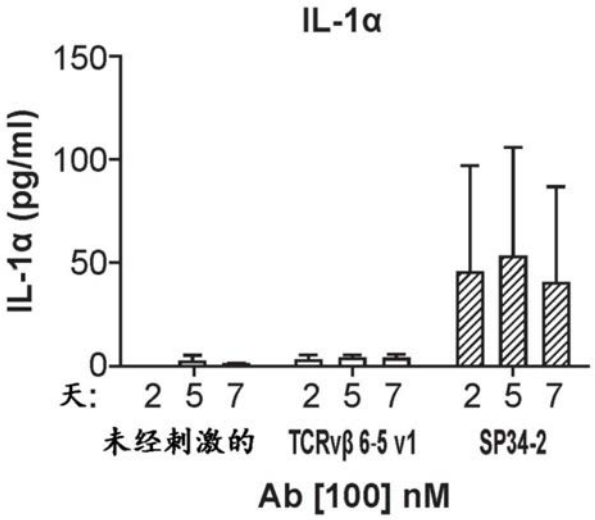

IL-1α
IL-1α (pg/ml)
150
100
50
0
天: 2 5 7 2 5 7 2 5 7
未经刺激的
TCRvβ 6-5 v1
SP34-2
Ab [100] nM

图44E

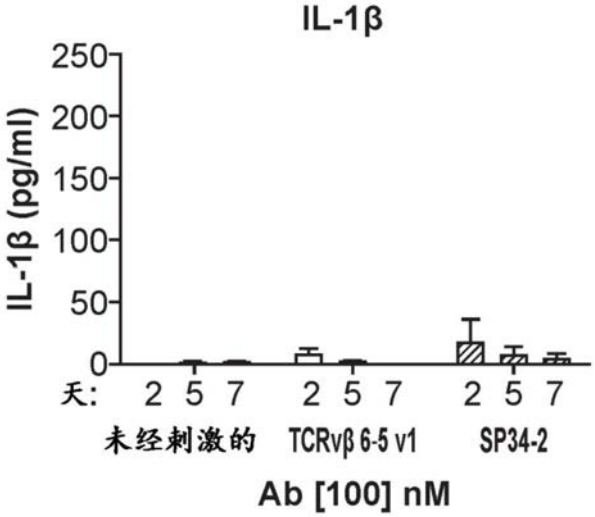

IL-1β
IL-1β (pg/ml)
250
200
150
100
50
0
天: 2 5 7 2 5 7 2 5 7
未经刺激的
TCRvβ 6-5 v1
SP34-2
Ab [100] nM

图44F

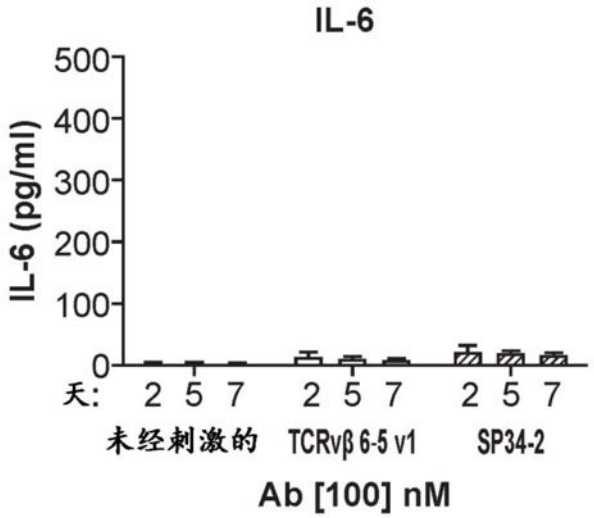

IL-6
IL-6 (pg/ml)
500
400
300
200
100
0
天: 2 5 7 2 5 7 2 5 7
未经刺激的
TCRvβ 6-5 v1
SP34-2
Ab [100] nM

图44G

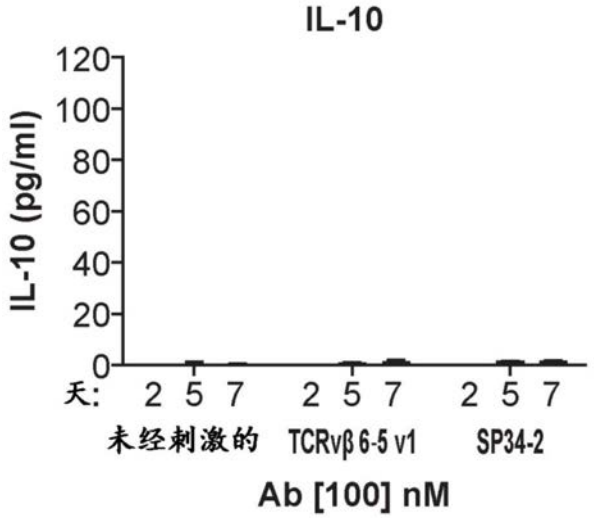

IL-10
IL-10 (pg/ml)
120
100
80
60
40
20
0
天: 2 5 7 2 5 7 2 5 7
未经刺激的
TCRvβ 6-5 v1
SP34-2
Ab [100] nM

图44H

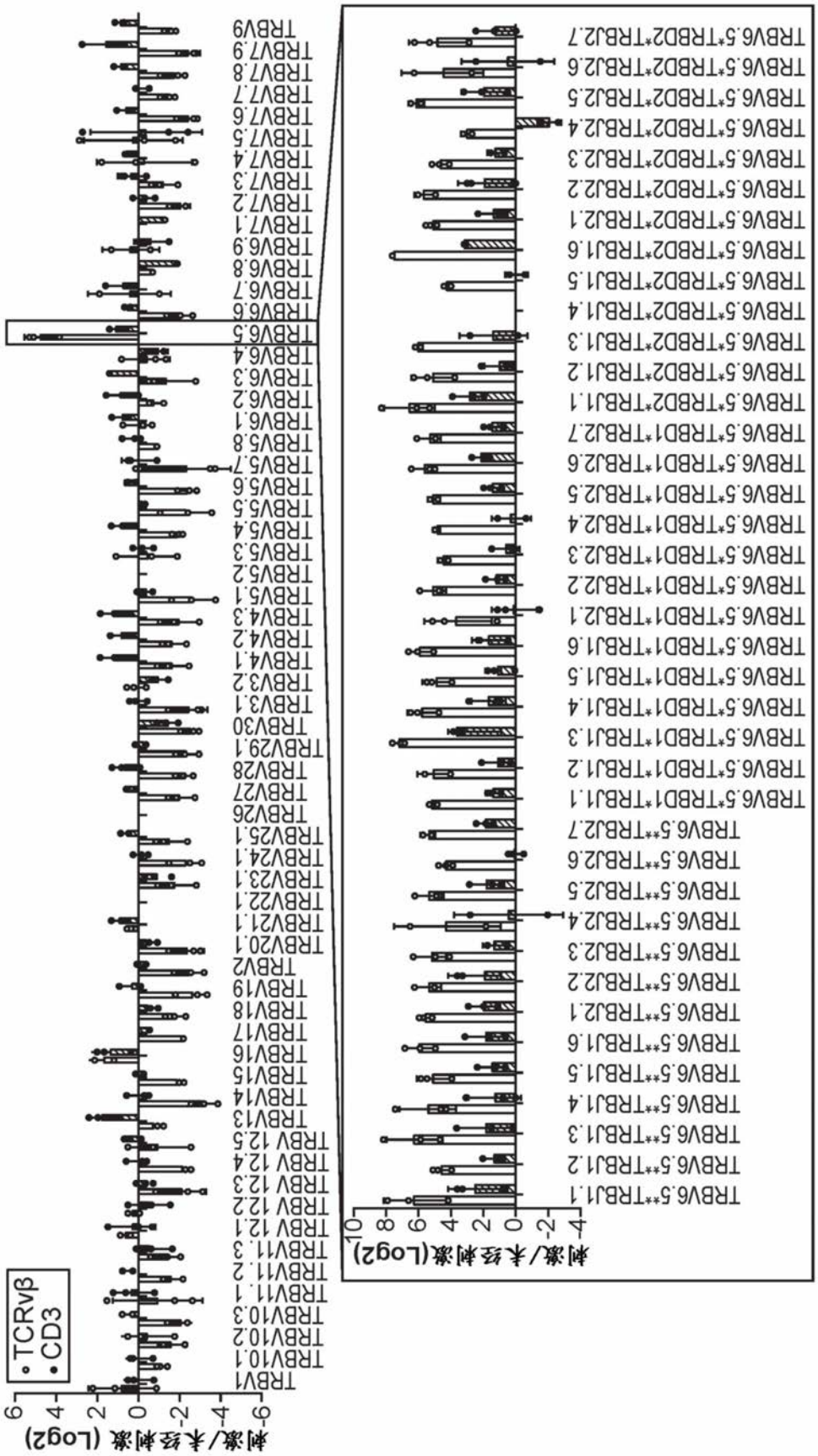

刺激/未经刺激 (Log2)
6
4
2
0
-2
-4
-6
• TCRVβ
• CD3
TRBV1
TRBV10.1
TRBV10.2
TRBV10.3
TRBV11.1
TRBV11.2
TRBV11.3
TRBV 12.1
TRBV 12.2
TRBV 12.3
TRBV 12.4
TRBV 12.5
TRBV13
TRBV14
TRBV15
TRBV16
TRBV17
TRBV18
TRBV19
TRBV2
TRBV20.1
TRBV21.1
TRBV22.1
TRBV23.1
TRBV24.1
TRBV25.1
TRBV26
TRBV27
TRBV28
TRBV29.1
TRBV30
TRBV3.1
TRBV3.2
TRBV4.1
TRBV4.2
TRBV4.3
TRBV5.1
TRBV5.2
TRBV5.3
TRBV5.4
TRBV5.5
TRBV5.6
TRBV5.7
TRBV5.8
TRBV6.1
TRBV6.2
TRBV6.3
TRBV6.4
TRBV6.5
TRBV6.6
TRBV6.7
TRBV6.8
TRBV6.9
TRBV7.1
TRBV7.2
TRBV7.3
TRBV7.4
TRBV7.5
TRBV7.6
TRBV7.7
TRBV7.8
TRBV7.9
TRBV9
刺激/未经刺激(Log2)
10
8
6
4
2
0
-2
-4
TRBV6.5**TRBJ1.1
TRBV6.5**TRBJ1.2
TRBV6.5**TRBJ1.3
TRBV6.5**TRBJ1.4
TRBV6.5**TRBJ1.5
TRBV6.5**TRBJ1.6
TRBV6.5**TRBJ2.1
TRBV6.5**TRBJ2.2
TRBV6.5**TRBJ2.3
TRBV6.5**TRBJ2.4
TRBV6.5**TRBJ2.5
TRBV6.5**TRBJ2.6
TRBV6.5**TRBJ2.7
TRBV6.5*TRBD1*TRBJ1.1
TRBV6.5*TRBD1*TRBJ1.2
TRBV6.5*TRBD1*TRBJ1.3
TRBV6.5*TRBD1*TRBJ1.4
TRBV6.5*TRBD1*TRBJ1.5
TRBV6.5*TRBD1*TRBJ1.6
TRBV6.5*TRBD1*TRBJ2.1
TRBV6.5*TRBD1*TRBJ2.2
TRBV6.5*TRBD1*TRBJ2.3
TRBV6.5*TRBD1*TRBJ2.4
TRBV6.5*TRBD1*TRBJ2.5
TRBV6.5*TRBD1*TRBJ2.6
TRBV6.5*TRBD1*TRBJ2.7
TRBV6.5*TRBD2*TRBJ1.1
TRBV6.5*TRBD2*TRBJ1.2
TRBV6.5*TRBD2*TRBJ1.3
TRBV6.5*TRBD2*TRBJ1.4
TRBV6.5*TRBD2*TRBJ1.5
TRBV6.5*TRBD2*TRBJ1.6
TRBV6.5*TRBD2*TRBJ2.1
TRBV6.5*TRBD2*TRBJ2.2
TRBV6.5*TRBD2*TRBJ2.3
TRBV6.5*TRBD2*TRBJ2.4
TRBV6.5*TRBD2*TRBJ2.5
TRBV6.5*TRBD2*TRBJ2.6
TRBV6.5*TRBD2*TRBJ2.7

图45

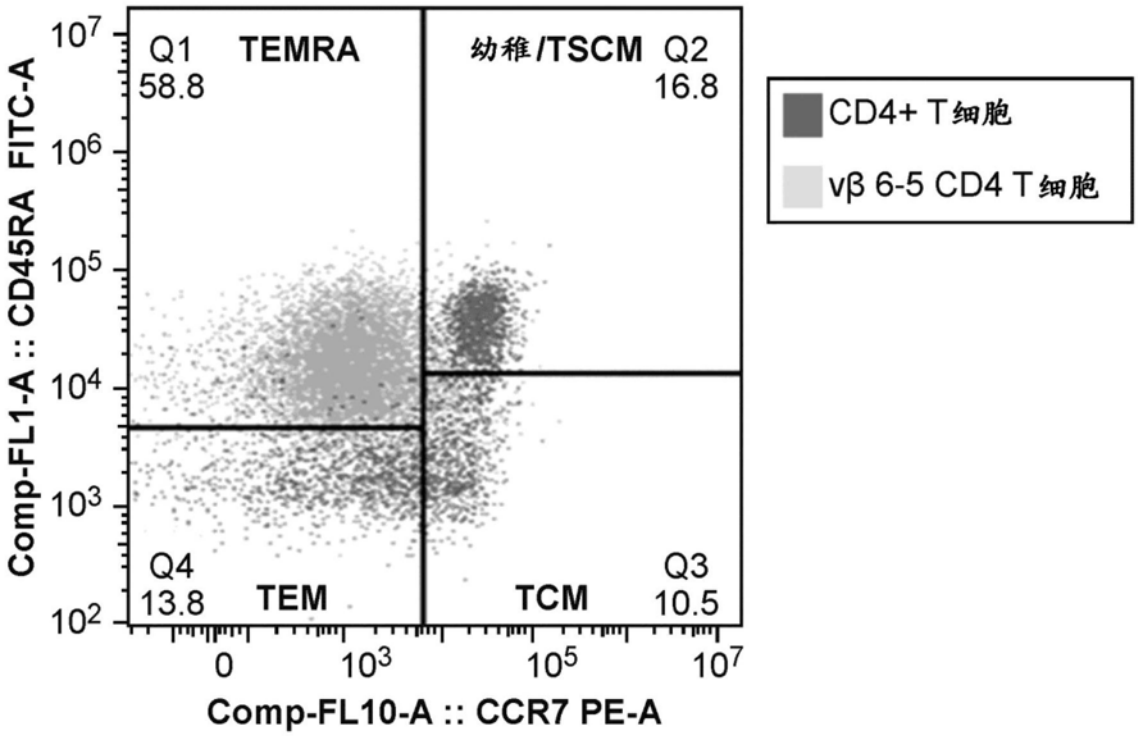

Q1
58.8
TEMRA
幼稚/TSCM
Q2
16.8
Q4
13.8
TEM
TCM
Q3
10.5
Comp-FL1-A :: CD45RA FITC-A
Comp-FL10-A :: CCR7 PE-A
CD4+ T细胞
vβ 6-5 CD4 T细胞

图46A

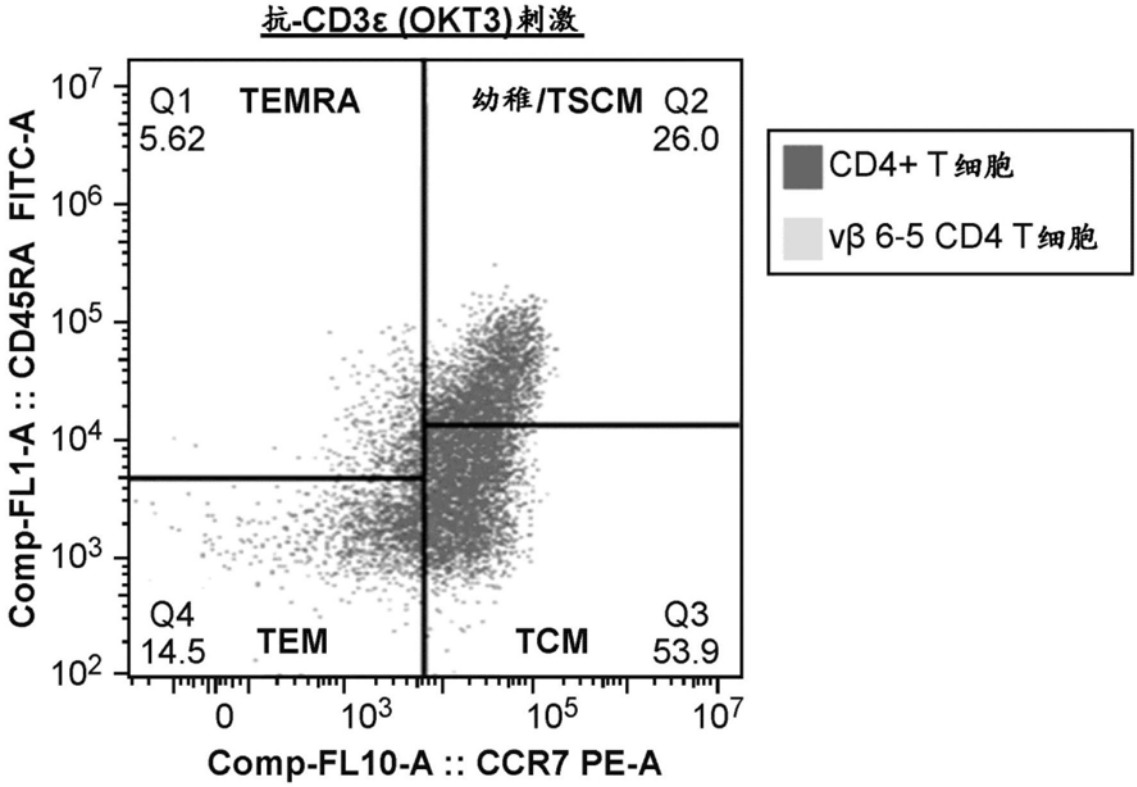

抗-CD3ε (OKT3)刺激
Q1
5.62
TEMRA
幼稚/TSCM
Q2
26.0
Q4
14.5
TEM
TCM
Q3
53.9
Comp-FL1-A :: CD45RA FITC-A
Comp-FL10-A :: CCR7 PE-A
CD4+ T细胞
vβ 6-5 CD4 T细胞

图46B

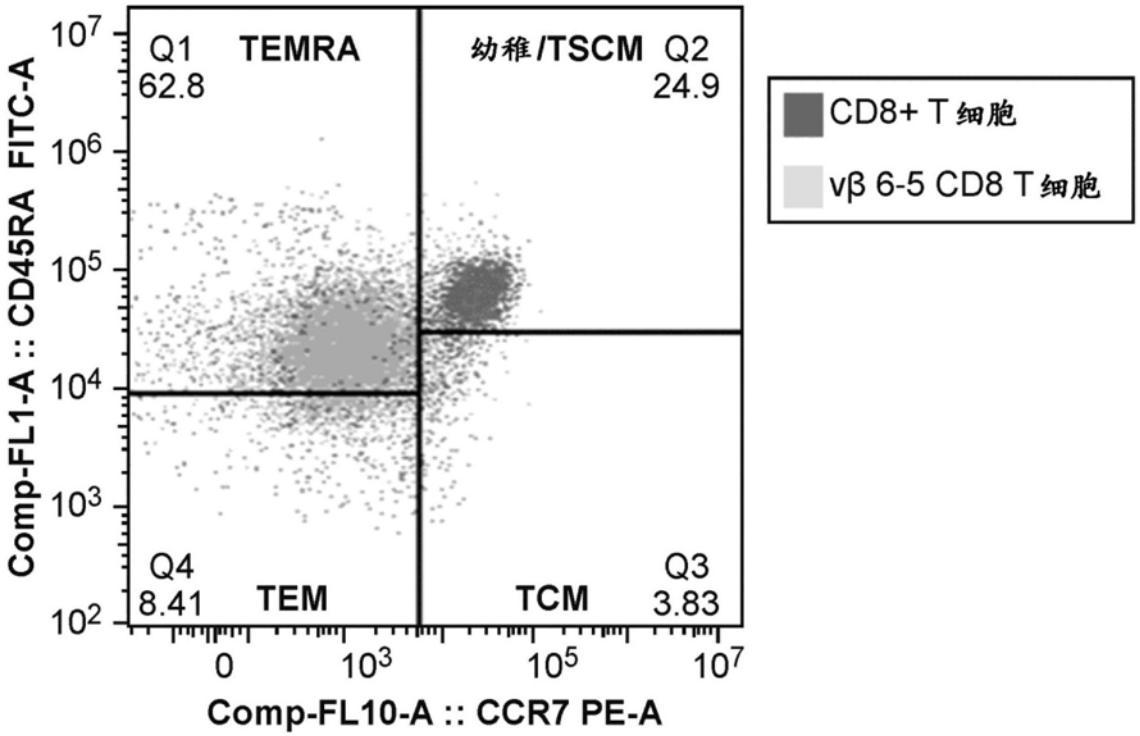

Q1
62.8
TEMRA
幼稚/TSCM
Q2
24.9
Q4
8.41
TEM
TCM
Q3
3.83
Comp-FL1-A :: CD45RA FITC-A
Comp-FL10-A :: CCR7 PE-A
CD8+ T细胞
vβ 6-5 CD8 T细胞

图47A

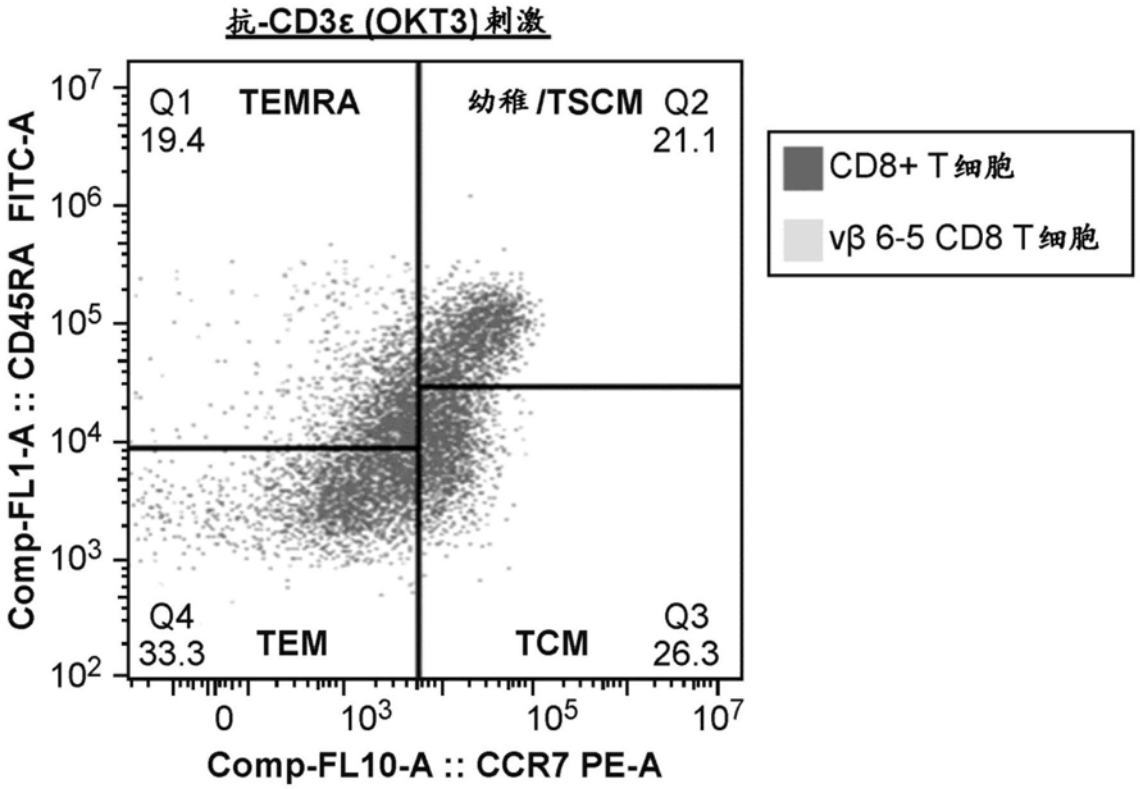

抗-CD3ε (OKT3)刺激
Q1
19.4
TEMRA
幼稚/TSCM
Q2
21.1
Q4
33.3
TEM
TCM
Q3
26.3
Comp-FL1-A :: CD45RA FITC-A
Comp-FL10-A :: CCR7 PE-A
CD8+ T细胞
vβ 6-5 CD8 T细胞

图47B

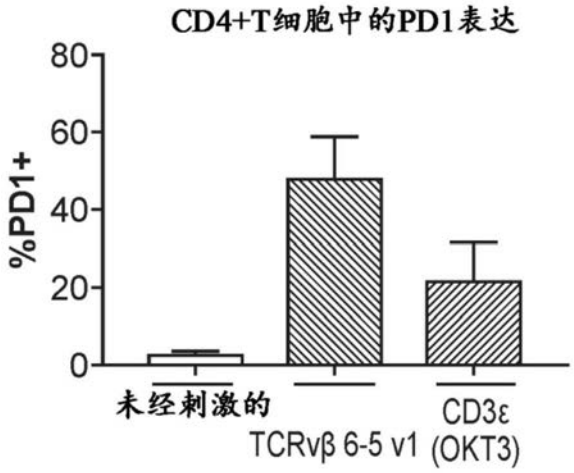

CD4+T细胞中的PD1表达
%PD1+
80
60
40
20
0
未经刺激的
CD3ε
TCRvβ 6-5 v1 (OKT3)

图48A

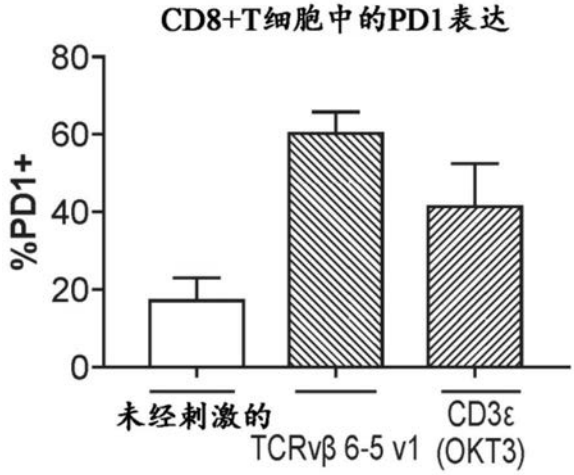

CD8+T细胞中的PD1表达
%PD1+
80
60
40
20
0
未经刺激的
CD3ε
TCRvβ 6-5 v1 (OKT3)

图48B

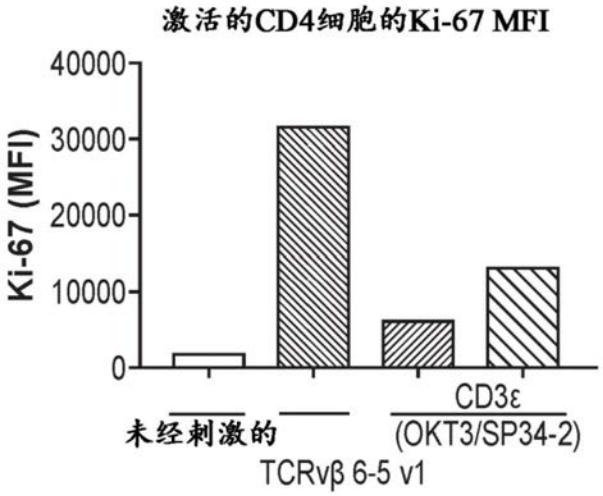

激活的CD4细胞的Ki-67 MFI
Ki-67 (MFI)
40000
30000
20000
10000
0
未经刺激的
CD3ε
(OKT3/SP34-2)
TCRvβ 6-5 v1

图49A

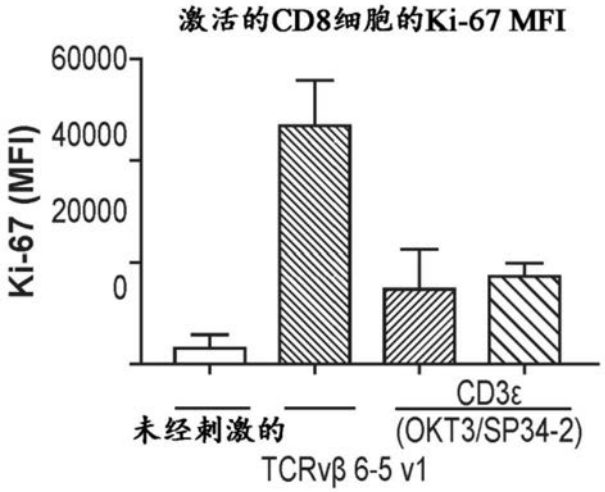

激活的CD8细胞的Ki-67 MFI
Ki-67 (MFI)
60000
40000
20000
0
未经刺激的
CD3ε
(OKT3/SP34-2)
TCRvβ 6-5 v1

图49B

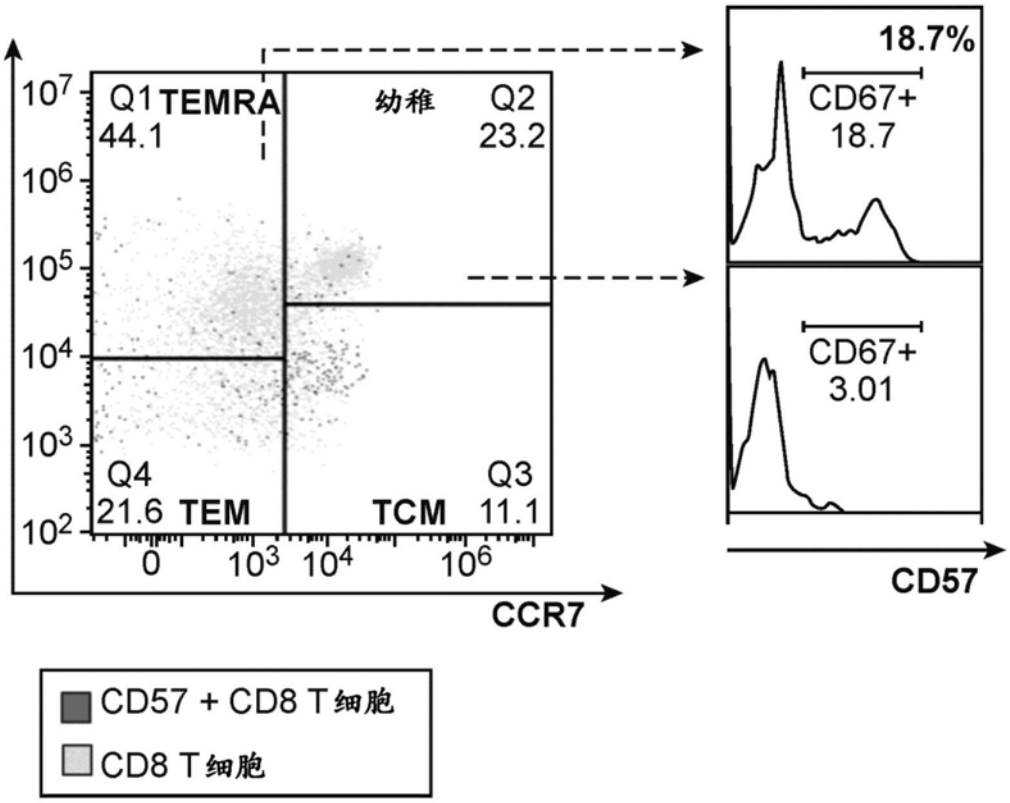

Q1 TEMRA
44.1
幼稚
Q2
23.2
Q4
21.6 TEM
TCM
Q3
11.1
CCR7
18.7%
CD67+
18.7
CD67+
3.01
CD57
CD57 + CD8 T细胞
CD8 T细胞

图50A

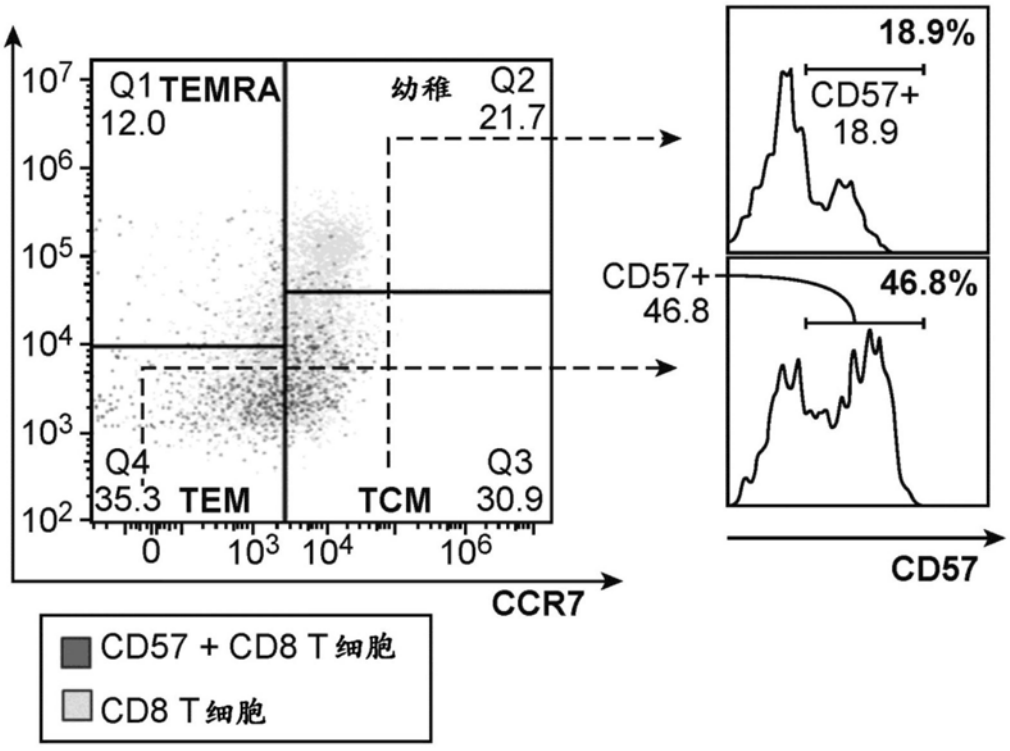

Q1 TEMRA
12.0
幼稚
Q2
21.7
Q4
35.3 TEM
TCM
Q3
30.9
CCR7
18.9%
CD57+
18.9
CD57+
46.8
46.8%
CD57
CD57 + CD8 T细胞
CD8 T细胞

图50B

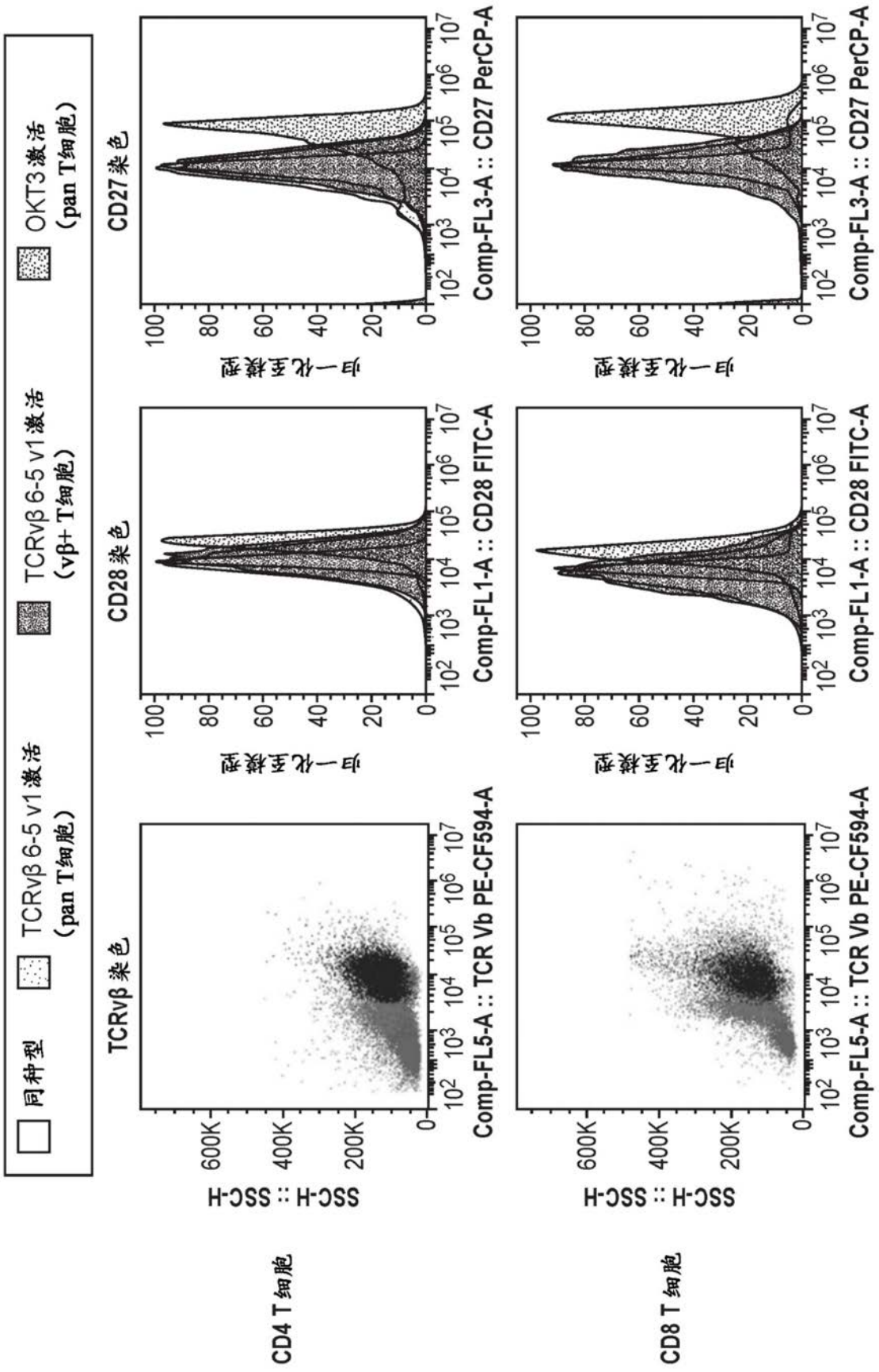

同种型
TCRvβ 6-5 v1激活 (pan T细胞)
TCRvβ 6-5 v1激活 (vβ+ T细胞)
OKT3激活 (pan T细胞)
CD4 T细胞
CD8 T细胞
TCRvβ 染色
CD28 染色
CD27 染色
SSC-H :: SSC-H
Comp-FL5-A :: TCR Vb PE-CF594-A
Comp-FL1-A :: CD28 FITC-A
Comp-FL3-A :: CD27 PerCP-A
归一化至模型

图51

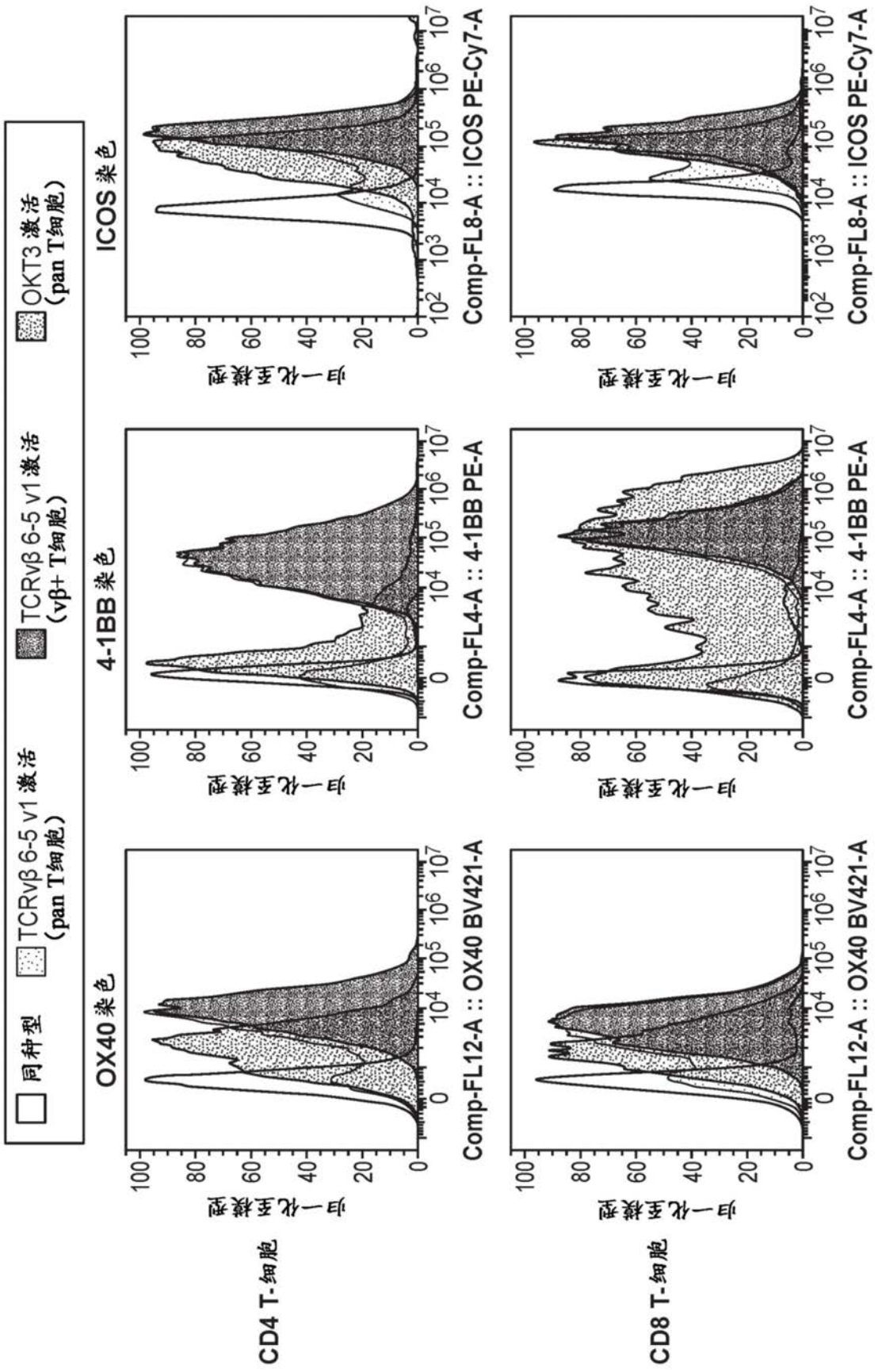

同种型
TCRvβ 6-5 v1 激活 (pan T细胞)
TCRvβ 6-5 v1激活 (vβ+ T细胞)
OKT3 激活 (pan T细胞)
OX40 染色
4-1BB 染色
ICOS 染色
归一化至模型
Comp-FL12-A :: OX40 BV421-A
Comp-FL4-A :: 4-1BB PE-A
Comp-FL8-A :: ICOS PE-Cy7-A
CD4 T-细胞
CD8 T-细胞

图52

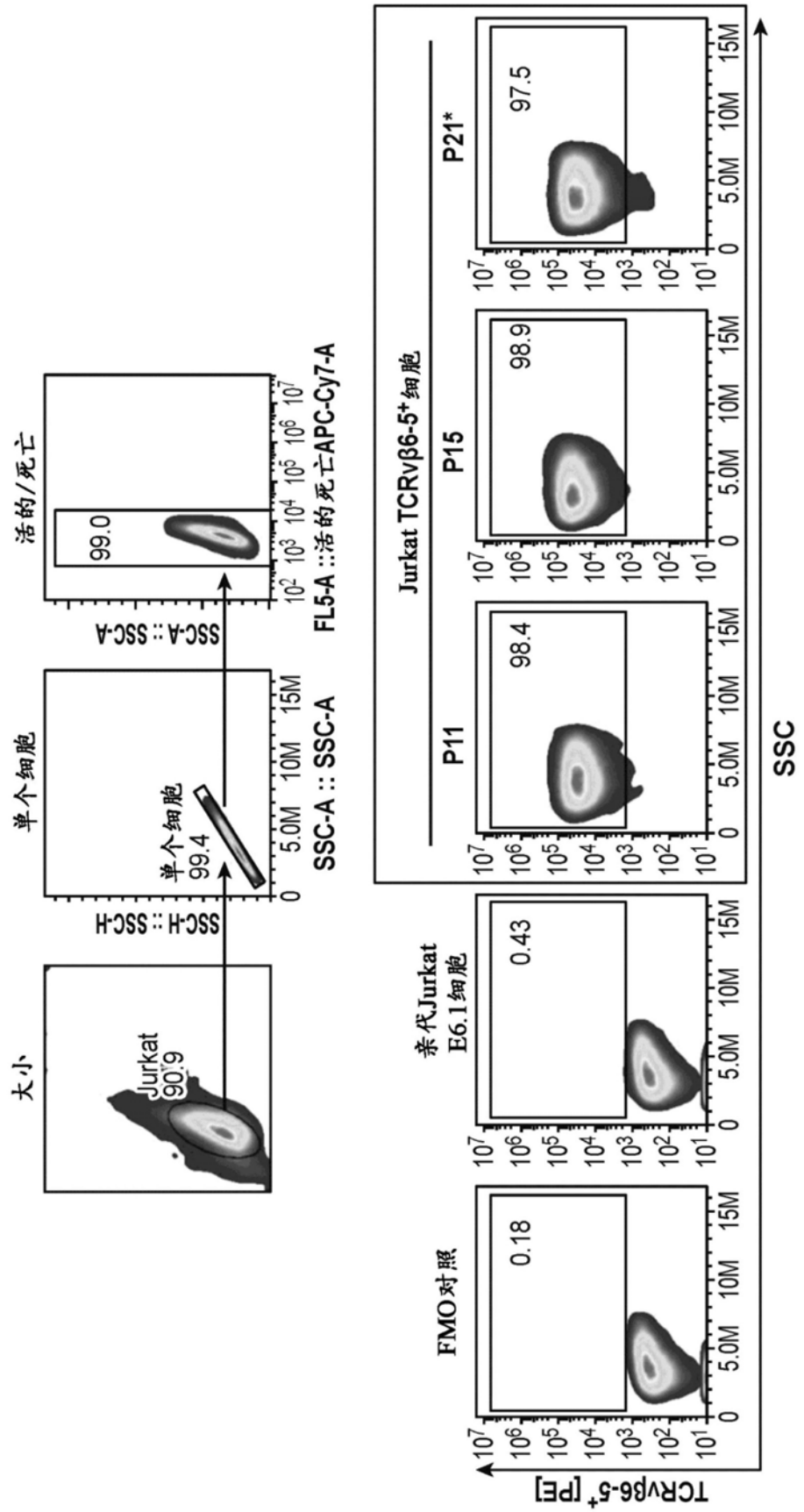

大小
Jurkat
90.9
SSC-A :: SSC-H
单个细胞
单个细胞
99.4
SSC-A :: SSC-A
活的/死亡
99.0
FL5-A ::活的死亡APC-Cy7-A
SSC-A :: SSC-A
Jurkat TCRvβ6-5+细胞
P11
98.4
P15
98.9
P21*
97.5
亲代Jurkat
E6.1细胞
0.43
FMO对照
0.18
TCRvβ6-5+ [PE]
SSC

图53

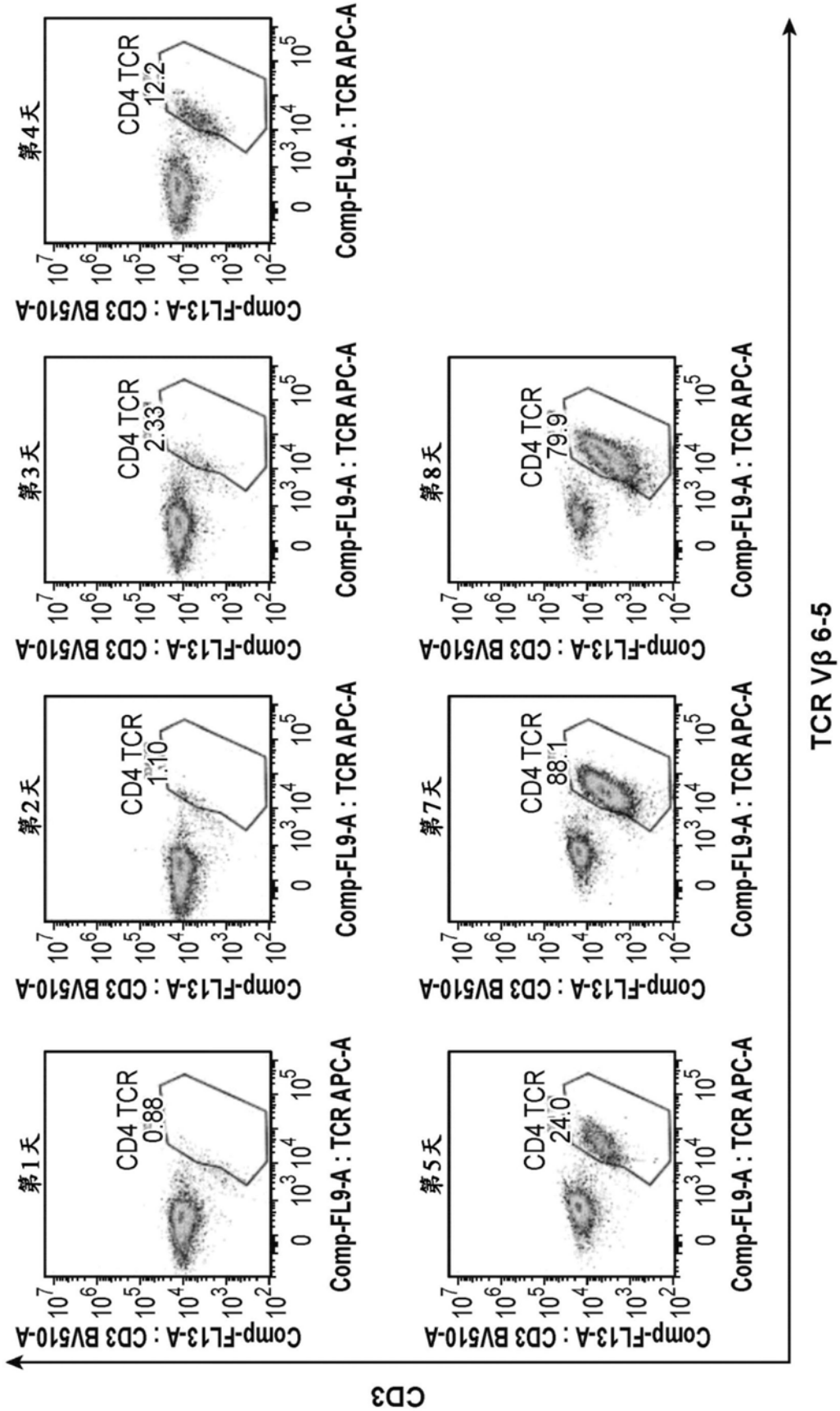

第1天
CD4 TCR
0.88
第2天
CD4 TCR
1.10
第3天
CD4 TCR
2.33
第4天
CD4 TCR
12.2
第5天
CD4 TCR
24.0
第7天
CD4 TCR
88.1
第8天
CD4 TCR
79.9
Comp-FL13-A : CD3 BV510-A
Comp-FL9-A : TCR APC-A
CD3
TCR Vβ 6-5

图54

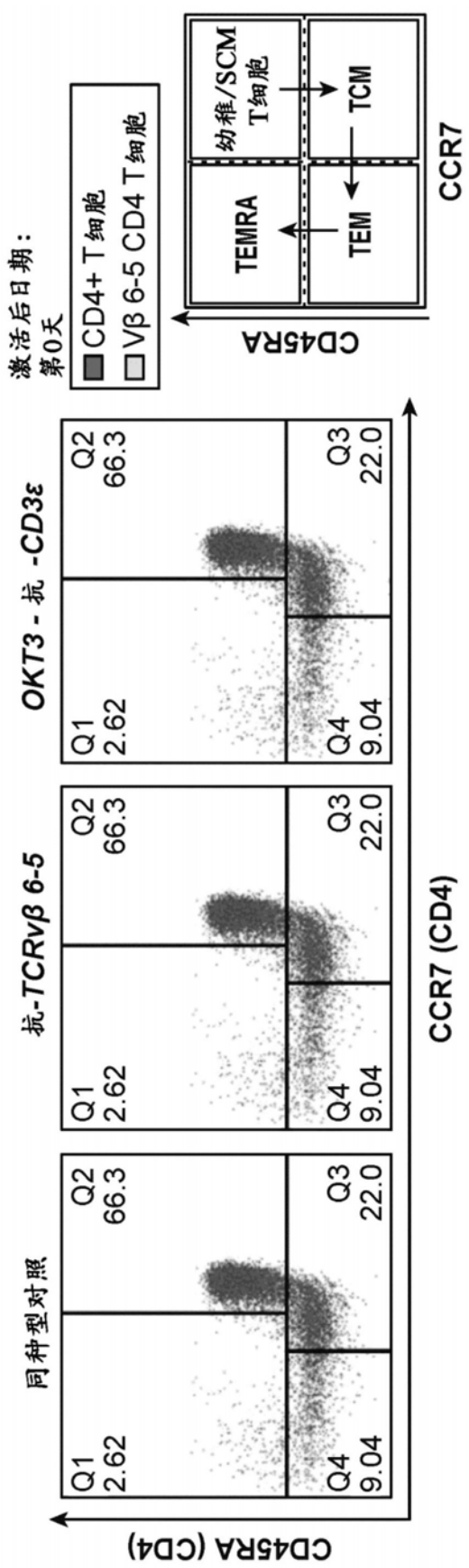

激活后日期：
第0天
CD4+ T细胞
Vβ 6-5 CD4 T细胞
CD45RA
TEMRA
幼稚/SCM T细胞
TEM
TCM
CCR7
同种型对照
抗-TCRvβ 6-5
OKT3 - 抗 -CD3ε
Q1 2.62
Q2 66.3
Q3 22.0
Q4 9.04
CD45RA (CD4)
CCR7 (CD4)

图55A

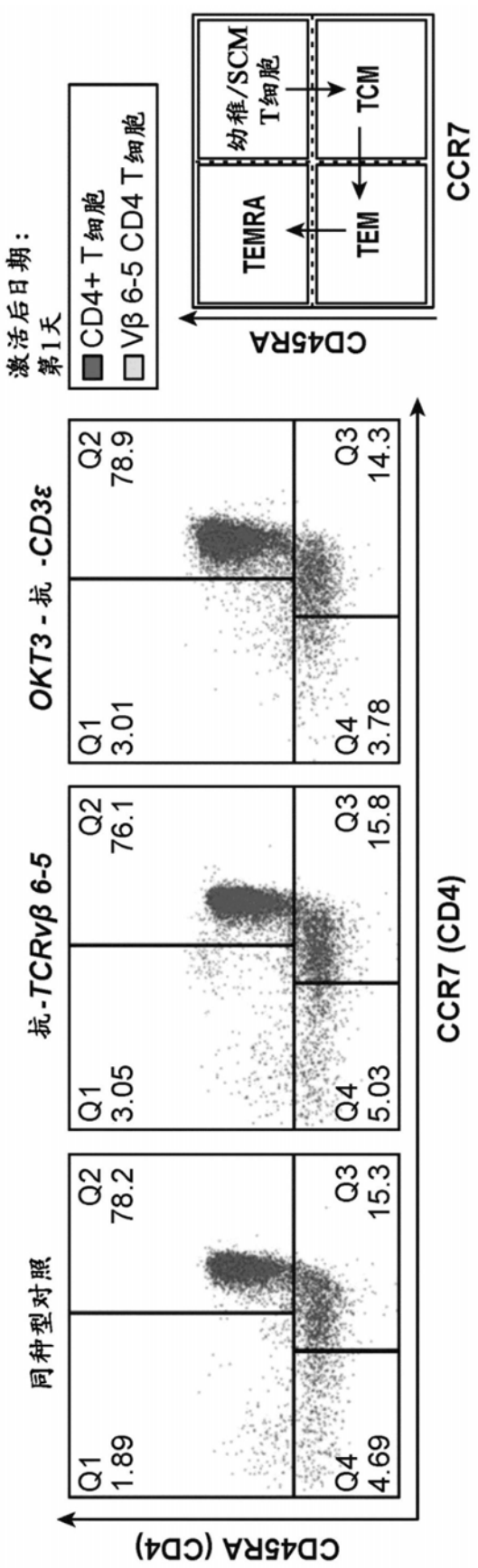

同种型对照
抗-TCRvβ 6-5
OKT3 - 抗 -CD3ε
激活后日期：
第1天
CD4+ T细胞
Vβ 6-5 CD4 T细胞
Q1 1.89
Q2 78.2
Q4 4.69
Q3 15.3
Q1 3.05
Q2 76.1
Q4 5.03
Q3 15.8
Q1 3.01
Q2 78.9
Q4 3.78
Q3 14.3
CD45RA (CD4)
CCR7 (CD4)
TEMRA
幼稚/SCM T细胞
TEM
TCM
CD45RA
CCR7

图55B

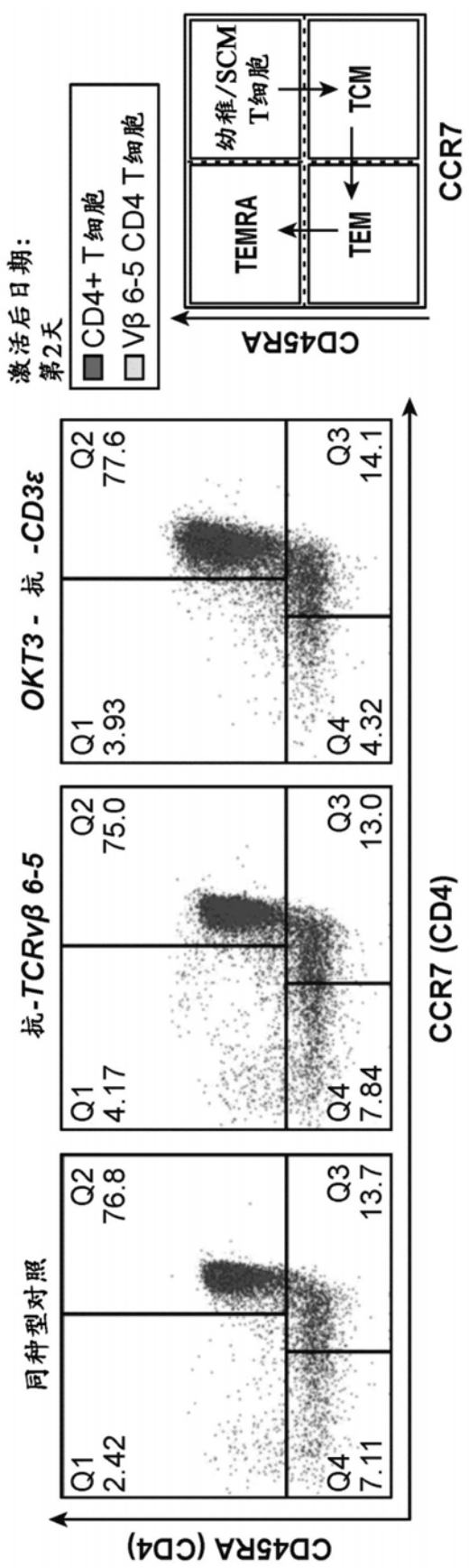

激活后日期:
第2天
CD4+ T细胞
Vβ 6-5 CD4 T细胞
CD45RA
TEMRA
TEM
TCM
幼稚/SCM T细胞
CCR7
同种型对照
抗-TCRvβ 6-5
OKT3 - 抗 -CD3ε
Q1 2.42
Q2 76.8
Q4 7.11
Q3 13.7
Q1 4.17
Q2 75.0
Q4 7.84
Q3 13.0
Q1 3.93
Q2 77.6
Q4 4.32
Q3 14.1
CD45RA (CD4)
CCR7 (CD4)

图55C

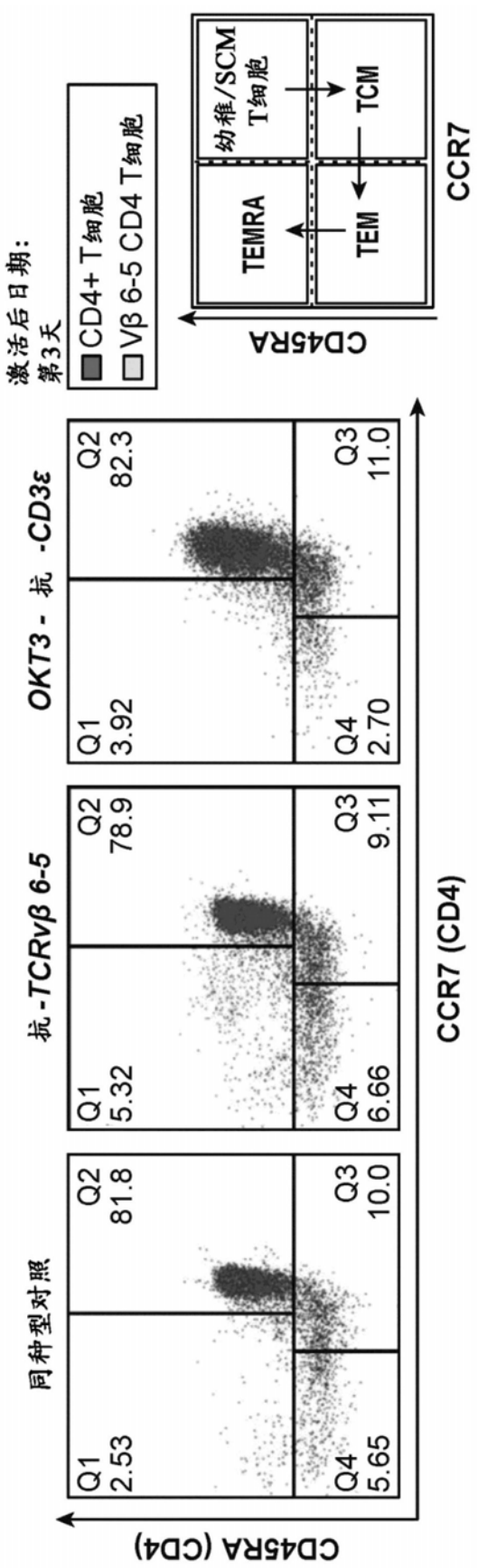

激活后日期:
第3天
CD4+ T细胞
Vβ 6-5 CD4 T细胞
CD45RA
CCR7
幼稚/SCM T细胞
TCM
TEM
TEMRA
同种型对照
抗-TCRvβ 6-5
OKT3 - 抗 -CD3ε
Q1 2.53
Q2 81.8
Q4 5.65
Q3 10.0
Q1 5.32
Q2 78.9
Q4 6.66
Q3 9.11
Q1 3.92
Q2 82.3
Q4 2.70
Q3 11.0
CD45RA (CD4)
CCR7 (CD4)

图55D

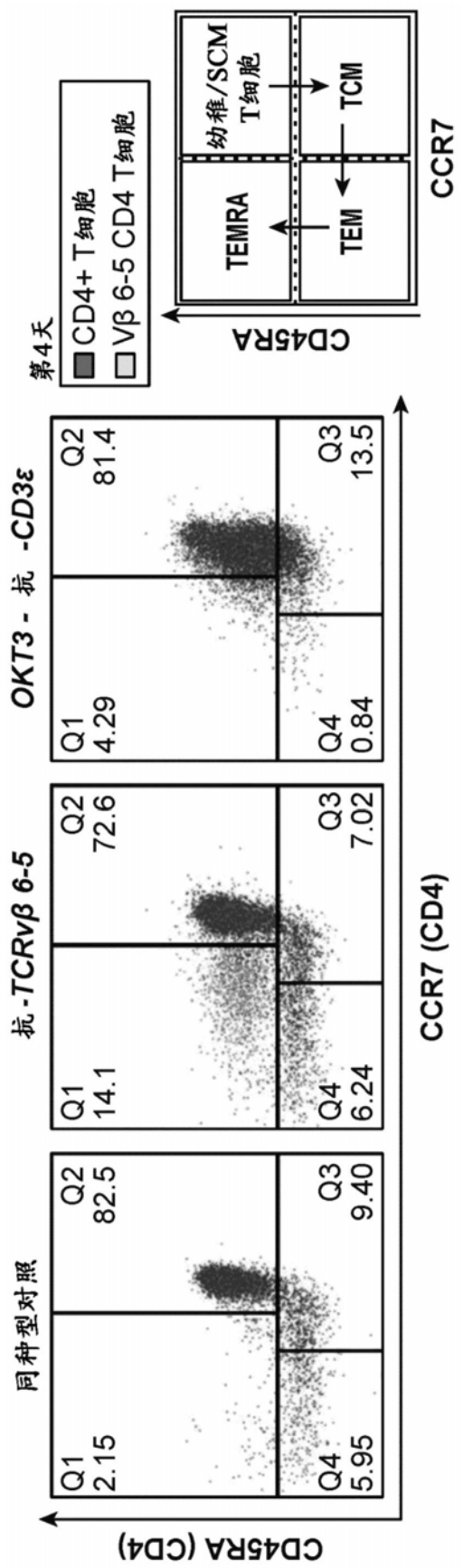

同种型对照
抗-TCRvβ 6-5
OKT3 - 抗 -CD3ε
第4天
CD4+ T细胞
Vβ 6-5 CD4 T细胞
Q1 2.15
Q2 82.5
Q4 5.95
Q3 9.40
Q1 14.1
Q2 72.6
Q4 6.24
Q3 7.02
Q1 4.29
Q2 81.4
Q4 0.84
Q3 13.5
CD45RA (CD4)
CCR7 (CD4)
CD45RA
CCR7
幼稚/SCM T细胞
TCM
TEM
TEMRA

图55E

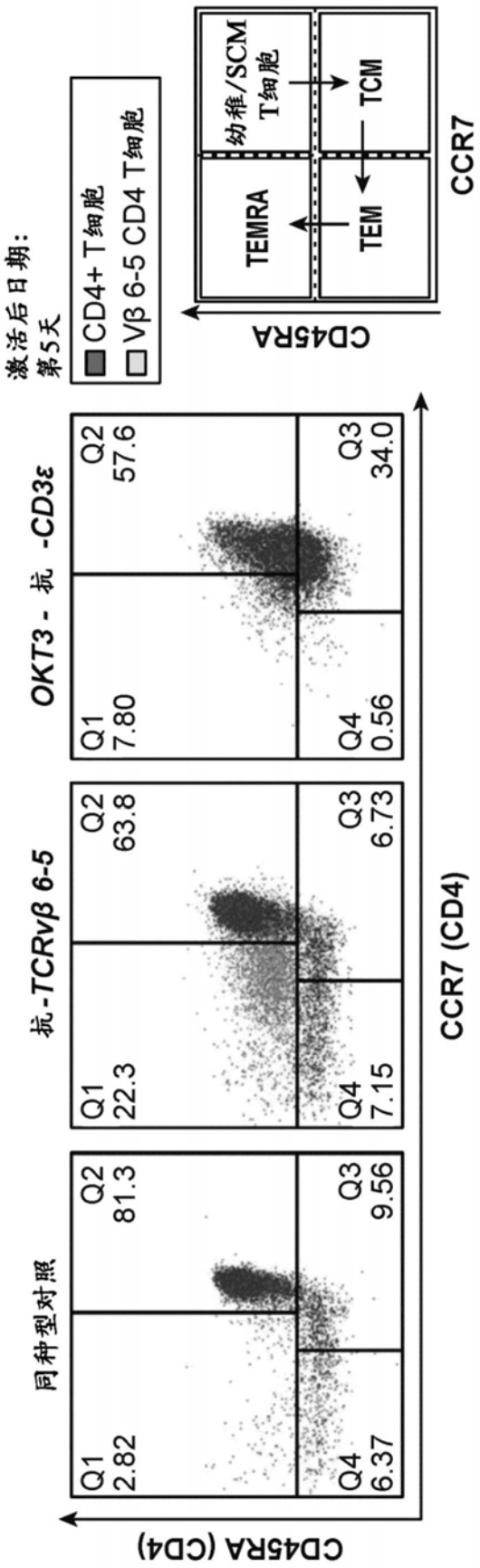

激活后日期:
第5天
CD4+ T细胞
Vβ 6-5 CD4 T细胞
CD45RA
CCR7
幼稚/SCM T细胞
TCM
TEM
TEMRA
同种型对照
抗-TCRvβ 6-5
OKT3 - 抗 -CD3ε
Q1 2.82
Q2 81.3
Q4 6.37
Q3 9.56
Q1 22.3
Q2 63.8
Q4 7.15
Q3 6.73
Q1 7.80
Q2 57.6
Q4 0.56
Q3 34.0
CD45RA (CD4)
CCR7 (CD4)

图55F

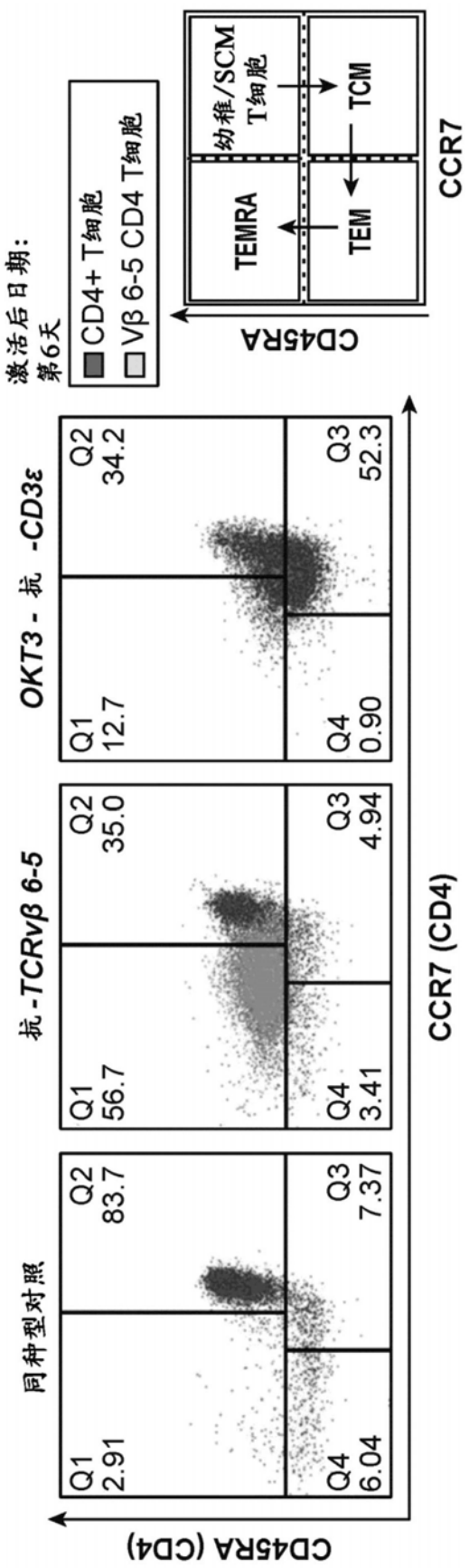

激活后日期：
第6天
CD4+ T细胞
Vβ 6-5 CD4 T细胞
CD45RA
TEMRA
幼稚/SCM
T细胞
TEM
TCM
CCR7
CCR7 (CD4)
CD45RA (CD4)
同种型对照
抗-TCRvβ 6-5
OKT3 - 抗 -CD3ε
Q1 2.91
Q2 83.7
Q4 6.04
Q3 7.37
Q1 56.7
Q2 35.0
Q4 3.41
Q3 4.94
Q1 12.7
Q2 34.2
Q4 0.90
Q3 52.3

图55G

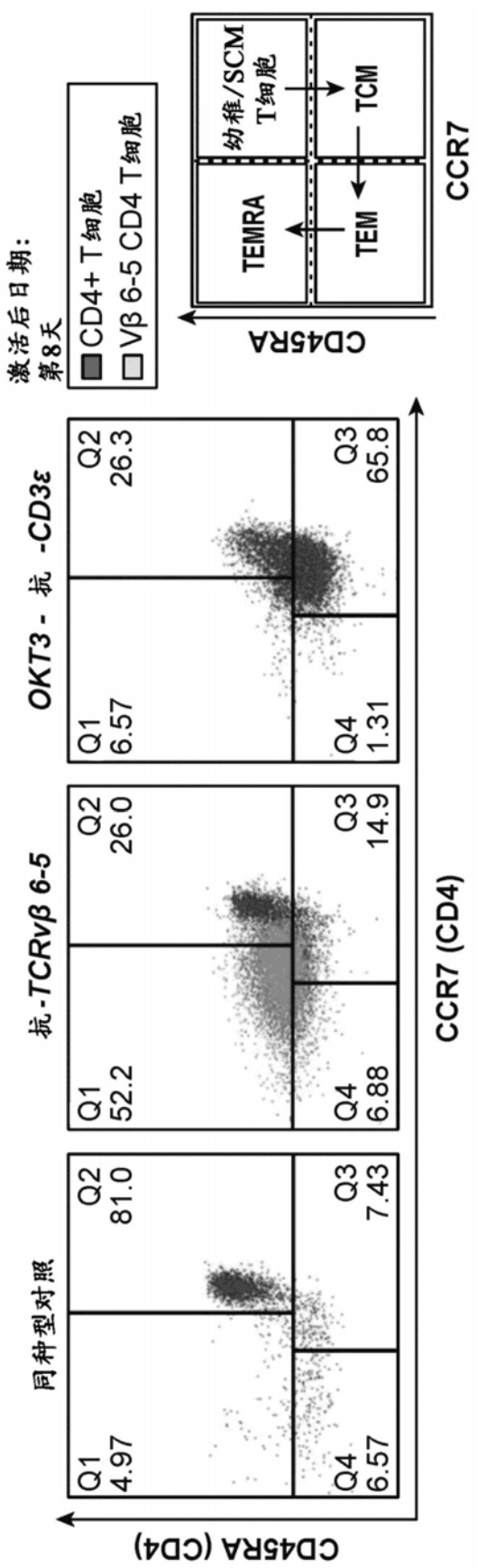

同种型对照
抗-TCRvβ 6-5
OKT3 - 抗 -CD3ε
激活后日期:
第8天
CD4+ T细胞
Vβ 6-5 CD4 T细胞
Q1 4.97
Q2 81.0
Q4 6.57
Q3 7.43
Q1 52.2
Q2 26.0
Q4 6.88
Q3 14.9
Q1 6.57
Q2 26.3
Q4 1.31
Q3 65.8
CD45RA (CD4)
CCR7 (CD4)
TEMRA
幼稚/SCM T细胞
TEM
TCM
CD45RA
CCR7

图55H

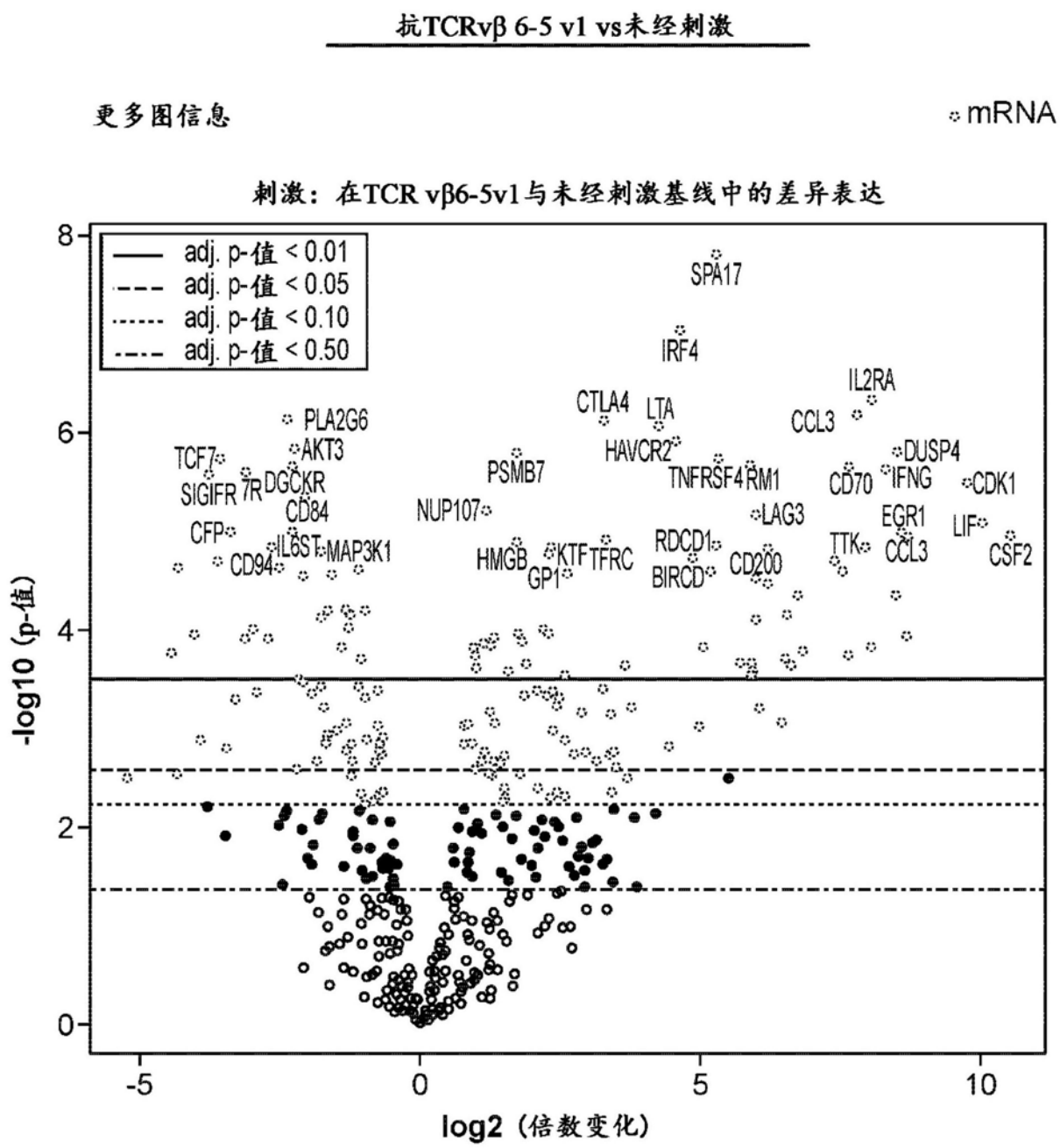

抗TCRvβ 6-5 v1 vs未经刺激
更多图信息
mRNA
刺激：在TCR vβ6-5v1与未经刺激基线中的差异表达
adj. p-值 < 0.01
adj. p-值 < 0.05
adj. p-值 < 0.10
adj. p-值 < 0.50
-log10 (p-值)
log2（倍数变化）
SPA17
IRF4
IL2RA
CTLA4
LTA
CCL3
PLA2G6
AKT3
TCF7
HAVCR2
DUSP4
PSMB7
TNFRSF4
RM1
CD70
IFNG
CDK1
SIGIFR
7R
DGCKR
CD84
NUP107
LAG3
EGR1
LIF
CFP
RDCD1
TTK
CCL3
IL6ST
MAP3K1
HMGB
KTF
TFRC
CD200
CSF2
CD94
GP1
BIRCD

图56A

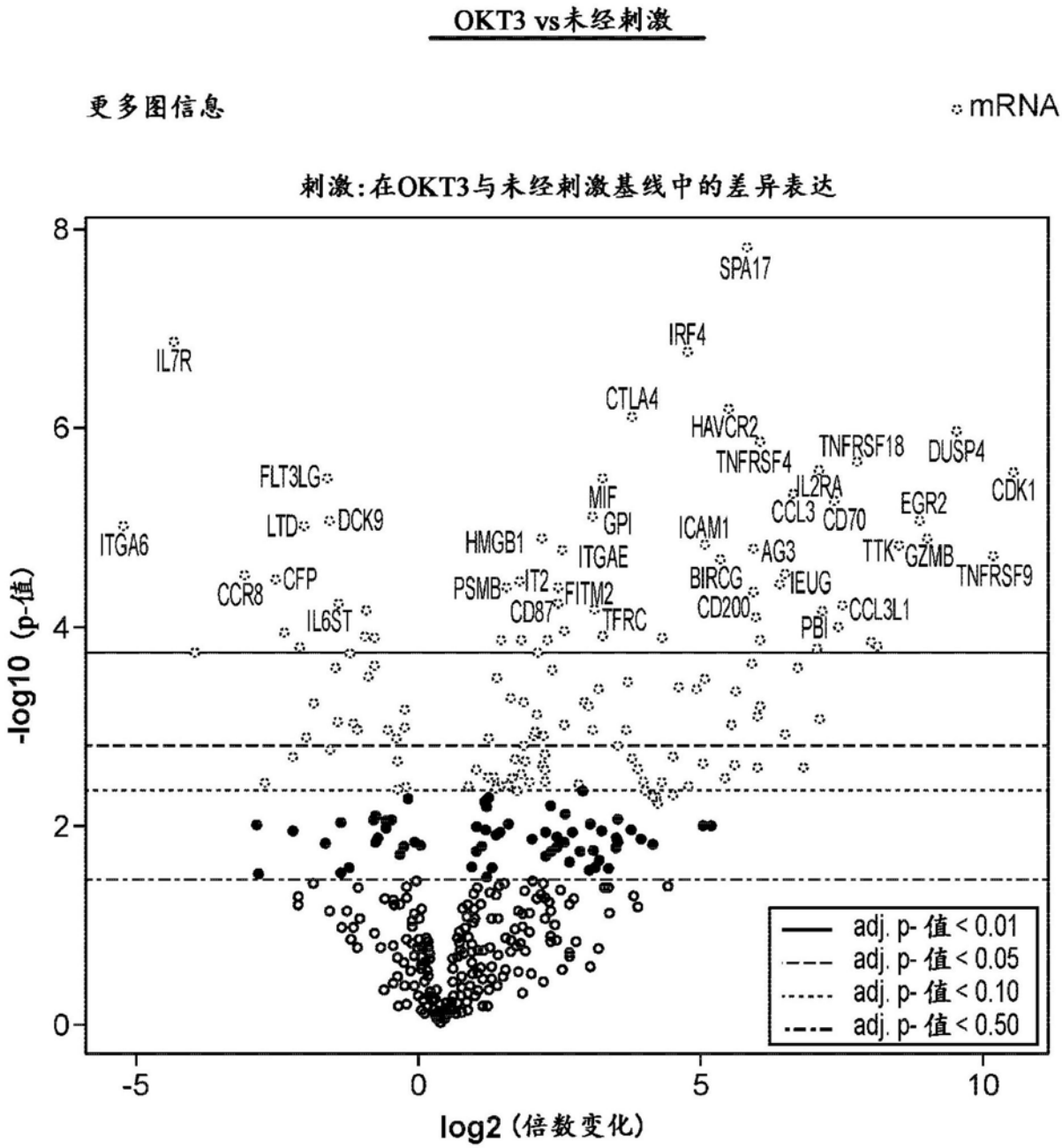

OKT3 vs未经刺激
更多图信息
mRNA
刺激:在OKT3与未经刺激基线中的差异表达
-log10 (p-值)
log2 (倍数变化)
SPA17
IRF4
IL7R
CTLA4
HAVCR2
TNFRSF18
DUSP4
TNFRSF4
FLT3LG
IL2RA
CDK1
MIF
CCL3
CD70
EGR2
LTD
DCK9
GPI
ICAM1
ITGA6
HMGB1
AG3
TTK
GZMB
ITGAE
CFP
BIRC6
TNFRSF9
CCR8
PSMB
IT2
FITM2
IEUG
CD87
CD200
CCL3L1
IL6ST
TFRC
PBI
adj. p-值 < 0.01
adj. p-值 < 0.05
adj. p-值 < 0.10
adj. p-值 < 0.50

图56B

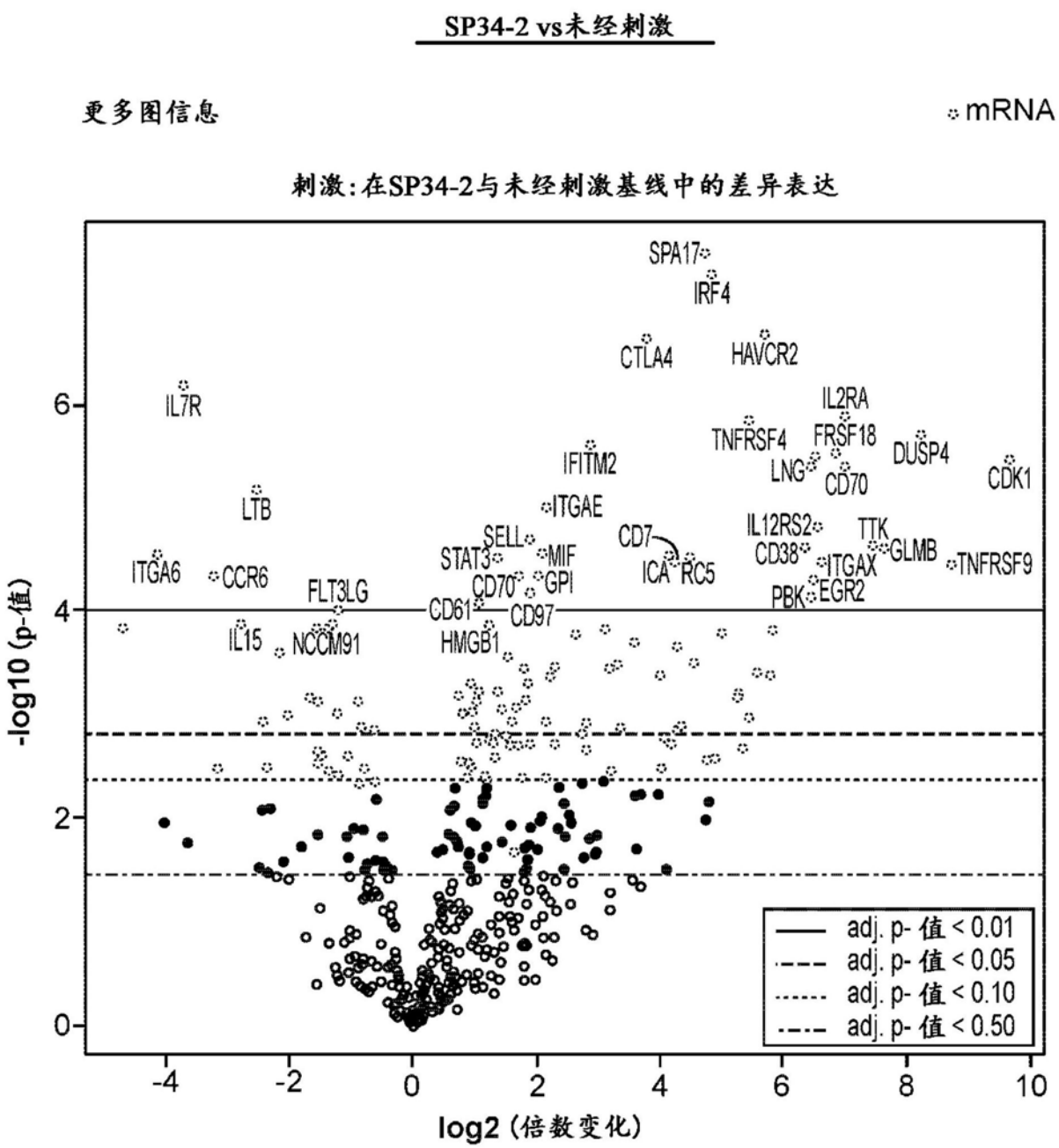

SP34-2 vs未经刺激
更多图信息
mRNA
刺激:在SP34-2与未经刺激基线中的差异表达
SPA17
IRF4
CTLA4
HAVCR2
IL7R
IL2RA
TNFRSF4
FRSF18
DUSP4
IFITM2
LNG
CD70
CDK1
LTB
ITGAE
IL12RS2
TTK
SELL
CD7
STAT3
MIF
CD38
GLMB
ITGA6
CCR6
CD70
GPI
ICA
RC5
ITGAX
TNFRSF9
FLT3LG
PBK
EGR2
CD61
CD97
IL15
NCCM91
HMGB1
-log10 (p-值)
log2 (倍数变化)
adj. p- 值 < 0.01
adj. p- 值 < 0.05
adj. p- 值 < 0.10
adj. p- 值 < 0.50

图56C

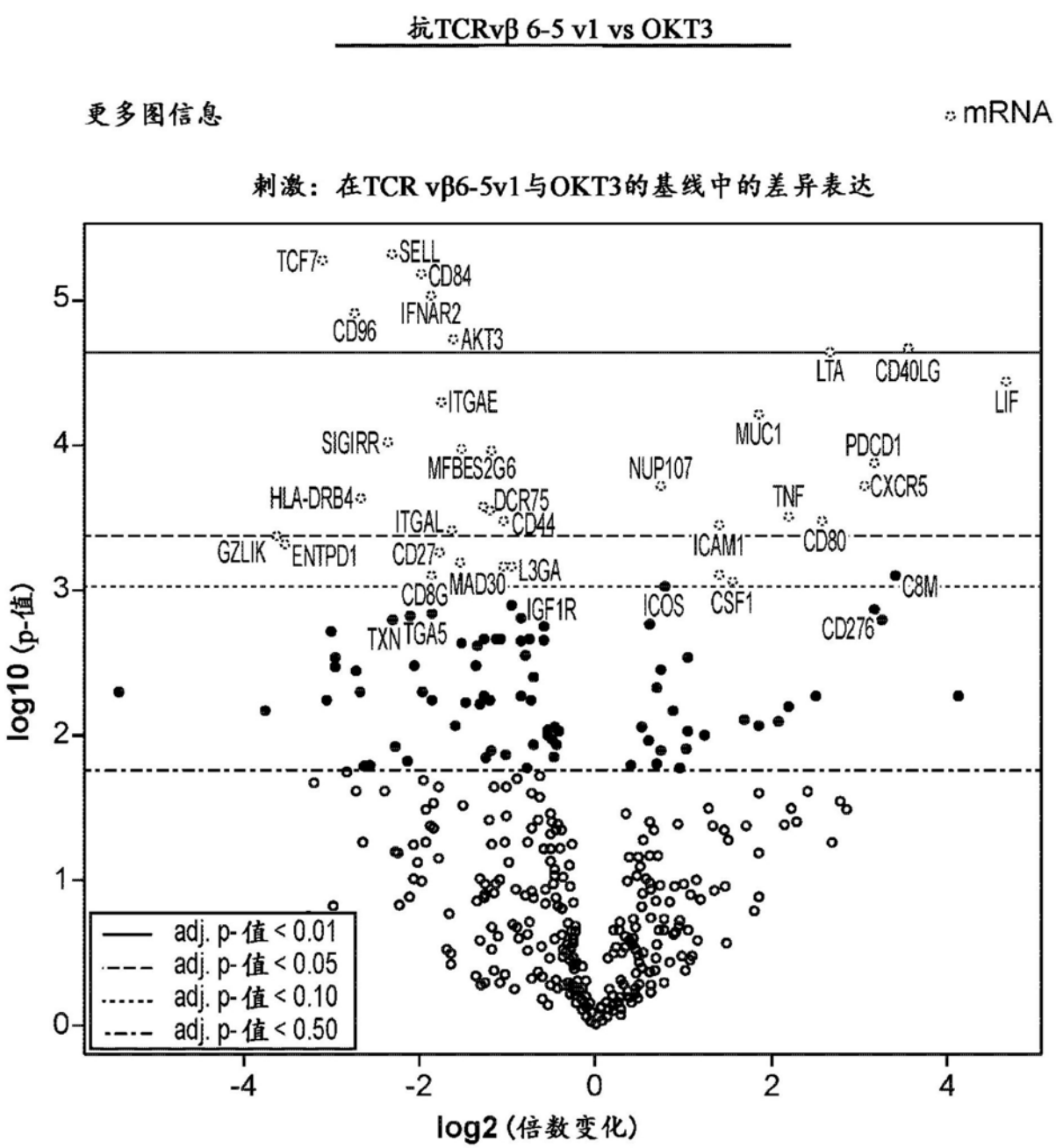

抗TCRvβ 6-5 v1 vs OKT3
更多图信息
mRNA
刺激：在TCR vβ6-5v1与OKT3的基线中的差异表达
TCF7
SELL
CD84
IFNAR2
CD96
AKT3
LTA
CD40LG
LIF
ITGAE
MUC1
SIGIRR
PDCD1
MFBES2G6
NUP107
CXCR5
HLA-DRB4
DCR75
TNF
ITGAL
CD44
ICAM1
CD80
GZLIK
ENTPD1
CD27
L3GA
C8M
CD8G
MAD30
ICOS
CSF1
IGF1R
CD276
TXN
TGA5
adj. p-值 < 0.01
adj. p-值 < 0.05
adj. p-值 < 0.10
adj. p-值 < 0.50
log10 (p-值)
log2 (倍数变化)

图56D

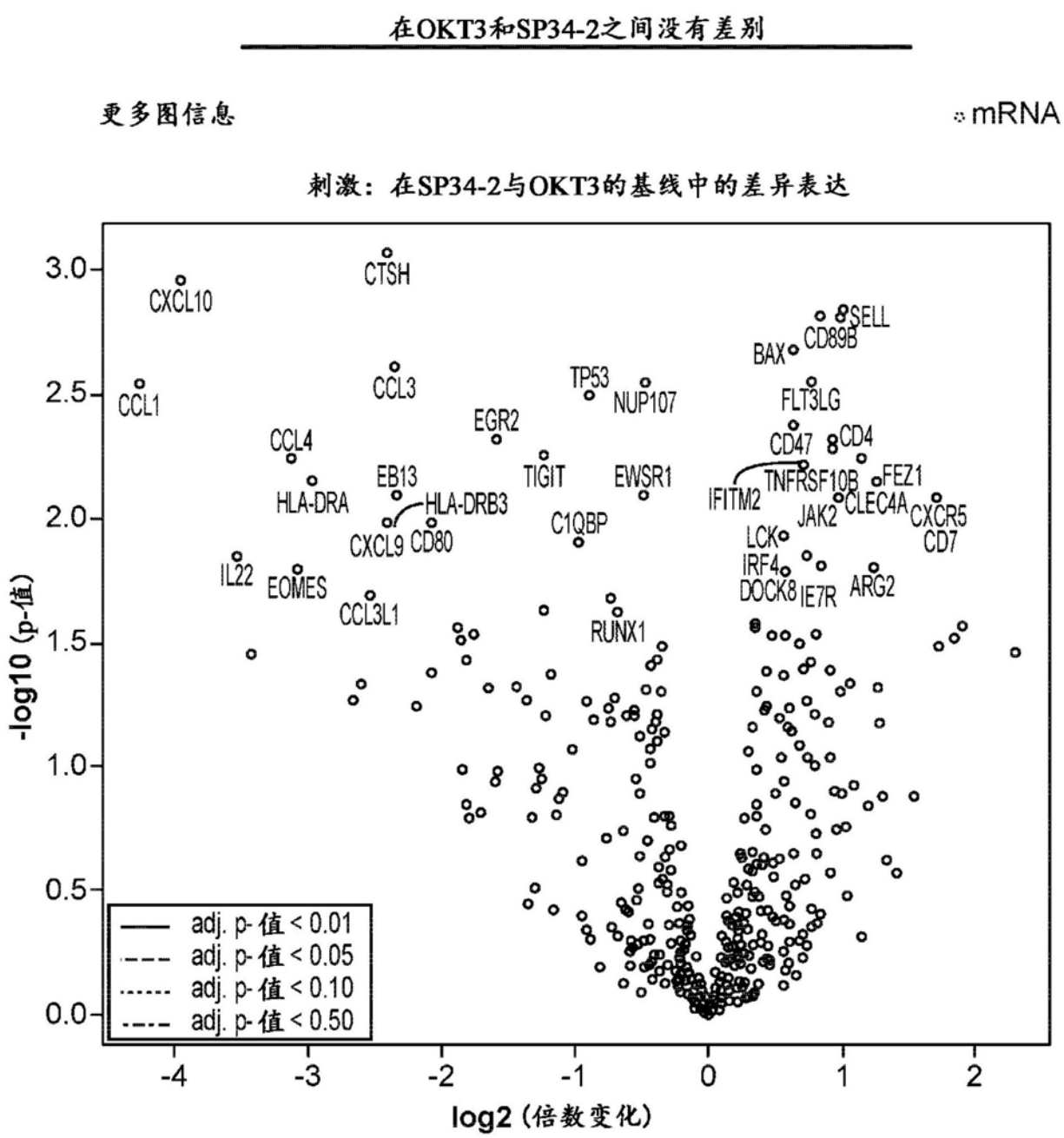

在OKT3和SP34-2之间没有差别
更多图信息
mRNA
刺激：在SP34-2与OKT3的基线中的差异表达
-log10 (p-值)
log2 (倍数变化)
adj. p-值 < 0.01
adj. p-值 < 0.05
adj. p-值 < 0.10
adj. p-值 < 0.50
CXCL10
CTSH
SELL
CD89B
BAX
CCL1
CCL3
TP53
NUP107
FLT3LG
EGR2
CD47
CD4
CCL4
TIGIT
EWSR1
TNFRSF10B
FEZ1
EB13
IFITM2
CLEC4A
HLA-DRA
HLA-DRB3
JAK2
CXCR5
C1QBP
LCK
CD7
CXCL9
CD80
IRF4
IL22
EOMES
DOCK8
IE7R
ARG2
CCL3L1
RUNX1

图56E

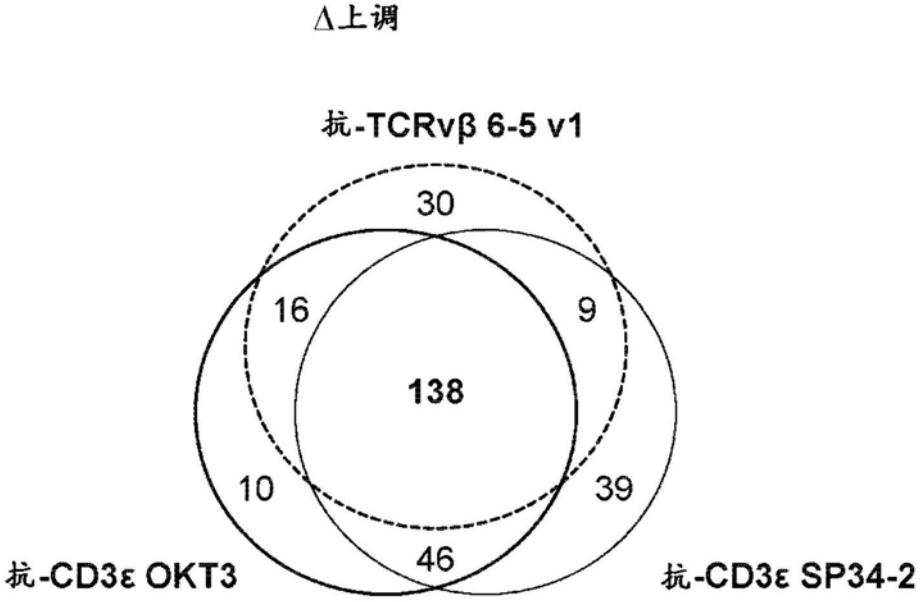

Δ上调
抗-TCRvβ 6-5 v1
30
16
9
138
10
39
46
抗-CD3ε OKT3
抗-CD3ε SP34-2

图57A

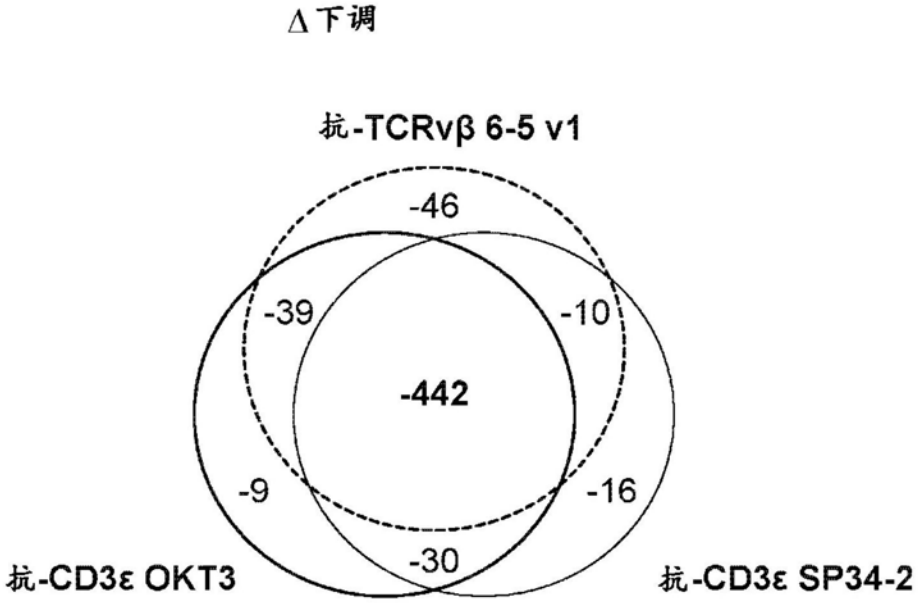

Δ下调
抗-TCRvβ 6-5 v1
-46
-39
-10
-442
-9
-16
-30
抗-CD3ε OKT3
抗-CD3ε SP34-2

图57B

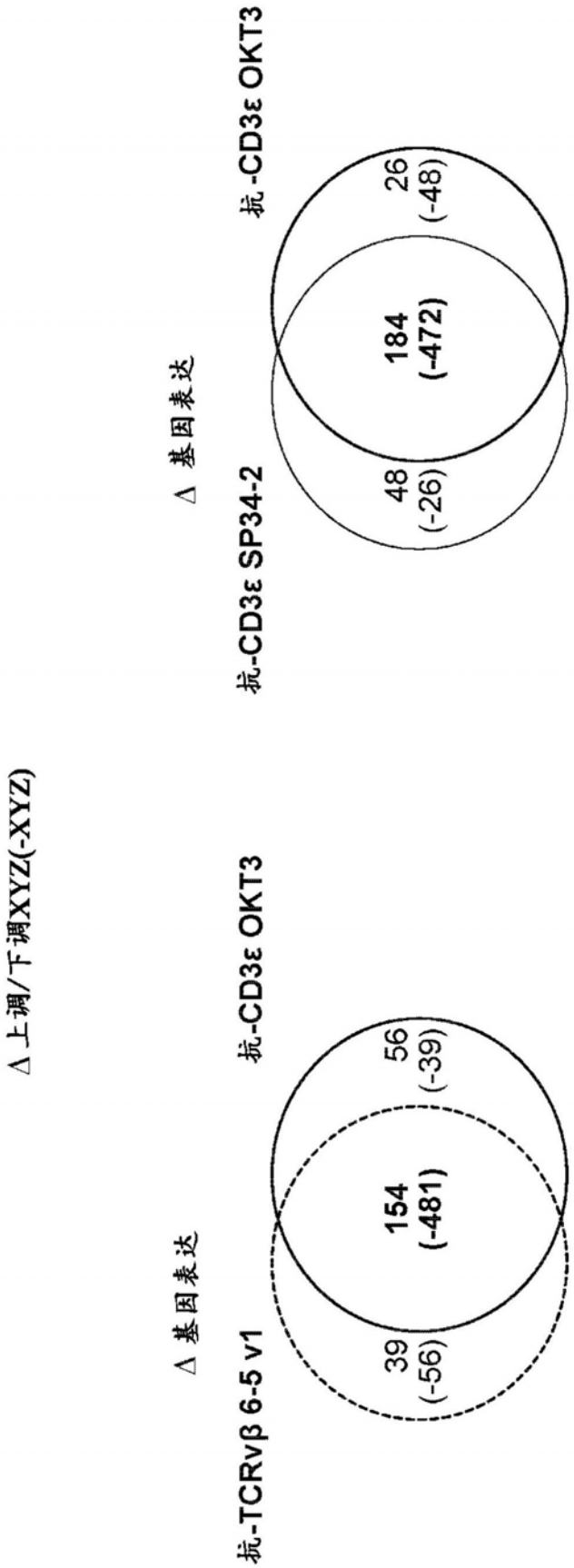

Δ 上调/下调XYZ(-XYZ)
Δ 基因表达
抗-TCRvβ 6-5 v1
抗-CD3ε OKT3
39
(-56)
154
(-481)
56
(-39)
Δ 基因表达
抗-CD3ε SP34-2
抗-CD3ε OKT3
48
(-26)
184
(-472)
26
(-48)

图57C

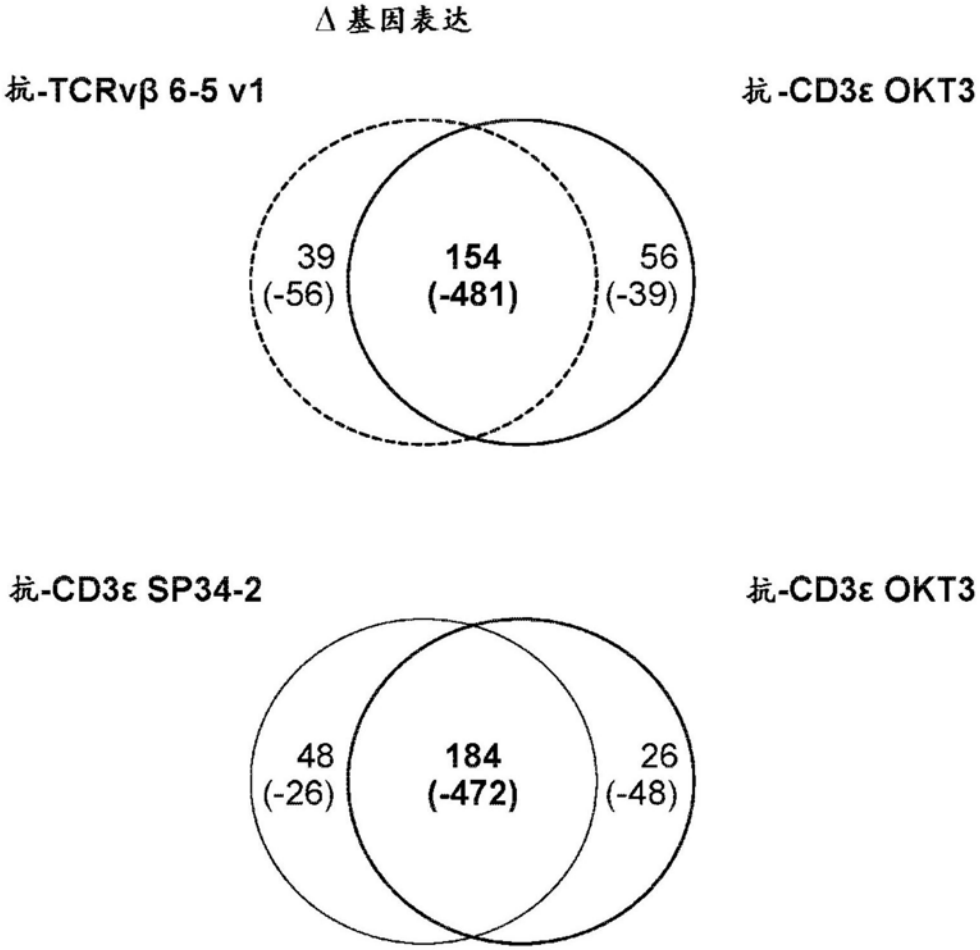

Δ基因表达
抗-TCRvβ 6-5 v1
抗-CD3ε OKT3
39
(-56)
154
(-481)
56
(-39)
抗-CD3ε SP34-2
抗-CD3ε OKT3
48
(-26)
184
(-472)
26
(-48)

图57D

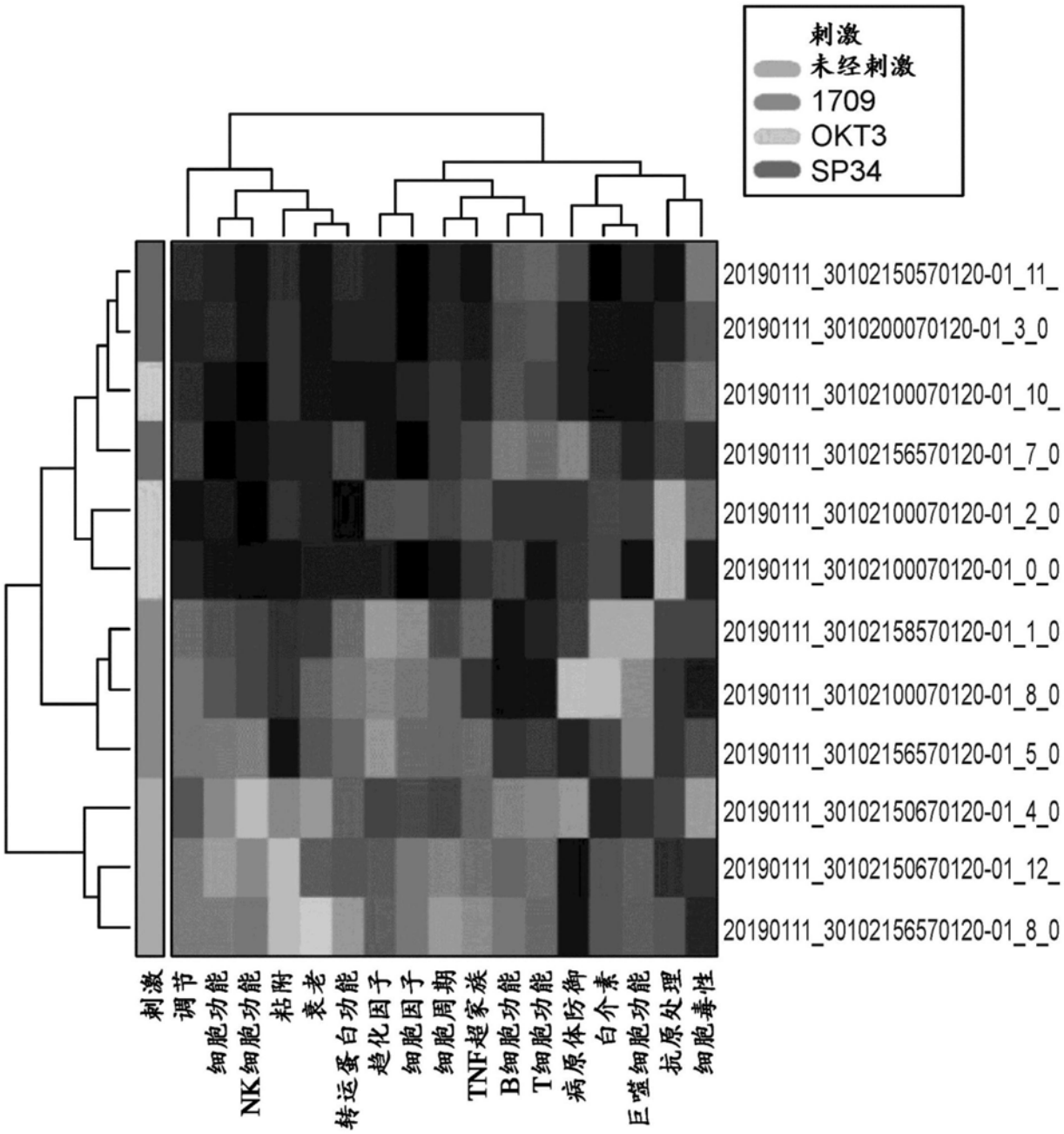

刺激
未经刺激
1709
OKT3
SP34
20190111_30102150570120-01_11_
20190111_3010200070120-01_3_0
20190111_30102100070120-01_10_
20190111_30102156570120-01_7_0
20190111_30102100070120-01_2_0
20190111_30102100070120-01_0_0
20190111_30102158570120-01_1_0
20190111_30102100070120-01_8_0
20190111_30102156570120-01_5_0
20190111_30102150670120-01_4_0
20190111_30102150670120-01_12_
20190111_30102156570120-01_8_0
刺激
调节
细胞功能
NK细胞功能
粘附
衰老
转运蛋白功能
趋化因子
细胞因子
细胞周期
TNF超家族
B细胞功能
T细胞功能
病原体防御
白介素
巨噬细胞功能
抗原处理
细胞毒性

图58

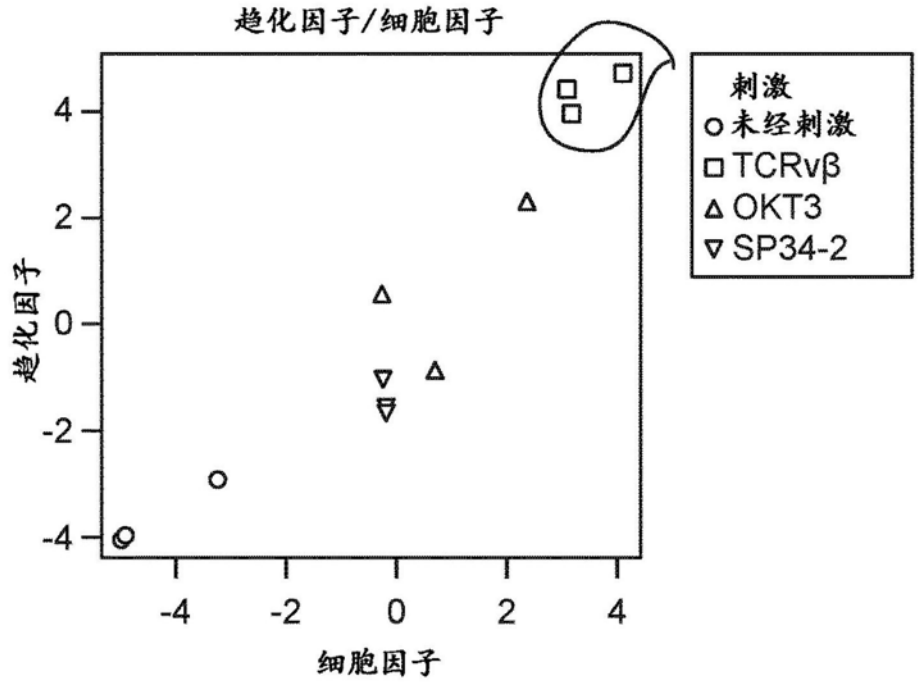

趋化因子/细胞因子
刺激
未经刺激
TCRvβ
OKT3
SP34-2
趋化因子
细胞因子
4
2
0
-2
-4
-4
-2
0
2
4

图59A

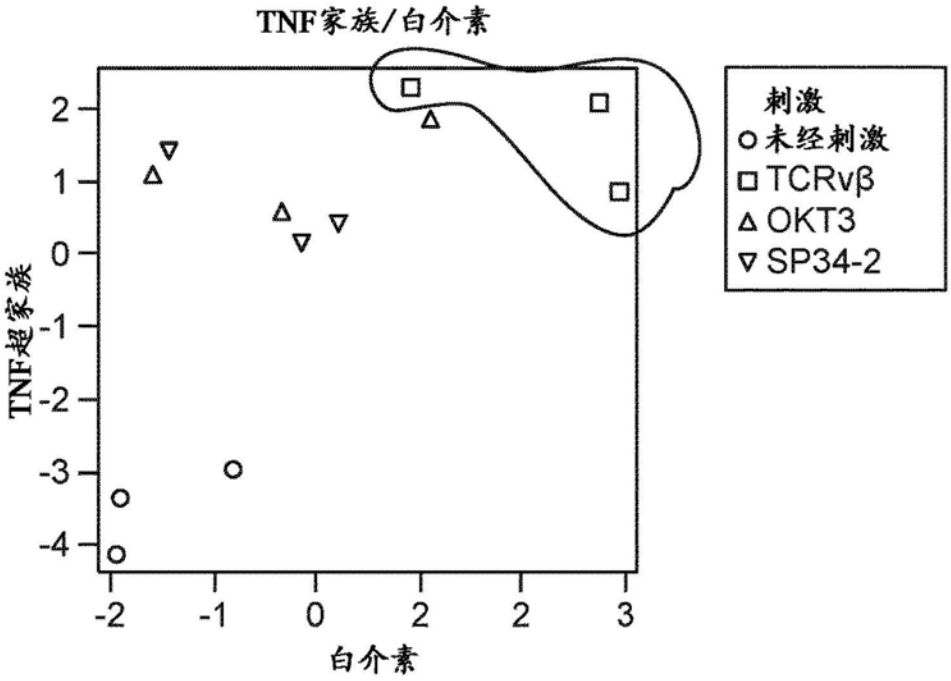

TNF家族/白介素
刺激
未经刺激
TCRvβ
OKT3
SP34-2
TNF超家族
白介素
2
1
0
-1
-2
-3
-4
-2
-1
0
2
2
3

图59B

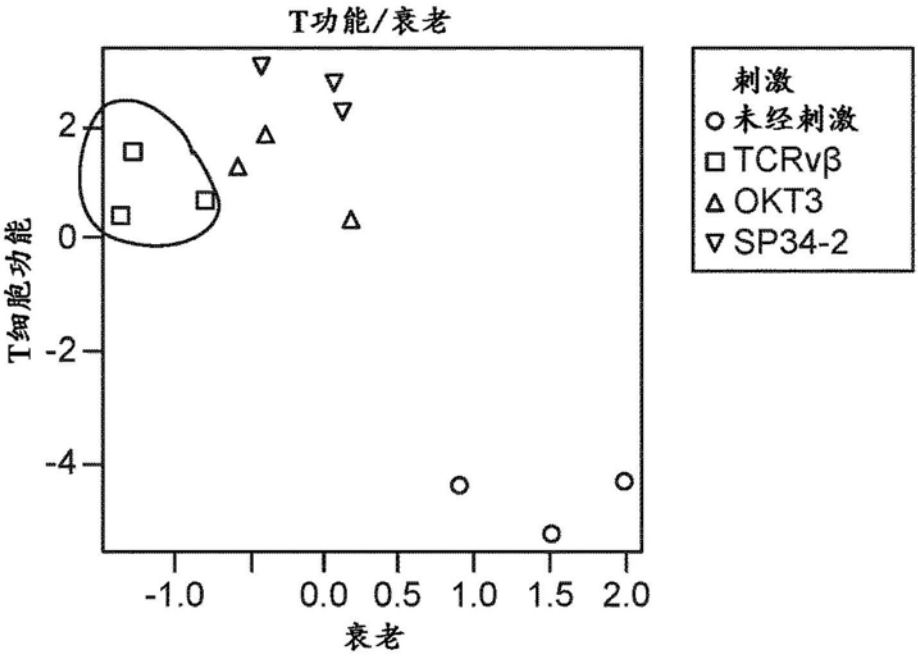

T功能/衰老
T细胞功能
衰老
刺激
未经刺激
TCRvβ
OKT3
SP34-2

图59C

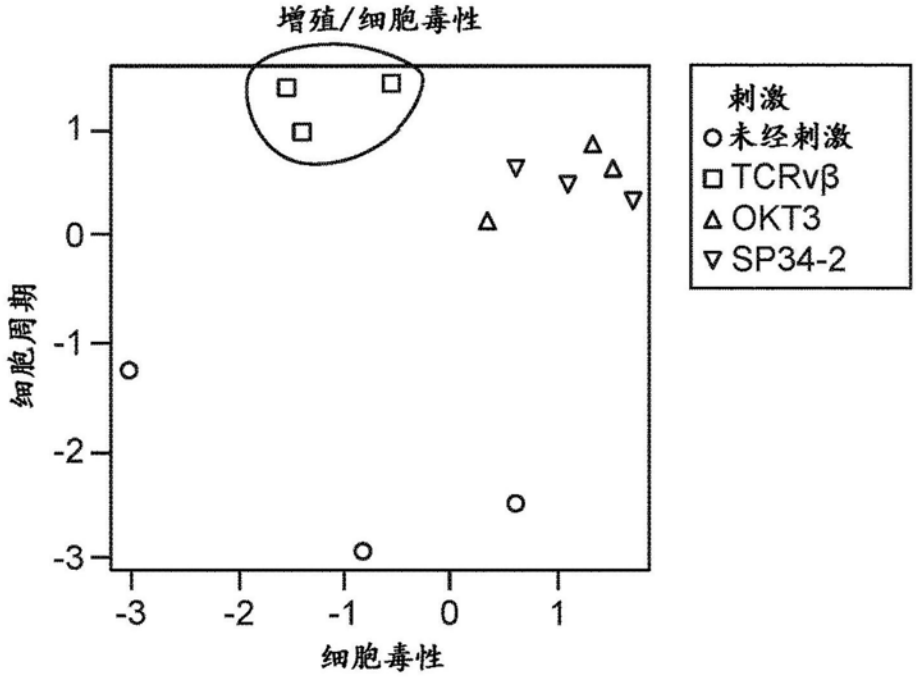

增殖/细胞毒性
细胞周期
细胞毒性
刺激
未经刺激
TCRvβ
OKT3
SP34-2

图59D

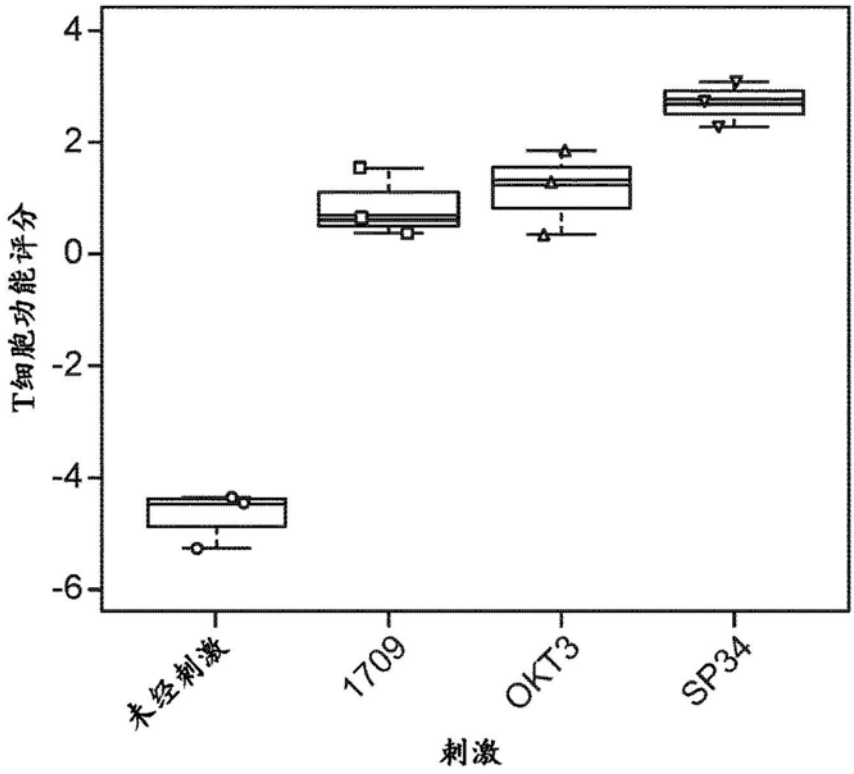

4
2
0
-2
-4
-6
T细胞功能评分
未经刺激
1709
OKT3
SP34
刺激

图60A

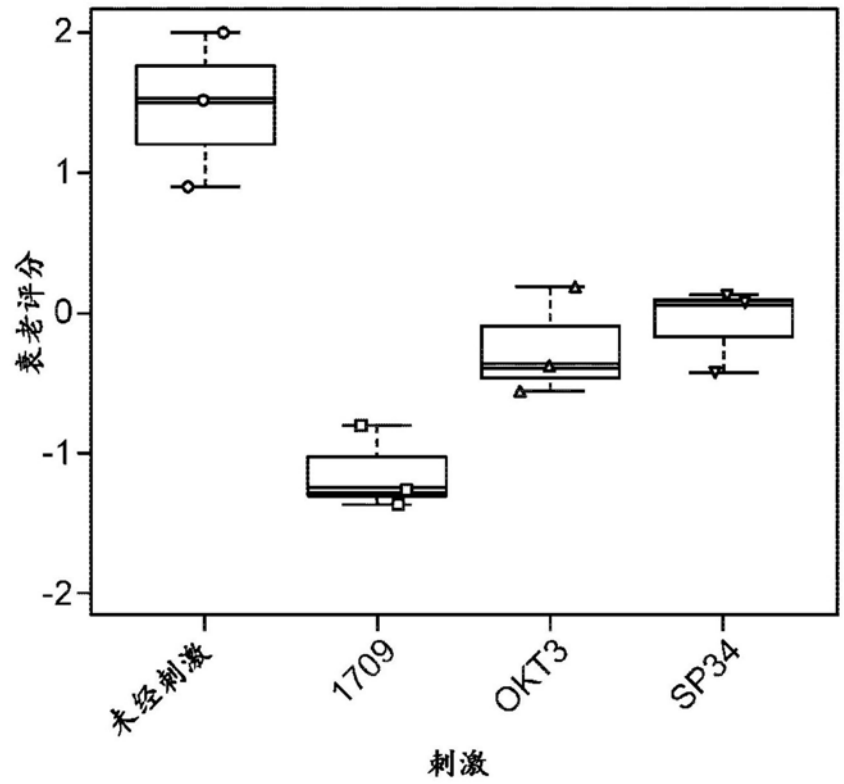

2
1
0
-1
-2
衰老评分
未经刺激
1709
OKT3
SP34
刺激

图60B

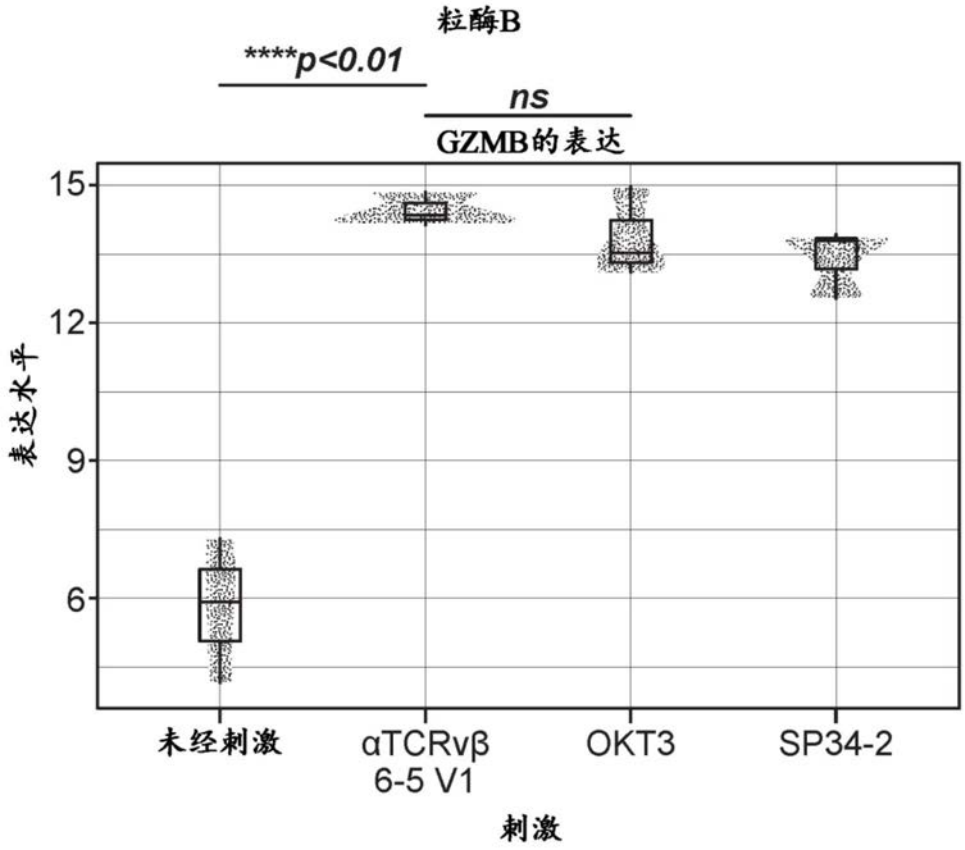

粒酶B
****p<0.01
ns
GZMB的表达
15
12
9
6
表达水平
未经刺激
αTCRvβ 6-5 V1
OKT3
SP34-2
刺激

图61A

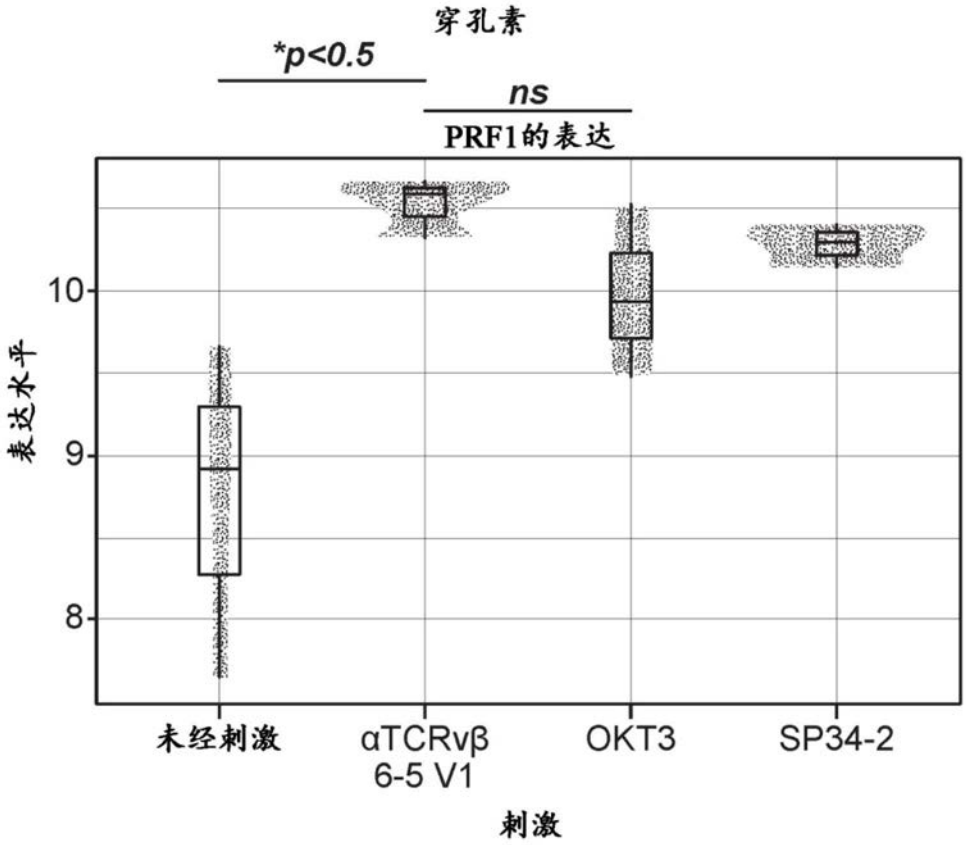


图61B

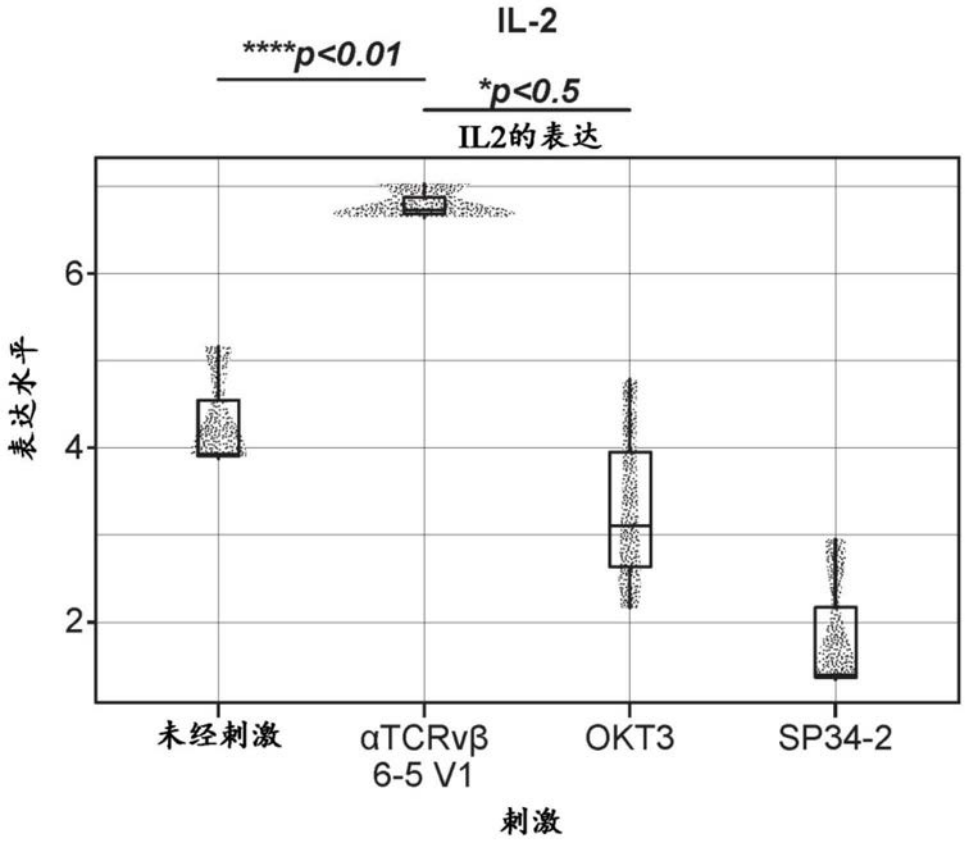


图61C

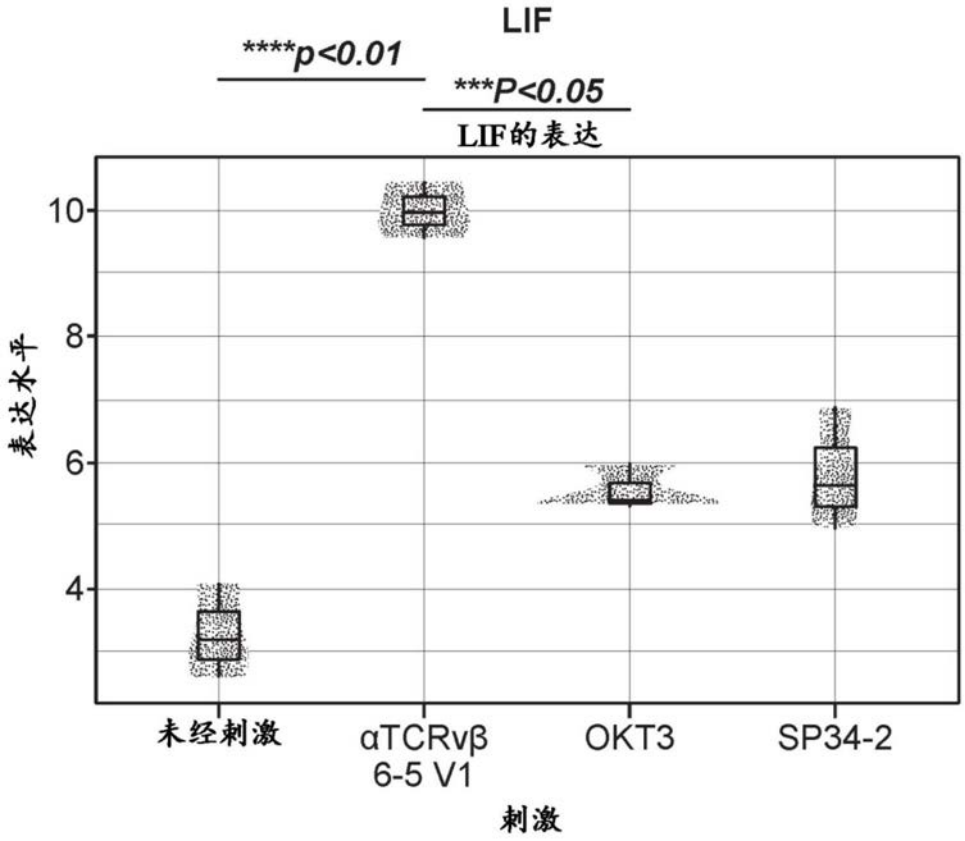

LIF
****p<0.01
***P<0.05
LIF的表达
表达水平
10
8
6
4
未经刺激
αTCRvβ 6-5 V1
OKT3
SP34-2
刺激

图61D

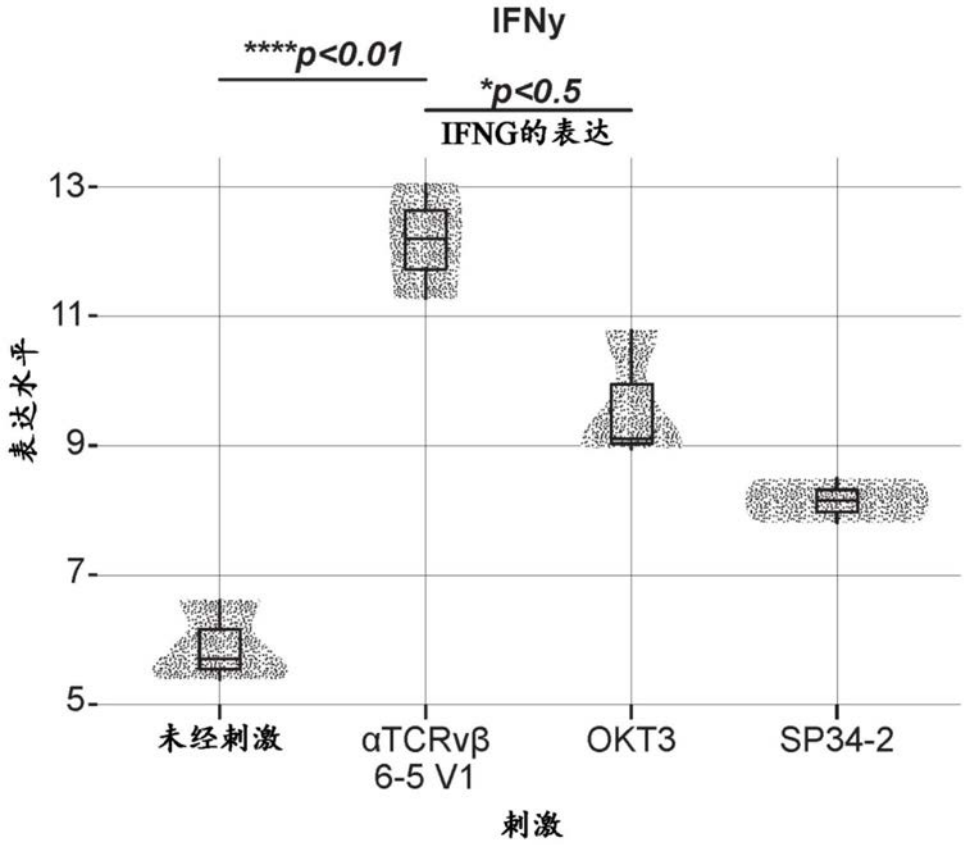

IFNy
****p<0.01
*p<0.5
IFNG的表达
13
11
9
7
5
表达水平
未经刺激
αTCRvβ 6-5 V1
OKT3
SP34-2
刺激

图61E

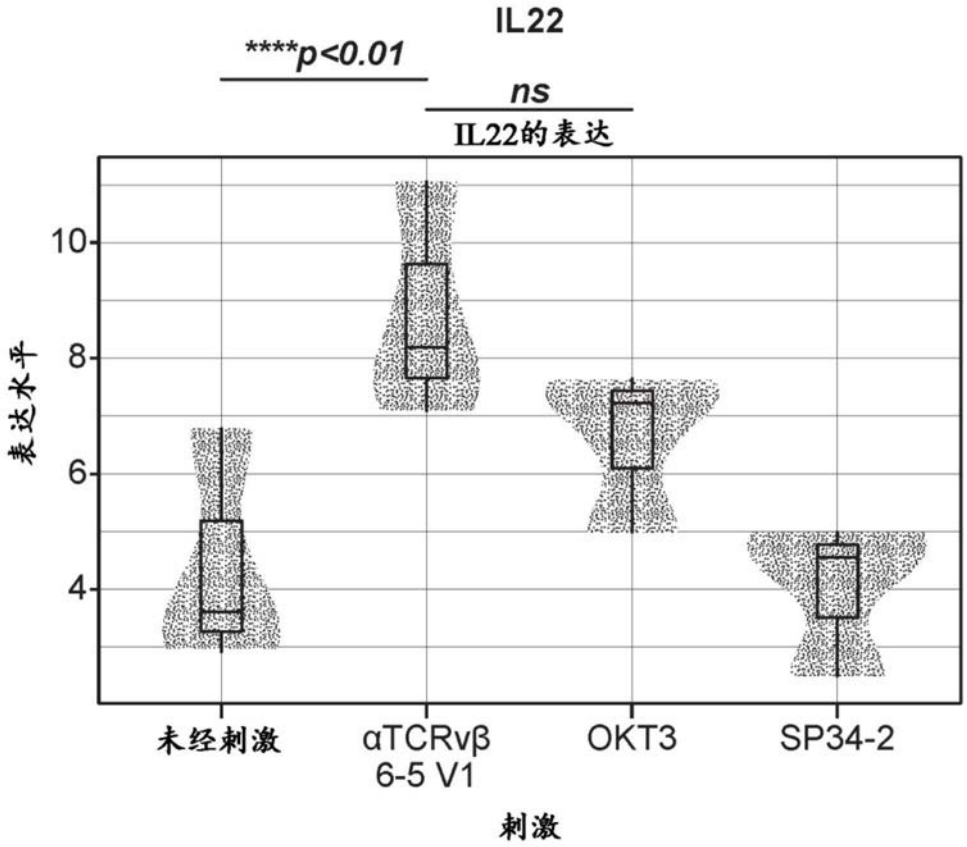

IL22
****p<0.01
ns
IL22的表达
表达水平
10
8
6
4
未经刺激
αTCRvβ 6-5 V1
OKT3
SP34-2
刺激

图61F

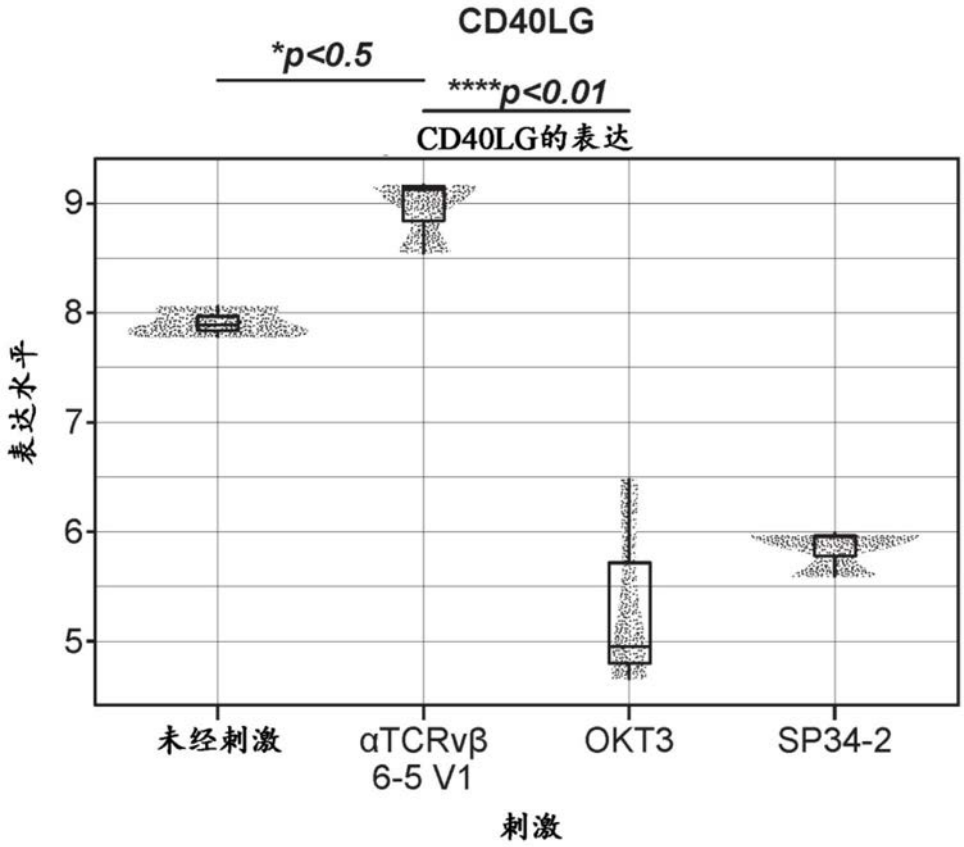

CD40LG
*p<0.5
****p<0.01
CD40LG的表达
表达水平
9
8
7
6
5
未经刺激
αTCRvβ 6-5 V1
OKT3
SP34-2
刺激

图61G

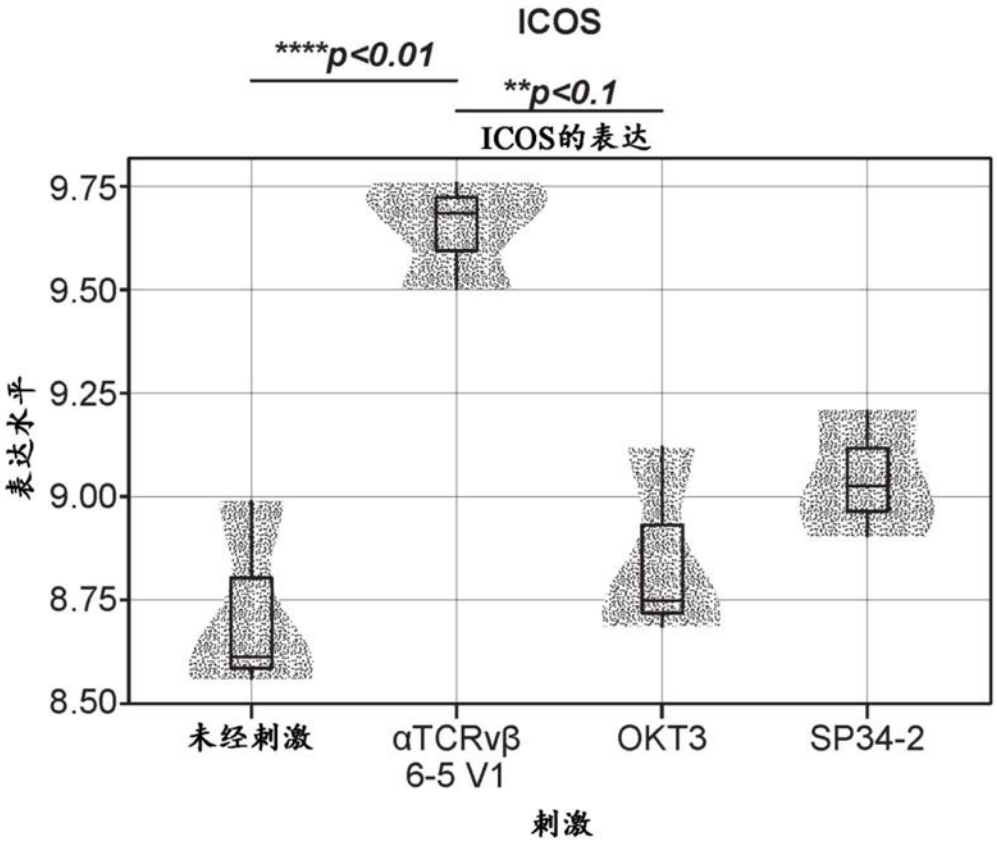

ICOS
****p<0.01
**p<0.1
ICOS的表达
9.75
9.50
9.25
9.00
8.75
8.50
表达水平
未经刺激
αTCRvβ 6-5 V1
OKT3
SP34-2
刺激

图61H

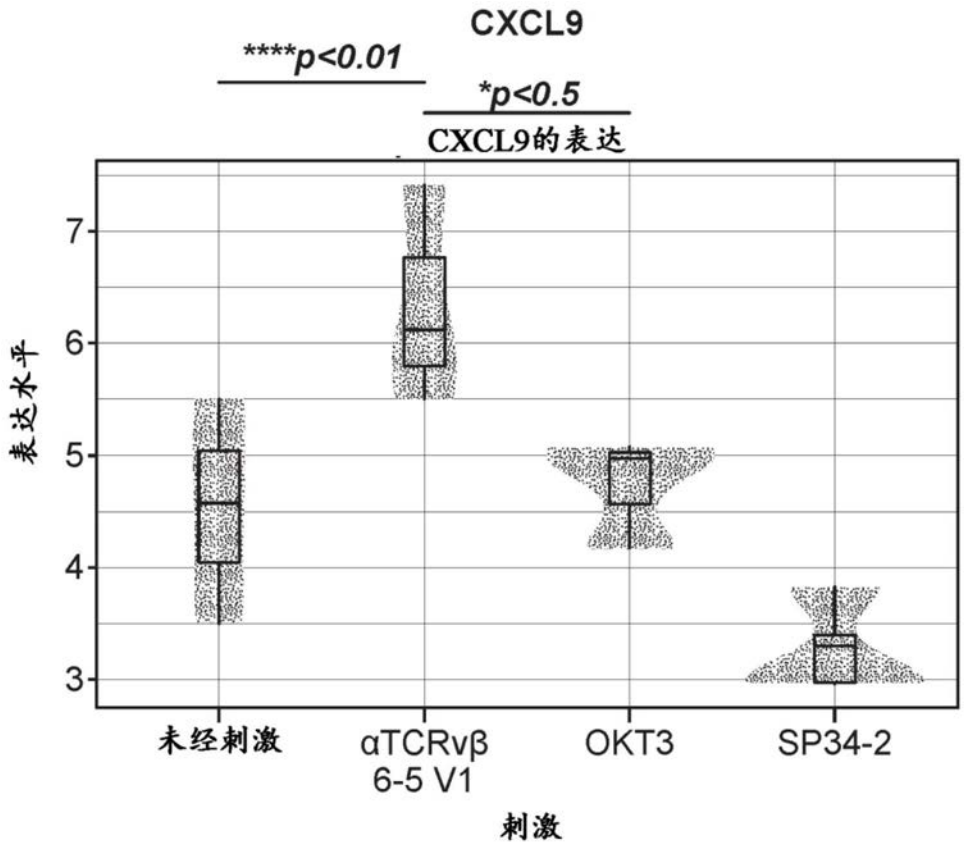

CXCL9
****p<0.01
*p<0.5
CXCL9的表达
表达水平
7
6
5
4
3
未经刺激
αTCRvβ 6-5 V1
OKT3
SP34-2
刺激

图61I

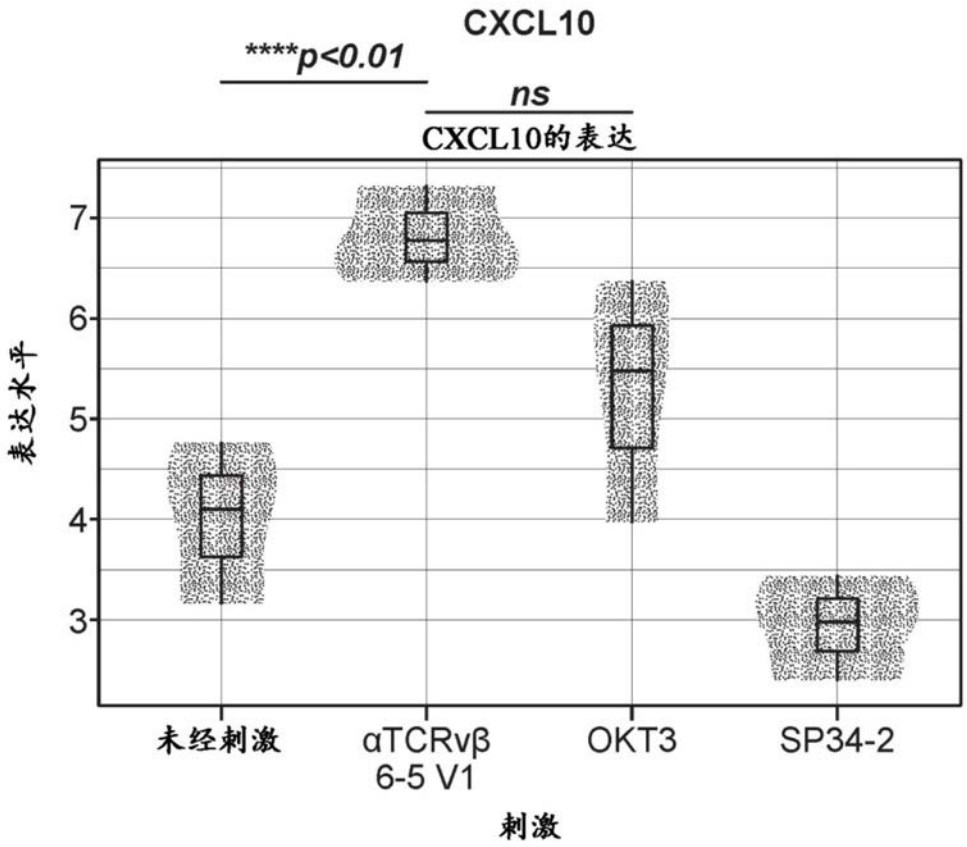

CXCL10
****p<0.01
ns
CXCL10的表达
表达水平
7
6
5
4
3
未经刺激
αTCRvβ 6-5 V1
OKT3
SP34-2
刺激

图61J

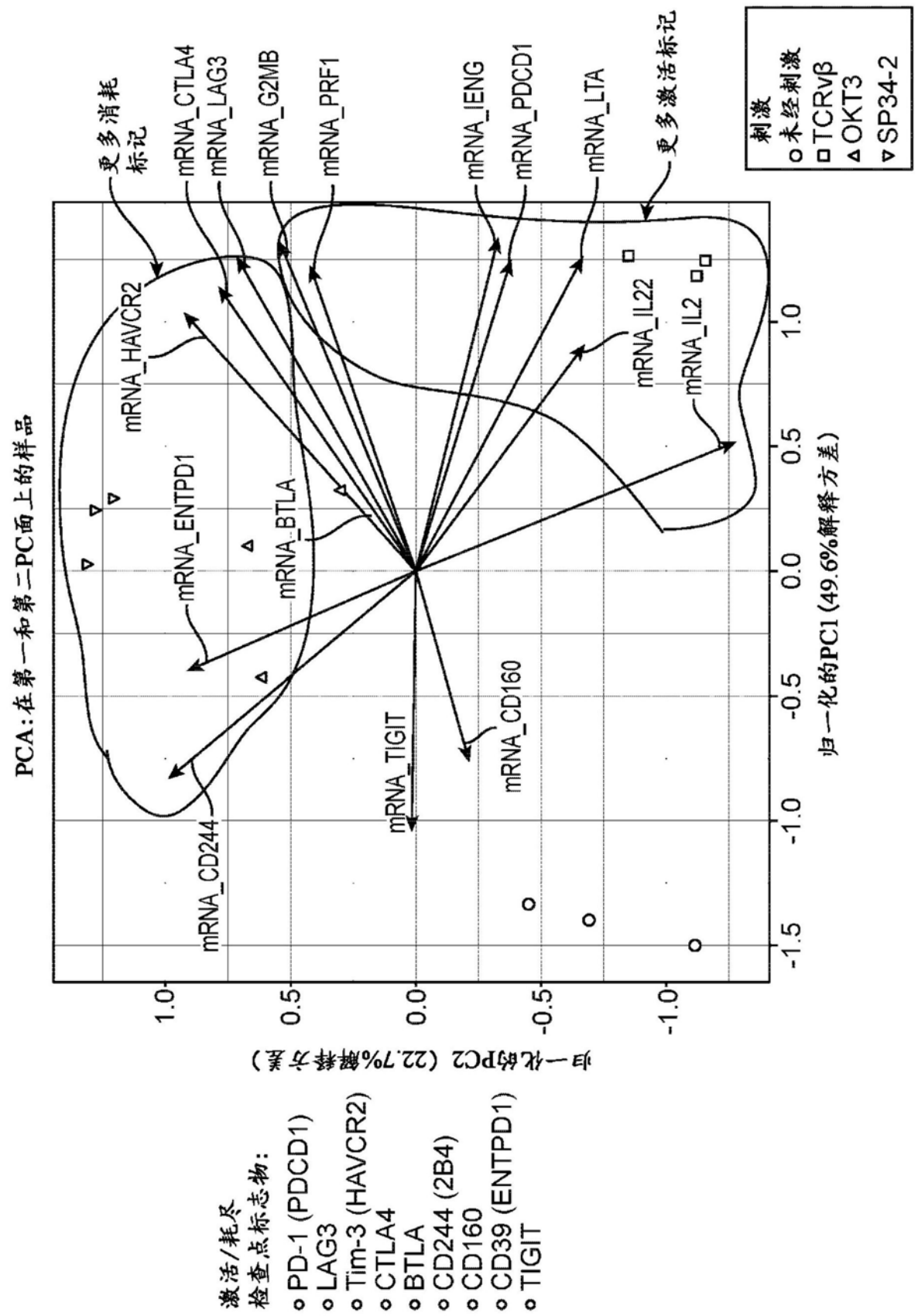

PCA:在第一和第二PC面上的样品
更多消耗标记
mRNA_CTLA4
mRNA_LAG3
mRNA_G2MB
mRNA_PRF1
mRNA_IENG
mRNA_PDCD1
mRNA_LTA
更多激活标记
mRNA_HAVCR2
mRNA_ENTPD1
mRNA_BTLA
mRNA_IL22
mRNA_IL2
mRNA_CD244
mRNA_TIGIT
mRNA_CD160
刺激
未经刺激
TCRVβ
OKT3
SP34-2
归一化的PC1 (49.6%解释方差)
归一化的PC2 (22.7%解释方差)
激活/耗尽检查点标志物:
PD-1 (PDCD1)
LAG3
Tim-3 (HAVCR2)
CTLA4
BTLA
CD244 (2B4)
CD160
CD39 (ENTPD1)
TIGIT

图62

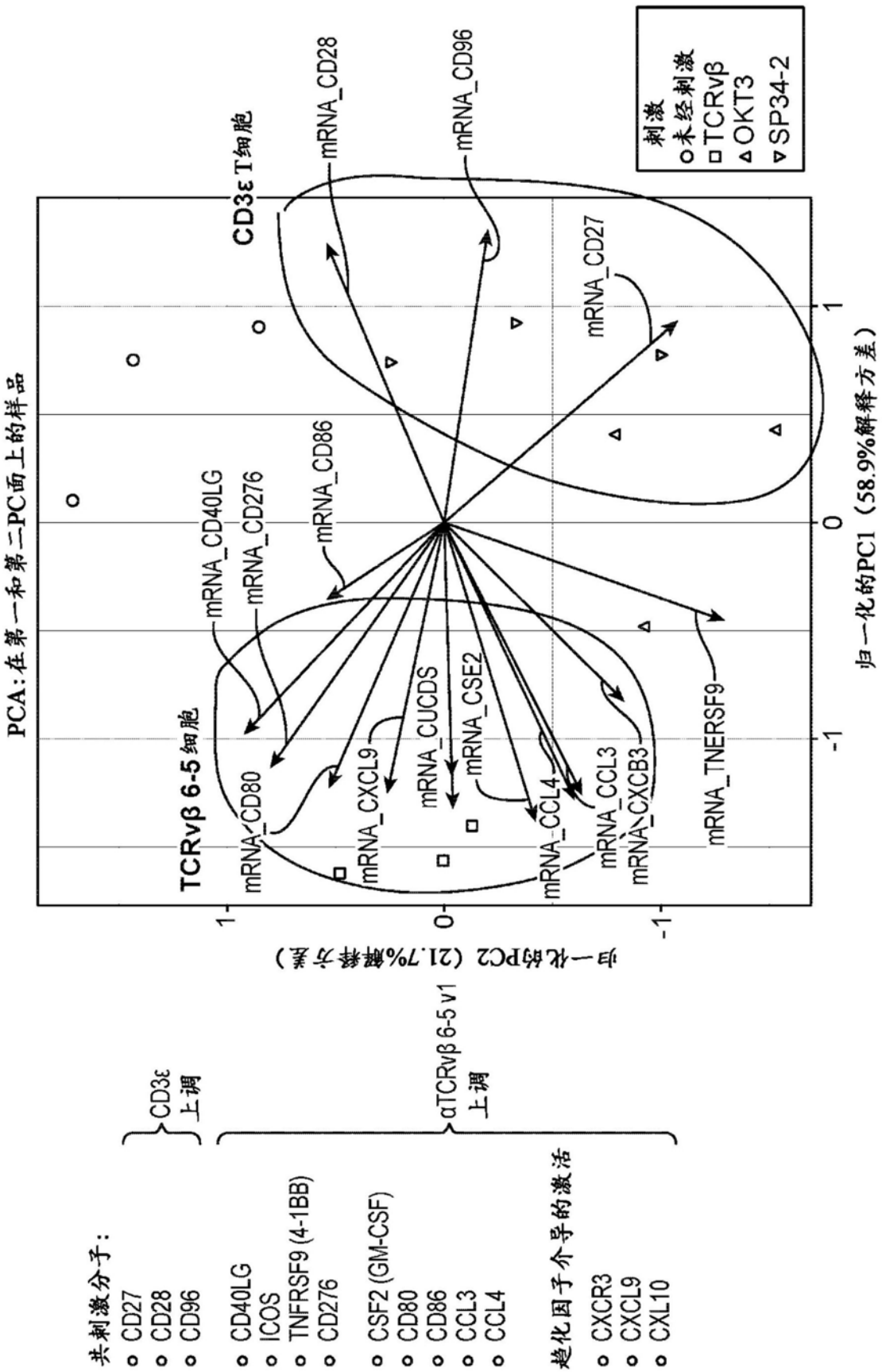

PCA:在第一和第二PC面上的样品
刺激
未经刺激
TCRvβ
OKT3
SP34-2
CD3ε T细胞
TCRvβ 6-5细胞
mRNA_CD28
mRNA_CD96
mRNA_CD27
mRNA_CD40LG
mRNA_CD276
mRNA_CD86
mRNA_CD80
mRNA_CXCL9
mRNA_CUCDS
mRNA_CSE2
mRNA_CCL4
mRNA_CCL3
mRNA_CXCB3
mRNA_TNERSF9
归一化的PC1（58.9%解释方差）
归一化的PC2（21.7%解释方差）
1
0
-1
共刺激分子：
CD27
CD28
CD96
CD3ε 上调
CD40LG
ICOS
TNFRSF9 (4-1BB)
CD276
CSF2 (GM-CSF)
CD80
CD86
CCL3
CCL4
αTCRvβ 6-5 v1 上调
趋化因子介导的激活
CXCR3
CXCL9
CXL10

图63

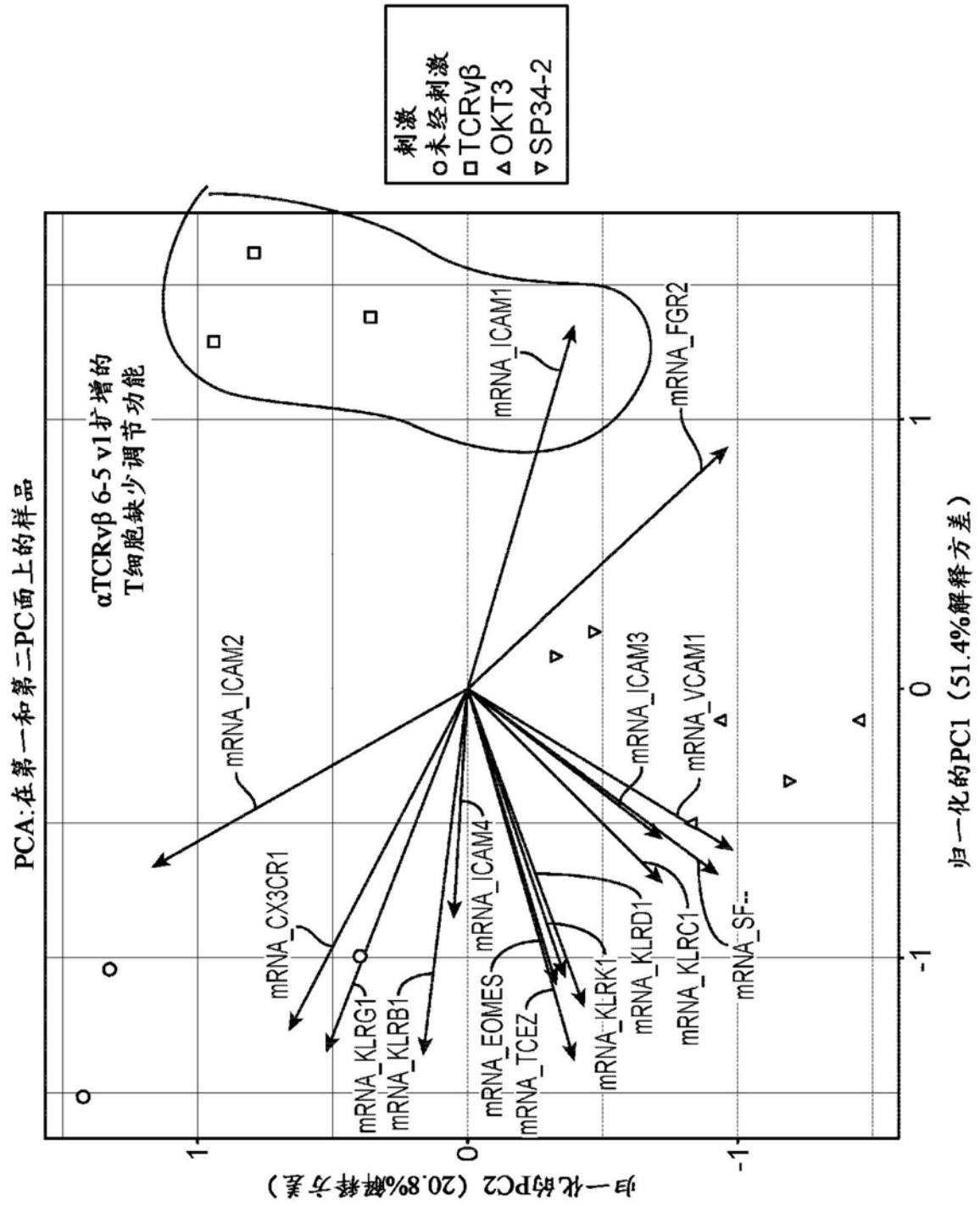

刺激
未经刺激
TCRvβ
OKT3
SP34-2
αTCRvβ 6-5 v1扩增的
T细胞缺少调节功能
PCA:在第一和第二PC面上的样品
mRNA_ICAM1
mRNA_FGR2
mRNA_ICAM2
mRNA_ICAM3
mRNA_VCAM1
mRNA_CX3CR1
mRNA_ICAM4
mRNA_KLRG1
mRNA_KLRB1
mRNA_EOMES
mRNA_TCEZ
mRNA_KLRK1
mRNA_KLRD1
mRNA_KLRC1
mRNA_SF--
归一化的PC2（20.8%解释方差）
归一化的PC1（51.4%解释方差）
1
0
-1

图64

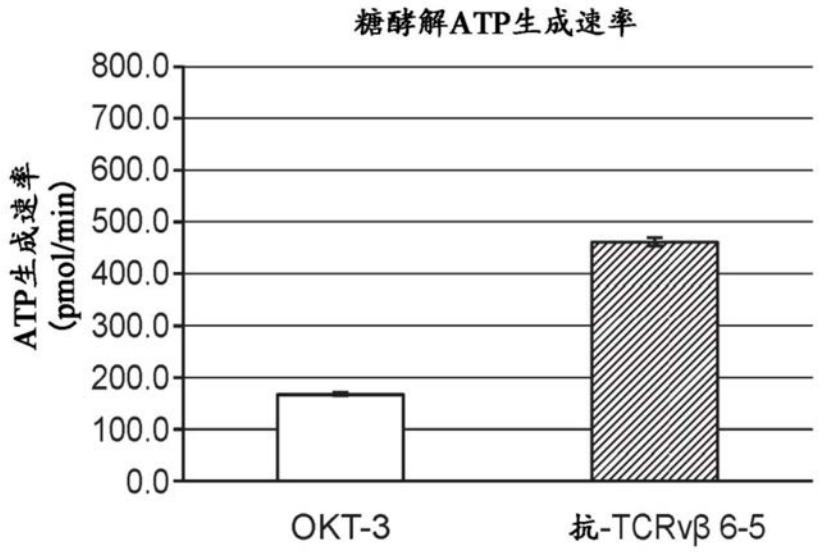

糖酵解ATP生成速率
ATP生成速率 (pmol/min)
800.0
700.0
600.0
500.0
400.0
300.0
200.0
100.0
0.0
OKT-3
抗-TCRvβ 6-5

图65A

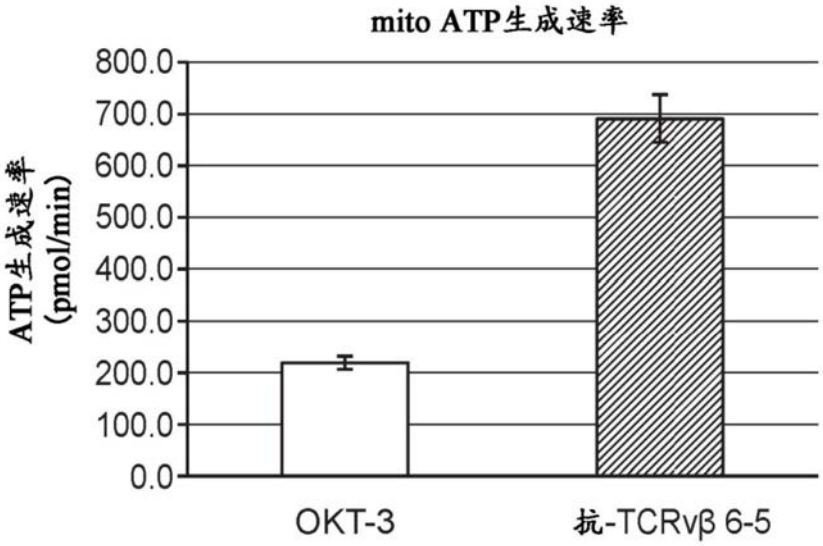

mito ATP生成速率
ATP生成速率 (pmol/min)
800.0
700.0
600.0
500.0
400.0
300.0
200.0
100.0
0.0
OKT-3
抗-TCRvβ 6-5

图65B

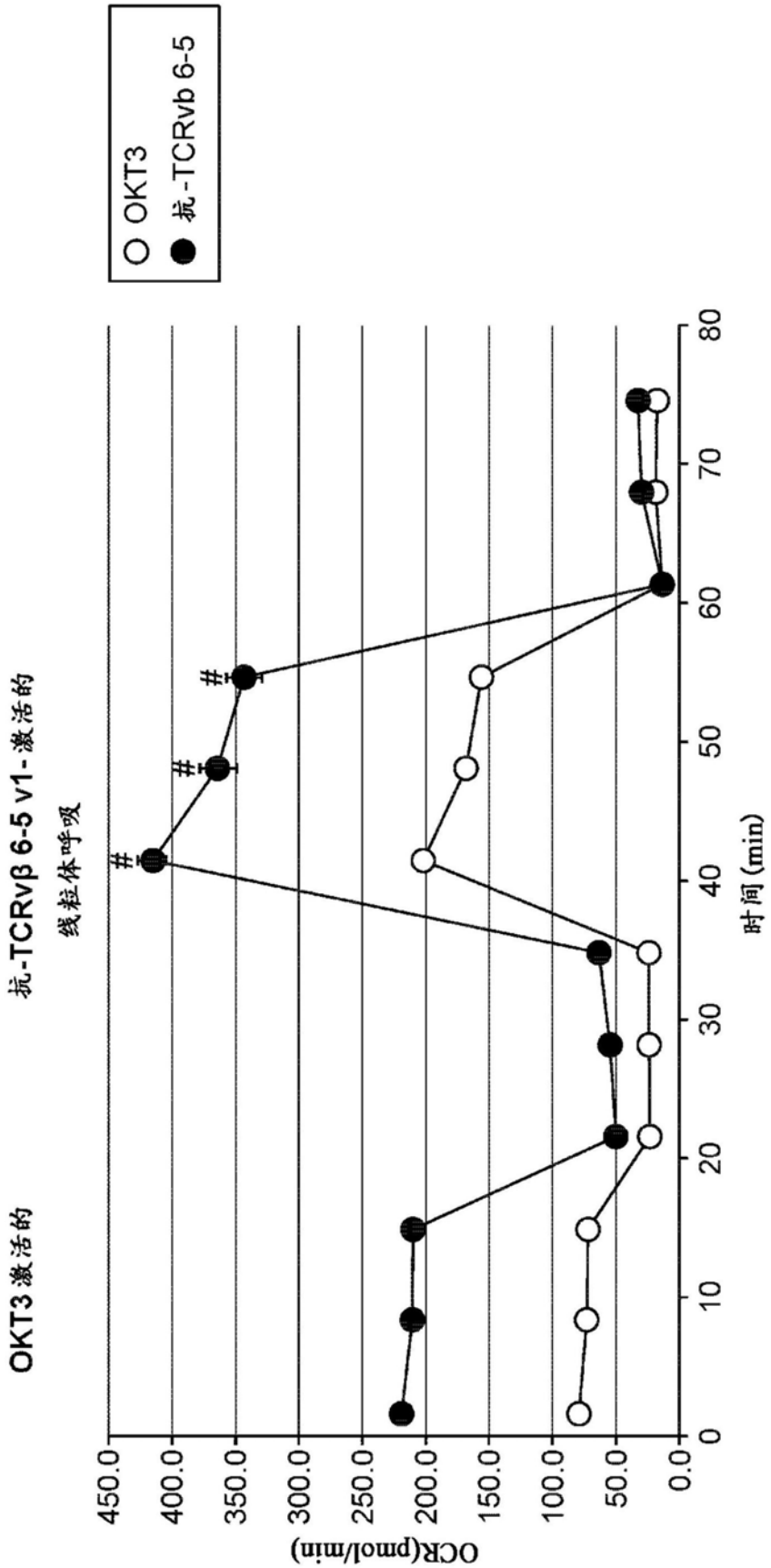

OKT3
抗-TCRvb 6-5
OKT3 激活的
抗-TCRvβ 6-5 v1-激活的
线粒体呼吸
OCR(pmol/min)
时间 (min)
450.0
400.0
350.0
300.0
250.0
200.0
150.0
100.0
50.0
0.0
0
10
20
30
40
50
60
70
80
#
#
#

图66

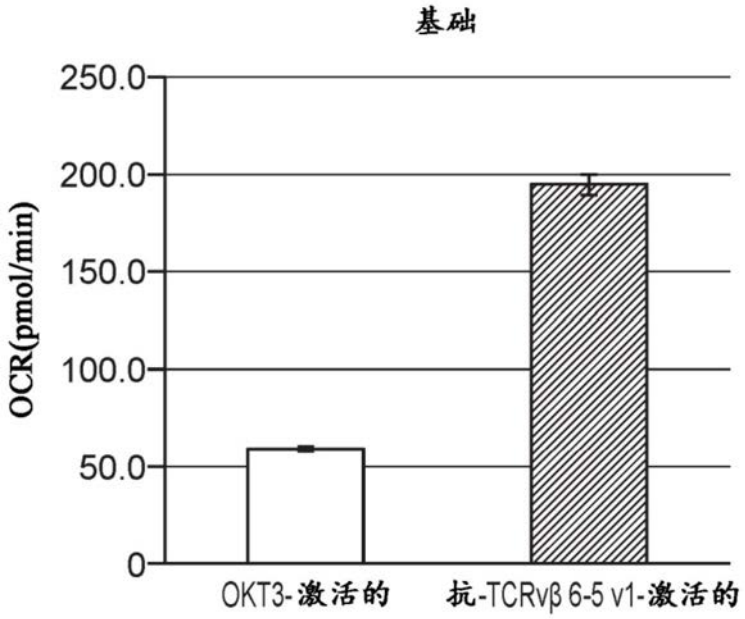

基础
250.0
200.0
150.0
100.0
50.0
0
OCR(pmol/min)
OKT3-激活的
抗-TCRvβ 6-5 v1-激活的

图67A

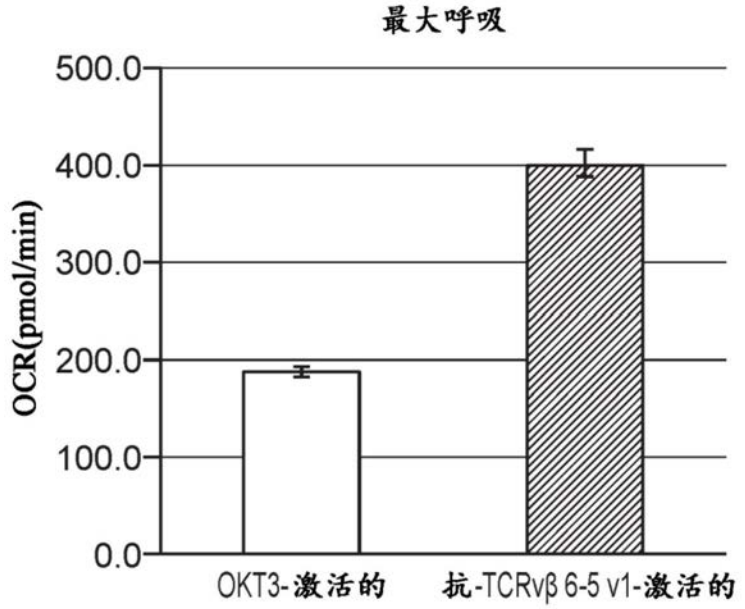

最大呼吸
500.0
400.0
300.0
200.0
100.0
0.0
OCR(pmol/min)
OKT3-激活的
抗-TCRvβ 6-5 v1-激活的

图67B

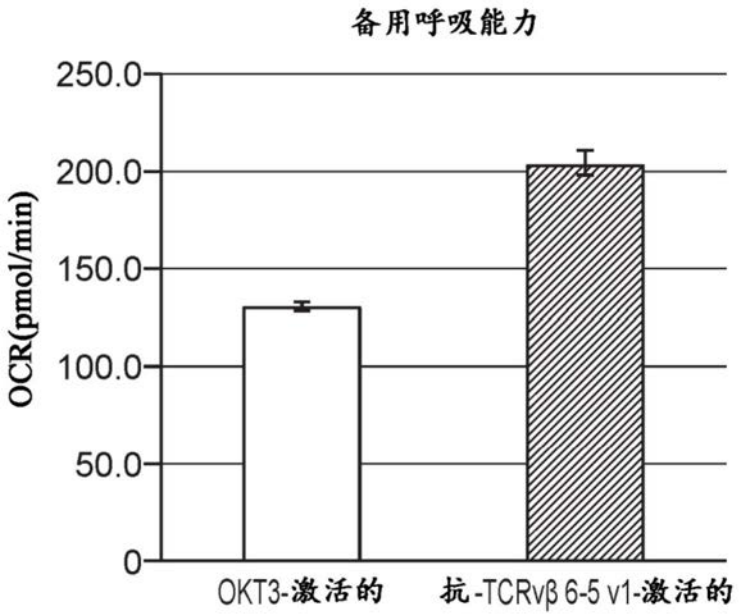

备用呼吸能力
250.0
200.0
150.0
100.0
50.0
0
OCR(pmol/min)
OKT3-激活的
抗-TCRvβ 6-5 v1-激活的

图67C

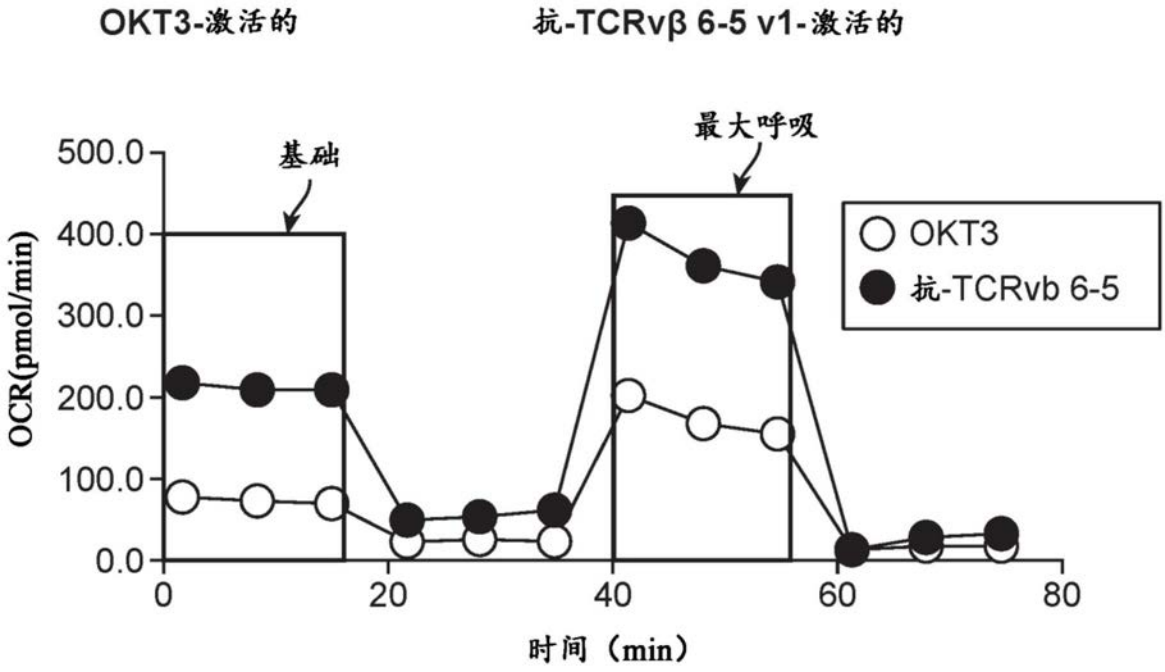

OKT3-激活的
抗-TCRvβ 6-5 v1-激活的
基础
最大呼吸
500.0
400.0
300.0
200.0
100.0
0.0
OCR(pmol/min)
0
20
40
60
80
时间（min）
OKT3
抗-TCRvb 6-5

图67D

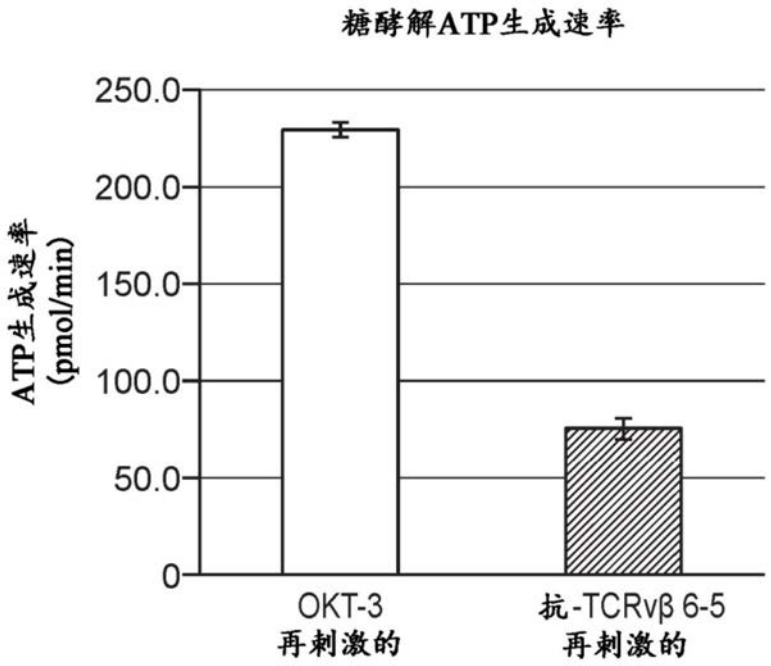

糖酵解ATP生成速率
ATP生成速率 (pmol/min)
250.0
200.0
150.0
100.0
50.0
0
OKT-3 再刺激的
抗-TCRvβ 6-5 再刺激的

图68A

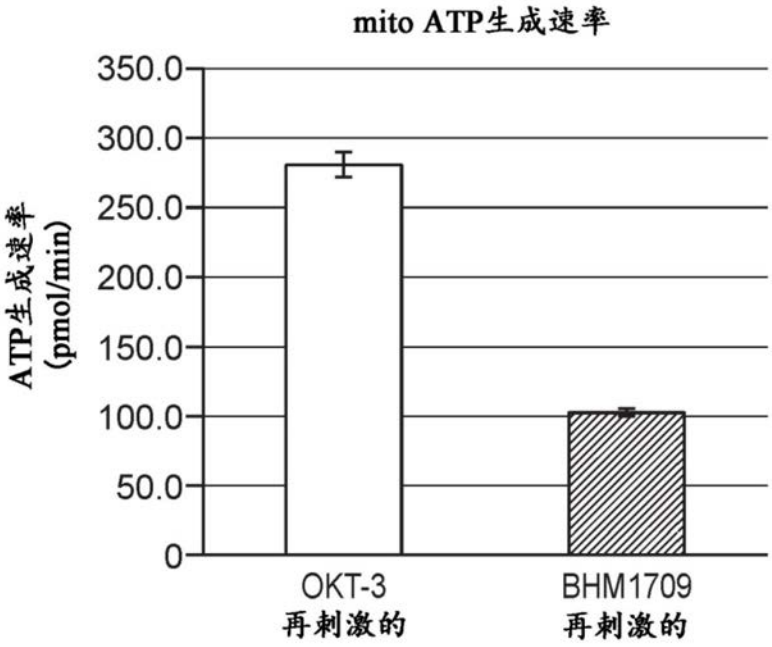

mito ATP生成速率
ATP生成速率 (pmol/min)
350.0
300.0
250.0
200.0
150.0
100.0
50.0
0
OKT-3 再刺激的
BHM1709 再刺激的

图68B

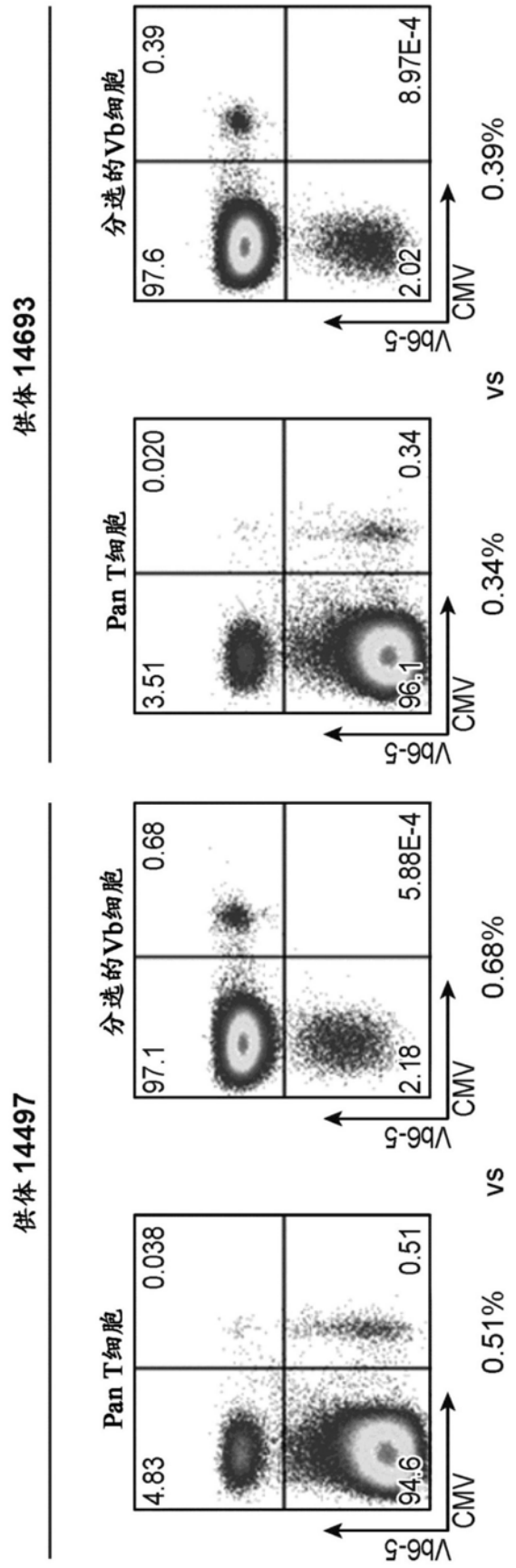

供体14693
Pan T细胞
0.020
3.51
96.1
0.34
Vδ6-5
CMV
0.34%
vs
分选的Vδ细胞
0.39
97.6
2.02
8.97E-4
Vδ6-5
CMV
0.39%
供体14497
Pan T细胞
0.038
4.83
94.6
0.51
Vδ6-5
CMV
0.51%
vs
分选的Vδ细胞
0.68
97.1
2.18
5.88E-4
Vδ6-5
CMV
0.68%

图69A

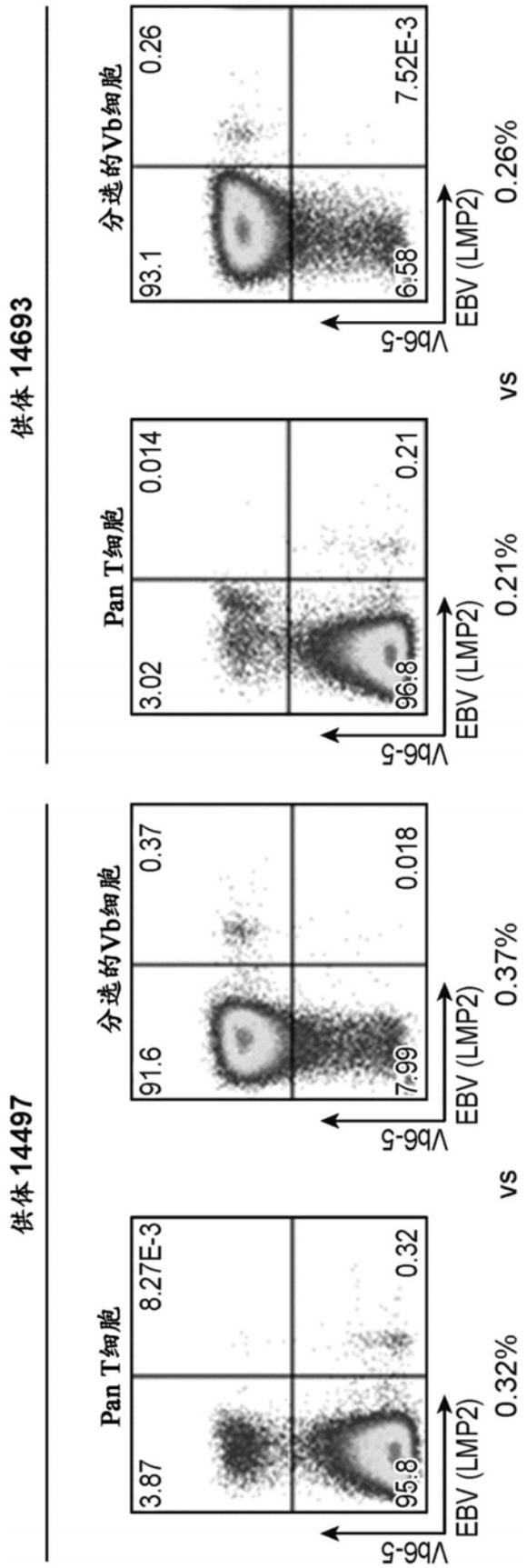

供体 14497
Pan T细胞
3.87
8.27E-3
95.8
0.32
Vb6-5
EBV (LMP2)
0.32%
vs
分选的Vb细胞
91.6
0.37
7.99
0.018
Vb6-5
EBV (LMP2)
0.37%
供体 14693
Pan T细胞
3.02
0.014
96.8
0.21
Vb6-5
EBV (LMP2)
0.21%
vs
分选的Vb细胞
93.1
0.26
6.58
7.52E-3
Vb6-5
EBV (LMP2)
0.26%

图69B

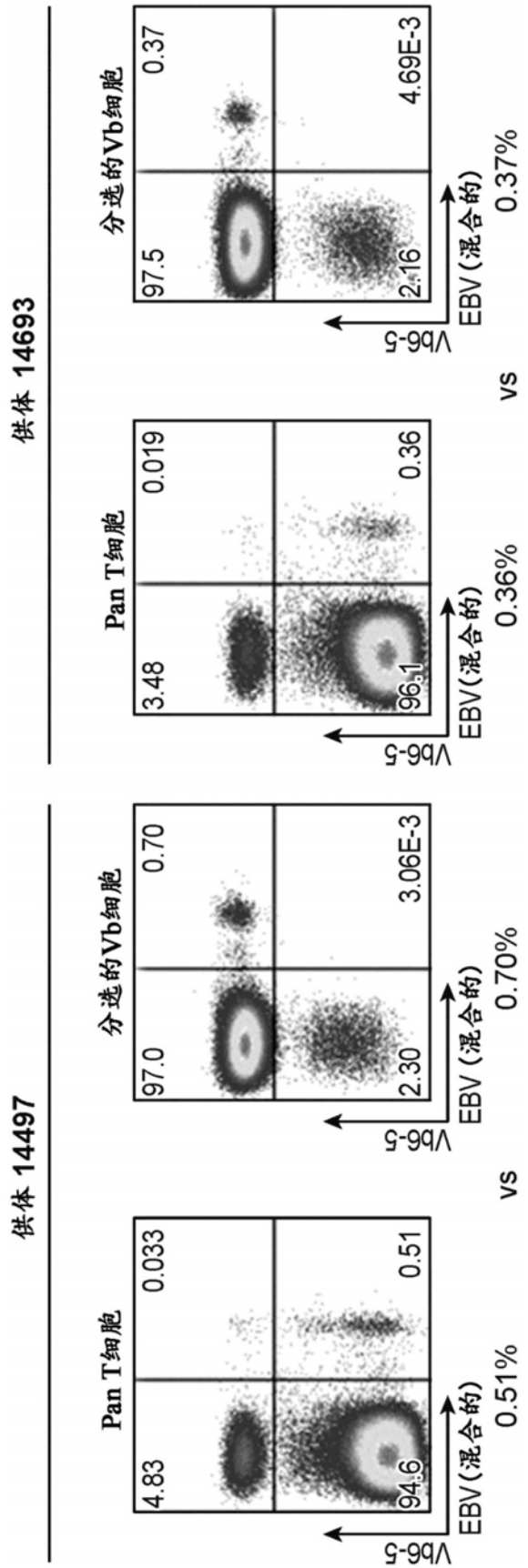

供体 14497
Pan T细胞
4.83
0.033
94.6
0.51
Vb6-5
EBV(混合的)
0.51%
vs
分选的Vb细胞
97.0
0.70
2.30
3.06E-3
Vb6-5
EBV (混合的)
0.70%
供体 14693
Pan T细胞
3.48
0.019
96.1
0.36
Vb6-5
EBV(混合的)
0.36%
vs
分选的Vb细胞
97.5
0.37
2.16
4.69E-3
Vb6-5
EBV(混合的)
0.37%

图69C

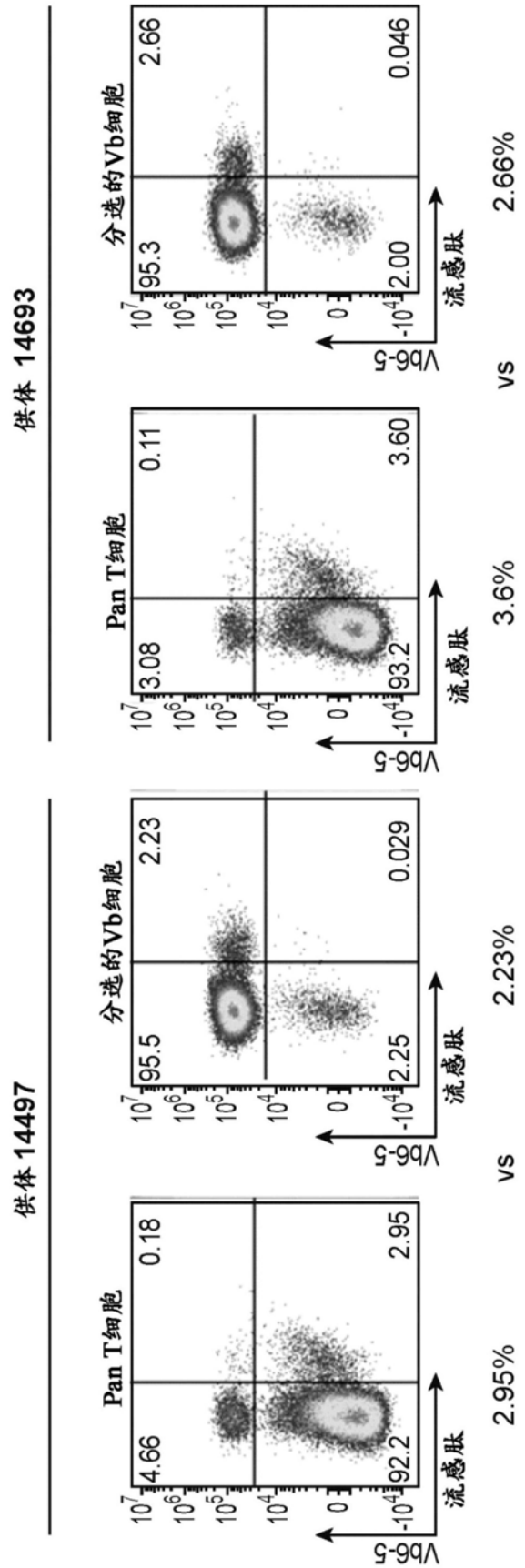

供体 14497
Pan T细胞
0.18
4.66
92.2
2.95
分选的Vb细胞
2.23
95.5
2.25
0.029
2.95%
vs
2.23%
供体 14693
Pan T细胞
0.11
13.08
93.2
3.60
分选的Vb细胞
2.66
95.3
2.00
0.046
3.6%
vs
2.66%
Vδ6-5
流感肽

图69D

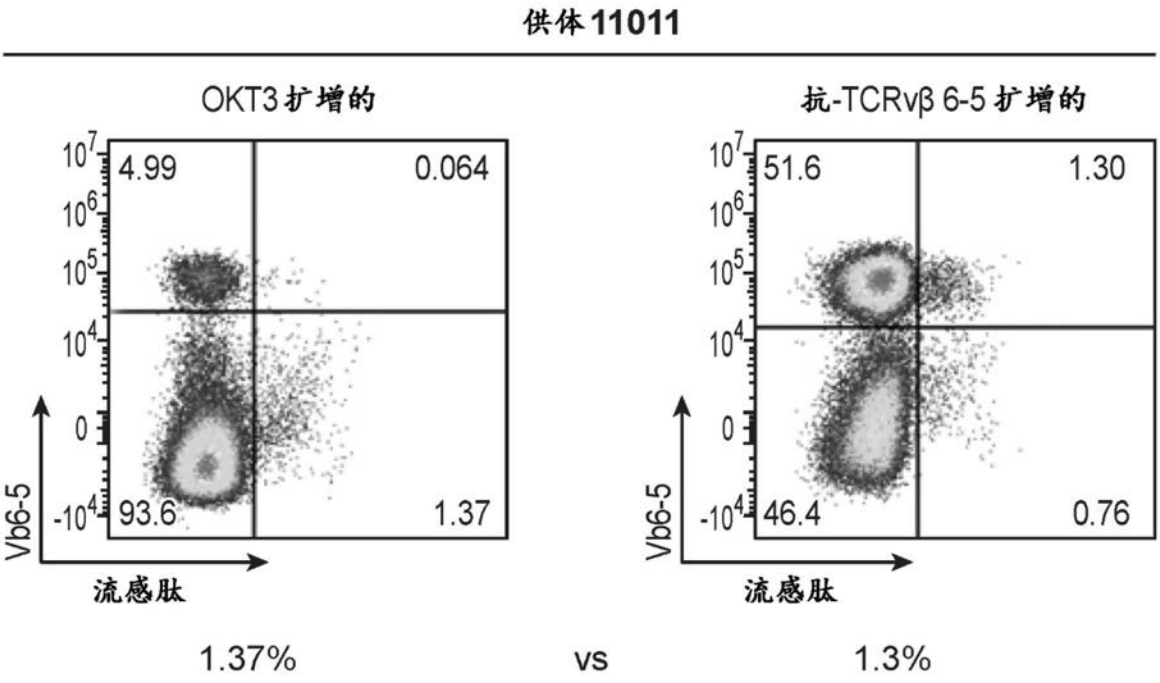

供体11011
OKT3扩增的
抗-TCRvβ 6-5扩增的
4.99
0.064
93.6
1.37
51.6
1.30
46.4
0.76
Vb6-5
流感肽
1.37%
vs
1.3%

图69E

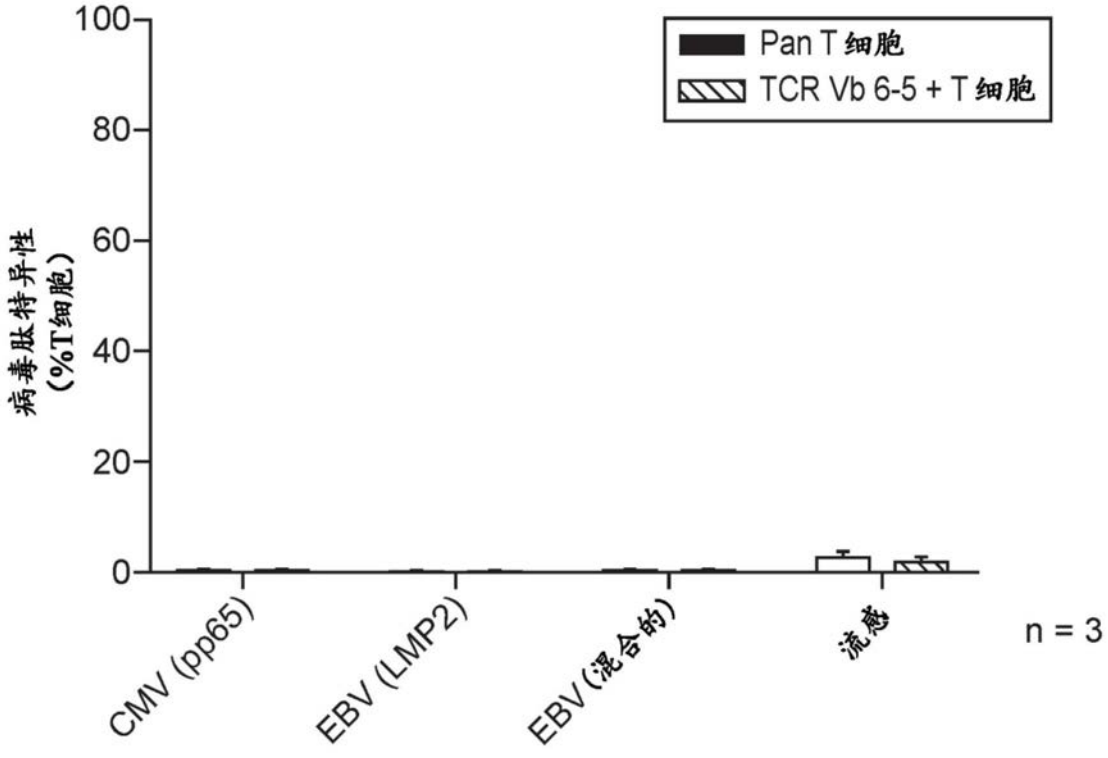

Pan T细胞
TCR Vb 6-5 + T细胞
病毒肽特异性
(%T细胞)
100
80
60
40
20
0
CMV (pp65)
EBV (LMP2)
EBV(混合的)
流感
n = 3

图69F

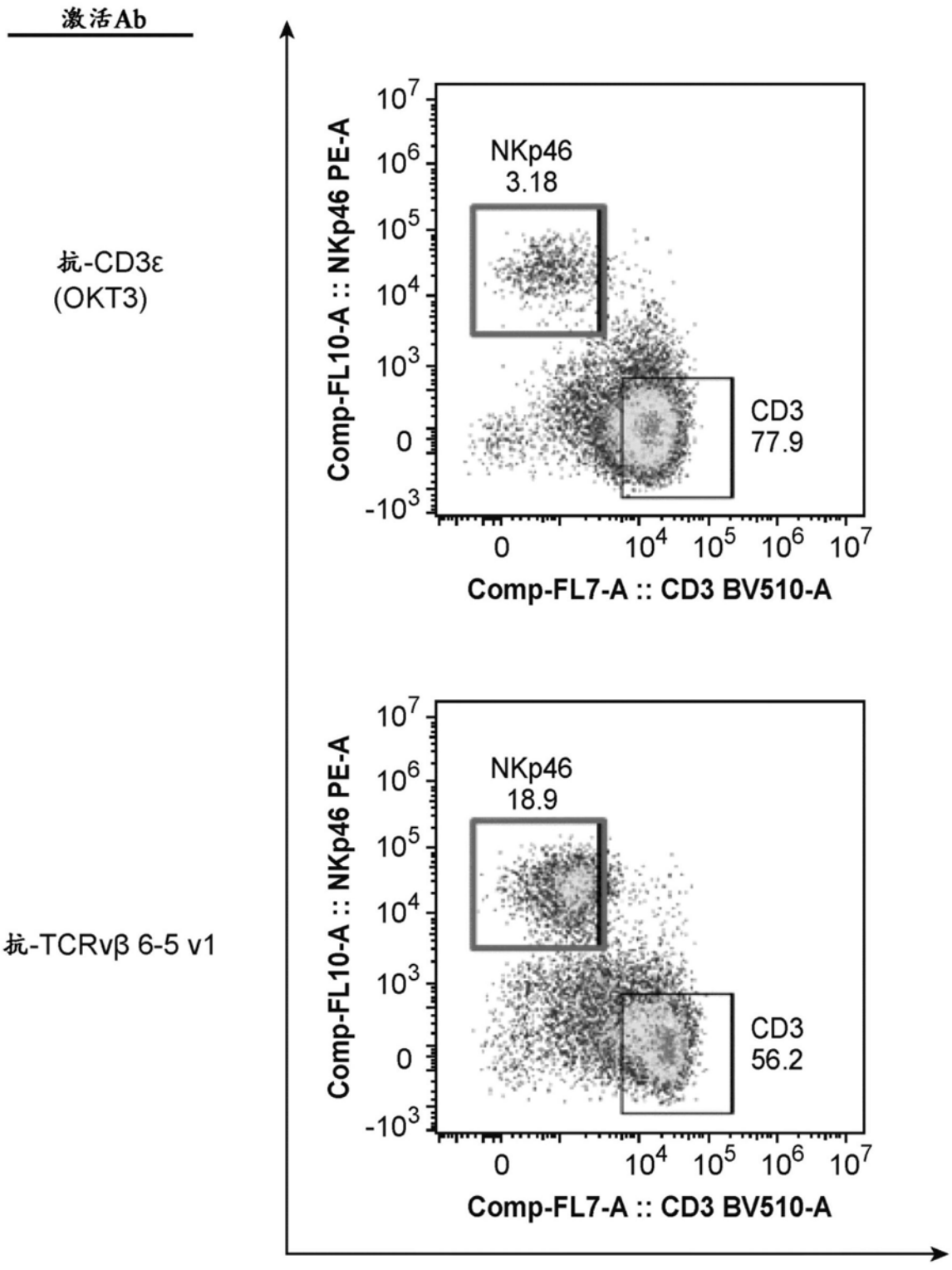

激活Ab
抗-CD3ε
(OKT3)
抗-TCRvβ 6-5 v1
Comp-FL10-A :: NKp46 PE-A
Comp-FL7-A :: CD3 BV510-A
NKp46
3.18
CD3
77.9
NKp46
18.9
CD3
56.2

图70

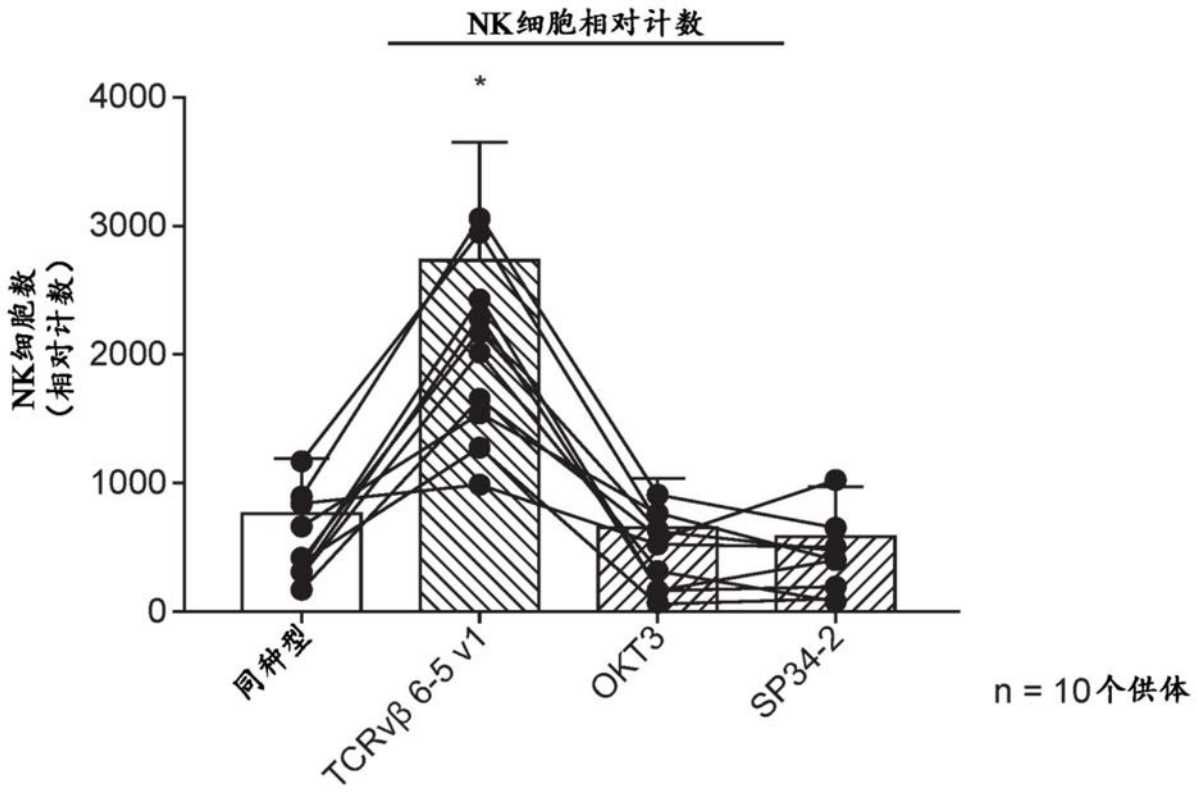

NK细胞相对计数
*
4000
3000
2000
1000
0
NK细胞数
（相对计数）
同种型
TCRvβ 6-5 v1
OKT3
SP34-2
n = 10个供体

图71

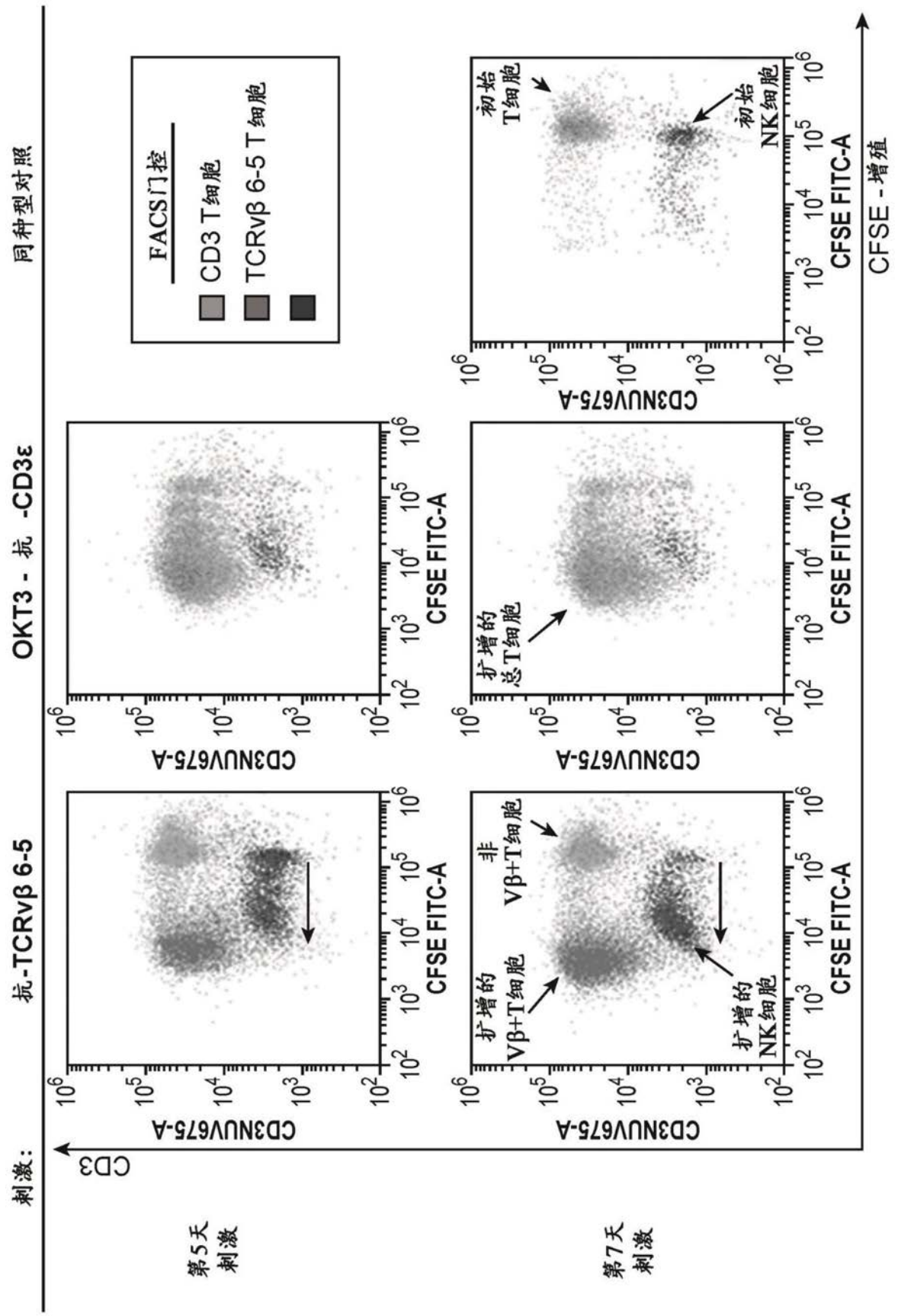

刺激：
抗-TCRvβ 6-5
OKT3 - 抗 -CD3ε
同种型对照
CD3
第5天刺激
第7天刺激
FACS门控
CD3 T细胞
TCRvβ 6-5 T细胞
CD3NUV675-A
CFSE FITC-A
CFSE - 增殖
扩增的 Vβ+T细胞
非 Vβ+T细胞
扩增的 NK细胞
扩增的 总T细胞
初始 T细胞
初始 NK细胞

图72

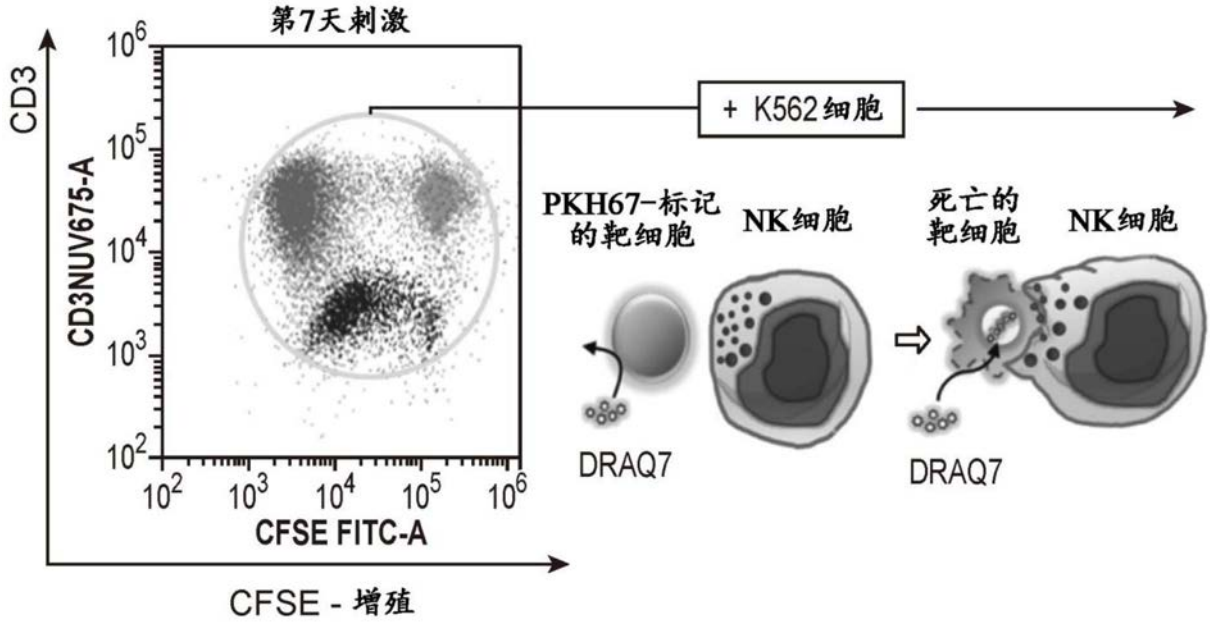

第7天刺激
CD3
CD3NUV675-A
CFSE FITC-A
CFSE - 增殖
+ K562细胞
PKH67-标记的靶细胞
NK细胞
死亡的靶细胞
NK细胞
DRAQ7
DRAQ7

图73

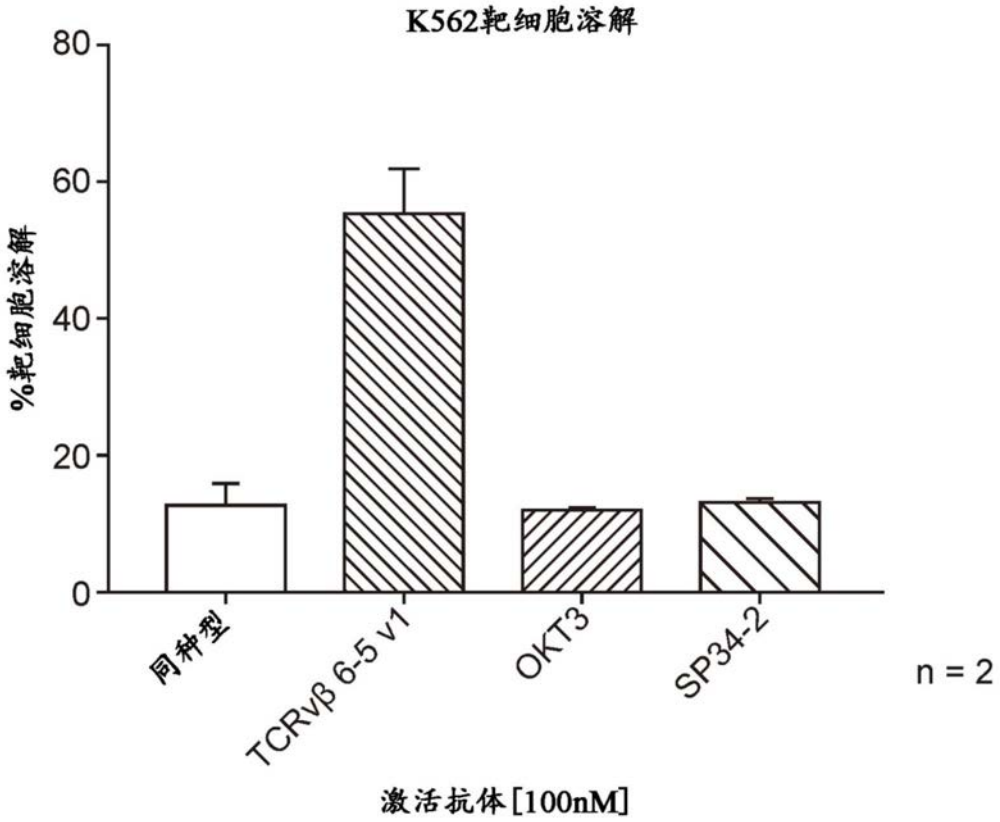

K562靶细胞溶解
%靶细胞溶解
同种型
TCRvβ 6-5 v1
OKT3
SP34-2
n = 2
激活抗体[100nM]

图74

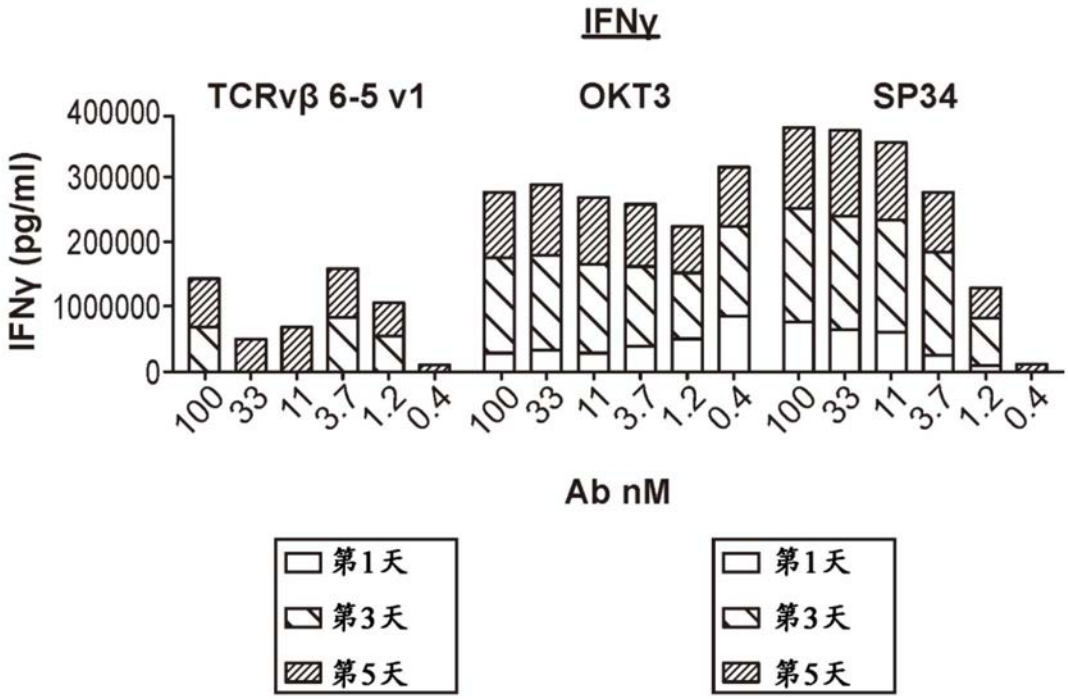

IFNγ
TCRvβ 6-5 v1
OKT3
SP34
IFNγ (pg/ml)
400000
300000
200000
1000000
0
100
33
11
3.7
1.2
0.4
Ab nM
第1天
第3天
第5天

图75

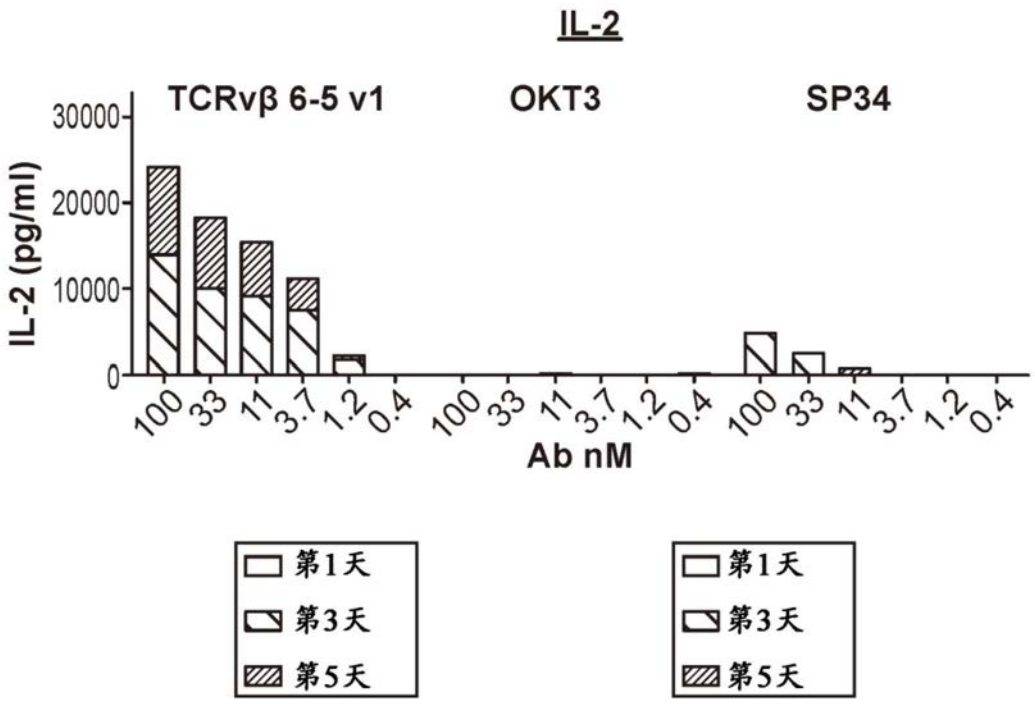

IL-2
TCRvβ 6-5 v1
OKT3
SP34
IL-2 (pg/ml)
30000
20000
10000
0
100
33
11
3.7
1.2
0.4
Ab nM
第1天
第3天
第5天

图76

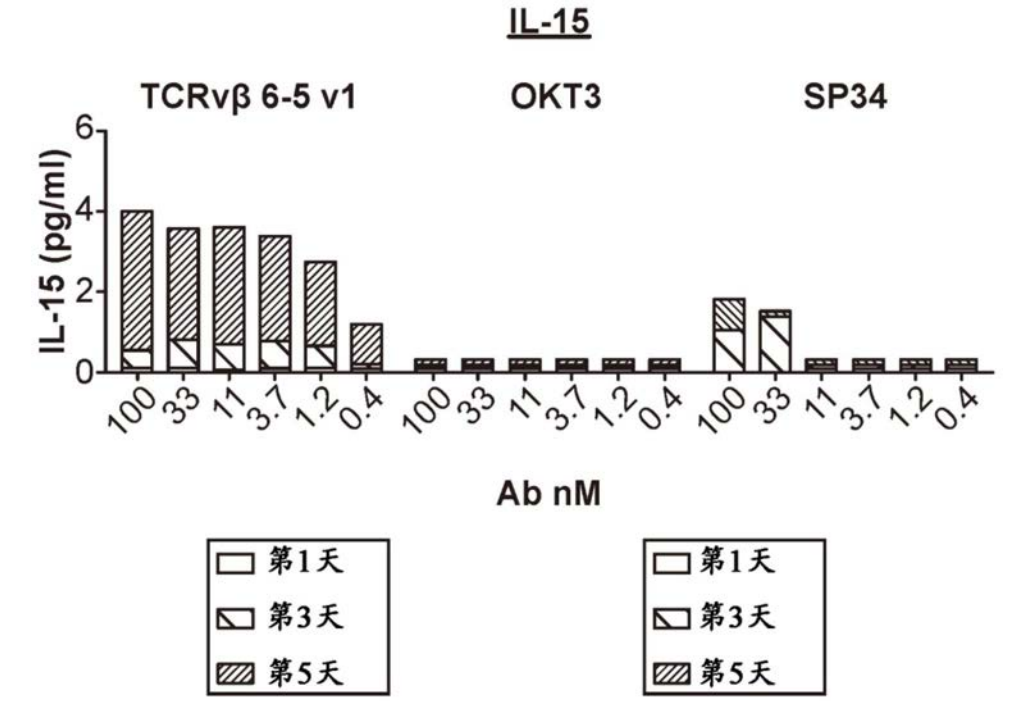

IL-15
TCRvβ 6-5 v1
OKT3
SP34
IL-15 (pg/ml)
6
4
2
0
100
33
11
3.7
1.2
0.4
Ab nM
第1天
第3天
第5天

图77

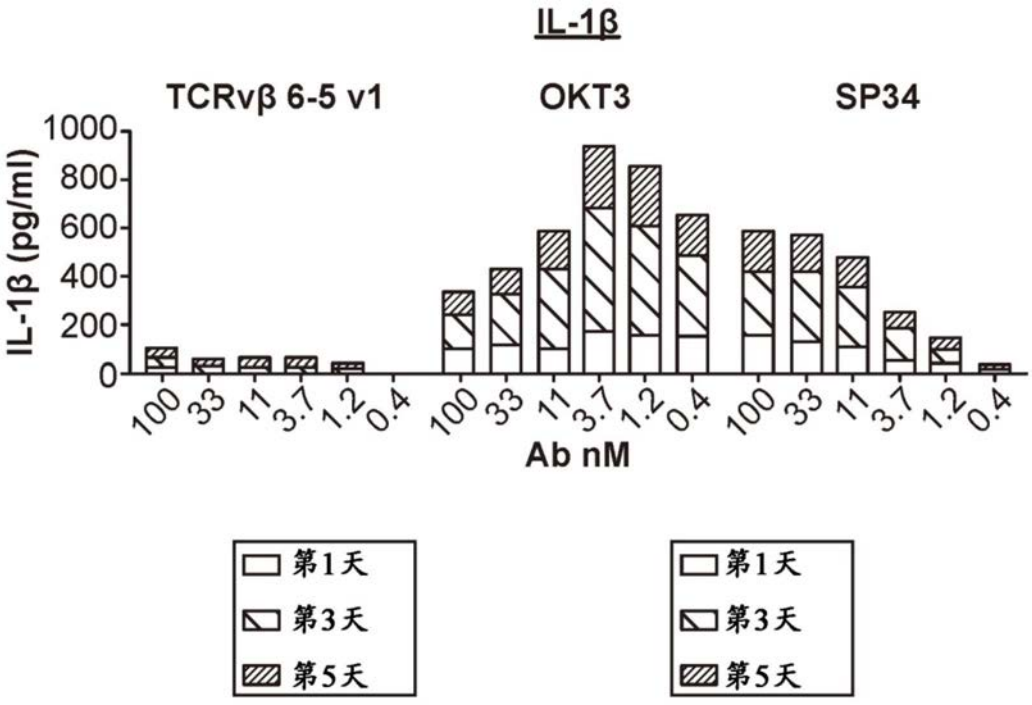

IL-1β
TCRvβ 6-5 v1
OKT3
SP34
IL-1β (pg/ml)
1000
800
600
400
200
0
100
33
11
3.7
1.2
0.4
Ab nM
第1天
第3天
第5天

图78

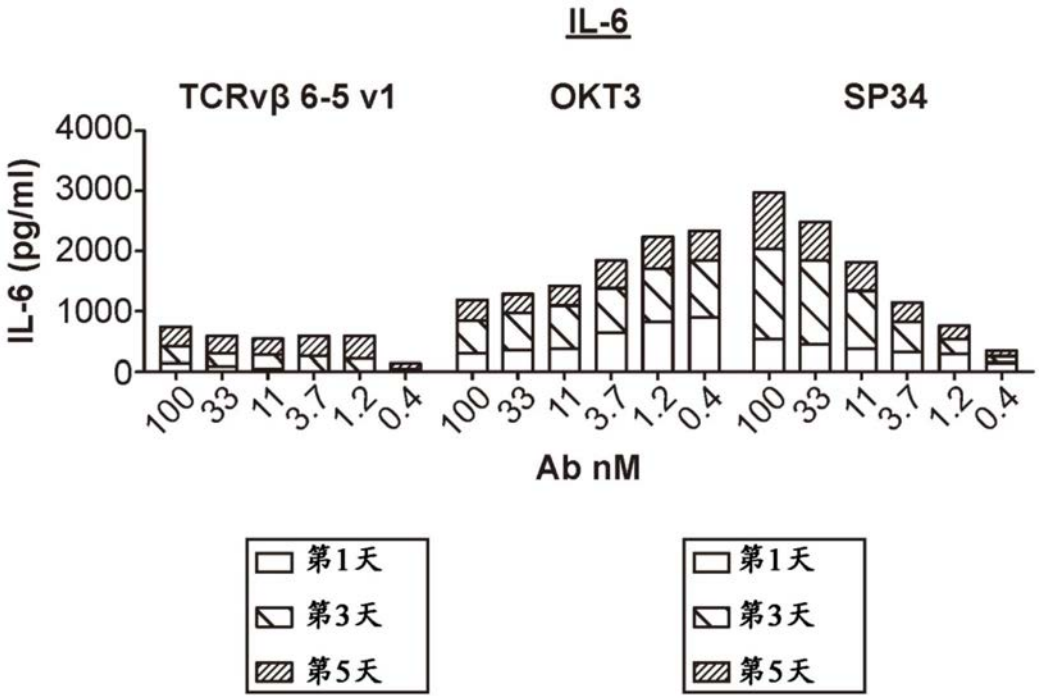

IL-6
TCRvβ 6-5 v1
OKT3
SP34
IL-6 (pg/ml)
4000
3000
2000
1000
0
100
33
11
3.7
1.2
0.4
Ab nM
第1天
第3天
第5天

图79

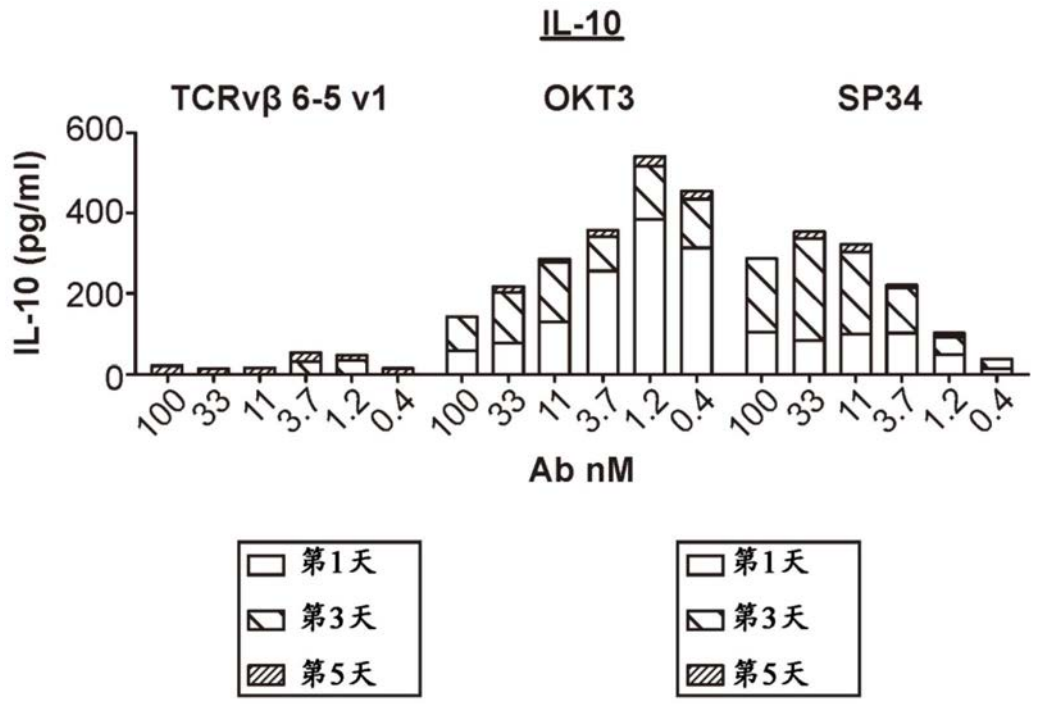

IL-10
TCRvβ 6-5 v1
OKT3
SP34
IL-10 (pg/ml)
600
400
200
0
100
33
11
3.7
1.2
0.4
Ab nM
第1天
第3天
第5天

图80

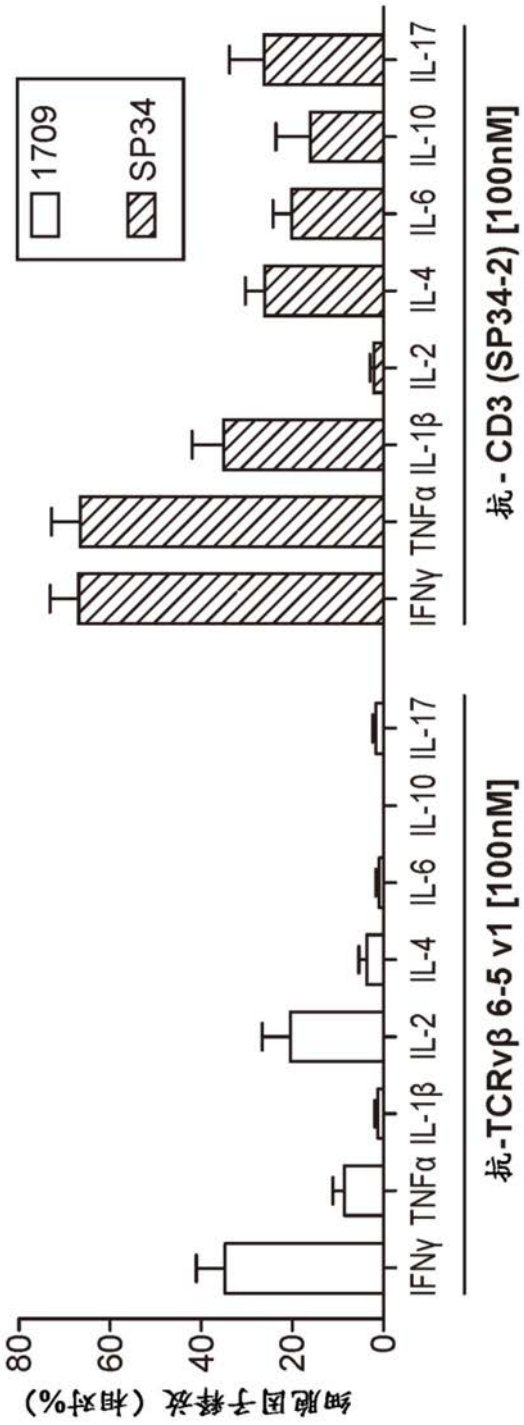

细胞因子释放（相对%）
80
60
40
20
0
1709
SP34
IFNγ TNFα IL-1β IL-2 IL-4 IL-6 IL-10 IL-17
抗-TCRvβ 6-5 v1 [100nM]
IFNγ TNFα IL-1β IL-2 IL-4 IL-6 IL-10 IL-17
抗 - CD3 (SP34-2) [100nM]

图81

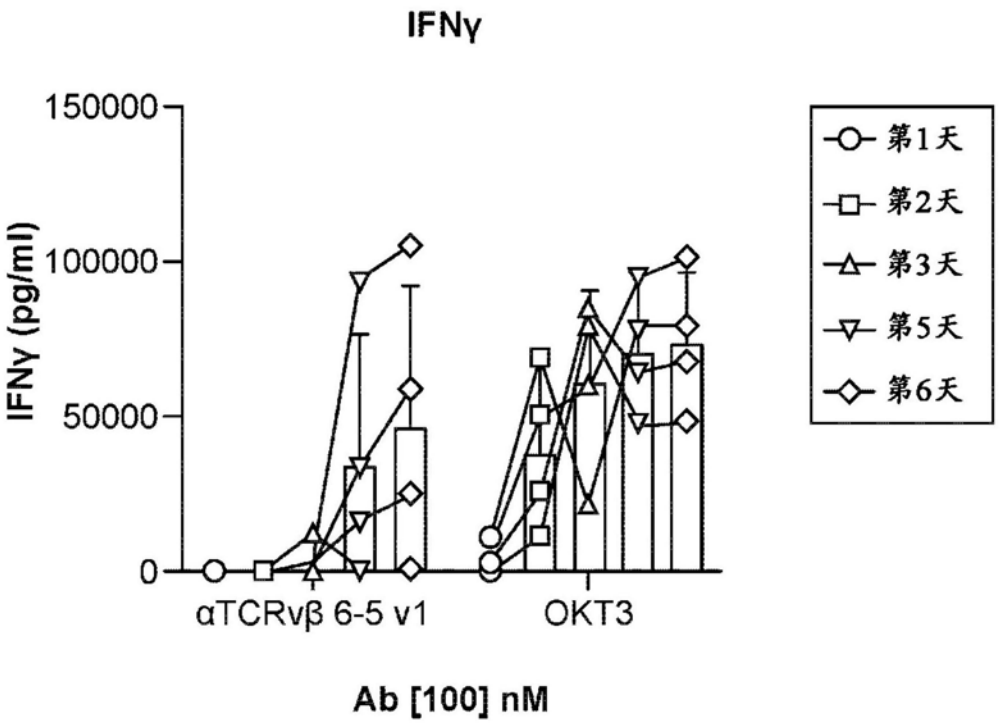

IFNγ
150000
100000
50000
0
IFNγ (pg/ml)
αTCRvβ 6-5 v1
OKT3
Ab [100] nM
第1天
第2天
第3天
第5天
第6天

图82A

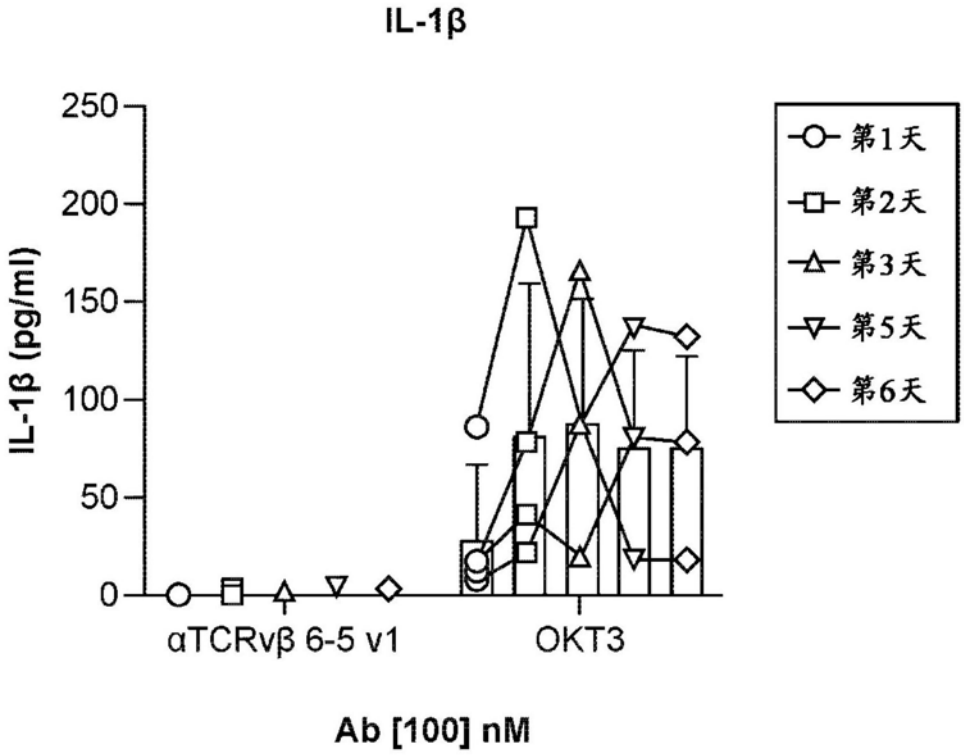

IL-1β
250
200
150
100
50
0
IL-1β (pg/ml)
αTCRvβ 6-5 v1
OKT3
Ab [100] nM
第1天
第2天
第3天
第5天
第6天

图82B

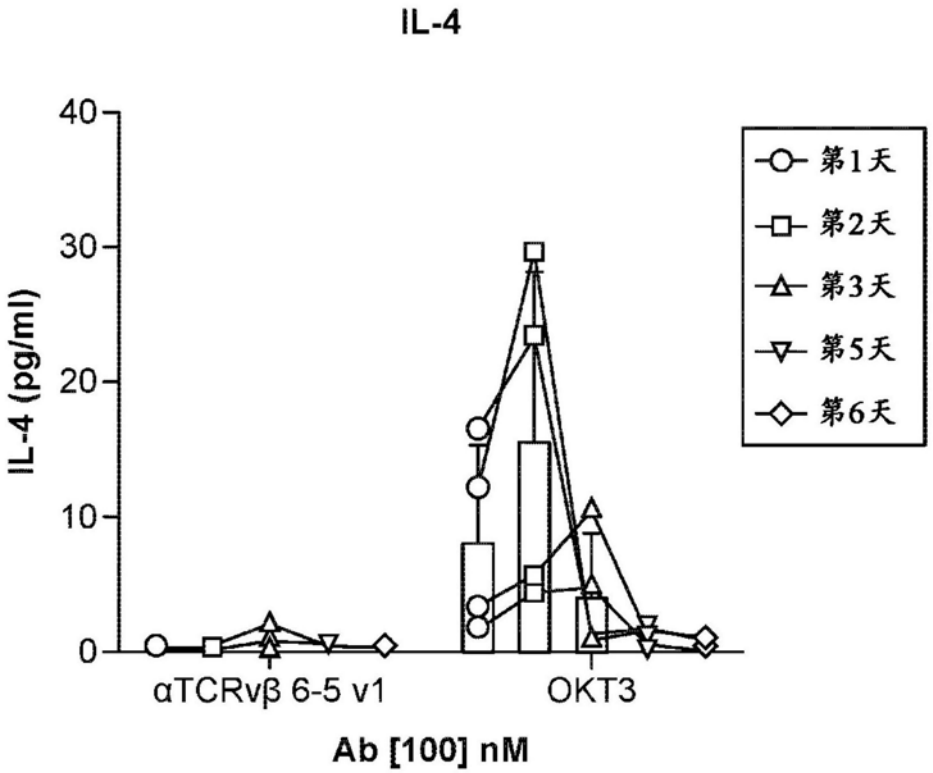

IL-4
40
30
20
10
0
IL-4 (pg/ml)
αTCRvβ 6-5 v1
OKT3
Ab [100] nM
第1天
第2天
第3天
第5天
第6天

图82C

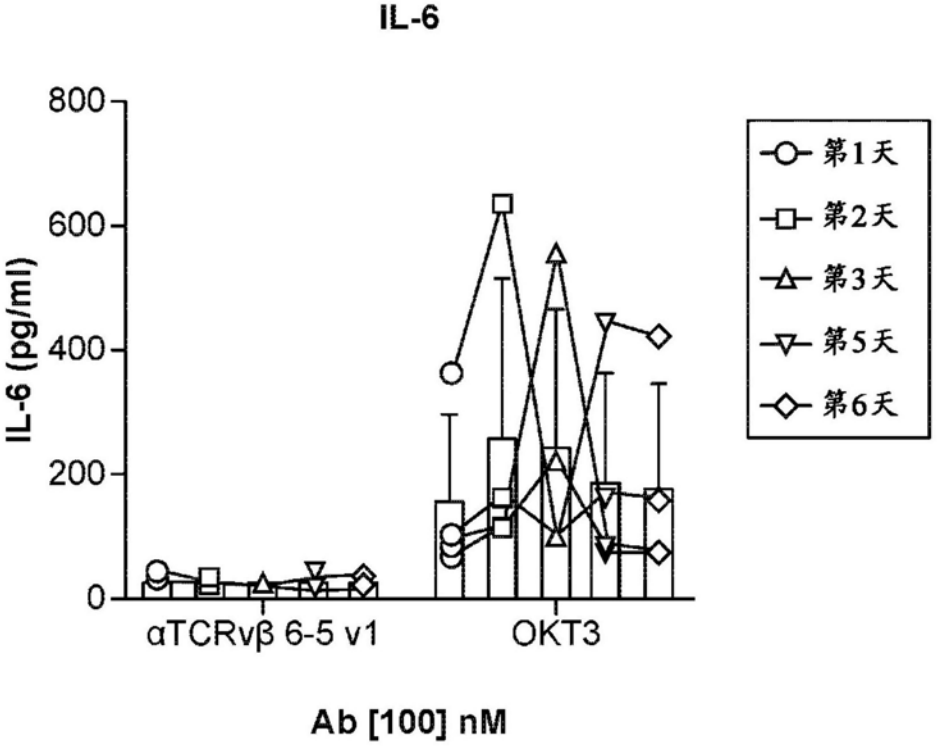

IL-6
800
600
400
200
0
IL-6 (pg/ml)
αTCRvβ 6-5 v1
OKT3
Ab [100] nM
第1天
第2天
第3天
第5天
第6天

图82D

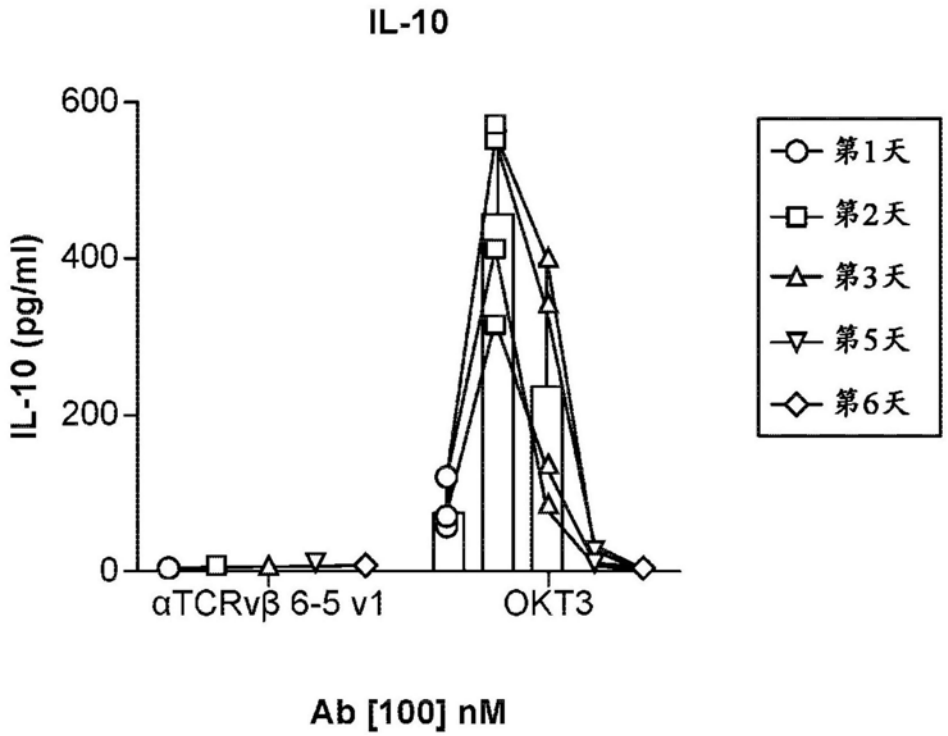

IL-10
600
400
200
0
IL-10 (pg/ml)
αTCRvβ 6-5 v1
OKT3
Ab [100] nM
第1天
第2天
第3天
第5天
第6天

图82E

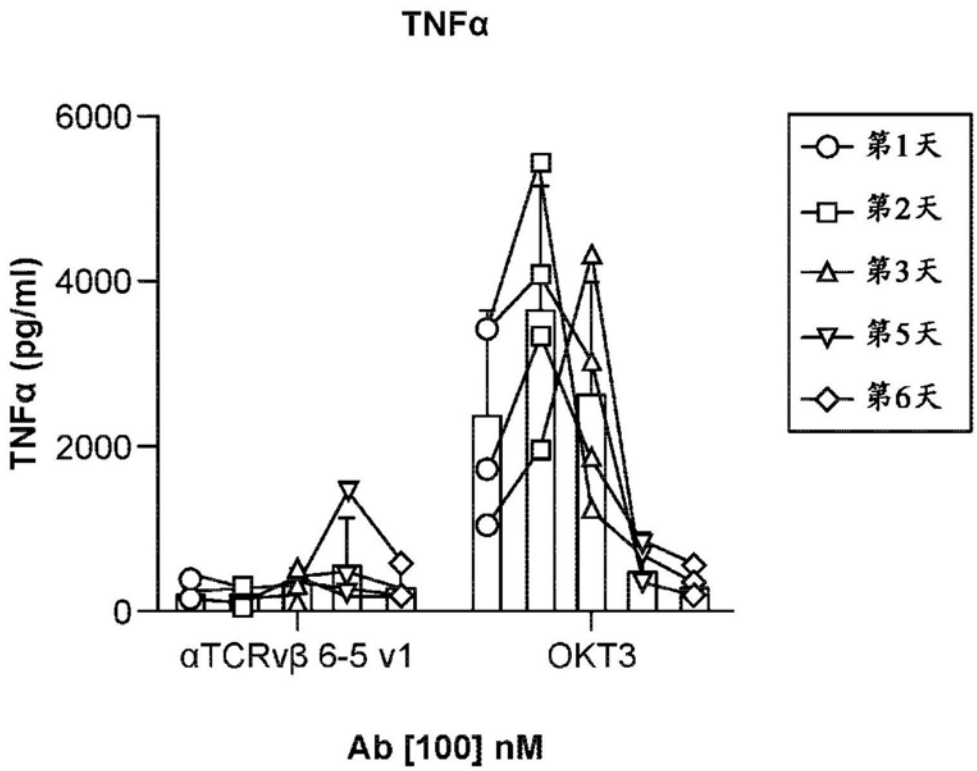

TNFα
6000
4000
2000
0
TNFα (pg/ml)
αTCRvβ 6-5 v1
OKT3
Ab [100] nM
第1天
第2天
第3天
第5天
第6天

图82F

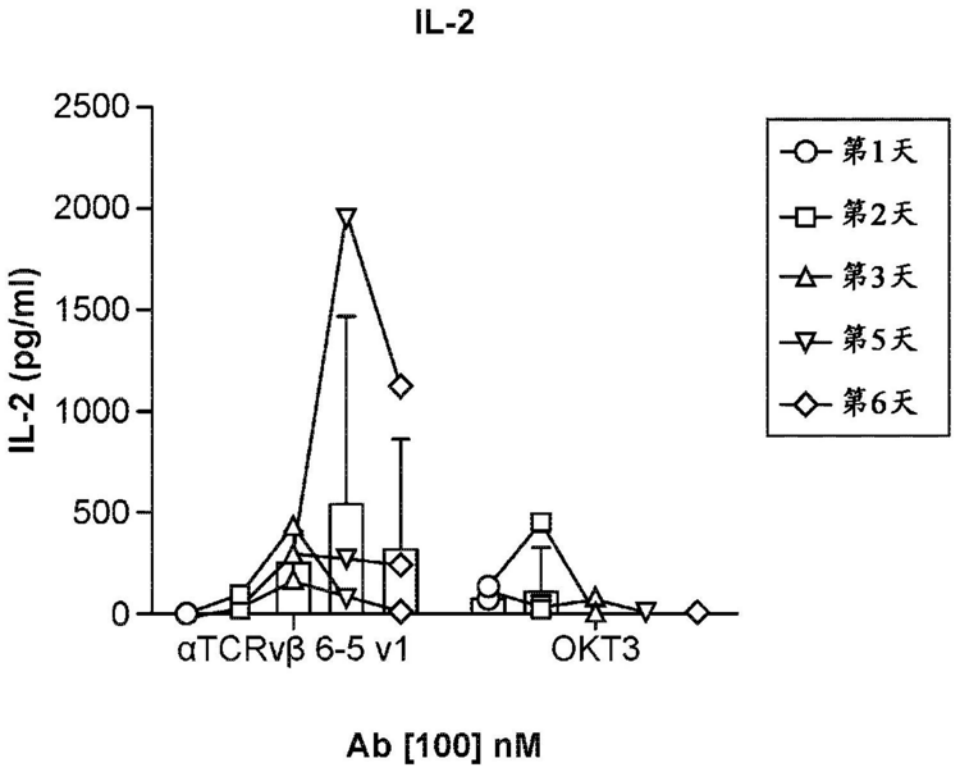

IL-2
2500
2000
1500
1000
500
0
IL-2 (pg/ml)
αTCRvβ 6-5 v1
OKT3
Ab [100] nM
第1天
第2天
第3天
第5天
第6天

图82G

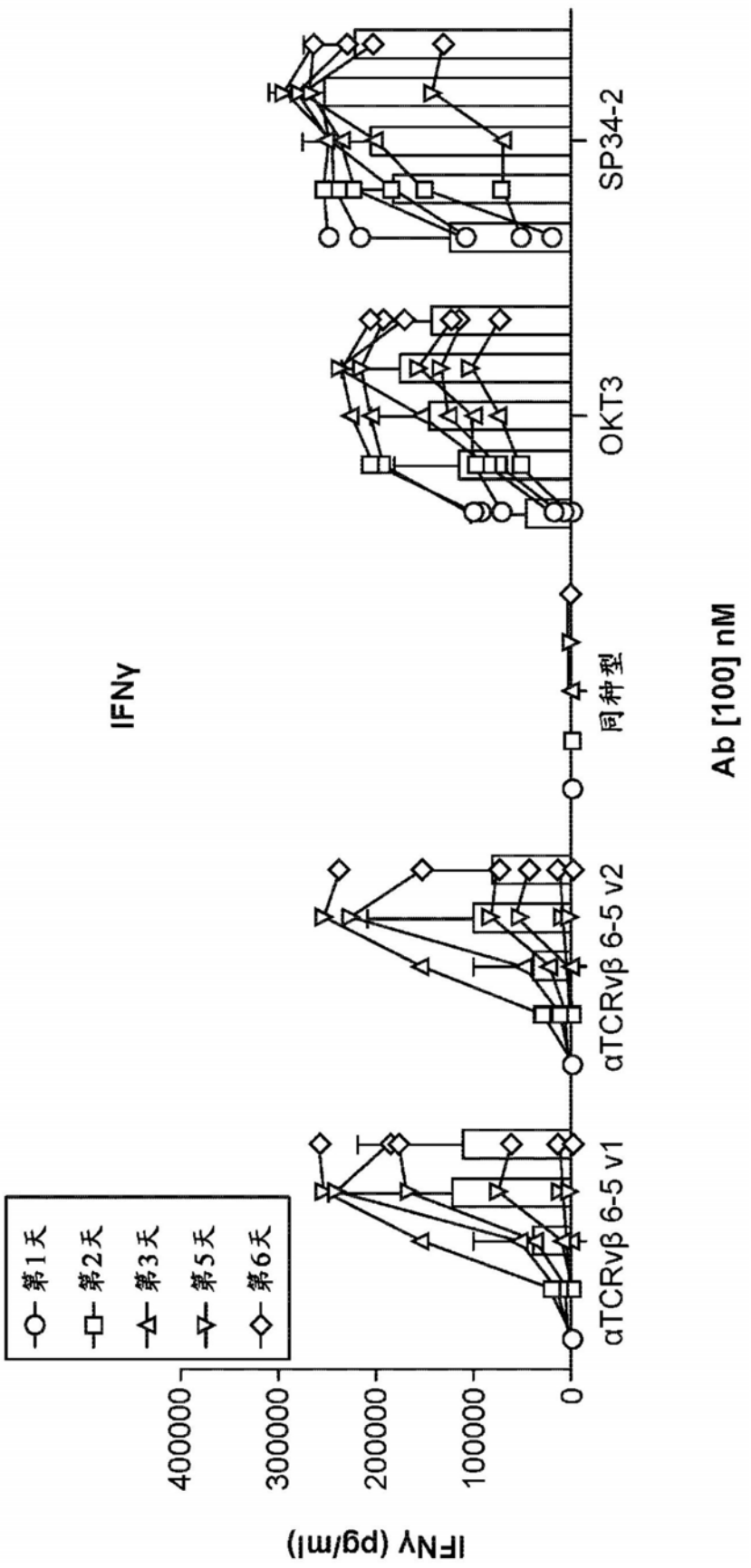

IFNγ
IFNγ (pg/ml)
400000
300000
200000
100000
0
第1天
第2天
第3天
第5天
第6天
αTCRvβ 6-5 v1
αTCRvβ 6-5 v2
同种型
OKT3
SP34-2
Ab [100] nM

图83A

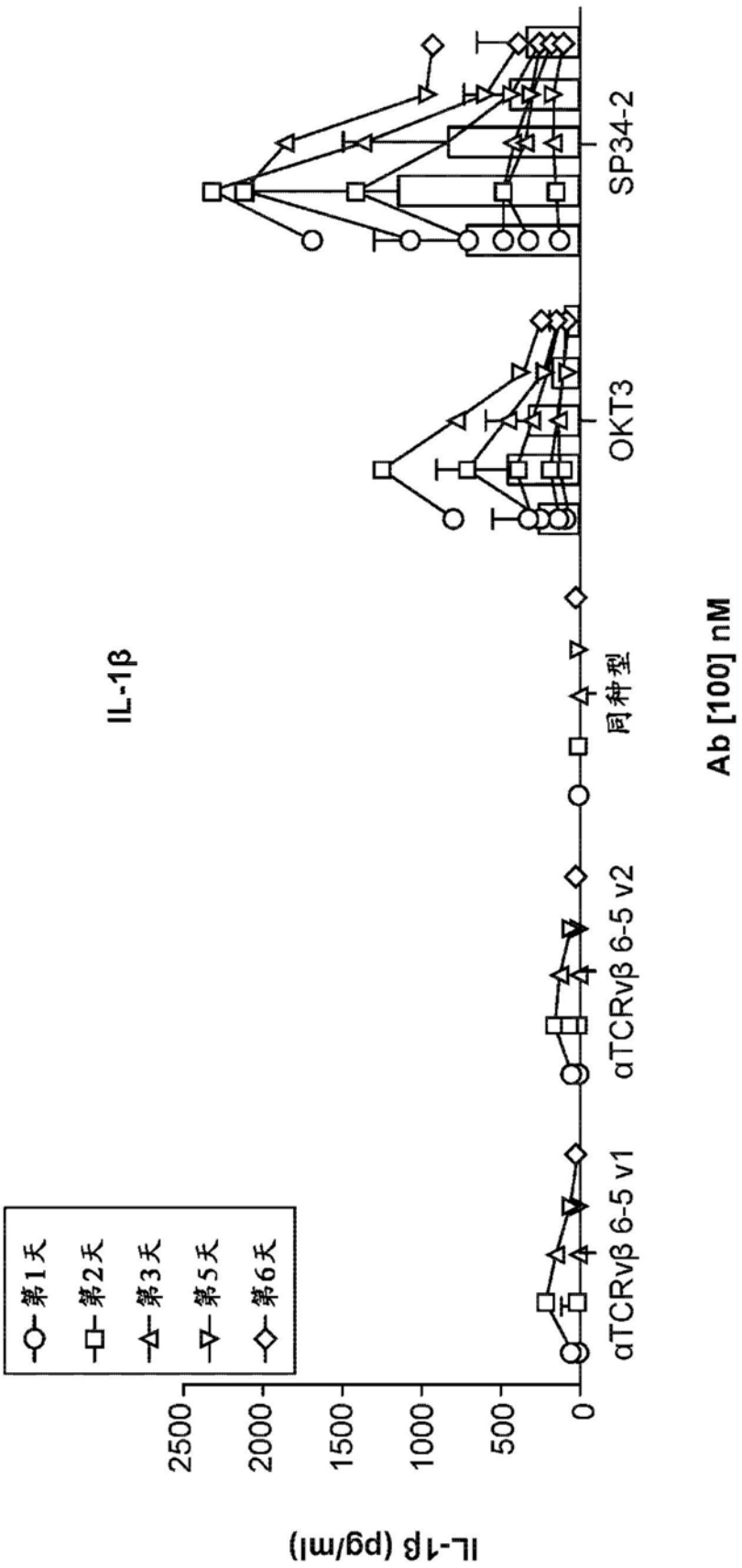

IL-1β
IL-1β (pg/ml)
2500
2000
1500
1000
500
0
第1天
第2天
第3天
第5天
第6天
αTCRvβ 6-5 v1
αTCRvβ 6-5 v2
同种型
OKT3
SP34-2
Ab [100] nM

图83B

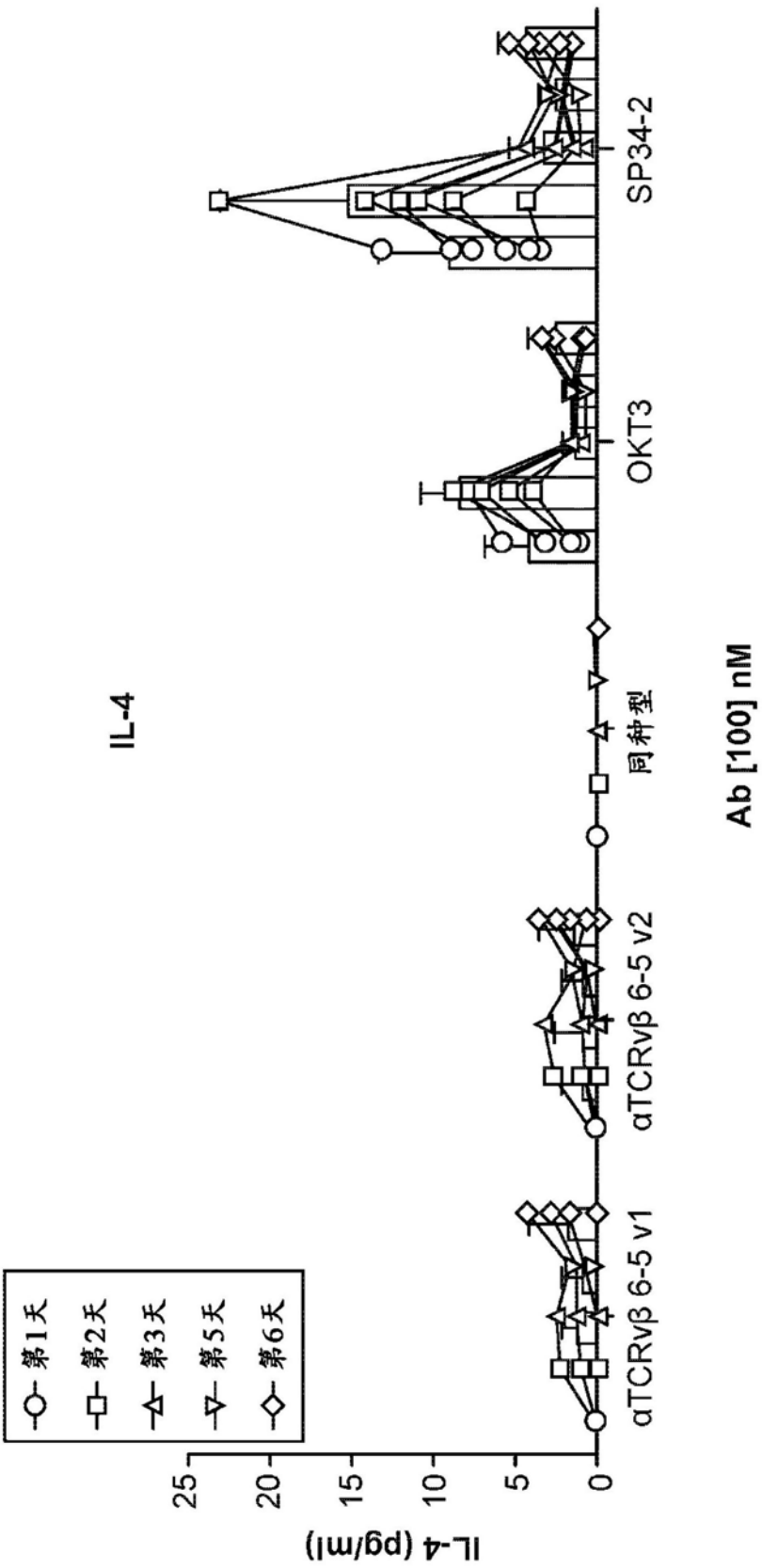

IL-4
IL-4 (pg/ml)
25
20
15
10
5
0
第1天
第2天
第3天
第5天
第6天
αTCRvβ 6-5 v1
αTCRvβ 6-5 v2
同种型
OKT3
SP34-2
Ab [100] nM

图83C

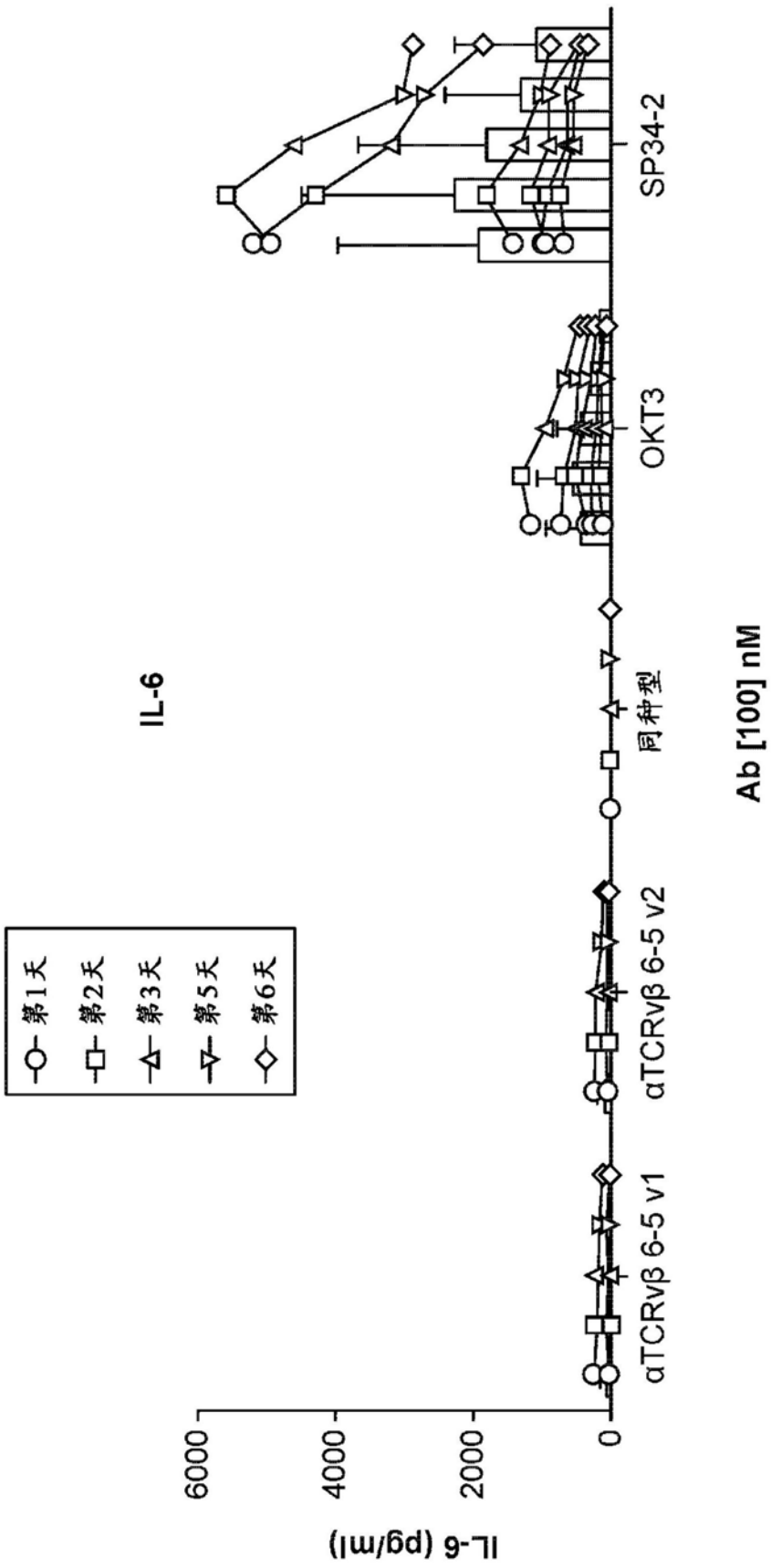

IL-6
第1天
第2天
第3天
第5天
第6天
IL-6 (pg/ml)
6000
4000
2000
0
αTCRvβ 6-5 v1
αTCRvβ 6-5 v2
同种型
OKT3
SP34-2
Ab [100] nM

图83D

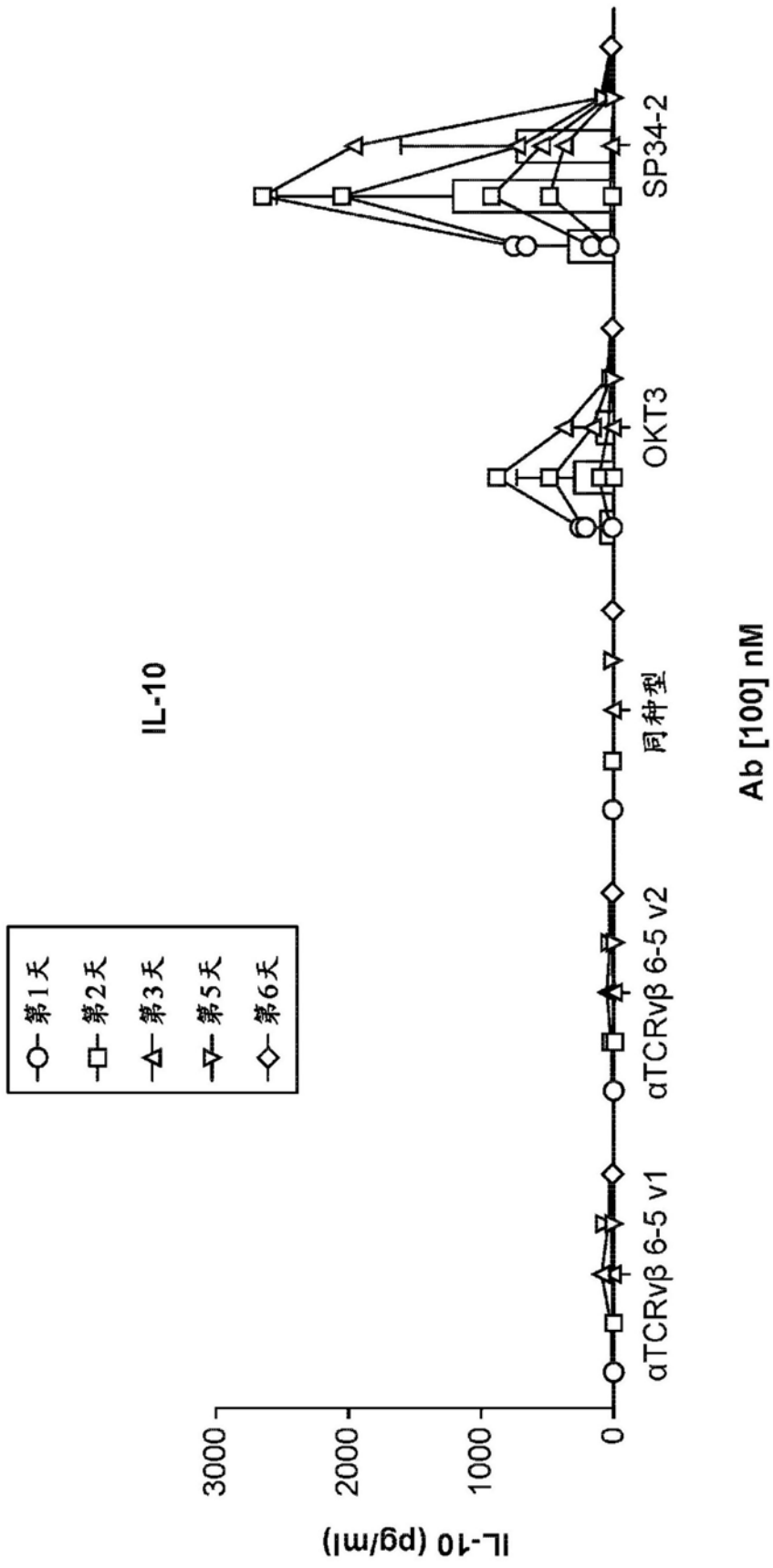

IL-10
第1天
第2天
第3天
第5天
第6天
IL-10 (pg/ml)
3000
2000
1000
0
αTCRvβ 6-5 v1
αTCRvβ 6-5 v2
同种型
OKT3
SP34-2
Ab [100] nM

图83E

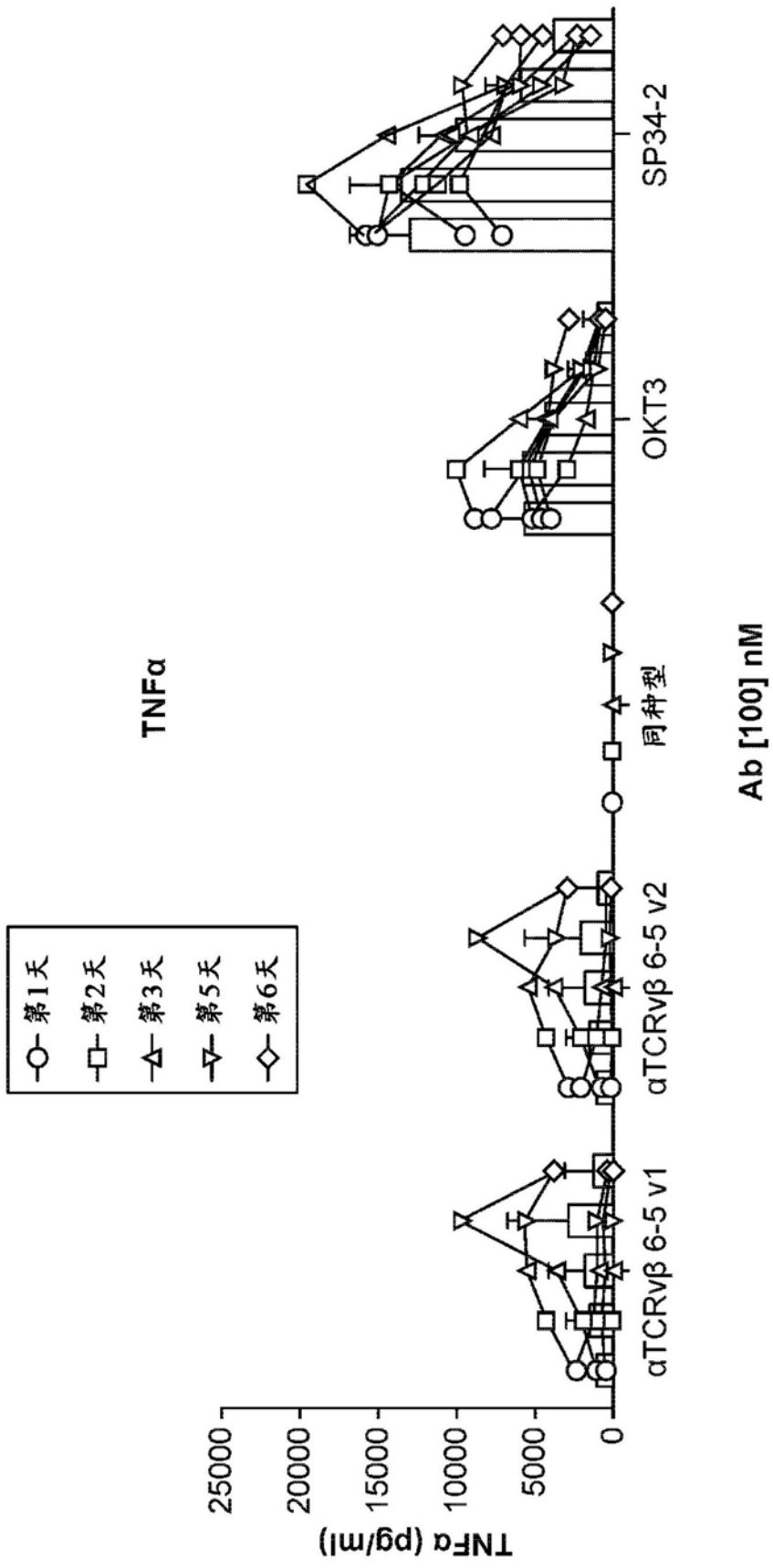

TNFα
第1天
第2天
第3天
第5天
第6天
TNFα (pg/ml)
25000
20000
15000
10000
5000
0
αTCRvβ 6-5 v1
αTCRvβ 6-5 v2
同种型
OKT3
SP34-2
Ab [100] nM

图83F

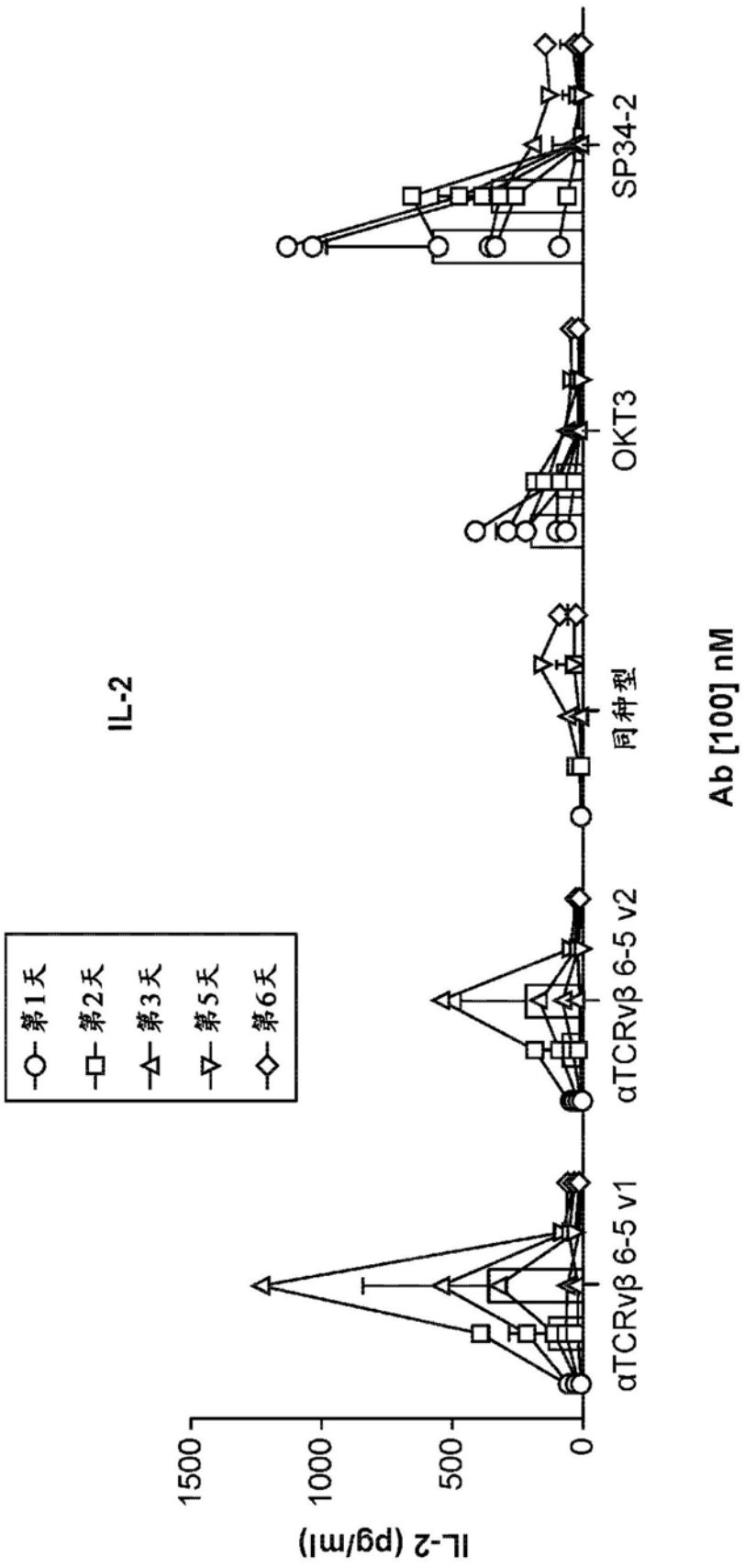

IL-2
第1天
第2天
第3天
第5天
第6天
IL-2 (pg/ml)
1500
1000
500
0
αTCRvβ 6-5 v1
αTCRvβ 6-5 v2
同种型
OKT3
SP34-2
Ab [100] nM

图83G

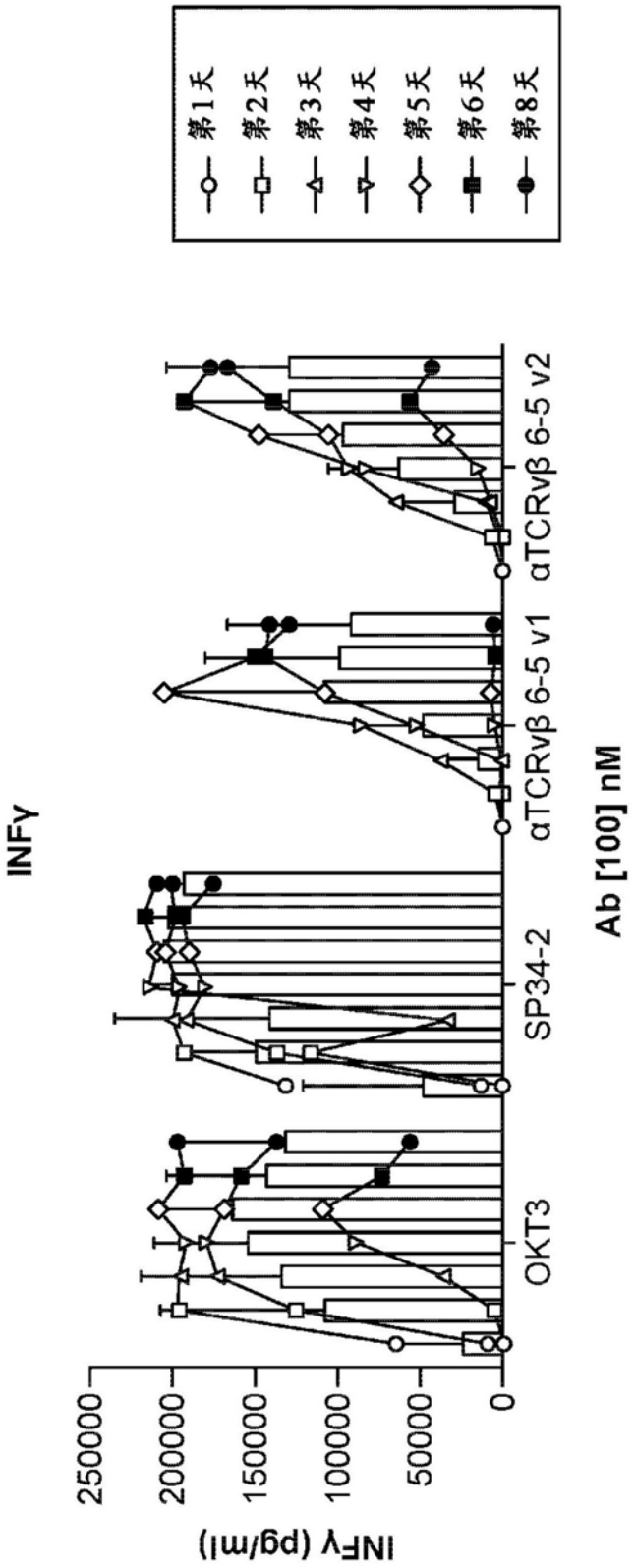

第1天
第2天
第3天
第4天
第5天
第6天
第8天
INFγ
INFγ (pg/ml)
250000
200000
150000
100000
50000
0
OKT3
SP34-2
αTCRvβ 6-5 v1
αTCRvβ 6-5 v2
Ab [100] nM

图84A

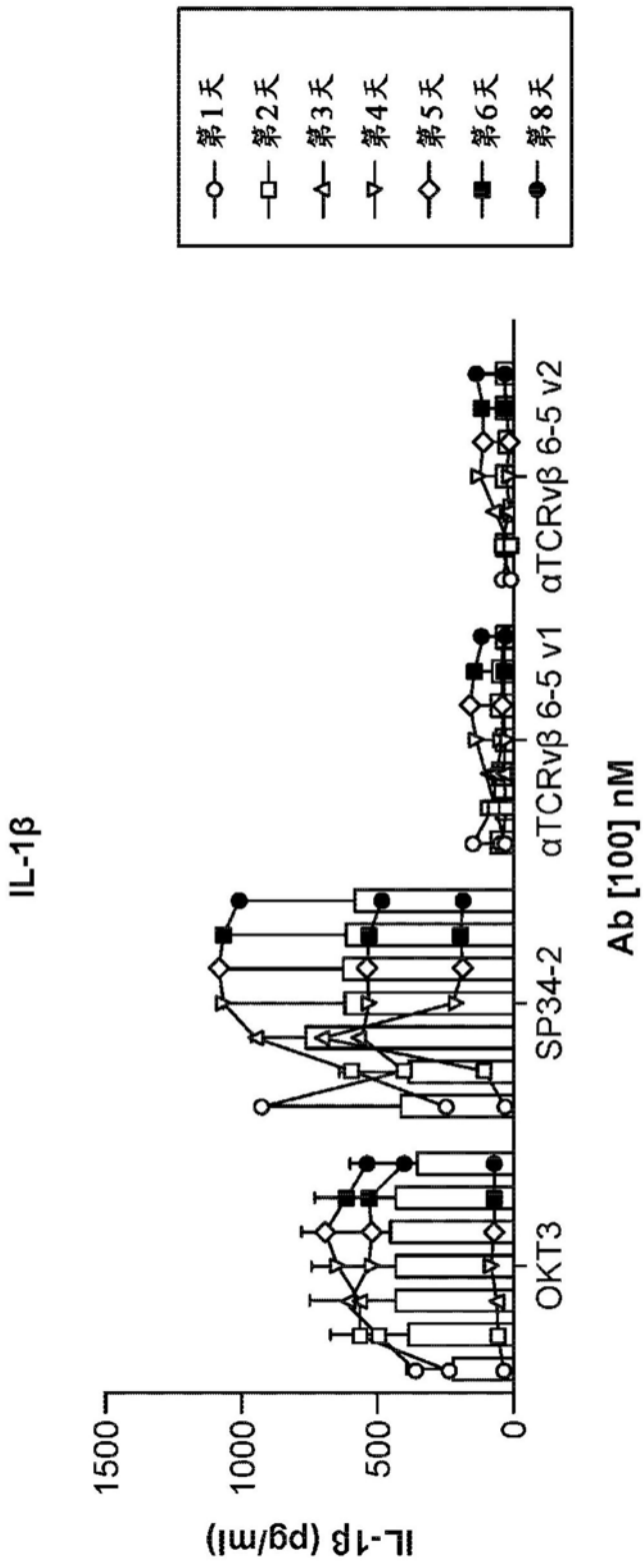

第1天
第2天
第3天
第4天
第5天
第6天
第8天
IL-1β
IL-1β (pg/ml)
1500
1000
500
0
OKT3
SP34-2
αTCRvβ 6-5 v1
αTCRvβ 6-5 v2
Ab [100] nM

图84B

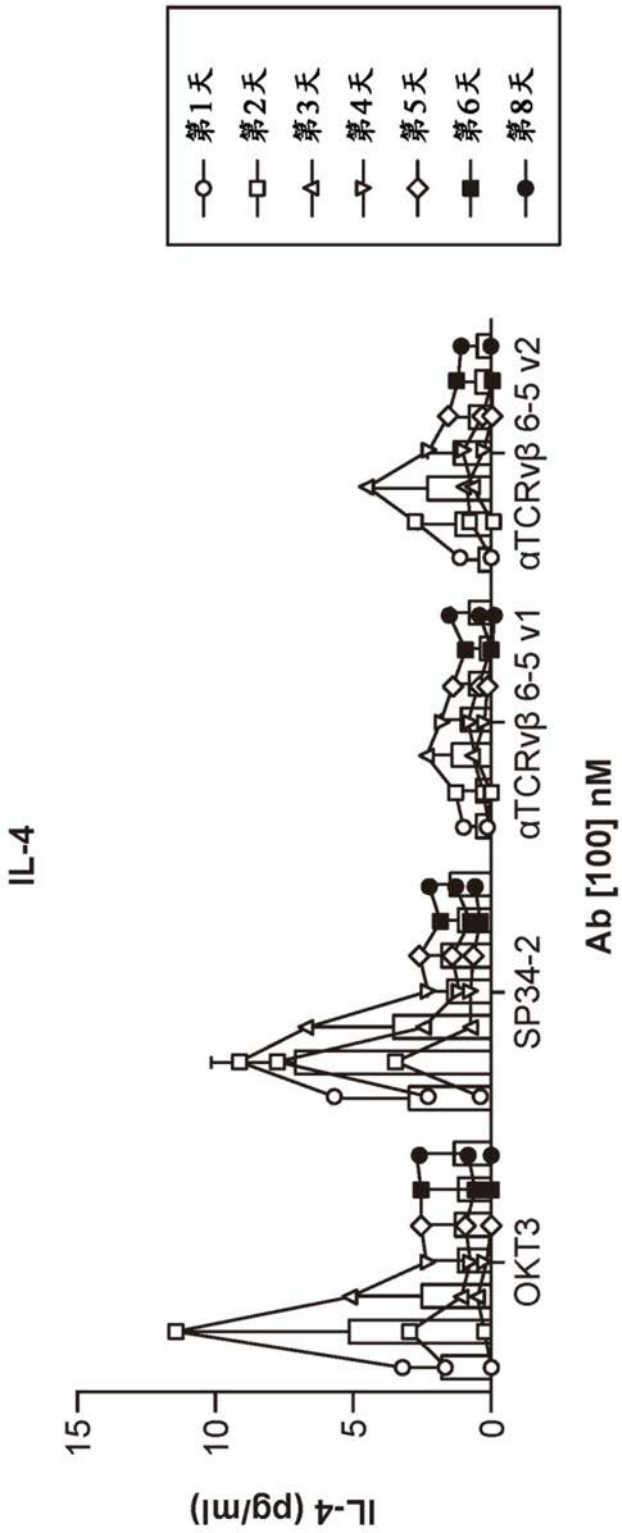

第1天
第2天
第3天
第4天
第5天
第6天
第8天
IL-4
IL-4 (pg/ml)
15
10
5
0
OKT3
SP34-2
αTCRvβ 6-5 v1
αTCRvβ 6-5 v2
Ab [100] nM

图84C

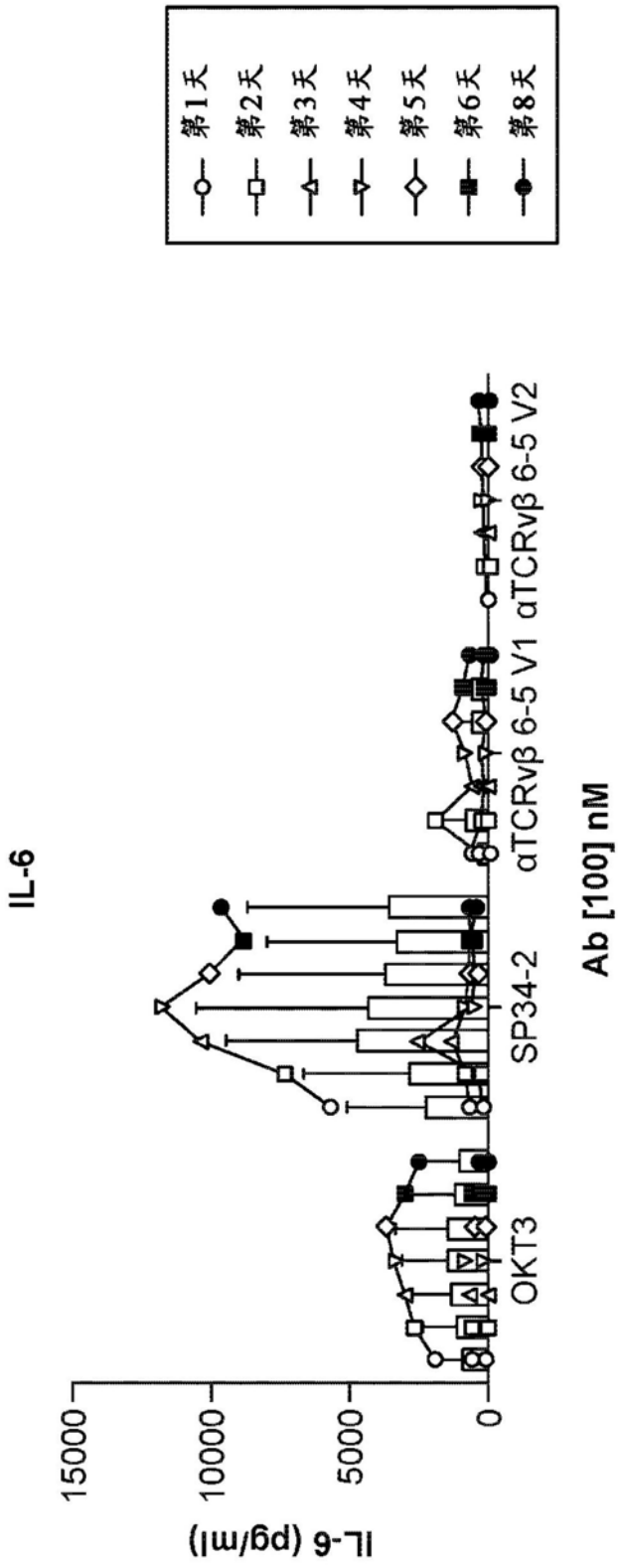

第1天
第2天
第3天
第4天
第5天
第6天
第8天
IL-6
IL-6 (pg/ml)
15000
10000
5000
0
OKT3
SP34-2
αTCRvβ 6-5 V1
αTCRvβ 6-5 V2
Ab [100] nM

图84D

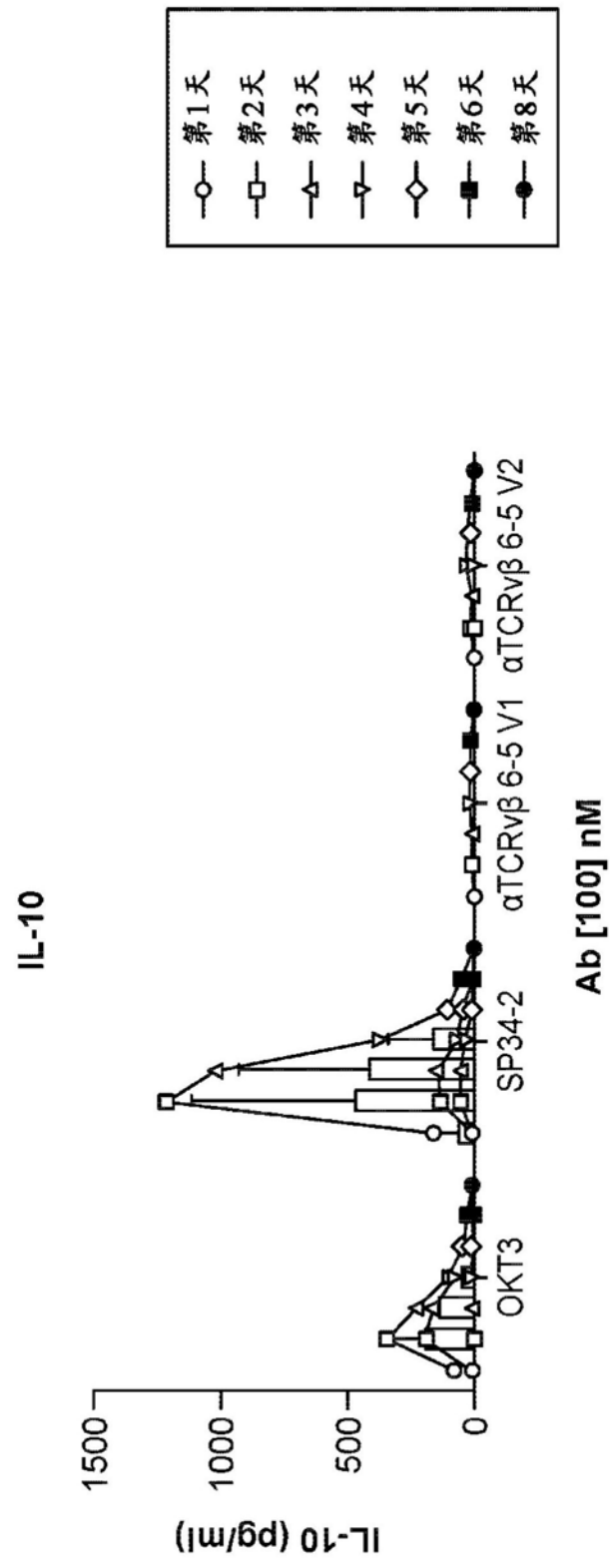

第1天
第2天
第3天
第4天
第5天
第6天
第8天
IL-10
IL-10 (pg/ml)
1500
1000
500
0
OKT3
SP34-2
αTCRvβ 6-5 V1
αTCRvβ 6-5 V2
Ab [100] nM

图84E

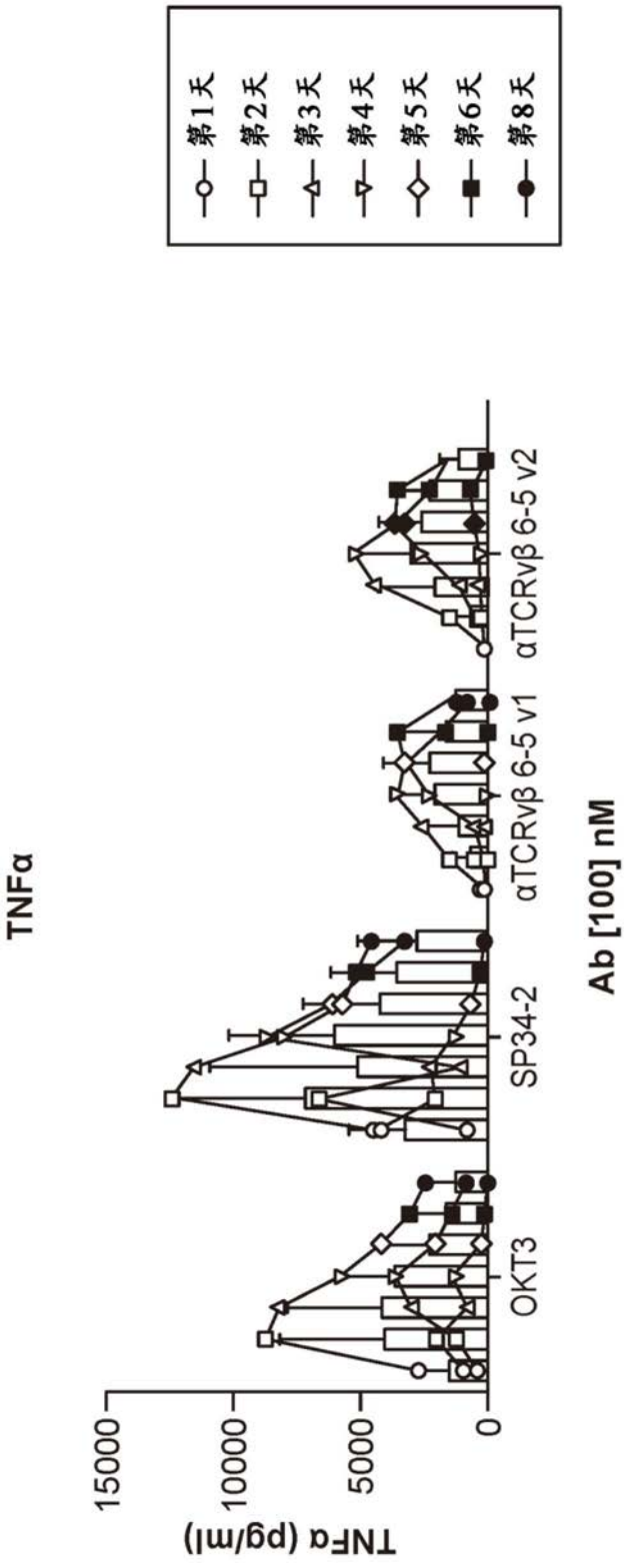

第1天
第2天
第3天
第4天
第5天
第6天
第8天
TNFα
TNFα (pg/ml)
15000
10000
5000
0
OKT3
SP34-2
αTCRvβ 6-5 v1
αTCRvβ 6-5 v2
Ab [100] nM

图84F

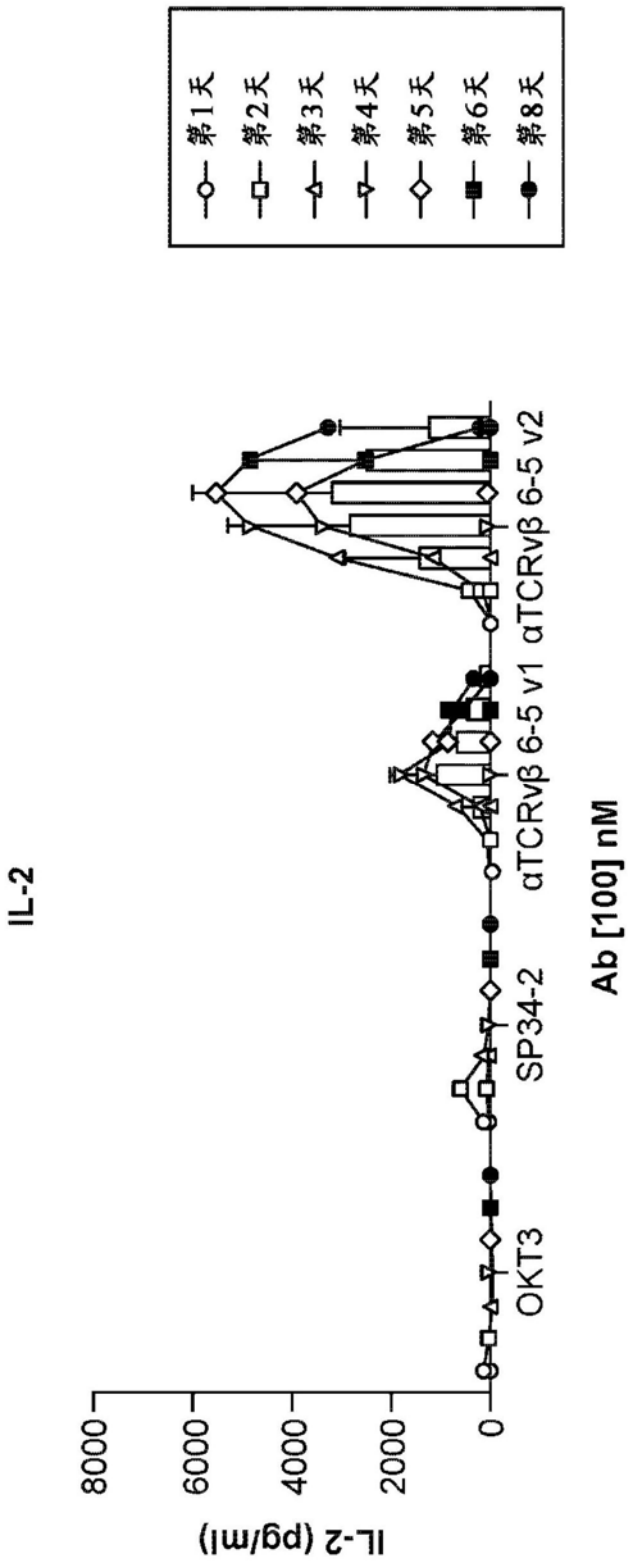

第1天
第2天
第3天
第4天
第5天
第6天
第8天
IL-2
IL-2 (pg/ml)
8000
6000
4000
2000
0
OKT3
SP34-2
αTCRvβ 6-5 v1
αTCRvβ 6-5 v2
Ab [100] nM

图84G

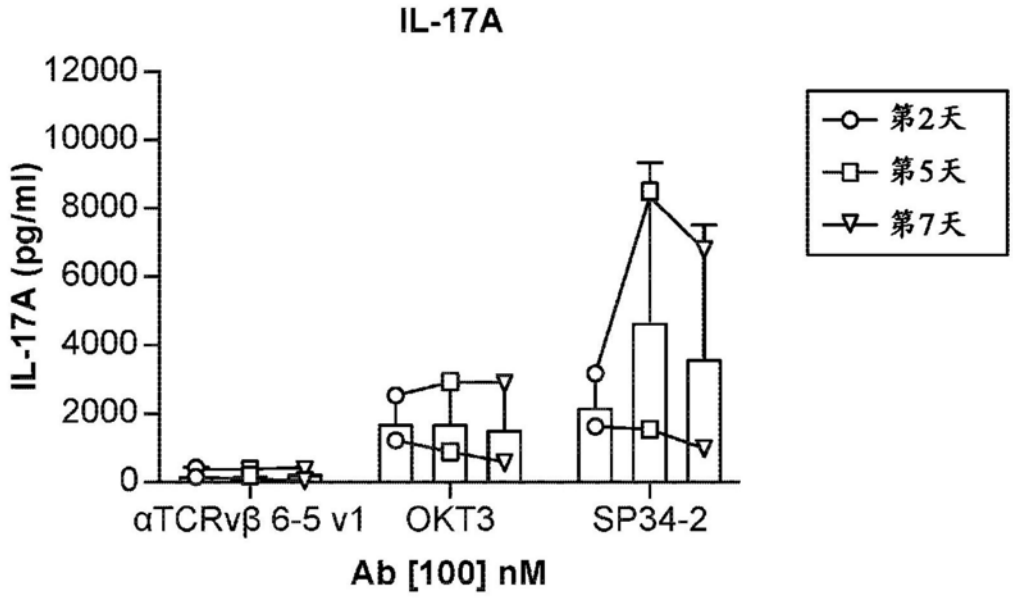

IL-17A
12000
10000
8000
6000
4000
2000
0
IL-17A (pg/ml)
第2天
第5天
第7天
αTCRvβ 6-5 v1
OKT3
SP34-2
Ab [100] nM

图85A

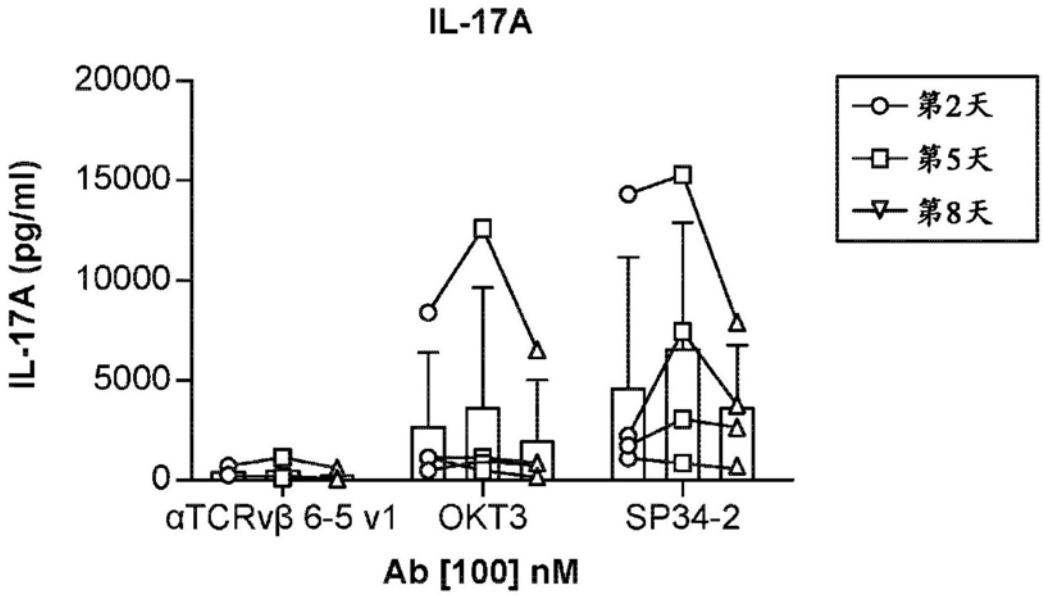

IL-17A
20000
15000
10000
5000
0
IL-17A (pg/ml)
第2天
第5天
第8天
αTCRvβ 6-5 v1
OKT3
SP34-2
Ab [100] nM

图85B

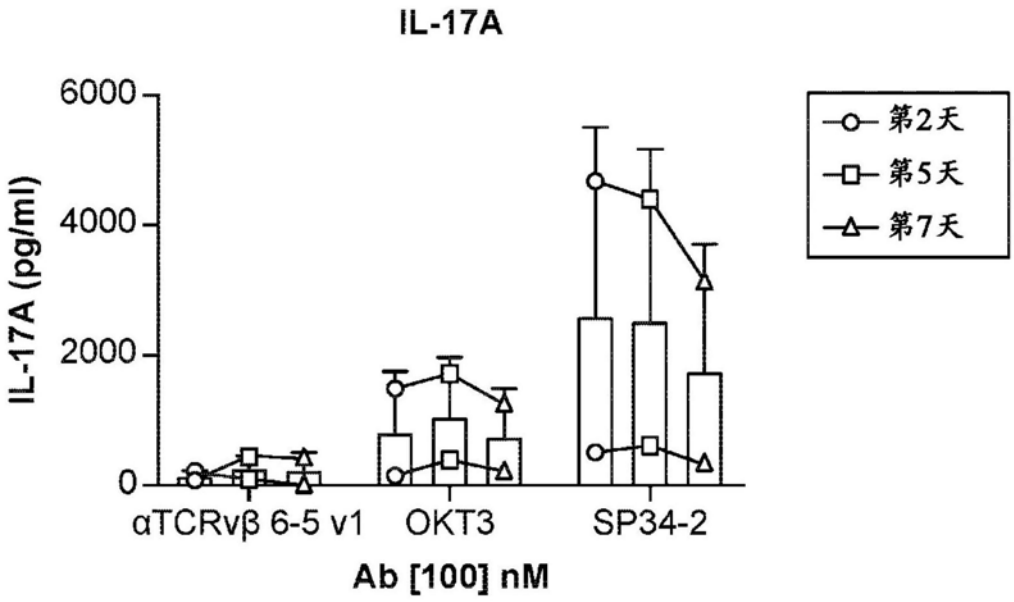

IL-17A
6000
4000
2000
0
IL-17A (pg/ml)
αTCRvβ 6-5 v1
OKT3
SP34-2
Ab [100] nM
第2天
第5天
第7天

图85C

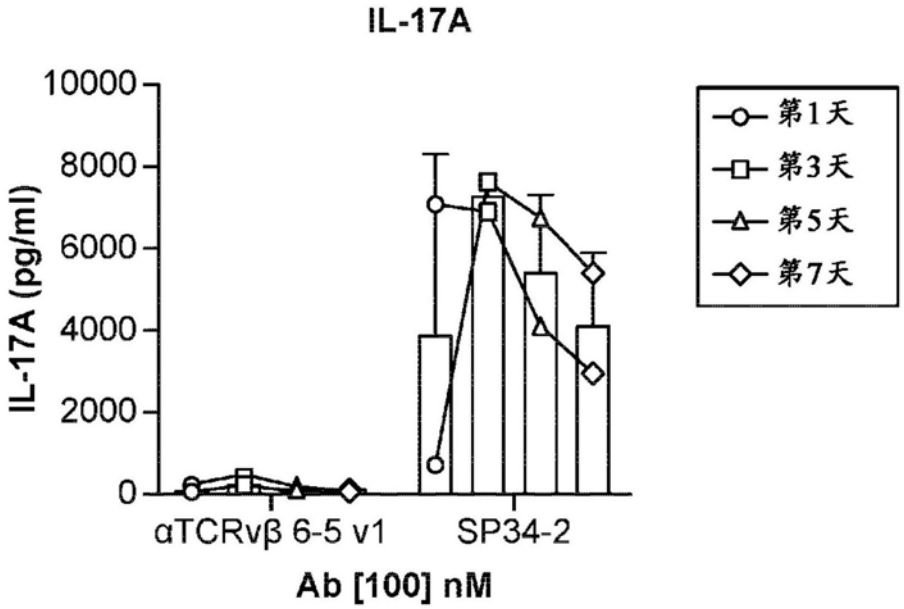

IL-17A
10000
8000
6000
4000
2000
0
IL-17A (pg/ml)
αTCRvβ 6-5 v1
SP34-2
Ab [100] nM
第1天
第3天
第5天
第7天

图85D

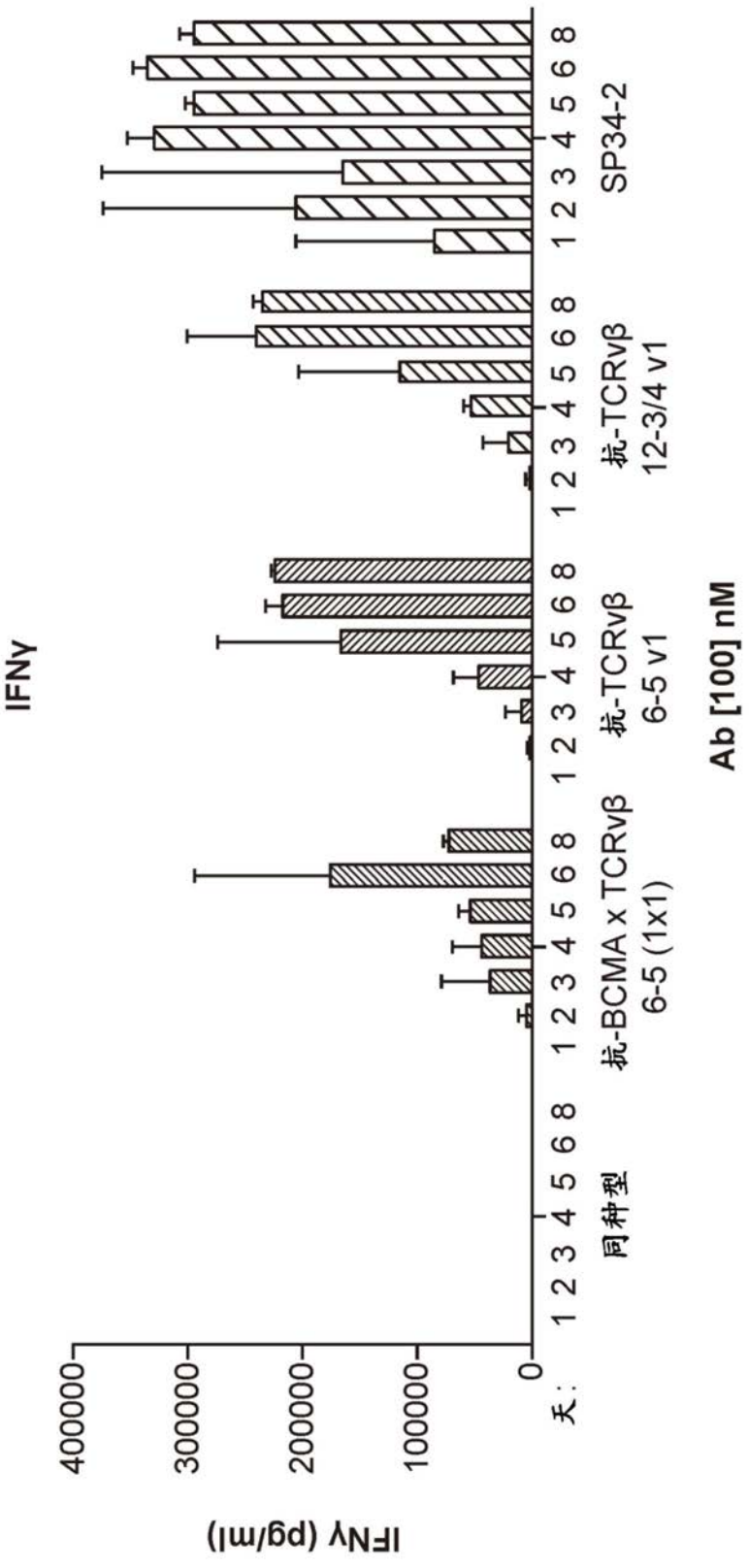

IFNγ
IFNγ (pg/ml)
400000
300000
200000
100000
0
天：
同种型
抗-BCMA x TCRvβ
6-5 (1x1)
抗-TCRvβ
6-5 v1
抗-TCRvβ
12-3/4 v1
SP34-2
Ab [100] nM
1 2 3 4 5 6 8

图86A

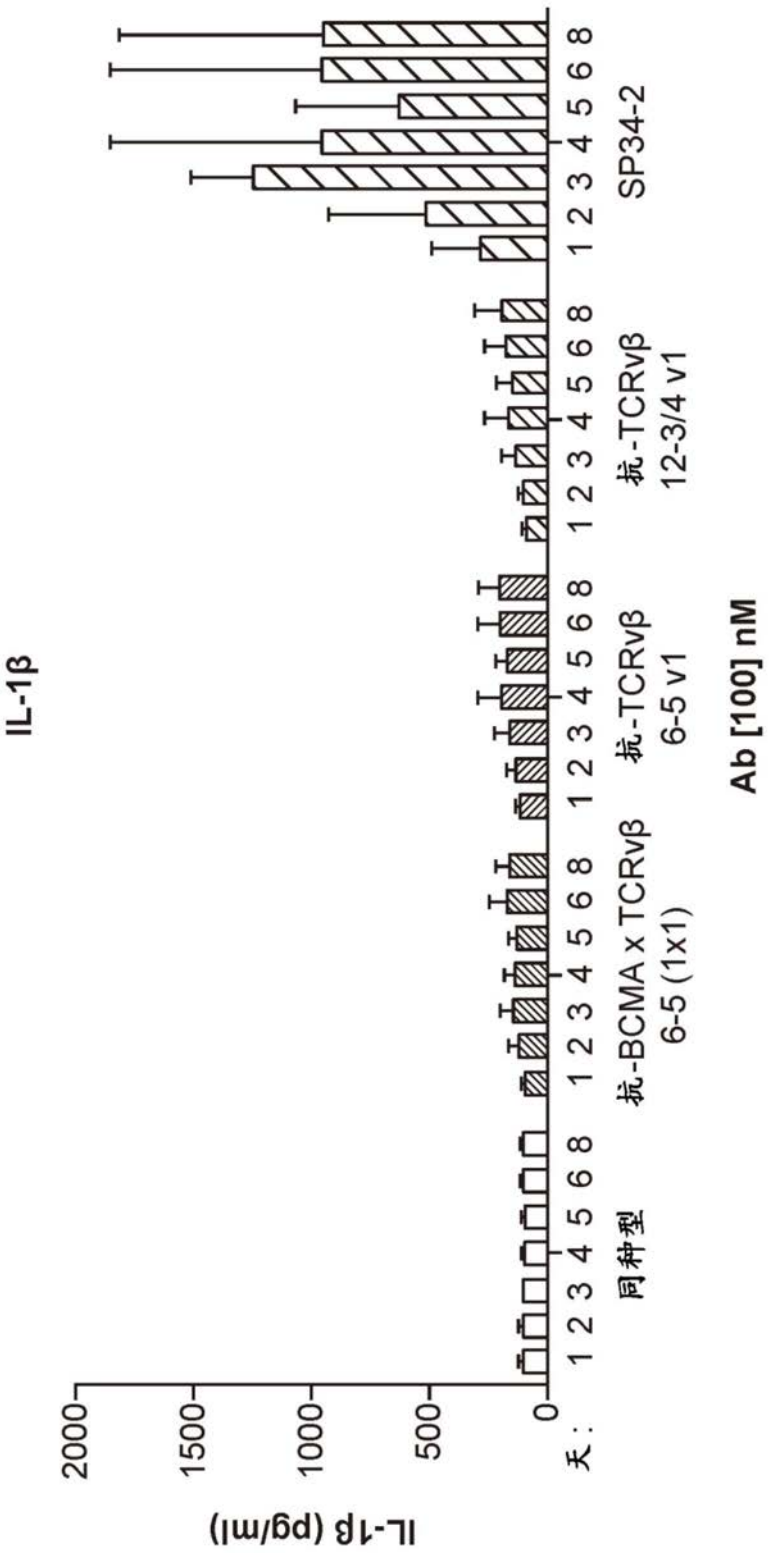

IL-1β
IL-1β (pg/ml)
2000
1500
1000
500
0
天：
1 2 3 4 5 6 8
同种型
抗-BCMA x TCRvβ
6-5 (1x1)
抗-TCRvβ
6-5 v1
抗-TCRvβ
12-3/4 v1
SP34-2
Ab [100] nM

图86B

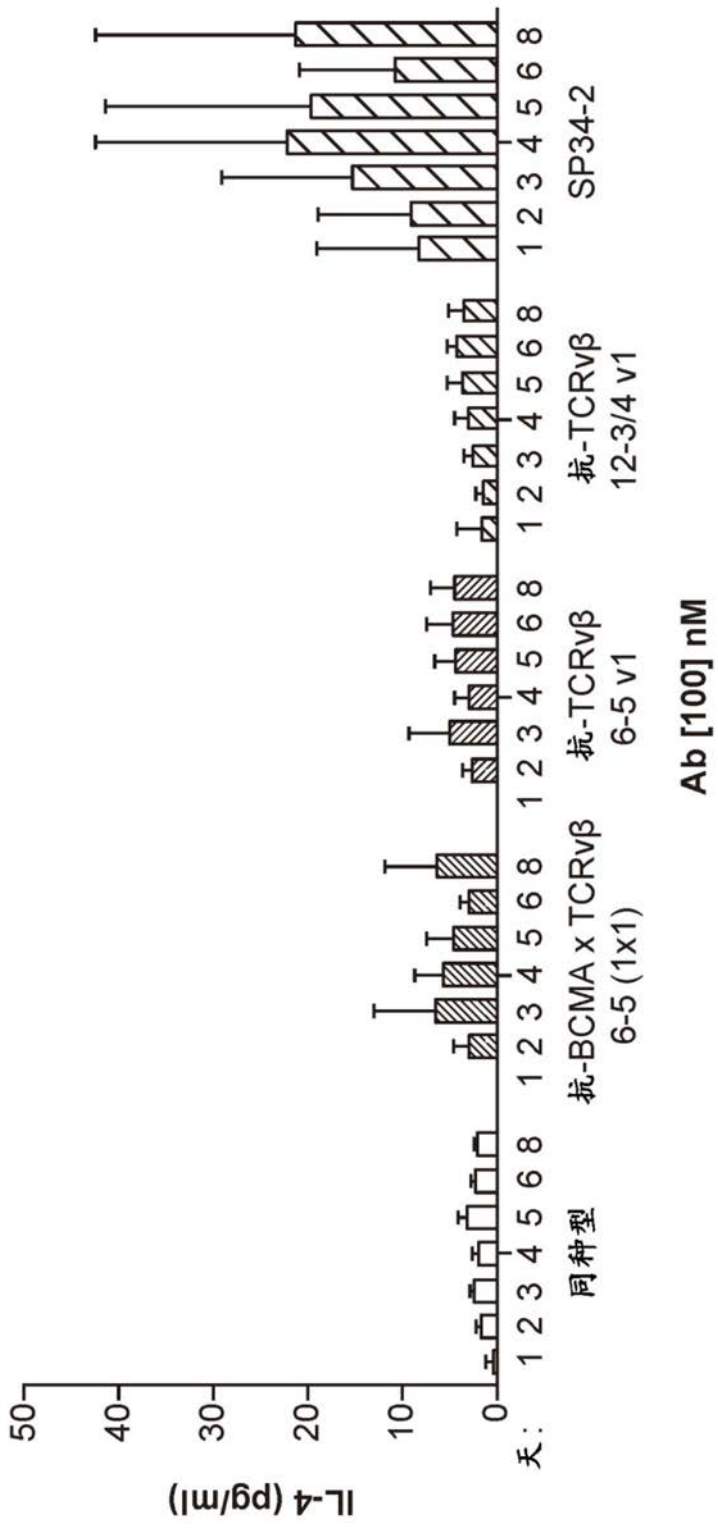

IL-4
IL-4 (pg/ml)
50
40
30
20
10
0
天:
1 2 3 4 5 6 8 1 2 3 4 5 6 8 1 2 3 4 5 6 8 1 2 3 4 5 6 8
同种型
抗-BCMA x TCRvβ
6-5 (1x1)
抗-TCRvβ
6-5 v1
抗-TCRvβ
12-3/4 v1
SP34-2
Ab [100] nM

图86C

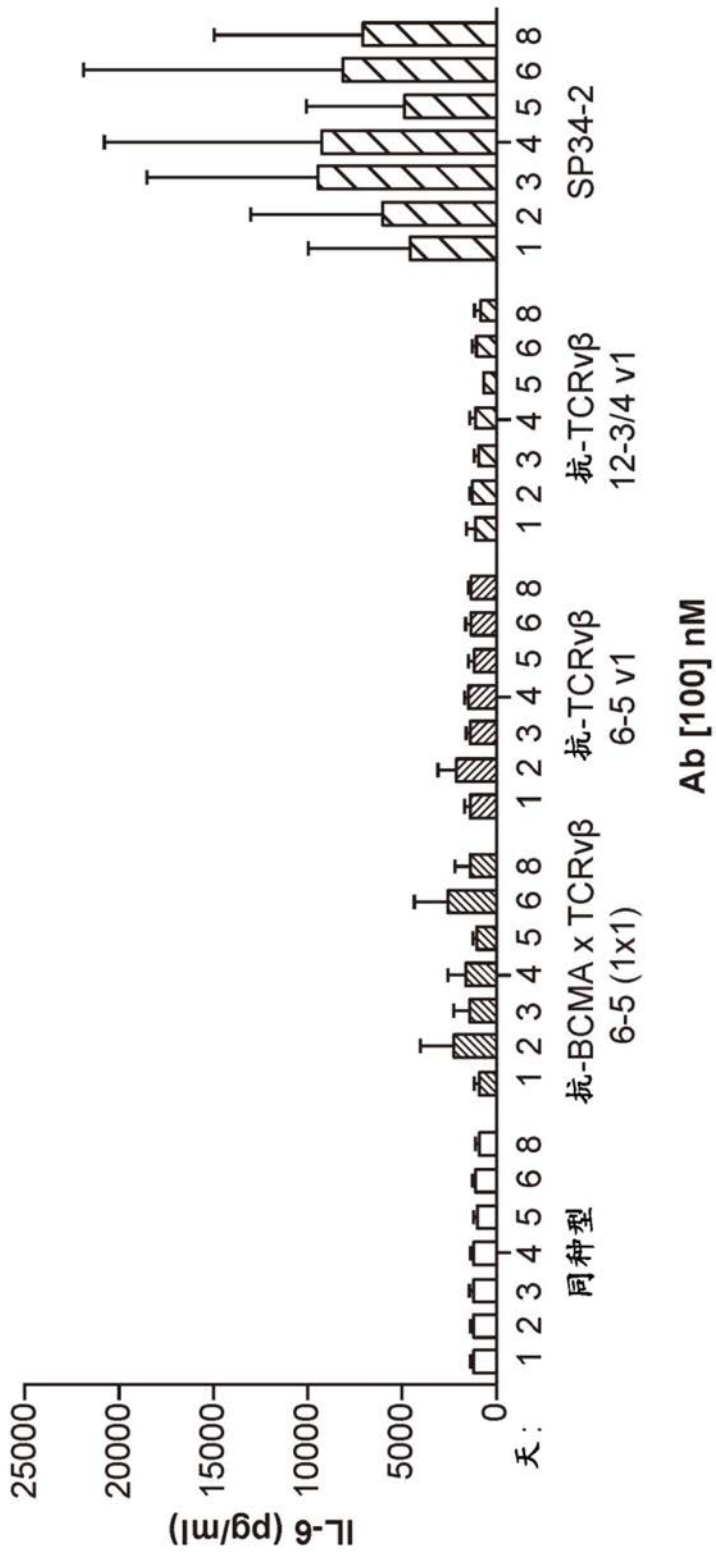

IL-6
IL-6 (pg/ml)
25000
20000
15000
10000
5000
0
天:
同种型
抗-BCMA x TCRvβ 6-5 (1x1)
抗-TCRvβ 6-5 v1
抗-TCRvβ 12-3/4 v1
SP34-2
Ab [100] nM

图86D

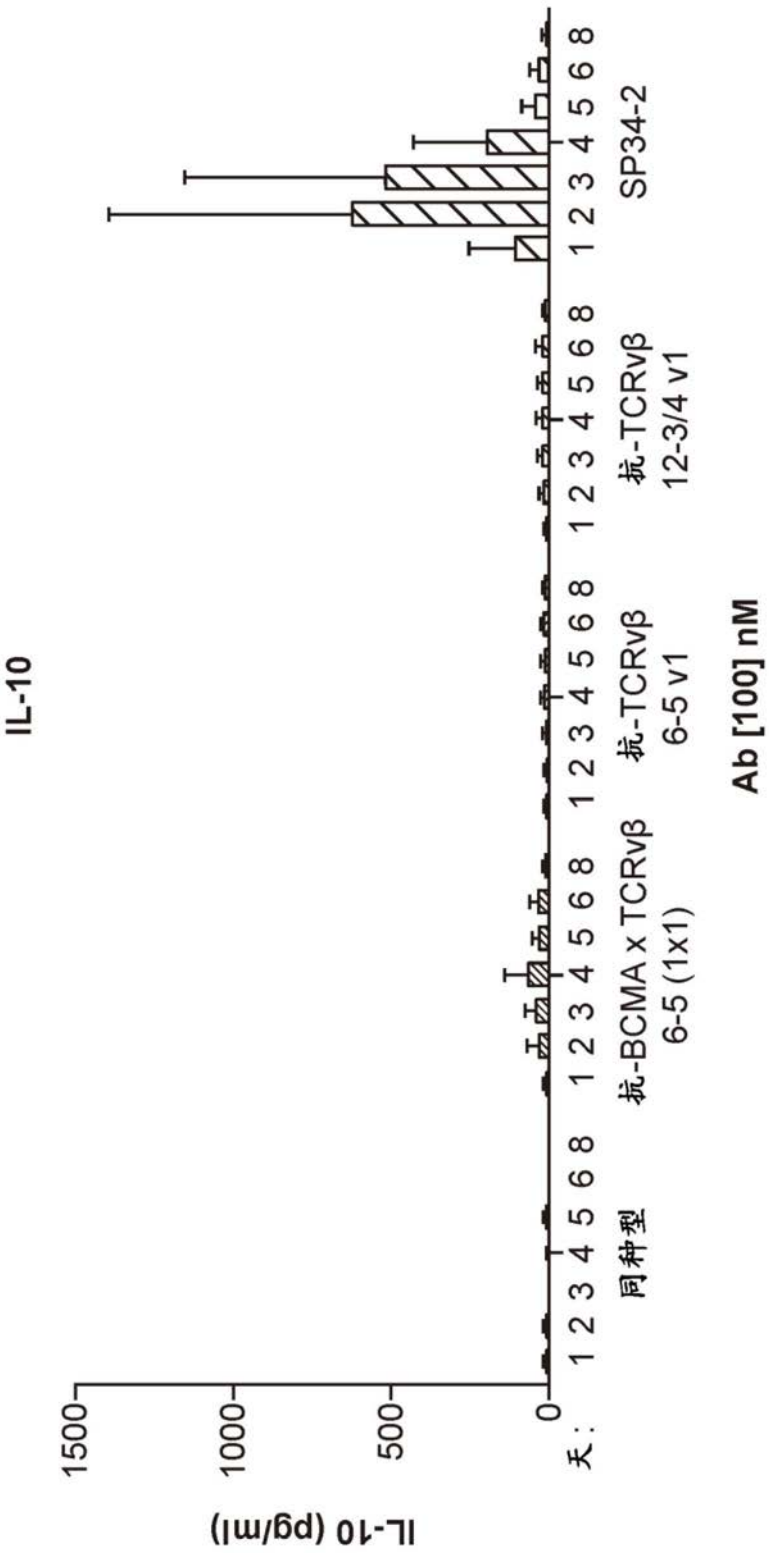

IL-10
IL-10 (pg/ml)
1500
1000
500
0
天：
同种型
抗-BCMA x TCRvβ
6-5 (1x1)
抗-TCRvβ
6-5 v1
抗-TCRvβ
12-3/4 v1
SP34-2
Ab [100] nM

图86E

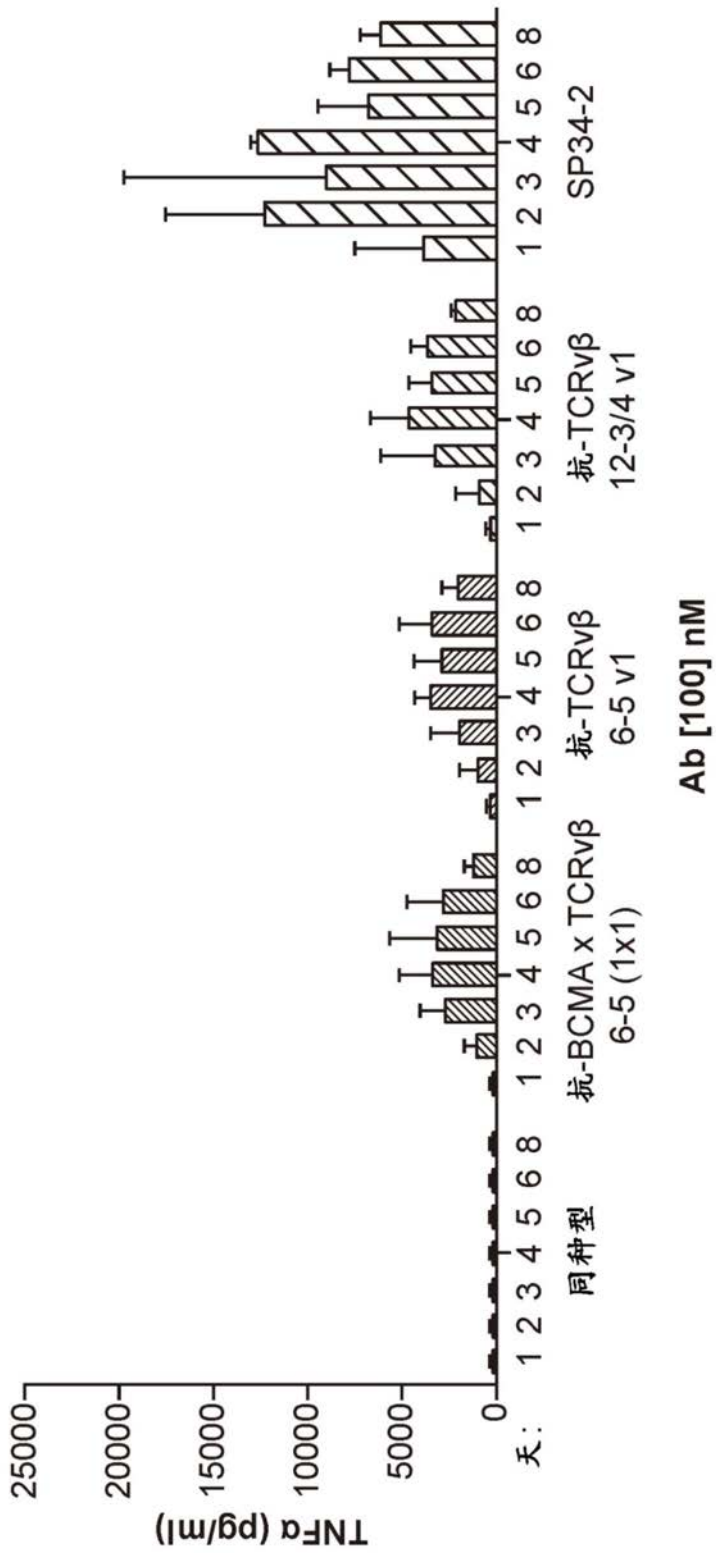

TNFα
TNFα (pg/ml)
25000
20000
15000
10000
5000
0
天:
1 2 3 4 5 6 8
同种型
抗-BCMA x TCRvβ
6-5 (1x1)
1 2 3 4 5 6 8
抗-TCRvβ
6-5 v1
1 2 3 4 5 6 8
抗-TCRvβ
12-3/4 v1
1 2 3 4 5 6 8
SP34-2
Ab [100] nM

图86F

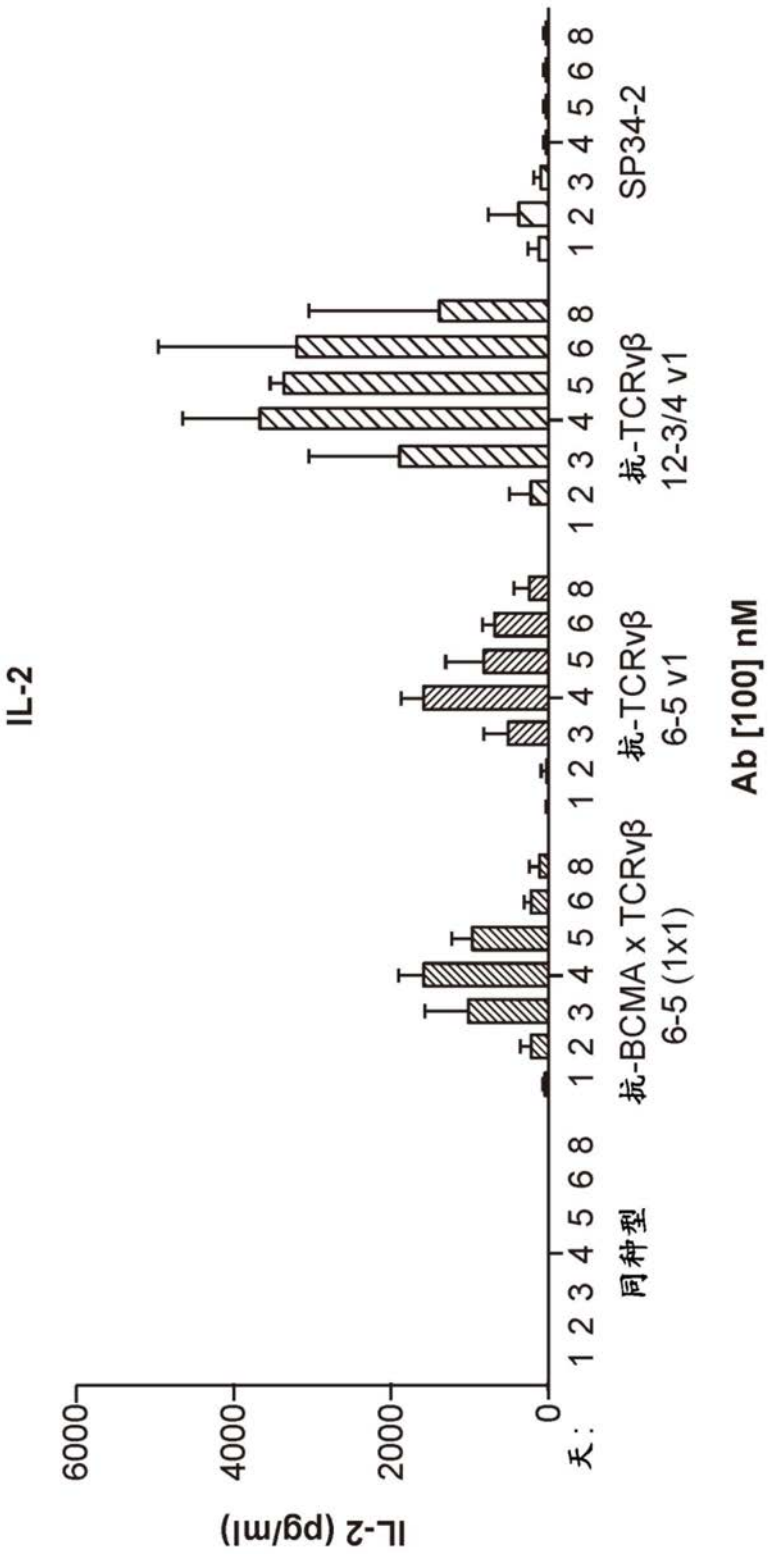

IL-2
IL-2 (pg/ml)
6000
4000
2000
0
天：
同种型
抗-BCMA x TCRvβ 6-5 (1x1)
抗-TCRvβ 6-5 v1
抗-TCRvβ 12-3/4 v1
SP34-2
Ab [100] nM
1 2 3 4 5 6 8

图86G

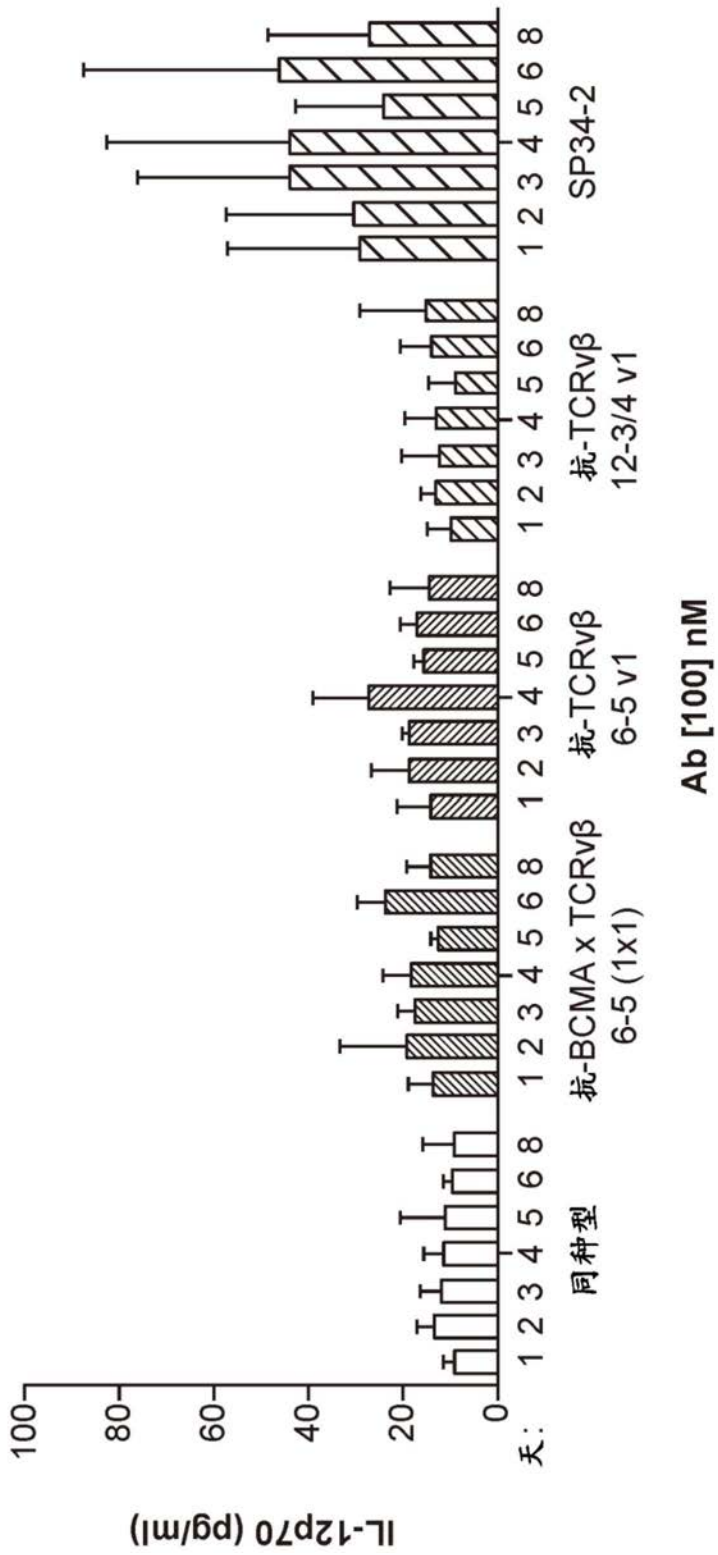

IL-12p70
IL-12p70 (pg/ml)
100
80
60
40
20
0
天:
1 2 3 4 5 6 8 1 2 3 4 5 6 8 1 2 3 4 5 6 8 1 2 3 4 5 6 8
同种型
抗-BCMA x TCRvβ
6-5 (1x1)
抗-TCRvβ
6-5 v1
抗-TCRvβ
12-3/4 v1
SP34-2
Ab [100] nM

图86H

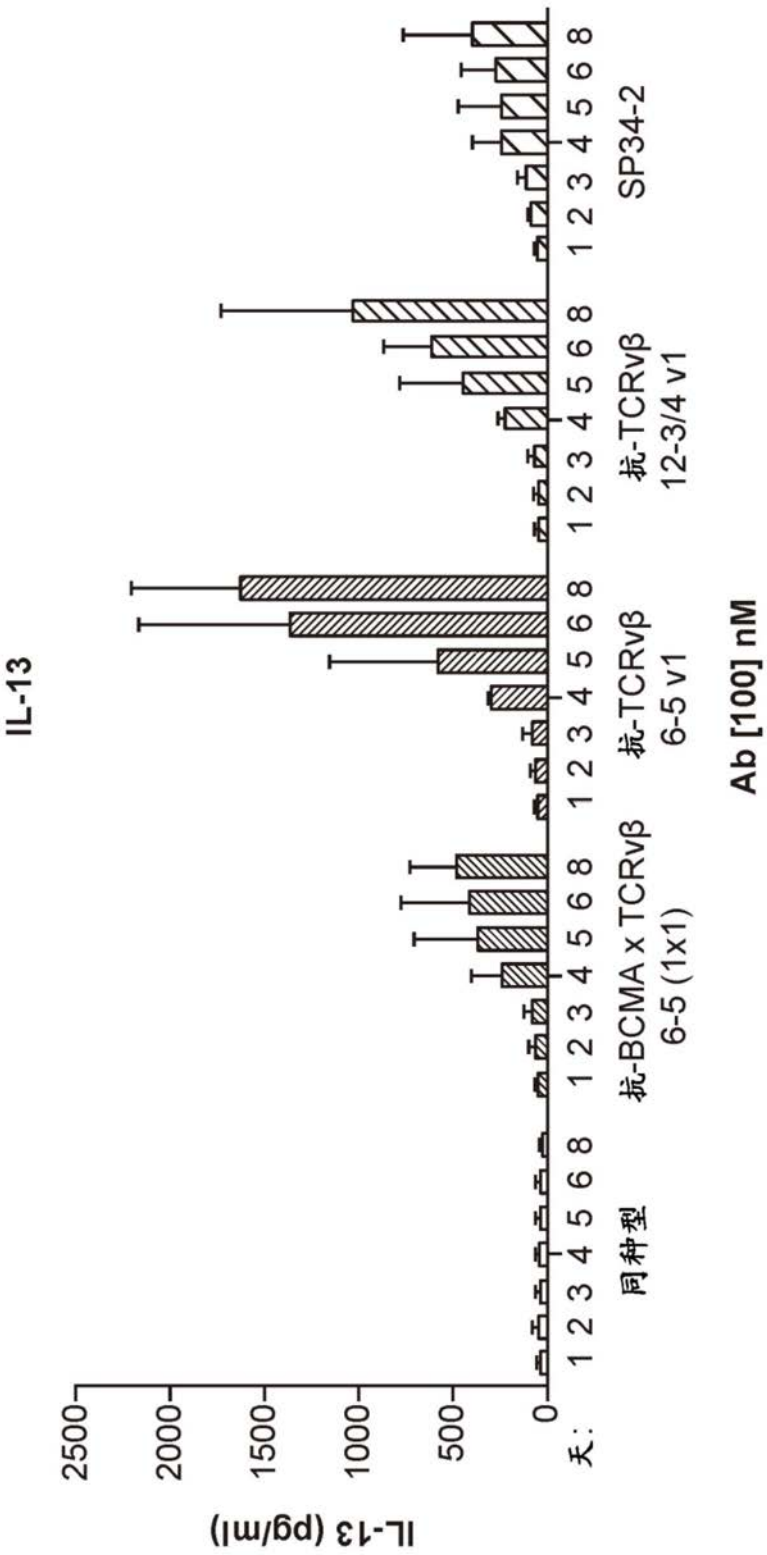

IL-13
IL-13 (pg/ml)
2500
2000
1500
1000
500
0
天:
1 2 3 4 5 6 8
同种型
抗-BCMA x TCRvβ
6-5 (1x1)
抗-TCRvβ
6-5 v1
抗-TCRvβ
12-3/4 v1
SP34-2
Ab [100] nM

图86I

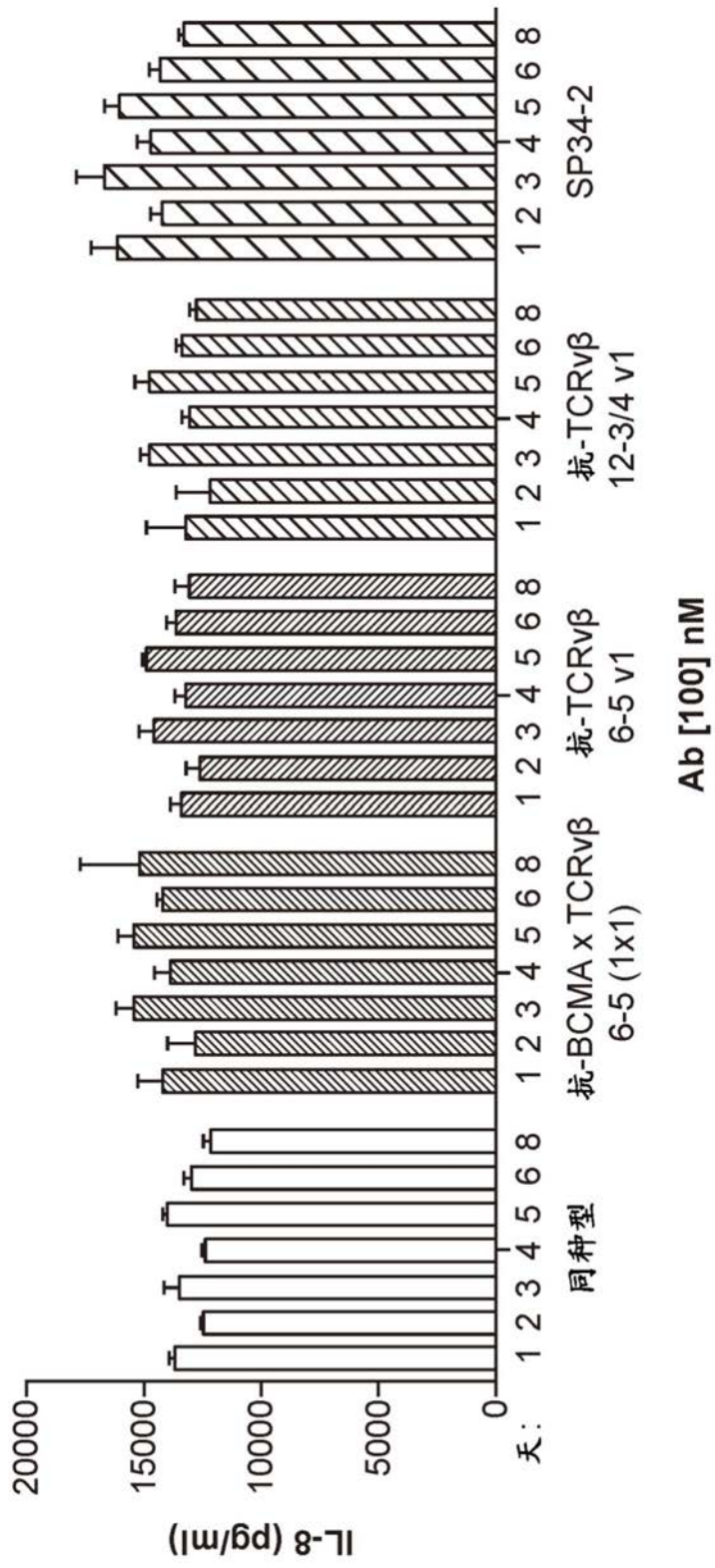

IL-8
IL-8 (pg/ml)
20000
15000
10000
5000
0
天:
1 2 3 4 5 6 8
同种型
抗-BCMA x TCRvβ
6-5 (1x1)
抗-TCRvβ
6-5 v1
抗-TCRvβ
12-3/4 v1
SP34-2
Ab [100] nM

图86J

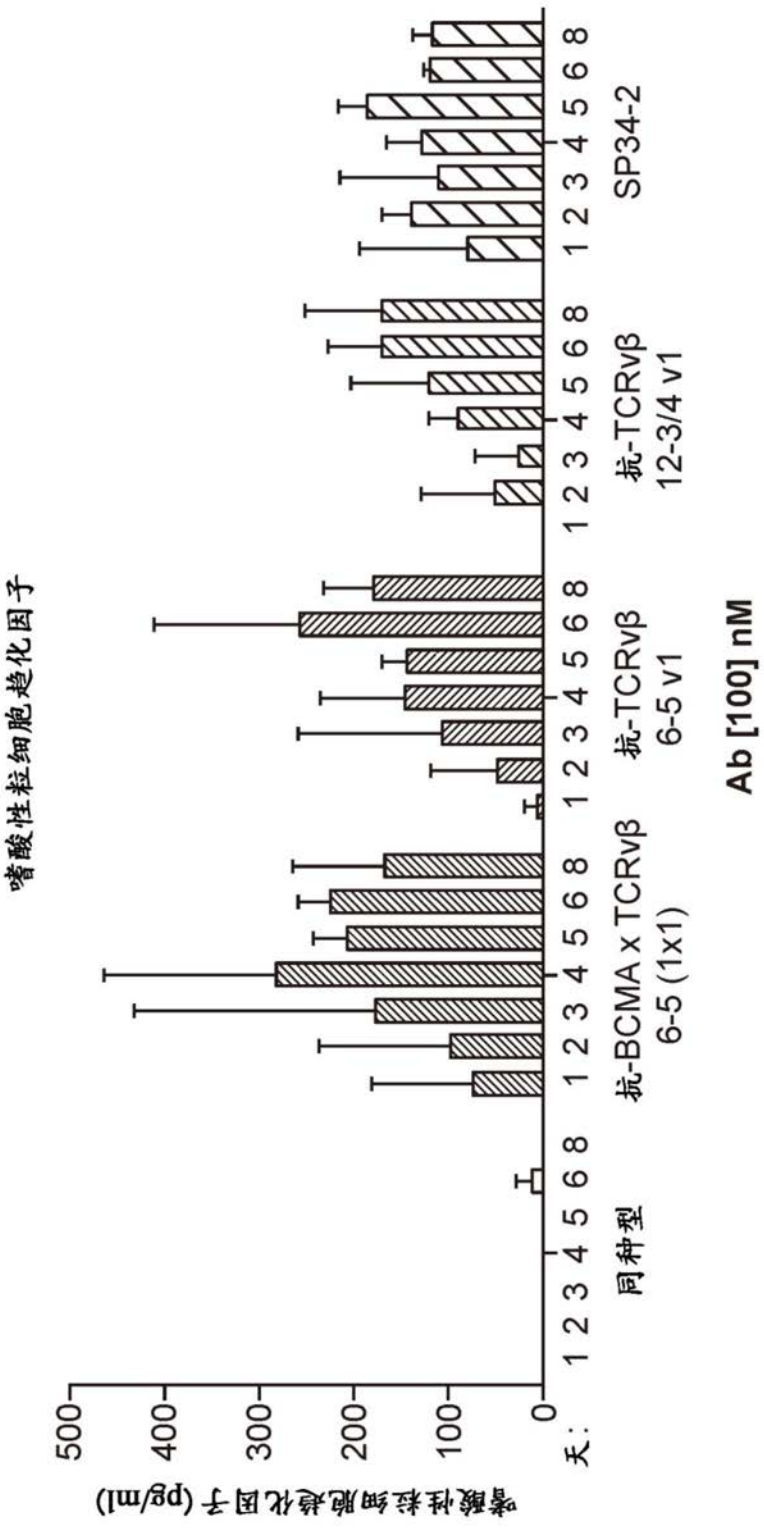

嗜酸性粒细胞趋化因子
嗜酸性粒细胞趋化因子 (pg/ml)
500
400
300
200
100
0
天:
1 2 3 4 5 6 8
同种型
抗-BCMA x TCRvβ
6-5 (1x1)
抗-TCRvβ
6-5 v1
抗-TCRvβ
12-3/4 v1
SP34-2
Ab [100] nM

图86K

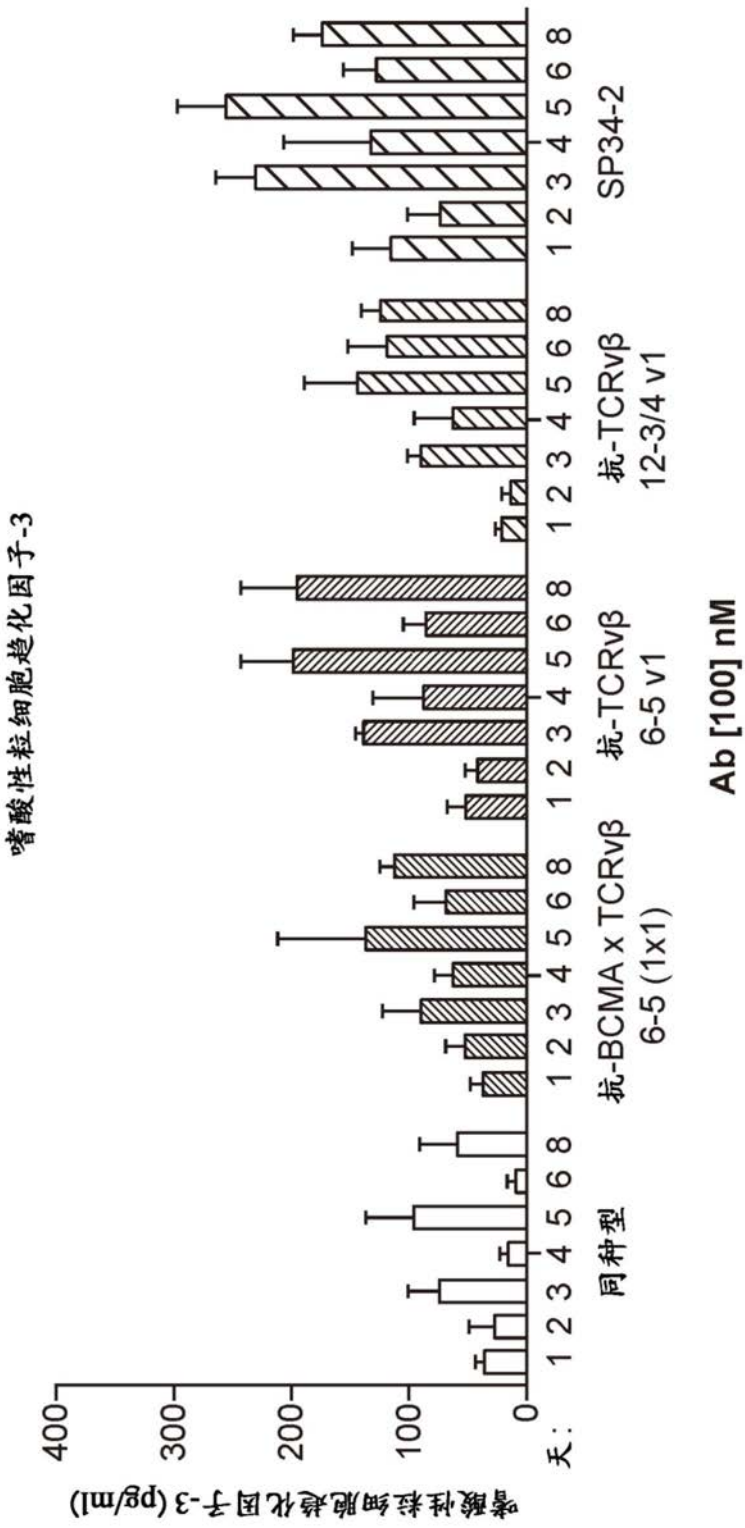

嗜酸性粒细胞趋化因子-3
嗜酸性粒细胞趋化因子-3 (pg/ml)
400
300
200
100
0
天:
1 2 3 4 5 6 8 1 2 3 4 5 6 8 1 2 3 4 5 6 8 1 2 3 4 5 6 8 1 2 3 4 5 6 8
同种型
抗-BCMA x TCRvβ
6-5 (1x1)
抗-TCRvβ
6-5 v1
抗-TCRvβ
12-3/4 v1
SP34-2
Ab [100] nM

图86L

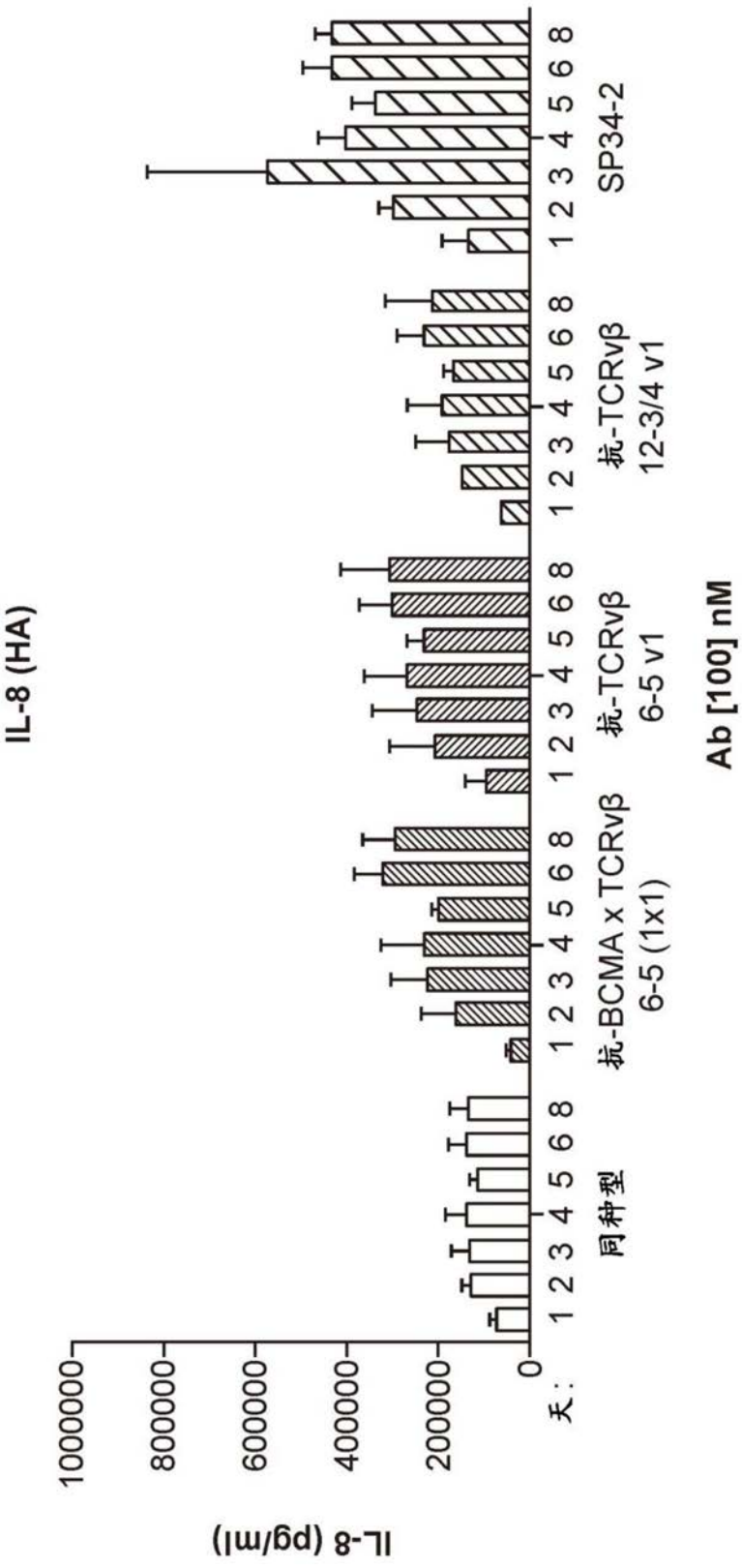

IL-8 (HA)
IL-8 (pg/ml)
1000000
800000
600000
400000
200000
0
天：
1 2 3 4 5 6 8
同种型
抗-BCMA x TCRvβ
6-5 (1x1)
抗-TCRvβ
6-5 v1
抗-TCRvβ
12-3/4 v1
SP34-2
Ab [100] nM

图86M

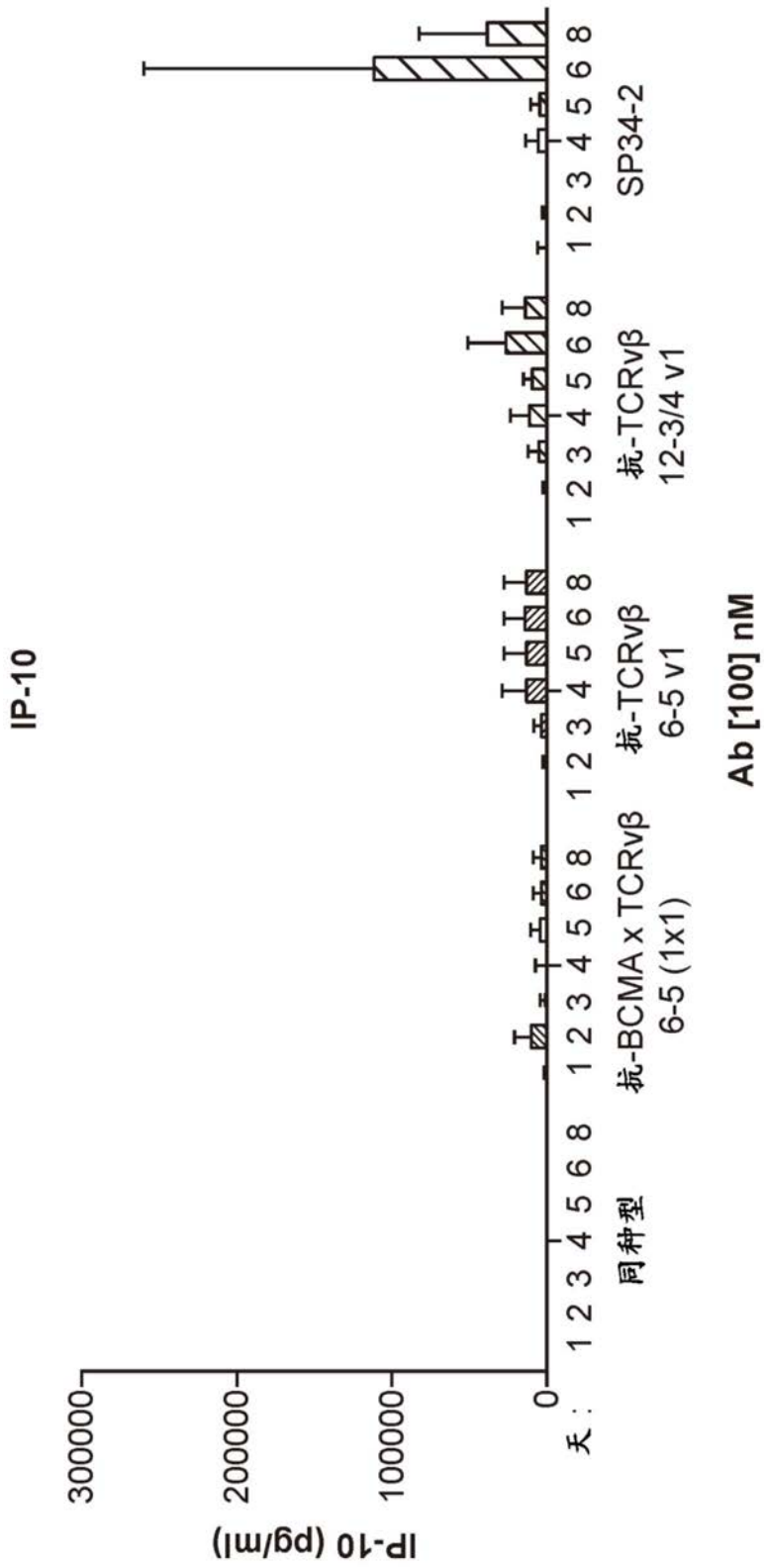

IP-10
IP-10 (pg/ml)
300000
200000
100000
0
天：
1 2 3 4 5 6 8
同种型
抗-BCMA x TCRvβ
6-5 (1x1)
抗-TCRvβ
6-5 v1
抗-TCRvβ
12-3/4 v1
SP34-2
Ab [100] nM

图86N

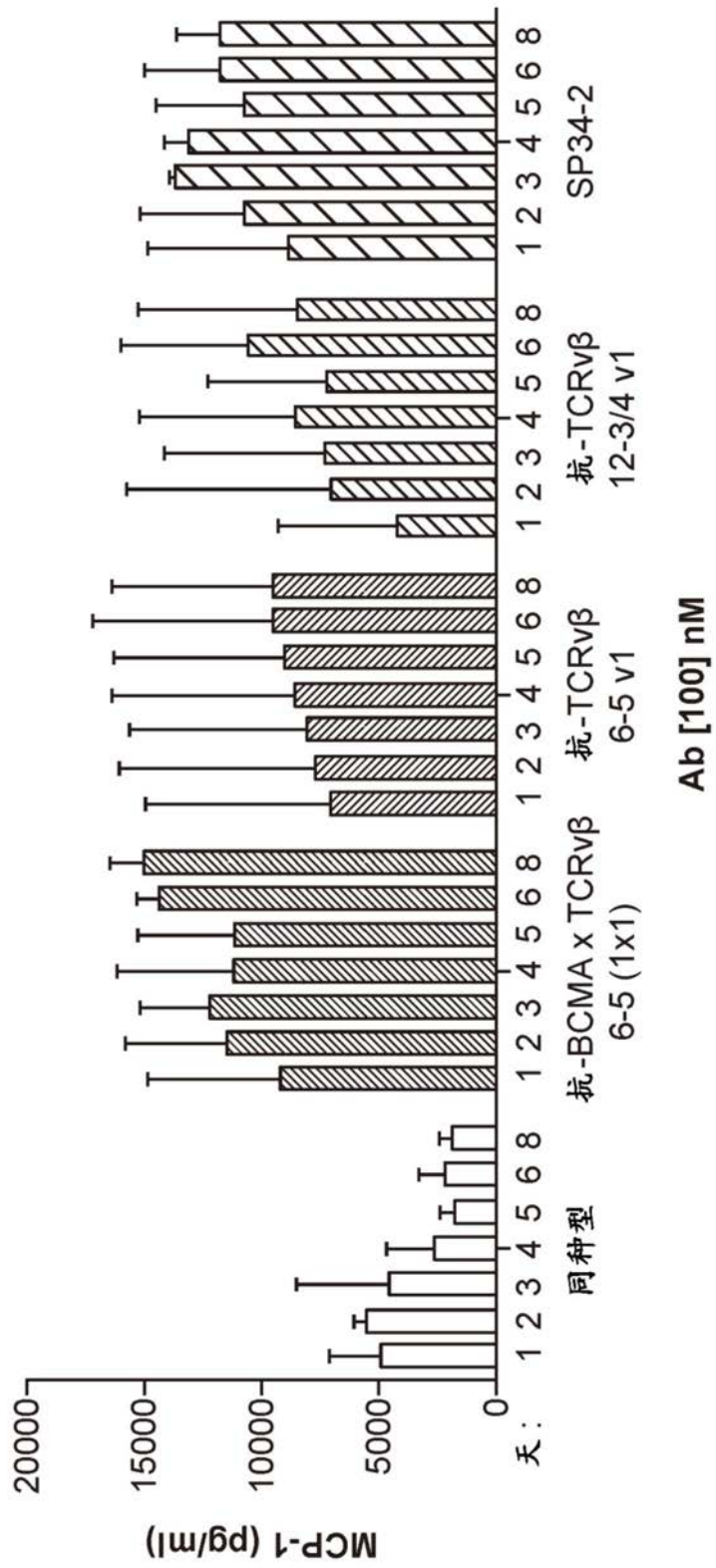

MCP-1
MCP-1 (pg/ml)
20000
15000
10000
5000
0
天：
1 2 3 4 5 6 8 1 2 3 4 5 6 8 1 2 3 4 5 6 8 1 2 3 4 5 6 8
同种型
抗-BCMA x TCRvβ 6-5 (1x1)
抗-TCRvβ 6-5 v1
抗-TCRvβ 12-3/4 v1
SP34-2
Ab [100] nM

图860

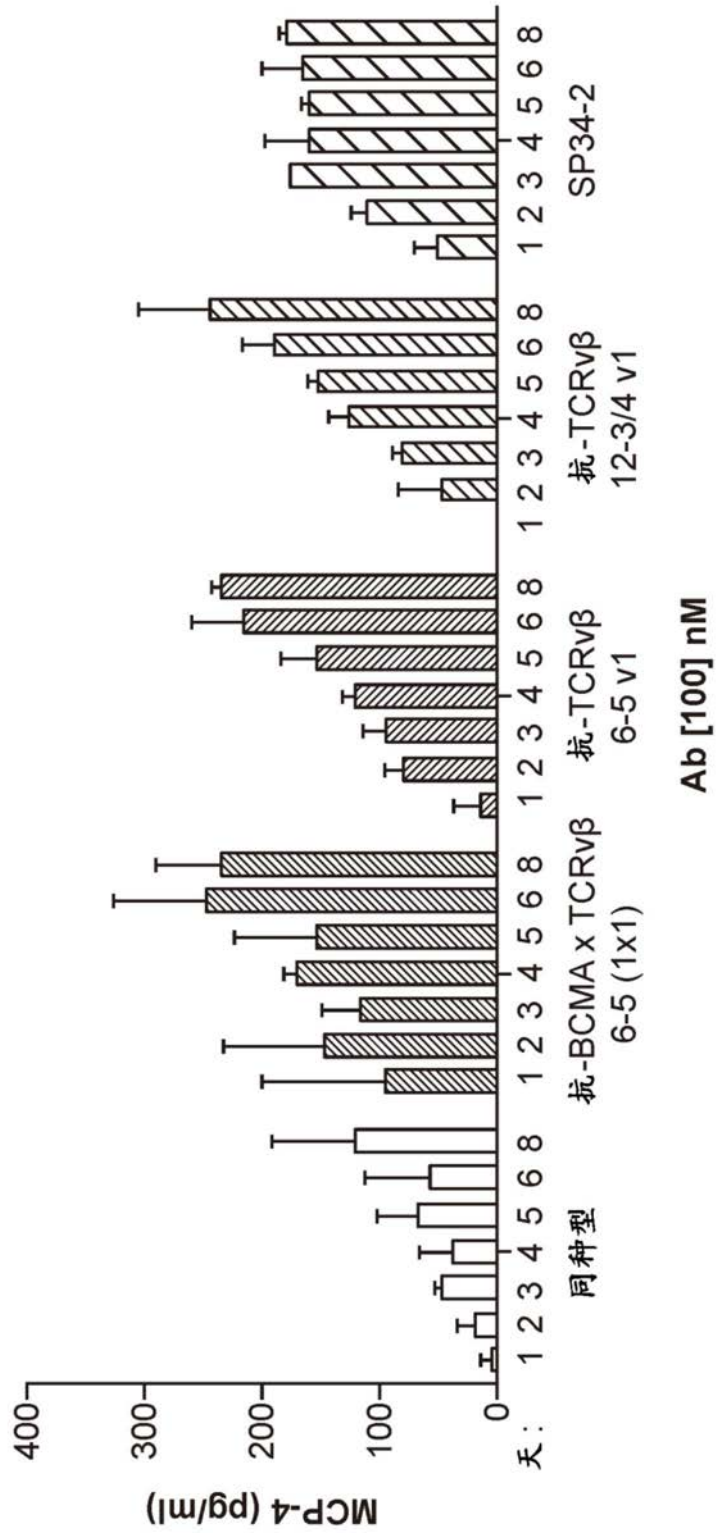

MCP-4
MCP-4 (pg/ml)
400
300
200
100
0
天：
1 2 3 4 5 6 8
同种型
抗-BCMA x TCRvβ
6-5 (1x1)
抗-TCRvβ
6-5 v1
抗-TCRvβ
12-3/4 v1
SP34-2
Ab [100] nM

图86P

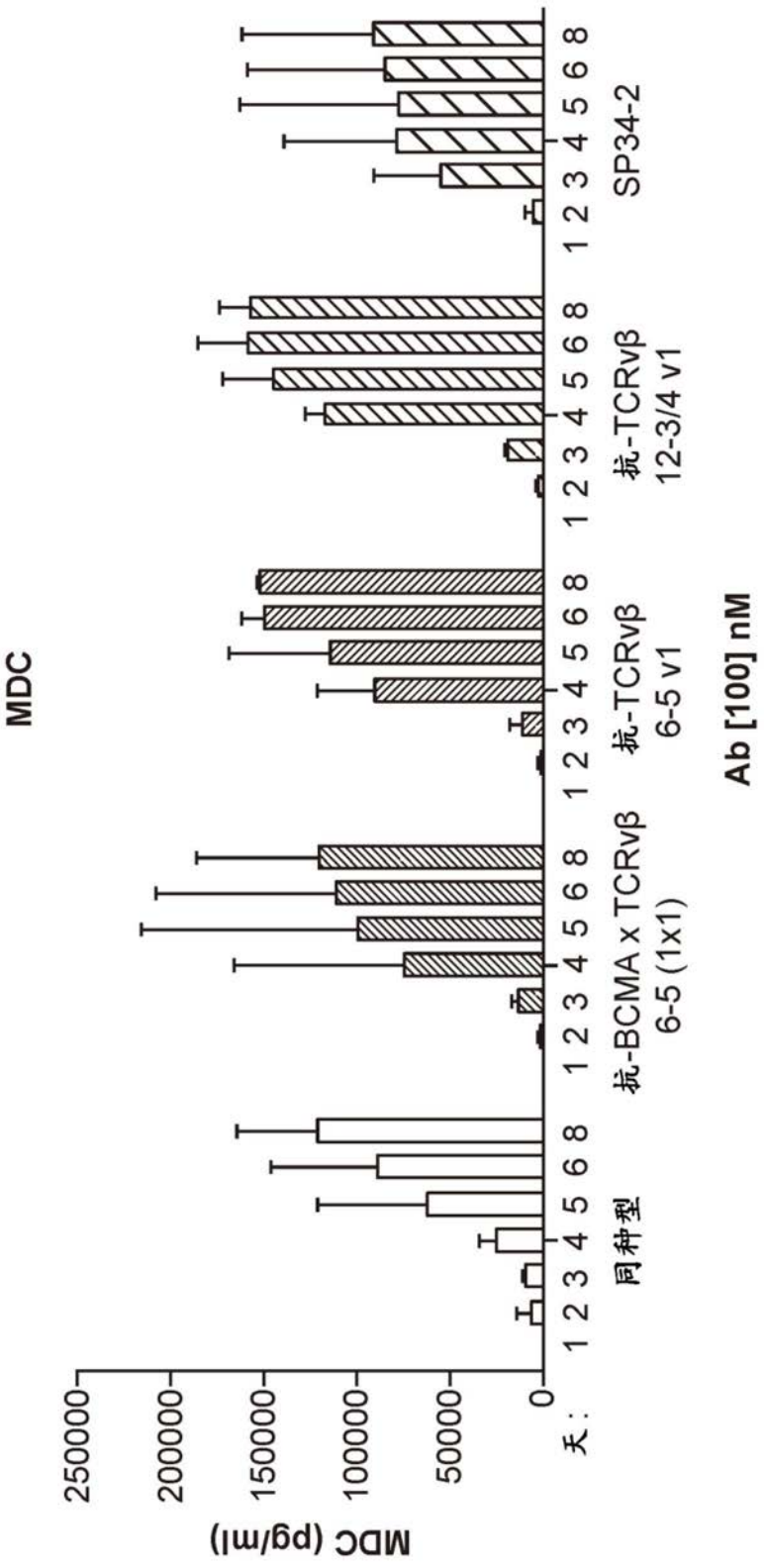

MDC
MDC (pg/ml)
250000
200000
150000
100000
50000
0
天：
1 2 3 4 5 6 8
同种型
抗-BCMA x TCRvβ
6-5 (1x1)
抗-TCRvβ
6-5 v1
抗-TCRvβ
12-3/4 v1
SP34-2
Ab [100] nM

图86Q

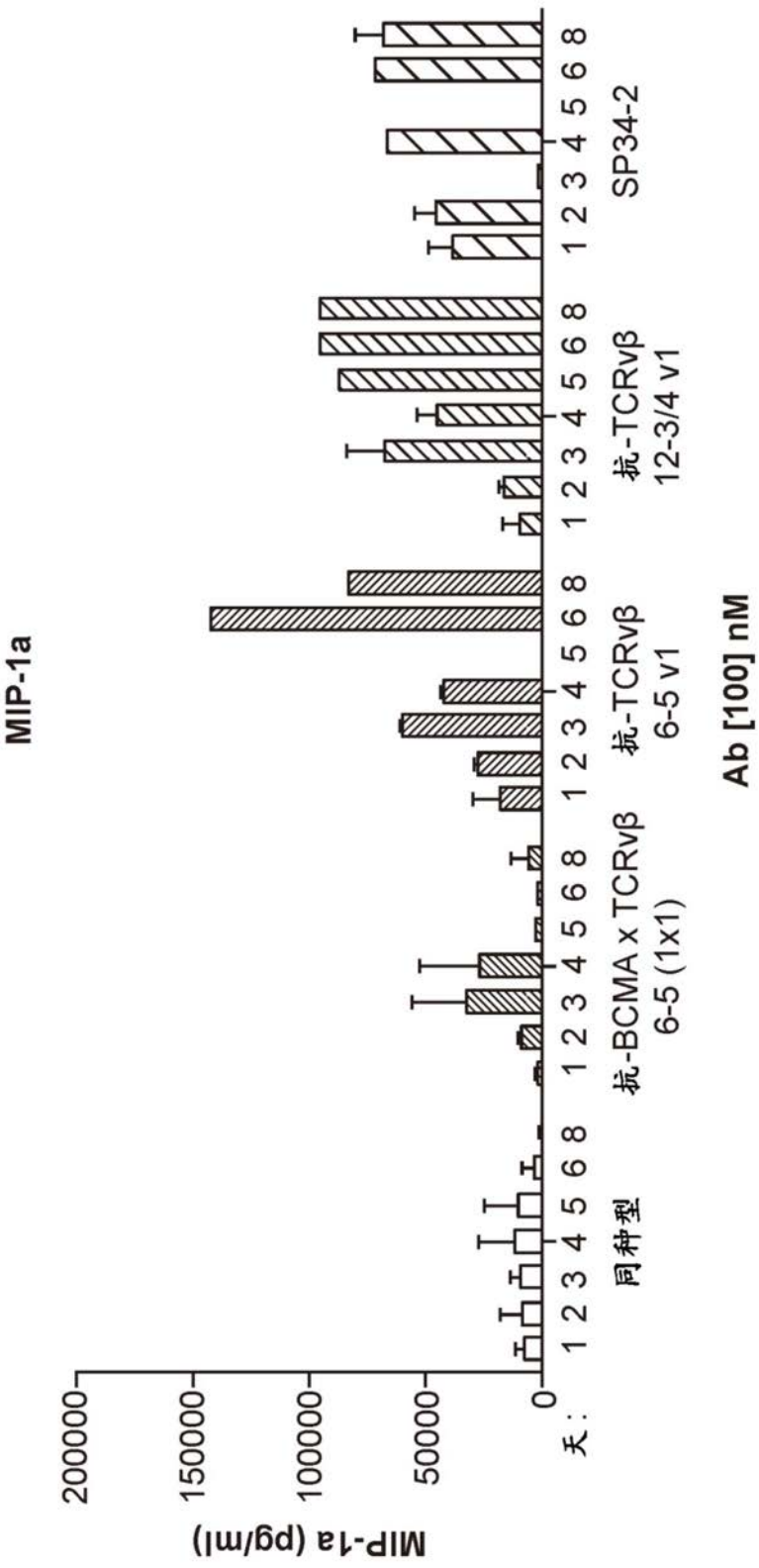

MIP-1a
MIP-1a (pg/ml)
200000
150000
100000
50000
0
天：
1 2 3 4 5 6 8
同种型
抗-BCMA x TCRvβ
6-5 (1x1)
抗-TCRvβ
6-5 v1
抗-TCRvβ
12-3/4 v1
SP34-2
Ab [100] nM

图86R

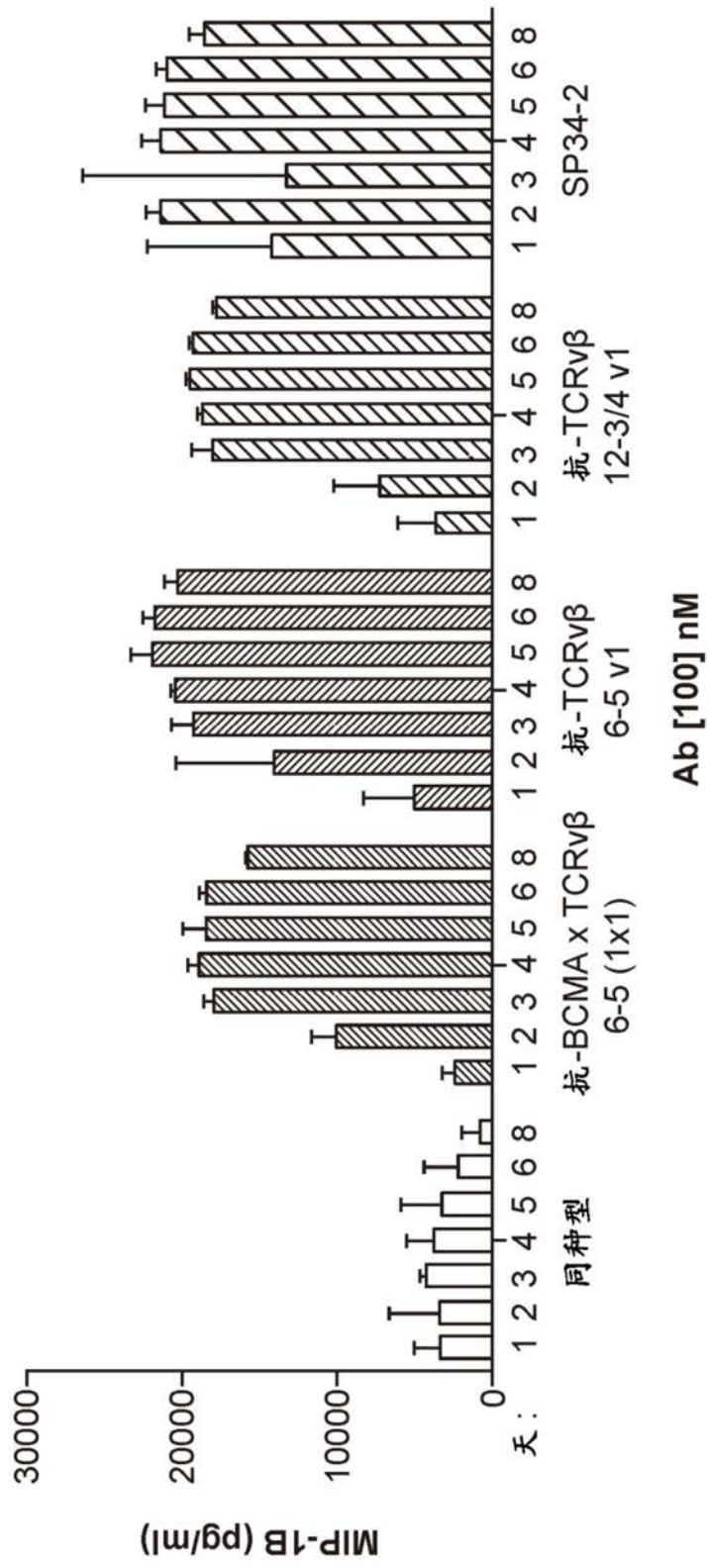

MIP-1B
MIP-1B (pg/ml)
30000
20000
10000
0
天：
1 2 3 4 5 6 8
同种型
抗-BCMA x TCRvβ
6-5 (1x1)
抗-TCRvβ
6-5 v1
抗-TCRvβ
12-3/4 v1
SP34-2
Ab [100] nM

图86S

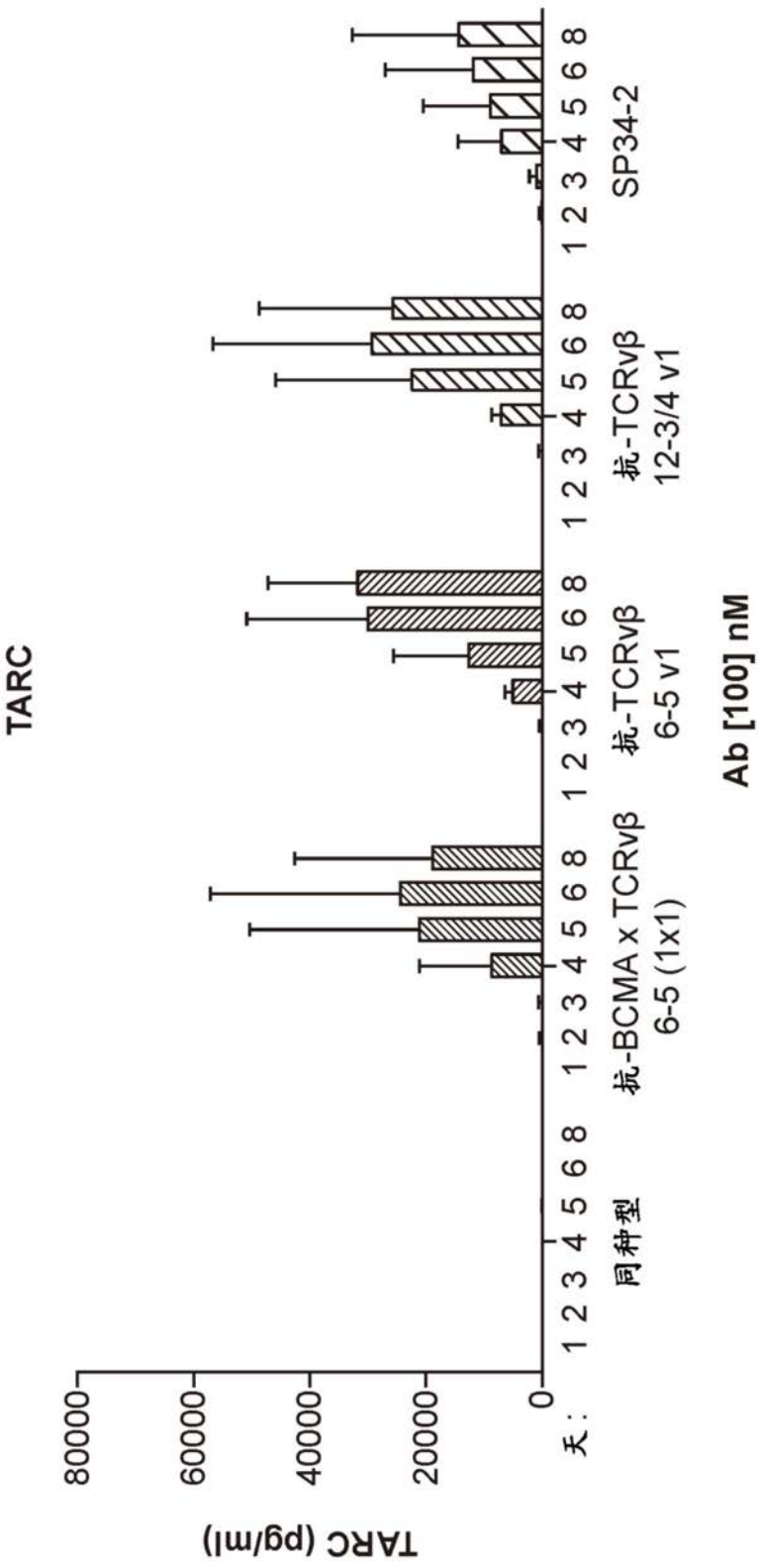

TARC
TARC (pg/ml)
80000
60000
40000
20000
0
天：
1 2 3 4 5 6 8
同种型
抗-BCMA x TCRvβ
6-5 (1x1)
抗-TCRvβ
6-5 v1
抗-TCRvβ
12-3/4 v1
SP34-2
Ab [100] nM

图86T

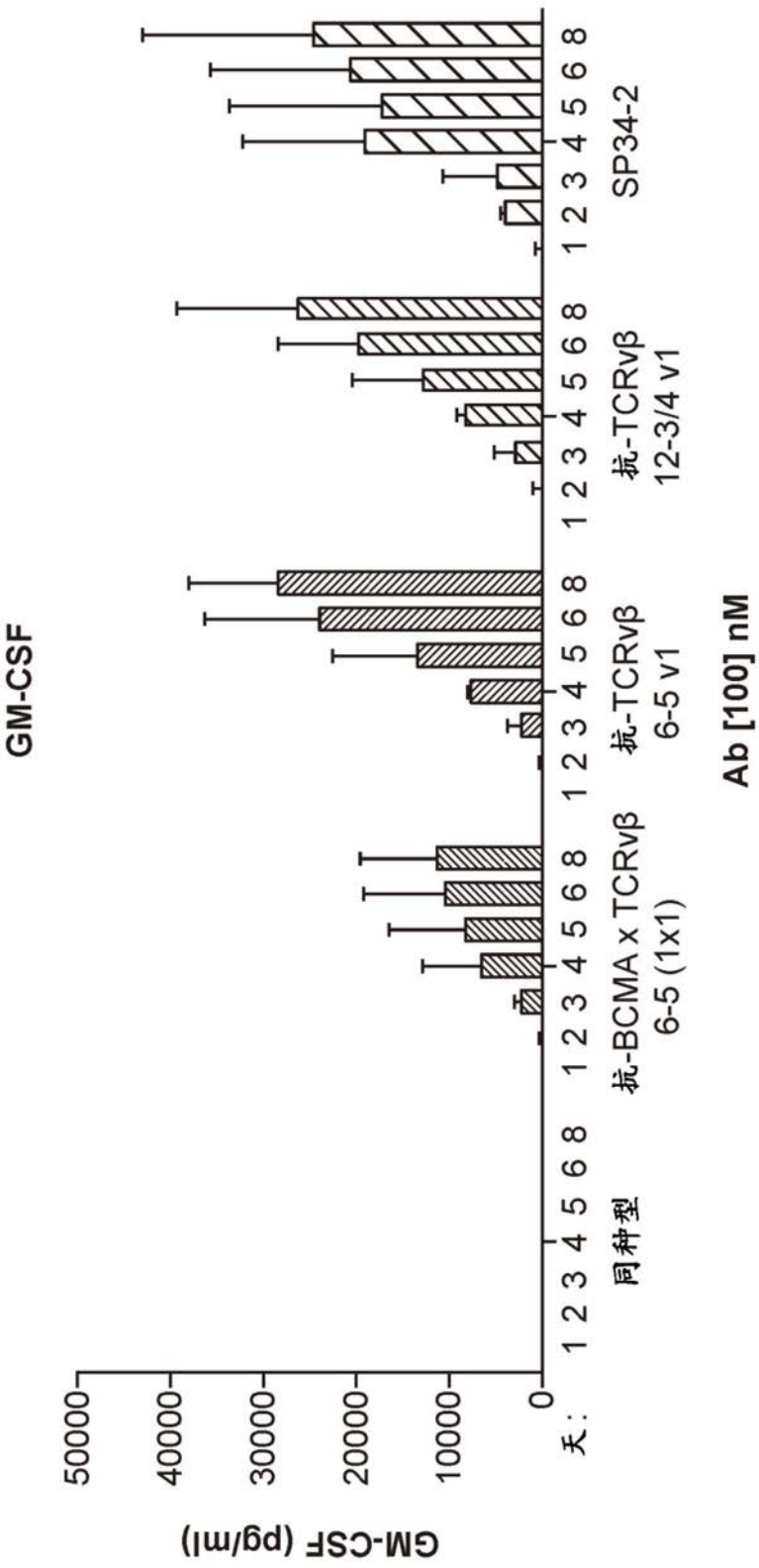

GM-CSF
GM-CSF (pg/ml)
50000
40000
30000
20000
10000
0
天：
1 2 3 4 5 6 8
同种型
抗-BCMA x TCRvβ
6-5 (1x1)
抗-TCRvβ
6-5 v1
抗-TCRvβ
12-3/4 v1
SP34-2
Ab [100] nM

图86U

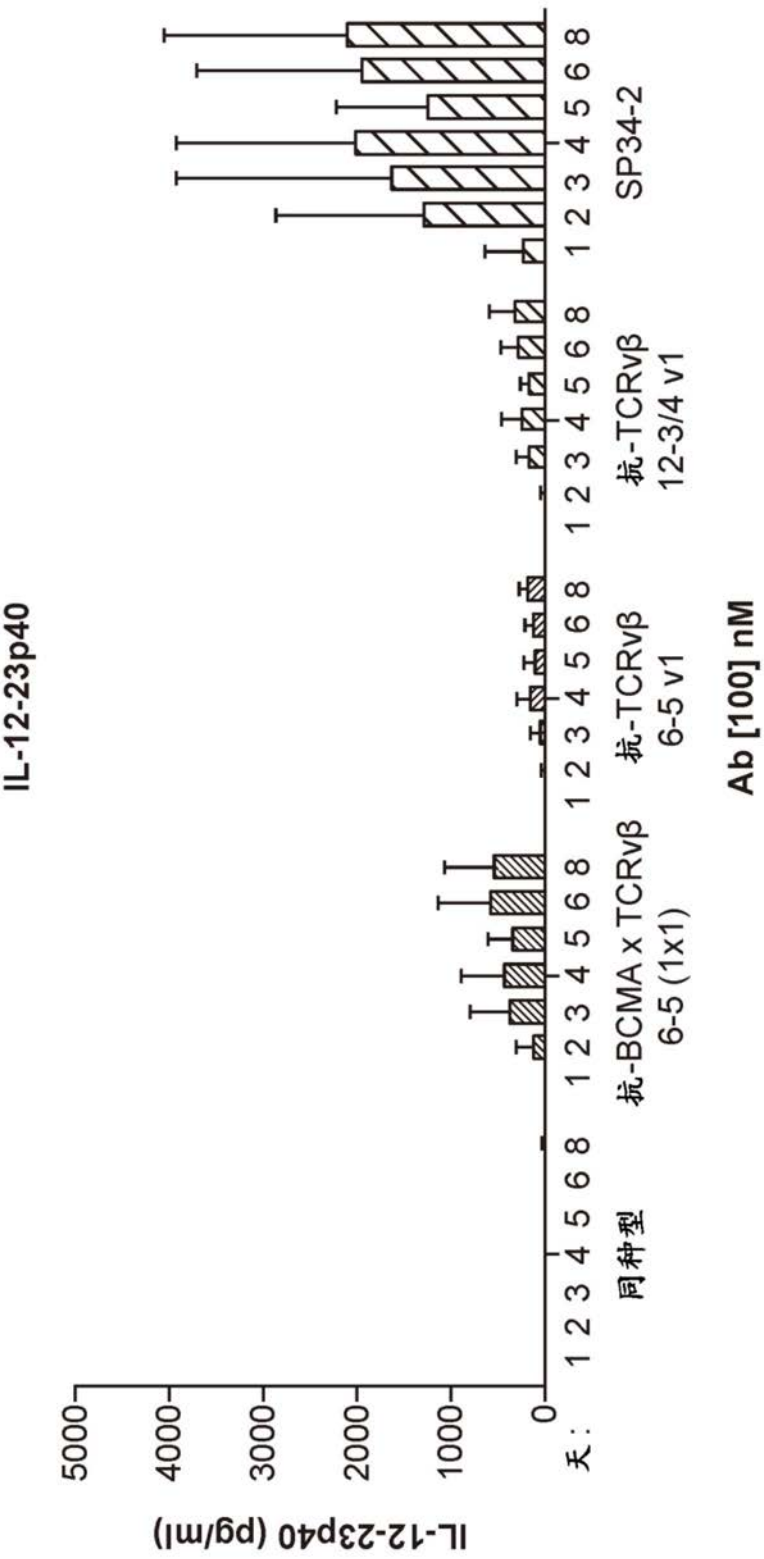

IL-12-23p40
IL-12-23p40 (pg/ml)
5000
4000
3000
2000
1000
0
天：
1 2 3 4 5 6 8
同种型
抗-BCMA x TCRvβ
6-5 (1x1)
抗-TCRvβ
6-5 v1
抗-TCRvβ
12-3/4 v1
SP34-2
Ab [100] nM

图86V

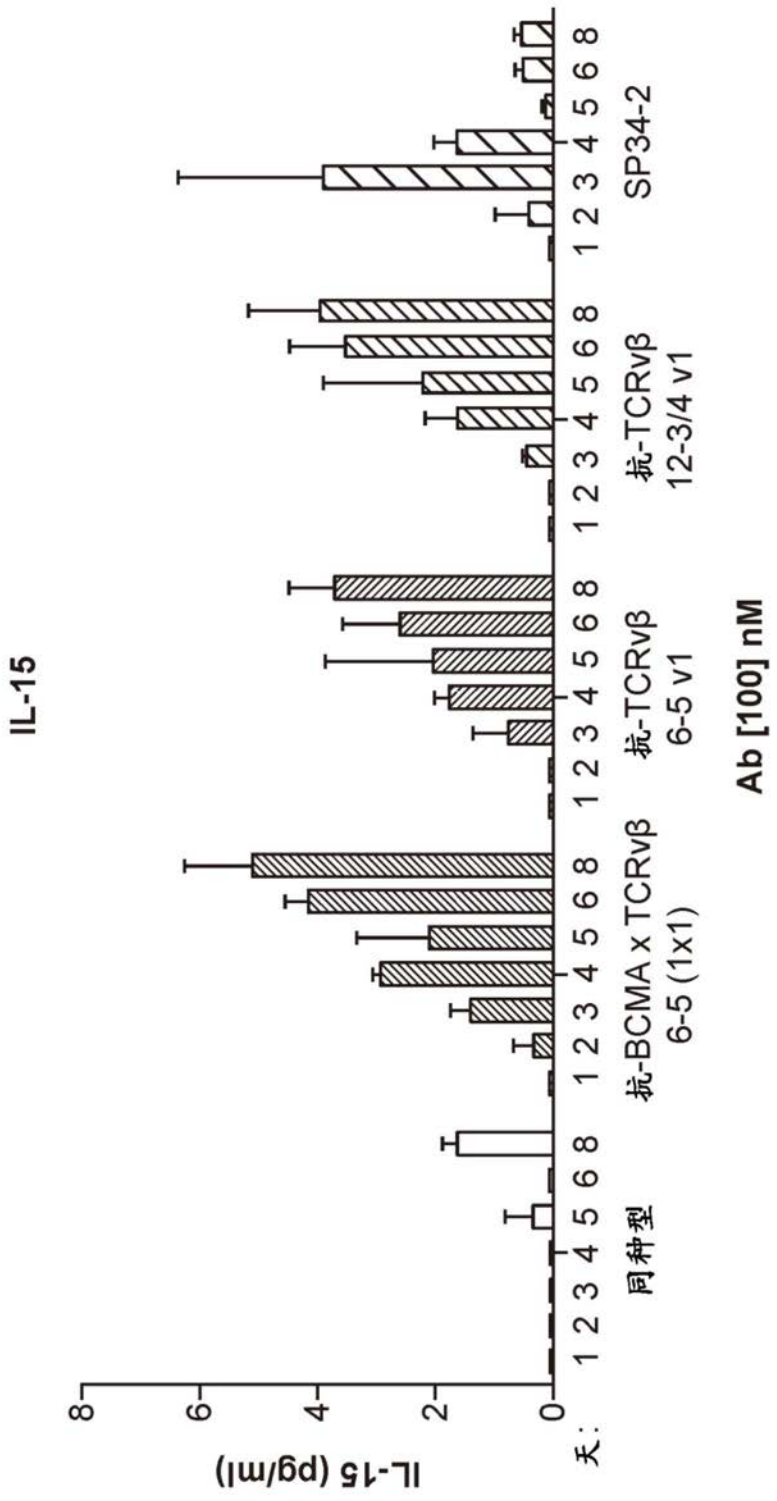

IL-15
IL-15 (pg/ml)
0
2
4
6
8
天:
1 2 3 4 5 6 8
同种型
抗-BCMA x TCRvβ
6-5 (1x1)
抗-TCRvβ
6-5 v1
抗-TCRvβ
12-3/4 v1
SP34-2
Ab [100] nM

图86W

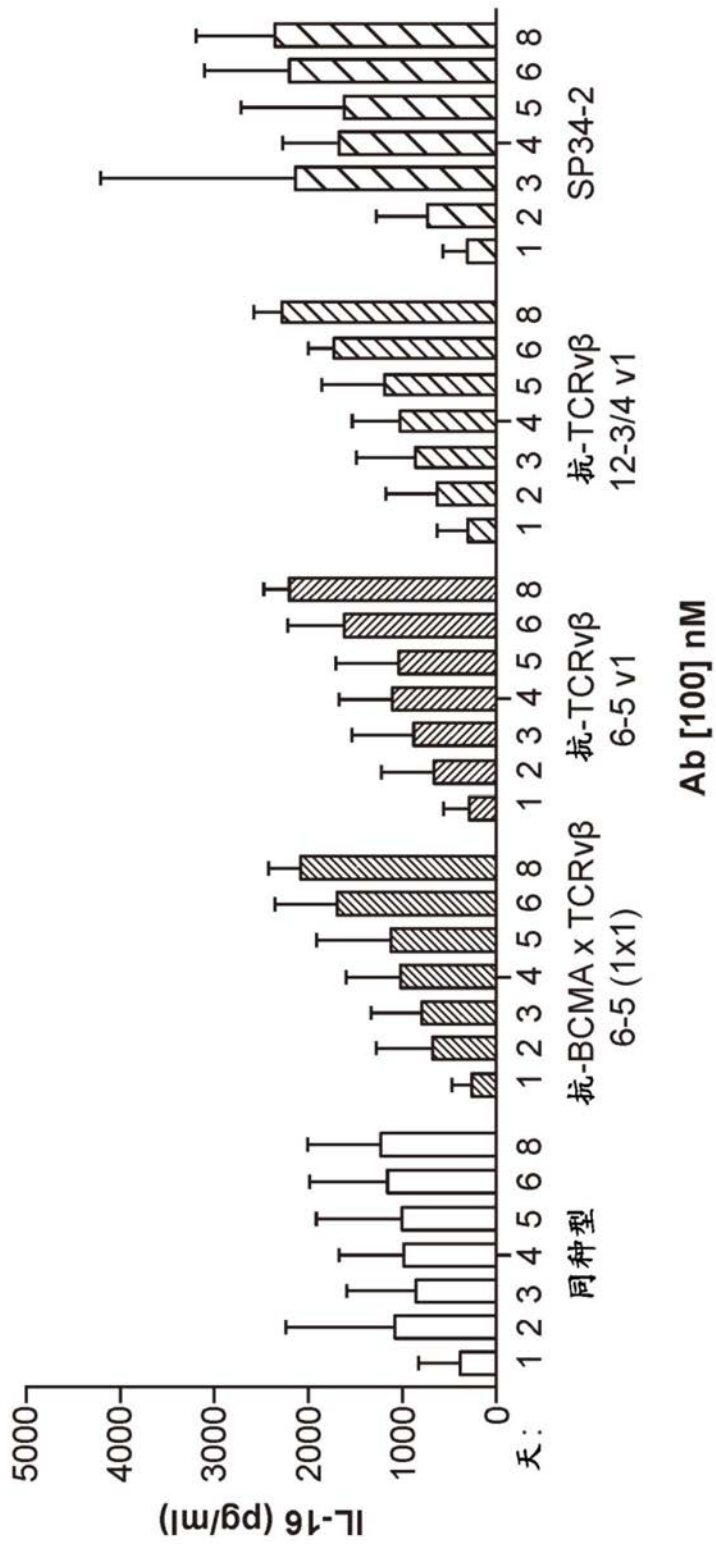

IL-16
IL-16 (pg/ml)
5000
4000
3000
2000
1000
0
天:
1 2 3 4 5 6 8
同种型
抗-BCMA x TCRvβ
6-5 (1x1)
抗-TCRvβ
6-5 v1
抗-TCRvβ
12-3/4 v1
SP34-2
Ab [100] nM

图86X

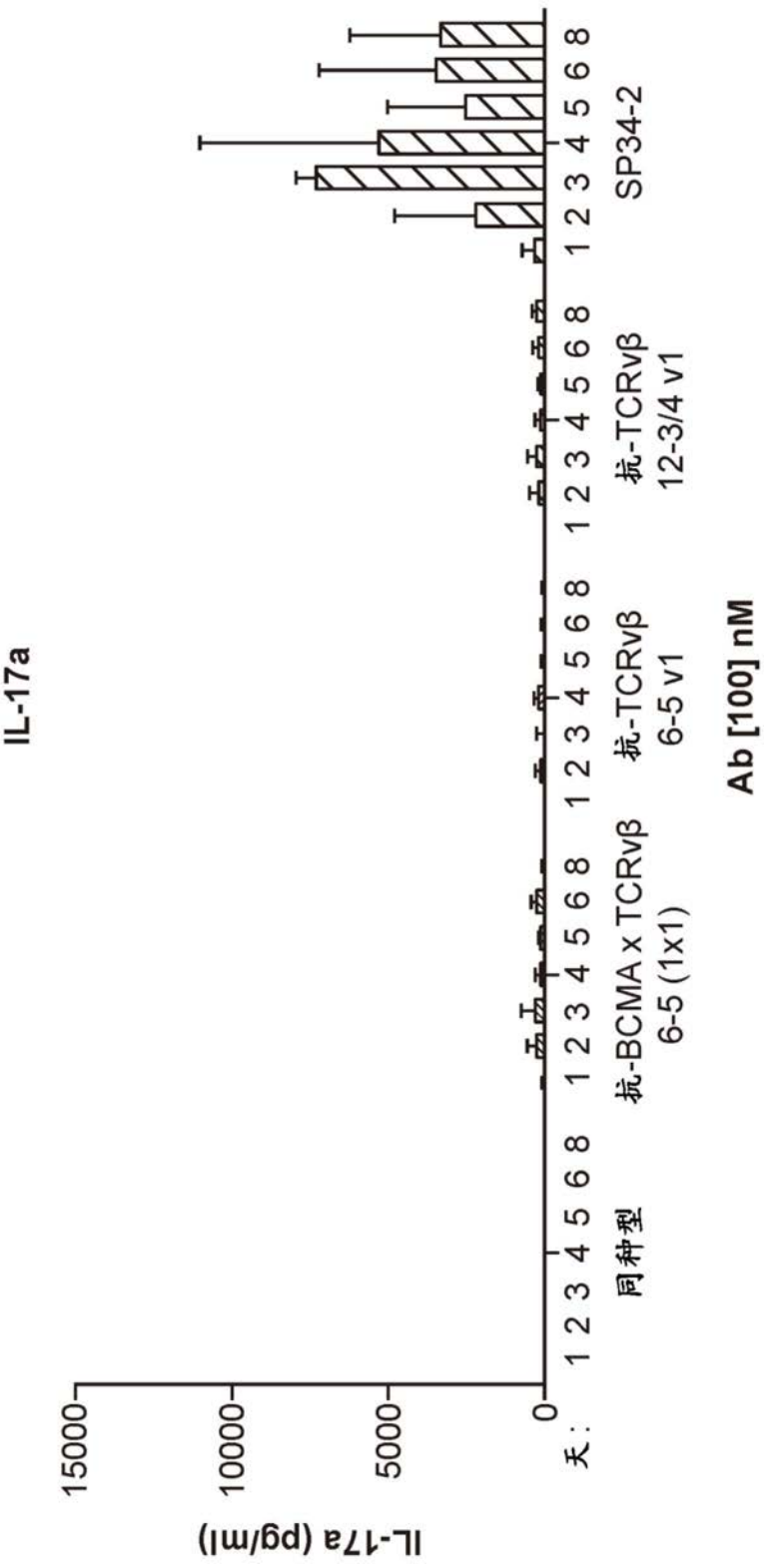

IL-17a
IL-17a (pg/ml)
15000
10000
5000
0
天：
1 2 3 4 5 6 8
同种型
抗-BCMA x TCRvβ
6-5 (1x1)
抗-TCRvβ
6-5 v1
抗-TCRvβ
12-3/4 v1
SP34-2
Ab [100] nM

图86Y

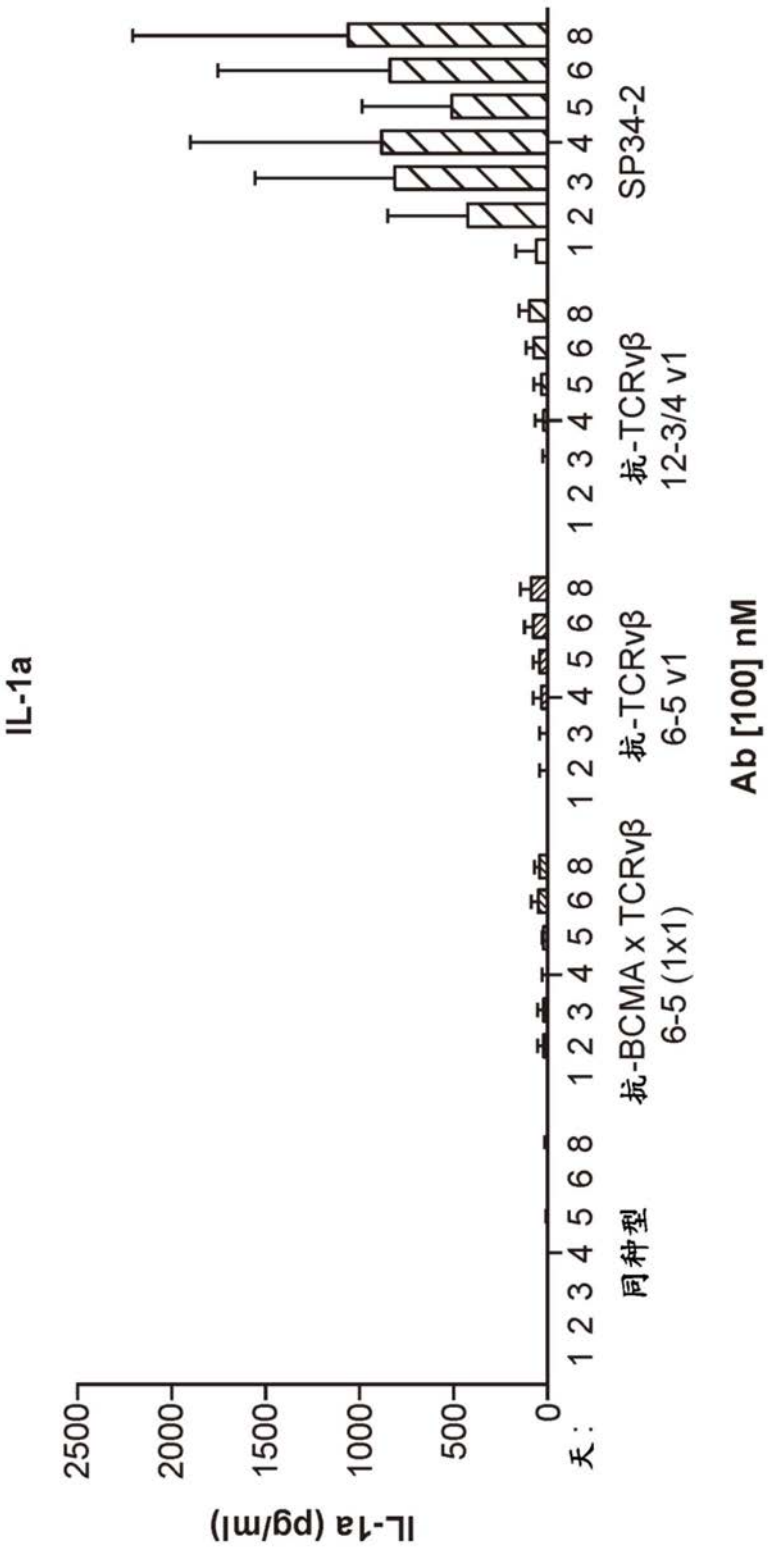

IL-1a
IL-1a (pg/ml)
2500
2000
1500
1000
500
0
天：
1 2 3 4 5 6 8
同种型
抗-BCMA x TCRvβ
6-5 (1x1)
抗-TCRvβ
6-5 v1
抗-TCRvβ
12-3/4 v1
SP34-2
Ab [100] nM

图86Z

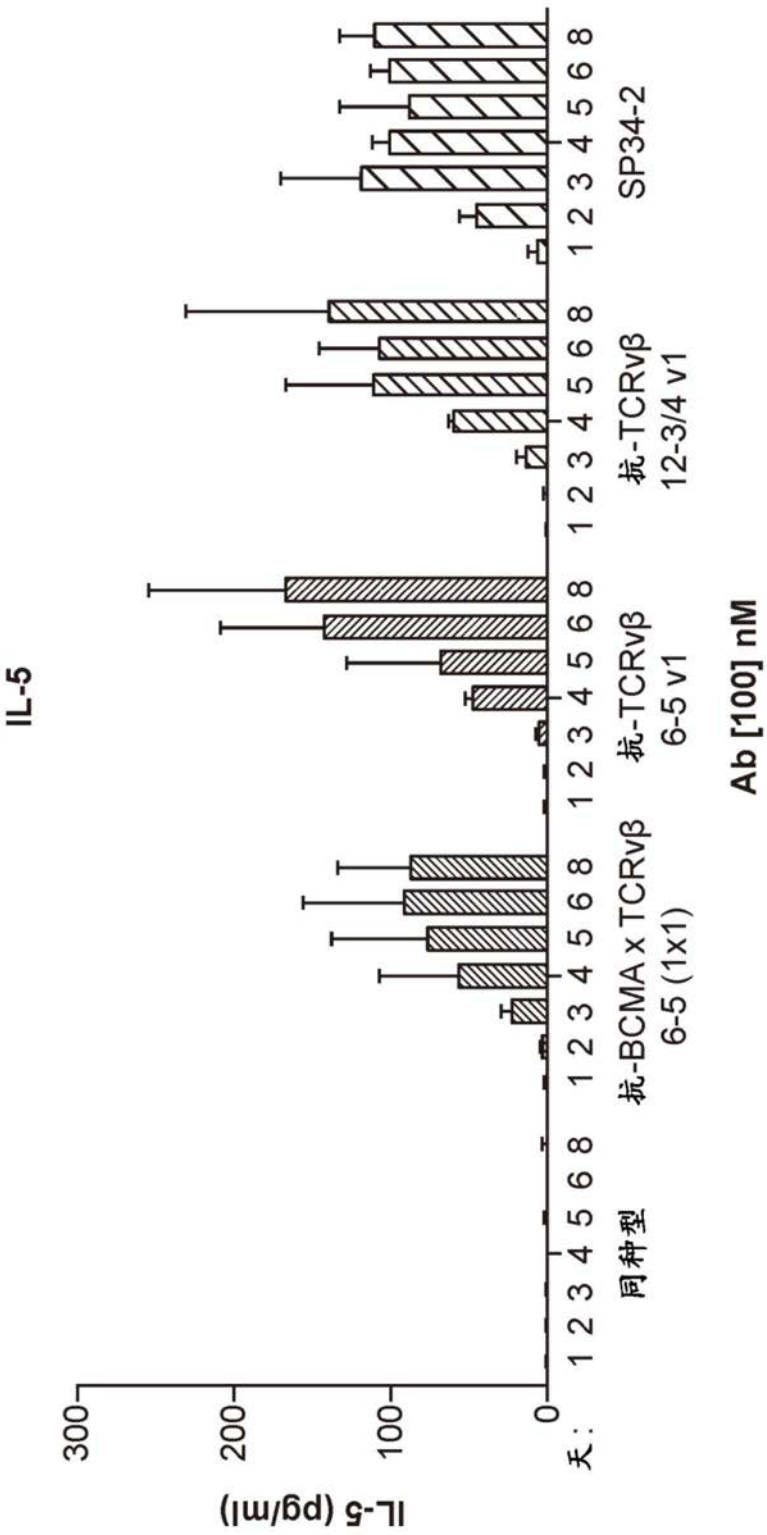

IL-5
IL-5 (pg/ml)
300
200
100
0
天:
1 2 3 4 5 6 8
同种型
抗-BCMA x TCRvβ
6-5 (1x1)
抗-TCRvβ
6-5 v1
抗-TCRvβ
12-3/4 v1
SP34-2
Ab [100] nM

图86AA

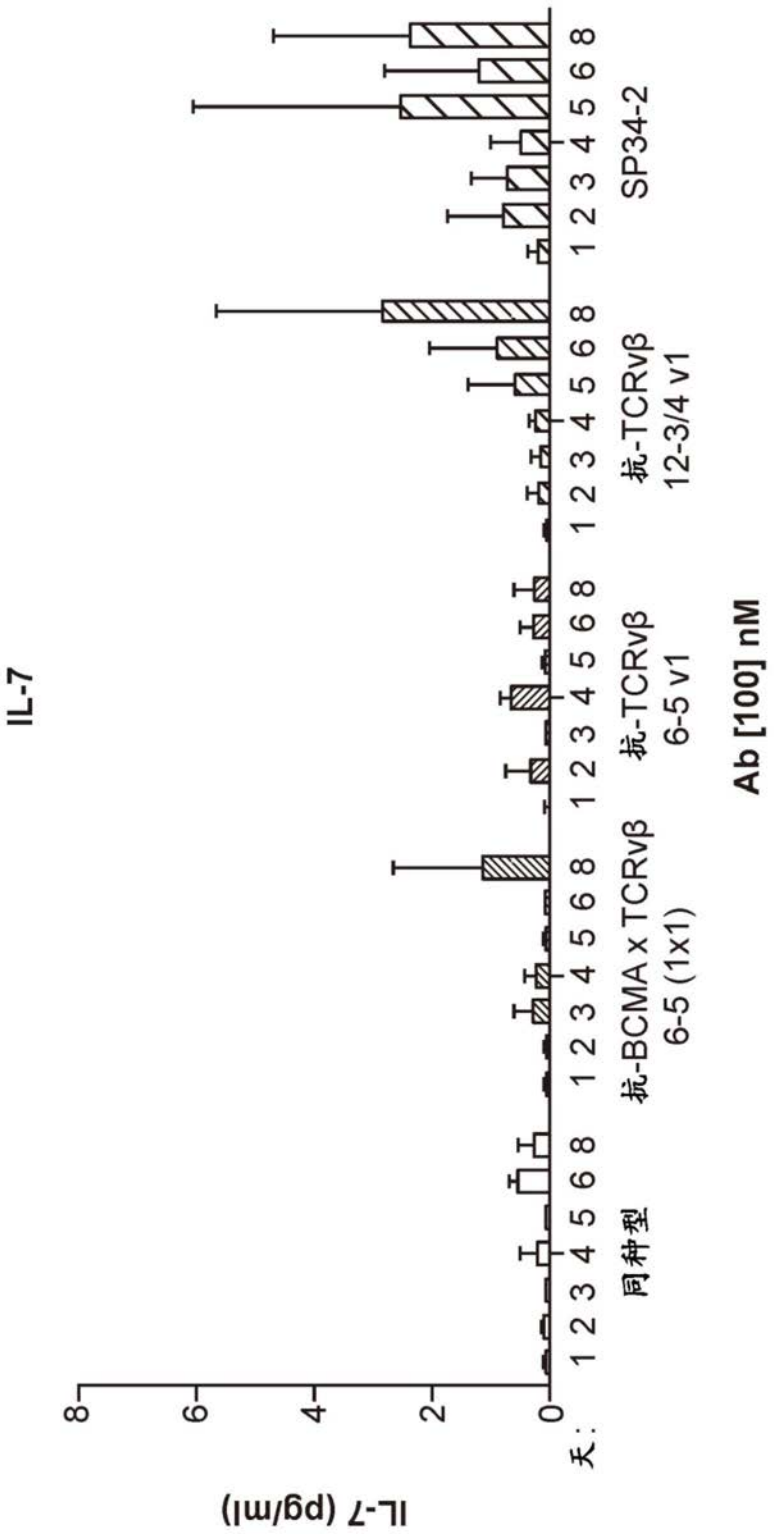

IL-7
IL-7 (pg/ml)
8
6
4
2
0
天：
1 2 3 4 5 6 8 1 2 3 4 5 6 8 1 2 3 4 5 6 8 1 2 3 4 5 6 8
同种型
抗-BCMA x TCRvβ
6-5 (1x1)
抗-TCRvβ
6-5 v1
抗-TCRvβ
12-3/4 v1
SP34-2
Ab [100] nM

图86BB

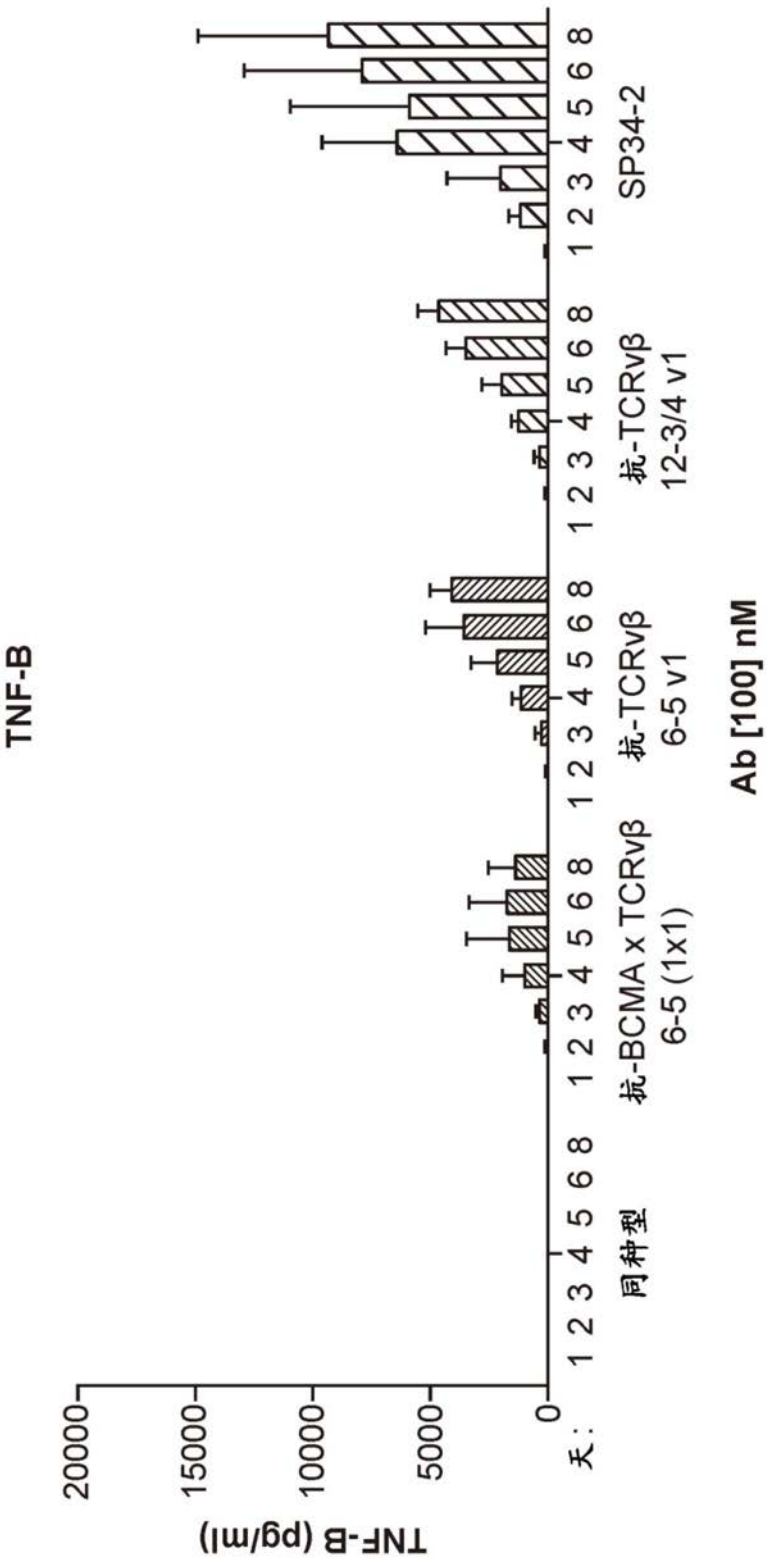

TNF-B
TNF-B (pg/ml)
20000
15000
10000
5000
0
天:
1 2 3 4 5 6 8
同种型
抗-BCMA x TCRvβ
6-5 (1x1)
抗-TCRvβ
6-5 v1
抗-TCRvβ
12-3/4 v1
SP34-2
Ab [100] nM

图86CC

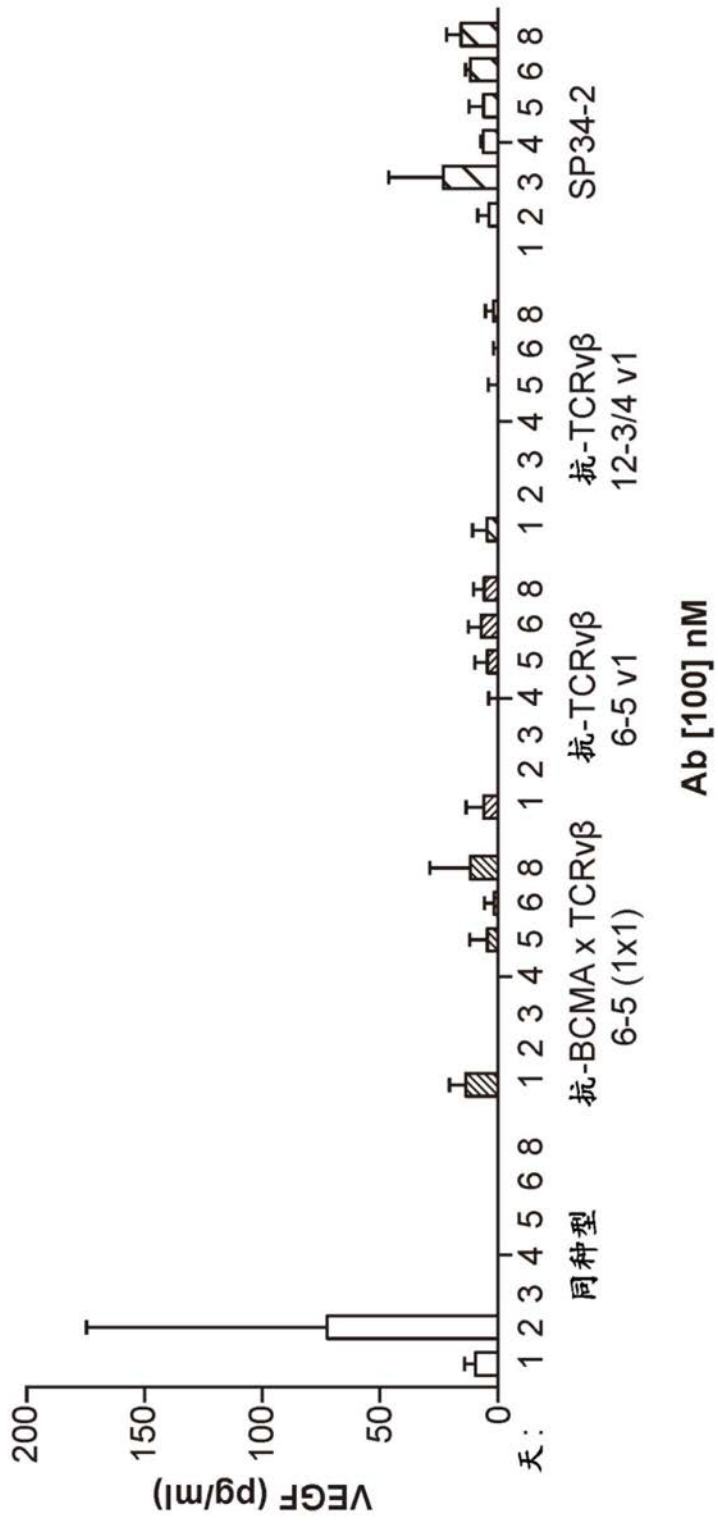

VEGF
VEGF (pg/ml)
200
150
100
50
0
天:
1 2 3 4 5 6 8
同种型
抗-BCMA x TCRvβ
6-5 (1x1)
抗-TCRvβ
6-5 v1
抗-TCRvβ
12-3/4 v1
SP34-2
Ab [100] nM

图86DD

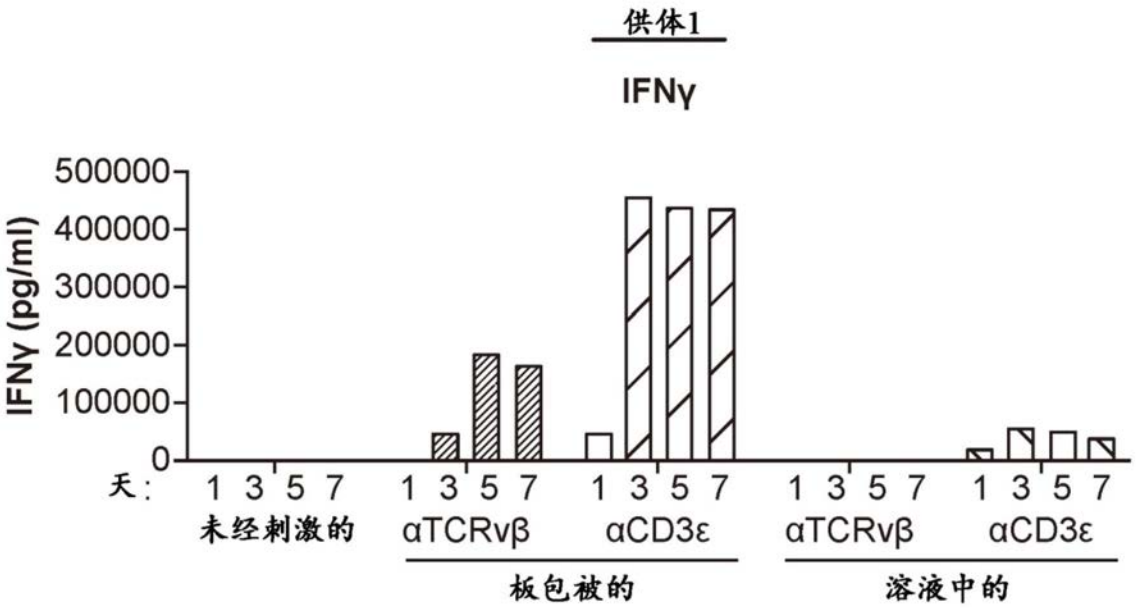

供体1
IFNγ
IFNγ (pg/ml)
500000
400000
300000
200000
100000
0
天:
1 3 5 7
未经刺激的
αTCRvβ
αCD3ε
板包被的
溶液中的

图87A

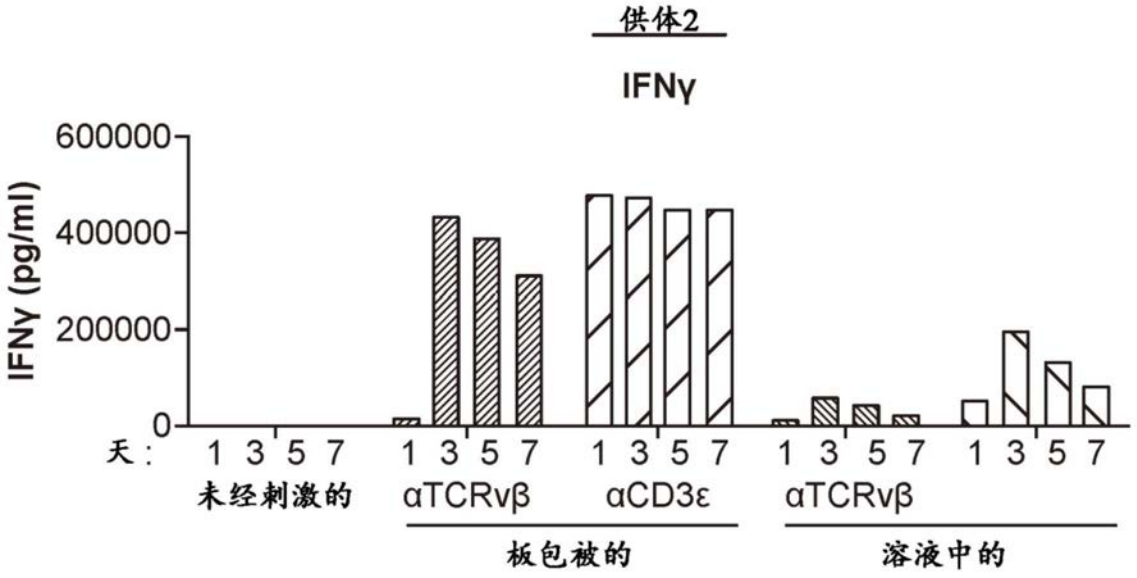

供体2
IFNγ
IFNγ (pg/ml)
600000
400000
200000
0
天:
1 3 5 7
未经刺激的
αTCRvβ
αCD3ε
板包被的
溶液中的

图87B

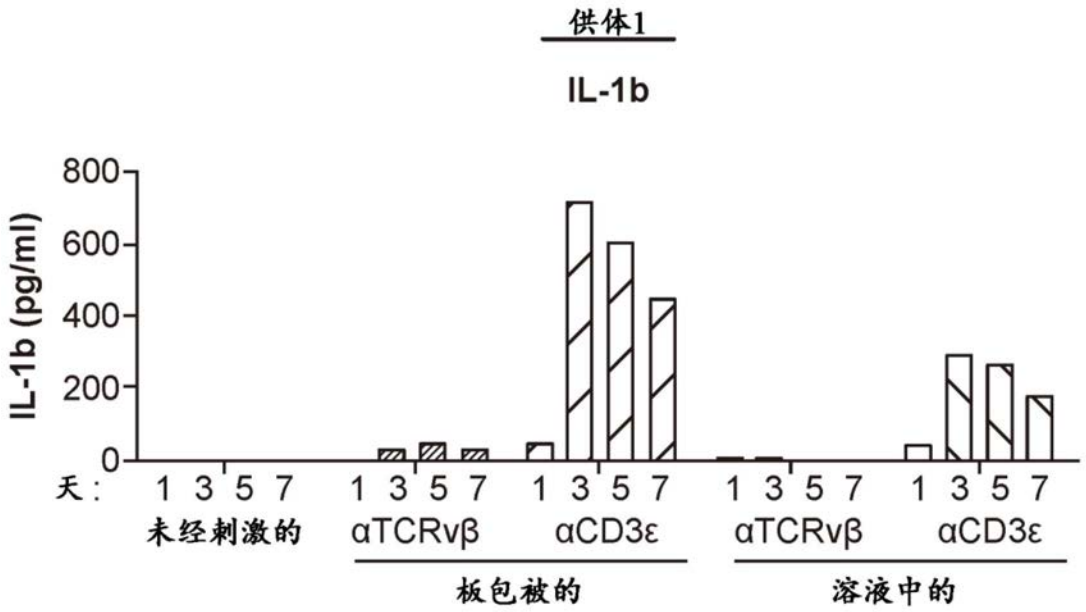

供体1
IL-1b
IL-1b (pg/ml)
800
600
400
200
0
天:
1 3 5 7
未经刺激的
αTCRvβ
αCD3ε
板包被的
溶液中的

图87C

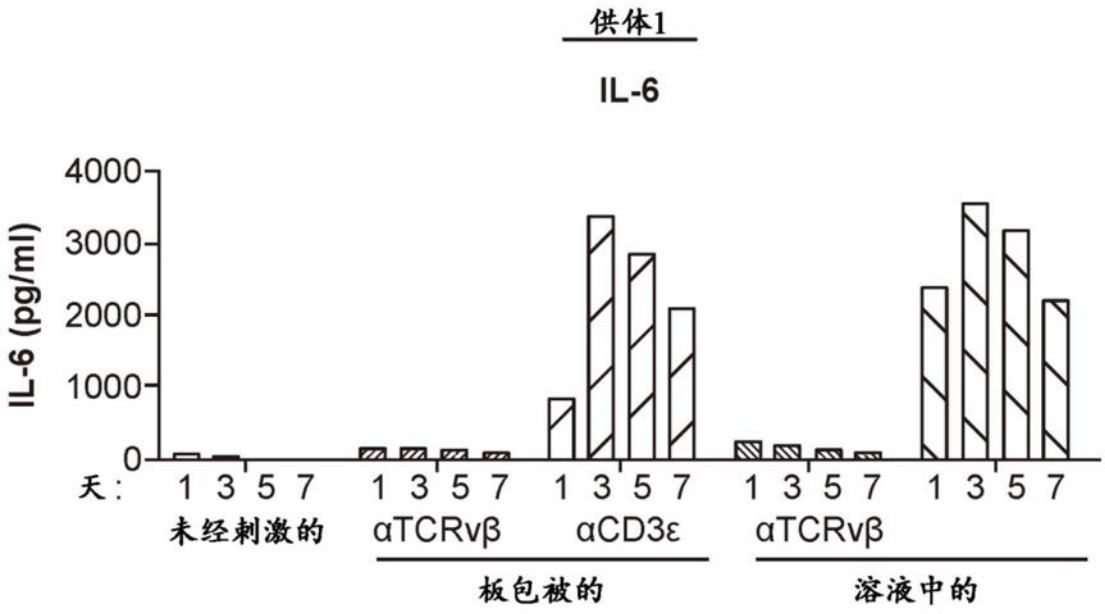

供体1
IL-6
IL-6 (pg/ml)
4000
3000
2000
1000
0
天:
1 3 5 7
未经刺激的
αTCRvβ
αCD3ε
板包被的
溶液中的

图87D

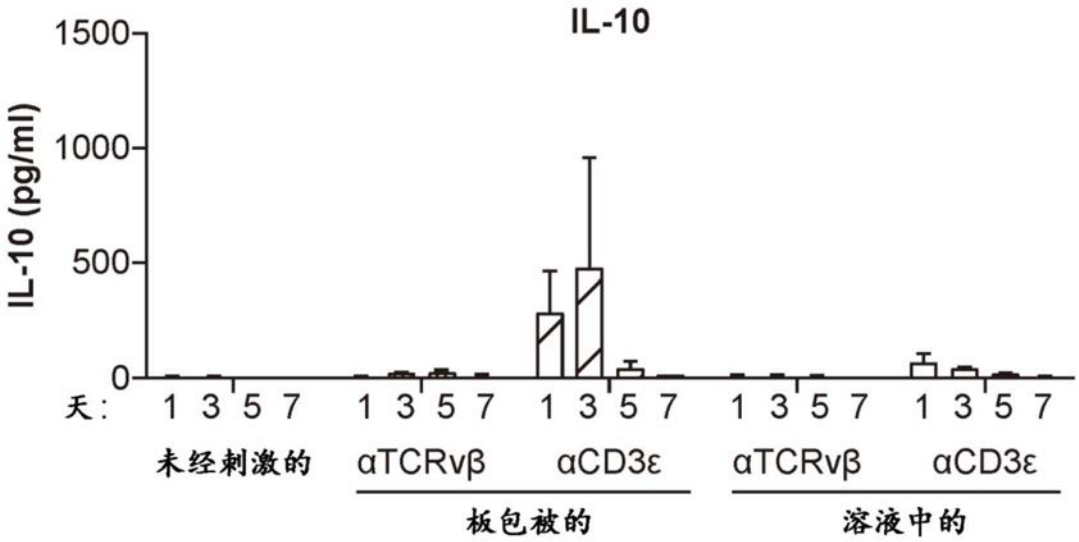

IL-10
IL-10 (pg/ml)
1500
1000
500
0
天:
1 3 5 7 1 3 5 7 1 3 5 7 1 3 5 7 1 3 5 7
未经刺激的
αTCRvβ
αCD3ε
αTCRvβ
αCD3ε
板包被的
溶液中的

图87E

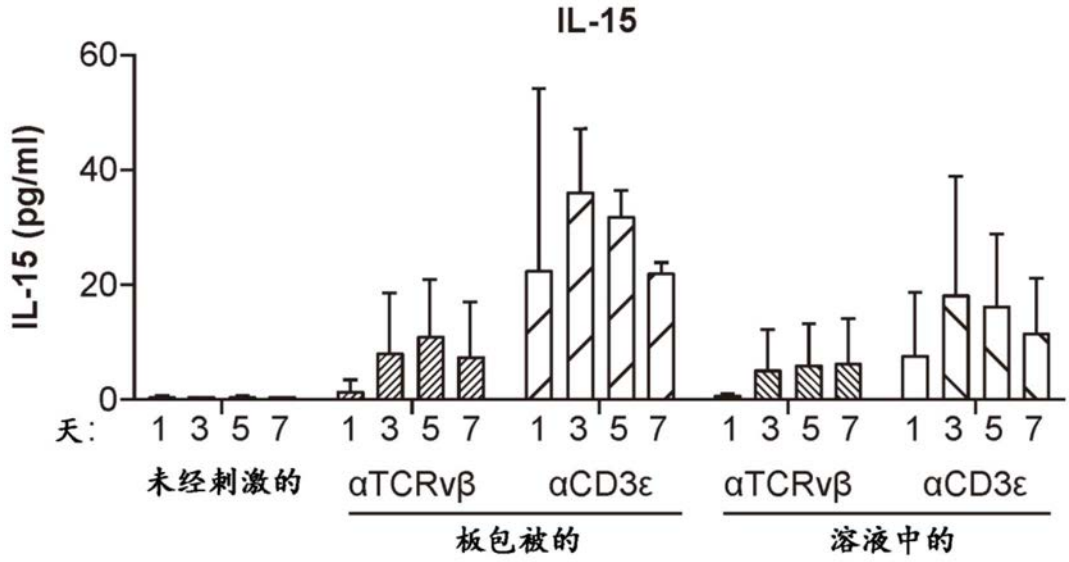

IL-15
IL-15 (pg/ml)
60
40
20
0
天:
1 3 5 7 1 3 5 7 1 3 5 7 1 3 5 7 1 3 5 7
未经刺激的
αTCRvβ
αCD3ε
αTCRvβ
αCD3ε
板包被的
溶液中的

图87F

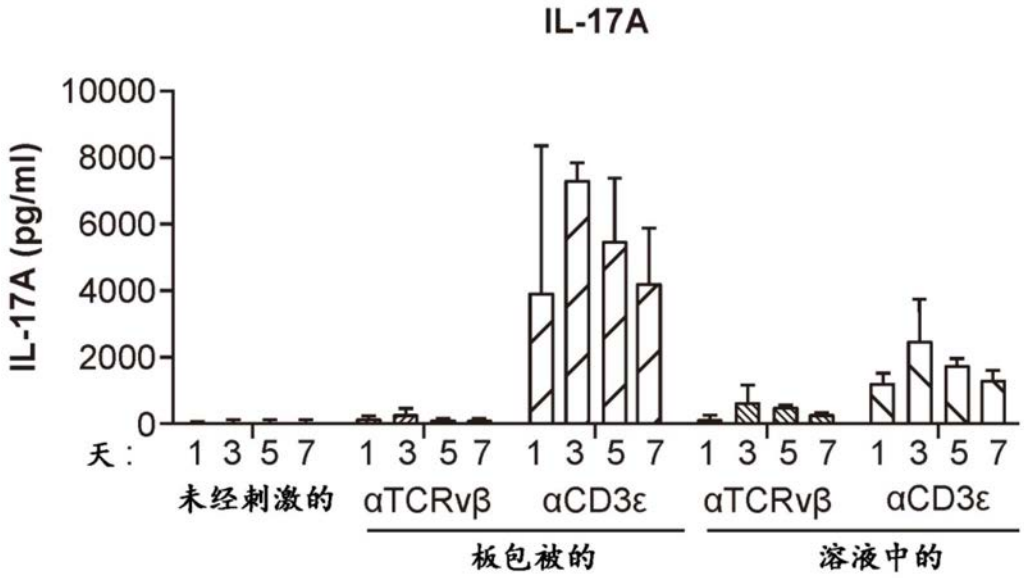

IL-17A
IL-17A (pg/ml)
10000
8000
6000
4000
2000
0
天:
1 3 5 7 1 3 5 7 1 3 5 7 1 3 5 7 1 3 5 7
未经刺激的
αTCRvβ
αCD3ε
αTCRvβ
αCD3ε
板包被的
溶液中的

图87G

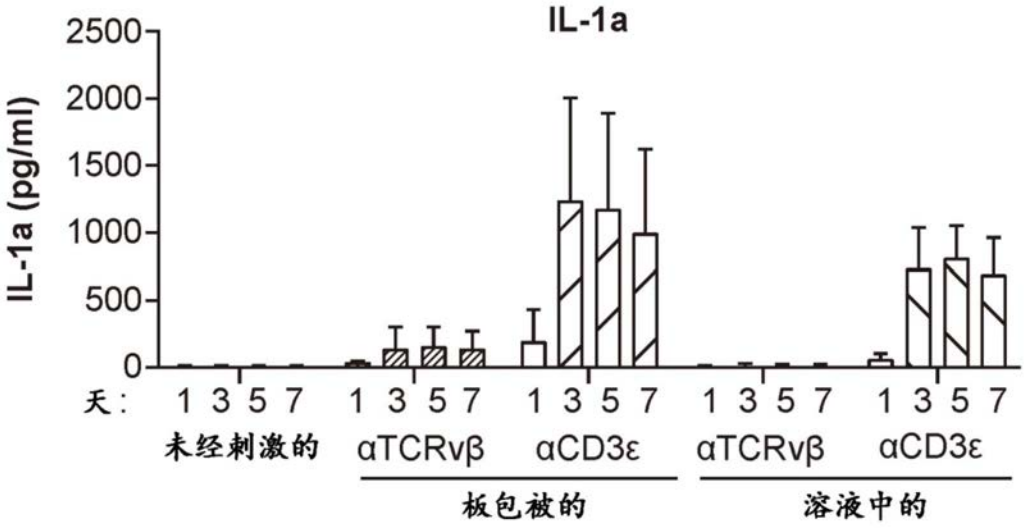

IL-1a
IL-1a (pg/ml)
2500
2000
1500
1000
500
0
天:
1 3 5 7 1 3 5 7 1 3 5 7 1 3 5 7 1 3 5 7
未经刺激的
αTCRvβ
αCD3ε
αTCRvβ
αCD3ε
板包被的
溶液中的

图87H

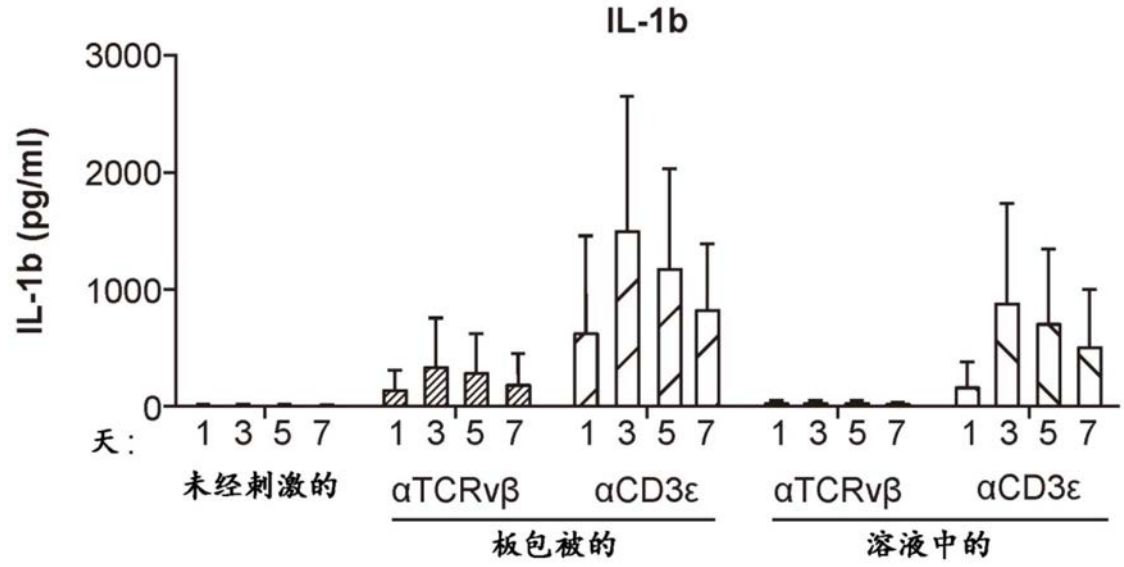

IL-1b
IL-1b (pg/ml)
3000
2000
1000
0
天:
1 3 5 7
未经刺激的
αTCRvβ
αCD3ε
板包被的
溶液中的

图87I

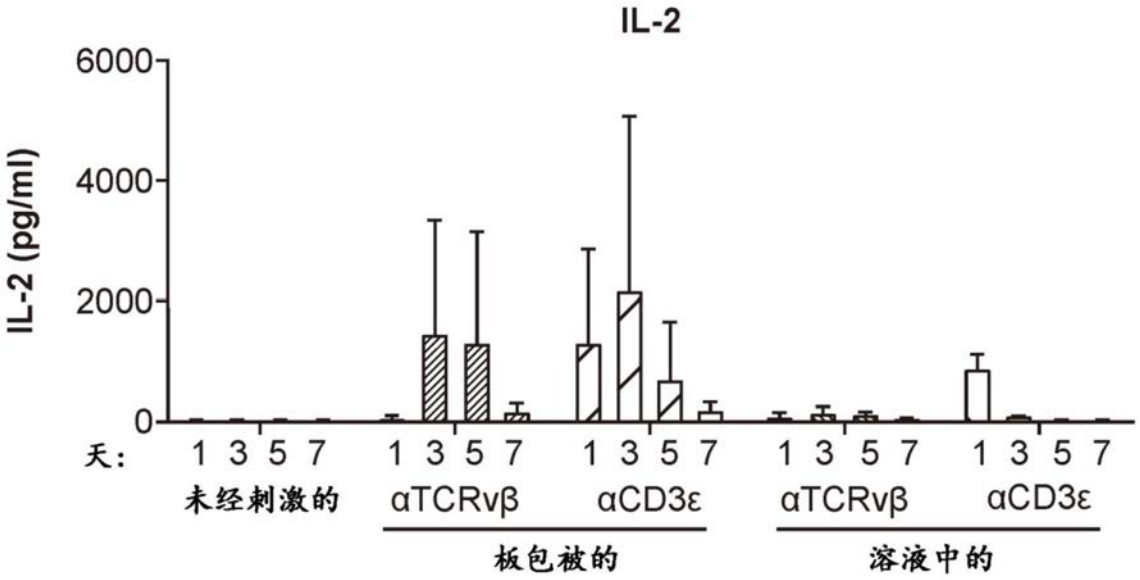

IL-2
IL-2 (pg/ml)
6000
4000
2000
0
天:
1 3 5 7
未经刺激的
αTCRvβ
αCD3ε
板包被的
溶液中的

图87J

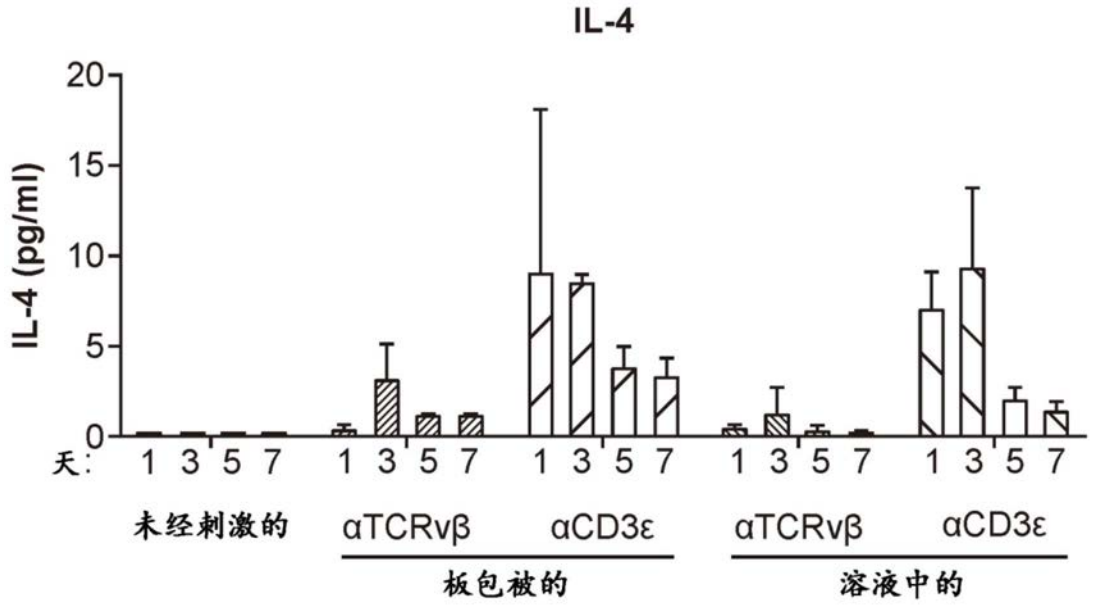

IL-4
IL-4 (pg/ml)
20
15
10
5
0
天:
1 3 5 7 1 3 5 7 1 3 5 7 1 3 5 7 1 3 5 7
未经刺激的
αTCRvβ
αCD3ε
αTCRvβ
αCD3ε
板包被的
溶液中的

图87K

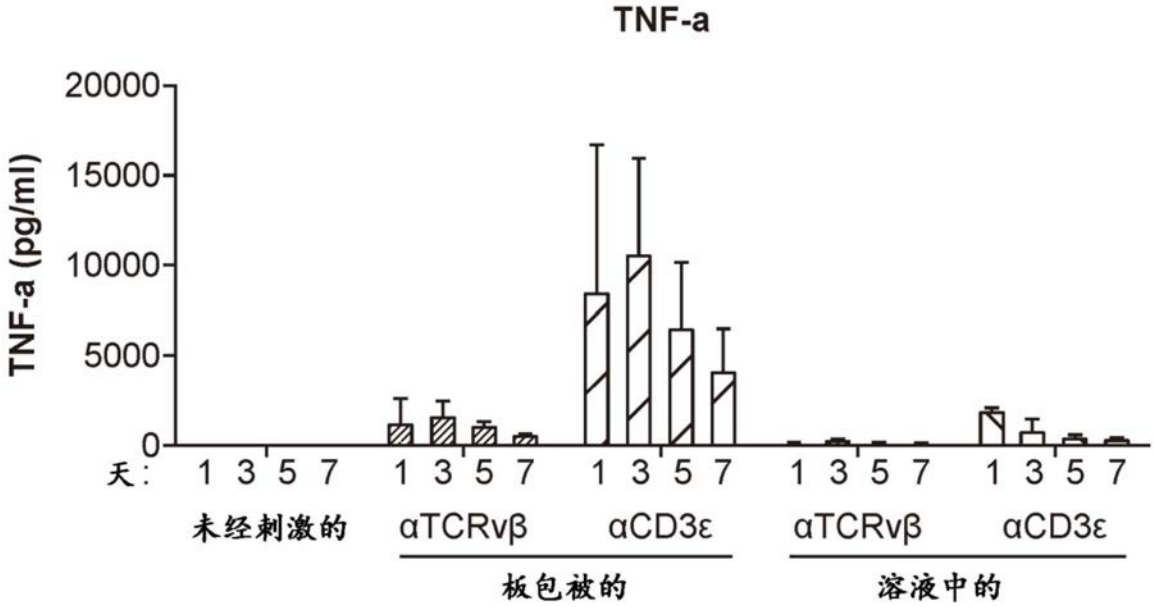

TNF-a
TNF-a (pg/ml)
20000
15000
10000
5000
0
天:
1 3 5 7 1 3 5 7 1 3 5 7 1 3 5 7 1 3 5 7
未经刺激的
αTCRvβ
αCD3ε
αTCRvβ
αCD3ε
板包被的
溶液中的

图87L

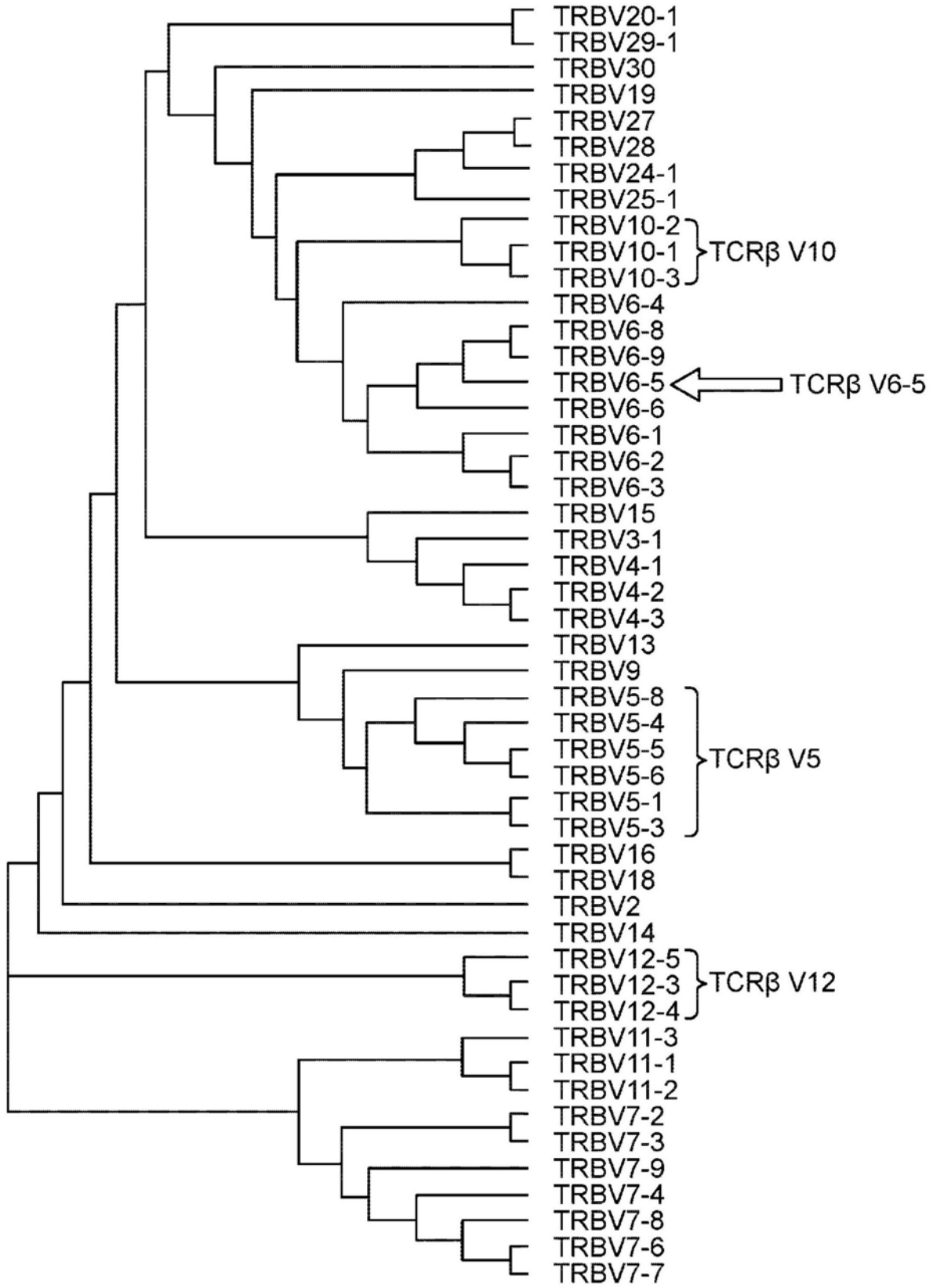

TRBV20-1
TRBV29-1
TRBV30
TRBV19
TRBV27
TRBV28
TRBV24-1
TRBV25-1
TRBV10-2
TRBV10-1
TRBV10-3
TCRβ V10
TRBV6-4
TRBV6-8
TRBV6-9
TRBV6-5
TCRβ V6-5
TRBV6-6
TRBV6-1
TRBV6-2
TRBV6-3
TRBV15
TRBV3-1
TRBV4-1
TRBV4-2
TRBV4-3
TRBV13
TRBV9
TRBV5-8
TRBV5-4
TRBV5-5
TRBV5-6
TRBV5-1
TRBV5-3
TCRβ V5
TRBV16
TRBV18
TRBV2
TRBV14
TRBV12-5
TRBV12-3
TRBV12-4
TCRβ V12
TRBV11-3
TRBV11-1
TRBV11-2
TRBV7-2
TRBV7-3
TRBV7-9
TRBV7-4
TRBV7-8
TRBV7-6
TRBV7-7

图88

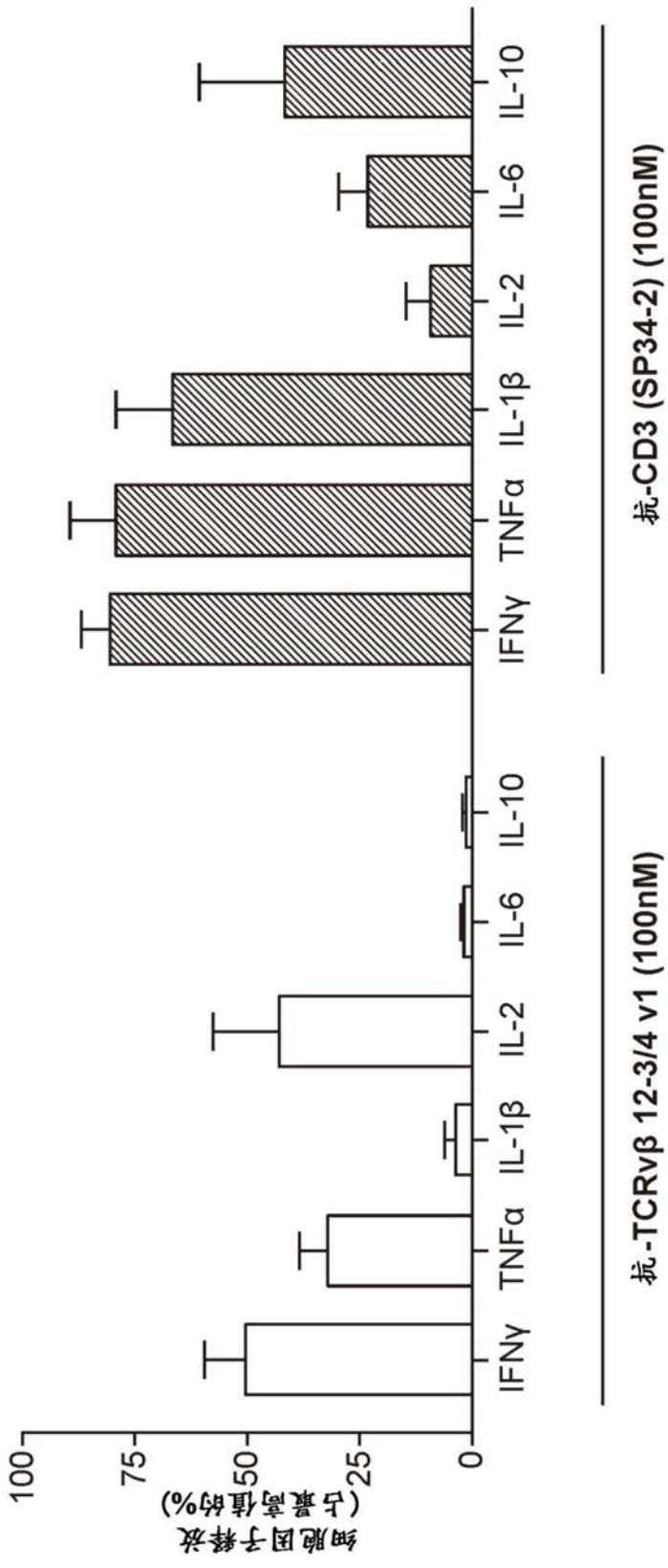

细胞因子释放
(占最高值的%)
100
75
50
25
0
IFNγ
TNFα
IL-1β
IL-2
IL-6
IL-10
抗-TCRvβ 12-3/4 v1 (100nM)
IFNγ
TNFα
IL-1β
IL-2
IL-6
IL-10
抗-CD3 (SP34-2) (100nM)

图89A

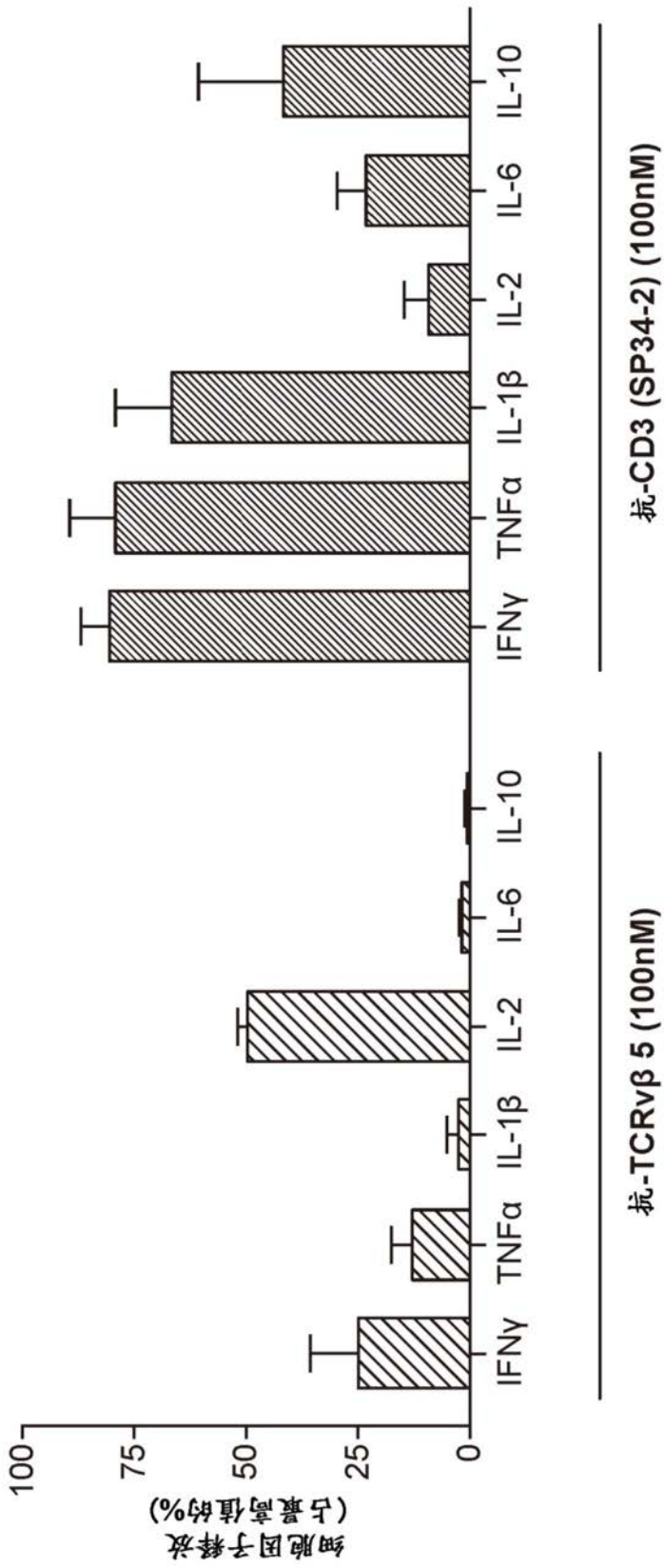

细胞因子释放
(占最高值的%)
100
75
50
25
0
IFNγ
TNFα
IL-1β
IL-2
IL-6
IL-10
抗-TCRvβ 5 (100nM)
IFNγ
TNFα
IL-1β
IL-2
IL-6
IL-10
抗-CD3 (SP34-2) (100nM)

图89B

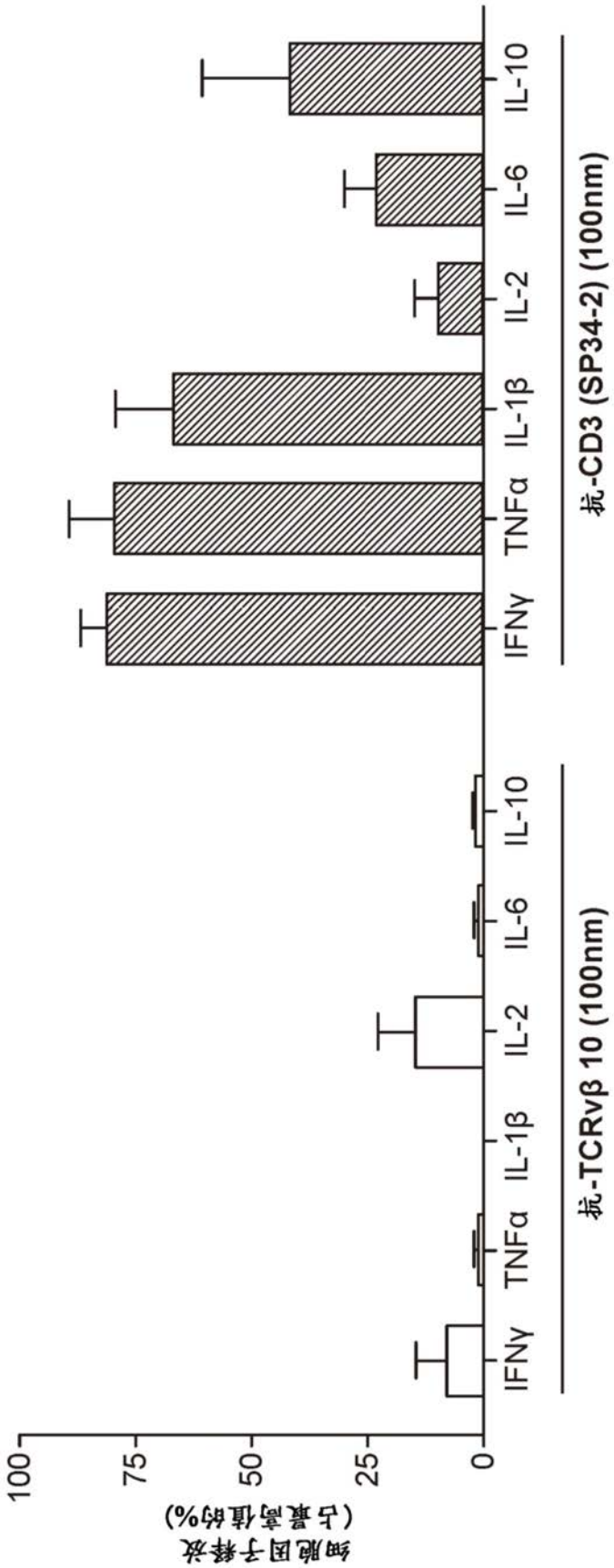

细胞因子释放
(占最高值的%)
100
75
50
25
0
IFNγ
TNFα
IL-1β
IL-2
IL-6
IL-10
抗-TCRvβ 10 (100nm)
IFNγ
TNFα
IL-1β
IL-2
IL-6
IL-10
抗-CD3 (SP34-2) (100nm)

图89C

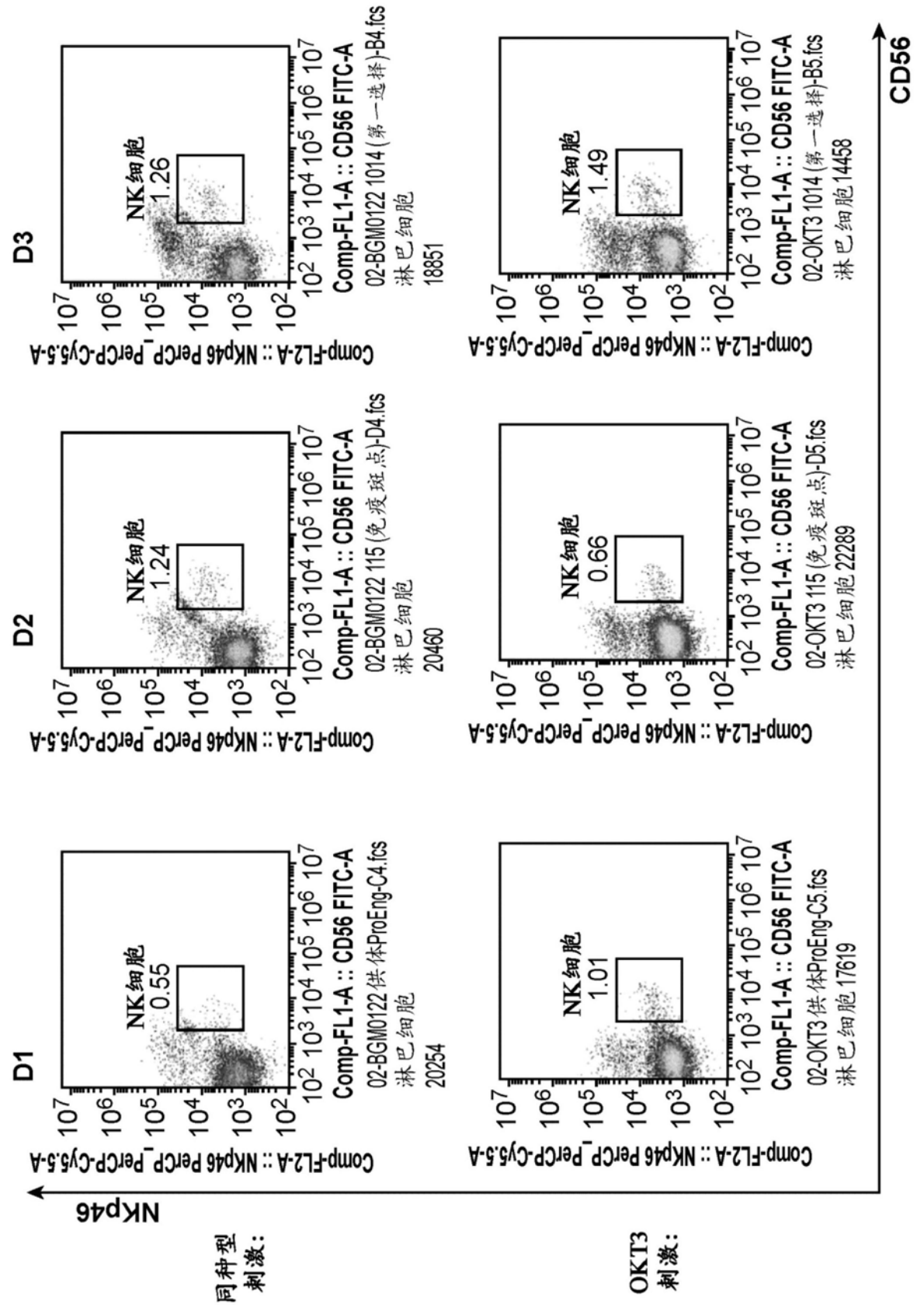

D1
D2
D3
NK细胞
0.55
1.24
1.26
0.66
1.01
1.49
Comp-FL2-A :: NKp46 PerCP_PerCP-Cy5.5-A
Comp-FL1-A :: CD56 FITC-A
02-BGM0122供体ProEng-C4.fcs
淋巴细胞
20254
02-BGM0122 115 (免疫斑点)-D4.fcs
淋巴细胞
20460
02-BGM0122 1014 (第一选择)-B4.fcs
淋巴细胞
18851
02-OKT3供体ProEng-C5.fcs
淋巴细胞 17619
02-OKT3 115 (免疫斑点)-D5.fcs
淋巴细胞 22289
02-OKT3 1014 (第一选择)-B5.fcs
淋巴细胞 14458
NKp46
CD56
同种型刺激：
OKT3刺激：

图90

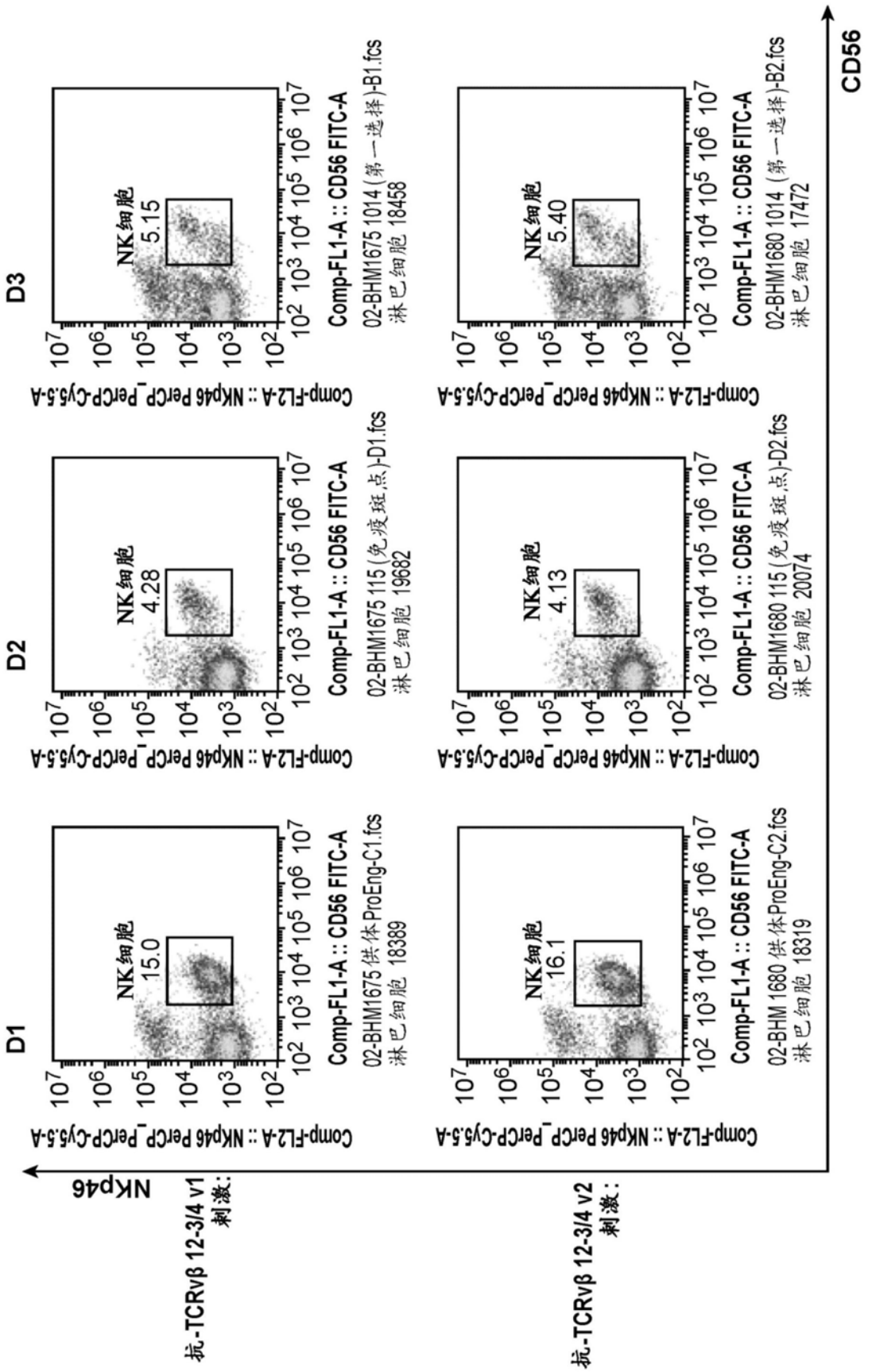

D1
D2
D3
NK细胞
15.0
4.28
5.15
16.1
4.13
5.40
Comp-FL2-A :: NKp46 PerCP_PerCP-Cy5.5-A
Comp-FL1-A :: CD56 FITC-A
02-BHM1675 供体ProEng-C1.fcs
淋巴细胞 18389
02-BHM1675 115 (免疫斑点)-D1.fcs
淋巴细胞 19682
02-BHM1675 1014 (第一选择)-B1.fcs
淋巴细胞 18458
02-BHM 1680 供体ProEng-C2.fcs
淋巴细胞 18319
02-BHM1680 115 (免疫斑点)-D2.fcs
淋巴细胞 20074
02-BHM1680 1014 (第一选择)-B2.fcs
淋巴细胞 17472
NKp46
CD56
抗-TCRvβ 12-3/4 v1 刺激:
抗-TCRvβ 12-3/4 v2 刺激:

图91

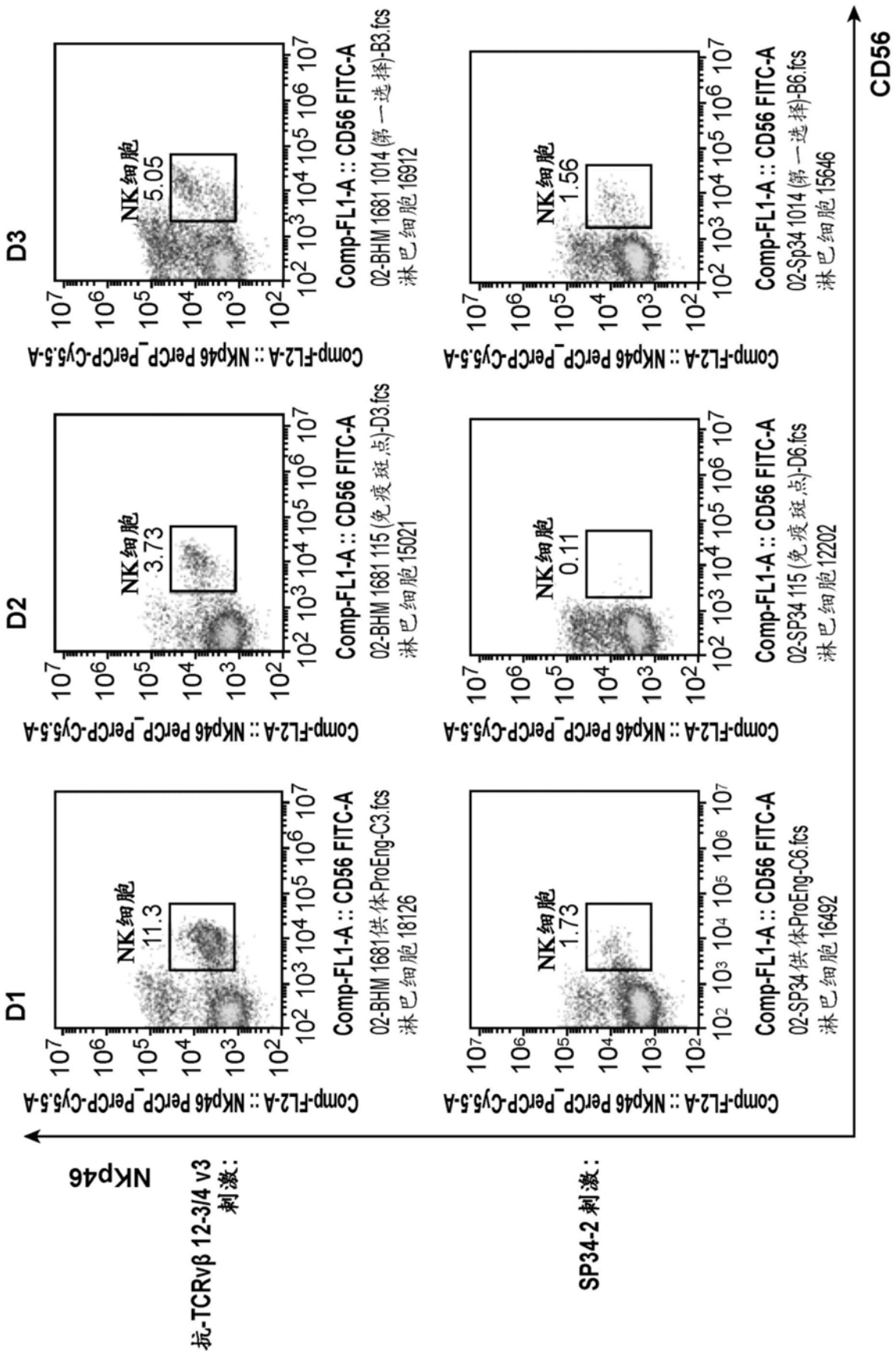

D1
D2
D3
NK细胞
11.3
NK细胞
3.73
NK细胞
5.05
NK细胞
1.73
NK细胞
0.11
NK细胞
1.56
Comp-FL2-A :: NKp46 PerCP_PerCP-Cy5.5-A
Comp-FL1-A :: CD56 FITC-A
02-BHM 1681供体ProEng-C3.fcs
淋巴细胞 18126
02-BHM 1681 115 (免疫斑点)-D3.fcs
淋巴细胞 15021
02-BHM 1681 1014 (第一选择)-B3.fcs
淋巴细胞 16912
02-SP34供体ProEng-C6.fcs
淋巴细胞 16492
02-SP34 115 (免疫斑点)-D6.fcs
淋巴细胞 12202
02-Sp34 1014 (第一选择)-B6.fcs
淋巴细胞 15646
NKp46
抗-TCRvβ 12-3/4 v3 刺激:
SP34-2 刺激:
CD56

图92

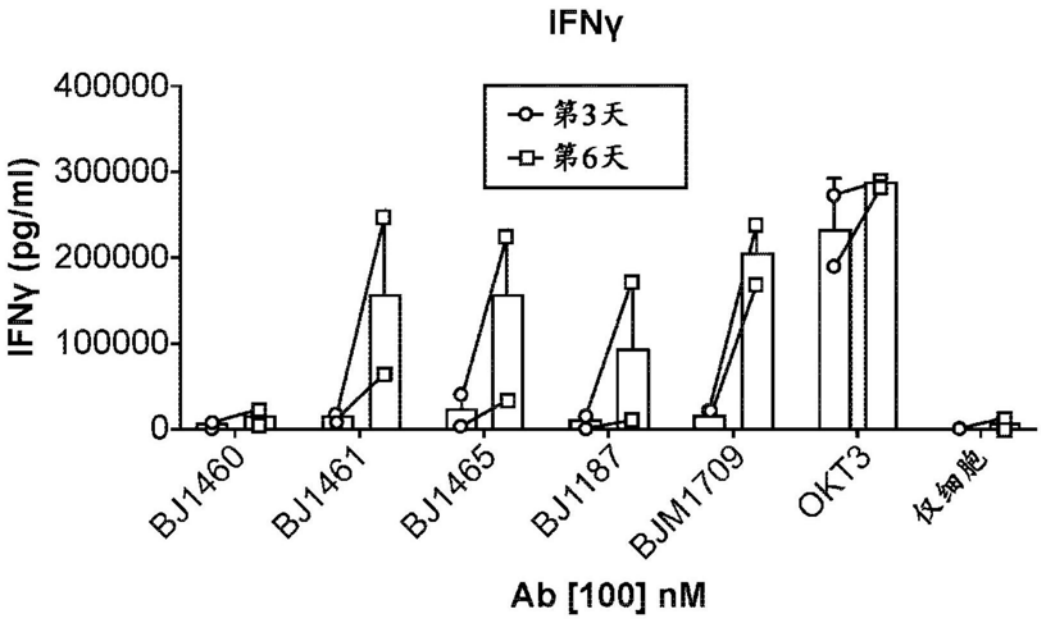

IFNγ
400000
300000
200000
100000
0
IFNγ (pg/ml)
第3天
第6天
BJ1460
BJ1461
BJ1465
BJ1187
BJM1709
OKT3
仅细胞
Ab [100] nM

图93A

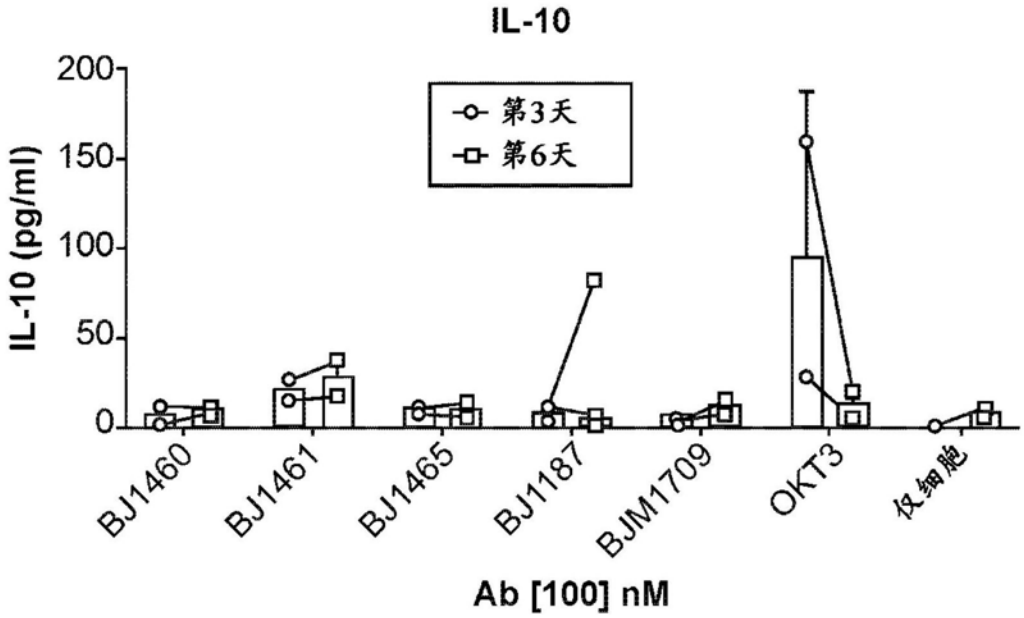

IL-10
200
150
100
50
0
IL-10 (pg/ml)
第3天
第6天
BJ1460
BJ1461
BJ1465
BJ1187
BJM1709
OKT3
仅细胞
Ab [100] nM

图93B

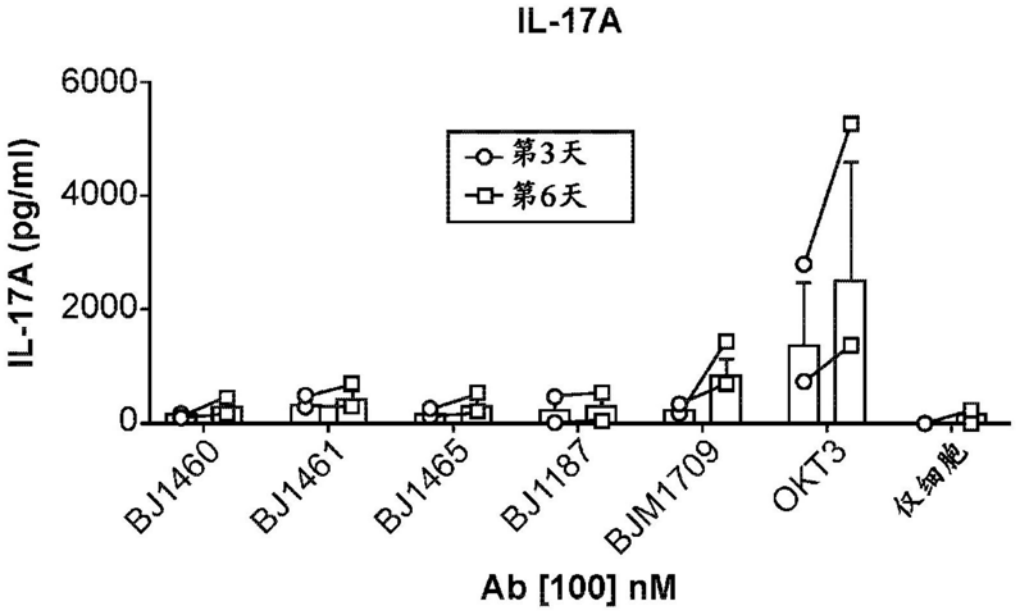

IL-17A
IL-17A (pg/ml)
6000
4000
2000
0
第3天
第6天
BJ1460
BJ1461
BJ1465
BJ1187
BJM1709
OKT3
仅细胞
Ab [100] nM

图93C

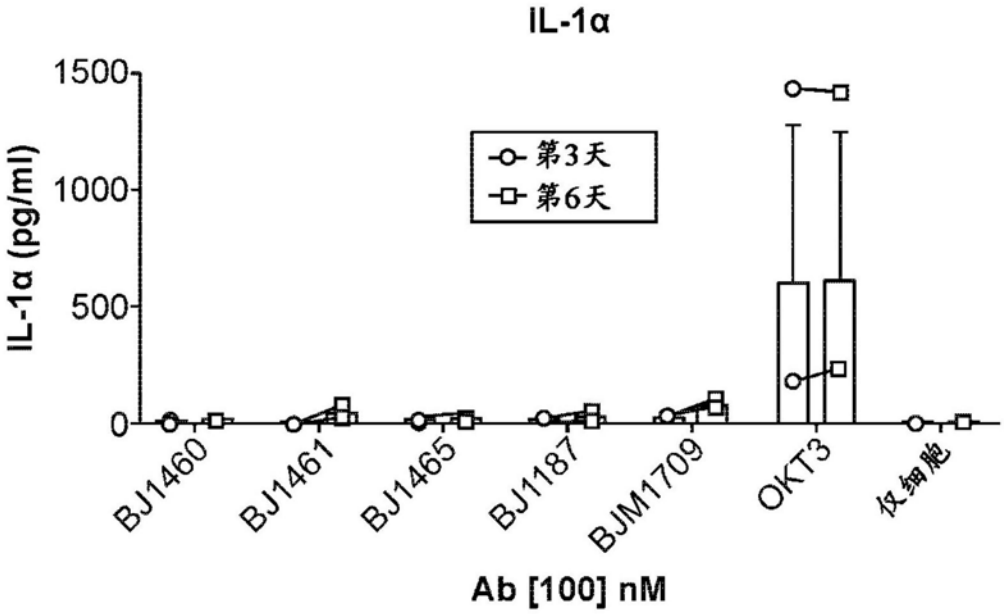

IL-1α
IL-1α (pg/ml)
1500
1000
500
0
第3天
第6天
BJ1460
BJ1461
BJ1465
BJ1187
BJM1709
OKT3
仅细胞
Ab [100] nM

图93D

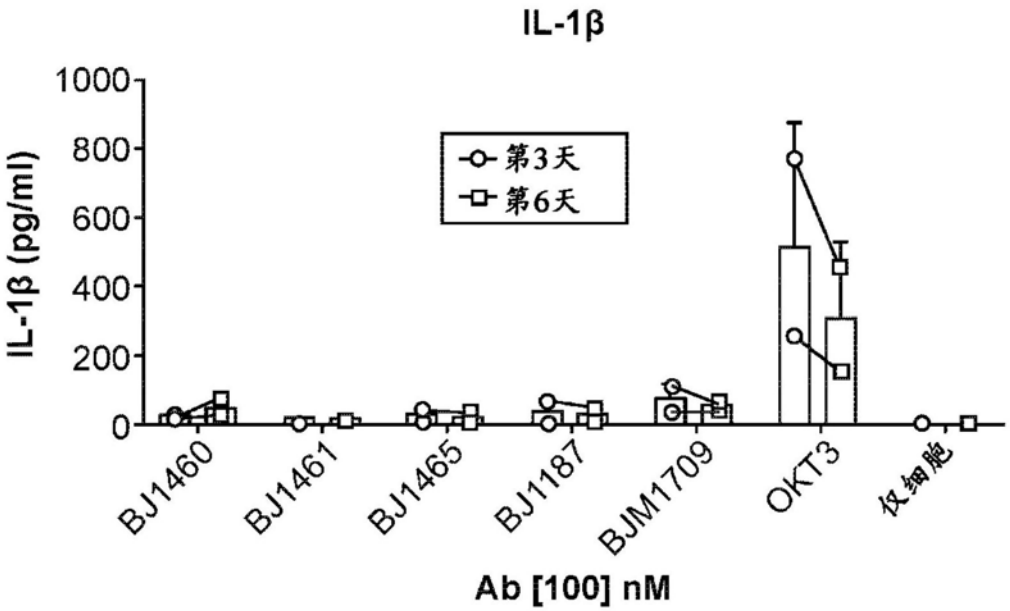

IL-1β
IL-1β (pg/ml)
1000
800
600
400
200
0
第3天
第6天
BJ1460
BJ1461
BJ1465
BJ1187
BJM1709
OKT3
仅细胞
Ab [100] nM

图93E

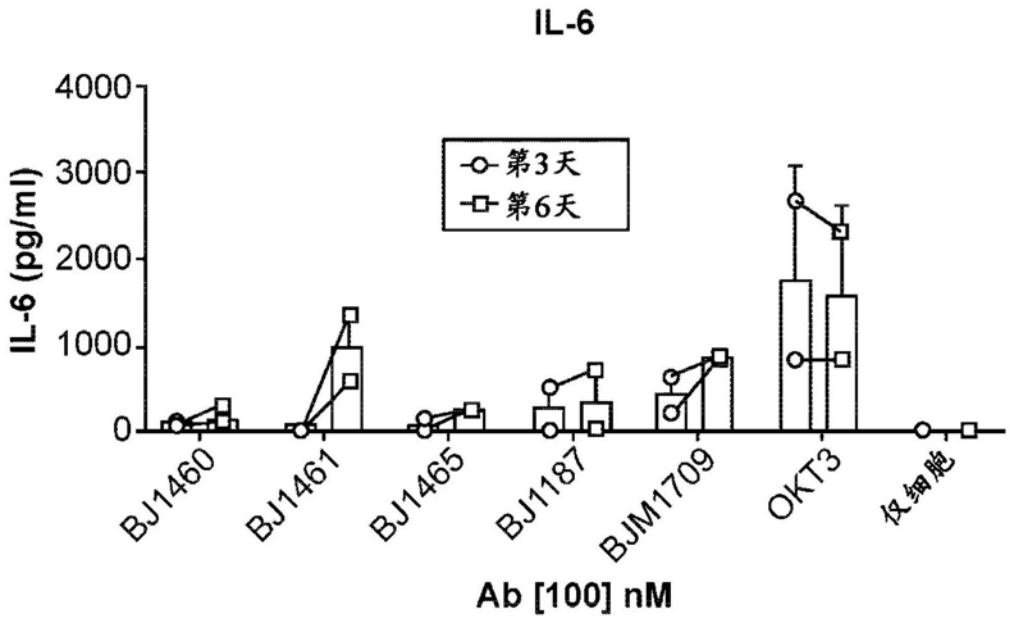

IL-6
IL-6 (pg/ml)
4000
3000
2000
1000
0
第3天
第6天
BJ1460
BJ1461
BJ1465
BJ1187
BJM1709
OKT3
仅细胞
Ab [100] nM

图93F

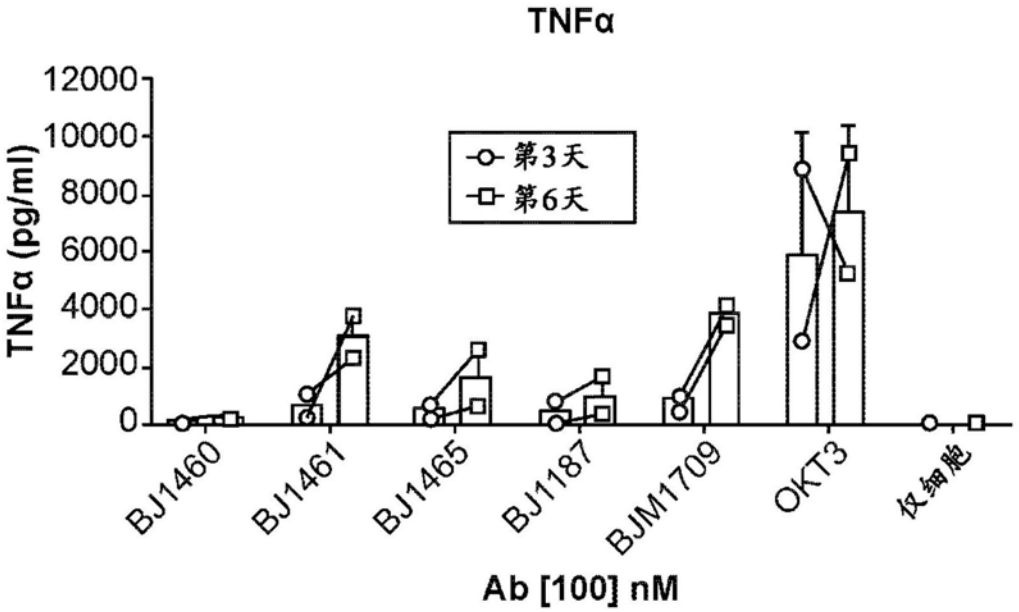

TNFα
TNFα (pg/ml)
12000
10000
8000
6000
4000
2000
0
第3天
第6天
BJ1460
BJ1461
BJ1465
BJ1187
BJM1709
OKT3
仅细胞
Ab [100] nM

图93G

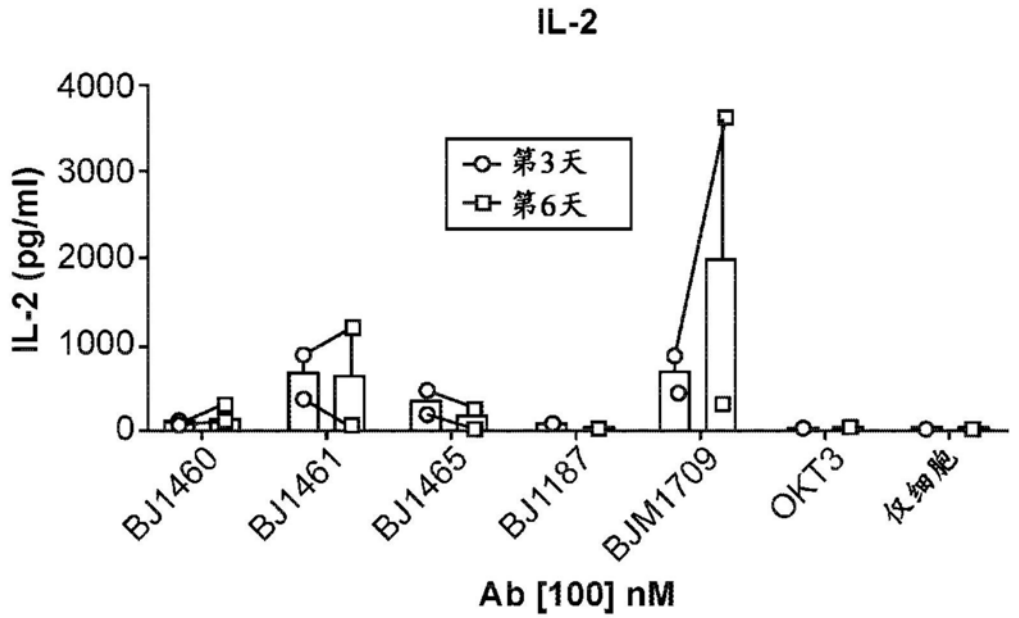

IL-2
IL-2 (pg/ml)
4000
3000
2000
1000
0
第3天
第6天
BJ1460
BJ1461
BJ1465
BJ1187
BJM1709
OKT3
仅细胞
Ab [100] nM

图93H

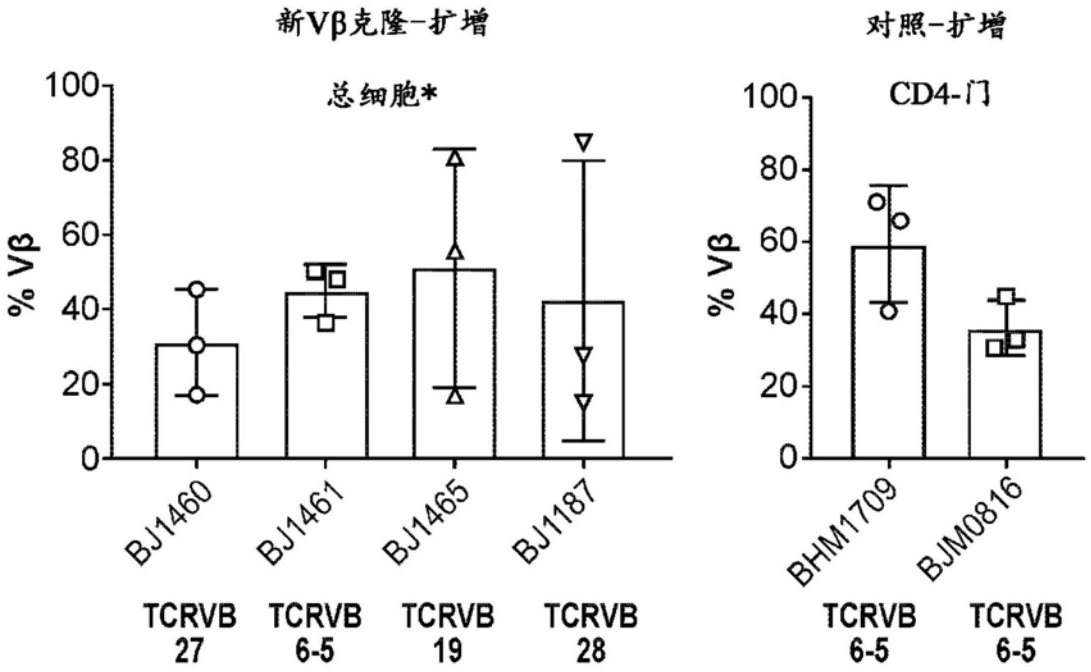

新Vβ克隆-扩增
总细胞*
% Vβ
100
80
60
40
20
0
BJ1460
BJ1461
BJ1465
BJ1187
TCRVB 27
TCRVB 6-5
TCRVB 19
TCRVB 28
对照-扩增
CD4-门
% Vβ
BHM1709
BJM0816
TCRVB 6-5
TCRVB 6-5

图94

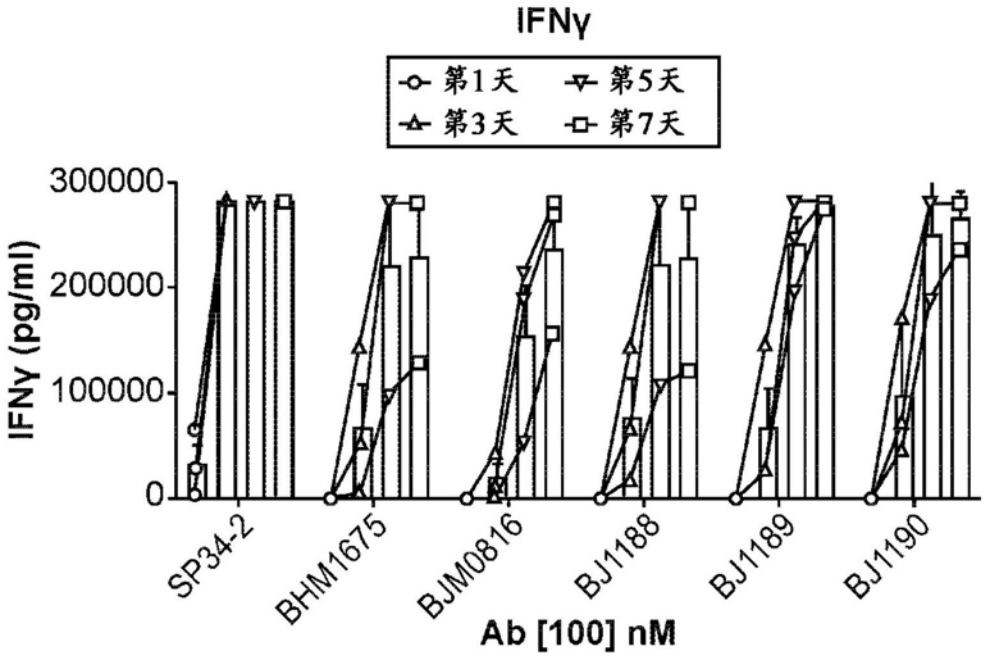

IFNγ
第1天
第5天
第3天
第7天
IFNγ (pg/ml)
300000
200000
100000
0
SP34-2
BHM1675
BJM0816
BJ1188
BJ1189
BJ1190
Ab [100] nM

图95A

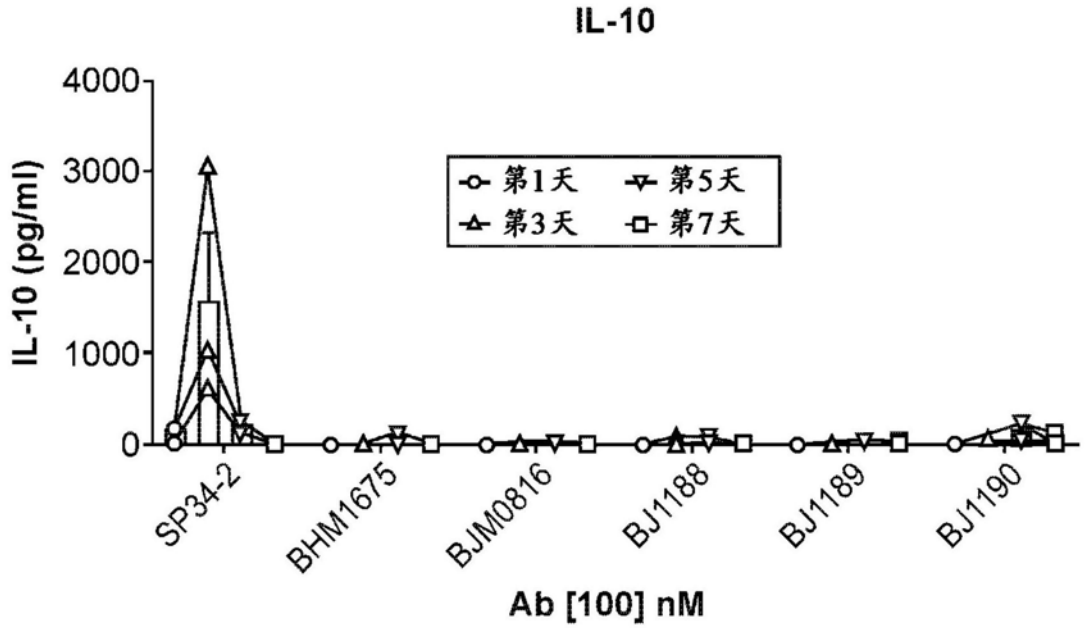

IL-10
4000
3000
2000
1000
0
IL-10 (pg/ml)
第1天
第5天
第3天
第7天
SP34-2
BHM1675
BJM0816
BJ1188
BJ1189
BJ1190
Ab [100] nM

图95B

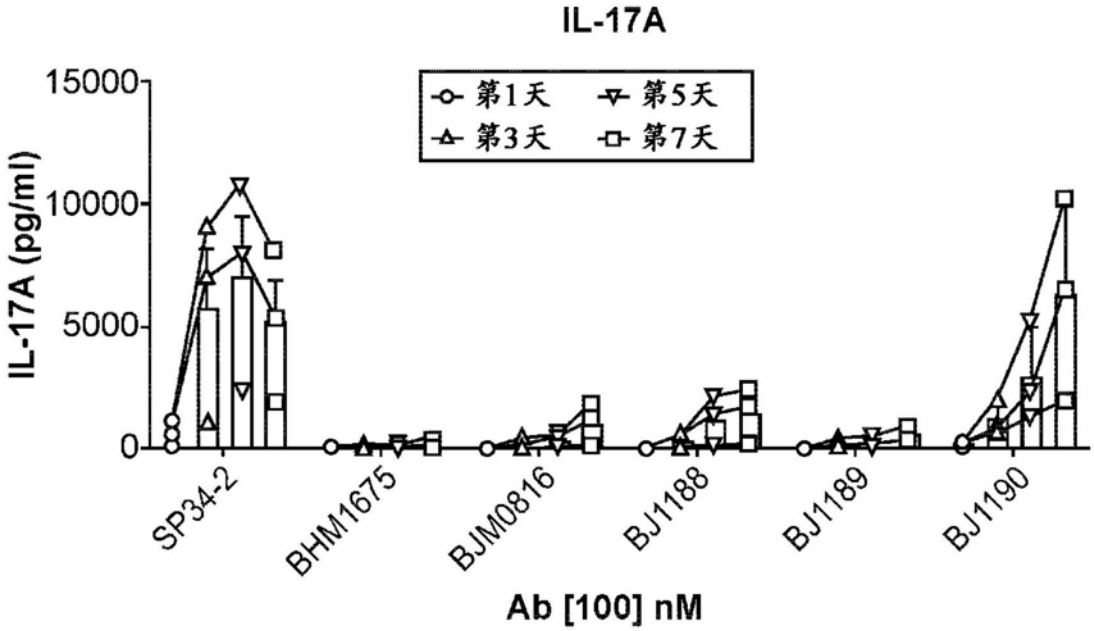

IL-17A
15000
10000
5000
0
IL-17A (pg/ml)
第1天
第5天
第3天
第7天
SP34-2
BHM1675
BJM0816
BJ1188
BJ1189
BJ1190
Ab [100] nM

图95C

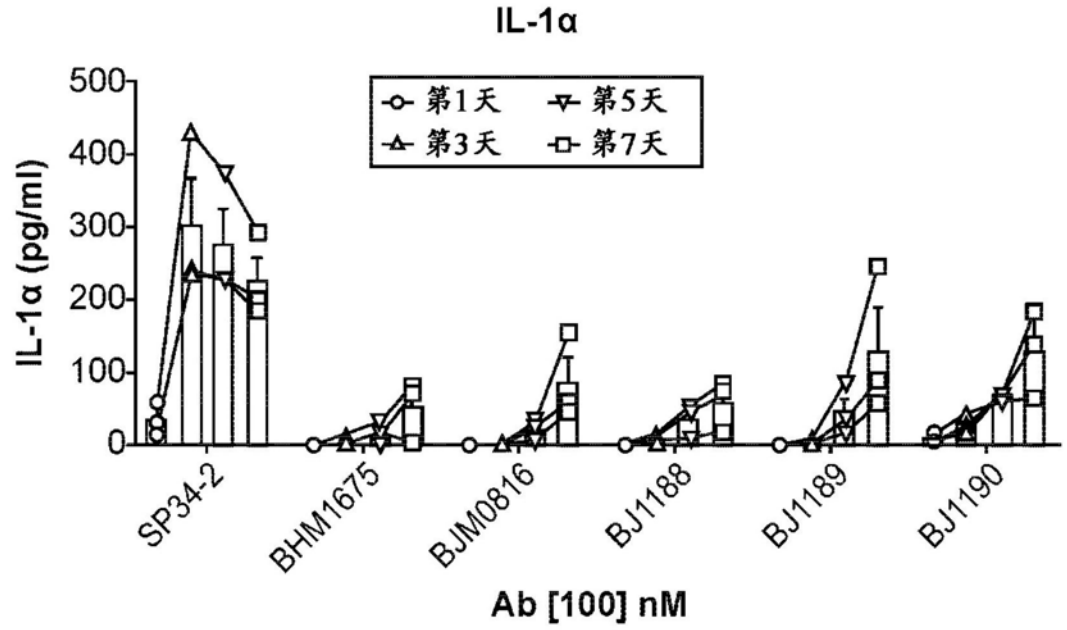

IL-1α
第1天
第5天
第3天
第7天
IL-1α (pg/ml)
500
400
300
200
100
0
SP34-2
BHM1675
BJM0816
BJ1188
BJ1189
BJ1190
Ab [100] nM

图95D

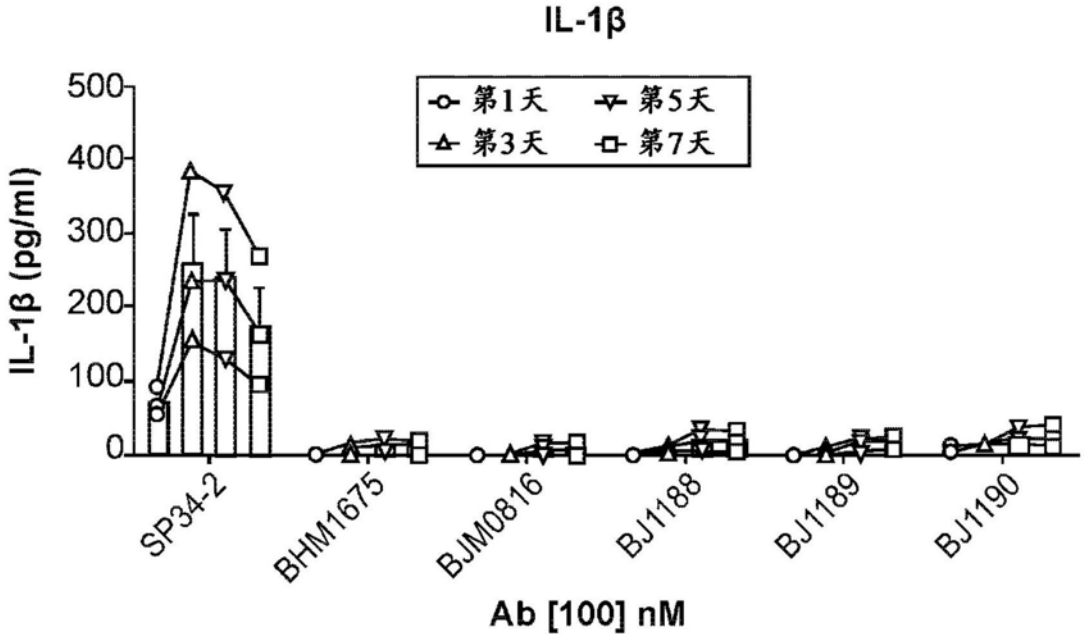

IL-1β
第1天
第5天
第3天
第7天
IL-1β (pg/ml)
500
400
300
200
100
0
SP34-2
BHM1675
BJM0816
BJ1188
BJ1189
BJ1190
Ab [100] nM

图95E

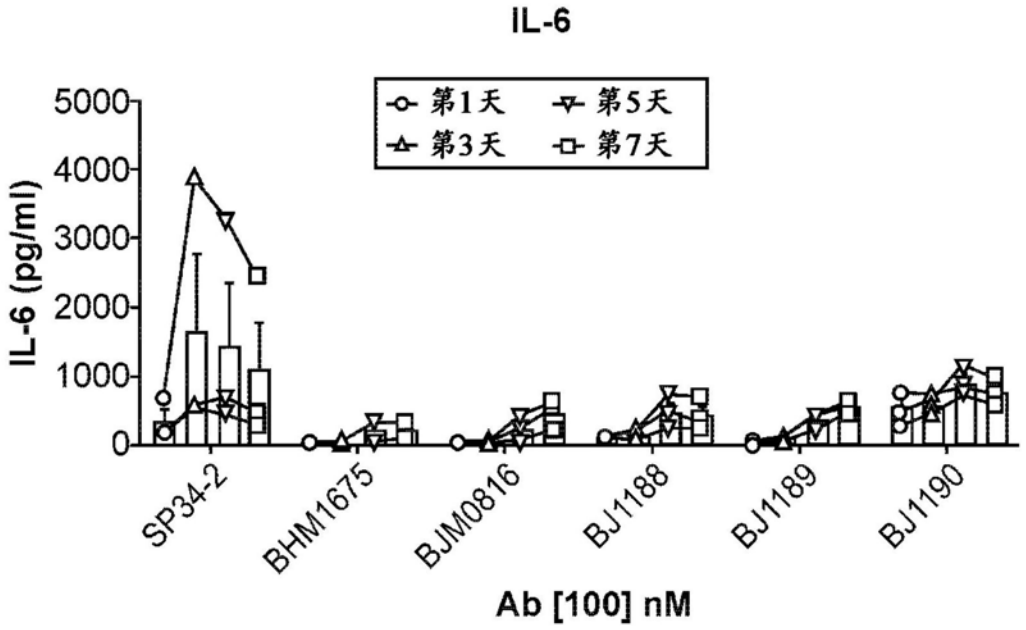

IL-6
第1天
第5天
第3天
第7天
IL-6 (pg/ml)
5000
4000
3000
2000
1000
0
SP34-2
BHM1675
BJM0816
BJ1188
BJ1189
BJ1190
Ab [100] nM

图95F

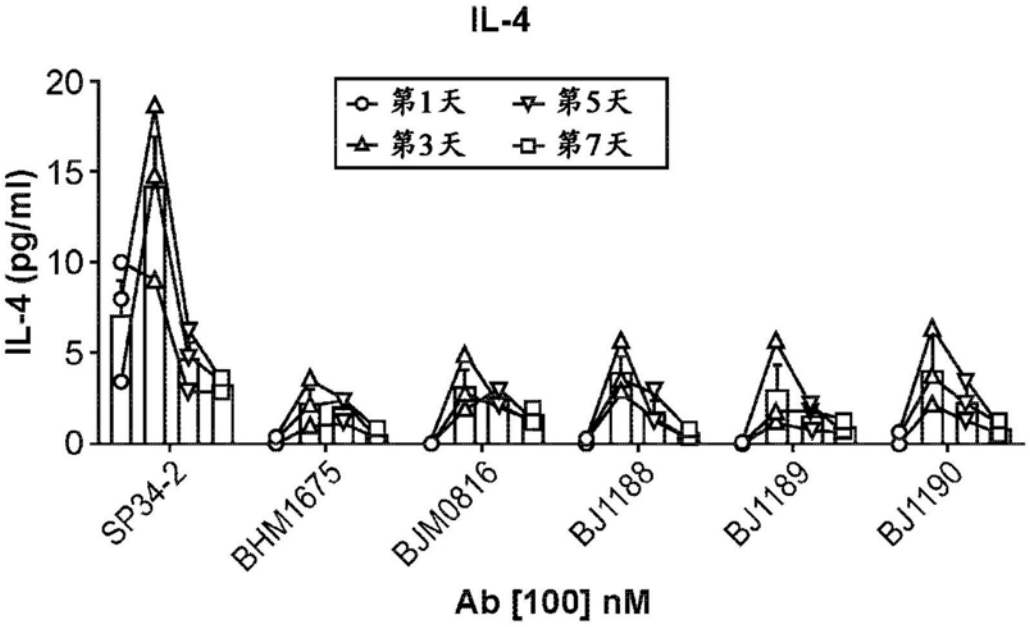

IL-4
第1天
第5天
第3天
第7天
IL-4 (pg/ml)
20
15
10
5
0
SP34-2
BHM1675
BJM0816
BJ1188
BJ1189
BJ1190
Ab [100] nM

图95G

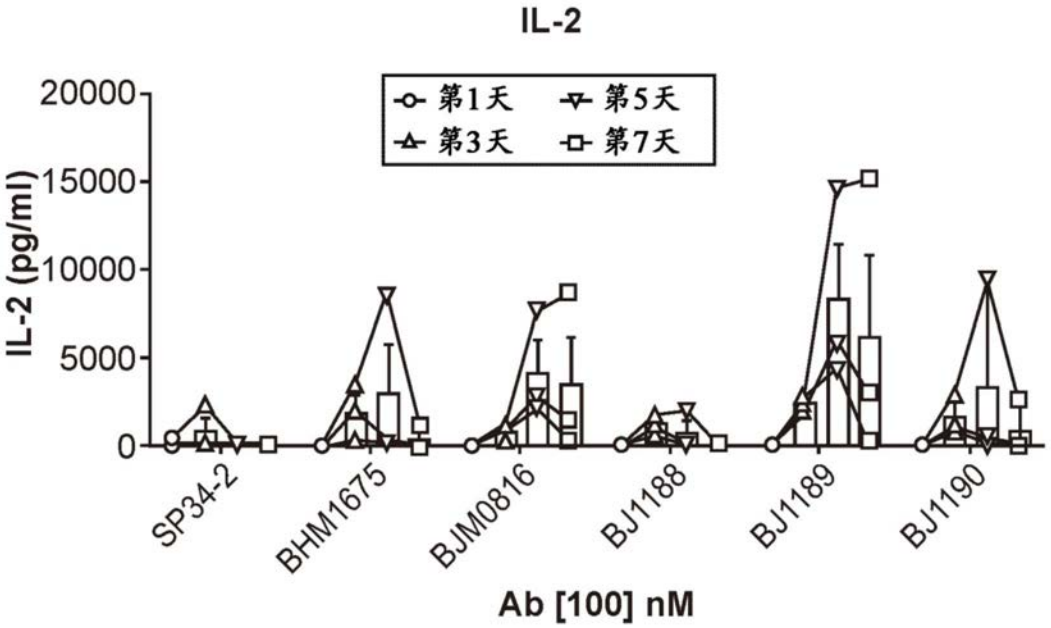

IL-2
第1天
第5天
第3天
第7天
IL-2 (pg/ml)
20000
15000
10000
5000
0
SP34-2
BHM1675
BJM0816
BJ1188
BJ1189
BJ1190
Ab [100] nM

图95H

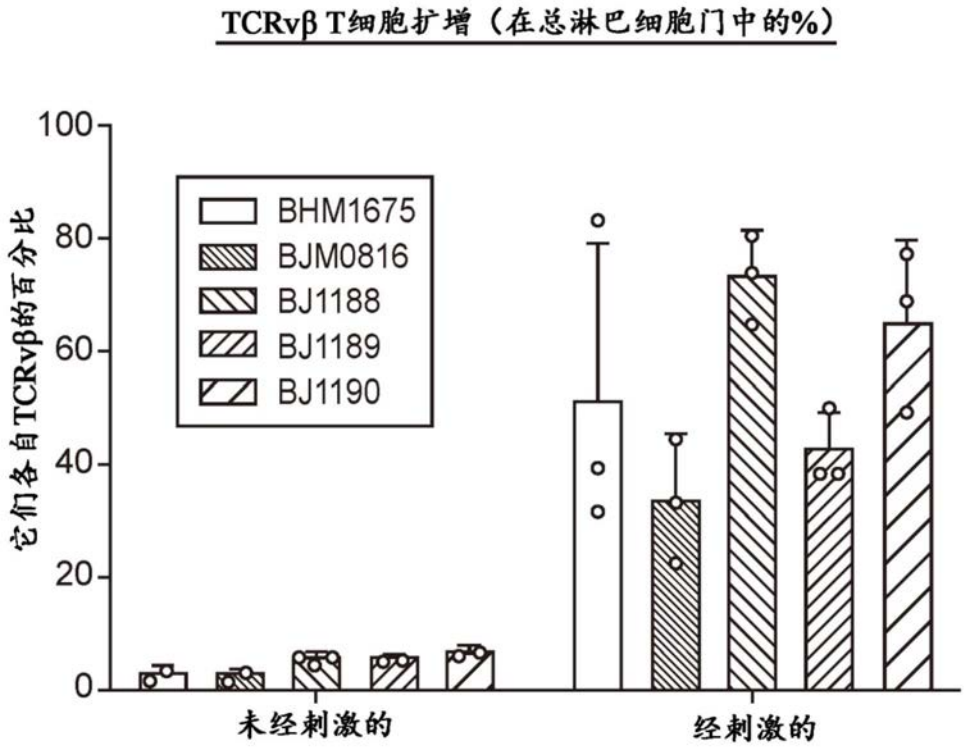

TCRvβ T细胞扩增（在总淋巴细胞门中的%）
它们各自TCRvβ的百分比
100
80
60
40
20
0
BHM1675
BJM0816
BJ1188
BJ1189
BJ1190
未经刺激的
经刺激的

图96

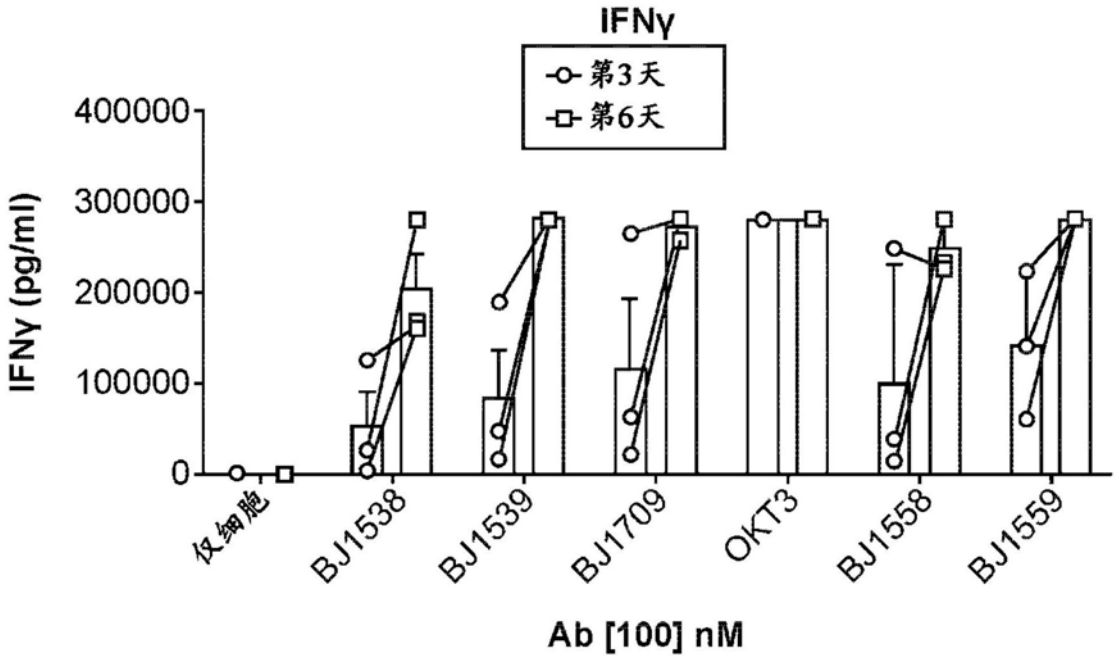

IFNγ
第3天
第6天
400000
300000
200000
100000
0
IFNγ (pg/ml)
仅细胞
BJ1538
BJ1539
BJ1709
OKT3
BJ1558
BJ1559
Ab [100] nM

图97A

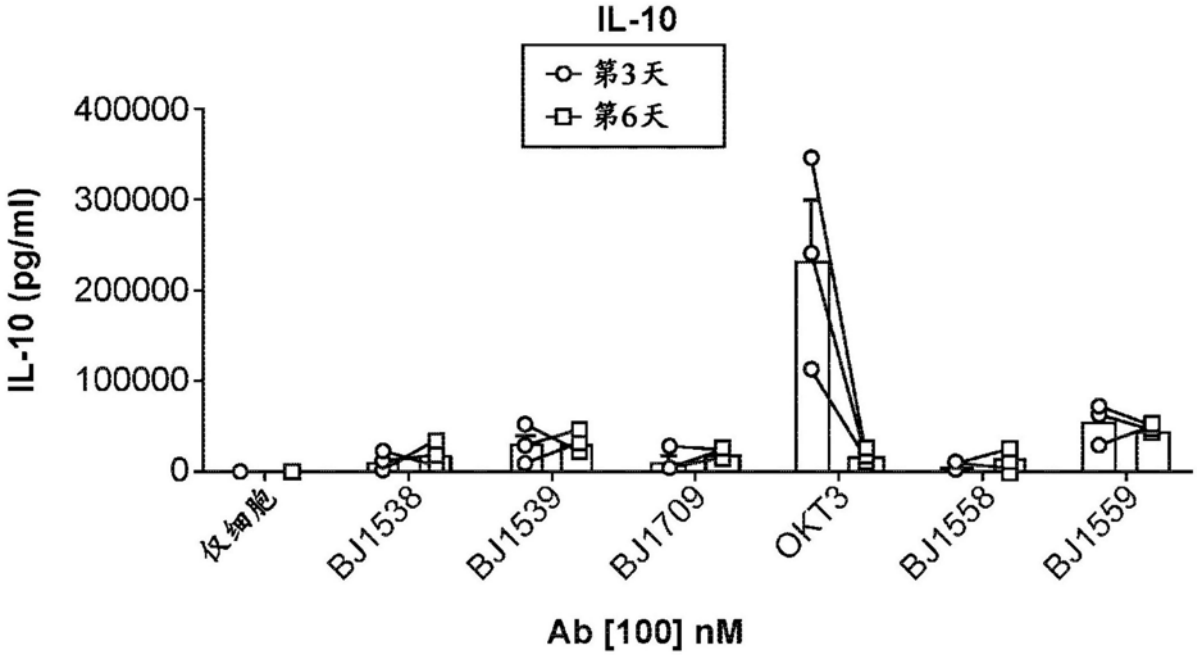

IL-10
第3天
第6天
400000
300000
200000
100000
0
IL-10 (pg/ml)
仅细胞
BJ1538
BJ1539
BJ1709
OKT3
BJ1558
BJ1559
Ab [100] nM

图97B

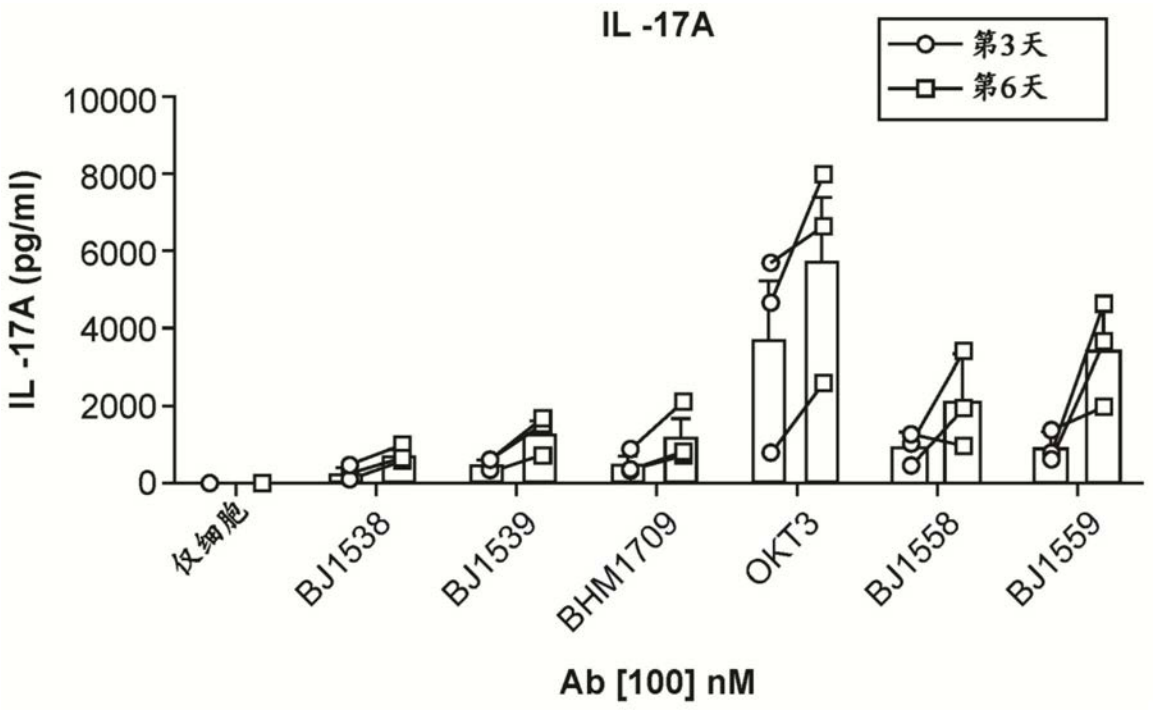

IL -17A
第3天
第6天
IL -17A (pg/ml)
10000
8000
6000
4000
2000
0
仅细胞
BJ1538
BJ1539
BHM1709
OKT3
BJ1558
BJ1559
Ab [100] nM

图97C

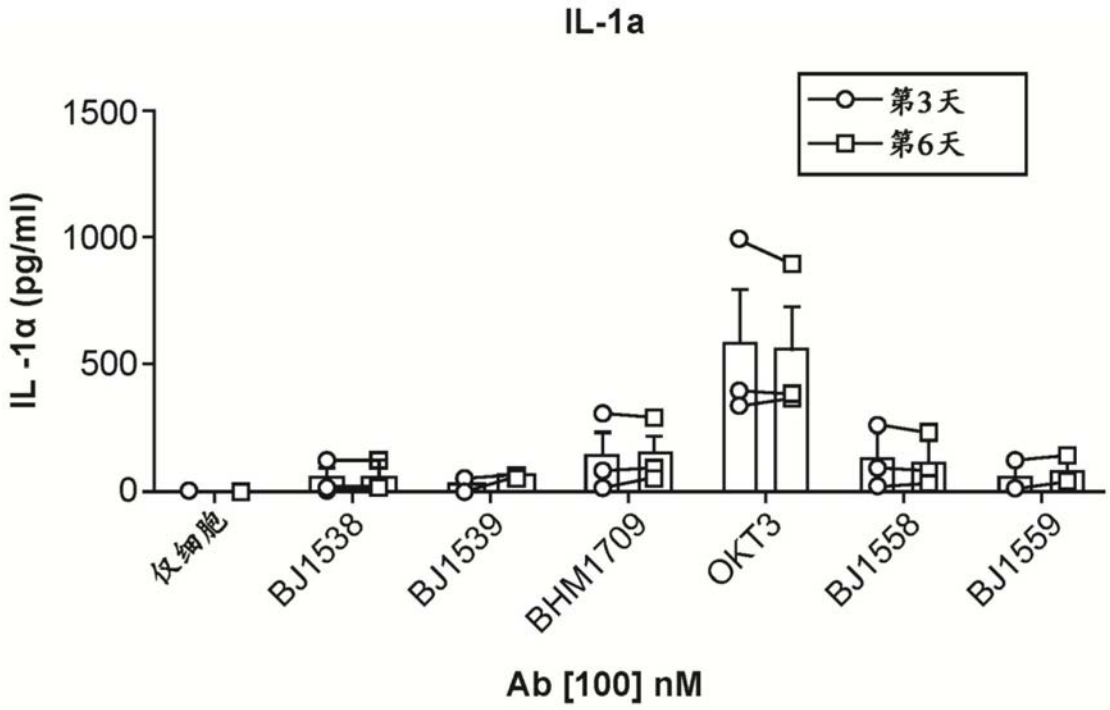

IL-1a
第3天
第6天
IL -1α (pg/ml)
1500
1000
500
0
仅细胞
BJ1538
BJ1539
BHM1709
OKT3
BJ1558
BJ1559
Ab [100] nM

图97D

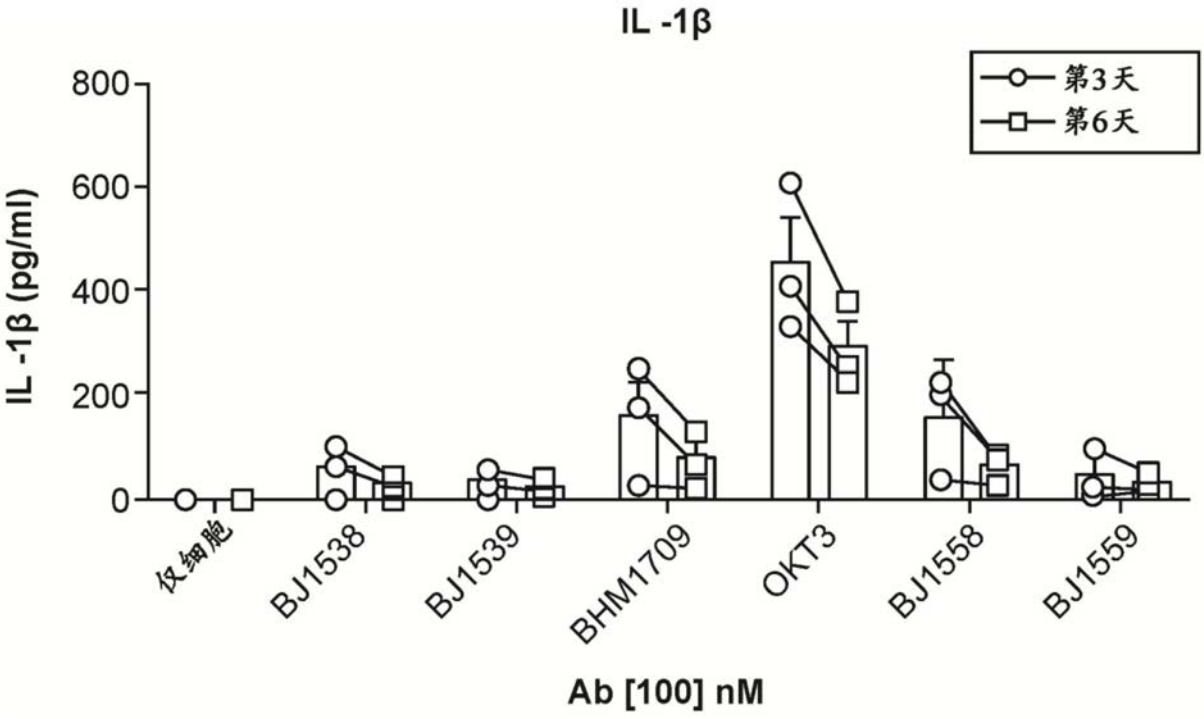

IL -1β
第3天
第6天
IL -1β (pg/ml)
800
600
400
200
0
仅细胞
BJ1538
BJ1539
BHM1709
OKT3
BJ1558
BJ1559
Ab [100] nM

图97E

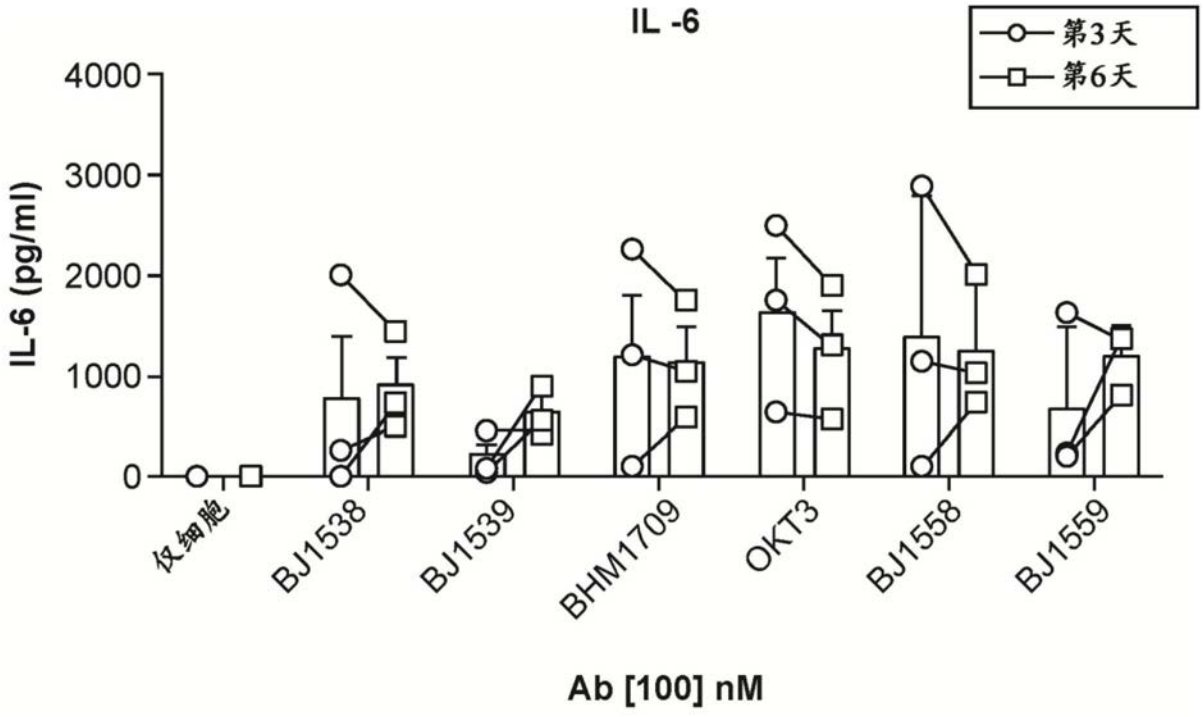

IL -6
第3天
第6天
IL-6 (pg/ml)
4000
3000
2000
1000
0
仅细胞
BJ1538
BJ1539
BHM1709
OKT3
BJ1558
BJ1559
Ab [100] nM

图97F

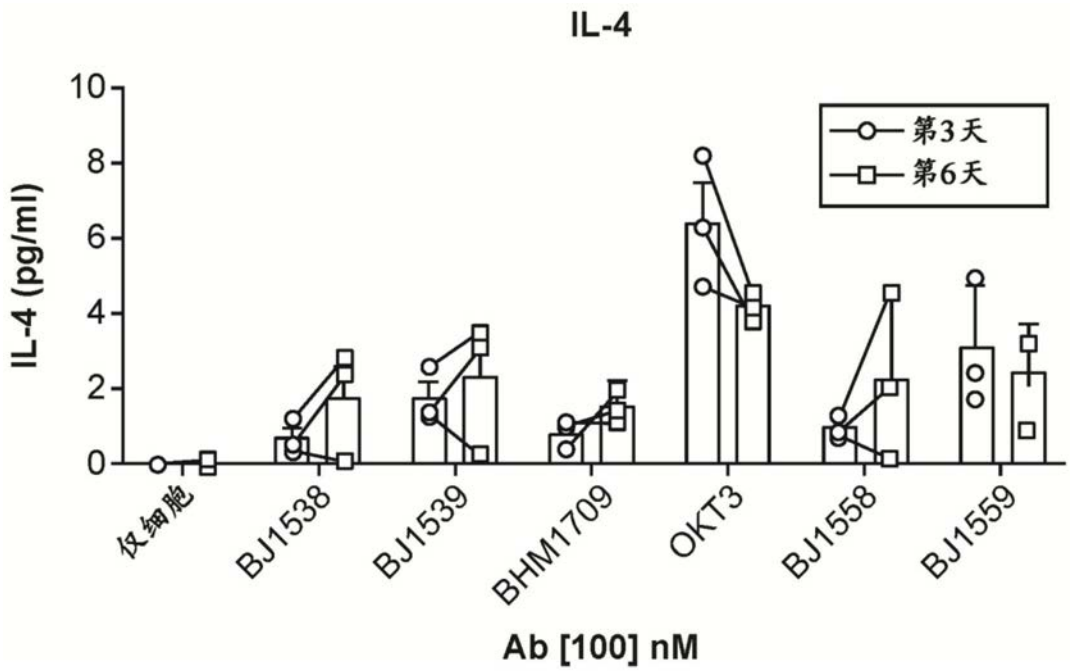

IL-4
IL-4 (pg/ml)
10
8
6
4
2
0
第3天
第6天
仅细胞
BJ1538
BJ1539
BHM1709
OKT3
BJ1558
BJ1559
Ab [100] nM

图97G

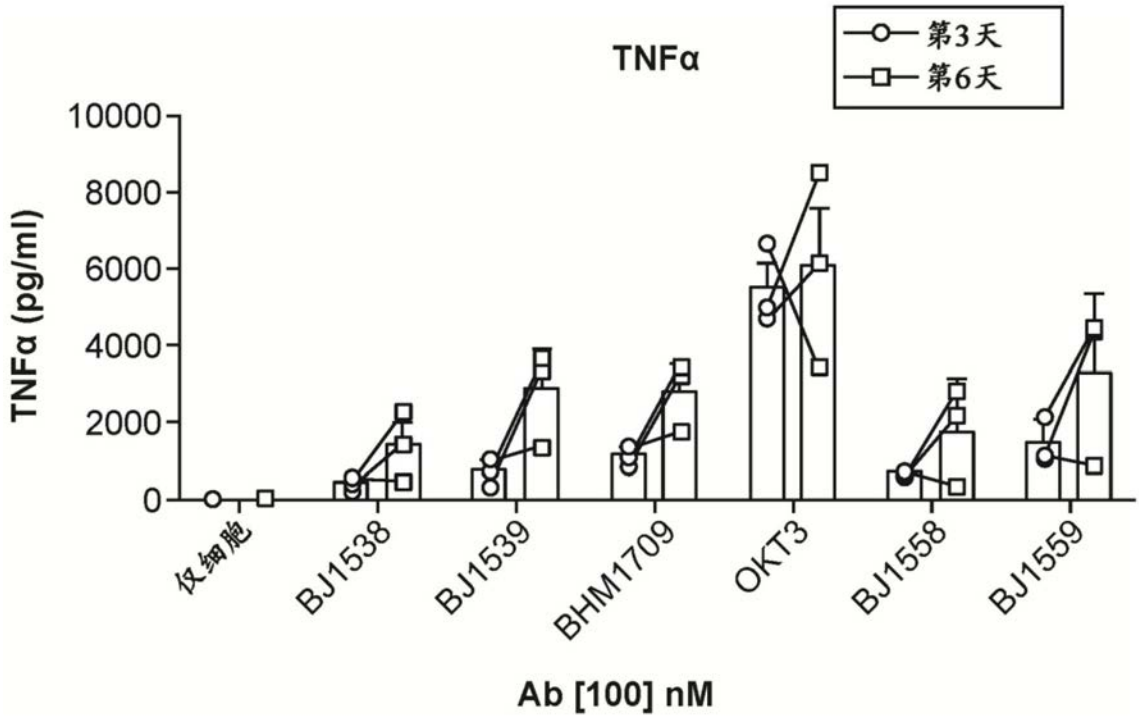

TNFα
TNFα (pg/ml)
10000
8000
6000
4000
2000
0
第3天
第6天
仅细胞
BJ1538
BJ1539
BHM1709
OKT3
BJ1558
BJ1559
Ab [100] nM

图97H

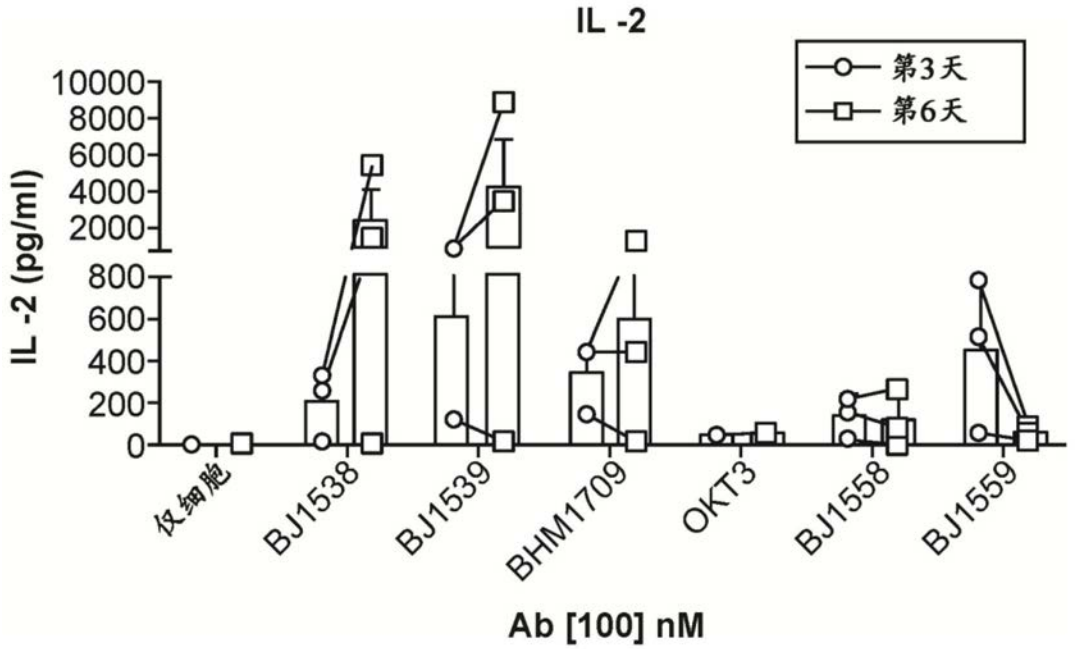

IL -2
第3天
第6天
IL -2 (pg/ml)
10000
8000
6000
4000
2000
800
600
400
200
0
仅细胞
BJ1538
BJ1539
BHM1709
OKT3
BJ1558
BJ1559
Ab [100] nM

图97I

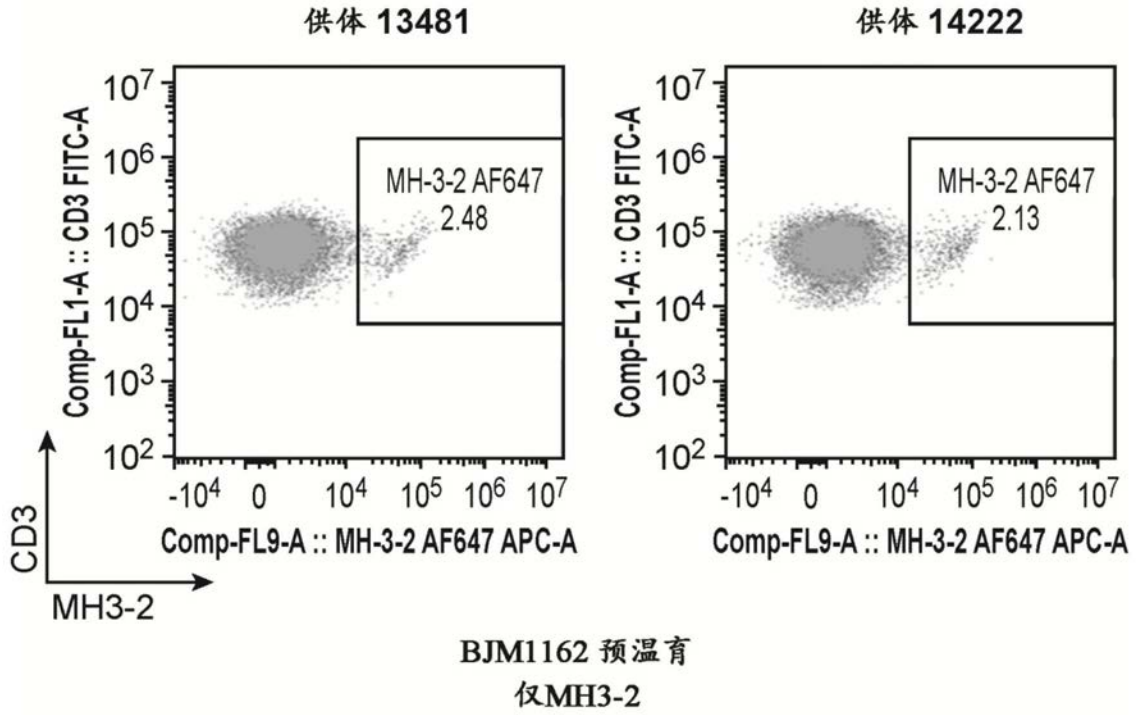

供体 13481
供体 14222
MH-3-2 AF647
2.48
MH-3-2 AF647
2.13
Comp-FL1-A :: CD3 FITC-A
Comp-FL9-A :: MH-3-2 AF647 APC-A
CD3
MH3-2
BJM1162 预温育
仅MH3-2

图98

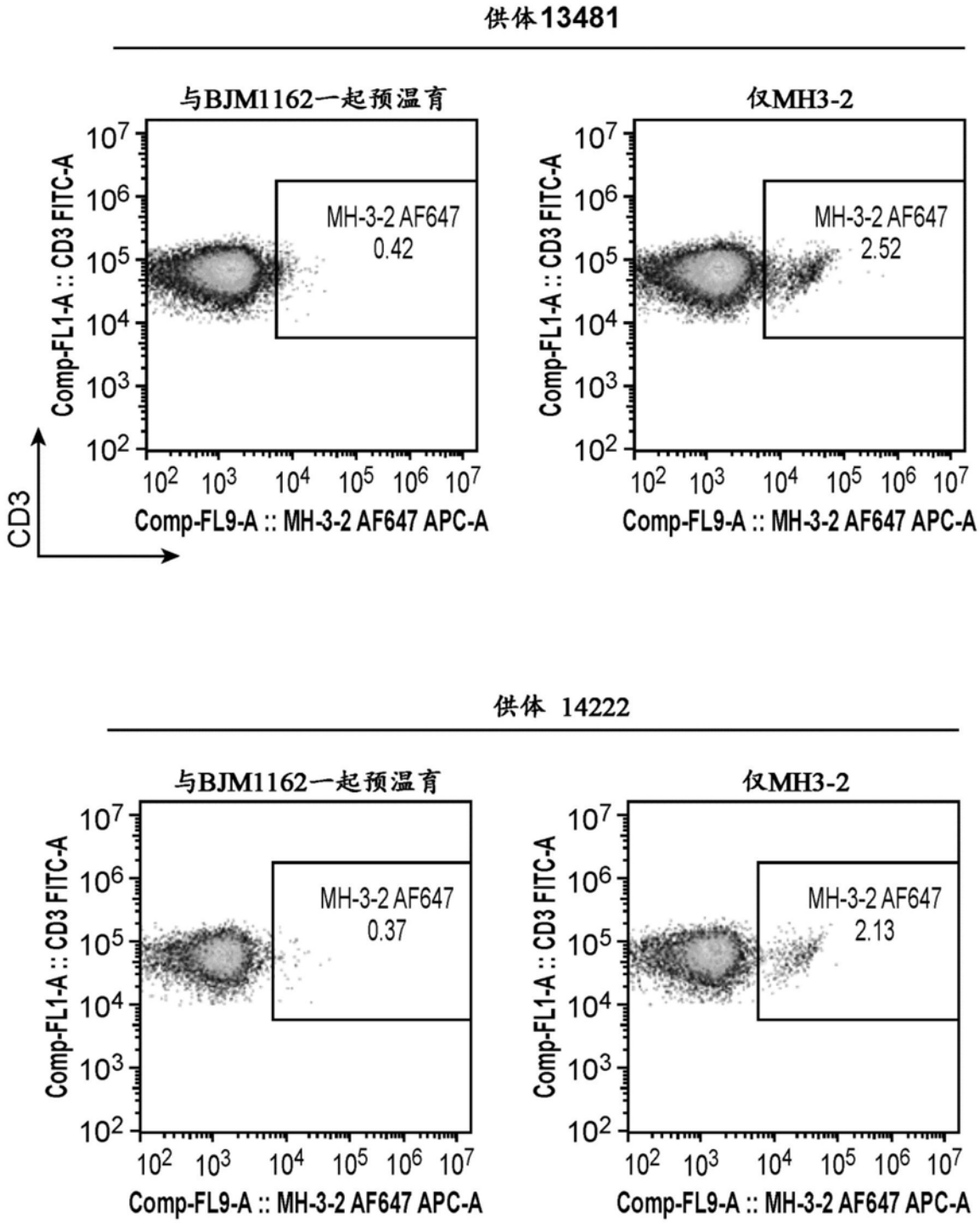

供体13481
与BJM1162一起预温育
仅MH3-2
MH-3-2 AF647
0.42
MH-3-2 AF647
2.52
Comp-FL1-A :: CD3 FITC-A
Comp-FL9-A :: MH-3-2 AF647 APC-A
CD3
供体 14222
与BJM1162一起预温育
仅MH3-2
MH-3-2 AF647
0.37
MH-3-2 AF647
2.13

图99

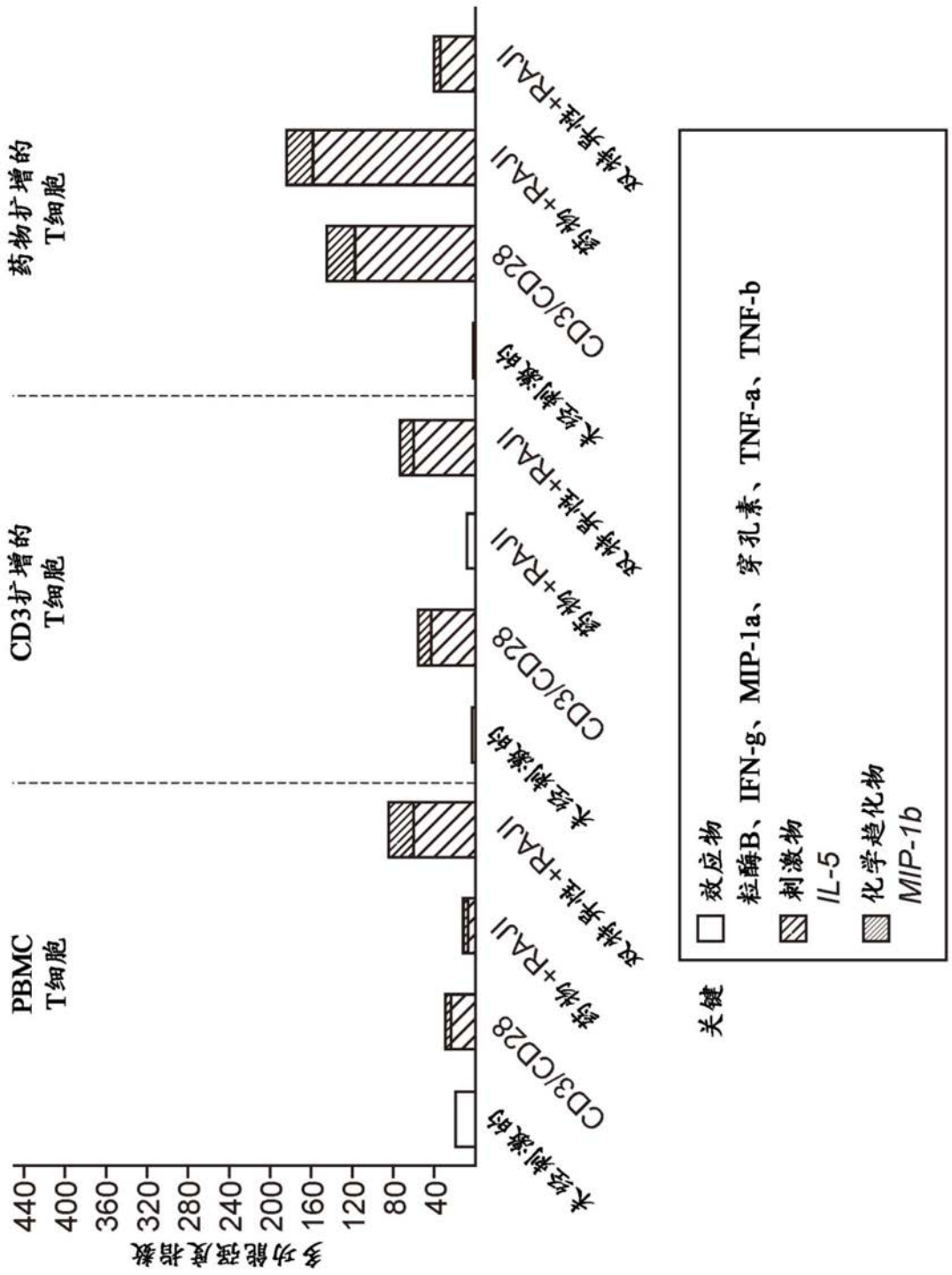

多功能强度指数
440
400
360
320
280
240
200
160
120
80
40
PBMC
T细胞
CD3扩增的
T细胞
药物扩增的
T细胞
未经刺激的
CD3/CD28
药物+RAJI
交联späte+RAJI
关键
效应物
粒酶B、IFN-g、MIP-1a、穿孔素、TNF-a、TNF-b
刺激物
IL-5
化学趋化物
MIP-1b

图100A

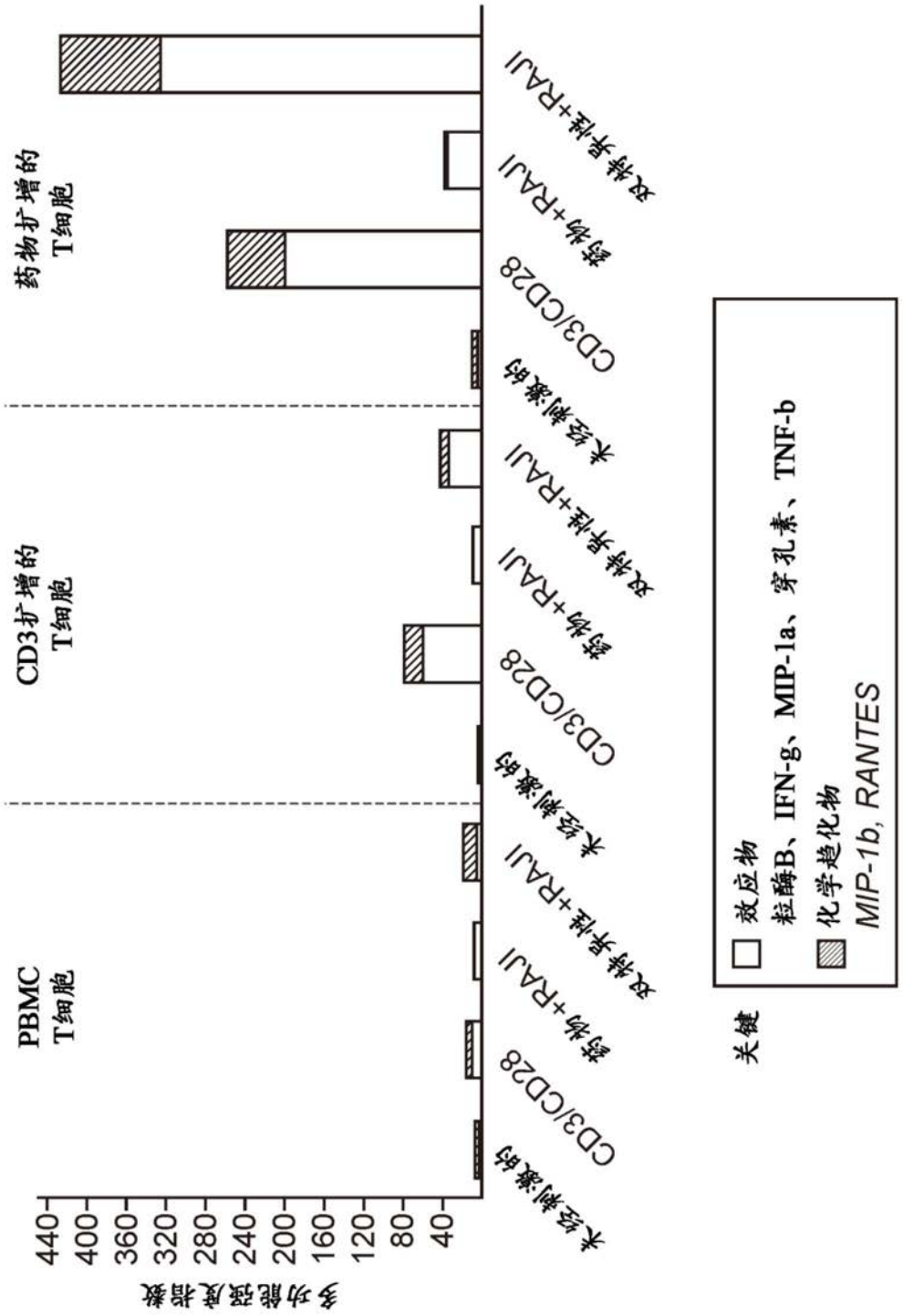

多功能强度指数
440
400
360
320
280
240
200
160
120
80
40
未经刺激的
CD3/CD28
药物+RAJI
交换平台+RAJI
未经刺激的
CD3/CD28
药物+RAJI
交换平台+RAJI
未经刺激的
CD3/CD28
药物+RAJI
交换平台+RAJI
PBMC T细胞
CD3扩增的 T细胞
药物扩增的 T细胞
关键
效应物
粒酶B、IFN-g、MIP-1a、穿孔素、TNF-b
化学趋化物
MIP-1b, RANTES

图100B

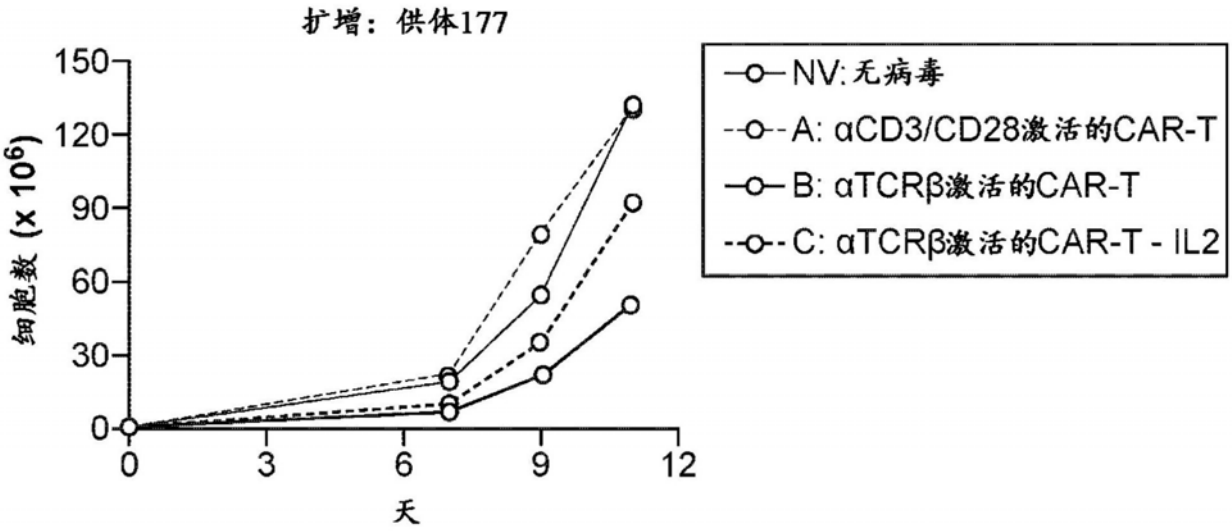

扩增：供体177
细胞数 (x 10^6)
150
120
90
60
30
0
0
3
6
9
12
天
NV:无病毒
A: αCD3/CD28激活的CAR-T
B: αTCRβ激活的CAR-T
C: αTCRβ激活的CAR-T - IL2

图101A

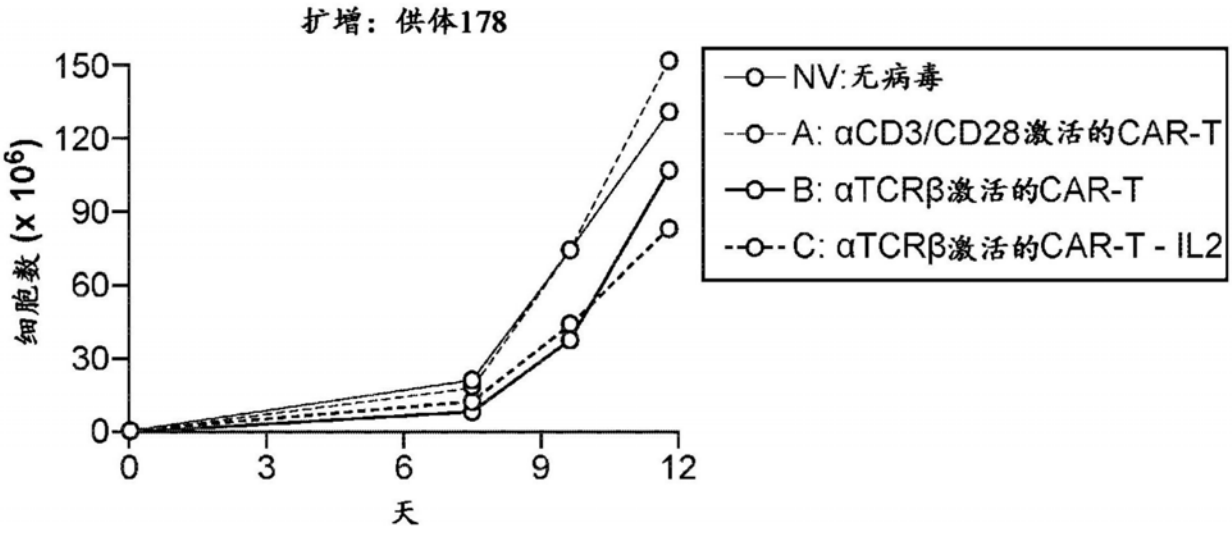

扩增：供体178
细胞数 (x 10^6)
150
120
90
60
30
0
0
3
6
9
12
天
NV:无病毒
A: αCD3/CD28激活的CAR-T
B: αTCRβ激活的CAR-T
C: αTCRβ激活的CAR-T - IL2

图101B

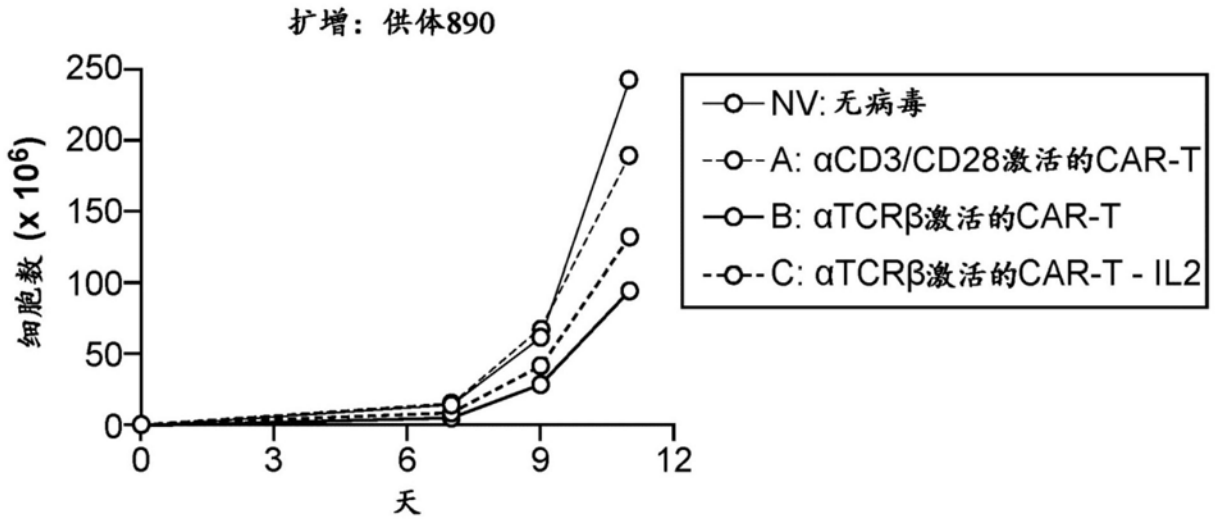

扩增：供体890
细胞数 (x 10^6)
250
200
150
100
50
0
0
3
6
9
12
天
NV: 无病毒
A: αCD3/CD28激活的CAR-T
B: αTCRβ激活的CAR-T
C: αTCRβ激活的CAR-T - IL2

图101C

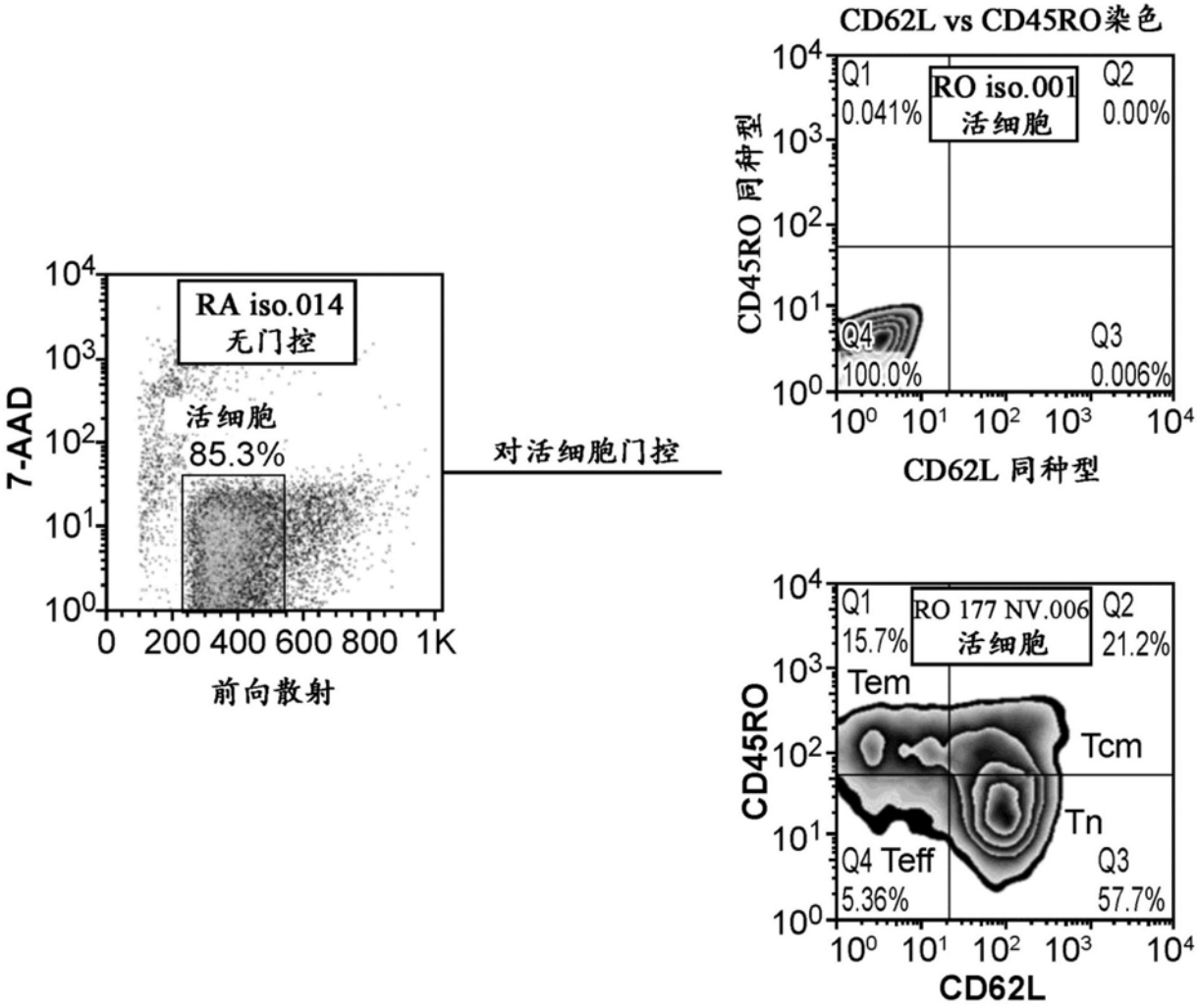

RA iso.014
无门控
7-AAD
活细胞
85.3%
前向散射
对活细胞门控
CD62L vs CD45RO染色
RO iso.001
活细胞
Q1
0.041%
Q2
0.00%
Q4
100.0%
Q3
0.006%
CD45RO 同种型
CD62L 同种型
RO 177 NV.006
活细胞
Q1
15.7%
Q2
21.2%
Tem
Tcm
Tn
Q4 Teff
5.36%
Q3
57.7%
CD45RO
CD62L

图102

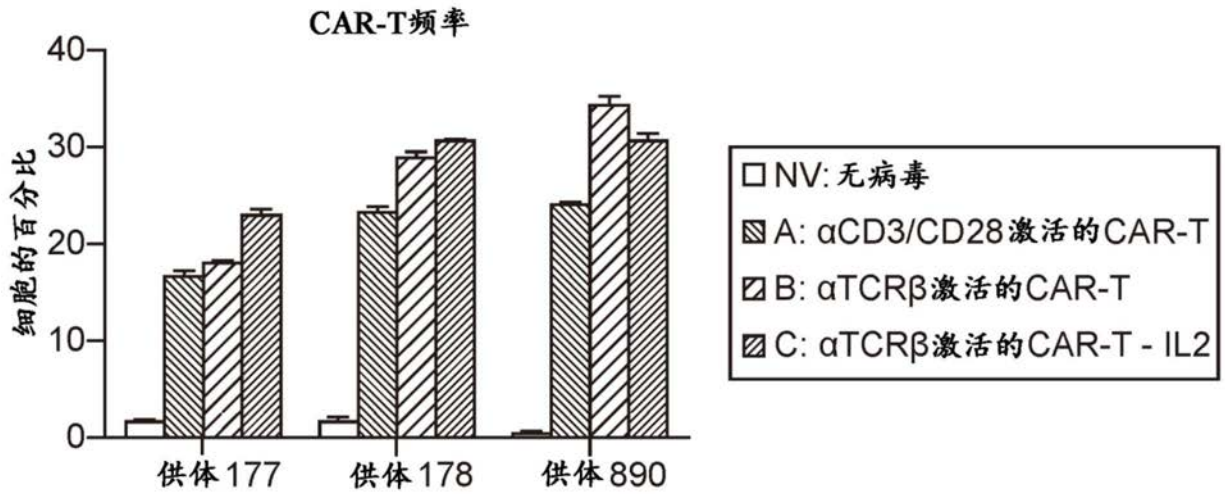

CAR-T频率
细胞的百分比
40
30
20
10
0
供体177
供体178
供体890
NV: 无病毒
A: αCD3/CD28激活的CAR-T
B: αTCRβ激活的CAR-T
C: αTCRβ激活的CAR-T - IL2

图103

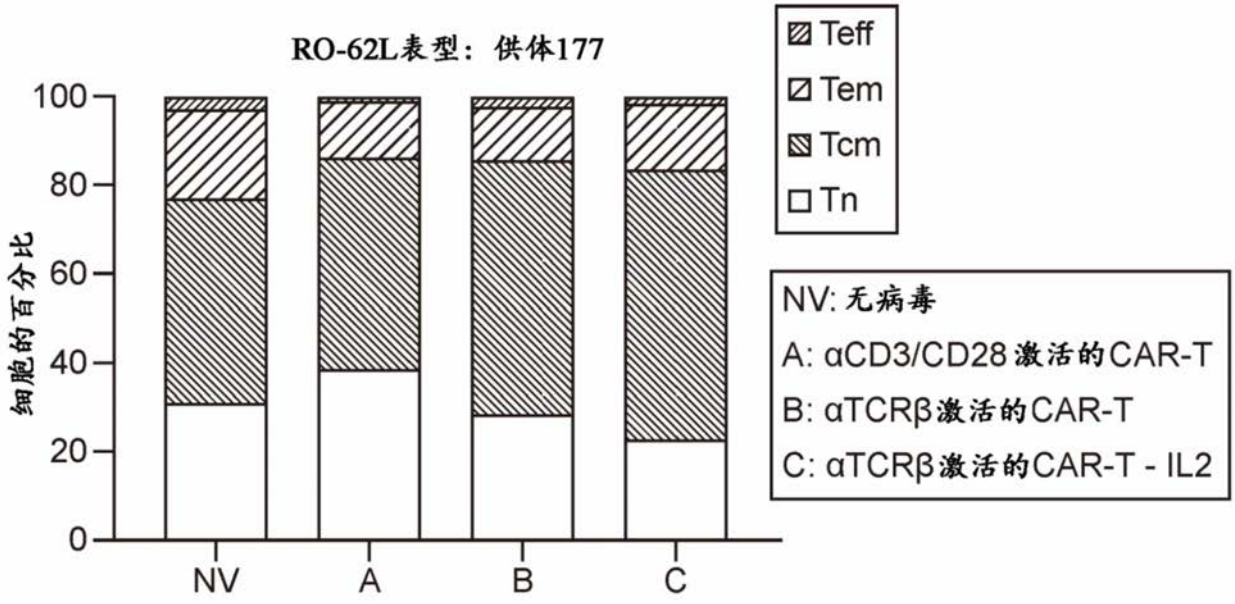

RO-62L表型：供体177
细胞的百分比
100
80
60
40
20
0
NV
A
B
C
Teff
Tem
Tcm
Tn
NV: 无病毒
A: αCD3/CD28激活的CAR-T
B: αTCRβ激活的CAR-T
C: αTCRβ激活的CAR-T - IL2

图104A

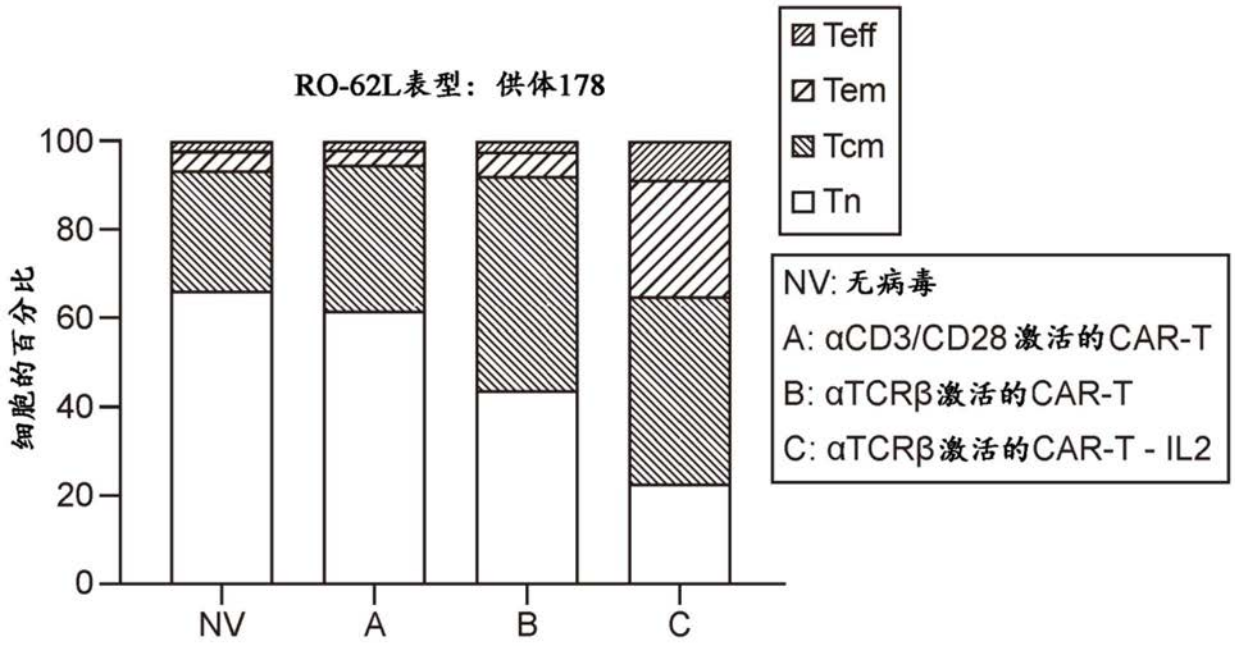

RO-62L表型：供体178
Teff
Tem
Tcm
Tn
细胞的百分比
100
80
60
40
20
0
NV
A
B
C
NV: 无病毒
A: αCD3/CD28激活的CAR-T
B: αTCRβ激活的CAR-T
C: αTCRβ激活的CAR-T - IL2

图104B

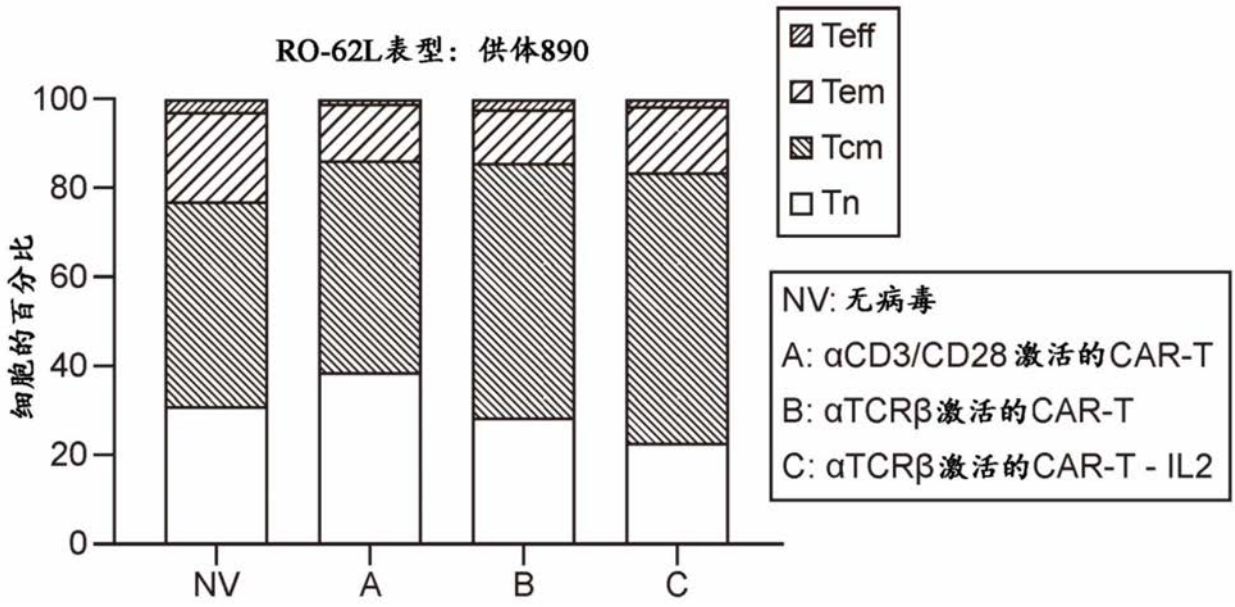

RO-62L表型：供体890
Teff
Tem
Tcm
Tn
细胞的百分比
100
80
60
40
20
0
NV
A
B
C
NV: 无病毒
A: αCD3/CD28激活的CAR-T
B: αTCRβ激活的CAR-T
C: αTCRβ激活的CAR-T - IL2

图104C

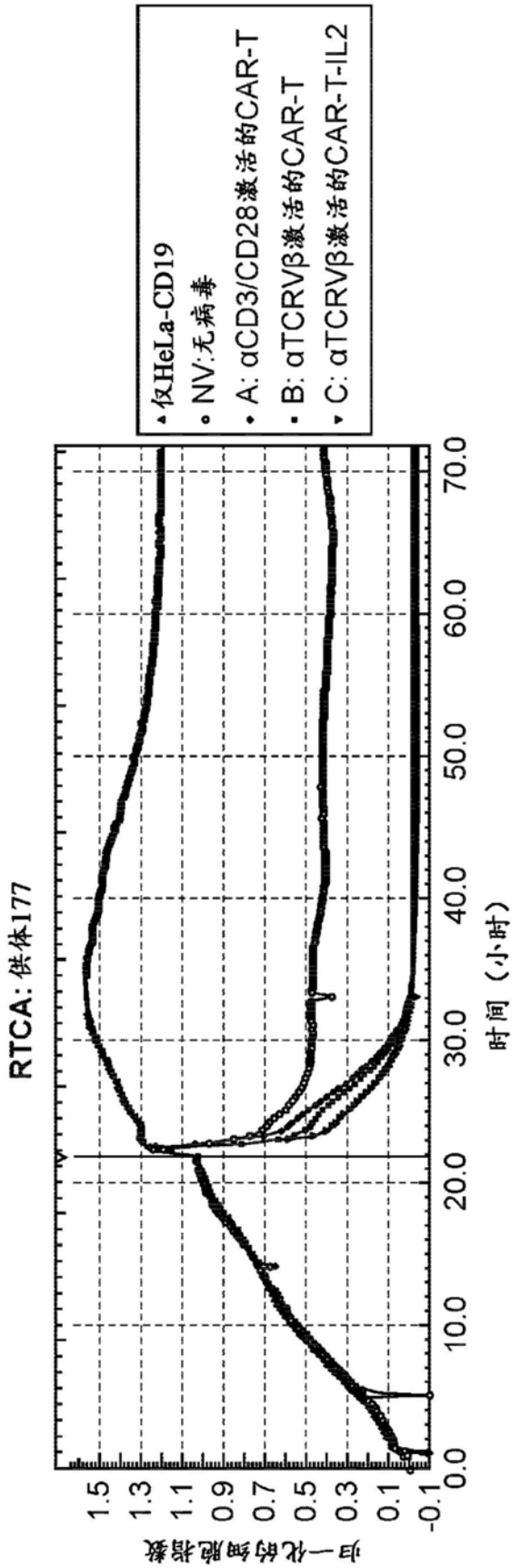

仅HeLa-CD19
NV:无病毒
A: αCD3/CD28激活的CAR-T
B: αTCRVβ激活的CAR-T
C: αTCRVβ激活的CAR-T-IL2
RTCA: 供体177
归一化的细胞指数
时间（小时）
1.5
1.3
1.1
0.9
0.7
0.5
0.3
0.1
-0.1
0.0
10.0
20.0
30.0
40.0
50.0
60.0
70.0

图105A

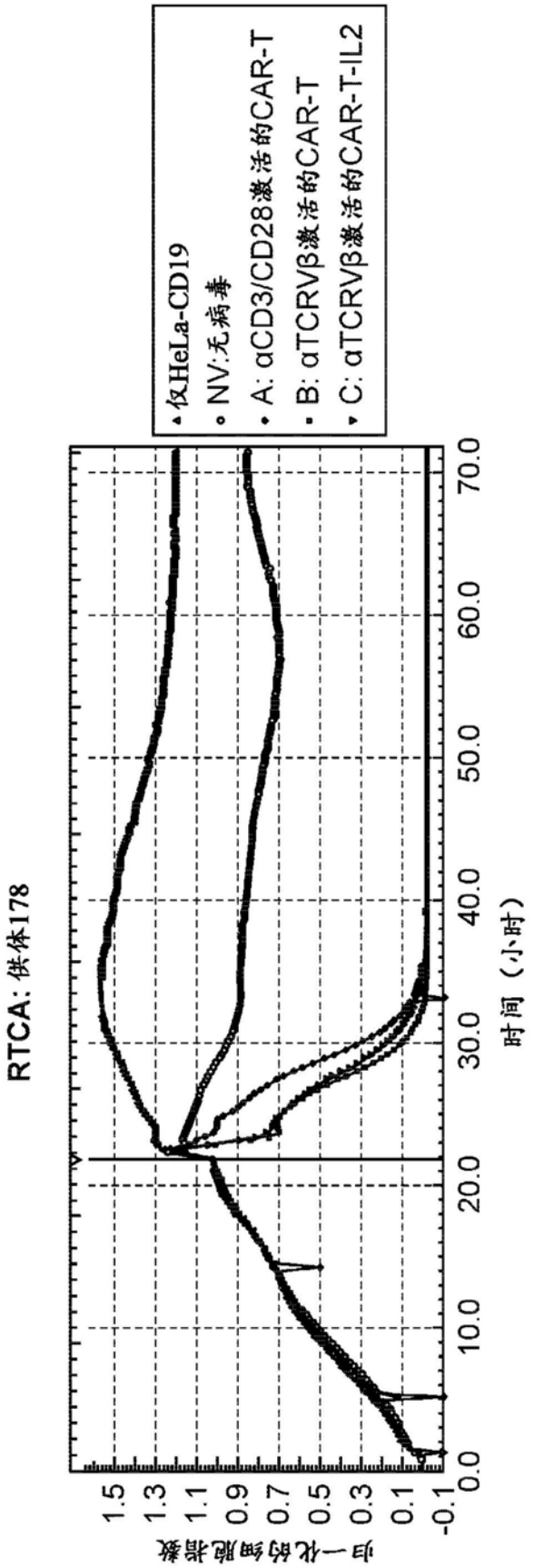

仅HeLa-CD19
NV:无病毒
A: αCD3/CD28激活的CAR-T
B: αTCRVβ激活的CAR-T
C: αTCRVβ激活的CAR-T-IL2
RTCA: 供体178
归一化的细胞指数
时间（小时）
-0.1
0.1
0.3
0.5
0.7
0.9
1.1
1.3
1.5
0.0
10.0
20.0
30.0
40.0
50.0
60.0
70.0

图105B

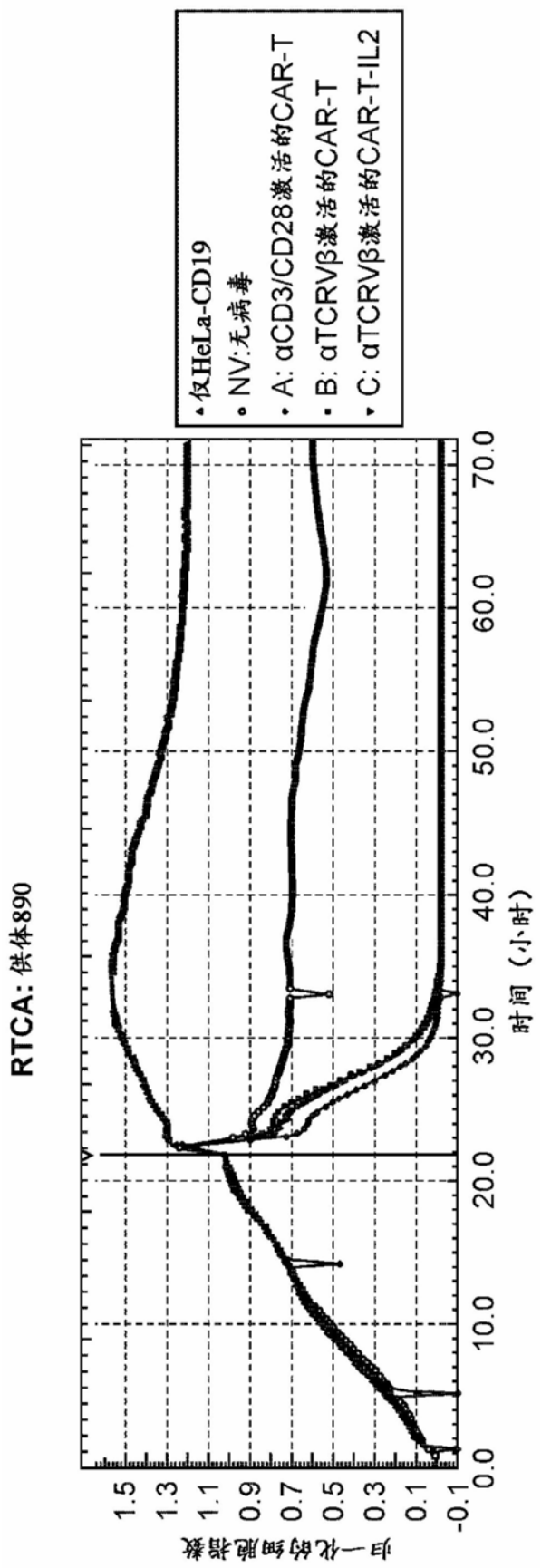

仅HeLa-CD19
NV:无病毒
A: αCD3/CD28激活的CAR-T
B: αTCRVβ激活的CAR-T
C: αTCRVβ激活的CAR-T-IL2
RTCA: 供体890
归一化的细胞指数
时间（小时）
-0.1
0.1
0.3
0.5
0.7
0.9
1.1
1.3
1.5
0.0
10.0
20.0
30.0
40.0
50.0
60.0
70.0

图105C

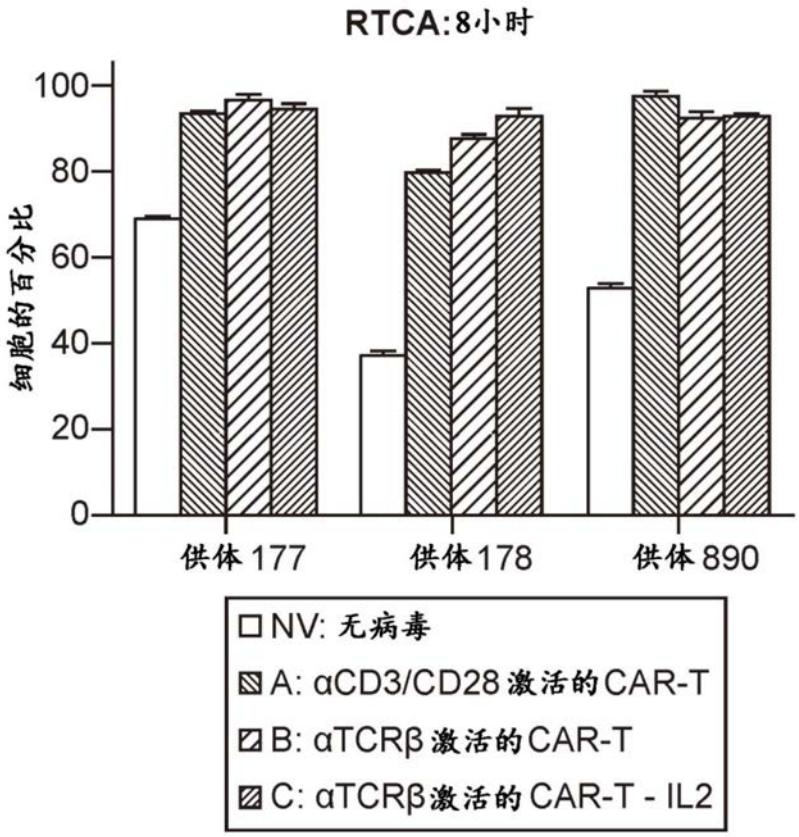

RTCA:8小时
细胞的百分比
100
80
60
40
20
0
供体177
供体178
供体890
NV: 无病毒
A: αCD3/CD28激活的CAR-T
B: αTCRβ激活的CAR-T
C: αTCRβ激活的CAR-T - IL2

图105D

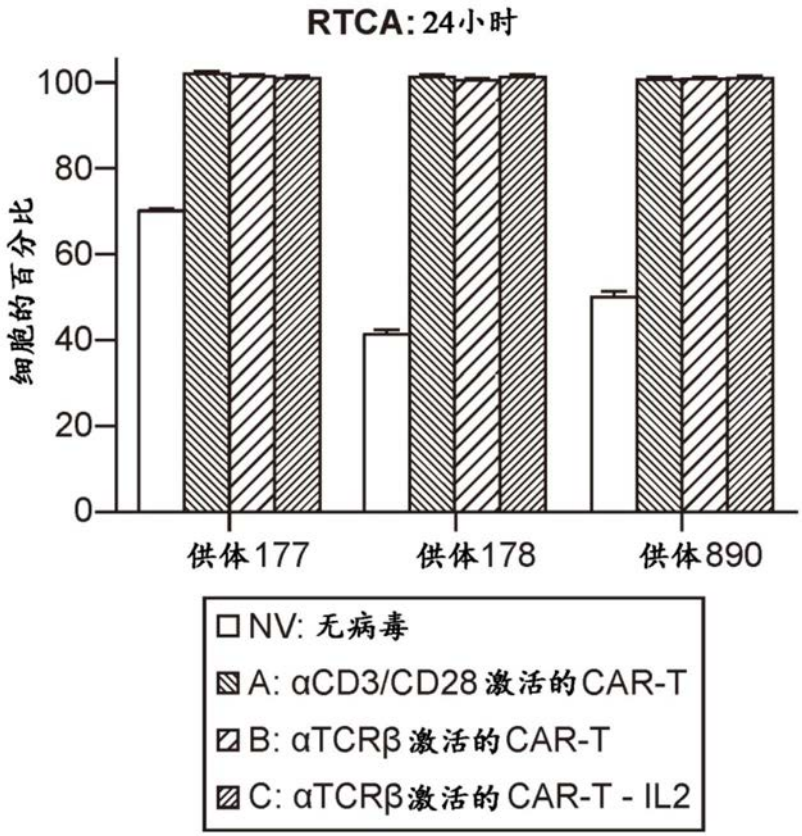

RTCA: 24小时
细胞的百分比
100
80
60
40
20
0
供体177
供体178
供体890
NV: 无病毒
A: αCD3/CD28 激活的CAR-T
B: αTCRβ 激活的CAR-T
C: αTCRβ激活的 CAR-T - IL2

图105E

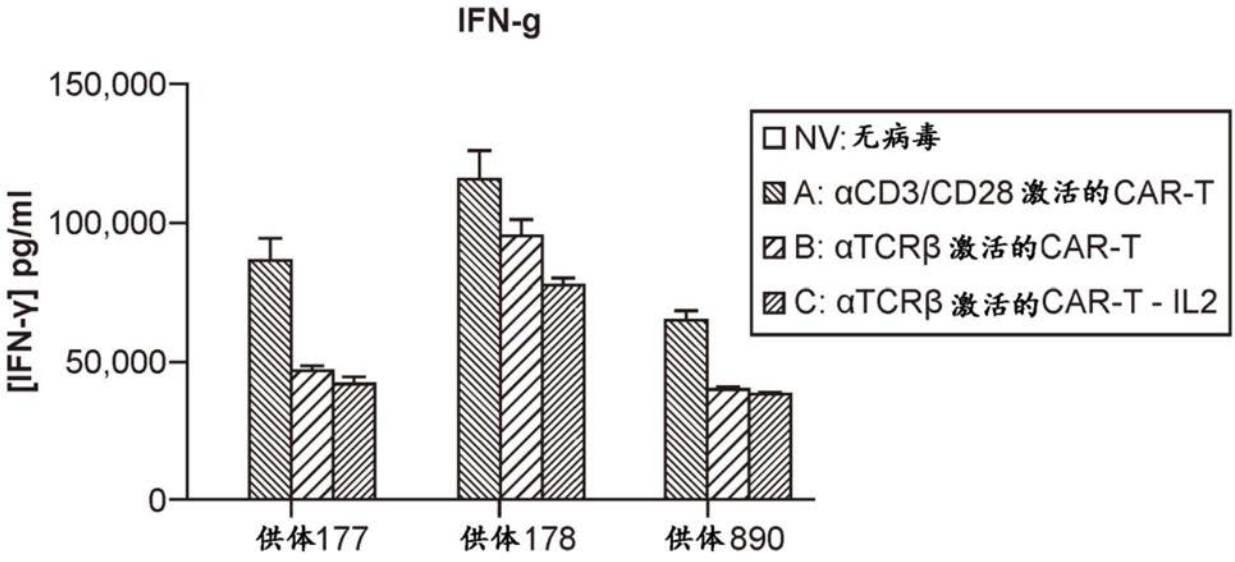

IFN-g
[IFN-γ] pg/ml
150,000
100,000
50,000
0
供体177
供体178
供体890
NV:无病毒
A: αCD3/CD28 激活的CAR-T
B: αTCRβ 激活的CAR-T
C: αTCRβ 激活的CAR-T - IL2

图106

```
TRBV6-4  IAGITQAPTSQILAAGRRMTLRCTQDMRHNAMYWYRQDLGLGLRLIHYSNTAGTTGKGEVPDGYSVSRANTDDFPLTLASAVPSQTSVYFCASSD
TRBV6-8  NAGVTQTPKFHILKTGQSMTLQCAQDMNHGYMSWYRQDPGMGLRLIYYSAAAGTTDK-EVPNGYNVSRLNTEDFPLRLVSAAPSQTSVYLCASSY
TRBV6-6  NAGVTQTPKFRILKIGQSMTLQCTQDMNHNYMYWYRQDPGMGLKLIYYSVGAGITDKGEVPNGYNVSRSTTEDFPLRLELAAPSQTSVYFCASSY
TRBV6-5  NAGVTQTPKFQVLKTGQSMTLQCAQDMNHEYMSQYRQDPGMGLRLIHYSVGAGITDQGEVPNGYNVSRSTTEDFPLRLLSAAPSQTSVYFCASSY
TRBV6-9  NAGVTQTPKFHILKTGQSMTLQCAQDMNHGYLSWYRQDPGMGLRRIHYSVAAGITDKGEVPDGYNVSRSNTEDFPLRLESAAPSQTSVYFCASSY
TRBV6-1  NAGVTQTPKFQVLKTGQSMTLQCAQDMNHNSMYWYRQDPGMGLRLIYYSASEGTTDKGEVPNGYNVSRLNKREFSLRLESAAPSQTSVYFCASSE
TRBV6-2  NAGVTQTPKFRVLKTGQSMTLLCAQDMNHEYMYWYRQDPGMGLRLTHYSVGEGTTAKGEVPDGYNVSRLKKQNFLLGLESAAPSQTSVYFCASSY
TRBV6-3  NAGVTQTPKFRVLKTGQSMTLLCAQDMNHEYMYWYRQDPGMGLRLTHYSVGEGTTAKGEVPDGYNVSRLKKQNFLLGLESAAPSQTSVYFCASSY
```

图107

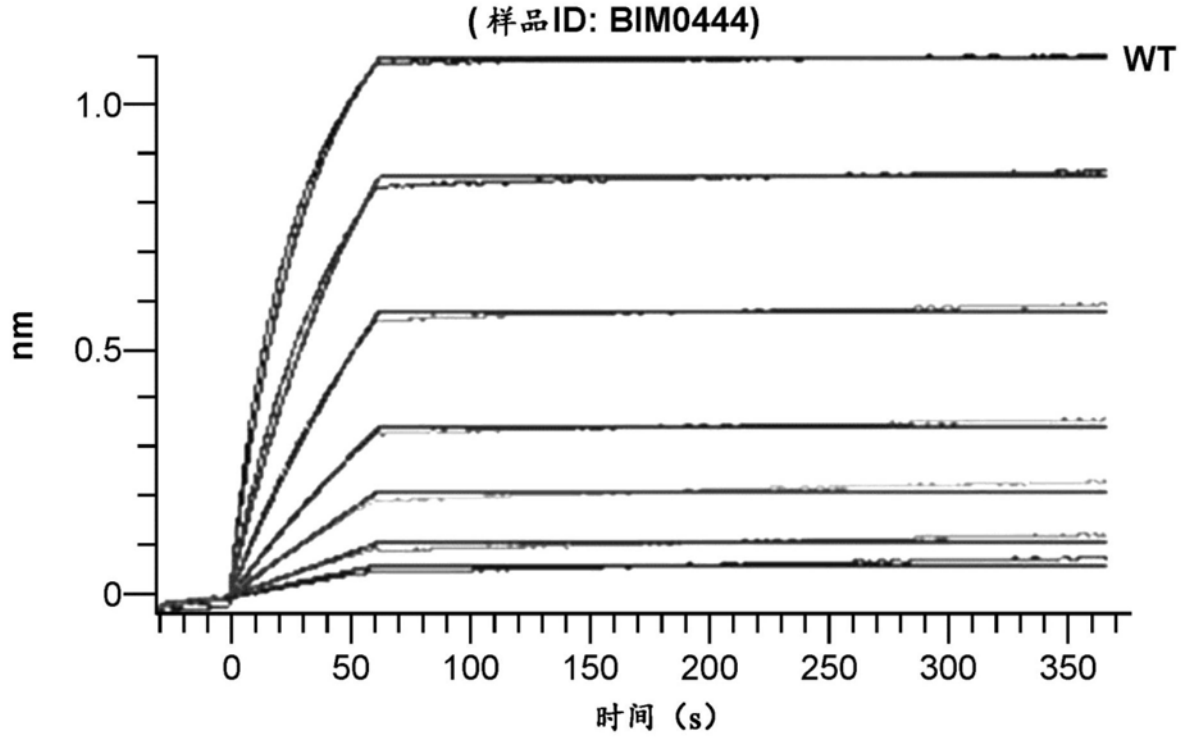


图108A

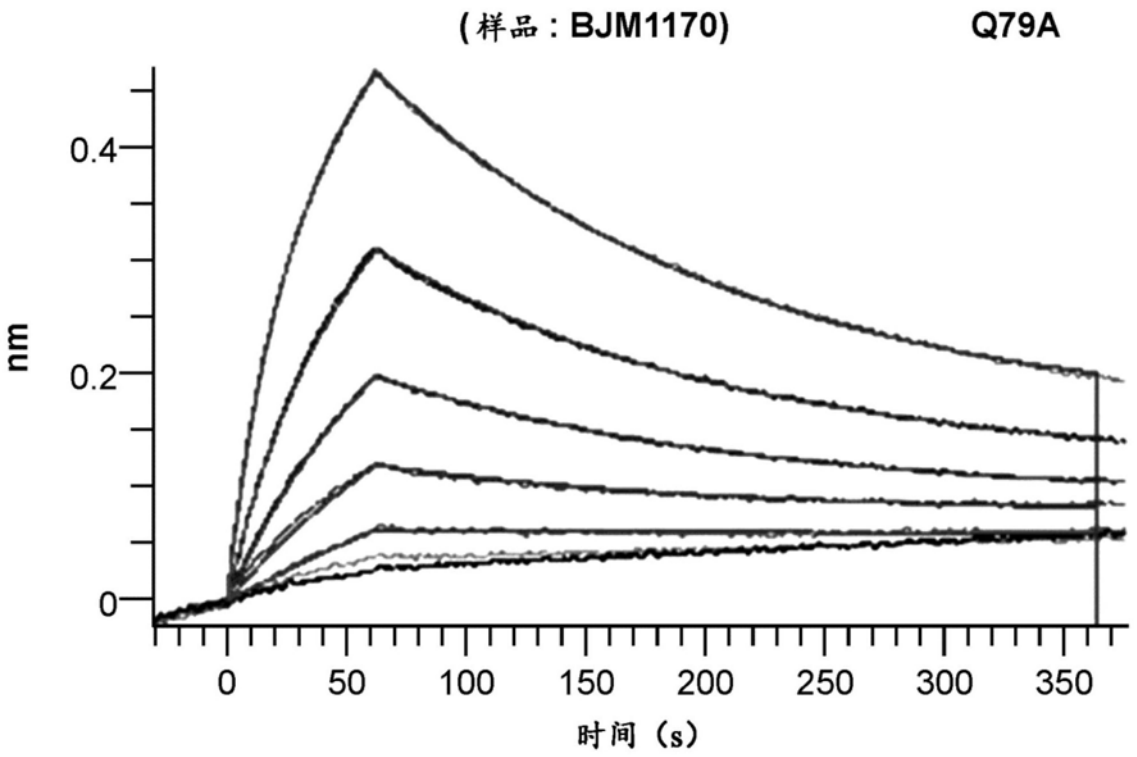

(样品：BJM1170)
Q79A
0.4
0.2
0
nm
0
50
100
150
200
250
300
350
时间（s）

图108B

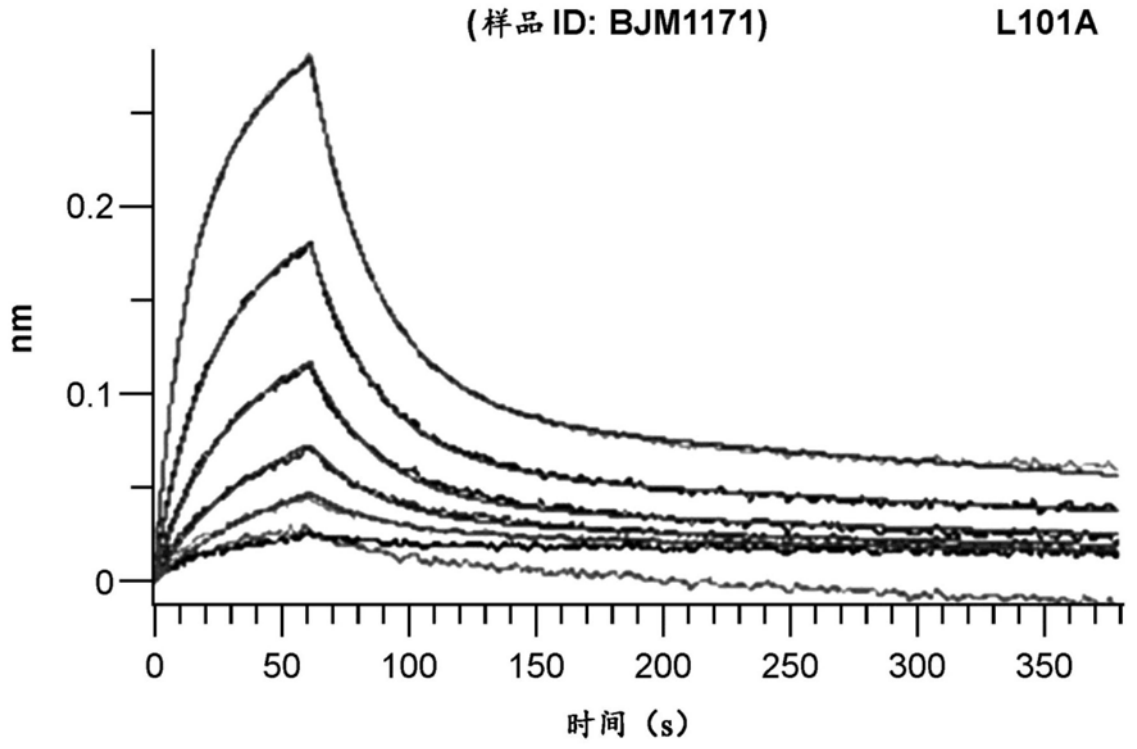

(样品 ID: BJM1171)
L101A
0.2
0.1
0
nm
0
50
100
150
200
250
300
350
时间（s）

图108C

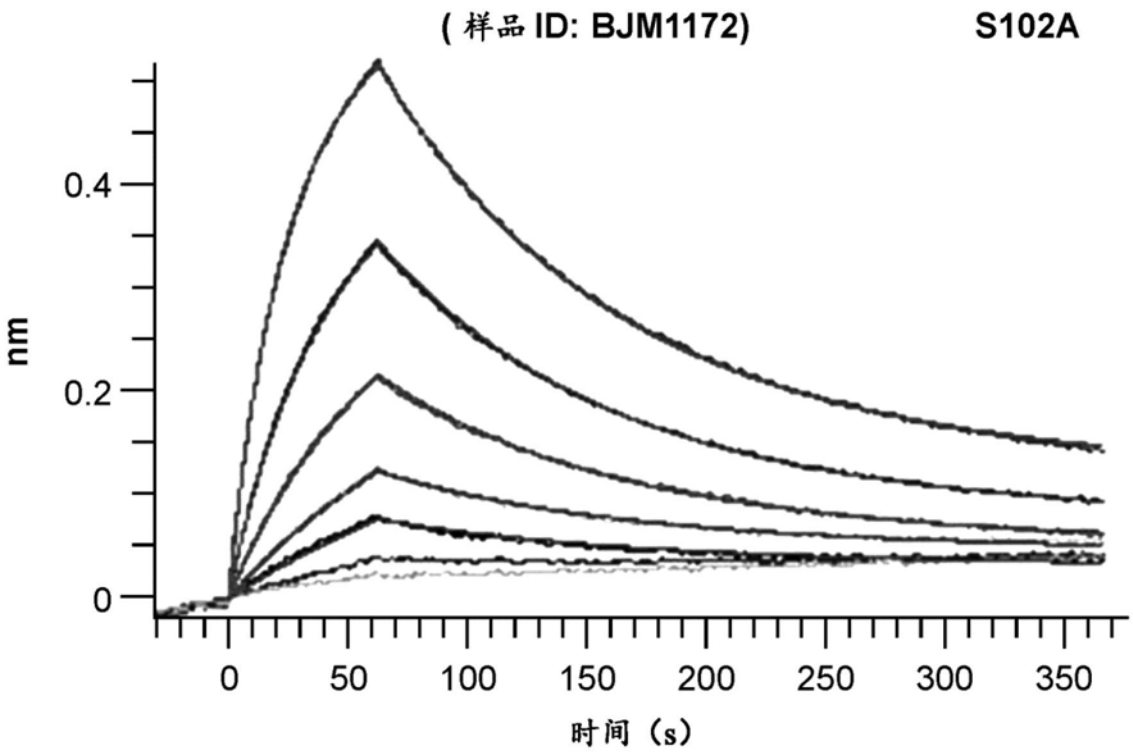


图108D