



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 118613507 A

(43) 申请公布日 2024.09.06

(21) 申请号 202380019068.1

(22) 申请日 2023.01.28

(66) 本国优先权数据

202210111504.5 2022.01.29 CN

202210985594.0 2022.08.17 CN

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.07.26

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/CN2023/073614 2023.01.28

(87) PCT国际申请的公布数据

W02023/143537 ZH 2023.08.03

(71) 申请人 恺兴生命科技(上海)有限公司

地址 200131 上海市浦东新区中国(上海)

自由贸易试验区富特北路203号3层

303室

(72) 发明人 周亮 王鹏 任鹏举 蒋华
李宗海

(74) 专利代理机构 北京彩和律师事务所 11688
专利代理师 闫桑田

(51) Int.Cl.

C07K 16/28 (2006.01)

C12N 15/13 (2006.01)

C12N 5/10 (2006.01)

C12N 15/63 (2006.01)

C12N 15/64 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

(54) 发明名称

GPRC5D抗体及其应用

(57) 摘要

本申请涉及结合GPRC5D的抗体及其应用。还涉及包含本申请涉及的结合GPRC5D的抗体的细胞、药物组合物、联合用药,以及制备抗体的方法。

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2023年8月3日 (03.08.2023)



(10) 国际公布号
WO 2023/143537 A1

(51) 国际专利分类号:

C07K 16/28 (2006.01) *C12N 15/64* (2006.01)
C12N 15/13 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
C12N 5/10 (2006.01) *A61K 39/395* (2006.01)
C12N 15/63 (2006.01)

SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ,
UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(21) 国际申请号: PCT/CN2023/073614

(22) 国际申请日: 2023年1月28日 (28.01.2023)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:

202210111504.5 2022年1月29日 (29.01.2022) CN
202210985594.0 2022年8月17日 (17.08.2022) CN

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区
保护): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW,
MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚
(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE,
BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR,
HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO,
PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF,
CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN,
TD, TG)。

(71) 申请人: 恺兴生命科技(上海)有限公司 (CARSGEN LIFE SCIENCES CO., LTD.) [CN/
CN]; 中国上海市浦东新区中国(上海)
自由贸易试验区富特北路203号3层303
室, Shanghai 200131 (CN)。

本国际公布:

- 包括国际检索报告(条约第21条(3))。
- 包括经修改的权利要求(条约第19条(1))。
- 包括说明书序列表部分(细则5.2(a))。

(72) 发明人: 周亮(ZHOU, Liang); 中国上海市徐汇区
银都路388号12幢, Shanghai 200231 (CN)。 王
鹏(WANG, Peng); 中国上海市徐汇区银都路388
号12幢, Shanghai 200231 (CN)。 任鹏举(REN,
Pengju); 中国上海市徐汇区银都路388号12幢,
Shanghai 200231 (CN)。 蒋华(JIANG, Hua); 中国
上海市徐汇区银都路388号12幢, Shanghai 200231
(CN)。 李宗海(LI, Zonghai); 中国上海市徐汇区
银都路388号12幢, Shanghai 200231 (CN)。

(74) 代理人: 北京彩和律师事务所(BEIJING CAI HE
LAW FIRM); 中国北京市海淀区大柳树路17号
富海国际港1602室, Beijing 100081 (CN)。

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

(54) Title: GPRC5D ANTIBODY AND USE THEREOF

(54) 发明名称: GPRC5D抗体及其应用

(57) Abstract: The present application relates to an antibody that binds to GPRC5D and use thereof. The present application further relates to a cell, a pharmaceutical composition, and a combination therapy comprising the antibody that binds to GPRC5D, and a method for preparing the antibody.

(57) 摘要: 本申请涉及结合 GPRC5D 的抗体及其应用。还涉及包含本申请涉及的结合 GPRC5D 的抗体的细胞、药物组合物、联合用药, 以及制备抗体的方法。



WO 2023/143537 A1

GPRC5D抗体及其应用

相关申请

- 5 本专利申请要求于2022年1月29日递交的申请号为202210111504.5的中国专利申请的优先权，要求2022年8月17日递交的申请号为202210985594.0的中国专利申请的优先权。

同时提交的序列表文件

下列XML文件的全部内容通过整体引用并入本文：计算机可读格式(CRF)的序列表(名称：FF00719PCT-sequence listing.xml，日期：20230122，大小：95.6KB)。

10 技术领域

本申请涉及肿瘤免疫治疗或诊断领域，更具体地，涉及特异性结合GPRC5D抗体及其应用。

背景技术

- 15 目前临床上多发性骨髓瘤的靶向治疗方法主要包括免疫调节药物(沙利度胺、来那度胺、泊马度胺)、蛋白酶体抑制剂(硼替佐米、卡非佐米、伊沙佐米)及抗CD38单抗等。尽管前线疗法已取得了良好的疗效，但末线疗效十分有限。靶向BCMA的CAR-T细胞疗法在临床试验中展示了很好的疗效，但对于BCMA低表达或经BCMA CAR-T治疗后复发的病例，亟需开发新的治疗手段。有研究表明65%的多发性骨髓瘤患者表达GPRC5D，因此开发靶向GPRC5D的治疗路径，临床价值凸显。由于GPRC5D是一个较新的靶点，而且作为多次跨膜受体，其抗体的开发具有一定技术门槛。因此本申请开发的GPRC5D抗体，尤其是全人源GPRC5D抗体具有较高应用价值。

发明内容

- 25 本申请目的在于提供特异性识别GPRC5D的抗体。本申请还涉及制备抗GPRC5D特异性抗体的方法，包括噬菌体展示技术和杂交瘤技术。本申请还涉及抗GPRC5D抗体(包括但不限于Fab, scFv, scFv-Fc形式)的特性及特异性的研究。本申请提供了靶向GPRC5D的嵌合抗原受体(CAR)及其制备方法。本申请还提供分离的编码本申请的抗GPRC5D抗体和靶向GPRC5D的嵌合抗原受体的核酸。本申请还提供宿主细胞，所述宿主细胞包含本申请的核酸。所述方法还包括培养本申请的宿主细胞以制备所述抗体或所述CAR。本申请的抗体和/或CAR用于治疗肿瘤或肿瘤诊断。

- 30 在第一方面，本申请提供了识别GPRC5D的抗体，所述抗体选自如下任意组：

(1)抗体，其包含重链可变区，所述重链可变区包含SEQ ID NO：1、11、17、70或71任一所示的HCDR1，和/或包含SEQ ID NO：2、12、18、72或73任一所示的HCDR2，和/或包含SEQ ID NO：3、7、9、13或19任一所示的HCDR3；

(2)抗体，其包含轻链可变区，所述轻链可变区包含SEQ ID NO：4、14、20或74任一所

示的LCDR1, 和/或包含SEQ ID NO: 5、15、21或75任一所示的LCDR2, 和/或包含SEQ ID NO: 6、8、10、16或22任一所示的LCDR3;

(3)抗体, 包含(1)所述抗体的重链可变区及(2)所述抗体的轻链可变区;

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

在某些实施方式中, 其包含重链可变区中的至少一个CDR, 所述重链可变区包含如SEQ ID NO: 23、27、31、35、39、76或80中任一项所示的氨基酸序列或其变体, 或包含与上述任一序列具有至少80%相似性的氨基酸序列; 和/或其包含轻链可变区中的至少一个CDR, 所述轻链可变区包含如SEQ ID NO: 25、29、33、37、41或78中任一项所示的氨基酸序列或其变体, 或
10 包含与上述任一序列具有至少80%相似性的氨基酸序列。

在某些实施方式中, 所述抗体包含重链可变区中的HCDR1、HCDR2、HCDR3, 所述重链可变区包含如SEQ ID NO: 23、27、31、35、39、76或80中任一项所示的氨基酸序列或其变体, 或包含与上述任一序列具有至少80%相似性的氨基酸序列; 和/或其包含轻链可变区中的LCDR1、LCDR2、LCDR3, 所述轻链可变区包含如SEQ ID NO: 25、29、33、37、41或78中任
15 一项所示的氨基酸序列或其变体, 或包含与上述任一序列具有至少80%相似性的氨基酸序列。

在某些实施方式中, 所述抗体重链可变区的CDR区和/或轻链可变区的CDR区选自如下任意组的序列或其变体:

(1)抗体, 其包含 SEQ ID NO:1所示的HCDR1, SEQ ID NO: 2所示的HCDR2和SEQ ID NO: 3所示的HCDR3; SEQ ID NO: 4所示的LCDR1, SEQ ID NO: 5所示的LCDR2和SEQ ID NO: 6所
20 示的LCDR3; 或

(2) 抗体, 其包含 SEQ ID NO:1所示的HCDR1, SEQ ID NO: 2所示的HCDR2和SEQ ID NO: 7所示的HCDR3; SEQ ID NO: 4所示的LCDR1, SEQ ID NO: 5所示的LCDR2和SEQ ID NO: 8所示的LCDR3; 或

(3) 抗体, 其包含 SEQ ID NO: 1所示的HCDR1, SEQ ID NO: 2所示的HCDR2和SEQ ID NO: 9所示的HCDR3; SEQ ID NO: 4所示的LCDR1, SEQ ID NO: 5所示的LCDR2和SEQ ID NO: 10所示的LCDR3; 或
25

(4) 抗体, 其包含 SEQ ID NO: 11所示的HCDR1, SEQ ID NO: 12所示的HCDR2和SEQ ID NO: 13所示的HCDR3; SEQ ID NO: 14所示的LCDR1, SEQ ID NO: 15所示的LCDR2和SEQ ID NO: 16所示的LCDR3; 或
30

(5) 抗体, 其包含 SEQ ID NO: 17所示的HCDR1, SEQ ID NO: 18所示的HCDR2和SEQ ID NO: 19所示的HCDR3; SEQ ID NO: 20所示的LCDR1, SEQ ID NO: 21所示的LCDR2和SEQ ID NO: 22所示的LCDR3;

(6) 抗体, 其包含 SEQ ID NO: 70所示的HCDR1, SEQ ID NO:72所示的HCDR2和SEQ ID NO: 3所示的HCDR3; SEQ ID NO: 4所示的LCDR1, SEQ ID NO:5所示的LCDR2和SEQ ID NO:

6所示的LCDR3；或

(7) 抗体，其包含 SEQ ID NO: 71所示的HCDR1，SEQ ID NO: 73所示的HCDR2和SEQ ID NO: 3所示的HCDR3；SEQ ID NO: 4所示的LCDR1，SEQ ID NO: 5所示的LCDR2和SEQ ID NO: 6所示的LCDR3；或

5 (8) 抗体，其包含 SEQ ID NO: 1所示的HCDR1，SEQ ID NO: 2所示的HCDR2和SEQ ID NO: 3所示的HCDR3；SEQ ID NO: 74所示的LCDR1，SEQ ID NO: 75所示的LCDR2和SEQ ID NO: 6所示的LCDR3；

(9) 抗体，(1)~(8)中任一项所述的抗体的变体，且具备与(1)~(8)中任一项所述的抗体相同或相似的活性。

10 在某些实施方式中，所述抗体选自如下任意组的序列或其变体：

(1) 抗体，所述抗体的重链可变区具有SEQ ID NO: 23所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 23具有至少80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列，所述轻链可变区具有SEQ ID NO: 25所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 25具有至少80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列；

15 (2) 抗体，所述抗体的重链可变区具有SEQ ID NO: 27所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 27具有至少80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列，所述轻链可变区具有SEQ ID NO: 29所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 29具有至少80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列；

20 (3) 抗体，所述抗体的重链可变区具有SEQ ID NO: 31所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 31具有至少80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列，所述轻链可变区具有SEQ ID NO: 33所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 33具有至少80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列；

25 (4) 抗体，所述抗体的重链可变区具有SEQ ID NO: 35所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 35具有至少80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列，所述轻链可变区具有SEQ ID NO: 37所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 37具有至少80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列；

30 (5) 抗体，所述抗体的重链可变区具有SEQ ID NO: 39所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 39具有至少80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列，所述轻链可变区具有SEQ ID NO: 41所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 41具有至少80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列；

(6) 抗体，所述抗体的重链可变区具有SEQ ID NO: 76所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 76具有至少80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列，所述轻链可变区具有SEQ ID NO: 25所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 25具有至少80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列；

(7) 抗体，所述抗体的重链可变区具有SEQ ID NO: 80所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 80具有至少80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列，所述轻链可变区具有SEQ ID NO: 25所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 25具有至少80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列；

5 (8) 抗体，所述抗体的重链可变区具有SEQ ID NO: 23所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 23具有至少80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列，所述轻链可变区具有SEQ ID NO: 78所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 78具有至少80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列。

10 (9) 抗体，(1)~(8)中任一项所述的抗体的变体，且具备与(1)~(8)中任一项所述的抗体相同或相似的活性。

在某些实施方式中，所述抗体选自全抗、scFv、单域抗体、Fab片段、Fab'片段、Fv片段、F(ab')₂片段、Fd片段、dAb片段、多功能抗体或scFv-Fc抗体、杂交瘤抗体、嵌合抗体、人源化抗体、全人源抗体或单克隆抗体。

在某些实施方式中，所述抗体是杂交瘤抗体，选自：

15 (1) 抗体，所述抗体的重链可变区具有SEQ ID NO: 35所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 35具有至少80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列，所述轻链可变区具有SEQ ID NO: 37所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 37具有至少80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列；

20 (2) 抗体，所述抗体的重链可变区具有SEQ ID NO: 39所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 39具有至少80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列，所述轻链可变区具有SEQ ID NO: 41所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 41具有至少80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列；

(3) 抗体，(1)~(2)中任一项所述的抗体的变体，且具备与(1)~(2)中任一项所述的抗体相同或相似的活性。

25 在某些实施方式中，所述抗体是全人源抗体，选自：

(1) 抗体，所述抗体的重链可变区具有SEQ ID NO: 23所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 23具有至少80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列，所述轻链可变区具有SEQ ID NO: 25所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 25具有至少80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列；

30 (2) 抗体，所述抗体的重链可变区具有SEQ ID NO: 27所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 27具有至少80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列，所述轻链可变区具有SEQ ID NO: 29所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 29具有至少80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列；

(3) 抗体，所述抗体的重链可变区具有SEQ ID NO: 31所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO:

31具有至少80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列，所述轻链可变区具有SEQ ID NO: 33所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 33具有至少80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列；

5 (4) 抗体，所述抗体的重链可变区具有SEQ ID NO: 76所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 76具有至少80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列，所述轻链可变区具有SEQ ID NO: 25所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 25具有至少80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列；

10 (5) 抗体，所述抗体的重链可变区具有SEQ ID NO: 80所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 23具有至少80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列，所述轻链可变区具有SEQ ID NO: 25所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 25具有至少80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列；

15 (6) 抗体，所述抗体的重链可变区具有SEQ ID NO: 23所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 23具有至少80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列，所述轻链可变区具有SEQ ID NO: 78所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 78具有至少80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列；

(7) 抗体，(1)~(6)中任一项所述的抗体的变体，且具备与(1)~(6)中任一项所述的抗体相同或相似的活性。

在某些实施方式中，所述抗体选自：

20 (1)抗体，所述抗体的重链具有SEQ ID NO: 45所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 45具有至少80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列，所述轻链具有SEQ ID NO: 47所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 47具有至少80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列；

25 (2)抗体，所述抗体的重链具有SEQ ID NO: 49所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 49具有至少80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列，所述轻链具有SEQ ID NO: 51所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 51具有至少80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列；

30 (3)抗体，所述抗体的重链具有SEQ ID NO: 53所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 53具有至少80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列，所述轻链具有SEQ ID NO: 55所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 55具有至少80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列；

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

在某些实施方式中，第一方面任一所述抗体是杂交瘤抗体、嵌合抗体、人源化抗体或全人源抗体；或者所述抗体是单克隆抗体；或者所述抗体是全抗、scFv、单域抗体、Fab片段、Fab'

片段、Fv片段、F(ab')₂片段、Fd片段、dAb片段、多功能抗体或scFv-Fc抗体。

在某些实施方式中，第一方面任一所述抗体是杂交瘤抗体，选自：

(1) 抗体，所述抗体的重链可变区具有SEQ ID NO: 35所示的氨基酸序列，所述轻链可变区具有SEQ ID NO: 37所示的氨基酸序列；

5 (2) 抗体，所述抗体的重链可变区具有SEQ ID NO: 39所示的氨基酸序列，所述轻链可变区具有SEQ ID NO: 41所示的氨基酸序列。

(3) 抗体，(1)~(2)中任一项所述的抗体的变体，且具备与(1)~(2)中任一项所述的抗体相同或相似的活性。

在某些实施方式中，第一方面任一所述抗体是全人源抗体，选自：

10 (1) 抗体，所述抗体的重链可变区具有SEQ ID NO: 23所示的氨基酸序列，所述轻链可变区具有SEQ ID NO: 25所示的氨基酸序列；

(2) 抗体，所述抗体的重链可变区具有SEQ ID NO: 27所示的氨基酸序列，所述轻链可变区具有SEQ ID NO: 29所示的氨基酸序列；

15 (3) 抗体，所述抗体的重链可变区具有SEQ ID NO: 31所示的氨基酸序列，所述轻链可变区具有SEQ ID NO: 33所示的氨基酸序列；

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

在某些实施方式中，第一方面任一所述抗体是全人源抗体，选自：

20 (1) 抗体，所述抗体的重链具有SEQ ID NO: 45所示的氨基酸序列，所述轻链具有SEQ ID NO: 47所示的氨基酸序列；

(2) 抗体，所述抗体的重链具有SEQ ID NO: 49所示的氨基酸序列，所述轻链具有SEQ ID NO: 51所示的氨基酸序列；

(3) 抗体，所述抗体的重链具有SEQ ID NO: 53所示的氨基酸序列，所述轻链具有SEQ ID NO: 55所示的氨基酸序列；

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

在第二方面，本申请提供一种免疫缀合物，所述的免疫缀合物包括第一方面任一所述的抗体，以及与之连接的功能性分子。

30 在第三方面，本申请提供一种嵌合受体，所述嵌合受体的胞外域包含第一方面任一所述的抗体，所述嵌合受体包括：嵌合抗原受体(CAR)、嵌合T细胞受体、T细胞抗原耦合器(TAC)或其组合。

在某些实施方式中，所述嵌合受体是嵌合抗原受体(CAR)。

在某些实施方式中，所述CAR包含第一方面任一所述的抗体、跨膜区和胞内信号区。

在某些实施方式中，所述嵌合受体包含顺序连接的：第一方面任一所述的抗体、跨膜

区和胞内信号区。

在某些实施方式中，所述的胞内信号区选自：CD3 ζ 、Fc ϵ RI γ 、CD27、CD28、CD137、CD134、MyD88、CD40的胞内信号区序列或其组合；和/或所述的跨膜区包含CD8或CD28的跨膜区。

5 在某些实施方式中，所述CD8跨膜区包含如SEQ ID NO：60所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中，所述CD137胞内信号区包含如SEQ ID NO：61所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中，所述CD3 ζ 胞内信号区包含如SEQ ID NO：62所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中，所述的嵌合受体包括：第一方面任一所述的抗体、CD8/CD28的跨膜区和CD3 ζ ；或第一方面任一所述的抗体、CD8/CD28的跨膜区、CD137的胞内信号区和CD3 ζ ；
10 或第一方面任一所述的抗体、CD8/CD28的跨膜区、CD28的胞内信号区和CD3 ζ ；或第一方面任一所述的抗体、CD8/CD28的跨膜区、CD28的胞内信号区、CD137和CD3 ζ 。

在某些实施方式中，所述的嵌合受体还包括铰链区。

在某些实施方式中，所述铰链区包括CD8铰链区。

在某些实施方式中，所述CD8铰链区包含如SEQ ID NO：59所示的氨基酸序列。

15 在某些实施方式中，所述的嵌合受体还包括信号肽。

在某些实施方式中，所述信号肽包括CD8信号肽。

在某些实施方式中，所述CD8信号肽包含如SEQ ID NO：58所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中，所述的嵌合受体包含如SEQ ID NO：43、82、84或86任一所示的氨基酸序列。

20 在某些实施方式中，所述的嵌合受体的氨基酸序列如SEQ ID NO：63、88、89、90任一所示。

在第四方面，本申请提供一种编码第一方面任一所述的抗体、第二方面所述的免疫缀合物、第三方面所述的嵌合受体的核酸。

在某些实施方式中，所述核酸包含如SEQ ID NO：24、26、28、30、32、34、36、38、40、
25 42、77、79或81中任一所示的序列或其组合。

在某些实施方式中，所述核酸包含如SEQ ID NO：46、48、50、52、54或56中任一所示的序列或其组合。

在某些实施方式中，所述核酸包含如SEQ ID NO：44、83、85或87中任一所示的序列。

在第五方面，本申请提供一种载体，其包含第四方面所述的核酸。

30 在第六方面，本申请提供一种病毒，其包含第五方面所述的表达载体。

在第七方面，本申请提供一种组合物，包括第二方面所述的免疫缀合物、和/或第三方面所述的嵌合受体，所述组合物对表达GPRC5D的细胞具有细胞毒性。

在某些实施方式中，所述表达GPRC5D的细胞是肿瘤细胞和/或病原体细胞。

在第八方面，本申请提供了细胞，其包含第一方面所述的抗体、第二方面所述的免疫缀

合物、第三方面所述的嵌合受体、第四方面所述的核酸、和/或第五方面所述的载体。

在某些实施方式中，所述细胞为宿主细胞，其包含第五方面所述的载体或基因组中整合有第四方面所述的核酸。

在某些实施方式中，所述细胞/宿主细胞表达第三方面所述的嵌合受体。

5 在某些实施方式中，所述细胞/宿主细胞是T细胞、自然杀伤细胞、自然杀伤T细胞、NK92细胞、干细胞衍生的免疫效应细胞或其组合。

在某些实施方式中，所述T细胞包括细胞毒性T淋巴细胞、DNT细胞和/或调节性T细胞。

在某些实施方式中，所述T细胞为来源于天然的T细胞和/或经多能干细胞诱导产生的T细胞。

10 在某些实施方式中，所述T细胞为自体/同种异体T细胞。

在某些实施方式中，所述T细胞为原代T细胞。

在某些实施方式中，所述T细胞来源于人的自体T细胞。

在某些实施方式中，所述T细胞包含记忆性干细胞样T细胞(Tscm细胞)、中心记忆T细胞(Tcm)、效应性T细胞(Tef)、调节性T细胞(Tregs)，效应记忆T细胞(Tem)、 $\gamma\delta$ T细胞或其组合。

15 在某些实施方式中，所述宿主细胞结合表达GPCR5D的细胞，不显著结合不表达GPCR5D的细胞。

在某些实施方式中，所述宿主细胞还携带外源的细胞因子的编码序列；和/或还表达非靶向GPCR5D的嵌合受体；和/或还表达趋化因子；和/或还表达趋化因子受体；和/或还表达安全开关。

20 在某些实施方式中，所述宿主细胞还携带外源的细胞因子包括IL-7、IL-12、IL-15、IL-18、IL-21、或I型干扰素的编码序列。

在某些实施方式中，所述宿主细胞还表达趋化因子包括CCL19或CCL21。

在某些实施方式中，所述宿主细胞还表达趋化因子受体包括CCR2、CCR4、CCR5、CXCR2、CXCR4或CXCR5。

25 在某些实施方式中，所述宿主细胞还表达安全开关包括iCaspase-9、Truncated EGFR或RQR8。

30 在第九方面，本申请提供了药物组合物，其包含第一方面任一所述的抗体、第二方面所述的免疫缀合物、第三方面所述的嵌合受体、第四方面所述核酸、第五方面所述的载体、第六方面所述的病毒、第七方面所述的组合物和/或第八方面所述的细胞，以及药学上可接受的佐剂。

在第十方面，本申请提供了联合用药，第一方面任一所述的抗体、第二方面所述的免疫缀合物、第三方面所述的嵌合受体、第七方面所述的组合物、第八方面所述的细胞、第九方面所述的药物组合物与增强其功能的药剂组合施用，优选地，与化疗药物联用；和/或与改善其相关的一种或多种副作用的药剂联合施用；和/或与表达靶向GPCR5D之外的嵌合抗原

受体的宿主细胞联合施用。

5 在第十一方面，本申请提供一种制备第一方面任一所述的抗体、第二方面所述的免疫缀合物、第三方面所述的嵌合受体、第七方面所述的组合物、第九方面所述的药物组合物的方法，所述方法包含在适于表达所述抗体、免疫缀合物、嵌合受体的条件下培养第八方面所述的宿主细胞，以及分离出由所述宿主细胞表达的所述抗体、免疫缀合物、嵌合受体、组合物和/或药物组合物。

10 在第十二方面，本申请提供一种试剂盒，其包括第一方面任一所述的抗体、第二方面所述的免疫缀合物、第三方面所述的嵌合受体、第四方面所述核酸、第五方面所述的载体、第六方面所述的病毒、第七方面所述的组合物、第八方面所述的细胞和/或第九方面所述的药物组合物。

在某些实施方式中，所述试剂盒包括：

容器，以及位于容器中的第九方面所述的药物组合物；或

15 容器，以及位于容器中的第一方面任一所述的抗体或编码该抗体的核酸；或第二方面所述的免疫缀合物或编码该免疫缀合物的核酸；或第三方面所述的嵌合受体或编码该嵌合受体的核酸；或第八方面所述的宿主细胞。

第十三方面，本申请提供一种治疗/诊断疾病的方法，其包括向有需要的受试者给予有效量的如第一方面任一所述的抗体或如第四方面所述的免疫缀合物或如第八方面所述的细胞或如第九方面所述的药物组合物或如第十二方面所述的试剂盒。

在具体的实施方式中，所述疾病选自炎症病症、感染、自身免疫性疾病和肿瘤；

20 在具体的实施方式中，所述受试者是人；

在具体的实施方式中，其中所述宿主细胞对于所述受试者是自体的或同种异体的T细胞。

25 在第十四方面，本申请提供第一方面任一所述的抗体或如第二方面所述的免疫缀合物或如第八方面所述的宿主细胞或如第九方面所述的药物组合物或如第十二方面所述的试剂盒在制备用于治疗/诊断疾病的药物中的用途，其特征在于，所述疾病包括表达GPRC5D；优选地，所述疾病选自炎症病症、感染、自身免疫性疾病和肿瘤。

应理解，在本申请范围内中，本申请的上述各技术特征和在下文(如实施例)中具体描述的各技术特征之间都可以互相组合，从而构成新的或优选的技术方案。限于篇幅，在此不再一一累述。

附图说明

30 图1 显示了杂交瘤抗体AB1、AB2与CHOK1-huGPRC5D细胞结合的EC50；

图2 显示了杂交瘤抗体AB1、AB2均与人GPRC5D和鼠GPRC5D显著结合；

图3 显示了重组杂交瘤抗体AB1 (scFv-mFc) 和AB2 (scFv-mFc) 与表达人GPRC5D的细胞系特异性结合；

图4 显示了抗体AB3、AB4、AB5均特异性结合人GPRC5D；

图5 显示了抗体AB3、AB4、AB5均特异性结合过表达人GPCR5D的293T细胞；

图6 显示了抗体AB3、AB4、AB5与人GPCR5D结合的EC50；

图7 显示了抗体AB3、AB4、AB5均与表达人GPCR5D的细胞(CHOK1-huGPCR5D, 293T-huGPCR5D, MM.1S和NCI-H929)显著结合, 不结合不表达GPCR5D的细胞(CHOK1, 293T和Daudi);

图8 显示了抗体AB3、AB4、AB5与CHOK1-huGPCR5D细胞结合的EC50；

图9 显示了抗体AB3、AB4、AB5与MM.1S细胞结合的EC50；

图10 显示了抗体AB3与CHOK1-muGPCR5D细胞结合；

图11 显示了AB3-BBZ CAR T细胞对靶细胞的体外杀伤效果；

图12 显示了AB3-BBZ CAR T细胞和18-BBZ CAR T细胞在荷瘤小鼠体内抑制肿瘤生长的效果；

图13 显示了AB3-BBZ CAR T细胞和18-BBZ CAR T细胞治疗荷瘤小鼠的体重变化情况；

图14 显示了抗体AB6、AB7和AB8与人GPCR5D的结合结果；

图15 显示了抗体AB3、AB6、AB7和AB8与不同种属GPCR5D细胞系结合的检测结果；

图16显示了抗体AB3、AB6、AB7和AB8与293T-huGPCR5D、MM.1S细胞结合的EC50检测结果；

图17显示了抗体AB3、AB7与Bio-GPCR5D亲和力检测结果；

图18显示了AB3-BBZ、AB6-BBZ、AB7-BBZ、AB8-BBZ CAR T细胞对靶细胞的体外杀伤效果。

具体实施方式

本申请人经过深入的研究筛选, 获得了特异性识别GPCR5D的杂交瘤抗体和全人源抗体。本申请的抗体可以被应用于制备靶向抗肿瘤药物以及诊断肿瘤的药物。

术语

除非专门定义, 本文所用的所有技术和科学术语具有在基因治疗, 生物化学、遗传学和分子生物学领域内的技术人员通常理解的含义。类似或等效于本文中描述的所有方法和材料都可以在本申请的实践或测试中使用, 其中, 本文描述的是合适的方法和材料。本文提及的所有出版物、专利申请、专利和其他参考文献都以其全部内容结合于本文中作为参考。在冲突的情况下, 以本说明书, 包括定义为准。此外, 除非另有规定, 材料、方法和实施例仅是说明性的, 而并非旨在进行限制。

除非另有说明, 本申请的实践将采用细胞生物学、细胞培养、分子生物学、转基因生物学、微生物学、重组DNA和免疫学的传统技术, 这都属于本领域的技术范围。这些技术充分解释于文献中。参见, 例如, Current Protocols in Molecular Biology (Frederick M. AUSUBEL, 2000, Wiley and son Inc, Library of Congress, USA); Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Third

Edition, (Sambrook et al., 2001, Cold Spring Harbor, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press); Oligonucleotide Synthesis (M. J. Gaited., 1984); Mullis et al. U.S. Pat. No. 4,683,195; Nucleic Acid Hybridization (B. D. Harries & S. J. Higgins eds., 1984); Transcription And Translation (B. D. Hames & S. J. Higgins eds., 1984); Culture Of Animal Cells (R. I. Freshney, Alan R. Liss, Inc., 1987); Immobilized Cells And Enzymes (IRL Press, 1986); B. Perbal, A Practical Guide To Molecular Cloning (1984); the series, Methods In ENZYMOLOGY (J. Abelson and M. Simon, eds.-in-chief, Academic Press, Inc., New York), 尤其是 Vols.154和155 (Wu et al. eds.)和 Vol.185, "Gene Expression Technology" (D. Goeddel, ed.); Gene Transfer Vectors For Mammalian Cells (J. H. Miller and M. P. Calos eds., 1987, Cold Spring Harbor Laboratory);
10 Immunochemical Methods In Cell And Molecular Biology (Mayer and Walker, eds., Academic Press, London, 1987); Hand book Of Experimental Immunology, 卷I-IV (D. M. Weir and C. C. Blackwell, eds., 1986); 和 Manipulating the Mouse Embryo (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1986)。

公开内容中, 请求保护的主题的各个方面均以范围形式呈现。应当理解, 范围形式的描述
15 仅仅是为了方便和简洁, 并且不应被解释为对所要求保护的主题的范围的硬性限制。因此, 范围的描述应当被认为已经具体公开了所有可能的子范围以及该范围内的单个数值。例如, 在提供值的范围的情况下, 应当理解, 在该范围的上限和下限之间的每个中间值以及在所述范围内的任何其他所述的或中间的值均被包括在要求保护的主题内, 所述范围的上下限也属于请求保护的
20 的主题的范围。所述较小范围内可独立地包含这些较小范围的上下限, 它们也属于请求保护的
主题的范围, 除非明确地排除所述范围的上下限。设定范围包含一个或两个限值时, 请求保护的
主题也包括排除所述限值之一或两个的范围。这适用而无关范围的宽度。

术语“约”是指本技术领域技术人员容易知晓的各值的通常误差范围。本文中述及“约”值
或参数, 包括(并描述)指向该值或参数本身的实施方式。例如, 关于“约X”的描述包括“X”的描
述。例如, “约”或“包含”可意指按照在该领域中的实际的标准偏差在1以内或多于1。或者“约”
25 或“包含”可意指至多10%(即 $\pm 10\%$)的范围。例如, 约5 μ M可包括在4.5 μ M与5.5 μ M之间的任何数
目。当在申请案与申请专利范围中提供特定值或组成时, 除非另外指出, 否则“约”或“包含”应
假定为在该特定值或组成的可接受误差范围内。

除非另外指出, 本文中所述任何浓度范围、百分比范围、比例范围或整数范围应理解为
包括在所述范围内的任何整数, 以及在合适情况下, 其分数(例如整数的十分之一与百分之一)
30 的数值。

为了更易于理解本申请, 首先定义一些术语。

术语“GPCRC5D”是指被分类至G蛋白偶联受体家族C的组5, 并且是使用一系列人
GPCR的氨基酸序列通过EST数据库的同源性搜索新发现的人GPCR蛋白之一。该蛋白已在
Genbank登录号: AF209923、NM_018654和NP_0611124下登记。GPCRC5D是一种孤儿受体,

在人和人癌症中没有已知的配体或功能。示例性，人GPRC5D全长的氨基酸序列如SEQ ID NO:65所示，鼠GPRC5D全长的氨基酸序列如SEQ ID NO:66所示。

术语“多肽”、“肽”、“蛋白”和“蛋白质”可互换使用，指任何长度的氨基酸的聚合物。聚合物可以是直链、环状或支链的，它可以包含修饰的氨基酸，特别是保守修饰的氨基酸，并且它可以被非氨基酸中断。该术语还包括改性的氨基酸聚合物例如已经通过硫酸化、糖基化、脂化、乙酰化、磷酸化、碘化、甲基化、氧化、蛋白水解加工、异戊二烯化、外消旋化、硒酰化、转移-RNA介导的氨基加成如精氨酸化、泛在化、或任何其他操作如与标记组分缀合等改性的氨基酸聚合物。如本文所用，术语“氨基酸”是指天然和/或非天然或合成氨基酸，包括甘氨酸以及D或L光学异构体，以及氨基酸类似物和肽模拟物。“衍生自”指定的蛋白质的多肽或氨基酸序列是指多肽的来源。该术语还包括由指定的核酸序列表达的多肽。

术语“抗体”在本文中以最广义使用并且包括各种抗体结构，包括但不限于单克隆抗体、多克隆抗体、多特异性抗体(例如，双特异性抗体)和抗体片段，只要其显示所需的抗原结合活性即可。

“抗体片段”是指不同于完整抗体的分子，其包含完整抗体结合完整抗体所结合的抗原的部分。抗体片段的实例包括但不限于(i)由VL、VH、CL和CH1结构域组成的Fab片段，包括Fab'和Fab'-SH，(ii)VH和CH1结构域组成的Fd片段，(iii)由单个抗体的VL和VH结构域组成的Fv片段；(iv)由单个可变区组成的dAb片段(Ward等，1989，Nature 341: 544-546)；(v) F(ab')₂片段，包含2个连接的Fab片段的二价片段；(vi)单链Fv分子抗原结合位点；(vii) 双特异性单链Fv二聚体(PCT/US92/09965)；(viii) “二体”或“三体”，通过基因融合构建的多价或多特异性片段；和(ix)与相同或不同抗体遗传融合的scFv。

抗体的“分类”是指其重链所具有的恒定结构域或恒定区的类型。主要有五类抗体：IgA、IgD、IgE、IgG和IgM，并且这些中的一些可以被进一步划分成亚类(同种异型)，例如，IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2。对应于不同的类型的免疫球蛋白的重链恒定结构域被分别称为 α ， δ ， ϵ ， γ ，和 μ 。

术语“可变区或可变结构域”是指参与抗体抗原结合的抗体重链或轻链的结构域。天然抗体的重链和轻链可变结构域(分别为VH和VL)通常具有相似的结构，其中各结构域包含四个保守的FR和三个CDR。(参见，例如，Kindt等，KubyImmunology,6th ed.,W. H. Freeman & Co.,第91页(2007))。单个VH或VL结构域可足以给予抗原结合特异性。此外，结合特定抗原的抗体可以分别使用来自与所述抗原结合的抗体的VH或V L 结构域筛选互补VL或VH结构域的文库来分离。参见，例如，Portolano等,J.Immunol.150:880-887(1993)；Clarkson等,Nature352:624-628(1991)。

术语“高变区”或“互补决定区”或“CDR”是指抗体可变结构域中序列高变和/或形成结构确定的环(“高变环”)和/或含有与抗原接触的残基(“抗原触点”)的各区域。在某些实施方式中，CDR

可通过选自如下的编号系统确定：Kabat、Chothia、IMGT、Gelfand、Aho和Martin。例如，可通过Kabat编号系统确定。例如，抗体可以包含六个CDR：VH中的三个(HCDR1, HCDR2, HCDR3)和VL中的三个(LCDR1, LCDR2, LCDR3)。

5 术语“Fc区”或“Fc”被用于限定含有恒定区的至少一部分的免疫球蛋白重链的C-端区域。该术语包括天然序列Fc区和变体Fc区。

“框架(FR)”是指不同于高变区(CDR)残基的可变结构域残基。可变结构域的FR通常由四个FR结构域组成：FR1, FR2, FR3和FR4。因此，在VH(或VL)中CDR和FR序列通常按以下顺序出现：FR1-HCDR1(LCDR1)-FR2-HCDR2(LCDR2)-FR3-HCDR3(LCDR3)-FR4。

10 除非另外指出，在本文中，CDR残基和可变结构域中的其他残基(例如，FR残基)根据以上Kabat等编号。

术语“天然抗体”是指天然存在的具有多种结构的免疫球蛋白分子。例如，天然IgG抗体是约150,000道尔顿的异源四聚糖蛋白，由通过二硫键键合的两个相同的轻链和两个相同的重链组成。从N端到C端，各重链具有可变区(VH)，其也被称为可变重链结构域或重链可变结构域，之后是三个恒定结构域(CH1, CH2和CH3)。类似地，从N端到C端，各轻链具有可变区(VL)，15 其也被称为可变轻链结构域或轻链可变结构域，之后是轻链恒定(CL)结构域。抗体的轻链基于其恒定结构域的氨基酸序列可以被分配至两种类型之一，被称为κ(k)和λ(λ)。

术语“全抗”、“全长抗体”、“完整抗体”可交换使用，是指具有与天然抗体结构基本类似的结构或具有含有如本文中所限定的Fc区的重链或包括具有抗原结合区域的完整的全长抗体。

20 术语“单域抗体(Single domain antibody, sdAb)”是指缺失抗体轻链而只有重链可变区的一类抗体，因其分子量小，也被称为纳米抗体(Nanobody)。

术语“单结构域抗体”是指包含抗体的全部或部分的重链可变结构域或全部或部分的轻链可变结构域。在某些实施方案中，单结构域抗体是人单结构域抗体(Domantis, Inc., Waltham, MA; 参加，例如，美国专利号 6248516)。

25 术语“单克隆抗体”、“单抗”是指获自基本上同源的抗体的群体的抗体，即，包括所述群体的个体抗体是相同的和/或结合相同的表位，除可能的变体抗体以外，例如，含天然存在的突变或在单克隆抗体制剂的制备过程中产生，此种变体通常少量存在。对比于多克隆抗体制剂(通常包括针对不同的决定簇(表位)的不同抗体)，单克隆抗体制剂中的各单克隆抗体是针对抗原上的单个决定簇。因此，定于“单克隆”指示抗体的性质为获得自基本上同源的抗体群体，并且不视为要求通过任何特定的方法制备所述抗体。例如，可以通过多种技术制备，包括但不限于杂交瘤方法、重组DNA法、噬菌体展示法，以及利用含有所有或部分的人免疫球蛋白基因座的30 转基因动物的方法。

示范性，本申请的单克隆抗体可以由杂交瘤方法生产，杂交瘤可通过分离出受刺激的免疫细胞(诸如来自被接种动物的脾脏的那些)形成。然后将这些细胞(诸如骨髓瘤细胞或经转化细胞)与永生化细胞融合，它们能够在细胞培养物中无限复制，由此生产出永生的、分泌免疫

球蛋白的细胞系。所利用的永生细胞系被选出(是否缺乏对利用某些营养物所必需的酶)。许多这样的细胞系(诸如骨髓瘤)是本领域技术人员已知的,并且包括例如:胸苷激酶(TK)或次黄嘌呤-鸟嘌呤磷酸核糖转移酶(HGPRT)。这些缺陷允许了:根据融合细胞在例如次黄嘌呤氨基嘌呤胸腺嘧啶核苷培养基(HAT)上生长的能力选择出融合细胞。

5 术语“嵌合抗体”是指抗体重链和/或轻链的一部分来源于特定来源或物种,而重链和/或轻链的剩余部分来源于不同的来源或物种的抗体。在某些实施方案中,嵌合抗体包含非人可变区(例如,来源于小鼠、大鼠、仓鼠、兔或非人灵长类动物如猴的可变区)和人恒定区。在另外的实施方案中,嵌合抗体是“类型转换”抗体,其中类型或亚类已经由亲本抗体的类型或亚类改变。嵌合抗体包括其抗原结合片段。在某些实施方案中,嵌合抗体是“人源化抗
10 体”。

术语“人源化”用于非人抗体,例如啮齿动物或灵长类动物等,是含有来源于非人免疫球蛋白的最小序列的杂合免疫球蛋白,免疫球蛋白链或其片段。“人源化抗体”是指一种嵌合抗体,其包含来自非人CDR的氨基酸残基和来自人FR的氨基酸残基。在某些实施例中,人源化抗体将包含基本上全部的至少一个(一般为两个)可变结构域,其中所有或基本上所有的CDR对应于
15 非人抗体的CDR,并且所有或基本上所有的FR对应于人抗体的FR。人源化抗体任选地可以包含来源于人抗体的抗体恒定区的至少一部分。

在一些实施方案中,“人源化抗体”可包括突变,例如通过体外随机或定点诱变或通过体内体细胞突变引入的突变。

术语“全人源抗体”是一种抗体,其具有的氨基酸序列对应于由人或人细胞产生的抗体或来源于利用人抗体库或其他人抗体编码序列的非人来源的抗体的氨基酸序列。全人源体的定义明确排除了包含非人抗原结合残基的人源化抗体。在某些实施方案中,本文中提供的抗体是“全
20 人源抗体”,是由噬菌体展示技术生成。

本申请的抗体可以通过筛选具有所需一种或多种活性的抗体的组合文库来分离。例如,本领域中已知多种方法用于生成噬菌体展示文库并且针对具有所需结合性质的抗体筛选所述文库。此种方法被综述于例如 Hoogenboom 等, *Methods in Molecular Biology* 178:1-37(O'Brien 等, Human Press, Totowa, NJ, 2001)中并被进一步描述于例如 McCafferty 等, *Nature* 348: 552-554; Clackson 等, *Nature* 352: 624-628(1991); Marks 等, *J. Mol. Biol.* 222:581-597(1992); Marks, *Meth. Mol. Biol.*, 248:161-175(Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ,2003); Sidhu 等, *J. Mol. Biol.* 338(2):299-310(2004); Lee 等, *J. Mol. Biol.* 340(5):1073-1093(2004); Fellouse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*101(34): 12467-12472(2004); Lee 等, *J. Immunol. Methods* 284(1-2):119-132(2004)中。
30

在某些噬菌体展示方法中,VH 和 VL 基因库通过聚合酶链式反应(PCR)分别克隆并且在噬菌体文库中随机重组,然后可以针对结合抗原的噬菌体筛选所述文库,如 Winter 等, *Ann. Rev. Immunol.* 12:433-455(1994)中所述。噬菌体典型地将抗体片段展示位单链 Fv(scFv)片段或 Fab 片段。来自被免疫的来源的文库向免疫原提供高亲和力抗体而不需要构建杂交瘤。备选地,可

以克隆天然(naïve)库(例如, 由人)从而向多种非自身抗原以及自身抗原提供单一来源的抗体而不需要进行任何免疫, 如 Griffiths 等, EMBO J, 12:725-734(1993)所述。最后, 也可以通过以下方式合成制备天然文库: 自干细胞克隆未重排的 V-基因区段, 并且使用含随机序列的 PCR 引物以编码高变 CDR3 区并且在体外实现重排, 如 Hoogenboom, J. Mol. Biol. 227:381-388(1992) 5 所述。

在本文中, 分离自全人源抗体文库的抗体或抗体片段被认为是全人源抗体或全人源抗体片段。

在某些实施方案中, 本文中提供抗体的氨基酸序列变体。术语“亲本抗体”指本申请所提供的抗体或依据本申请所提供的抗体进行突变、或亲和力成熟等处理后所得的抗体。所述亲本 10 抗体可以是天然存在的抗体, 或者天然存在的抗体的变体或改造版本。亲本抗体可以指抗体本身, 包含所述亲本抗体的组合物, 或其编码氨基酸序列。

术语“亲和力成熟”抗体是指相比于亲本抗体在一个或多个高变区(CDR)中具有一个或多个改变的抗体, 此种改变导致抗体对抗原的亲和力提高。

术语“变体”指与本申请所提供的抗体的序列具有基本上相同氨基酸序列或由基本上相同的核苷酸序列编码的一种或多种活性的多肽。所述变体与本申请实施例中所提供的抗体具有相同或相似的活性。例如, 变体可以是基于本申请提供的抗体的氨基酸序列的变体抗体或抗体变 15 体。

术语“变体抗体”或“抗体变体”包括由于相比亲本的至少一个氨基酸修饰, 而不同于亲本抗体序列的抗体序列。本文中的变体抗体序列优选的具有与亲本抗体序列至少约 80%、81%、 20 82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%的氨基酸序列同一性。抗体变体可以指抗体本身, 也可以指包含所述抗体变体的组合物。抗体的氨基酸序列变体可以通过向编码所述抗体的核苷酸序列引入合适的修饰或通过肽合成来制备。术语“氨基酸修饰”包括氨基酸取代、添加和/或缺失, “氨基酸取代”、“氨基酸置换”意指用另一种氨基酸替换亲本多肽序列中特定位置上的氨基酸, “氨基酸插入”意指在亲本多肽序列中的特定位置添加氨基酸, “氨基酸缺失”意指去除亲本多肽序列中特定位置 25 上的氨基酸。可以进行缺失、插入和取代的任意组合以获得最终的构建体, 前提是最终的构建体具有所需的特征, 例如: 结合抗原。

术语“修饰”一词是指本申请的蛋白或多肽的状态或结构的改变。修饰的方式可以是化学的、结构的和功能上的。

术语“保守修饰”或“保守序列修饰”意指不显著影响或改变含有所述氨基酸序列的抗体的结合特征的氨基酸修饰。此类保守修饰包括氨基酸取代、插入和缺失。可通过本领域已知的标准技术将修饰导入本申请的抗体中, 例如定点诱变、PCR介导的诱变。本领域已经定义了具有相似侧链的氨基酸残基家族, 如表1所示。 30

表1: 具有相似侧链的氨基酸残基家族

含碱性侧链的氨基酸	赖氨酸Lys(K)、精氨酸Arg(R)、组氨酸His(H)
含酸性侧链的氨基酸	天冬氨酸Asp(D)、谷氨酸Glu(E)
含极性中性侧链的氨基酸	天冬酰胺Asn(N)、丝氨酸Ser(S)、苏氨酸Thr(T)、酪氨酸Tyr(Y)、半胱氨酸Cys(C)、色氨酸Trp(W)、蛋氨酸Met(M)、谷氨酰胺Gln(Q)
含非极性侧链的氨基酸	甘氨酸Gly(G)、丙氨酸Ala(A)、缬氨酸Val(V)、亮氨酸Leu(L)、异亮氨酸Ile(I)、脯氨酸Pro(P)、苯丙氨酸Phe(F)
含 β 分支侧链的氨基酸	苏氨酸Thr(T)、缬氨酸Val(V)、异亮氨酸Ile(I)
含芳香族侧链的氨基酸	酪氨酸Tyr(Y)、苯丙氨酸Phe(F)、色氨酸Trp(W)

因而，可以用其他相同侧链家族的氨基酸残基替换本申请抗体的CDR区中或框架区中的一个或多个氨基酸残基，并可以测试所改变的抗体(变体抗体)保留的功能。

非保守置换需要将这些组之一的成员换成另一组的成员。

一种置换变体包括置换亲本抗体(例如，人源化或人抗体)的一个或多个高变区残基。通常，
5 被选择用于进一步研究的所得的变体相对于亲本抗体将具有某些生物学性质(例如，增加的亲和力和、减小的免疫原性)的改变(例如，提高)和/或将基本上保持亲本抗体的某些生物学性质。示例性替换变体是亲和力成熟抗体，其可以例如，使用基于噬菌体展示的亲和力成熟技术(如本文中描述的那些)常规制备。简言之，将一个或多个CDR残基突变并将变体抗体展示在噬菌体上并且筛选特定的生物学活性(例如，结合亲和力)。

10 改变(例如，置换)可以在CDR区进行，例如，以提高抗体亲和力。此种改变可以在CDR“热点”中进行，所述“热点”即在体细胞成熟过程期间以高频率进行突变的密码子编码的残基(参见，例如，Chowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207: 179-196(2008)，和/或解除抗原的残基，测试所得的变体VH或VL的结合亲和力。通过构建二级文库并自其进行再选择的亲和力成熟已被描述于例如Hoogenboom等，*Methods in Molecular Biology* 178: 1-37(O'Brien等，ed., Human press,
15 Totowa, NJ, (2001))中。在亲和力成熟的一些实施方案中，通过多种方法中任一种(例如，易错PCR、链改组或寡核苷酸定向诱变)将多样性引入选择用于成熟的可变基因种。然后产生二级文库。然后筛选所述文库以鉴定任何具有所需亲和力的抗体变体。引入多样性的另一种方法包括CDR定向方法，其中若干CDR残基(例如，同时4-6个残基)被随机化。

20 在某些实施方案种，置换、插入或缺失可以发生在一个或多个CDR内，只要这样的改变不显著减小抗体结合抗原的能力。例如，不显著减小结合亲和力的保守改变(例如，本文中所述的保守修饰)可以在CDR中进行。此种改变可以例如在CDR中接触抗原的残基的外部。在上述提供的变体VH和VL序列的某些实施方案中，各CDR是未改变的，或含不超过一个、两个或三个氨基酸置换。

25 术语“抗GPCR5D抗体”、“结合GPCR5D的抗体”、“GPCR5D抗体”、“识别GPCR5D的抗体”是指能够以足够的亲和力结合GPCR5D的抗体，所述抗体可作用于靶向GPCR5D的诊断剂和

/或治疗剂。在一个实施方案中，抗GPCR5D抗体与不相关的、非GPCR5D蛋白的结合程度小于所述抗体与GPCR5D的约10%，如通过酶联免疫吸附实验(ELISA)测定。在某些实施方案中，抗GPCR5D抗体结合GPCR5D的表位，所述表位在来源于不同物种的GPCR5D之间是保守的。

术语“嵌合 T 细胞受体”，包括构成 TCR 的各种多肽衍生的重组多肽，其能够结合到
5 靶细胞上的表面抗原，和与完整的 TCR 复合物的其他多肽相互作用，通常同定位在 T 细胞表面。嵌合 T 细胞受体由一个 TCR 亚基与人或人源化抗体结构域组成的一个抗原结合结构域组成，其中，TCR 亚基包括至少部分 TCR 胞外结构域、跨膜结构域、TCR 胞内结构域的胞内信号结构域的刺激结构域；该 TCR 亚基和该抗体结构域有效连接，其中，TCR 亚基的胞外、跨膜、胞内信号结构域来源于 CD3 ϵ 或 CD3 γ ，并且，该嵌合 T 细胞受体整合进 T 细胞上表达的 TCR。
10

术语“T 细胞抗原耦合器(T cell antigen coupler, TAC)”，包括三个功能结构域：1、抗原结合结构域，包括单链抗体、设计的锚蛋白重复蛋白(designed ankyrin repeat protein, DARPIn)或其他靶向基团；2、胞外区结构域，与 CD3 结合的单链抗体，从而使得 TAC 受体与 TCR 受体靠近；3、跨膜区和 CD4 共受体的胞内区，其中，胞内区连接蛋白激酶 LCK，
15 催化 TCR 复合物的免疫受体酪氨酸活化基序(ITAMs)磷酸化作为 T 细胞活化的初始步骤。

术语“嵌合抗原受体”(CAR)包括胞外抗原结合结构域、跨膜结构域和胞内信号传导结构域。胞内信号传导结构域可以包括刺激分子(也可称作刺激性分子、初级信号分子)和/或共刺激性分子的功能信号传导结构域。例如，刺激性分子可以是与 T 细胞受体复合体结合的 ζ 链；例如，细胞质信号传导结构域进一步包括一种或多种共刺激性分子的功能性信号传导结构域，例如 4-1BB (即 CD137)、CD27 和/或 CD28。
20

在本申请中，一方面，CAR 包含嵌合融合蛋白，所述蛋白包含胞外抗原识别结构域、跨膜结构域、和胞内信号传导结构域，所述胞内信号传导结构域含有源自刺激分子的功能信号传导结构域。一方面，CAR 包含嵌合融合蛋白，所述蛋白包含胞外抗原识别结构域、跨膜结构域、和胞内信号传导结构域，所述胞内信号传导结构域含有源自共刺激分子的功能性信号传导结构域和源自刺激分子的功能性信号传导结构域。一方面，CAR 包含嵌合融合蛋白，所述蛋白包含胞外抗原识别结构域、跨膜结构域和胞内传导结构域，所述胞内信号传导结构域包含源自一个或多个共刺激分子的至少两个功能性信号传导结构域和源自刺激分子的功能性信号传导结构域。一方面，CAR 在 CAR 融合蛋白的氨基酸 (ND 端)包含可选的前导序列。一方面，CAR 在胞外抗原识别结构域的 N 端还包含前导序列，其中前导序列任选地在 CAR 的细胞加工和定位至细胞膜的过程中从抗原识别结构域 (例如 scFv)切下。
25
30

术语“初级信号分子”或“刺激分子”以刺激性方式调节 TCR 复合物的初始活化。通常，初级信号由例如 TCR/CD3 复合物与加载了肽的 MHC 分子的结合而引发，由此介导 T 细胞反应(包括但不限于，增殖、活化、分化等)。以刺激性方式起作用的初级信号分子可

以包含免疫受体酪氨酸激活基序或 ITAM 的信号传导基序。在本申请中尤其有用的包含 ITAM 的初级信号分子的功能信号传导结构域(初级信号域)的例子包括但不限于, 源自 CD3 ζ 、FcR γ 、FcR β 、CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD5, CD22, CD79a, CD79b, CD278 (也称作“ICOS”)和 CD66d 的序列, 在特例的本申请 CAR 中, 在任何一个或多个本申请 CAR 中胞内信号传导结构域包含胞内信号传导序列, 例如 CD3 ζ 的初级信号域。

术语“共刺激信号域”通常是指能够与细胞刺激信号分子, 例如 TCR/CD3 结合, 组合导致 T 细胞增殖和/或关键分子的上调或下调的信号的共刺激分子的胞内结构域。共刺激分子通常为 T 细胞上的关连结合性配偶体, 其特异性结合共刺激配体, 由此介导 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反应所需的、非抗原受体的细胞表面分子或其配体。共刺激分子包括但不限于, MHC I 类分子、BTLA 和 Toll 配体受体、以及 OX40、CD2、CD27、CD28、CDS、ICAM-1、LFA-1 (CD11a/CD18)和 4-1BB (CD137)。

术语“CD3 ζ (也称为 CD3 Zeta)”定义为 GenBan 登录号 BAG36664.1 提供的蛋白质、或来自非人类物种例如小鼠、啮齿类动物、猴、猿等的等价残基。“CD3 ζ 结构域”定义为来自 ξ 链的胞质结构域的氨基酸残基, 其足以功能性地传递 T 细胞活化所需的初始信号。一方面, ξ 的胞质结构域包含 GenBan 登录号 BAG36664.1 的残基 52 至 164、其功能性直向同源物—来自非人物种例如小鼠、啮齿类动物、猴、猿等的等价残基。

发明详述

抗体

在本文中, 描述了利用本领域常规杂交瘤抗体制备技术, 通过免疫小鼠获得杂交瘤抗体, 以及构建重组杂交瘤抗体(scFv-Fc), 还描述了具有基于Fab(抗原结合片段)的抗原结合区域的抗原结合蛋白, 包括抗体Fab。其中使用人GPRC5D抗原(恺佳生物), 从全人的天然的Fab噬菌体文库选择Fab。这些分子展示了精细的特异性。例如, 该抗体仅识别GPRC5D, 及过表达GPRC5D的293T细胞、CHO-K1细胞、MM.1S细胞和NCI-H929细胞, 不识别不表达GPRC5D的细胞。本申请中如果没有特别说明, 本文GPRC5D指人的GPRC5D或鼠的GPRC5D。

在一些实施方案中, 本申请包括具有Fab序列的抗体, 所述Fab序列与一个或多个重链恒定区域融合以形成具有人免疫球蛋白Fc区的抗体以产生双价蛋白, 从而增加抗体的总体亲和力和稳定性。此外, Fc部分允许将其他分子(包括但不限于荧光染料、细胞毒素、放射性同位素等)与例如用于抗原定量研究中的抗体直接缀合, 以便固定抗体用于亲和力测量、用于定向递送治疗药、使用免疫效应细胞测试Fc介导的细胞毒性和许多其它应用。

本文提供的结果突出本申请抗体在靶向GPRC5D时的特异性、灵敏性和效用。

本申请的抗体或抗体片段基于使用噬菌体展示鉴定和选择抗原结合片段(Fab), 所述抗原结合片段的氨基酸序列赋予抗体或抗体片段针对GPRC5D的特异性并且形成本公开的全部抗原结合蛋白的基础。因此, 所述Fab可以用来设计一系列不同“抗体或抗体片段”, 包括例如全长抗体、其片段如F(ab')₂、融合蛋白、多价抗体、scFv-Fc抗体, 即, 具有针对相同抗原或不

同抗原的多于一种特异性的抗体，例如，双特异性T细胞结合抗体(BiTE)、三抗体等(见Cuesta等人, Multivalent antibodies:when design surpasses evolution, Trends in Biotechnology 28: 355-362, 2010)。

在具体实施例中，本申请提供全长抗体，其重链和轻链可以是全长(例如，抗体可以包括至少一条，优选地两条，完整重链，和至少一条，优选地两条，完整轻链)或可以包括抗原结合部分(Fab、F(ab')₂、Fv或scFv)。在其他实施方案中，抗体重链恒定区选自例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA1、IgA2、IgD和IgE。抗体类型的选择将取决于所设计的抗体欲引发的免疫效应子功能。在构建重组免疫球蛋白时，各种免疫球蛋白同种型的恒定区的适宜氨基酸序列和用于产生广泛种类抗体的方法是本领域技术人员已知的。

10 本申请提供了识别GPCR5D的抗体，其包含重链可变区中的至少一个CDR，所述重链可变区包含如SEQ ID NO: 23、27、31、35、39、76或80中任一项所示的氨基酸序列或其变体，或包含与上述任一序列具有至少80%相似性的氨基酸序列；和/或其包含轻链可变区中的至少一个CDR，所述轻链可变区包含如SEQ ID NO: 25、29、33、37、41或78中任一项所示的氨基酸序列或其变体，或包含与上述任一序列具有至少80%相似性的氨基酸序列。例如，所述重链可变区包含如SEQ ID NO: 23、27、31、35或39中任一项所示的氨基酸序列或其变体，或包含与上述任一序列具有至少80%相似性的氨基酸序列；和/或所述轻链可变区包含如SEQ ID NO: 25、29、33、37或41中任一项所示的氨基酸序列或其变体，或包含与上述任一序列具有至少80%相似性的氨基酸序列。例如，所述重链可变区包含如SEQ ID NO: 23、76或80中任一项所示的氨基酸序列或其变体，或包含与上述任一序列具有至少80%相似性的氨基酸序列；和/或所述轻链可变区包含如SEQ ID NO: 25或78中任一项所示的氨基酸序列或其变体，或包含与上述任一序列具有至少80%相似性的氨基酸序列。其中，所述CDR可通过选自如下的编号系统确定：Kabat、Chothia、IMGT、Gelfand、Aho和Martin。本申请所提供的识别GPCR5D的抗体可以包含通过上述任意编号系统确定的某个CDR序列或其组合，组成抗体的重链和/或轻链中的CDR不必是通过相同的编号确定的，例如，抗体中的一个或一些CDR可通过Kabat系统确定，其他CDR可通过上述编号系统的任意一种或其组合确定。在某些实施方式中，所述抗体的CDR可以通过一种编号系统确定的，例如，可通过Kabat编号系统确定；例如，可通过Chothia编号系统确定；例如，可通过IMGT编号系统确定；例如，可通过Gelfand编号系统确定；例如，可通过Aho编号系统确定；例如，可通过Martin编号系统确定。

在某些实施方式中，所述抗体可以包含重链可变区中的一个CDR、两个CDR或三个CDR。

30 在某些实施方式中，所述抗体可以包含轻链可变区中的一个CDR、两个CDR或三个CDR。

在某些实施方式中，所述抗体可以包含重链可变区中的一个CDR、两个CDR或三个CDR，还包含轻链可变区中的一个CDR、两个CDR或三个CDR。例如，可以包含重链可变区中的一个CDR，还包含轻链可变区中的一个CDR、两个CDR或三个CDR；例如，可以包含重链可变区中的两个CDR，还包含轻链可变区中的一个CDR、两个CDR或三个CDR；例如，可以包含

重链可变区中的三个CDR，还包含轻链可变区中的一个CDR、两个CDR或三个CDR；例如，可以包含重链可变区中的三个CDR，还包含轻链可变区中的三个CDR。

在某些实施方式中，所述重链可变区包含如SEQ ID NO: 23、27、31、35、39、76或80中任一项所示的氨基酸序列或其变体。

5 在某些实施方式中，所述轻链可变区包含如SEQ ID NO: 25、29、33、37、41或78中任一项所示的氨基酸序列或其变体。

在某些实施方式中，所述重链可变区包含如SEQ ID NO: 23、27、31、35、39、76或80中任一项所示的氨基酸序列或其变体，且所述轻链可变区包含如SEQ ID NO: 25、29、33、37、41或78中任一项所示的氨基酸序列或其变体。例如，所述重链可变区包含如SEQ ID NO: 23所示的氨基酸序列或其变体，且所述轻链可变区包含如SEQ ID NO: 25、29、33、37、41或78中任一项所示的氨基酸序列或其变体；例如，所述重链可变区包含如SEQ ID NO: 27所示的氨基酸序列或其变体，且所述轻链可变区包含如SEQ ID NO: 25、29、33、37、41或78中任一项所示的氨基酸序列或其变体；例如，所述重链可变区包含如SEQ ID NO: 31所示的氨基酸序列或其变体，且所述轻链可变区包含如SEQ ID NO: 25、29、33、37、41或78中任一项所示的氨基酸序列或其变体；例如，所述重链可变区包含如SEQ ID NO: 35所示的氨基酸序列或其变体，且所述轻链可变区包含如SEQ ID NO: 25、29、33、37、41或78中任一项所示的氨基酸序列或其变体；例如，所述重链可变区包含如SEQ ID NO: 39所示的氨基酸序列或其变体，且所述轻链可变区包含如SEQ ID NO: 25、29、33、37、41或78中任一项所示的氨基酸序列或其变体；例如，所述重链可变区包含如SEQ ID NO: 76所示的氨基酸序列或其变体，且所述轻链可变区包含如SEQ ID NO: 25、29、33、37、41或78中任一项所示的氨基酸序列或其变体；例如，所述重链可变区包含如SEQ ID NO: 80所示的氨基酸序列或其变体，且所述轻链可变区包含如SEQ ID NO: 25、29、33、37、41或78中任一项所示的氨基酸序列或其变体。

在某些实施方式中，所述重链可变区包含如SEQ ID NO: 23、27、31、35或39中任一项所示的氨基酸序列或其变体。

25 在某些实施方式中，所述轻链可变区包含如SEQ ID NO: 25、29、33、37或41中任一项所示的氨基酸序列或其变体。

在某些实施方式中，所述重链可变区包含如SEQ ID NO: 23、27、31、35或39中任一项所示的氨基酸序列或其变体，且所述轻链可变区包含如SEQ ID NO: 25、29、33、37或41中任一项所示的氨基酸序列或其变体。例如，所述重链可变区包含如SEQ ID NO: 23所示的氨基酸序列或其变体，且所述轻链可变区包含如SEQ ID NO: 25、29、33、37或41中任一项所示的氨基酸序列或其变体；例如，所述重链可变区包含如SEQ ID NO: 27所示的氨基酸序列或其变体，且所述轻链可变区包含如SEQ ID NO: 25、29、33、37或41中任一项所示的氨基酸序列或其变体；例如，所述重链可变区包含如SEQ ID NO: 31所示的氨基酸序列或其变体，且所述轻链可变区包含如SEQ ID NO: 25、29、33、37或41中任一项所示的氨基酸序列或其变体；例如，所

述重链可变区包含如SEQ ID NO: 35所示的氨基酸序列或其变体，且所述轻链可变区包含如SEQ ID NO: 25、29、33、37或41中任一项所示的氨基酸序列或其变体；例如，所述重链可变区包含如SEQ ID NO: 39所示的氨基酸序列或其变体，且所述轻链可变区包含如SEQ ID NO: 25、29、33、37或41中任一项所示的氨基酸序列或其变体。

5 在某些实施方式中，所述重链可变区包含如SEQ ID NO: 23、76或80中任一项所示的氨基酸序列或其变体。

在某些实施方式中，所述轻链可变区包含如SEQ ID NO: 25或78中任一项所示的氨基酸序列或其变体。

在某些实施方式中，所述重链可变区包含如SEQ ID NO: 23、76或80中任一项所示的氨基酸序列或其变体，且所述轻链可变区包含如SEQ ID NO: 25或78中任一项所示的氨基酸序列或其变体。例如，所述重链可变区包含如SEQ ID NO: 23所示的氨基酸序列或其变体，且所述轻链可变区包含如SEQ ID NO: 25或78中任一项所示的氨基酸序列或其变体；例如，所述重链可变区包含如SEQ ID NO: 76所示的氨基酸序列或其变体，且所述轻链可变区包含如SEQ ID NO: 25或78中任一项所示的氨基酸序列或其变体；例如，所述重链可变区包含如SEQ ID NO: 80所示的氨基酸序列或其变体，且所述轻链可变区包含如SEQ ID NO: 25或78中任一项所示的氨基酸序列或其变体。

例如，所述重链可变区包含如SEQ ID NO: 23所示的氨基酸序列，且所述轻链可变区包含如SEQ ID NO: 25所示的氨基酸序列。例如，所述重链可变区包含如SEQ ID NO: 27所示的氨基酸序列，且所述轻链可变区包含如SEQ ID NO: 29所示的氨基酸序列。例如，所述重链可变区包含如SEQ ID NO: 31所示的氨基酸序列，且所述轻链可变区包含如SEQ ID NO: 33所示的氨基酸序列。例如，所述重链可变区包含如SEQ ID NO: 35所示的氨基酸序列，且所述轻链可变区包含如SEQ ID NO: 37所示的氨基酸序列。例如，所述重链可变区包含如SEQ ID NO: 39所示的氨基酸序列，且所述轻链可变区包含如SEQ ID NO: 41所示的氨基酸序列。例如，所述重链可变区包含如SEQ ID NO: 76所示的氨基酸序列，且所述轻链可变区包含如SEQ ID NO: 25所示的氨基酸序列。例如，所述重链可变区包含如SEQ ID NO: 80所示的氨基酸序列，且所述轻链可变区包含如SEQ ID NO: 25所示的氨基酸序列。例如，所述重链可变区包含如SEQ ID NO: 23所示的氨基酸序列，且所述轻链可变区包含如SEQ ID NO: 78所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中，所述抗体可以包含所述重链可变区和/或所述轻链可变区。例如，所述重链可变区可以包含重链CDR1(HCDR1)，所述HCDR1可以包含如SEQ ID NO: 1、11、17、70或71任一所示的氨基酸序列。例如，所述重链可变区可以包含重链CDR2(HCDR2)，所述HCDR2可以包含如SEQ ID NO: 2、12、18、72或73任一所示的氨基酸序列。例如，所述重链可变区可以包含重链CDR3(HCDR3)，所述HCDR3可以包含如SEQ ID NO: 3、7、9、13或19任一所示的氨基酸序列。例如，所述重链可变区可以包含HCDR1和HCDR3，所述HCDR1可以包含如SEQ ID NO: 1、11、17、70或71任一所示的氨基酸序列，所述HCDR3可以包含如SEQ ID NO:

3、7、9、13或19任一所示的氨基酸序列。例如，所述重链可变区可以包含HCDR1和HCDR2，所述HCDR1可以包含如SEQ ID NO: 1、11、17、70或71任一所示的氨基酸序列，所述HCDR2可以包含如SEQ ID NO: 2、12、18、72或73任一所示的氨基酸序列。例如，所述重链可变区可以包含HCDR2和HCDR3，所述HCDR2可以包含如SEQ ID NO: 2、12、18、72或73任一所示的氨基酸序列，所述HCDR3可以包含如SEQ ID NO: 3、7、9、13或19任一所示的氨基酸序列。例如，所述重链可变区可以包含HCDR1，HCDR2和HCDR3，所述HCDR1可以包含如SEQ ID NO: 1、11、17、70或71任一所示的氨基酸序列，所述HCDR2可以包含如SEQ ID NO: 2、12、18、72或73任一所示的氨基酸序列，所述HCDR3可以包含如SEQ ID NO: 3、7、9、13或19任一所示的氨基酸序列。例如，所述轻链可变区可以包含轻链CDR1(LCDR1)，所述LCDR1可以包含如SEQ ID NO: 4、14、20或74任一所示的氨基酸序列。例如，所述轻链可变区可以包含轻链CDR2(LCDR2)，所述LCDR2可以包含如SEQ ID NO: 5、15、21或75任一所示的氨基酸序列。例如，所述轻链可变区可以包含轻链CDR3(LCDR3)，所述LCDR3可以包含如SEQ ID NO: 6、8、10、16或22任一所示的氨基酸序列。例如，所述轻链可变区可以包含LCDR1和LCDR3，所述LCDR1可以包含如SEQ ID NO: 4、14、20或74任一所示的氨基酸序列，所述LCDR3可以包含如SEQ ID NO: 6、8、10、16或22任一所示的氨基酸序列。例如，所述轻链可变区可以包含LCDR1和LCDR2，所述LCDR1可以包含如SEQ ID NO: 4、14、20或74任一所示的氨基酸序列，所述LCDR2可以包含如SEQ ID NO: 5、15、21或75任一所示的氨基酸序列。例如，所述轻链可变区可以包含LCDR2和LCDR3，所述LCDR2可以包含如SEQ ID NO: 5、15、21或75任一所示的氨基酸序列，所述LCDR3可以包含如SEQ ID NO: 6、8、10、16或22任一所示的氨基酸序列。例如，所述轻链可变区可以包含LCDR1、LCDR2和LCDR3，所述LCDR1可以包含如SEQ ID NO: 4、14、20或74任一所示的氨基酸序列，所述LCDR2可以包含如SEQ ID NO: 5、15、21或75任一所示的氨基酸序列，所述LCDR3可以包含如SEQ ID NO: 6、8、10、16或22任一所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中，所述抗体可以包含所述重链可变区和/或所述轻链可变区。例如，所述重链可变区可以包含重链CDR1(HCDR1)，所述HCDR1可以包含如SEQ ID NO: 1、11或17任一所示的氨基酸序列。例如，所述重链可变区可以包含重链CDR2(HCDR2)，所述HCDR2可以包含如SEQ ID NO: 2、12或18任一所示的氨基酸序列。例如，所述重链可变区可以包含重链CDR3(HCDR3)，所述HCDR3可以包含如SEQ ID NO: 3、7、9、13或19任一所示的氨基酸序列。例如，所述重链可变区可以包含HCDR1和HCDR3，所述HCDR1可以包含如SEQ ID NO: 1、11或17任一所示的氨基酸序列，所述HCDR3可以包含如SEQ ID NO: 3、7、9、13或19任一所示的氨基酸序列。例如，所述重链可变区可以包含HCDR1和HCDR2，所述HCDR1可以包含如SEQ ID NO: 1、11或17任一所示的氨基酸序列，所述HCDR2可以包含如SEQ ID NO: 2、12或18任一所示的氨基酸序列。例如，所述重链可变区可以包含HCDR2和HCDR3，所述HCDR2可以包含如SEQ ID NO: 2、12或18任一所示的氨基酸序列，所述HCDR3可以包含如SEQ ID NO: 3、7、

9、13或19任一所示的氨基酸序列。例如，所述重链可变区可以包含HCDR1，HCDR2和HCDR3，所述HCDR1可以包含如SEQ ID NO: 1、11或17任一所示的氨基酸序列，所述HCDR2可以包含如SEQ ID NO: 2、12或18任一所示的氨基酸序列，所述HCDR3可以包含如SEQ ID NO: 3、7、9、13或19任一所示的氨基酸序列。例如，所述轻链可变区可以包含轻链CDR1(LCDR1)，所述LCDR1可以包含如SEQ ID NO: 4、14或20任一所示的氨基酸序列。例如，所述轻链可变区可以包含轻链CDR2(LCDR2)，所述LCDR2可以包含如SEQ ID NO: 5、15或21任一所示的氨基酸序列。例如，所述轻链可变区可以包含轻链CDR3(LCDR3)，所述LCDR3可以包含如SEQ ID NO: 6、8、10、16或22任一所示的氨基酸序列。例如，所述轻链可变区可以包含LCDR1和LCDR3，所述LCDR1可以包含如SEQ ID NO: 4、14或20任一所示的氨基酸序列，所述LCDR3可以包含如SEQ ID NO: 6、8、10、16或22任一所示的氨基酸序列。例如，所述轻链可变区可以包含LCDR1和LCDR2，所述LCDR1可以包含如SEQ ID NO: 4、14或20任一所示的氨基酸序列，所述LCDR2可以包含如SEQ ID NO: 5、15或21任一所示的氨基酸序列。例如，所述轻链可变区可以包含LCDR2和LCDR3，所述LCDR2可以包含如SEQ ID NO: 5、15或21任一所示的氨基酸序列，所述LCDR3可以包含如SEQ ID NO: 6、8、10、16或22任一所示的氨基酸序列。例如，所述轻链可变区可以包含LCDR1、LCDR2和LCDR3，所述LCDR1可以包含如SEQ ID NO: 4、14或20任一所示的氨基酸序列，所述LCDR2可以包含如SEQ ID NO: 5、15或21任一所示的氨基酸序列，所述LCDR3可以包含如SEQ ID NO: 6、8、10、16或22任一所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中，所述抗体可以包含所述重链可变区和/或所述轻链可变区。例如，所述重链可变区可以包含重链CDR1(HCDR1)，所述HCDR1可以包含如SEQ ID NO: 1、70或71任一所示的氨基酸序列。例如，所述重链可变区可以包含重链CDR2(HCDR2)，所述HCDR2可以包含如SEQ ID NO: 2、72或73任一所示的氨基酸序列。例如，所述重链可变区可以包含重链CDR3(HCDR3)，所述HCDR3可以包含如SEQ ID NO: 3所示的氨基酸序列。例如，所述重链可变区可以包含HCDR1和HCDR3，所述HCDR1可以包含如SEQ ID NO: 1、70或71任一所示的氨基酸序列，所述HCDR3可以包含如SEQ ID NO: 3所示的氨基酸序列。例如，所述重链可变区可以包含HCDR1和HCDR2，所述HCDR1可以包含如SEQ ID NO: 1、70或71任一所示的氨基酸序列，所述HCDR2可以包含如SEQ ID NO: 2、72或73任一所示的氨基酸序列。例如，所述重链可变区可以包含HCDR2和HCDR3，所述HCDR2可以包含如SEQ ID NO: 2、72或73任一所示的氨基酸序列，所述HCDR3可以包含如SEQ ID NO: 3所示的氨基酸序列。例如，所述重链可变区可以包含HCDR1，HCDR2和HCDR3，所述HCDR1可以包含如SEQ ID NO: 1、70或71任一所示的氨基酸序列，所述HCDR2可以包含如SEQ ID NO: 2、72或73任一所示的氨基酸序列，所述HCDR3可以包含如SEQ ID NO: 3所示的氨基酸序列。例如，所述轻链可变区可以包含轻链CDR1(LCDR1)，所述LCDR1可以包含如SEQ ID NO: 4或74任一所示的氨基酸序列。例如，所述轻链可变区可以包含轻链CDR2(LCDR2)，所述LCDR2可以包含如SEQ ID NO: 5或75任一所示的氨基酸序列。例如，所述轻链可变区可以包含轻链CDR3(LCDR3)，所述LCDR3可以包

含如SEQ ID NO: 6所示的氨基酸序列。例如，所述轻链可变区可以包含LCDR1和LCDR3，所述LCDR1可以包含如SEQ ID NO: 4或74任一所示的氨基酸序列，所述LCDR3可以包含如SEQ ID NO: 6所示的氨基酸序列。例如，所述轻链可变区可以包含LCDR1和LCDR2，所述LCDR1可以包含如SEQ ID NO: 4或74任一所示的氨基酸序列，所述LCDR2可以包含如SEQ ID NO: 5或75任一所示的氨基酸序列。例如，所述轻链可变区可以包含LCDR2和LCDR3，所述LCDR2可以包含如SEQ ID NO: 5或75任一所示的氨基酸序列，所述LCDR3可以包含如SEQ ID NO: 6所示的氨基酸序列。例如，所述轻链可变区可以包含LCDR1、LCDR2和LCDR3，所述LCDR1可以包含如SEQ ID NO: 4或74任一所示的氨基酸序列，所述LCDR2可以包含如SEQ ID NO: 5或75任一所示的氨基酸序列，所述LCDR3可以包含如SEQ ID NO: 6所示的氨基酸序列。

10 例如，所述抗体可以包含所述重链可变区和所述轻链可变区，所述重链可变区可以包含所述HCDR1、所述HCDR2、所述HCDR3，且所述轻链可变区可以包含所述LCDR1、所述LCDR2、所述LCDR3。例如，所述HCDR1可以包含如SEQ ID NO: 1所示的氨基酸序列、所述HCDR2可以包含如SEQ ID NO: 2所示的氨基酸序列、所述HCDR3可以包含如SEQ ID NO: 3所示的氨基酸序列，且所述LCDR1可以包含如SEQ ID NO: 4所示的氨基酸序列、所述LCDR2可以包含如SEQ ID NO: 5所示的氨基酸序列、所述LCDR3可以包含如SEQ ID NO: 6所示的氨基酸序列。例如，所述HCDR1可以包含如SEQ ID NO: 1所示的氨基酸序列、所述HCDR2可以包含如SEQ ID NO: 2所示的氨基酸序列、所述HCDR3可以包含如SEQ ID NO: 7所示的氨基酸序列，且所述LCDR1可以包含如SEQ ID NO: 4所示的氨基酸序列、所述LCDR2可以包含如SEQ ID NO: 5所示的氨基酸序列、所述LCDR3可以包含如SEQ ID NO: 8所示的氨基酸序列。例如，所述HCDR1可以包含如SEQ ID NO: 1所示的氨基酸序列、所述HCDR2可以包含如SEQ ID NO: 2所示的氨基酸序列、所述HCDR3可以包含如SEQ ID NO: 9所示的氨基酸序列，且所述LCDR1可以包含如SEQ ID NO: 4所示的氨基酸序列、所述LCDR2可以包含如SEQ ID NO: 5所示的氨基酸序列、所述LCDR3可以包含如SEQ ID NO: 10所示的氨基酸序列。例如，所述HCDR1可以包含如SEQ ID NO: 11所示的氨基酸序列、所述HCDR2可以包含如SEQ ID NO: 12所示的氨基酸序列、所述HCDR3可以包含如SEQ ID NO: 13所示的氨基酸序列，且所述LCDR1可以包含如SEQ ID NO: 14所示的氨基酸序列、所述LCDR2可以包含如SEQ ID NO: 15所示的氨基酸序列、所述LCDR3可以包含如SEQ ID NO: 16所示的氨基酸序列。例如，所述HCDR1可以包含如SEQ ID NO: 17所示的氨基酸序列、所述HCDR2可以包含如SEQ ID NO: 18所示的氨基酸序列、所述HCDR3可以包含如SEQ ID NO: 19所示的氨基酸序列，且所述LCDR1可以包含如SEQ ID NO: 20所示的氨基酸序列、所述LCDR2可以包含如SEQ ID NO: 21所示的氨基酸序列、所述LCDR3可以包含如SEQ ID NO: 22所示的氨基酸序列。例如，所述HCDR1可以包含如SEQ ID NO: 70所示的氨基酸序列、所述HCDR2可以包含如SEQ ID NO: 72所示的氨基酸序列、所述HCDR3可以包含如SEQ ID NO: 3所示的氨基酸序列，且所述LCDR1可以包含如SEQ ID NO: 4所示的氨基酸序列、所述LCDR2可以包含如SEQ ID NO: 5所示的氨基酸序列、所述LCDR3可以包含如SEQ ID NO:

6所示的氨基酸序列。例如，所述HCDR1可以包含如SEQ ID NO: 71所示的氨基酸序列、所述HCDR2可以包含如SEQ ID NO: 73所示的氨基酸序列、所述HCDR3可以包含如SEQ ID NO: 3所示的氨基酸序列，且所述LCDR1可以包含如SEQ ID NO: 4所示的氨基酸序列、所述LCDR2可以包含如SEQ ID NO: 5所示的氨基酸序列、所述LCDR3可以包含如SEQ ID NO: 6所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中，所述抗体包含重链可变区，所述重链可变区包含SEQ ID NO: 1、11或17任一所示氨基酸序列的重链CDR1，和/或包含SEQ ID NO: 2、12或18任一所示氨基酸序列的重链CDR2，和/或包含SEQ ID NO: 3、7、9、13或19任一所示氨基酸序列的重链CDR3。在某些实施方式中，本申请提供了识别GPCR5D的抗体包括：包含SEQ ID NO: 4、14或20任一所示氨基酸序列的轻链CDR1，和/或包含SEQ ID NO: 5、15或21任一所示氨基酸序列的轻链CDR2，和/或包含SEQ ID NO: 6、8、10、16或22任一所示氨基酸序列的轻链CDR3。在某些实施方式中，本申请提供了识别GPCR5D的抗体包括：包含SEQ ID NO: 1、11或17任一所示氨基酸序列的重链CDR1，和/或包含SEQ ID NO: 2、12或18任一所示氨基酸序列的重链CDR2，和/或包含SEQ ID NO: 3、7、9、13或19任一所示氨基酸序列的重链CDR3，和/或包含SEQ ID NO: 4、14或20任一所示氨基酸序列的轻链CDR1，和/或包含SEQ ID NO: 5、15或21任一所示氨基酸序列的轻链CDR2，和/或包含SEQ ID NO: 6、8、10、16或22任一所示氨基酸序列的轻链CDR3。例如，所述识别GPCR5D的抗体包括：包含SEQ ID NO: 1、11或17任一所示氨基酸序列的重链CDR1，和包含SEQ ID NO: 2、12或18任一所示氨基酸序列的重链CDR2，和包含SEQ ID NO: 3、7、9、13或19任一所示氨基酸序列的重链CDR3，和/或包含SEQ ID NO: 4、14或20任一所示氨基酸序列的轻链CDR1，和包含SEQ ID NO: 5、15或21任一所示氨基酸序列的轻链CDR2，和包含SEQ ID NO: 6、8、10、16或22任一所示氨基酸序列的轻链CDR3。例如，所述识别GPCR5D的抗体包括：包含SEQ ID NO: 1、11或17任一所示氨基酸序列的重链CDR1，和包含SEQ ID NO: 2、12或18任一所示氨基酸序列的重链CDR2，和包含SEQ ID NO: 3、7、9、13或19任一所示氨基酸序列的重链CDR3，和包含SEQ ID NO: 4、14或20任一所示氨基酸序列的轻链CDR1，和包含SEQ ID NO: 5、15或21任一所示氨基酸序列的轻链CDR2，和包含SEQ ID NO: 6、8、10、16或22任一所示氨基酸序列的轻链CDR3。例如，所述识别GPCR5D的抗体包括：包含SEQ ID NO: 1所示的HCDR1，SEQ ID NO: 2所示的HCDR2和SEQ ID NO: 3所示的HCDR3；SEQ ID NO: 4所示的LCDR1，SEQ ID NO: 5所示的LCDR2和SEQ ID NO: 6所示的LCDR3；或包含 SEQ ID NO: 1所示的HCDR1，SEQ ID NO: 2所示的HCDR2和SEQ ID NO: 7所示的HCDR3；SEQ ID NO: 4所示的LCDR1，SEQ ID NO: 5所示的LCDR2和SEQ ID NO: 8所示的LCDR3；或包含 SEQ ID NO: 1所示的HCDR1，SEQ ID NO: 2所示的HCDR2和SEQ ID NO: 9所示的HCDR3；SEQ ID NO: 4所示的LCDR1，SEQ ID NO: 5所示的LCDR2和SEQ ID NO: 10所示的LCDR3。

在某些实施方式中，所述抗体可以包含所述重链可变区和/或所述轻链可变区。例如，所述重链可变区可以包含如SEQ ID NO: 23、27、31、35、39、76或80任一所示的氨基酸序列。

例如，所述轻链可变区可以包含如SEQ ID NO: 25、29、33、37、41或78任一所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中，所述抗体可以包含所述重链可变区和/或所述轻链可变区。例如，所述重链可变区可以包含如SEQ ID NO: 23、27、31、35或39任一所示的氨基酸序列。例如，所述轻链可变区可以包含如SEQ ID NO: 25、29、33、37或41任一所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中，所述抗体可以包含所述重链可变区和/或所述轻链可变区。例如，所述重链可变区可以包含如SEQ ID NO: 23、76或80任一所示的氨基酸序列。例如，所述轻链可变区可以包含如SEQ ID NO: 25或78任一所示的氨基酸序列。

例如，所述抗体可以包含所述重链可变区和所述轻链可变区。例如，所述重链可变区包含如SEQ ID NO: 23所示的氨基酸序列，且所述轻链可变区包含如SEQ ID NO: 25所示的氨基酸序列。例如，所述重链可变区包含如SEQ ID NO: 27所示的氨基酸序列，且所述轻链可变区包含如SEQ ID NO: 29所示的氨基酸序列。例如，所述重链可变区包含如SEQ ID NO: 31所示的氨基酸序列，且所述轻链可变区包含如SEQ ID NO: 33所示的氨基酸序列。例如，所述重链可变区包含如SEQ ID NO: 35所示的氨基酸序列，且所述轻链可变区包含如SEQ ID NO: 37所示的氨基酸序列。例如，所述重链可变区包含如SEQ ID NO: 39所示的氨基酸序列，且所述轻链可变区包含如SEQ ID NO: 41所示的氨基酸序列。例如，所述重链可变区包含如SEQ ID NO: 76所示的氨基酸序列，且所述轻链可变区包含如SEQ ID NO: 25所示的氨基酸序列。例如，所述重链可变区包含如SEQ ID NO: 80所示的氨基酸序列，且所述轻链可变区包含如SEQ ID NO: 25所示的氨基酸序列。例如，所述重链可变区包含如SEQ ID NO: 23所示的氨基酸序列，且所述轻链可变区包含如SEQ ID NO: 78所示的氨基酸序列。

在另一方面，本申请提供了识别GPRC5D的抗体，包含重链可变区，所述重链可变区包含SEQ ID NO: 23、27、31、35或39任一所示的氨基酸序列、或上述序列的变体。

在另一方面，本申请提供了识别GPRC5D的抗体，包含轻链可变区，该轻链可变区包含SEQ ID NO: 25、29、33、37或41任一所示的氨基酸序列、或上述序列的变体。

在另一方面，本申请提供了识别GPRC5D的抗体，包含上述重链可变区及轻链可变区的抗体。

考虑到这些重链可变区和轻链可变区序列各自可以结合GPRC5D，可以“混合和匹配”重链和轻链可变区序列来产生本申请的抗GPRC5D的结合分子。

在另一个方面，本申请提供了结合GPRC5D的抗体的变体或其片段的变体。因而本申请提供了抗体或其片段，具有与重链或轻链的可变区序列至少80%相同的重链和/或轻链可变区。优选的，重链和/或轻链可变区的氨基酸序列同一性是至少85%，更优选至少90%，最优选至少95%，特别是96%，更特别97%，甚至更特别98%，最特别99%，包括例如80%，81%，82%，83%，84%，85%，86%，87%，88%，89%，90%，91%，92%，93%，94%，95%，96%，97%，98%，99%和100%。变体可以以本申请所述的抗体为母本抗体，通过酵母库筛选、噬菌体库筛

选、点突变等方法得到。

在另一个方面，本申请提供了与前述的抗GPCR5D的抗体识别相同的抗原决定部位的抗体。

在另一个方面，本申请提供了与前述的抗GPCR5D的抗体竞争性结合GPCR5D的抗体。

- 5 在另一个方面，本申请提供了特异性结合GPCR5D的抗体，所述抗体是全抗、scFv、单域抗体、Fab片段、Fab'片段、Fv片段、F(ab')₂片段、Fd片段、dAb片段、多功能抗体或scFv-Fc抗体。

抗体测定

- 10 通过本领域已知的多种测定可以鉴定、筛选本文中提供的抗 GPCR5D 抗体或表征其物理/化学性质和/或生物学活性。包括例如 ELISA、biacore、Western 印迹和流式细胞仪分析。合适的测定详细描述在实施例 中。

- 术语“亲和力”是指分子(例如：抗体)的单个结合位点及其结合配体(例如：抗原)之间非共价相互作用的力量总和。除非另外指出，如本文中使用的“结合亲和力”是指固有结合亲和力，其反应结合对的成员(例如：抗体和抗原)之间 1: 1 相互作用。分子 X 对其配体 Y 的亲和力通常可以由解离常数(Kd)代表。亲和力可以通过本领域中已知的常规方法测量，所述方法包括本文中所述的利用 Biacore 测定抗体的亲和力。本文中的抗体对 GPCR5D 的“亲和力”以抗体的 KD 表示。抗体的 KD 是指抗体——抗原相互作用的平衡解离常数。抗体结合其抗原的 KD 值越大，其对所述具体抗原的结合亲和力越弱。
- 15

- 术语“EC50”，半最大效应浓度(concentration for 50% of maximal effect, EC50)是指能引起 50%最大效应的浓度。
- 20

抗原

- 术语“抗原”是指被抗原结合单元识别并特异性结合的物质。抗原可以包括肽、蛋白质、糖蛋白、多糖和脂质，其部分及其组合。非限制性示例性抗原包括肿瘤抗原或病原体抗原。“抗原”也可以指引发免疫反应的分子。这种免疫反应可能涉及抗体产生或特定免疫活性细胞 (immunologically-competent cells)的活化，或两者兼有。本领域技术人员将理解，任何大分子，包括实际上所有的蛋白质或肽，都可以作为抗原。
- 25

术语“表位”指可被抗体、B 细胞、T 细胞或工程化细胞识别的抗原或部分抗原。例如，表位可以是被抗体识别的肿瘤表位或病原体表位；抗体识别抗原内的多个表位。表位也可以突变。

- 术语“抗原决定部位”又称“抗原表位”或“表位”或“抗原决定簇”，包括任何能够被抗体结合的决定簇或区域。抗原表位是抗原中被靶向所述抗原的抗体结合的区域，包括与抗体直接接触的特定氨基酸。示例性，抗原表位可以由GPCR5D蛋白序列的连续序列组成，也可以由GPCR5D蛋白序列不连续的三维结构组成。示例性，本文中使用的抗原是人或鼠的GPCR5D。
- 30

免疫缀合物

本申请还提供了免疫缀合物，所述的免疫缀合物包括本文所述的抗体，以及与之连

接的功能性分子。本申请提供的所述抗体已在前文描述，本申请提供的免疫缀合物包含其全部技术方案。所述抗体与所述功能性分子可以通过共价连接、偶联、附着、交联等方式构成缀合物。

“连接”或“融合”在本文中可互换使用。其通常是指通过包括化学缀合或重组方法的任何手段将两个以上化学元件或组件连接在一起。“框内融合”是指以维持原始开放阅读框(ORF)的正确阅读框的方式连接两个或更多个ORF以形式连续的较长的ORF。因此，所得到的重组融合蛋白是含有两个或更多个片段的单一蛋白质，这些片段对应于由原始ORF编码的多肽(这些片段在自然状态通常不是如此连接)。尽管阅读框因此在整个融合片段中是连续的，但这些片段可以在物理上或空间上通过例如框内连接序列(例如“flexon”)分开。

本申请另一方面提供了编码本申请的至少一种抗体、其功能变体或免疫缀合物的核酸分子。一旦获得了有关的序列，就可以用重组法来大批量地获得有关序列。这通常是将其克隆入载体，再转入细胞，然后通过常规方法从增殖后的宿主细胞中分离得到有关序列。

本申请还涉及包含上述的适当DNA序列以及适当启动子或者控制序列的载体。这些载体可以用于转化适当的宿主细胞，以使其能够表达蛋白质。宿主细胞可以是原核细胞，如细菌细胞；或是低等真核细胞，如酵母细胞；或是高等真核细胞，如哺乳动物细胞。

嵌合受体

本申请还提供了嵌合受体，其通常是指用基因重组技术将不同来源的DNA片段或蛋白质相应的cDNA连接而成的融合分子的表达产物，可以包括胞外域、跨膜域和胞内域。其中所述胞外域包含本申请提供的抗体，所述抗体已在前文详细描述，本申请提供的嵌合受体包含其全部技术方案。所述嵌合受体包括但不限于：嵌合抗原受体(CAR)、嵌合T细胞受体、T细胞抗原耦合器(TAC)。

在一些实施方案中，本申请的嵌合受体是嵌合抗原受体(CAR)。在某些实施方式中，CAR的胞外抗原结合区(或称为胞外域)来源于小鼠或人源化或人的单克隆抗体。

所述嵌合抗原受体通常包含胞外抗原结合区或者抗体。在一些实施例中，胞外抗原结合区可以是完全人的。在其他情况下，胞外抗原结合区可以是人源化的。在其他情况下，胞外抗原结合区可以是鼠源的，或者所述胞外抗原结合区中的嵌合体由来自至少两种不同动物的氨基酸序列组成。在一些实施例中，所述胞外抗原结合区可以是非人的。

在某些实施方式中，所述嵌合抗原受体还可以设计为包含多种抗原结合区，包括衍生自抗体的单链可变片段(scFv)、选自文库的片段抗原结合区(Fab)、单结构域片段或与接合其同源受体的自然配体。在一些实施例中，胞外抗原结合区可以包含scFv、Fab或天然配体，以及它们的任何衍生物。胞外抗原结合区可以指除完整抗体之外的分子，其可以包含完整抗体的一部分并且可以与完整抗体所结合的抗原结合。抗体片段的实例可以包括但不限于Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂；双功能抗体、线性抗体；单链抗体分子(例如scFv)；和由抗体片段形成的多特异性抗体。胞外抗原结合区，例如scFv、Fab或天然配体，可以

是确定抗原特异性的CAR的一部分。胞外抗原结合区可以结合任何互补靶。胞外抗原结合区可以衍生自己已知可变区序列的抗体。胞外抗原结合区可以从获自可获得的小鼠杂交瘤的抗体序列中得到。或者，可以从肿瘤细胞或原代细胞例如肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)的全外切割测序获得胞外抗原结合区。

5 在一些实施例中，CAR的胞外抗原结合区的结合特异性可以通过互补决定区或CDR，如轻链CDR或重链CDR来确定。在许多情况下，结合特异性可以通过轻链CDR和重链CDR来确定。

10 在一些实施例中，CAR的胞外抗原结合区包括铰链或间隔区，铰链和间隔区可以互换使用。铰链可以被认为是用于向胞外抗原结合区提供柔性的CAR的一部分。在一些实施例中，铰链可用于检测细胞的细胞表面上的CAR，特别是当检测胞外抗原结合区的抗体不起作用或不可用时。在一些实施例中，铰链可能不属于免疫球蛋白，而是属于另一种分子，如CD8 α 分子的天然铰链。CD8 α 铰链可以含有已知在CD8辅助受体和MHC分子的相互作用中起作用的半胱氨酸和脯氨酸残基。可以根据所使用的胞外抗原结合区来调节铰链。铰链可以是任何长度的。例如，所述铰链可以包含如SEQ ID NO: 59所示的氨基酸序列。

15 CAR的跨膜结构域(或称为结构区)可以将CAR锚定在细胞的质膜上。CD28的天然跨膜部分可用于CAR。在其他情况下，也可以在CAR中使用CD8 α 的天然跨膜部分。“CD8”可以是与NCBI参考号：NP_001759或其具有刺激活性的片段具有至少85、90、95、96、97、98、99或100%同一性的蛋白质。“CD8核酸分子”可以是编码CD8多肽的多核苷酸，在某些情况下，跨膜区可以是CD28的天然跨膜部分，“CD28”可以指与NCBI参考号：NP_006130
20 或其具有刺激活性的片段具有至少85、90、95、96、97、98、99或100%同一性的蛋白质。“CD28核酸分子”可以是编码CD28多肽的多核苷酸。在一些实施例中，跨膜部分可以包含CD8 α 区。例如，所述跨膜结构域可以包含如SEQ ID NO: 60所示的氨基酸序列。

25 CAR的(细)胞内信号传导区可以负责活化包含所述CAR的免疫应答细胞的效应子功能中的至少一种。CAR可以诱导T细胞的效应子功能，例如，所述效应子功能是细胞溶解活性或辅助活性，包括细胞因子的分泌，如IL-2，TNF- α ， γ -IFN等。因此，术语细胞内信号传导区是指转导效应子功能信号并引导细胞进行特异功能的蛋白质部分。虽然通常可以使用整个细胞内信号传导区，但是在许多情况下，不必使用信号结构域是整个链。在一些实施例中，使用细胞内信号传导区的截短部分。在一些实施例中，术语细胞内信号传导区因此意在包括足以转导效应子功能信号的细胞内信号传导区的任何截短部分。

30 在CAR中使用的信号结构域(或称为结构区)的优选实例可以包括T细胞受体(TCR)的细胞质序列和协同作用以在靶-受体结合之后启动信号转导的共同受体，以及它们的任何衍生物或变体序列和这些序列的具有相同功能性的任何合成序列。

在一些实施例中，所述CAR的细胞内信号传导区可以含有已知的免疫受体酪氨酸激活基序(ITAM)的信号基序。含有细胞质信号传导序列的ITAM的实例包括衍生自CD3 ζ 、Fc γ 、

FcR β 、CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD5、CD22、CD79a、CD79b和CD66d的那些。然而，在优选的实施例中，细胞内信号结构域衍生自CD3 ζ 链。

含有一个或多个ITAM基序的T细胞信号结构域的实例是CD3 ζ 结构域，也称为T细胞受体CD3 ζ 链或CD247。该结构域是T细胞受体-CD3复合物的一部分，并且在将几种细胞内信号转导途径的抗原识别与T细胞的主效应激活相结合方面起重要作用。如本文所用，CD3 ζ 主要是指人类CD3 ζ 及其同种型，如从Swissprot条目P20963所知的，包括具有基本相同序列的蛋白质。作为嵌合抗原受体的一部分，不需要全T细胞受体CD3 ζ 链，并且其包含T细胞受体CD3 ζ 链的信号结构域的任何衍生物都是合适的，包括其任何功能等同物。例如，所述CD3 ζ 链的信号结构域可以包含如SEQ ID NO: 62所示的氨基酸序列。

10 在某些实施方式中，CAR的细胞内信号传导结构域(或称为结构区)可以选自表2的任何一个共刺激结构域。在一些实施例中，可以修饰结构域，使得与参考结构域的同源性可以为约50%至约100%。可以修饰表1的任何一个结构域，使得修饰形式可以包含约50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或至多约100%的同源性。

15 在某些实施方式中，CAR的细胞内信号传导区可以进一步包含一个或多个共刺激结构域。细胞内信号传导区可以包含单个共刺激结构域，例如 ζ 链(第一代CAR)或其与CD28或4-1BB(第二代CAR)。在其他实例中，细胞内信号传导区可以包含两个共刺激结构域，例如CD28/OX40或CD28/4-1BB(第三代)。例如，所述4-1BB的共刺激结构域可以包含如SEQ ID NO: 61所示的氨基酸序列。

20 在某些实施方式中，与细胞内信号结构域如CD8一起，这些共刺激结构域可以产生激酶途径的下游激活，从而支持基因转录和功能性细胞反应。CAR的共刺激结构域可以激活与CD28(磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸3-激酶)或4-1BB/OX40(TNF-受体相关因子衔接蛋白)途径以及MAPK和Akt 激活相关的近端信号蛋白。

25 在某些情况下，通过CAR产生的信号可能与辅助或共刺激信号相结合。对于共刺激信号结构域，嵌合抗原受体样复合物可被设计成包含若干可能的共刺激信号结构域。在本领域众所周知的，在幼稚T细胞中，T细胞受体的单独结合不足以诱导T细胞的完全活化为细胞毒性T细胞。完整的生产性T细胞激活需要第二共刺激信号。已经报道对T细胞活化提供共刺激的几种受体，包括但不限于CD28、OX40、CD27、CD2、CD5、ICAM-1、LFA-1(CD11a/CD18)、4-1BBL、MyD88和4-1BB。这些共刺激分子使用的信号传导途径均能与主T细胞受体激活信号协同作用。这些共刺激信号传导区提供的信号可以与源自一个或多个ITAM基序(例如CD3zeta信号转导域)的主效应激活信号协同作用，并且可以完成T细胞激活的要求。

30 在一些实施方案中，向嵌合抗原受体样复合物添加共刺激结构域可以增强工程细胞的功效和耐久性。在另一些实施方案中，T细胞信号结构域和共刺激结构域彼此融合从而构成信号传导区。

表2. 共刺激结构域

基因标志	缩写	名称
CD27	CD27; T14; S152; Tp55; TNFRSF7; S152. LPFS2	CD27分子
CD28	Tp44; CD28; CD28 抗原	CD28分子
TNFRSF9	ILA; 4-1BB; CD137; CDw137	肿瘤坏死因子受体超家族成员9
TNFRSF4	OX40; ACT35; CD134; IMD16; TXGP1L	肿瘤坏死因子受体超家族成员4
TNFRSF8	CD30; Ki-1; D1S166E	肿瘤坏死因子受体超家族成员8
CD40LG	IGM; IMD3; TRAP; gp39; CD154; CD40L; HIGM1; T-BAM; TNFSF5; hCD40L	CD40配体
ICOS	AILIM; CD278; CVID1	诱导型T细胞共刺激剂
ITGB2	LAD; CD18; MF17; MFI7; LCAMB; LFA-1; MAC-1	整合素 β 2(补体成分3受体3和4亚基)
CD2	T11; SRBC; LFA-2	CD2分子
CD7	GP40; TP41; Tp40; LEU-9	CD7分子
KLRC2	NKG2C; CD159c; NKG2-C	杀伤细胞凝集素样受体亚家族C, 成员2
TNFRSF18	AITR; GITR; CD357; GITR-D	肿瘤坏死因子受体超家族成员18
TNFRSF14	TR2; ATAR; HVEA; HVEM; CD270; LIGHTR	肿瘤坏死因子受体超家族成员14
HAVCR1	TIM; KIM1; TIM1; CD365; HAVCR; KIM-1; TIM-1; TIMD1; TIMD-1; HAVCR-1	甲型肝炎病毒细胞受体1
LGALS9	HUAT; LGALS9A, Galectin-9	凝集素, 半乳糖苷结合, 可溶性, 9
CD83	BL11; HB15	CD83分子

在一些实施案例中, 用编码CAR的病毒载体转导细胞(例如T细胞)。在一些实施案例中, 病毒载体是慢病毒载体。一些实施方案中, 细胞可以稳定地表达CAR。

在某些实施方式中, CAR的GPCR5D结合部分是scFv, 与其所来自的Fab抗体相比, 保持等价的亲和结合力, 例如其以相当的功效结合相同抗原。该抗体片段是功能性的, 其由此提供生物化学反应, 例如激活免疫反应、抑制从其靶抗原的信号传导起始、抑制激酶活性等。例如, 所述scFv可以包含如SEQ ID NO: 43、82、84或86任一所示的序列。

在某些实施方式中, CAR的抗GPCR5D抗原结合结构域是全人源抗体片段。

在某些实施方式中, 本申请CAR将特定抗体的抗原结合结构域和胞内信号传导分子组合在一起。例如, 胞内信号传导分子包括但不限于, CD3 ζ 链、4-1BB和CD28信号传导模块及其组合。

在某些实施方式中, GPCR5D-CAR包含至少一个胞内信号传导结构域, 其选择CD137(4-1BB)信号传导结构域、CD28信号传导结构域、CD3 ζ 信号结构域, 及其任何组合。一方面, GPCR5D-CAR包含至少一个胞内信号传导结构域, 其来自一个或多个非CD137(4-1BB)或CD28的共刺激分子。

作为示例性的, GPCR5D-CAR的序列可以是:

具有SEQ ID NO: 43所示的胞外域、SEQ ID NO: 59所示的铰链域、SEQ ID NO: 60所示的跨膜域、SEQ ID NO: 61所示的共刺激信号域、以及SEQ ID NO: 62所示的初级信号域

(AB3-BBZ)。

具有SEQ ID NO: 82所示的胞外域、SEQ ID NO: 59所示的铰链域、SEQ ID NO: 60所示的跨膜域、SEQ ID NO: 61所示的共刺激信号域、以及SEQ ID NO: 62所示的初级信号域 (AB6-BBZ)。

5 具有SEQ ID NO: 84所示的胞外域、SEQ ID NO: 59所示的铰链域、SEQ ID NO: 60所示的跨膜域、SEQ ID NO: 61所示的共刺激信号域、以及SEQ ID NO: 62所示的初级信号域 (AB7-BBZ)。

10 具有SEQ ID NO: 86所示的胞外域、SEQ ID NO: 59所示的铰链域、SEQ ID NO: 60所示的跨膜域、SEQ ID NO: 61所示的共刺激信号域、以及SEQ ID NO: 62所示的初级信号域 (AB8-BBZ)。

示例性的，嵌合抗原受体的氨基酸序列如SEQ ID NO: 63、88、89、90任一所示。

上述嵌合抗原受体的跨膜域和胞内域，本领域技术人员可以选择常规的跨膜域和胞内域进行替换，且均落入本申请的保护范围。

核酸、载体、病毒、宿主细胞

15 术语“核酸分子编码”、“编码 DNA 序列”和“编码 DNA”是指沿着脱氧核糖核酸链的脱氧核糖核苷酸的顺序或顺序。这些脱氧核糖核苷酸的顺序决定了沿着多肽(蛋白质)链的氨基酸的顺序。因此，核酸序列编码氨基酸序列。

当用于指核苷酸序列时，本文所用的术语“序列”包括 DNA 或 RNA，并且可以是单链或双链。

20 术语“靶序列”是指与指导序列具有互补性的序列，靶序列与指导序列之间互补配对促进 CRISPR 复合物的形成。一个靶序列可以包含任何多核苷酸，如 DNA 或 RNA 多核苷酸。在一些实施例中，靶序列位于细胞的细胞核或细胞质中。

25 术语序列“同一性”通过比较窗口(例如至少 20 个位置)上比较两个经最佳匹配的序列来确定同一性百分比，其中比较窗口中多核苷酸或多肽序列的部分可以包含添加或缺失(即间隙)，例如对于最佳匹配的两个序列而言与参考序列(其不包含添加或缺失)相比 20% 或更少的间隙(例如 5 至 15%、或 10 至 12%)。通常通过确定在两个序列中发生相同的酸碱基或氨基酸残基的位置的数目来计算百分比，以产生正确匹配的位置的数目，将正确匹配位置的数目除以参考序列中的位置总数(即窗口大小)，并将结果乘以 100，以产生序列同一性的百分比。

30 术语“转染”是指将外源核酸引入真核细胞。转染可以通过本领域已知的各种手段来实现，包括磷酸钙-DNA 共沉淀、DEAE-葡聚糖介导的转染、聚凝胺介导的转染、电穿孔、显微注射、脂质体融合、脂质转染、原生质体融合、逆转录病毒感染和生物弹道技术 (biolistics)。

本文所用的术语“表达载体”是指包含重组多核苷酸的载体，其包含与待表达的核苷酸

序列有效连接的表达调控序列。表达载体包含用于表达的足够的顺式作用元件(cis-acting elements); 用于表达的其它元件可以由宿主细胞或体外表达系统提供。表达载体包括本领域所有已知的那些, 如质粒、病毒(例如, 慢病毒、逆转录病毒、腺病毒和腺相关病毒)。

5 本文使用的术语“载体”是包含分离的核酸并可用于将分离的核酸递送至细胞内部的组合。在本领域中已知许多载体, 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“载体”包括自主复制的质粒或病毒。还可以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。

10 本文使用的术语“慢病毒”是指逆转录病毒科的属。逆转录病毒在能够感染非分裂细胞方面是逆转录病毒中独特的; 它们可以将大量的遗传信息递送到宿主细胞的 DNA 中, 因此它们是基因递送载体最有效的方法之一。HIV、SIV 和 FIV 都是慢病毒的实例。源自慢病毒的载体提供了在体内实现显著水平的基因转移的手段。

术语“内源”是指一个核酸分子或多肽等来自生物体自身。

本文所用的术语“外源”指的是一个核酸分子或多肽、细胞、组织等没有在生物体自身内源性表达, 或表达水平不足以实现过表达时具有的功能。

15 本文所用的术语“外源蛋白”可以是识别靶抗原的外源转入细胞的蛋白, 如外源受体(即本文中前述“嵌合受体”)。

本文中使用的术语“宿主”是指接受移植物移植的受体, 在一些实施方式中, 可以是接受外源细胞植入的个体, 如人。

20 术语“分离的”是指与细胞成分或其他成分相分离, 在这些成分中, 多核苷酸、肽、多肽、蛋白质、抗体或其片段在自然状态通常是相关联的。如本领域技术人员将理解, 非天然存在的多核苷酸、肽、多肽、蛋白质、抗体或其片段不需要“分离”以将其与天然存在的对应物区分开。此外, “浓缩”、“分离”或“稀释”的多核苷酸、肽、多肽、蛋白质、抗体或其片段可与其天然存在的对应物区分开, 因为每体积分子的浓度或数量大于(“浓缩”)或小于(“稀释”)其天然存在的配对物的浓度。富集程度可以以绝对基础测量, 例如每溶液体积的重量, 或者可以相对于存在于源混合物中的另一潜在的干扰物测量。在一些实施方案中, 25 本申请的技术方案优选的富集程度更高。因此, 例如, 优选 2 倍富集、更优选 10 倍富集、更优选 100 倍富集、更优选 1000 倍富集。也可以通过人工组装的方法, 例如通过化学合成或重组表达, 从而提供“分离的”物质。

30 本申请提供了编码识别GPRC5D的抗体或其片段的分离的核酸、载体以及包含所述核酸或载体的宿主细胞。核酸可位于完整细胞中、细胞裂解液中或者以部分纯化的或基本纯化的形式。

可以使用标准的分子生物学技术获得本申请的核酸, 例如可以通过标准的PCR扩增或cDNA克隆技术, 获得编码抗体的轻链和重链或者编码VH和VL区段的cDNA。对于从免疫球蛋白基因文库获得的抗体(例如, 使用噬菌体展示技术), 可以从文库回收编码抗体的一种或多种

核酸。向宿主细胞中导入外源核酸的方法是本领域普遍已知的，并可随所使用的宿主细胞而变化。

5 优选的，本申请核酸分子是选自编码重链可变区的SEQ ID NO: 24、28、32、36、40、77或81，和/或选自编码轻链可变区的SEQ ID NO: 26、30、34、38、42或79。更优选的，是这样的核酸分子，所述核酸分子包含SEQ ID NO: 24的重链可变区序列，和包含SEQ ID NO: 26的轻链可变区序列；或者包含SEQ ID NO: 28的重链可变区序列，和包含SEQ ID NO: 30的轻链可变区序列；或者包含SEQ ID NO: 32的重链可变区序列，和包含SEQ ID NO: 34的轻链可变区序列；或者包含SEQ ID NO: 36的重链可变区序列，和包含SEQ ID NO: 38的轻链可变区序列；或者包含SEQ ID NO: 40的重链可变区序列，和包含SEQ ID NO: 42的轻链可变区序列；或者包含SEQ ID NO: 77的重链可变区序列，和包含SEQ ID NO: 26的轻链可变区序列；或者包含SEQ ID NO: 81的重链可变区序列，和包含SEQ ID NO: 26的轻链可变区序列；或者包含SEQ ID NO: 24的重链可变区序列，和包含SEQ ID NO: 79的轻链可变区序列。

在一个实施方案中，提供一种或多种包含上述核酸的载体(例如，表达载体)。

术语“细胞”指人或非人动物来源的细胞。

15 术语“宿主细胞”指被引入外源核酸的细胞，包括此种细胞的后代。宿主细胞包括“转化体”和“转化的细胞”，其包括转化的原代细胞及来源于其的后代(不考虑传代次数)。后代的核酸内容可以与亲本细胞不完全相同，并且可以含有突变。本文中包括具有与对于原始转化的细胞中筛选或选择的相同的功能或生物学活性的突变体后代。

20 术语“GPRC5D阳性宿主细胞”是指在细胞表面上表达GPRC5D的宿主细胞，这些细胞可以通过例如使用抗体的流式细胞术来检测，这些抗体特异性识别GPRC5D上的表位。

在一些实施方案中，所述宿主细胞是免疫效应细胞。

25 术语“免疫效应细胞”是指参与免疫应答，产生免疫效应的细胞，如 T 细胞、B 细胞、自然杀伤(NK)细胞、自然杀伤 T(NKT)细胞、树突细胞、CIK 细胞、巨噬细胞、肥大细胞等。在一些实施方案中，所述的免疫效应细胞为 T 细胞、NK 细胞、NKT 细胞。在一些实施方案中，所述 T 细胞可以是自体 T 细胞、异种 T 细胞、同种异体 T 细胞。在一些实施方案中，所述的 NK 细胞可以是同种异体 NK 细胞。“免疫效应功能或免疫效应应答”是指免疫效应细胞，例如增强或促进靶细胞的免疫攻击的功能或反应。例如，免疫效应功能或应答是指促进靶细胞的杀伤或者抑制生长或增殖的 T 细胞或 NK 细胞的属性。

30 术语“经人工改造的具有免疫效应细胞功能的细胞”是指不具有免疫效应的细胞或细胞系经人工改造或接受刺激物刺激后，该细胞获得了免疫效应细胞功能。如 293T 细胞，经人工改造，使其具有免疫效应细胞的功能；如干细胞，经体外诱导，使其分化成免疫效应细胞。

在一些情况下，“T 细胞”可以是来自骨髓的多能干细胞，在胸腺内分化成熟成为具有免疫活性的成熟的 T 细胞。在一些情况下，“T 细胞”可以是具有特定表型特征的细胞群，或不同表型特征的混合细胞群体，如“T 细胞”可以是包含至少一种 T 细胞亚群的细胞：记

忆性干细胞样 T 细胞 (stem cell-like memory T cells, Tscm 细胞)、中心记忆 T 细胞 (Tcm)、效应性 T 细胞 (Tef、Teff)、调节性 T 细胞(tregs)和/或效应记忆 T 细胞 (Tem)。在一些情况下,“T 细胞”可以是某种特定亚型的 T 细胞,如 $\gamma\delta$ T 细胞。

5 T 细胞可以从许多来源获得,包括 PBMC、骨髓、淋巴结组织、脐带血、胸腺组织和来自感染部位、腹水、胸腔积液、脾组织和肿瘤的组织。在某些情况下,可以使用任何数量的本领域技术人员已知的技术,例如 Ficoll™ 分离,从个体收集的血液获得 T 细胞。在一个实施方案中,通过单采血获得来自个体的循环血液的细胞。单采制品通常含有淋巴细胞,包括 T 细胞、单核细胞、粒细胞、B 细胞、其他有核白细胞、红细胞和血小板。在一个实施方案中,可以洗涤通过单采采集收集的细胞以除去血浆分子并将细胞置于合适的
10 缓冲液或培养基中用于随后的加工步骤。在一个实施方案中,可以从健康供体,或来自诊断患有肿瘤的患者衍生细胞获得 T 细胞。

术语“外周血单个核细胞”(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)是指外周血中具有单个核的细胞,包含淋巴细胞、单核细胞等。

15 术语“激活”和“活化”可互换使用,可以指细胞从静止状态转变为活性状态的过程。该过程可以包括对抗原、迁移和/或功能活性状态的表型或遗传变化的响应。例如,术语“激活”可以指 NK 细胞、T 细胞逐步活化的过程。

术语“T 细胞活化”或“T 细胞激活”指被充分刺激以诱导可检测的细胞增殖、细胞因子产生和/或可检测的效应物功能的 T 细胞的状态。

20 术语“趋化因子”是一种分子量为 8~10 kDa 的多肽,是最大的细胞因子家族,主要功能是招募血液中的单核细胞、中性粒细胞、淋巴细胞等进入特定的淋巴器官和组织以及感染发生的部位。“趋化因子受体”是一类介导趋化因子行使功能的七次跨膜 G 蛋白偶联受体(GPCR),通常表达于免疫细胞、中性粒细胞、内皮细胞等细胞膜上。趋化因子及趋化因子受体在介导细胞迁移、增殖和抵御病原体入侵过程中发挥重要作用,并且与免疫环境中炎症和癌症的发生发展密切相关。

25 术语“安全开关”是为了提高 CAR-T 疗法的安全性,为 CAR-T 细胞设计一个快速且可逆的“关闭”或“开启”安全开关,最大限度地减少与治疗相关的毒性。尽管 CAR-T 细胞疗法具有出色的临床特征,但当肿瘤负荷不可预测且 T 细胞的活性不受控制时,引发严重的 CRS 等潜在致命副作用。为了控制毒性,严重的 CRS 需要使用 CRS 分级系统作为指导进行适当监测,并使用基于小分子的安全开关进行精确调节。

30 在另一实施方案中,提供包含上述核酸的宿主细胞。宿主细胞包含(例如,转导有):(1)载体,所述载体包含核酸,所述核酸编码包含抗体 VL 的氨基酸序列和包含抗体 VH 的氨基酸序列,或(2)包含编码包含抗体 VL 的氨基酸序列的核酸的第一载体,和包含编码包含抗体 VH 的氨基酸序列的核酸的第二载体。在一个实施方案中,宿主细胞是真核的,例如,中国仓鼠卵巢(CHO)细胞、293T 细胞、NIH3T3 细胞或淋巴细胞(例如, YO、NSO、Sp20 细胞)。

在另一实施方案中，所述宿主细胞表达本申请所述的嵌合受体。

在另一实施方案中，所述宿主细胞包括T细胞、自然杀伤细胞、细胞毒性T淋巴细胞、自然杀伤T细胞、DNT细胞、调节性T细胞、NK92细胞、和/或干细胞衍生的免疫效应细胞。

在另一实施方案中，所述T细胞为来源于天然的T细胞和/或经多能干细胞诱导产生的T细胞；优选地，所述T细胞为自体/同种异体T细胞；优选地，所述T细胞为原代T细胞；优选地，所述T细胞来源于人的自体T细胞。

在另一实施方案中，所述T细胞包含记忆性干细胞样T细胞(Tscm细胞)、中心记忆T细胞(Tcm)、效应性T细胞(Tef)、调节性T细胞(Tregs)，效应记忆T细胞(Tem)、 $\gamma\delta$ T细胞或其组合。

在另一实施方案中，所述宿主细胞结合表达GPCR5D的细胞，不显著结合不表达GPCR5D的细胞。

在另一实施方案中，所述宿主细胞还携带外源的细胞因子的编码序列；和/或还表达非靶向GPCR5D的嵌合受体；和/或还表达趋化因子；和/或还表达趋化因子受体；和/或还表达安全开关。

在另一实施方案中，所述宿主细胞还携带外源的细胞因子包括IL-7、IL-12、IL-15、IL-18、IL-21、或I型干扰素的编码序列。

在另一实施方案中，所述宿主细胞还可以表达除了上述结合GPCR5D的受体以外的结合另一种抗原的嵌合受体。

在另一实施方案中，所述宿主细胞还表达趋化因子包括CCL19或CCL21。在另一实施方案中，所述宿主细胞还表达趋化因子受体包括CCR2、CCR4、CCR5、CXCR2、CXCR4或CXCR5。在另一实施方案中，所述宿主细胞还表达安全开关包括iCaspase-9、Truncated EGFR或RQR8。

在一个实施例中，提供制备抗GPCR5D抗体的方法，其中所述方法包括在适合于表达如上所述的抗体的条件下培养包含编码所述抗体的核酸的宿主细胞，和任选地从宿主细胞(或宿主细胞培养基)回收抗体。

为了表达蛋白质，可以将编码本申请抗体的核酸整合到表达载体中。多种表达载体可用于蛋白质表达。表达载体可包括自我复制的染色体外载体，或整合到宿主基因组中的载体。用于本申请的表达载体包括但不限于使蛋白质能够在哺乳动物细胞、细菌、昆虫细胞、酵母和体外系统中表达的那些。如本领域已知的，多种表达载体是可商业或以其他方式获得的。可用于本申请中来表达抗体。

在一优选例中，所述宿主细胞与增强其功能的药剂组合施用，优选地，与化疗药物联用；和/或所述宿主细胞与改善其相关的一种或多种副作用的药剂联合施用；和/或所述宿主细胞与表达靶向GPCR5D之外的嵌合抗原受体的宿主细胞联合施用。

药物组合物

本申请的抗体、包含该抗体的免疫缀合物、嵌合受体、宿主细胞可以应用于制备药物组

合物或诊断试剂。所述的组合物除了包括有效量的所述抗体、免疫缀合物、嵌合受体、核酸或宿主细胞，还可包含药学上可接受的载体。

术语“药学上可接受的”是指当分子本体和组合物适当地给予动物或人时，它们不会产生不利的、过敏的或其它不良反应。

5 在一些实施方案中，所述组合物包含另一治疗剂。在一些实施方案中，所述另一治疗剂是化疗剂，如US20140271820中记载的那些和/或其药学上可接受的盐或类似物。在一些实施方案中，所述治疗剂包括但不限于有丝分裂抑制剂(长春花生物碱)，包括长春新碱、长春花碱、长春地辛和诺维宾(TM)(长春瑞滨，5'-去氢硫化氢)；拓扑异构酶I抑制剂，例如喜树碱化合物，包括Camptosar(TM)(伊立替康HCL)、Hycamtin(TM)(托泊替康HCL)和衍生自喜树碱及其类似物的其它化合物；鬼臼毒素衍生物，例如依托泊苷、替尼泊苷和米多昔佐兹；烷基化剂顺铂、环磷酰胺、氮芥、三亚甲基硫代磷酰胺、卡莫司汀、白消安、苯丁酸氮芥、布列喹嗪、尿嘧啶芥末、氯洛芬和达卡巴嗪；抗代谢物，包括阿糖胞苷、5-氟尿嘧啶、甲氨蝶呤、巯嘌呤、硫唑嘌呤和丙卡巴肼；抗生素，包括但不限于多柔比星、博来霉素、更生霉素、柔红霉素、霉素霉素、丝裂霉素、肉瘤霉素C和道诺霉素；以及其它化疗药物，包括但不限于抗肿瘤抗体、达卡巴嗪、

10 氮胞苷、阿姆沙康、美法仑、异环磷酰胺和米托蒽醌。在一些实施方案中，所述另外的治疗剂选自表柔比星、奥沙利铂和5-氟尿嘧啶中的一种或多种。在一些实施方案中，所述另外的治疗剂包括但不限于抗血管生成剂，包括抗VEGF抗体(包括人源化和嵌合抗体、抗VEGF适体和反义寡核苷酸)以及其他血管发生抑制剂，例如血管抑素、内皮抑制素、干扰素、白细胞介素1(包括 α 和 β)白介素12、视黄酸和金属蛋白酶-1和-2的组织抑制剂等。

20 可作为药学上可接受的载体或其组分的一些物质的具体例子是糖类，如乳糖、葡萄糖和蔗糖；淀粉，如玉米淀粉和土豆淀粉；纤维素及其衍生物，如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素和甲基纤维素；西黄蓍胶粉末；麦芽；明胶；滑石；固体润滑剂，如硬脂酸和硬脂酸镁；硫酸钙；植物油，如花生油、棉籽油、芝麻油、橄榄油、玉米油和可可油；多元醇，如丙二醇、甘油、山梨糖醇、甘露糖醇和聚乙二醇；海藻酸；乳化剂，如Tween；润湿剂，如月桂基硫酸钠；着色剂；调味剂；压片剂、稳定剂；抗氧化剂；防腐剂；无热原水；等渗盐溶液；和磷酸盐缓冲液等。

本文所述的药物组合物可包含一种或多种药学可接受的盐。“药学可接受的盐”指这样一种盐，其保留亲本化合物的期望生物学活性且不产生任何不利的毒理学效果(参见例如，Berge,S.M等人., 1977, J. Pharm. Sci. 66: 1-19)。此类盐的例子包括酸加成盐和碱加成盐。

30 酸加成盐包括衍生自无毒无机酸，诸如盐酸、硝酸、磷酸、硫酸、氢溴酸、氢碘酸、亚磷酸等的盐，以及衍生自无毒有机酸，诸如脂肪族单羧酸和二羧酸、苯基取代的链烷酸、羟基链烷酸、芳香族酸、脂肪族和芳香族磺酸等的盐。碱加成盐包括衍生自碱土金属(诸如钠、钾、镁、钙等)的盐，以及衍生自无毒有机胺的盐，诸如N,N'-二苄乙二胺、N-甲基葡糖胺、氯普鲁卡因、胆碱、二乙醇胺、乙二胺、普鲁卡因等。

本文所述的药物组合物还可包含抗氧化剂。抗氧化剂的实例包括但不限于：水溶性抗氧化剂，诸如抗坏血酸、盐酸半胱氨酸、硫酸氢钠、焦亚硫酸钠、亚硫酸钠等；油溶性抗氧化剂，诸如抗坏血酸棕榈酸酯、丁基化羟基茴香醚(BHA)、丁基化羟基甲苯(BHT)，卵磷脂、没食子酸丙酯、 α -生育酚等；和金属螯合剂，诸如柠檬酸、乙二胺四乙酸(EDTA)、山梨醇、酒石酸、磷酸等。

本申请的组合物可根据需要制成各种剂型，并可由医师根据患者种类、年龄、体重和大致疾病状况、给药方式等因素确定对病人有益的剂量进行施用。给药方式例如可以采用肠胃外给药(如注射)或其它治疗方式。

免疫原性组合物的“肠胃外”施用包括例如皮下(s.c.)、静脉内(i.v.)、肌肉内(i.m.)或胸骨内注射或输注技术。

在一些实施方案中，组合物可以是等渗的，即它们可以具有与血液和泪液相同的渗透压。本申请组合物的期望等渗性可以使用氯化钠或其它药学上可接受的试剂如葡萄糖、硼酸、酒石酸钠、丙二醇或其它无机或有机溶质来实现。如果需要，组合物的粘度可以使用药学上可接受的增稠剂维持在选定的水平。合适的增稠剂包括，例如，甲基纤维素、黄原胶、羧甲基纤维素、羟丙基纤维素、卡波姆等。增稠剂的优选浓度将取决于所选择的试剂。显然，合适的载体和其它添加剂的选择将取决于确切的给药途径和特定剂型的性质，例如液体剂型。

试剂盒

本申请还提供了包含本文所述的抗体、免疫缀合物、嵌合受体、核酸或宿主细胞的试剂盒。在一些实施方案中，试剂盒可以包括含有有效量的包含一种或多种单位剂型的本文所述的抗体、嵌合受体、核酸或宿主细胞的治疗或预防组合物。在一些实施方案中，试剂盒包含可含有治疗或预防性组合物的无菌容器；这样的容器可以是盒、安瓿、瓶、小瓶、管、袋、泡罩包装或本领域已知的其它合适的容器形式。这种容器可以由塑料、玻璃、层压纸、金属箔或其他适合于保持药物的材料制成。在一些实施方案中，所述试剂盒包含本文所述的抗体、免疫缀合物、嵌合受体、核酸或宿主细胞，以及将本文所述的抗体、免疫缀合物、嵌合受体、核酸或宿主细胞给予个体的说明书。说明书中通常包含使用本文所述的抗体、免疫缀合物、嵌合受体、核酸或宿主细胞来治疗或预防癌症或肿瘤的方法。在一些实施方案中，试剂盒包含本文所述的宿主细胞，并且可以包括约 1×10^4 个细胞至约 1×10^6 个细胞。在一些实施方案中，试剂盒可以包括至少约 1×10^5 个细胞，至少约 1×10^6 个细胞，至少约 1×10^7 个细胞，至少约 4×10^7 个细胞，至少约 5×10^7 个细胞，至少约 6×10^7 个细胞，至少约 6×10^7 个细胞， 8×10^7 个细胞，至少约 9×10^7 个细胞，至少约 1×10^8 个细胞，至少约 2×10^8 个细胞，至少约 3×10^8 个细胞，至少约 4×10^8 个细胞，至少约 5×10^8 个细胞，至少约 6×10^8 个细胞，至少约 6×10^8 细胞，至少约 8×10^8 个细胞，至少约 9×10^8 细胞，至少约 1×10^9 个细胞，至少约 2×10^9 个细胞，至少约 3×10^9 个细胞，至少约 4×10^9 个细胞，至少约 5×10^9 个细胞，至少约 6×10^9 个细胞，至少约 8×10^9 个细胞，

至少约 9×10^9 个细胞，至少约 1×10^{10} 个细胞，至少约 2×10^{10} 个细胞，至少约 3×10^{10} 个细胞，至少约 4×10^{10} 个细胞，至少约 5×10^{10} 个细胞，至少约 6×10^{10} 个细胞，至少约 7×10^{10} 个细胞、至少约 8×10^{10} 个细胞、至少约 9×10^{10} 个细胞，至少约 1×10^{11} 个细胞，至少约 2×10^{11} 个细胞，至少约 3×10^{11} 个细胞，至少约 4×10^{11} 个细胞，至少约 5×10^{11} 个细胞，至少约 8×10^{11} 个细胞，至少约 9×10^{11} 个细胞，或至少约 1×10^{12} 个细胞。例如，可以在试剂盒中包括大约 5×10^{10} 个细胞。在另一个实例中，试剂盒可以包括 3×10^6 个细胞；细胞可以扩增至约 5×10^{10} 个细胞并施用于受试者。

在一些实施方案中，试剂盒可以包括同种异体细胞。在一些实施方案中，试剂盒可以包括可以包含基因组修饰的细胞。在一些实施方案中，试剂盒可以包含“现成的”细胞。在一些实施方案中，试剂盒可以包括可以扩展用于临床使用的细胞。在某些情况下，试剂盒可能包含用于研究目的的内容物。

在一些实施方案中，说明书包括以下中的至少一个：治疗剂的描述；用于治疗或预防肿瘤或其症状的剂量方案和给药；预防措施、警示、禁忌症、过量信息、不良反应、动物药理学、临床研究、和/或引用文献。说明书可以直接打印在容器上(如果有的话)，或作为容器上的标签，或作为容器内或容器中提供的单独的纸张、小册子、卡片或文件夹打印。在一些实施方案中，说明书提供施用本申请所述的抗体用于治疗或预防肿瘤的方法。在某些情况下，说明书提供了施用化学治疗剂之前、之后或同时给与本申请的抗体的方法。

用于诊断/检测/治疗的方法

术语“调控”是指正向或负向改变。调节范例包括 1%、2%、10%、25%、50%、75%、或 100%变化。在一具体实施方式中，是指负向改变。

术语“治疗”是指在试图改变疾病过程的干预措施，既可以进行预防也可以在临床病理过程干预。治疗效果包括但不限于，防止疾病的发生或复发、减轻症状、减少任何疾病直接或间接的病理后果、防止转移、减慢疾病的进展速度、改善或缓解病情、缓解或改善预后等。

术语“预防”是指在试图在疾病(如细胞移植产生的排斥反应)产生前进行的干预措施。

术语“肿瘤抗原”指的是过度增生性疾病发生、发展过程中新出现的或过度表达的抗原。在某些方面，本申请的过度增生性疾病是指肿瘤。

本申请所述的肿瘤抗原可以是实体瘤抗原，也可以是血液瘤抗原。

本申请的肿瘤抗原包括但不限于：促甲状腺激素受体(TSHR)；CD171；CS-1；C型凝集素样分子-1；神经节苷脂 GD3；Tn 抗原；CD19；CD20；CD 22；CD 30；CD 70；CD 123；CD 138；CD33；CD44；CD44v7/8；CD38；CD44v6；B7H3(CD276)，B7H6；KIT(CD117)；白介素 13 受体亚单位 α (IL-13R α)；白介素 11 受体 α (IL-11R α)；前列腺干细胞抗原(PSCA)；前列腺特异性膜抗原(PSMA)；癌胚抗原(CEA)；NY-ESO-1；HIV-1 Gag；MART-1；gp100；酪氨酸酶；间皮素；EpCAM；蛋白酶丝氨酸 21(PRSS21)；血管内皮生长因子受体，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); 阶段特异性胚胎抗原-4(SSEA-4); 细胞表面相关的粘蛋白 1(MUC1), MUC6; 表皮生长因子受体家族及其突变体(EGFR, EGFR2, ERBB3, ERBB4, EGFRvIII); 神经细胞粘附分子(NCAM); 碳酸酐酶 IX(CAIX); LMP2; 肝配蛋白 A 型受体 2(EphA2); 岩藻糖基 GM1; 唾液酸基路易斯粘附分子(sLe); 神经节苷脂 GM3; TGS5; 高分子量黑素瘤相关抗原(HMWMAA); 邻乙酰基 GD2 神经节苷脂(OAcGD2); 叶酸受体; 肿瘤血管内皮标记 1(TEM1/CD248); 肿瘤血管内皮标记 7 相关的(TEM7R); Claudin 6, Claudin18.2、Claudin18.1; ASGPR1; CDH16; 5T4; 8H9; $\alpha\beta$ 6 整合素; B 细胞成熟抗原(BCMA); CA9; κ 轻链(kappa light chain); CSPG4; EGP2, EGP40; FAP; FAR; FBP; 胚胎型 AchR; HLA-A1, HLA-A2; MAGEA1, MAGE3; KDR; MCSP; NKG2D 配体; PSC1; ROR1; Sp17; SURVIVIN; TAG72; TEM1; 纤连蛋白; 腱生蛋白; 肿瘤坏死区的癌胚变体; 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 glycosphingolipid 的己糖部分(GloboH); 乳腺分化抗原(NY-BR-1); uroplakin 2(UPK2); 甲型肝炎病毒细胞受体 1(HAVCR1); 肾上腺素受体 β 3(ADRB3); 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 K9(LY6K); 嗅觉受体 51E2(OR51E2); TCR γ 交替阅读框蛋白(TARP); 肾母细胞瘤蛋白(WT1); ETS 易位变异基因 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); 黑素瘤癌睾丸抗原-1(MAD-CT-1); 黑素瘤癌睾丸抗原-2(MAD-CT-2); Fos 相关抗原 1; p53 突变体; 人端粒酶逆转录酶(hTERT); 肉瘤易位断点; 细胞凋亡的黑素瘤抑制剂(ML-IAP); ERG(跨膜蛋白酶丝氨酸 2(TMPRSS2)ETS 融合基因); N-乙酰葡萄糖胺基转移酶 V(NA17); 配对盒蛋白 Pax-3(PAX3); 雄激素受体; 细胞周期蛋白 B1; V-myc 鸟髓细胞瘤病毒癌基因神经母细胞瘤衍生的同源物(MYCN); Ras 同源物家族成员 C(RhoC); 细胞色素 P450 1B1(CYP1B1); CCCTC 结合因子(锌指蛋白)样 (BORIS); 由 T 细胞识别的鳞状细胞癌抗原 3(SART3); 配对盒蛋白 Pax-5(PAX5); proacrosin 结合蛋白 sp32(OYTES1); 淋巴细胞特异性蛋白酪氨酸激酶(LCK); A 激酶锚定蛋白 4(AKAP-4); 滑膜肉瘤 X 断点 2(SSX2); 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); 白细胞免疫球蛋白样受体亚家族成员 2(LILRA2); CD300 分子样家族成员 f(CD300LF); C 型凝集素结构域家族 12 成员 A(CLEC12A); 骨髓基质细胞抗原 2(BST2); 含有 EGF 样模块粘蛋白样激素受体样 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); 免疫球蛋白 λ 样多肽 1(IGLL1)。优选的, 所述肿瘤抗原为 CS1、Claudin18.2、GPC3、BCMA 或者 CD19。

病原体抗原选自: 病毒、细菌、真菌、原生动物, 或寄生虫的抗原; 病毒抗原选自: 巨细胞病毒抗原、爱泼斯坦-巴尔病毒抗原、人类免疫缺陷病毒抗原, 或流感病毒抗原。

本文中使用的术语“个体”是指任何动物，例如哺乳动物或有袋动物。本申请的个体包括但不限于人类、非人类灵长类动物（例如恒河猴或其他类型的猕猴）、小鼠、猪、马、驴、牛、绵羊、大鼠和任何种类的家禽。

本文所用的术语“有效量”是指提供治疗或预防益处的量。

5 本文中提供的任一抗GPCR5D抗体、免疫缀合物、嵌合受体修饰的宿主细胞、药物组合物或试剂盒都可以用于治疗方法中。

10 在一个方面，提供用作药物的任一抗GPCR5D抗体、免疫缀合物、嵌合受体修饰的宿主细胞、药物组合物或试剂盒。在另一方面，提供用于治疗疾病的任一抗GPCR5D抗体、免疫缀合物、嵌合受体修饰的宿主细胞、药物组合物或试剂盒。在某些实施方案中，提供用于治疗方法的任一抗GPCR5D抗体、免疫缀合物、嵌合受体修饰的宿主细胞、药物组合物或试剂盒。在某些实施方案中，本申请提供任一抗GPCR5D抗体、免疫缀合物、嵌合受体修饰的宿主细胞、药物组合物或试剂盒，其用于治疗患有疾病的个体的方法，所述方法包括向个体施用有效量的任一抗GPCR5D抗体、免疫缀合物、嵌合受体修饰的宿主细胞、药物组合物或试剂盒。在一个实施方案中，所述方法还包括向个体施用有效量的至少一种另外的治疗剂。所述“个体”优选是人。

15 在另一个方面，本申请提供任一抗GPCR5D抗体、免疫缀合物、嵌合受体修饰的宿主细胞、药物组合物或试剂盒在制备或配制药物中的用途。在一个实施方案中，所述药物用于治疗疾病。在另一个实施方案中，所述药物用于治疗疾病的方法，所述方法包括向患病个体施用有效量的药物。在一个实施方案中，所述方法还包括向个体施用有效量的至少一种另外的治疗剂。所述“个体”优选是人。

20 在另一个方面，本申请提供用于治疗疾病的方法。在一个实施方案中，所述方法包括向患有表达GPCR5D的疾病的个体施用有效量的任一抗GPCR5D抗体、免疫缀合物、嵌合受体修饰的宿主细胞、药物组合物或试剂盒。在一个实施方案中，所述方法还包括向个体施用有效量的至少一种另外的治疗剂。所述“个体”优选是人。

25 在另一个方面，本申请提供例如用于任一上述治疗方法的包含本文中提供的任一抗GPCR5D抗体、免疫缀合物、嵌合受体修饰的宿主细胞、药物组合物或试剂盒的药物制剂。在一个实施方案中，所述药物制剂包含本文中提供的任一抗GPCR5D抗体、免疫缀合物、嵌合受体修饰的宿主细胞、药物组合物或试剂盒和药用载体。在另一个实施方案中，所述药物制剂包含本文中提供的任一抗GPCR5D抗体、免疫缀合物、嵌合受体修饰的宿主细胞、药物组合物或试剂盒和至少一种另外的治疗剂。

30 在另一个方面，所述药物制剂用于治疗疾病。在一个实施方案中，向患病个体施用所述药物制剂。根据任一以上实施方案的“个体”优选是人。

在另一个方面，本申请提供用于制备药物或药物制剂的方法，所述方法包括将本文中提供的任一抗GPCR5D抗体、免疫缀合物、嵌合受体修饰的宿主细胞、药物组合物或试剂

盒与药用载体混合，例如，以用于任一上述治疗方法。在一个实施方案中，用于制备药物或药物制剂的方法还包括添加至少一种另外的治疗剂至药物或药物制剂。

本申请的任一抗GPCR5D抗体、免疫缀合物、嵌合受体修饰的宿主细胞、药物组合物或试剂盒可以单独地用于治疗或与其他试剂组合地用于治疗。或者，本申请的任一抗
5 GPCR5D抗体、免疫缀合物、嵌合受体修饰的宿主细胞、药物组合物或试剂盒可以与至少一种另外的治疗剂共同施用。

上述的此种组合治疗包括组合施用(其中两种以上治疗剂被包含在同一或分开的制剂中)和分开施用，在此种情况中，本申请的任一抗GPCR5D抗体、免疫缀合物、嵌合受体修饰的宿主细胞、药物组合物或试剂盒的施用可以发生在另外的治疗剂或试剂的施用之前、
10 同时、和/或之后。在一个实施方案中，本申请的任一抗GPCR5D抗体、免疫缀合物、嵌合受体修饰的宿主细胞、药物组合物或试剂盒的施用和另外的治疗剂的施用彼此发生在约一个月以内、或在约一周、两周或三周以内，或在约一天、两天、三天、四天、五天或六天以内。

本申请的任一抗GPCR5D抗体、免疫缀合物、嵌合受体修饰的宿主细胞、药物组合物
15 或试剂盒(以及任意另外的治疗剂)可以通过任何合适的手段施用，包括肠胃外施用、肺内施用或鼻内施用，以及，如果具备治疗需要，病变内施用。肠胃外输注包括肌肉内施用、静脉内施用、动脉内施用、腹膜内施用或皮下施用。用药可以通过任何合适的途径，例如，通过注射，如静脉内或皮下注射，这部分取决于施用是短暂的还是长期的。本文中考虑多种用药方案，包括但不限于单次施用或在多个时间点的多次施用、推注施用，和脉冲
20 注入。

给予个体的包含免疫反应性细胞群体的制剂包含有效治疗和/或预防特定适应症或疾病的多个免疫反应性细胞。因此，可以向个体施用免疫反应性细胞的治疗有效群体。通常，施用包含约 1×10^4 至约 1×10^{10} 个免疫反应性细胞的制剂。在大多数情况下，制剂将包含约
25 1×10^5 至约 1×10^9 个免疫反应性细胞、约 5×10^5 至约 5×10^8 个免疫反应性细胞、或约 1×10^6 至约 1×10^7 个免疫反应性细胞。然而，根据肿瘤的位置、来源、身份、程度和严重程度、待治疗的个体的年龄和身体状况等，对个体施用的CAR免疫反应性细胞的数量将在宽的范围之间变化。医生将最终确定要使用的适当剂量。

在一些实施方案中，使用嵌合受体来刺激宿主细胞介导的免疫应答。例如，T细胞介导的免疫应答是涉及T细胞活化的免疫应答。活化的抗原特异性细胞毒性T细胞能够在表面上显示外源抗原表位的靶细胞中诱导细胞凋亡，例如显示肿瘤抗原的癌细胞。在另一些
30 实施方案中，使用嵌合抗原受体在哺乳动物中提供抗肿瘤免疫。由于T细胞介导的免疫应答，受试者将产生抗肿瘤免疫。

在某些情况下，治疗患有肿瘤的受试者的方法可以涉及向需要治疗的受试者施用一种或多种本申请所述的宿主细胞。所述宿主细胞可结合肿瘤靶分子并诱导癌细胞死亡。如

前文所述，本申请还提供治疗个体中的病原体感染的方法，包括向所述个体施用治疗有效量的本申请的宿主。

本申请的免疫反应性细胞的给药频率将根据包括所治疗疾病的因素、特定免疫反应性细胞的元件和给药方式。例如可以每日给药4次、3次、2次或每日一次、每隔一天、每三天、每四天、每五天、每六天一次、每周一次、每八天一次、每九天一次、每十天、每周一次、或者每月两次给药。如本文所述，由于本申请的免疫应答细胞具有改善的活力，从而可以不仅以与类似的但不表达外源性I型干扰素的免疫应答细胞更低的治疗有效的量给药，并且可以以更低的频率给药，以获得至少类似、并且优选更加显著的疗效。

本申请的优点：

10 本申请提供了特异性识别GPRC5D的全人源抗体，由该抗体制备的CAR T细胞在体内外均表现出对靶细胞较好的杀伤效果。

下面结合具体实施例，进一步阐述本申请。应理解，这些实施例仅用于说明本申请而不适用于限制本申请的范围。下列实施例中未注明具体条件的实验方法，通常按照常规条件如J.萨姆布鲁克等编著，分子克隆实验指南，第三版，科学出版社，2002中所述的条件，或按照制造
15 厂商所建议的条件。

实施例1.构建表达GPRC5D的细胞系

利用常规分子生物学技术通过慢病毒将人GPRC5D(氨基酸序列如SEQ ID NO:65所示)分别转染内源性GPRC5D不表达的CHOK1(ATCC)、293T(ATCC)、NIH3T3细胞(ATCC)，通过有限稀释法挑选阳性单克隆，构建CHOK1-huGPRC5D、293T-huGPRC5D、
20 NIH3T3-huGPRC5D稳转细胞系。

利用常规分子生物学技术通过慢病毒将鼠GPRC5D(氨基酸序列如SEQ ID NO:66所示)转染CHOK1细胞，通过有限稀释法挑选阳性克隆，构建CHOK1-muGPRC5D稳转细胞系。

实施例2. 抗GPRC5D杂交瘤细胞株产生

利用本领域常规杂交瘤抗体制备技术制备抗GPRC5D杂交瘤抗体。

25 将编码人GPRC5D(SEQ ID No: 65)全长基因构建于真核表达pCAGGS质粒中，形成真核表达质粒pCAGGS-GPRC5D。然后利用质粒pCAGGS-GPRC5D和NIH3T3-huGPRC5D细胞对Balb/c小鼠(维通利华，雌性，6-8周龄)进行4次免疫。前三次免疫使用100 μ g质粒pCAGGS-GPRC5D(生理盐水稀释，总体积2mL)按尾静脉大剂量注射法在5-8s内完成免疫；第四次使用2 \times 10⁷个NIH3T3-huGPRC5D细胞腹腔加强免疫，3天后取小鼠脾脏按公开的标准方案(Kohler、Milstein, 1975)进行融合，经HAT及流式细胞术特异性筛选后得到2个结合人GPRC5D的杂交瘤抗体mIgG：AB1(IgG2b-k)、AB2(IgG3-k)。
30

实施例3. 抗GPRC5D杂交瘤抗体与CHOK1-huGPRC5D细胞结合EC50测定

取CHOK1-huGPRC5D细胞2 \times 10⁵ cells/孔于96孔圆底培养板中，用含1%FBS的PBS清洗2次；之后加入杂交瘤抗体，起始浓度为100 μ g/mL，然后3倍梯度稀释11次，4 $^{\circ}$ C 孵育45min；

500g 离心 5min，弃上清后用含 1%FBS 的 PBS 清洗 2 次；之后加入 Goat-anti-Mouse FITC(KANFCHEN, 1:200 使用)100 μ L/孔，4 $^{\circ}$ C 孵育 45min；500g 离心 5min，弃上清后用含 1%FBS 的 PBS 清洗 2 次，之后加入 200 μ L 含 1%FBS 的 PBS 重悬细胞，用流式细胞仪进行检测，结果用 FlowJo v.X.0.7 统计及 GraphPad Prism 8.0 作图。

5 结果如图 1 所示，两个杂交瘤抗体 AB1 和 AB2 分别与 CHOK1-huGPRC5D 细胞有较强的结合活性，EC₅₀ 分别为 1.692nM 和 1.930nM。说明 AB1 和 AB2 均能显著结合人 GPRC5D。

实施例 4. 抗 GPRC5D 杂交瘤抗体与人 GPRC5D 和鼠 GPRC5D 交叉反应测定

10 分别取 CHOK1 细胞 (作为阴性对照细胞)、CHOK1-huGPRC5D 细胞、CHOK1-muGPRC5D 细胞，按照实施例 3 的方法测定 AB1 和 AB2 与人 GPRC5D 和鼠 GPRC5D 的交叉反应。

结果如图 2 所示，两个杂交瘤抗体 AB1 和 AB2 均与人 GPRC5D 和鼠 GPRC5D 显著结合。

实施例 5. 抗 GPRC5D 杂交瘤抗体基因序列获得

15 利用常规分子生物学技术从杂交瘤细胞 AB1 和 AB2 中提取 RNA 并反转录合成 cDNA。使用 UPM、mIgG2b-outer (SEQ ID NO: 67)、mIgG3-outer (SEQ ID NO: 68)、mK-outer (SEQ ID NO: 69) 引物进行 PCR，克隆并测序，得到 AB1-VH 基因序列 (SEQ ID NO: 36)、AB1-VL 基因序列 (SEQ ID NO: 38)、AB2-VH 基因序列 (SEQ ID NO: 40)、AB2-VL 基因序列 (SEQ ID NO: 42)。

20 AB1 的 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO:11 所示、HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO:12 所示、HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO:13 所示、LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO:14 所示、LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO:15 所示、LCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO:16 所示。AB1 的重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO:35 所示、轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO:37 所示。

25 AB2 的 HCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO:17 所示、HCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO:18 所示、HCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO:19 所示、LCDR1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO:20 所示、LCDR2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO:21 所示、LCDR3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO:22 所示。AB2 的重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO:39 所示、轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO:41 所示。

实施例 6. 重组杂交瘤 scFv-mFc 抗体与表达 GPRC5D 细胞系结合活性测定

30 使用分子克隆技术将 AB1、AB2 抗体重链及轻链基因序列分别克隆至含有 mFc (SEQ ID NO: 64) 的真核表达载体中，构建成 V152S- AB1-mFc 和 V152S- AB2-mFc 质粒，然后转染 293F 细胞 (Thermo 公司) 培养 7 天后经亲和层析纯化得到抗 GPRC5D 重组抗体 AB1 (scFv-mFc) 和 AB2 (scFv-mFc)。

分别取 CHOK1-huGPRC5D、293T-huGPRC5D、NIH3T3-huGPRC5D、CHOK1 细胞，按照实施例 3 的方法测定重组抗体 AB1 (scFv-mFc) 和 AB2 (scFv-mFc) 与表达人 GPRC5D 的

细胞系的结合活性。

结果如图3所示，两个重组抗体AB1(scFv-mFc)和AB2(scFv-mFc)与表达人GPCR5D的细胞系特异性结合。

实施例7. GPCR5D抗体的筛选和鉴定

5 1、使用全人噬菌体展示文库筛选结合人GPCR5D的抗体

本申请使用的噬菌体展示文库为本公司构建的噬菌体文库，库容为 $1E+11$ 。利用人GPCR5D抗原(恺佶生物)，通过本领域技术人员已知的筛选方法得到特异结合人GPCR5D的Fab片段，最终得到三个特异性结合人GPCR5D的抗体，命名为AB3、AB4、AB5。

10 AB3的HCDR1的氨基酸序列如SEQ ID NO:1所示、HCDR2的氨基酸序列如SEQ ID NO:2所示、HCDR3的氨基酸序列如SEQ ID NO:3所示、LCDR1的氨基酸序列如SEQ ID NO:4所示、LCDR2的氨基酸序列如SEQ ID NO:5所示、LCDR3的氨基酸序列如SEQ ID NO:6所示。AB3的重链可变区的氨基酸序列如SEQ ID NO:23所示、轻链可变区的氨基酸序列如SEQ ID NO:25所示。AB3的重链的氨基酸序列如SEQ ID NO: 45所示，轻链的氨基酸序列如SEQ ID NO: 47所示。

15 AB4的HCDR1的氨基酸序列如SEQ ID NO:1所示、HCDR2的氨基酸序列如SEQ ID NO:2所示、HCDR3的氨基酸序列如SEQ ID NO:7所示、LCDR1的氨基酸序列如SEQ ID NO:4所示、LCDR2的氨基酸序列如SEQ ID NO:5所示、LCDR3的氨基酸序列如SEQ ID NO:8所示。AB4的重链可变区的氨基酸序列如SEQ ID NO:27所示、轻链可变区的氨基酸序列如SEQ ID NO:29所示。AB4重链的氨基酸序列如SEQ ID NO: 49所示，轻链的氨基酸序列如SEQ ID NO: 51所示。

20 AB5的HCDR1的氨基酸序列如SEQ ID NO:1所示、HCDR2的氨基酸序列如SEQ ID NO:2所示、HCDR3的氨基酸序列如SEQ ID NO:9所示、LCDR1的氨基酸序列如SEQ ID NO:4所示、LCDR2的氨基酸序列如SEQ ID NO:5所示、LCDR3的氨基酸序列如SEQ ID NO:10所示。AB5的重链可变区的氨基酸序列如SEQ ID NO:31所示、轻链可变区的氨基酸序列如SEQ ID NO:33所示。AB5重链的氨基酸序列如SEQ ID NO: 53所示，轻链的氨基酸序列如SEQ ID NO: 55所示。

2. 通过标准ELISA检测抗体的特异性

30 各取产生抗体AB3、AB4、AB5的克隆诱导表达上清 $50\mu\text{l}$ 与 $2\mu\text{g}/\text{ml}$ 人GPCR5D抗原室温共孵育1h，然后通过二抗anti-Flag-HRP(Sigma, 1:4000稀释使用)室温孵育1h检测结合的抗体；随后加入TMB显色并用酶标仪读数OD450值。

结果如图4所示(空白组不添加Fab抗体，即NA)，显示抗体AB3、AB4、AB5均特异性结合人GPCR5D抗原。

3. 利用FACs测定抗体与靶细胞结合的特异性

各取产生抗体AB3、AB4、AB5的克隆诱导表达上清 $50\mu\text{l}$ 与 2×10^5 个293T细胞和

293T-huGPRC5D细胞共孵育1h, 然后通过二抗anti-F(ab')₂-488(Jackson ImmunoResearch, 1:200稀释使用)对结合细胞的抗体进行荧光标记和检测, 实验数据用FlowJo分析软件计算平均荧光强度(MFI)。

5 结果如图5所示(空白组不添加Fab抗体, 即NA), 显示抗体AB3、AB4、AB5均特异性结合过表达人GPRC5D的293T细胞, 不结合293T细胞。

实施例8. 利用ELISA检查抗GPRC5D-抗体与抗原结合EC50

10 将实施例7中产生抗体AB3、AB4、AB5的克隆分别通过镍柱进行原核表达纯化, 得到抗体AB3、AB4、AB5。然后将抗体从10 μ g/ml浓度3倍梯度稀释(8个梯度), 与人GPRC5D抗原(包被浓度:2 μ g/ml)室温共孵育1h, 然后通过二抗anti-Flag-HRP(Sigma, 1:4000稀释使用)室温孵育1h检测结合的抗体; 随后加入TMB显色并用酶标仪读数OD450值。通过GraphPad Prism5软件以一抗浓度为横坐标, OD450值为纵坐标进行四参数拟合, 计算EC50值。

15 结果如图6显示, 抗体AB3、AB4、AB5与人GPRC5D抗原均有显著结合, EC50分别为0.07382 μ g/ml, 0.1424 μ g/ml和0.1396 μ g/ml。

实施例9. 抗GPRC5D抗体与靶细胞特异性结合活性检测

人淋巴瘤细胞Daudi(中国科学院细胞库)是内源性GPRC5D不表达的细胞; 多发性骨髓瘤细胞MM.1S(中国科学院细胞库)、NCI-H929(ATCC)是内源性表达GPRC5D的细胞。

20 将实施例7中描述的AB3、AB4和AB5抗体(10 μ g/ml)分别与CHOK1、CHOK1-huGPRC5D、293T、293T-huGPRC5D、MM.1S、NCI-H929、Daudi细胞共孵育(空白组不添加抗体, 即NA), 利用二抗anti-F(ab')₂-488(Jackson ImmunoResearch, 1:200稀释使用)对结合细胞的抗体进行荧光标记, 然后通过流式分析仪进行荧光强度检测, 实验数据用FlowJo分析软件计算平均荧光强度(MFI)。

25 检测结果如图7所示, AB3、AB4和AB5抗体均与表达人GPRC5D的细胞(CHOK1-huGPRC5D, 293T-huGPRC5D, MM.1S和NCI-H929)显著结合, 不结合不表达GPRC5D的细胞(CHOK1, 293T和Daudi)。

实施例10. 抗GPRC5D抗体与表达人GPRC5D细胞的EC50结合活性检测

30 取CHOK1-huGPRC5D细胞和MM.1S细胞计数并分别铺U型底板, 每孔约2 \times 10⁵个细胞, 然后依次进行一抗(实施例7描述的AB3、AB4或AB5抗体: 30 μ g/mL起始, 3倍梯度稀释8个梯度)和二抗(Anti-Fab-FITC: 1:200, Jackson ImmunoResearch)孵育, 随后用流式分析仪进行荧光强度检测。实验数据用FlowJo分析软件计算平均荧光强度(MFI), 随后通过GraphPad Prism5软件以一抗浓度为横坐标, 校准平均荧光强度(MFI)为纵坐标进行四参数拟合, 计算EC50值。

结果如图8和图9示, AB3、AB4、AB5抗体与CHOK1-huGPRC5D细胞结合的EC50分别为3.869 μ g/ml, 5.064 μ g/ml和4.196 μ g/ml; AB3、AB4和AB5与MM.1S细胞结合的EC50分

别为0.8512 $\mu\text{g/ml}$, 0.6578 $\mu\text{g/ml}$ 和0.8047 $\mu\text{g/ml}$ 。

实施例11. 抗GPRC5D抗体与CHOK1-muGPRC5D细胞结合活性检测

将实施例7描述AB3、AB4和AB5抗体(5 $\mu\text{g/ml}$)分别与CHOK1-muGPRC5D细胞共孵育(空白组不添加抗体, 即NA), 利用二抗anti-F(ab')₂-488(Jackson ImmunoResearch, 1:200稀释使用)进行荧光标记, 然后通过流式分析仪进行荧光强度检测, 实验数据用FlowJo分析软件计算平均荧光强度(MFI)。

检测结果如图10所示, AB3抗体可以结合鼠GPRC5D。

实施例12. GPRC5D CAR-T细胞的制备

1. CAR载体构建

以PRRLSIN-cPPT.EF-1 α 为载体, 构建表达AB3 scFv(SEQ ID NO: 43)和对照抗体18 scFv(SEQ ID NO: 57, 序列来自专利CN107428829A)的二代嵌合抗原受体的慢病毒质粒。其中包含CD8 α 信号肽(SEQ ID NO: 58), CD8 铰链区(SEQ ID NO: 59)和跨膜区(SEQ ID NO: 60), CD137胞内信号传导结构域(SEQ ID NO: 61)以及CD3 ζ (SEQ ID NO: 62); AB3-CAR的氨基酸序列如SEQ ID NO: 63所示。

2. GPRC5D CAR-T细胞的制备

用磷酸钙法进行慢病毒的包装, 病毒上清用PEG8000/NaCl进行纯化, 纯化后感染CD3/CD28磁珠活化48小时后的T细胞, 分别得到表达AB3-BBZ的AB3-BBZ CAR-T细胞, 表达18-BBZ的18-BBZ CAR-T细胞, 未转染病毒的T细胞视为UTD。感染后第5天用FACS法检测CAR阳性率, 检测一抗为Biotin-anti-F(ab')₂-488(Jackson ImmunoResearch, 1:100使用), 二抗为SA-PE (eBioscience, 1:200使用)。

实施例13. GPRC5D CAR-T细胞对靶细胞的体外杀伤实验

首先将靶细胞MM.1S, 293T-huGPRC5D和293T细胞分别用AIM-V培养基(AIM-V+2%ABS)调整其密度至0.2 $\times 10^6/\text{mL}$, 96孔细胞培养板每孔加入50 μl , 根据效靶比3:1、1:1、1:1、1:3分别加入50 μl 效应细胞(CAR-T细胞, UTD做对照), 37度共孵育16小时后取上清采用LDH试剂盒进行检测, 最后用酶标仪进行OD490读数。

结果如图11所示, AB3-BBZ CAR-T对293T细胞没有杀伤作用; 而对于表达GPRC5D的293T-huGPRC5D及MM.1S细胞皆表现出明显的杀伤作用(效靶比3:1时杀伤率高达60%左右), 且杀伤效果与效靶比呈正相关。结果表明AB3-BBZ CAR-T对表达GPRC5D的细胞具有特异性的体外杀伤作用。

实施例14. GPRC5D CAR-T细胞的体内抗肿瘤能力

接种3 $\times 10^6$ 个人多发性骨髓瘤细胞MM.1S于NPG雌性小鼠右侧腋部皮下, 小鼠分3组(AB3-BBZ CAR T组、18-BBZ CAR T组、UTD组), 每组8只。肿瘤细胞接种当天记为D0, 接种后第16天, 肿瘤平均体积约200 mm^3 , 尾静脉分别注射AB3-BBZ CAR T、18-BBZ CAR T、UTD细胞, 注射剂量为3 $\times 10^6$ 个细胞/只小鼠。CAR T细胞注射后第20天(肿瘤接种后第

36天), UTD组小鼠肿瘤体积超过2000mm³, 实验终止。

结果如图12所示, AB3-BBZ CAR-T组在CAR-T注射后第9天(肿瘤接种后第25天)小鼠肿瘤出现消退, 到CAR-T注射后第13天(肿瘤接种后第29天)组内8只小鼠肿瘤全部消退。作为对照的18-BBZ CAR-T组在CAR-T注射后第20天(肿瘤接种第36天)时, 没有小鼠出现肿瘤消退, 其相对UTD组抑瘤率仅为46.02%。该结果表明, AB3-BBZ CAR-T比18-BBZ CAR-T具有更优异的体内抗肿瘤效果($P<0.0001$)。同时检测各治疗组小鼠体重变化, 结果如图13所示。

实施例15. 基于AB3的修饰抗体

AB3的轻链或重链序列进行随机突变, 构建噬菌体文库, 利用人GPRC5D抗原(恺作生物)筛选获得AB6、AB7和AB8抗体, ELISA检测显示AB6、AB7和AB8与人GPRC5D有显著的结合(图14)。测序结果显示, AB6的重链可变区如SEQ ID NO:76所示, AB7的重链可变区如SEQ ID NO: 23所示, AB8的重链可变区如SEQ ID NO: 80所示, AB6和AB8的轻链可变区如SEQ ID NO: 25所示, AB7的轻链可变区如SEQ ID NO: 78所示; AB6的HCDR1如SEQ ID NO:70所示, HCDR2如SEQ ID NO:72所示, AB7的HCDR1如SEQ ID NO:1所示, HCDR2如SEQ ID NO:2所示, AB8的HCDR1如SEQ ID NO: 71所示, HCDR2如SEQ ID NO: 73所示, AB6、AB7和AB8的HCDR3如SEQ ID NO:3所示; AB6和AB8的LCDR1如SEQ ID NO: 4所示, LCDR2如SEQ ID NO:5所示, AB7的LCDR1如SEQ ID NO: 74所示, LCDR2如SEQ ID NO:75所示, AB6、AB7和AB8的LCDR3如SEQ ID NO:6所示。

实施例16. 修饰抗体与不同种属GPRC5D细胞系的结合

将实施例15中选取的3个克隆经原核表达并利用镍柱进行亲和纯化, 得到纯化的单链抗体(scFv)(分别如SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:86所示), 该单链抗体的C端含有his标签及flag标签。按照实施例1的方式构建CHO-K1-huGPRC5D和CHO-K1-muGPRC5D稳转细胞系。将上述纯化scFv(10ug/ml)与CHO-K1-huGPRC5D和CHO-K1-muGPRC5D细胞以及未转染的CHO-K1细胞共孵育, 利用二抗anti-Flag-488(R&D, 1:200稀释使用)对结合细胞的scFv进行荧光标记, 然后通过流式分析仪进行荧光强度检测, 实验数据用FlowJo分析软件计算平均荧光强度(MFI)。检测结果如图15所示, AB6, AB7和AB8与表达人GPRC5D以及鼠GPRC5D细胞系的结合能力较AB3显著提升, 与不表达GPRC5D的CHO-K1细胞不结合。表明抗体AB6, AB7和AB8具有良好的种属结合特性和细胞结合特异性。

实施例17. 抗GPRC5D抗体与表达GPRC5D细胞系结合的EC50检测

使用实施例1记载的293T-huGPRC5D细胞以及内源性表达GPRC5D的细胞系MM.1S, 按照实施例10的方法测定实施例15记载的抗体的EC50值, 一抗AB3(Fab), AB6(scFv), AB7(scFv)和AB8(scFv): 30μg/mL起始3倍梯度稀释12个梯度和二抗(Anti-Flag-488: 1:200, R&D)孵育, 结果如图16所示, 基于AB3的修饰抗体均具有较好的细胞结合活性, 其中AB6

和AB7在两个细胞上的EC50均低于AB3。

实施例18 抗GPCR5D抗体scFv-Fc形式构建及其单体率检测

将抗GPCR5D抗体(scFv)AB3, AB6, AB7和AB8与人IgG的Fc(huFc, 如SEQ ID NO: 91所示)段进行融合表达, 通过293Fectin转染试剂转染293F细胞, 第7天收集上清, 采用 Protein A填料进行亲和纯化, 纯化后蛋白通过GE XK16/40空层析柱, 收集单体峰, 并进行单体率检测, 结果显示抗体单体率都很高, 没有明显差异。抗体蛋白用截流量为10KD的millipore超滤管进行浓缩, 通过OD280/消光系数测浓度, 具体结果见表3。

表3 抗GPCR5D抗体scFv-Fc形式纯化结果

样品名称	消光系数	蛋白浓度 (mg/ml)	体 积 (ml)	蛋白量 (mg)	纯 度 (%)	单体率 (%)
AB3-huFc	1.606	3.37	2.0	6.73	96.2	98.3
AB6-huFc	1.574	1.50	3.8	5.69	97.9	100.0
AB7-huFc	1.600	0.94	0.8	0.75	97.2	100.0
AB8-huFc	1.570	1.10	0.7	0.77	96.0	100.0

实施例19 抗GPCR5D抗体亲和力测定

使用CYTIVA提供的SA chip(Cat: BR100531), 捕获Bio-GPCR5D(Acro, Cat. No. GPD-H82D6) 741.4Ru。目标抗体(AB3-huFc、AB7-huFc)150nM起3倍梯度稀释做为流动相, Gly.Hcl PH1.7再生180s。检测完成后使用Evaluation Software拟合得到亲和力结果, AB3-huFc与Bio-GPCR5D亲和力KD为4.68nM; AB7-huFc与Bio-GPCR5D亲和力KD为2.14nM(图17)。

15 实施例20 嵌合抗原受体(CAR)质粒的构建

按照实施例12的方法构建表达AB6、AB7、AB8的二代嵌合抗原受体的慢病毒质粒。AB6-BBZ的氨基酸序列如SEQ ID NO: 88所示, AB7-BBZ的氨基酸序列如SEQ ID NO: 89所示, AB8-BBZ的氨基酸序列如SEQ ID NO: 90所示。

20 实施例21 制备CAR-T细胞并检测其体外杀伤效果

利用实施例12和20制备的表达CAR的质粒, 按照实施例12的方法制备获得AB3-BBZ CAR-T细胞、AB6-BBZ CAR-T细胞、AB7-BBZ CAR-T细胞、AB8-BBZ CAR-T细胞, 未转染病毒的T细胞为UTD。按照实施例13的方法进行细胞杀伤实验, 结果如图18所示, AB3 CAR-T、AB6 CAR-T、AB7 CAR-T、AB8 CAR-T对不表达GPCR5D的293T细胞都没有杀伤作用; 而对于表达GPCR5D的MM.1S, 293T-huGPCR5D细胞皆表现出明显的杀伤作用, 且杀伤效果与效靶比呈正相关。表明AB3 CAR-T、AB6 CAR-T、AB7 CAR-T和AB8 CAR-T对表达人GPCR5D的细胞具有特异性的杀伤作用。

在本申请提及的所有文献都在本申请中引用作为参考，就如同每一篇文献被单独引用作为参考那样。此外应理解，在阅读了本申请的上述讲授内容之后，本领域技术人员可以对本申请作各种改动或修改，这些等价形式同样落于本申请所附权利要求书所限定的范围。

本申请涉及的序列如下表所示：

5 序列表

1	AB3、AB4、AB5、AB7 的 HCDR1 氨基酸序列	SYAMS
2	AB3、AB4、AB5、AB7 的 HCDR2 氨基酸序列	AISGSGGSTYYADSVKG
3	AB3、AB6、AB7、AB8 的 HCDR3 氨基酸序列	GWPSPVTFDY
4	AB3、AB4、AB5、AB6、AB8 的 LCDR1 氨基酸序列	RASQSVSSSYLA
5	AB3、AB4、AB5、AB6、AB8 的 LCDR2 氨基酸序列	GASSRAT
6	AB3、AB6、AB7、AB8 的 LCDR3 氨基酸序列	QQYKSHPIIT
7	AB4 的 HCDR3 氨基酸序列	GVRWVPLAFDY
8	AB4 的 LCDR3 氨基酸序列	QQYGRSPMT
9	AB5 的 HCDR3 氨基酸序列	GYPVPVSFDY
10	AB5 的 LCDR3 氨基酸序列	QQYGNRPIT
11	AB1 的 HCDR1 氨基酸序列	GYTMN
12	AB1 的 HCDR2 氨基酸序列	I.I.NPYNGGTSYNQKFKG
13	AB1 的 HCDR3 氨基酸序列	GGFRAWFAF
14	AB1 的 LCDR1 氨基酸序列	RASQDIGSNLN
15	AB1 的 LCDR2 氨基酸序列	ATSLDS
16	AB1 的 LCDR3 氨基酸序列	I.QYATFPNT
17	AB2 的 HCDR1 氨基酸序列	NYGMS
18	AB2 的 HCDR2 氨基酸序列	T.I.NSNGGNTYYPDSVKG
19	AB2 的 HCDR3 氨基酸序列	AYSLTMDY

20	AB2 的 LCDR1 氨基酸序列	RSSQSLVHSNGNTYLH
21	AB2 的 LCDR2 氨基酸序列	KVSNRFS
22	AB2 的 LCDR3 氨基酸序列	SQSTHVPPT
23	AB3、AB7 的 VII 氨基酸序列	EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCARGWPSPTFDYWGQGLTVTVSS
24	AB3、AB7 的 VII 碱基序列	GAGGTGCAATTGCTGGAGTCTGGGGGAGCCTGGTACAGCCTGGGGGTCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGATTACCTTTAGCAGTTATGCCATGAGCTGGTCCCGCAGCTCCAGGAAGGGCTGGAGTGGTCTCAGCTATTAGTGGTGTGTTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCCACCATCTCCAGAGACAATCCAAGAACACGCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGCGTGGTTGGCCATCTCCAGTTACTTTCGACTACTGGGCCAAGGAACCCCTGGTCACCGTCTCGAGT
25	AB3、AB6、AB8 的 VI 氨基酸序列	EIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYKSHPIFGGQTKVEIKR
26	AB3、AB6、AB8 的 VI 碱基序列	GAAATCGTGTAAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTTTCAGGGCCAGTCCAGAGTGTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCACGGCTCCTCATCTATGGAGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCCGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGACAGTATTACTGTCCAGCAGTACAAATCTCATCAATCAGCTTCGCCAGGGGACCAAGTGGAAATCAAACGT
27	AB4 的 VH 氨基酸序列	EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCARGVIRWVPLAFDYWGQGLTVTVSS
28	AB4 的 VH 碱基序列	GAGGTGCAATTGCTGGAGTCTGGGGGAGCCTGGTACAGCCTGGGGGTCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGATTACCTTTAGCAGTTATGCCATGAGCTGGTCCCGCAGCTCCAGGAAGGGCTGGAGTGGTCTCAGCTATTAGTGGTGTGTTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCCACCATCTCCAGAGACAATCCAAGAACACGCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGAAAGGTGTTGCTGGTTCAGCTGGCATTCGACTACTGGGCCAAGGAACCCCTGGTCACCGTCTCGAGT
29	AB4 的 VI 氨基酸序列	EIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGRSPMTFGGQTKVEIKR
30	AB4 的 VI 碱基序列	GAAATCGTGTAAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTTTCAGGGCCAGTCCAGAGTGTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCACGGCTCCTCATCTATGGAGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCCGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGACAGTATTACTGTCCAGCAGTACGGTAGATCTCCAATGACGTTCCGCCAGGGGACCAAGTGGAAATCAAACGT
31	AB5 的 VH 氨基酸序列	EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCARGYPVPVPSFDYWGQGLTVTVSS
32	AB5 的 VH 碱基序列	GAGGTGCAATTGCTGGAGTCTGGGGGAGCCTGGTACAGCCTGGGGGTCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGATTACCTTTAGCAGTTATGCCATGAGCTGGTCCCGCAGCTCCAGGAAGGGCTGGAGTGGTCTCAGCTATTAGTGGTGTGTTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCCACCATCTCCAGAGACAATCCAAGAACACGCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGCGTGGTTACCCAGTCCAGTTCTTTCGACTACTGGGCCAAGGAACCCCTGGTCACCGTCTCGAGT
33	AB5 的 VI 氨基酸序列	EIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGNRPITFGGQTKVEIKR
34	AB5 的 VI 碱基序列	GAAATCGTGTAAACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTTTCAGGGCCAGTCCAGAGTGTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCACGGCTCCTCATCTATGGAGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCCGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGACAGTATTACTGTCCAGCAGTACGGTAACAGACCAATCAGCTTCGCCAGGGGACCAAGTGGAAATCAAACGT
35	AB1 的 VII 氨基酸序列	EVQLQQSGPEVVKPGASMKISCKASGYSFTGYTMNWKQSHGKNEFWIGLIPNYNGTSYNQKFKKATLTVDKSSSTAYMELLSLTSSEDSAVYYCTRGGFRWFVFWGQGLTVTVSA
36	AB1 的 VII 碱基序列	GAGGTCCAGTGCACAGCTCTGGACCTGAGGTGGTGAAGCCTGGAGCTCAATGAAGATATCCTGCAAGGCTTCTGGTTACTCATCACTGGCTACACCATGAACTGGTGAAGCAGAGCCATGAAAGAATTTGAGTGGATTGGACTATTAATCTTACAATGGTGGTACTAGTTACAACAGAAATCAAGGGCAAGGCCACATTAACCTGTGACAAGTCAATCAGCAGCCTACATGGAAGTCTCAGTCTGACATCTGAGGACTCTGAGTCTATTATTGTACAGAGGAGGATTTCGAGCCTGGTTGCTTTCTGGGCCAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA
37	AB1 的 VI 氨基酸序列	DIQMTQSPSSLSASISGLSRVSLTCSRASQDIGSNLNWQQKPDGTIKRLIYATSIILDSGVPKRFSGSRSGSDYSITISLLESIEDFVDDYVCIQVATFPPNTPGGTKLIEIKR

38	AB1 的 VL 碱基序列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCTTATCTGCCTCTCTGGGAGAAAGAGTCAGTCTCACTTGTGCGGCAAGTCAGGACATTGGTAGTAACTTAACTGGCTTACAGCAGAAACCAGATGGAAGTAAATAAACGCCTGATCTACGCCACATCCATTTAGATTCTGGTGTCCCCAAAAGGTCAGTGGCAGTAGGCTCTGGGTGAGATTATCTCTCACCATCAGCAGCCTTGAGTCTGAAGATTTTGTAGACTATTACTGTCTACAAATAGCTACTTTTCCGAAACACGTTCCGGA GGGGGACCAAGCTGGAATAAAACGG
39	AB2 的 VH 氨基酸序列	VVKLVESGGGLVQPGSLKLSAASGTFPSNYGMSWVRQTPDTRLELVATINSNGNTYYPDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMSLKSIEDTAIYYCVRAYSLTMDYWGQTSVTVSS
40	AB2 的 VH 碱基序列	GTGGTGAAGCTGGTGGAGTCGGGGGAGGCTTAGTGCAGCCTGGAGGTCCTGAAACTCTCCTGTGCAGCCTCGGATTCACTTTCAGTAACTATGGCATGCTTGGGTTCCGAGACTCCAGACAGAGGCTGGAGTTGGTCGCAACCAATAATAGTAATGGTGGTAACACCTATTATCCAGACAGTGTGAAGGCGATTACCATCTCCAGAGACAATGCCAAGAACCCTGTACCTGCAAAATGAGCAGTCTGAAGTCTGAGGACACAGCCATATATACTGTGTTAGAGCTACTCCTGACTATGGACTACTGGGTCAAGGAACCTCAGTACCCTCTCTCA
41	AB2 的 VL 氨基酸序列	DVVMTQPLSLPVSLGDQASTSCRSSQSLVHSNGNTYLIIWYLVKQKPGQSPKLLIYKYSNRFSGVPDRFSGSGSDFTLKIIRVEAEDLVGYFCSQSTHVPPTFRAGTKLELKR
42	AB2 的 VL 碱基序列	GATGTTGTGATGACCCAACTCCACTCTCCCTGCCTGTGAGTCTGGAGATCAAAGCTCCATCTCTGTAGATCTAGTCAGAGCCTGTACACAGTAATGGAAACCACTATTACATTTGGTACCTGCAGAAGCCAGGCCAGCTCCAAAGCTCCTGATCTACAAAGTTTCCAACCGATTTCCTGGGTCCAGACAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCAGGACAGATTTCACACTCAAGATCATCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTTTATTTCTGCTCTCAAAGTACACATGTTCTCTCCTACGTTCCGCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAACGG
43	AB3 scFv 氨基酸序列	EVQLLESGGGLVQPGSLRLSAAASGTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSATSGSGGTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMSLRAEDTAVYYCARGWPSVPTFDYWGQTLVTVSSASGSGGGGSGGGSEIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYKSHPIITFGQGTKVEIKR
44	AB3 scFv 碱基序列	GAGGTGCAATTGCTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGTCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGATTCACTTTAGCAGTATATGCCATGAGCTGGTCCGACAGGCTCCAGGAAGGGCTGGAGTGGTCTCAGCTATTAGTGGTAGTGGTAGCACATACTACGCACTCCGTAAGGGCCGTTACCATCTCCAGAGACAATCCAAGAACCCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATACTGTGCGCGTGGTTGGCCATCTCCAAGTACTTTCGACTACTGGGCCAAGGAACCCCTGGTCAACGCTCTCGAGTGGTGGAGGCGGTTACGGCGGAGGTTGCTGGCGGTGGCGGATCGGAAATCGTGTAAACGAGTCTCCAGGACCCCTGCTTTGCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCCTCTTTCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAGCAGCTACTAGCTGTACAGCAGAACTGGCCAGGCTCCAGGCTCCTCATCTATGAGGATCCAGAGGCCACTGGCATCCAGACAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCCGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTGAGCAGTACAAATCTCATCCAATCACGTTCCGGCCAGGGACCAAGTGGAAATCAACGCT
45	AB3 Fab 重链氨基酸序列	EVQLLESGGGLVQPGSLRLSAAASGTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSATSGSGGTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMSLRAEDTAVYYCARGWPSVPTFDYWGQTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYTICNVNHPKPSNTKVDKVEPKSCD
46	AB3 Fab 重链碱基序列	GAGGTGCAATTGCTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGTCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGATTCACTTTAGCAGTATATGCCATGAGCTGGTCCGACAGGCTCCAGGAAGGGCTGGAGTGGTCTCAGCTATTAGTGGTAGTGGTAGCACATACTACGCACTCCGTAAGGGCCGTTACCATCTCCAGAGACAATCCAAGAACCCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATACTGTGCGCGTGGTTGGCCATCTCCAAGTACTTTCGACTACTGGGCCAAGGAACCCCTGGTCAACGCTCTCGAGTGGTGGAGGCGGTTACGGCGGAGGTTGCTGGCGGTGGCGGATCGGAAATCGTGTAAACGAGTCTCCAGGACCCCTGCTTTGCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCCTCTTTCAGGGCCAGTCAGAGTGTAGCAGCAGCTACTAGCTGTACAGCAGAACTGGCCAGGCTCCAGGCTCCTCATCTATGAGGATCCAGAGGCCACTGGCATCCAGACAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCCGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTGAGCAGTACAAATCTCATCCAATCACGTTCCGGCCAGGGACCAAGTGGAAATCAACGCT
47	AB3 Fab 轻链氨基酸序列	EIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSDFTLISRLEPEDFAVYYCQQYKSHPIITFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSTLTLSKADYERHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
48	AB3 Fab 轻链碱基序列	GAAATCGTGTAAACGAGTCTCCAGGACCCCTGTCTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCCTCTCTGCAGGCGCAGTCAAGTGTAGCAGCAGCTAC TTAGCCTGGTACCAGCAGAACTCGCCAGGCTCCAGGCTCCTCATCTATGAGGATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCAGACAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCCGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTGAGCAGTACAAATCTCATCCAATCAGGTTCCGGCCAGGGACCAAGTGGAAATCAAACTACGTTGGTGCACCATCTGTCTTCACTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTGAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGCTGCTGAATAACTTCTATCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAGGTTGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACCCCTGCGAAGTCAACCATCAGGCGCTGAGCTCGCCCTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT
49	AB4 Fab 重链氨基酸序列	EVQLLESGGGLVQPGSLRLSAAASGTFPSYAMSWVRQAPGKGLEWVSATSGSGGTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMSLRAEDTAVYYCARGVRWYPLAFDYWGQTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYTICNVNHPKPSNTKVDKVEPKSCD
50	AB4 Fab 重链碱基序列	GAGGTGCAATTGCTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGTCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGATTCACTTTAGCAGTATATGCCATGAGCTGGTCCGACAGGCTCCAGGAAGGGCTGGAGTGGTCTCAGCTATTAGTGGTAGTGGTAGCACATACTACGCACTCCGTAAGGGCCGTTACCATCTCCAGAGACAATCCAAGAACCCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATACTGTGCGAAAGTGTTCGTTGGTTCCTGCTGCAATTCGACTACTGGGCCAAGGAACCCCTGGTCAACGCTCTCGAGTGTAGCAGCAAGGCCCATCGGCTTCCCGCTGGCACCTCTCCAAGAGCACCCTCTGGGGCACAGCGCCCTGGGCTGCTGGTCAAGGACTACTTCCCGAACCGGTGACGGTGTGCTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAAGCGGTTGCACACCTTCCCGCTGCTTACAGTCTCAGGACTTACTCCTCAGCAGCGTGGTACCGTGCCTCCAGCAGTGTGGGCACCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCAAGCCAGCAACCAAAAGTGGACAAGAAAGTTGAGCCAAATCTTGTGAC

51	AB4 Fab 轻链氨基酸序列	EIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGRSPMTFGGQTKVEIKRIVAAPSVFIHPPSDEQLKSGTASVVCLLNFIYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
52	AB4 Fab 轻链碱基序列	GAAATCGTGTAAACGCGAGTCTCCAGGCACCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCTCTCTTGACGGCCAGTACAGAGTGTAGCAGCAGCTAC TTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCAGGCTCCTCATCTATGGAGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAAGTGGCAGT GGATCCGGGACAGACTTCACTCTACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGAGTGTATTACTGTGACAGTACGGTAGATCTCCAATGACGTTCC GGCCAGGGGACAAAGTGAAATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCACTTCCCAGCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCT GTTGTGTGCTGCTGAATAACTTCTATCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACCTCCAGGAGAGTGCACA GAGCAGGACAGCAAGGACAGCACTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACAAAGTCTACGCTCGGAAGTACC CATCAGGCTGAGCTCGCCCTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT
53	AB5 Fab 重链氨基酸序列	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGSYIYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARG YPVPVPSFDYWGGTLVTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHITFPAVLQSSGLYSLSVTVTPSSSLGTQ YIICVNIKPSNTKVDKKEPKSCD
54	AB5 Fab 重链碱基序列	GAGGTGCAATTGCTGGAGTCTGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGTCCCTGAGACTCTCTGTGACGCTCCGATTACCTTTAGCAGTATAGCC ATGAGCTGGTCCGCCAGGCTCCAGGAAGGGCTGGAGTGGTCTCAGCTATTAGTGGTAGTGGTAGCACATACTACGACAGACTCCGTGAAGGCG CGGTTACCATCTCCAGAGACAAATCCAAGAACACGCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACAGCCGCTATATTACTGTGCGCGTGGT TACCCAGTCCAGTTCTTTCGACTACTGGGCCAAGAACCTGTGACCGTCTCGAGTCTAGCACCAGGCCATCGGCTCTCCCTCCGACCC TCCTCCAGAGCACTCTGGGGCAGACGGCCCTGGCTGCTGCAAGGACTACTCCCGAACCGGTGACGGTGTGCTGGAAGTCCAGGCGCCCTG ACCAGCGGCTGCACACCTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTACCGTGCCTCCAGCAGCTGGGACCCAG ACCTACATCTGCAACGTGAATCAAGCCAGCAACCAAAAGTGAGCAAGAAAGTTGAGCCAAATCTTGTGAC
55	AB5 Fab 轻链氨基酸序列	EIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGNRPIFGGQTKVEIKRIVAAPSVFIHPPSDEQLKSGTASVVCLLNFIYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
56	AB5 Fab 轻链碱基序列	GAAATCGTGTAAACGCGAGTCTCCAGGCACCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCTCTCTTGACGGCCAGTACAGAGTGTAGCAGCAGCTAC TTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCAGGCTCCTCATCTATGGAGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAAGTGGCAGT GGATCCGGGACAGACTTCACTCTACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGAGTGTATTACTGTGACAGTACGGTAACAGACAAATCAGGTTCC GGCCAGGGGACAAAGTGAAATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCACTTCCCAGCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCT GTTGTGTGCTGCTGAATAACTTCTATCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACCTCCAGGAGAGTGCACA GAGCAGGACAGCAAGGACAGCACTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACAAAGTCTACGCTCGGAAGTACC CATCAGGCTGAGCTCGCCCTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT
57	18 scFv 氨基酸序列	EVQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMSWVRQAPGKGLEWVSTINGRGSSTIYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMSLRAEDTAVYYCARY TSRGLGDSWGGTLVTVSSGGGGGGGGGGSSQSVYVTPPPSYAAPGQVTTSCSGGNSNTERNYVSWYIQLPGTAPKLVFDNDRRPSGTPDRFSG SKSGTSATLGTGLQTGDEADYVCGTWDSLRGWFVGGGTKLTVLG
58	CD8 α 信号肽 氨基酸序列	MAIPVTAALLPLALLHAARP
59	CD8 α 铰链区 氨基酸序列	TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACD
60	CD8 跨膜区氨基酸序列	IYIWAFLAGTCGVLLLSLVITLYC
61	CD137 胞内信号传导结构域 氨基酸序列	KRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCCSRFPPEEEEGGCEL
62	CD3 ζ 氨基酸序列	RVKFSRSADAPAYQQGQNLNELNLGRREYDVLKRRGRDPEMGKPKRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKERRRKGKHDGLYQGLSTATK DTYDALIMQALPPR
63	AB3-BBZ 的氨基酸序列	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGSYIYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMSLRAEDTAVYYCARG WPSVTFDYWGQGLVTVSSGGGGGGGGGGGSEIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFS GSGSGTDFLTISRLEPEDFAVYYCQQYKSHIPITFGQTKVEIKRITTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAFLAG TCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCCSRFPPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNLNELNLGRREYDVLKRRGRD PEMGGKPKRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKERRRKGKHDGLYQGLSTATKDTYDALIMQALPPR
64	mFc 氨基酸序列	RDCGCKPCICTVPEVSSVFIHPPKPKDVLITLTPKVTGVVVDISKDDPEYQFSWVVDVEVITAQTQPREEQFNSTFRVSELPIMIQDWLNGKEFKC RVNSAAPPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYIIPPKQEMAKDKVSLTGMTDFPFEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMDTDSYFVYSKLWQKSNWEAG NTFCTSVLIEGLIINIIIEKLSLSIISPGK
65	人 GPRC5D 氨基酸序列	MYKDCIESTGDFLLCDAGPWPGLIESLAHLGIVVTLIIILAFLLMRKIQDCSQWNVLPQILFLLSVLGLFGLAFAPFIELNQQTAPVRYFLFGVLI FALCFSCLLAHASNLVKLVRCVPSWTTILCIAIGCSLIQIIATEYVTLIMTRGMMFVNMTPCQIIVDFVVIIVYVFLMALTFVSKATFCGPCIEN WKQHRIIFITVLFSLIIVWVWISMLJRGNPQFRQPQWDDPVVCIALVTNAWVFLIIVYVPELCLILYRSCRQEPILQGNACPVYAYQHSFVENQELSR ARDSDGAEEDVALTSYGTPIQPTVDPTQCFIPQAKLSPPQDAGGV
66	鼠 GPRC5D 氨基酸序列	MYEDCVKSTEDYLLPCDNFGPWAIVLESIAVIGIVVTLIIILAFLLMRKIQDCSQWNVLPQILFLLAVLGLFGLTFAPITQIHNQTAPVRYFLFGVLI FALCFSCLLAHASNLVKLVGRVPSFCWTTILFIALGVSLQTLIIAIEYVTLIMTRGLMFEHMTPEYQLNDFVCLLYVLFMLALTFVSKATFCGPCIEN

		WKQHGRLIFATVLVSI11WVW1SMLLRGNPQLQRQPHWDDAV1C1GLVTNAWVFLIYI1PELS1LYRSCRQECPTQGNVQVPPYQSRFRMDTQEPT REC
67	引物 mIgG2b-outer	ACACTGCTGGACAGGGATCC
68	引物 mIgG3-outer	ACAGGGCTCCATAGTCCATTTTAC
69	引物 mK-outer	AGGTGCTGCTTTGCTGTCCTG
70	AB6 HCDR1 氨基酸序列	RRYAIS
71	AB8 HCDR1 氨基酸序列	SRKALS
72	AB6 HCDR2 氨基酸序列	AISGTGGSTKYADSVKG
73	AB8 HCDR2 氨基酸序列	T1NGRGGRTYYADSVKG
74	AB7 LCDR1 氨基酸序列	RASQSVSRRYLA
75	AB7 LCDR2 氨基酸序列	GGRRAT
76	AB6 VII 氨基酸序列	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRRYA1SWVRQAPGKGLEWVSAISGTGGSTKYADSVKGRFT1SRDNSKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCARG WPSPVTFDYWGQGLTVTVSS
77	AB6 VH 碱基序列	GAGGTGCAATTGCTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGTCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGATTACCTTTCCCGGTATGCG ATCAGCTGGGTCGCCAGGCTCCAGGAAAGGGCTGGAGTGGTCTCAGCTATTAGTGGCACTGGAGGTAGCACAAAGTACGCAGACTCCGTGAAGGGC CGGTTACCATCTCCAGAGACAATCCAAGAACACGCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGCGTGGT TGGCCATCTCCAGTTACTTTCGACTACTGGGCCAAGGAACCTTGGTACCGCTCTCCAGT
78	AB7 VI. 氨基酸序列	EIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQSVSRRYLA1WYQQKPGQAPRLL1YGGSRRTGTPDRFSGSGSGTDFLT1TSRLEPEDFAVYYCQQYKSHPI1TF GGTKVEIKR
79	AB7 VL 碱基序列	GAAATCGTGTAAACGCAGTCTCCAGGACCCCTGCTTTGTCTCCAGGGAAAGAGCCACCTCTCTTGCAGGCCAGTCAGAGCGTCAGTAGGCGATAC TTAGCCTGGTACCAGCAGAACTGGCCAGGCTCCAGGCTCCTCATCTACGGAGTTCGCGGAGGGCCACTGGCATCCAGACAGGTTCACTGGCAGT GGATCCGGACAGACTTCACTCTACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTACAGCAGTACAAATCTCATCAATCACGTTCC GCCAGGGACCAAAGTGGAAATCAAACGT
80	AB8 VH 氨基酸序列	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRKALS1WVRQAPGKGLEWVST1NGRGGRTYYADSVKGRFT1SRDNSKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCARG WPSPVTFDYWGQGLTVTVSS
81	AB8 VH 碱基序列	GAGGTGCAATTGCTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGTCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGATTACCTTTAGCAGAAAGGCC CTAAGCTGGTCCGCCAGGCTCCAGGAAAGGGCTGGAGTGGTCTCAGCTATTAGTGGCACTGGAGGTAGCACAAAGTACGCAGACTCCGTGAAGGGC CGGTTACCATCTCCAGAGACAATCCAAGAACACGCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGCGTGGT TGGCCATCTCCAGTTACTTTCGACTACTGGGCCAAGGAACCTTGGTACCGCTCTCCAGTGGTGGAGGCGTTACGGCCGAGGTTCTGCGCGTGGC GGATCCGAAATCGTGTAAACGCAGTCTCCAGGACCCCTGTCTTTGTCTCCAGGGAAAGAGCCACCTCTCTTGCAGGCCAGTCAGAGTGTAGCAGC AGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAACTGGCCAGGCTCCAGGCTCCTCATCTATGGAGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCAGACAGGTTCACT GGCAGTGGATCCGGGACAGACTTCACTCTACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTACAGCAGTACAAATCTCATCAATC ACGTTCCGCCAGGGACCAAAGTGGAAATCAAACGT
82	AB6scFv 氨基酸序列	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRRYA1SWVRQAPGKGLEWVSA1SGTGGSTKYADSVKGRFT1SRDNSKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCARG WPSPVTFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSE1VLTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQSVSSSYLA1WYQQKPGQAPRLL1YGSSSRATG1PDRFS GSGSGTDFLT1TSRLEPEDFAVYYCQQYKSHPI1TFGQTKVEIKR
83	AB6 scFv 碱基序列	GAGGTGCAATTGCTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGTCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGATTACCTTTCCCGGTATGCG ATCAGCTGGTCCGCCAGGCTCCAGGAAAGGGCTGGAGTGGTCTCAGCTATTAGTGGCACTGGAGGTAGCACAAAGTACGCAGACTCCGTGAAGGGC CGGTTACCATCTCCAGAGACAATCCAAGAACACGCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGCGTGGT TGGCCATCTCCAGTTACTTTCGACTACTGGGCCAAGGAACCTTGGTACCGCTCTCCAGTGGTGGAGGCGTTACGGCCGAGGTTCTGCGCGTGGC GGATCCGAAATCGTGTAAACGCAGTCTCCAGGACCCCTGTCTTTGTCTCCAGGGAAAGAGCCACCTCTCTTGCAGGCCAGTCAGAGTGTAGCAGC AGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAACTGGCCAGGCTCCAGGCTCCTCATCTATGGAGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCAGACAGGTTCACT GGCAGTGGATCCGGGACAGACTTCACTCTACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTACAGCAGTACAAATCTCATCAATC ACGTTCCGCCAGGGACCAAAGTGGAAATCAAACGT
84	AB7 scFv 氨基酸序列	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRSSYAMS1WVRQAPGKGLEWVSA1SGSGSTYYADSVKGRFT1SRDNSKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCARG WPSPVTFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSE1VLTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQSVSRRYLA1WYQQKPGQAPRLL1YGGSRRTG1PDRFS GSGSGTDFLT1TSRLEPEDFAVYYCQQYKSHPI1TFGQTKVEIKR
85	AB7 scFv 碱基序列	GAGGTGCAATTGCTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGTCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGATTACCTTTAGCAGTATAGCC ATGAGCTGGTCCGCCAGGCTCCAGGAAAGGGCTGGAGTGGTCTCAGCTATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGC CGGTTACCATCTCCAGAGACAATCCAAGAACACGCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGCGTGGT TGGCCATCTCCAGTTACTTTCGACTACTGGGCCAAGGAACCTTGGTACCGCTCTCCAGTGGTGGAGGCGTTACGGCCGAGGTTCTGCGCGTGGC GGATCCGAAATCGTGTAAACGCAGTCTCCAGGACCCCTGTCTTTGTCTCCAGGGAAAGAGCCACCTCTCTTGCAGGCCAGTCAGAGCGTCAGTAGG CGATACTTAGCCTGGTACCAGCAGAACTGGCCAGGCTCCAGGCTCCTCATCTACCGAGGTTCGCGGAGGGCCACTGGCATCCAGACAGGTTCACT GGCAGTGGATCCGGGACAGACTTCACTCTACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTACAGCAGTACAAATCTCATCAATC ACGTTCCGCCAGGGACCAAAGTGGAAATCAAACGT
86	AB8 scFv 氨基酸序列	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRKAL1SWVRQAPGKGLEWVST1NGRGGRTYYADSVKGRFT1SRDNSKNTLYLQMNLSRAEDTAVYYCARG WPSPVTFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSE1VLTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQSVSSSYLA1WYQQKPGQAPRLL1YGSSSRATG1PDRFS GSGSGTDFLT1TSRLEPEDFAVYYCQQYKSHPI1TFGQTKVEIKR

87	AB8 scFv 碱基序列	GAGGTGCAATTGCTGGAGTCTGGGGGAGCCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCCGGATTACCTTTAGCAGAAAGGCC CTAAGCTGGGTCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGCTGGAGTGGTCTCAACTATTAATGGTAGAGGTGGTCCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGC CGGTTACCATCTCCAGAGACAATTCAGAACACGCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGCCGTATATTACTGTGCCGTGGT TGGCCATCTCCAGTACTTTGACTACTGGGCCAAGGAACCTGGTACCGTCTCGAGTGGTGGAGCGGTTACAGCGGAGGTGGTCTGGCGGTGGC GGATCGGAAATCGTGTAAACGCAGTCTCCAGGCACCTGTCTTTGCTCCAGGGGAAAGAGCCACCTCTCTTTCAGGCGCCAGTACAGTGTAGCAGC AGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCTGGCCAGGCTCCAGGCTCCTCATCTATGGAGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCAGACAGGTTCACT GGCAGTGGATCCGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTGCAGTGTATTACTGTACAGTACAAAATCTCATCCAAATC ACGTTCCGCCAGGGGACCAAAGTGGAAATCAAACGT
88	AB6-BBZ 的氨基酸序列	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRRYAISWVRQAPGKGLEWVSAISGTGGSTKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMSLRAEDTAVYYCARG WPSPVTFDYWGQGLTVYSSGGGSGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRIILTYGASSRATGIPDRFS GSGSGTDFLTISRLEPEDFAVYYCQQYKSHPIITFGQGTKVEIKRITTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAG TCGVLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNLVNELNLGRREYDVLDKRRGRD PEMGGKQRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQLPPR
89	AB7-BBZ 的氨基酸序列	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMSLRAEDTAVYYCARG WPSPVTFDYWGQGLTVYSSGGGSGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSRYLAWYQQKPGQAPRIILTYGSSRRATGIPDRFS GSGSGTDFLTISRLEPEDFAVYYCQQYKSHPIITFGQGTKVEIKRITTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAG TCGVLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNLVNELNLGRREYDVLDKRRGRD PEMGGKQRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQLPPR
90	AB8-BBZ 的氨基酸序列	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRKALSWVRQAPGKGLEWVSTINRGGRTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMSLRAEDTAVYYCARG WPSPVTFDYWGQGLTVYSSGGGSGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRIILTYGASSRATGIPDRFS GSGSGTDFLTISRLEPEDFAVYYCQQYKSHPIITFGQGTKVEIKRITTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAG TCGVLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYQQGQNLVNELNLGRREYDVLDKRRGRD PEMGGKQRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQLPPR
91	人 IgG 的 Fc 氨基酸序 列	DKTHTCPPAPELIGGSPVFLFPPKPKDITMISRTEPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

权 利 要 求 书

1. 识别GPCR5D的抗体，其特征在于，所述抗体选自如下任意组：

5 (1) 抗体，其包含重链可变区，所述重链可变区包含SEQ ID NO: 1、11、17、70或71任一所示的HCDR1，和/或包含SEQ ID NO: 2、12、18、72或73任一所示的HCDR2，和/或包含SEQ ID NO: 3、7、9、13或19任一所示的HCDR3；

(2) 抗体，其包含轻链可变区，所述轻链可变区包含SEQ ID NO: 4、14、20、或74任一所示的LCDR1，和/或包含SEQ ID NO: 5、15、21或75任一所示的LCDR2，和/或包含SEQ ID NO: 6、8、10、16或22任一所示的LCDR3；

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

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

2. 如权利要求1所述的抗体，其包含重链可变区中的至少一个CDR，所述重链可变区包含如SEQ ID NO: 23、27、31、35、39、76或80中任一项所示的氨基酸序列或其变体，或包含与
15 上述任一序列具有至少80%相似性的氨基酸序列；和/或其包含轻链可变区中的至少一个CDR，所述轻链可变区包含如SEQ ID NO: 25、29、33、37、41或78中任一项所示的氨基酸序列或其变体，或包含与上述任一序列具有至少80%相似性的氨基酸序列。

3. 如权利要求1所述的抗体，其包含重链可变区中的HCDR1、HCDR2、HCDR3，所述重链可变区包含如SEQ ID NO: 23、27、31、35、39、76或80中任一项所示的氨基酸序列或其变体，或包含与上述任一序列具有至少80%相似性的氨基酸序列；和/或其包含轻链可变区中的
20 LCDR1、LCDR2、LCDR3，所述轻链可变区包含如SEQ ID NO: 25、29、33、37、41或78中任一项所示的氨基酸序列或其变体，或包含与上述任一序列具有至少80%相似性的氨基酸序列。

4. 如权利要求1所述的抗体，其特征在于，所述抗体重链可变区的CDR区和/或轻链可变区的CDR区选自如下任意组的序列：

25 (1) 抗体，其包含SEQ ID NO: 1所示的HCDR1，SEQ ID NO: 2所示的HCDR2和SEQ ID NO: 3所示的HCDR3；SEQ ID NO: 4所示的LCDR1，SEQ ID NO: 5所示的LCDR2和SEQ ID NO: 6所示的LCDR3；或

(2) 抗体，其包含SEQ ID NO: 1所示的HCDR1，SEQ ID NO: 2所示的HCDR2和SEQ ID NO: 7所示的HCDR3；SEQ ID NO: 4所示的LCDR1，SEQ ID NO: 5所示的LCDR2和SEQ ID NO: 8所
30 示的LCDR3；或

(3) 抗体，其包含SEQ ID NO: 1所示的HCDR1，SEQ ID NO: 2所示的HCDR2和SEQ ID NO: 9所示的HCDR3；SEQ ID NO: 4所示的LCDR1，SEQ ID NO: 5所示的LCDR2和SEQ ID NO: 10所示的LCDR3；或

(4) 抗体，其包含SEQ ID NO: 11所示的HCDR1，SEQ ID NO: 12所示的HCDR2和SEQ ID NO:

13所示的HCDR3；SEQ ID NO: 14所示的LCDR1，SEQ ID NO: 15所示的LCDR2和SEQ ID NO: 16所示的LCDR3；或

(5)抗体，其包含SEQ ID NO: 17所示的HCDR1，SEQ ID NO: 18所示的HCDR2和SEQ ID NO: 19所示的HCDR3；SEQ ID NO: 20所示的LCDR1，SEQ ID NO: 21所示的LCDR2和SEQ ID NO: 5 22所示的LCDR3；或

(6)抗体，其包含SEQ ID NO: 70所示的HCDR1，SEQ ID NO: 72所示的HCDR2和SEQ ID NO: 3所示的HCDR3；SEQ ID NO: 4所示的LCDR1，SEQ ID NO: 5所示的LCDR2和SEQ ID NO: 6所示的LCDR3；或

(7)抗体，其包含 SEQ ID NO: 71所示的HCDR1，SEQ ID NO: 73所示的HCDR2和SEQ ID NO: 3所示的HCDR3；SEQ ID NO: 4所示的LCDR1，SEQ ID NO: 5所示的LCDR2和SEQ ID NO: 6所示的LCDR3；或

(8)抗体，其包含SEQ ID NO: 1所示的HCDR1，SEQ ID NO: 2所示的HCDR2和SEQ ID NO: 3所示的HCDR3；SEQ ID NO: 74所示的LCDR1，SEQ ID NO: 75所示的LCDR2和SEQ ID NO: 6所示的LCDR3；

15 (9)抗体，(1)~(8)中任一项所述的抗体的变体，且具备与(1)~(8)中任一项所述的抗体相同或相似的活性。

5. 如权利要求2或3所述的抗体，其特征在于，所述抗体选自如下任意组的序列：

(1) 抗体，所述抗体的重链可变区具有SEQ ID NO: 23所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 23具有至少80%相似性的氨基酸序列，所述轻链可变区具有SEQ ID NO: 25所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 25具有至少80%相似性的氨基酸序列；

(2) 抗体，所述抗体的重链可变区具有SEQ ID NO: 27所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 27具有至少80%相似性的氨基酸序列，所述轻链可变区具有SEQ ID NO: 29所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 29具有至少80%相似性的氨基酸序列；

(3) 抗体，所述抗体的重链可变区具有SEQ ID NO: 31所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 31具有至少80%相似性的氨基酸序列，所述轻链可变区具有SEQ ID NO: 33所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 33具有至少80%相似性的氨基酸序列；

(4) 抗体，所述抗体的重链可变区具有SEQ ID NO: 35所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 35具有至少80%相似性的氨基酸序列，所述轻链可变区具有SEQ ID NO: 37所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 37具有至少80%相似性的氨基酸序列；

30 (5) 抗体，所述抗体的重链可变区具有SEQ ID NO: 39所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 39具有至少80%相似性的氨基酸序列，所述轻链可变区具有SEQ ID NO: 41所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 40具有至少80%相似性的氨基酸序列；

(6) 抗体，所述抗体的重链可变区具有SEQ ID NO: 76所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 76具有至少80%相似性的氨基酸序列，所述轻链可变区具有SEQ ID NO: 25所示的氨基酸序列

或与SEQ ID NO: 25具有至少80%相似性的氨基酸序列；

(7) 抗体，所述抗体的重链可变区具有SEQ ID NO: 80所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 80具有至少80%相似性的氨基酸序列，所述轻链可变区具有SEQ ID NO: 25所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 25具有至少80%相似性的氨基酸序列；

5 (8) 抗体，所述抗体的重链可变区具有SEQ ID NO: 23所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 23具有至少80%相似性的氨基酸序列，所述轻链可变区具有SEQ ID NO: 78所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 78具有至少80%相似性的氨基酸序列；

(9) 抗体，(1)~(8)中任一项所述的抗体的变体，且具备与(1)~(8)中任一项所述的抗体相同或相似的活性。

10 6. 如权利要求1-5任一项所述的抗体，其特征在于，所述抗体选自全抗、scFv、单域抗体、Fab片段、Fab'片段、Fv片段、F(ab')₂片段、Fd片段、dAb片段、多功能抗体或scFv-Fc抗体、杂交瘤抗体、嵌合抗体、人源化抗体、全人源抗体、单克隆抗体。

7. 如权利要求6所述的抗体，其特征在于，所述抗体是杂交瘤抗体，选自：

15 (1) 抗体，所述抗体的重链可变区具有SEQ ID NO: 35所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 35具有至少80%相似性的氨基酸序列，所述轻链可变区具有SEQ ID NO: 37所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 37具有至少80%相似性的氨基酸序列；

(2) 抗体，所述抗体的重链可变区具有SEQ ID NO: 39所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 39具有至少80%相似性的氨基酸序列，所述轻链可变区具有SEQ ID NO: 41所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 41具有至少80%相似性的氨基酸序列；

20 (3) 抗体，(1)~(2)中任一项所述的抗体的变体，且具备与(1)~(2)中任一项所述的抗体相同或相似的活性。

8. 如权利要求6所述的抗体，其特征在于，所述抗体是全人源抗体，选自：

25 (1) 抗体，所述抗体的重链可变区具有SEQ ID NO: 23所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 23具有至少80%相似性的氨基酸序列，所述轻链可变区具有SEQ ID NO: 25所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 25具有至少80%相似性的氨基酸序列；

(2) 抗体，所述抗体的重链可变区具有SEQ ID NO: 27所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 27具有至少80%相似性的氨基酸序列，所述轻链可变区具有SEQ ID NO: 29所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 29具有至少80%相似性的氨基酸序列；

30 (3) 抗体，所述抗体的重链可变区具有SEQ ID NO: 31所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 31具有至少80%相似性的氨基酸序列，所述轻链可变区具有SEQ ID NO: 33所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 33具有至少80%相似性的氨基酸序列；

(4) 抗体，所述抗体的重链可变区具有SEQ ID NO: 76所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 76具有至少80%相似性的氨基酸序列，所述轻链可变区具有SEQ ID NO: 25所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 25具有至少80%相似性的氨基酸序列；

(5) 抗体，所述抗体的重链可变区具有SEQ ID NO: 80所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 80具有至少80%相似性的氨基酸序列，所述轻链可变区具有SEQ ID NO: 25所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 25具有至少80%相似性的氨基酸序列；

5 (6) 抗体，所述抗体的重链可变区具有SEQ ID NO: 23所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 23具有至少80%相似性的氨基酸序列，所述轻链可变区具有SEQ ID NO: 78所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 78具有至少80%相似性的氨基酸序列；

(7) 抗体，(1)~(6)中任一项所述的抗体的变体，且具备与(1)~(6)中任一项所述的抗体相同或相似的活性。

9. 如权利要求8所述的抗体，其特征在于，所述抗体选自：

10 (1) 抗体，所述抗体的重链具有SEQ ID NO: 45所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 45具有至少80%相似性的氨基酸序列，所述轻链具有SEQ ID NO: 47所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 47具有至少80%相似性的氨基酸序列；

(2) 抗体，所述抗体的重链具有SEQ ID NO: 49所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 49具有至少80%相似性的氨基酸序列，所述轻链具有SEQ ID NO: 51所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 15 51具有至少80%相似性的氨基酸序列；

(3) 抗体，所述抗体的重链具有SEQ ID NO: 53所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 53具有至少80%相似性的氨基酸序列，所述轻链具有SEQ ID NO: 55所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 55具有至少80%相似性的氨基酸序列；

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

10. 免疫缀合物，其特征在于，所述免疫缀合物包括：权利要求1-9任一所述的抗体，以及与之连接的功能性分子。

11. 嵌合受体，其特征在于，所述嵌合受体的胞外域包含权利要求1-9任一所述的抗体，所述嵌合受体包括：嵌合抗原受体(CAR)、嵌合T细胞受体、T细胞抗原耦合器(TAC)或其组合。

25 12. 如权利要求11所述嵌合受体，其特征在于，所述嵌合受体为嵌合抗原受体(CAR)，其包含权利要求1-9任一所述的抗体、跨膜区和胞内信号区。

13. 如权利要求12所述的嵌合受体，所述的胞内信号区选自：CD3 ζ 、Fc ϵ R1 γ 、CD27、CD28、CD137、CD134、MyD88、CD40的胞内信号区序列或其组合；和/或所述的跨膜区包含CD8或CD28的跨膜区。

30 14. 如权利要求13所述的嵌合受体，其特征在于，所述的嵌合受体选自如下中的任意：权利要求1-9任一所述的抗体、CD8/CD28的跨膜区和CD3 ζ ；或权利要求1-9任一所述的抗体、CD8/CD28的跨膜区、CD137的胞内信号区和CD3 ζ ；或权利要求1-9任一所述的抗体、CD8/CD28的跨膜区、CD28的胞内信号区和CD3 ζ ；或权利要求1-9任一所述的抗体、CD8/CD28的跨膜区、CD28的胞内信号区、CD137和CD3 ζ 。

15. 如权利要求11所述的嵌合受体,其特征在于,所述的嵌合受体的氨基酸序列如SEQ ID NO: 63、88、89、90任一所示。

16. 一种生物材料,其为如下中的任意一种:

5 1) 编码权利要求1-9任一所述的抗体、权利要求10所述的免疫缀合物、权利要求11-15任一所述的嵌合受体的核酸;

2) 载体,其包含1)所述的核酸;

3) 病毒,其包含1)或2)所述核酸或载体。

17. 细胞,其包含权利要求1-9任一所述的抗体、权利要求10所述的免疫缀合物、权利要求11-15任一所述的嵌合受体、权利要求16中1)所述核酸、和/或权利要求16中2)所述的载体。

10 18. 如权利要求17所述的细胞,其特征在于,所述细胞包括T细胞、自然杀伤细胞、自然杀伤T细胞、NK92细胞、干细胞衍生的免疫效应细胞或其组合。

19. 如权利要求18所述的细胞,其特征在于,所述T细胞包括天然的T细胞和/或经多能干细胞诱导产生的T细胞;

优选地,所述T细胞包括自体T细胞和/或同种异体T细胞;

15 优选地,所述T细胞为原代T细胞;

优选地,所述T细胞来源于人的自体T细胞。

20. 如权利要求17-19任一所述的细胞,其特征在于,其还携带外源的细胞因子的编码序列;和/或

其还表达非靶向GPCR5D的嵌合受体;和/或

20 其还表达趋化因子;和/或

其还表达趋化因子受体;和/或

其还表达安全开关。

21. 药物组合物,其包含权利要求1-9任一所述的抗体、权利要求10所述的免疫缀合物、权利要求11-15任一所述的嵌合受体、权利要求16中1)所述核酸、权利要求16中2)所述的载体和/或权利要求17-20任一所述的细胞,以及药学上可接受的佐剂。

22. 联合用药,其特征在于,权利要求1-9任一所述的抗体、权利要求10所述的免疫缀合物、权利要求11-15任一所述的嵌合受体、权利要求17-20任一所述的细胞、权利要求21所述的药物组合物与增强其功能的药剂组合施用,优选地,与化疗药物联用;

和/或与改善其相关的一种或多种副作用的药剂联合施用;

30 和/或与表达靶向GPCR5D之外的嵌合抗原受体的细胞联合施用。

23. 一种制备权利要求1-9任一所述的抗体、权利要求10所述的免疫缀合物、权利要求11-15任一所述的嵌合受体的方法,所述方法包含在适于表达所述抗体、免疫缀合物、嵌合受体的条件下培养权利要求17-20任一所述的细胞,以及分离出由所述细胞表达的所述抗体、免疫缀合物、嵌合受体。

24. 一种试剂盒，其特征在于，其包括权利要求1-9任一所述的抗体、权利要求10所述的免疫缀合物、权利要求11-15任一所述的嵌合受体、权利要求16中1)所述核酸、权利要求16中2)所述的载体、权利要求17-20任一所述的细胞和/或权利要求21所述药物组合物。

25. 一种治疗/诊断疾病的方法，其包括向有需要的受试者给予有效量的如权利要求1-9任一所述的抗体或如权利要求10所述的免疫缀合物或如权利要求17-20任一所述的细胞或如权利要求21所述的药物组合物或如权利要求24所述的试剂盒；

优选地，所述疾病选自炎症病症、感染、自身免疫性疾病和肿瘤；

优选地，所述受试者是人；

优选地，其中所述细胞对于所述受试者是自体的或同种异体的T细胞。

26. 如权利要求1-9任一所述的抗体、权利要求10所述的免疫缀合物、权利要求17-20任一所述的细胞、权利要求21所述的药物组合物和/或权利要求24所述的试剂盒在制备用于治疗/诊断疾病的药物中的用途，其特征在于，所述疾病包含表达GPRC5D；优选地，所述疾病选自炎症病症、感染、自身免疫性疾病和肿瘤。

经修改的权利要求

国际局收到日：2023年7月5日（05.07.2023）

1. 识别GPRC5D的抗体，其特征在于，所述抗体选自如下任意组：

(1) 抗体，其包含重链可变区，所述重链可变区包含SEQ ID NO: 1、11、17、70或71任一所示的HCDR1，和/或包含SEQ ID NO: 2、12、18、72或73任一所示的HCDR2，和/或包含SEQ ID NO: 3、7、9、13或19任一所示的HCDR3；

(2) 抗体，其包含轻链可变区，所述轻链可变区包含SEQ ID NO: 4、14、20、或74任一所示的LCDR1，和/或包含SEQ ID NO: 5、15、21或75任一所示的LCDR2，和/或包含SEQ ID NO: 6、8、10、16或22任一所示的LCDR3；

(3) 抗体，包含(1)所述抗体的重链可变区及(2)所述抗体的轻链可变区；

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

2. 如权利要求1所述的抗体，其包含重链可变区中的至少一个CDR，所述重链可变区包含如SEQ ID NO: 23、27、31、35、39、76或80中任一项所示的氨基酸序列或其变体，或包含与上述任一序列具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列；和/或其包含轻链可变区中的至少一个CDR，所述轻链可变区包含如SEQ ID NO: 25、29、33、37、41或78中任一项所示的氨基酸序列或其变体，或包含与上述任一序列具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列。

3. 如权利要求1所述的抗体，其包含重链可变区中的HCDR1、HCDR2、HCDR3，所述重链可变区包含如SEQ ID NO: 23、27、31、35、39、76或80中任一项所示的氨基酸序列或其变体，或包含与上述任一序列具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列；和/或其包含轻链可变区中的LCDR1、LCDR2、LCDR3，所述轻链可变区包含如SEQ ID NO: 25、29、33、37、41或78中任一项所示的氨基酸序列或其变体，或包含与上述任一序列具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列。

4. 如权利要求1所述的抗体，其特征在于，所述抗体重链可变区的CDR区和/或轻链可变区的CDR区选自如下任意组的序列：

(1) 抗体，其包含SEQ ID NO: 1所示的HCDR1，SEQ ID NO: 2所示的HCDR2和SEQ ID NO: 3所示的HCDR3；SEQ ID NO: 4所示的LCDR1，SEQ ID NO: 5所示的LCDR2和SEQ ID NO: 6所示的LCDR3；或

(2) 抗体，其包含SEQ ID NO: 1所示的HCDR1，SEQ ID NO: 2所示的HCDR2和SEQ ID NO: 7所示的HCDR3；SEQ ID NO: 4所示的LCDR1，SEQ ID NO: 5所

示的LCDR2和SEQ ID NO: 8所示的LCDR3；或

(3)抗体，其包含SEQ ID NO: 1所示的HCDR1，SEQ ID NO: 2所示的HCDR2和SEQ ID NO: 9所示的HCDR3；SEQ ID NO: 4所示的LCDR1，SEQ ID NO: 5所示的LCDR2和SEQ ID NO: 10所示的LCDR3；或

(4)抗体，其包含SEQ ID NO: 11所示的HCDR1，SEQ ID NO: 12所示的HCDR2和SEQ ID NO: 13所示的HCDR3；SEQ ID NO: 14所示的LCDR1，SEQ ID NO: 15所示的LCDR2和SEQ ID NO: 16所示的LCDR3；或

(5)抗体，其包含SEQ ID NO: 17所示的HCDR1，SEQ ID NO: 18所示的HCDR2和SEQ ID NO: 19所示的HCDR3；SEQ ID NO: 20所示的LCDR1，SEQ ID NO: 21所示的LCDR2和SEQ ID NO: 22所示的LCDR3；或

(6)抗体，其包含SEQ ID NO: 70所示的HCDR1，SEQ ID NO: 72所示的HCDR2和SEQ ID NO: 3所示的HCDR3；SEQ ID NO: 4所示的LCDR1，SEQ ID NO: 5所示的LCDR2和SEQ ID NO: 6所示的LCDR3；或

(7)抗体，其包含 SEQ ID NO: 71所示的HCDR1，SEQ ID NO: 73所示的HCDR2和SEQ ID NO: 3所示的HCDR3；SEQ ID NO: 4所示的LCDR1，SEQ ID NO: 5所示的LCDR2和SEQ ID NO: 6所示的LCDR3；或

(8)抗体，其包含SEQ ID NO: 1所示的HCDR1，SEQ ID NO: 2所示的HCDR2和SEQ ID NO: 3所示的HCDR3；SEQ ID NO: 74所示的LCDR1，SEQ ID NO: 75所示的LCDR2和SEQ ID NO: 6所示的LCDR3；

(9)抗体，(1)~(8)中任一项所述的抗体的变体，且具备与(1)~(8)中任一项所述的抗体相同或相似的活性。

5. 如权利要求2或3所述的抗体，其特征在于，所述抗体选自如下任意组的序列：

(1) 抗体，所述抗体的重链可变区具有SEQ ID NO: 23所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 23具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列，所述轻链可变区具有SEQ ID NO: 25所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 25具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列；

(2) 抗体，所述抗体的重链可变区具有SEQ ID NO: 27所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 27具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列，所述轻链可变区具有SEQ ID NO: 29所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 29具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列；

(3) 抗体，所述抗体的重链可变区具有SEQ ID NO: 31所示的氨基酸序列或与

SEQ ID NO: 31具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列，所述轻链可变区具有SEQ ID NO: 33所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 33具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列；

(4) 抗体，所述抗体的重链可变区具有SEQ ID NO: 35所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 35具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列，所述轻链可变区具有SEQ ID NO: 37所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 37具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列；

(5) 抗体，所述抗体的重链可变区具有SEQ ID NO: 39所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 39具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列，所述轻链可变区具有SEQ ID NO: 41所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 41具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列；

(6) 抗体，所述抗体的重链可变区具有SEQ ID NO: 76所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 76具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列，所述轻链可变区具有SEQ ID NO: 25所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 25具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列；

(7) 抗体，所述抗体的重链可变区具有SEQ ID NO: 80所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 80具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列，所述轻链可变区具有SEQ ID NO: 25所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 25具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列；

(8) 抗体，所述抗体的重链可变区具有SEQ ID NO: 23所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 23具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列，所述轻链可变区具有SEQ ID NO: 78所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 78具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列；

(9) 抗体，(1)~(8)中任一项所述的抗体的变体，且具备与(1)~(8)中任一项所述的抗体相同或相似的活性。

6. 如权利要求1-5任一项所述的抗体，其特征在于，所述抗体选自全抗、scFv、单域抗体、Fab片段、Fab'片段、Fv片段、F(ab')₂片段、Fd片段、dAb片段、多功能抗体或scFv-Fc抗体、杂交瘤抗体、嵌合抗体、人源化抗体、全人源抗体、单

克隆抗体。

7. 如权利要求1所述的抗体，其特征在于，所述抗体选自：

(1)抗体，所述抗体的重链具有SEQ ID NO: 45所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 45具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列，所述轻链具有SEQ ID NO: 47所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 47具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列；

(2)抗体，所述抗体的重链具有SEQ ID NO: 49所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 49具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列，所述轻链具有SEQ ID NO: 51所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 51具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列；

(3)抗体，所述抗体的重链具有SEQ ID NO: 53所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 53具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列，所述轻链具有SEQ ID NO: 55所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO: 55具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%相似性的氨基酸序列；

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

8. 如权利要求1所述的抗体，其特征在于，所述抗体包含SEQ ID NO: 43、82、84或86所示的氨基酸序列，或与上述序列具有80%、85%、90%、91%，92%，93%，94%，95%，96%，97%，98%，99%同一性的氨基酸序列。

9. 识别GPRC5D的抗体，其特征在于，所述抗体包含重链可变区和轻链可变区，所述轻链可变区包括：SEQ ID NO: 25、29、33或78或与上述序列具有85%、90%、91%，92%，93%，94%，95%，96%，97%，98%，99%同一性的氨基酸序列；和

所述重链可变区包括的HCDR1、HCDR2和HCDR3的氨基酸序列分别是：

(i) SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2 和 SEQ ID NO: 3；

(ii) SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2 和 SEQ ID NO: 7；

(iii) SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2 和 SEQ ID NO: 9；

(ii) SEQ ID NO: 70、SEQ ID NO: 72 和 SEQ ID NO: 3；

(ii) SEQ ID NO: 71、SEQ ID NO: 73 和 SEQ ID NO: 3。

10. 如权利要求9所述的抗体，其特征在于，所述重链可变区选自：SEQ ID NO:23、27、31、76或80。

11. 识别GPRC5D的抗体，其特征在于，所述抗体包含重链可变区和轻链可

变区，所述重链可变区包括：SEQ ID NO: 23、27、31、76或80，或与上述序列具有85%、90%、91%，92%，93%，94%，95%，96%，97%，98%，99%同一性的氨基酸序列；和

所述轻链可变区包括的LCDR1、LCDR2和LCDR3的氨基酸序列分别是：

i) SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5 和 SEQ ID NO: 6；

(ii) SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5 和 SEQ ID NO: 8；

(iii) SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5 和 SEQ ID NO: 10；

(ii) SEQ ID NO: 74、SEQ ID NO: 75 和 SEQ ID NO: 6。

12. 如权利要求11所述的抗体，其特征在于，所述轻链可变区选自：SEQ ID NO: 25、29、33或78。13. 识别GPRC5D的抗体，其特征在于，所述抗体包含重链可变区和轻链可变区，所述轻链可变区包括：SEQ ID NO: 25、29、33或78或与上述序列具有85%、90%、91%，92%，93%，94%，95%，96%，97%，98%，99%同一性的氨基酸序列；和所述轻链可变区包括：SEQ ID NO: 23、27、31、76或80或与上述序列具有85%、90%、91%，92%，93%，94%，95%，96%，97%，98%，99%同一性的氨基酸序列。

14. 免疫缀合物，其特征在于，所述免疫缀合物包括：权利要求1-13任一所述的抗体，以及与之连接的功能性分子。

15. 嵌合受体，其特征在于，所述嵌合受体的胞外域包含权利要求1-13任一所述的抗体，所述嵌合受体包括：嵌合抗原受体(CAR)、嵌合T细胞受体、T细胞抗原耦合器(TAC)或其组合。

16. 如权利要求15所述嵌合受体，其特征在于，所述嵌合受体为嵌合抗原受体(CAR)，其包含权利要求1-13任一所述的抗体、跨膜区和胞内信号区；

优选地，所述CAR从N末端到C末端，包括权利要求1-13任一所述的抗体、跨膜区和胞内信号区；

优选地，所述抗体通过铰链域连接跨膜区。

17. 如权利要求16所述的嵌合受体，其特征在于，所述胞内信号区包含一个或多个共刺激信号域和/或初级信号域。

18. 如权利要求16或17所述的嵌合受体，其特征在于，

所述初级信号域选自：TCR ξ 、FcR γ 、FcR β 、CD3 γ 、CD3 δ 、CD3 ϵ ，CD5，CD22，CD79a，CD79b，ICOS、CD66d、CD3 ζ ；和/或

所述共刺激信号域选自：CD28、OX40、CD27、CD2、CD5、ICAM-1、LFA-1(CD11a/CD18)、4-1BBL、MyD88和4-1BB；和/或

所述的跨膜区包含CD8或CD28的跨膜区；

优选地，

所述的胞内信号区选自：CD3 ζ 、Fc ϵ RI γ 、CD27、CD28、CD137、CD134、MyD88、CD40的胞内信号区序列或其组合。

19. 如权利要求18所述的嵌合受体，其特征在于，所述的嵌合受体选自如下中的任意：

权利要求1-13任一所述的抗体、CD8/CD28的跨膜区和CD3 ζ ；或

权利要求1-13任一所述的抗体、CD8/CD28的跨膜区、CD137的胞内信号区和CD3 ζ ；或

权利要求1-13任一所述的抗体、CD8/CD28的跨膜区、CD28的胞内信号区和CD3 ζ ；或

权利要求1-13任一所述的抗体、CD8/CD28的跨膜区、CD28的胞内信号区、CD137和CD3 ζ ；

优选地，所述CD8跨膜区、CD137的胞内信号区、CD3 ζ 的氨基酸序列分别如SEQ ID NO: 60、61、62所示，或与上述序列具有85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%同一性的氨基酸序列。

20. 如权利要求19所述的嵌合受体，其特征在于，所述的嵌合受体的氨基酸序列如SEQ ID NO: 63、88、89、90任一所示，或与上述序列具有85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%同一性的氨基酸序列。

21. 一种生物材料，其为如下中的任意一种：

1) 编码权利要求1-13任一所述的抗体、权利要求14所述的免疫缀合物、权利要求15-20任一所述的嵌合受体的核酸；

2) 载体，其包含1)所述的核酸；

3) 病毒，其包含1)或2)所述核酸或载体。

22. 细胞，其包含权利要求1-13任一所述的抗体、权利要求14所述的免疫缀合物、权利要求15-20任一所述的嵌合受体、权利要求21中1)所述核酸、和/或权利要求21中2)所述的载体。

23. 如权利要求22所述的细胞，其特征在于，所述细胞包括T细胞、自然杀伤细胞、自然杀伤T细胞、NK92细胞、干细胞衍生的免疫效应细胞或其组合。

24. 如权利要求23所述的细胞，其特征在于，所述T细胞包括天然的T细胞和/或经多能干细胞诱导产生的T细胞；

优选地，所述T细胞包括自体T细胞和/或同种异体T细胞；

优选地，所述T细胞为原代T细胞；

优选地，所述T细胞来源于人的自体T细胞。

25. 如权利要求22-24任一所述的细胞，其特征在于，其还携带外源的细胞因子的编码序列；和/或

其还表达非靶向GPRC5D的嵌合受体；和/或

其还表达趋化因子；和/或

其还表达趋化因子受体；和/或

其还表达安全开关。

26. 药物组合物，其包含权利要求1-13任一所述的抗体、权利要求14所述的免疫缀合物、权利要求15-20任一所述的嵌合受体、权利要求21中1)所述核酸、权利要求21中2)所述的载体和/或权利要求22-25任一所述的细胞，以及药学上可接受的佐剂。

27. 联合用药，其特征在于，权利要求1-13任一所述的抗体、权利要求14所述的免疫缀合物、权利要求15-20任一所述的嵌合受体、权利要求22-25任一所述的细胞、权利要求26所述的药物组合物与增强其功能的药剂组合施用，优选地，与化疗药物联用；

和/或与改善其相关的一种或多种副作用的药剂联合施用；

和/或与表达靶向GPRC5D之外的嵌合抗原受体的细胞联合施用。

28. 一种制备权利要求1-13任一所述的抗体、权利要求14所述的免疫缀合物、权利要求15-20任一所述的嵌合受体的方法，所述方法包含在适于表达所述抗体、免疫缀合物、嵌合受体的条件下培养权利要求22-25任一所述的细胞，以及分离出由所述细胞表达的所述抗体、免疫缀合物、嵌合受体。

29. 一种试剂盒，其特征在于，其包括权利要求1-13任一所述的抗体、权利要求14所述的免疫缀合物、权利要求15-20任一所述的嵌合受体、权利要求21中1)所述核酸、权利要求21中2)所述的载体、权利要求22-25任一所述的细胞和/或权利要求26所述药物组合物。

30. 一种治疗/诊断疾病的方法，其包括向有需要的受试者给予有效量的如权利要求1-13任一所述的抗体或如权利要求14所述的免疫缀合物或如权利要求22-25任一所述的细胞或如权利要求26所述的药物组合物或如权利要求29所述的试剂盒；

优选地，所述疾病选自炎症病症、感染、自身免疫性疾病和肿瘤；

优选地，所述受试者是人；

优选地，其中所述细胞对于所述受试者是自体的或同种异体的T细胞。

31. 如权利要求1-13任一所述的抗体、权利要求14所述的免疫缀合物、权利要求22-25任一所述的细胞、权利要求26所述的药物组合物和/或权利要求29所

述的试剂盒在制备用于治疗/诊断疾病的药物中的用途，其特征在于，所述疾病包含表达GPRC5D；优选地，所述疾病选自炎性病症、感染、自身免疫性疾病和肿瘤；优选地，所述肿瘤是多发性骨髓瘤。

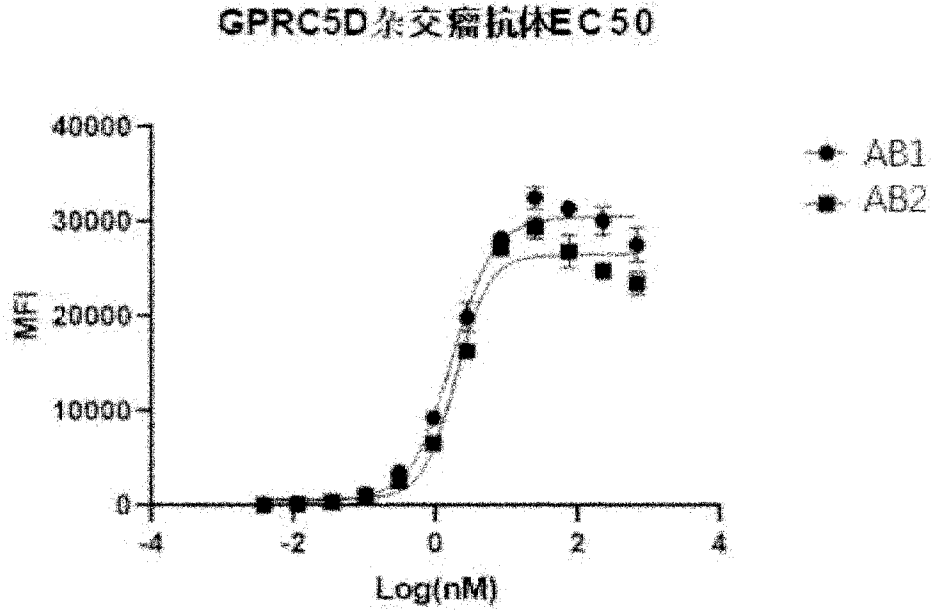


图 1

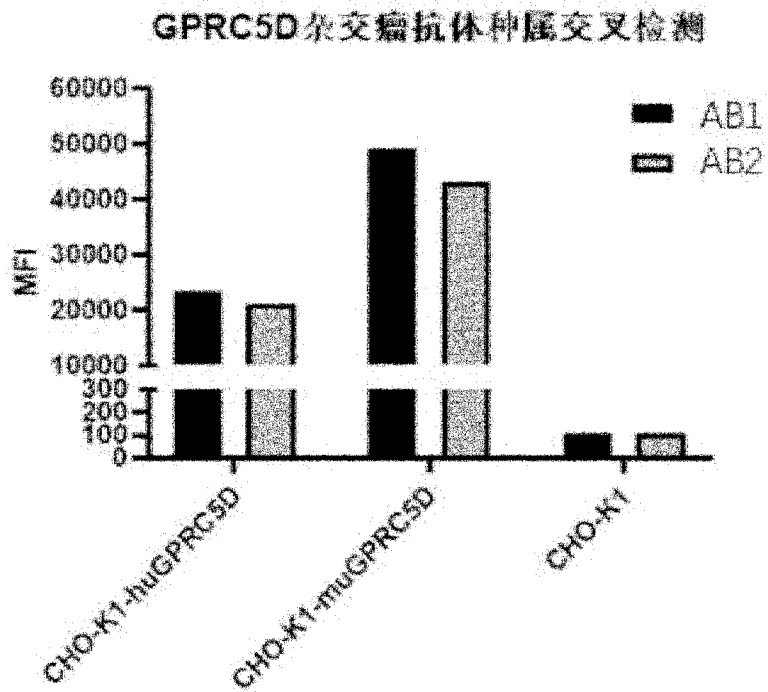


图 2

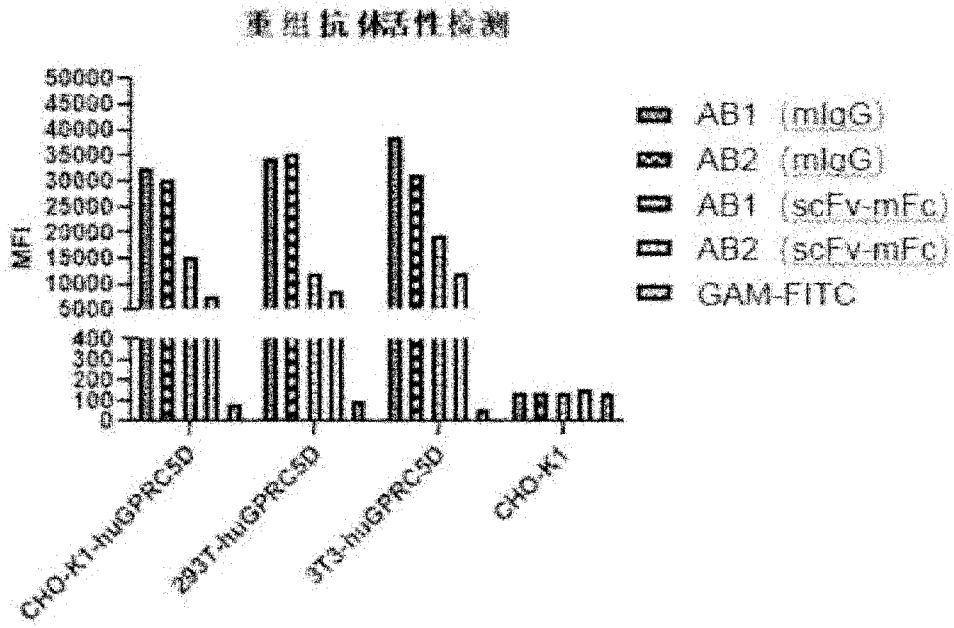


图 3

Elisa test of positive clones to GPRC5D

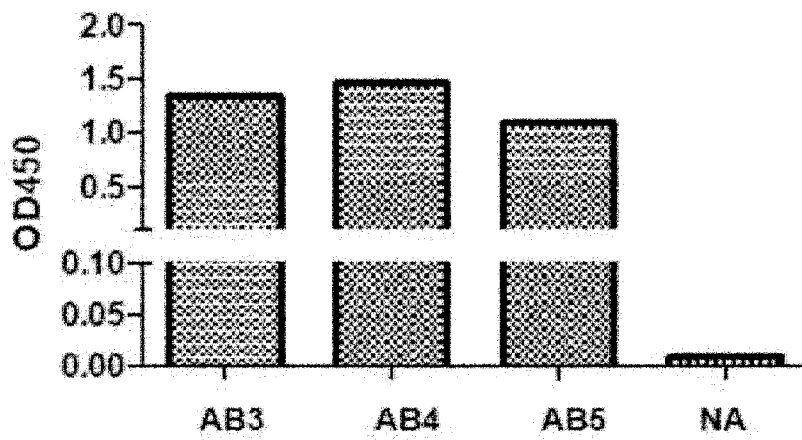


图 4

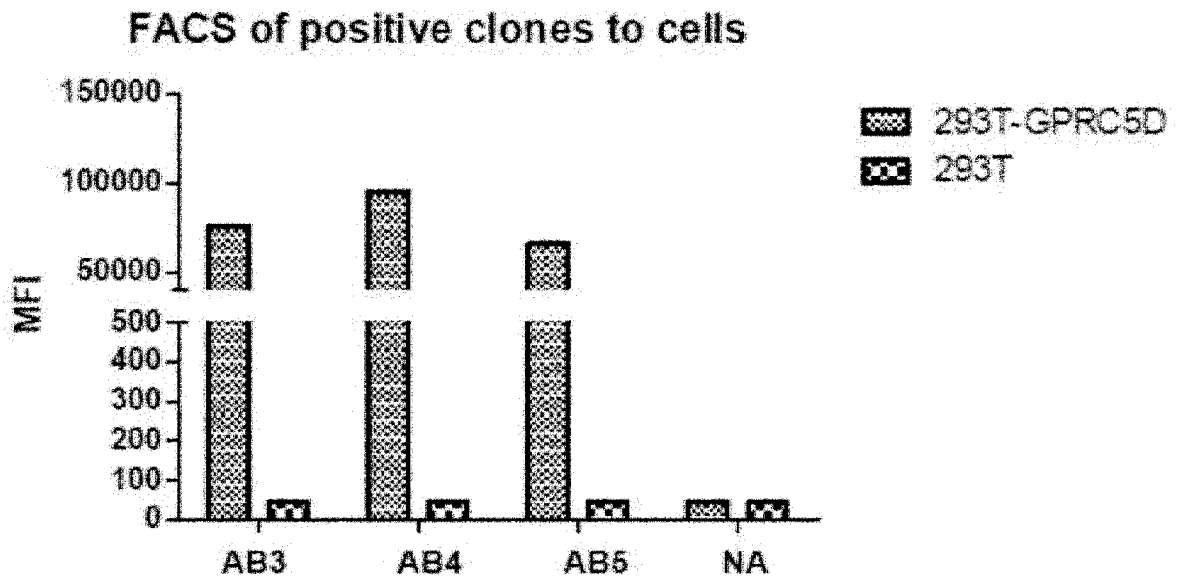
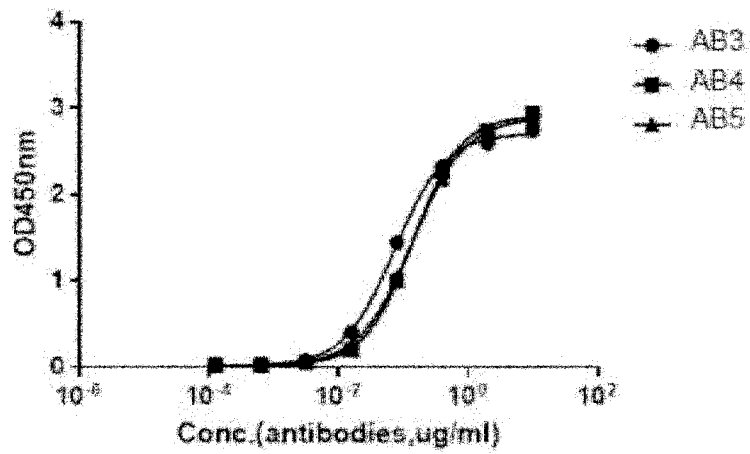


图 5

ELISA test for EC50 of Fab antibodies to GPRC5D



	AB3	AB4	AB5
EC50	0.07382	0.1424	0.1396

图 6

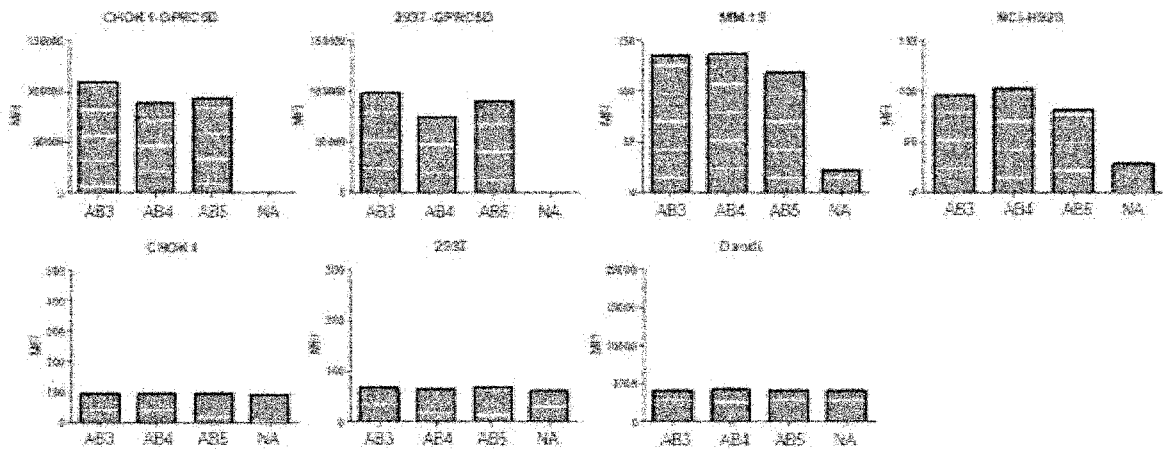
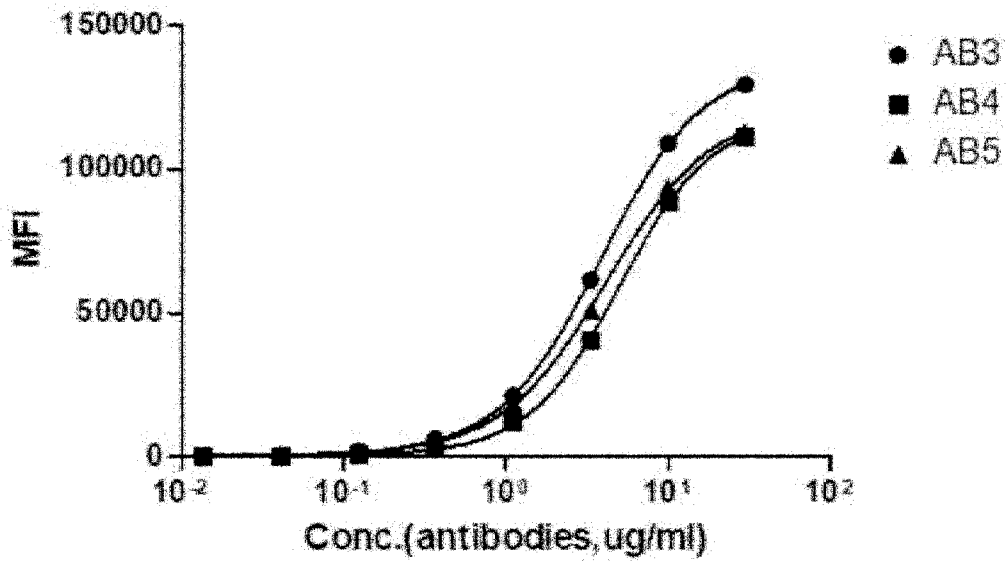


图 7

FACS test for EC50 of Fab antibodies on CHOK1-GPRC5D cells



	AB3	AB4	AB5
EC50	3.869	5.064	4.196

图 8

FACS test for EC50 of Fab antibodies on MM.1S cells

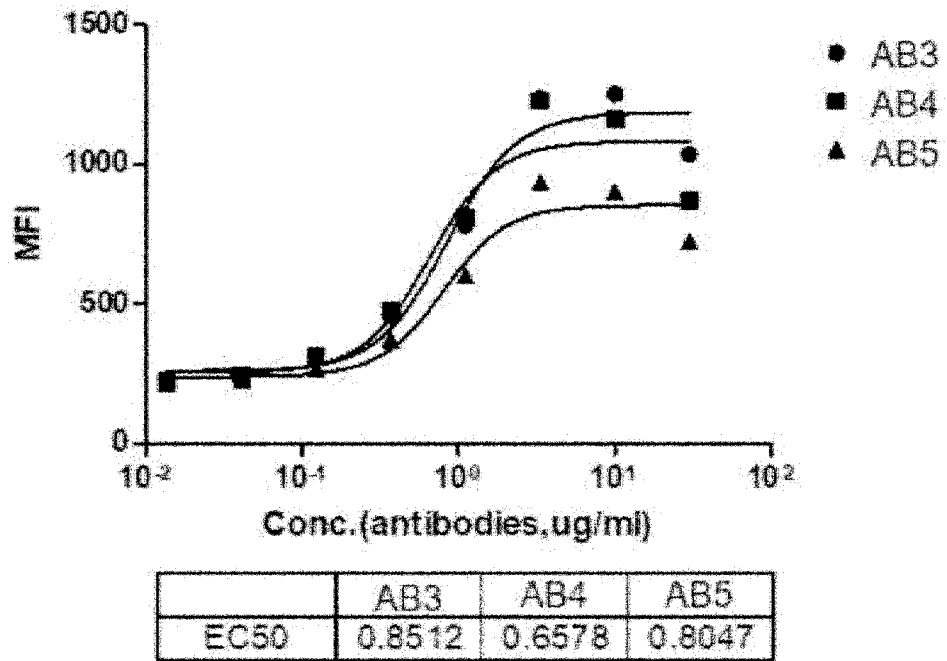


图 9

FACS test of Fab antibodies to CHOK1- μgPRC5D cells

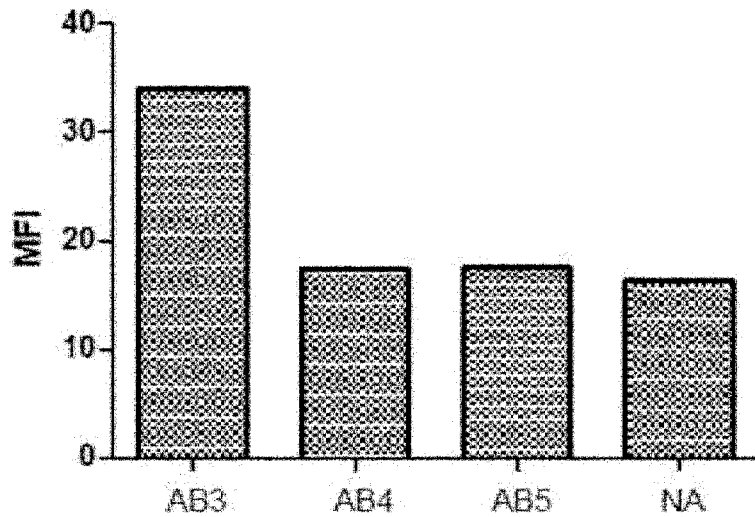


图 10

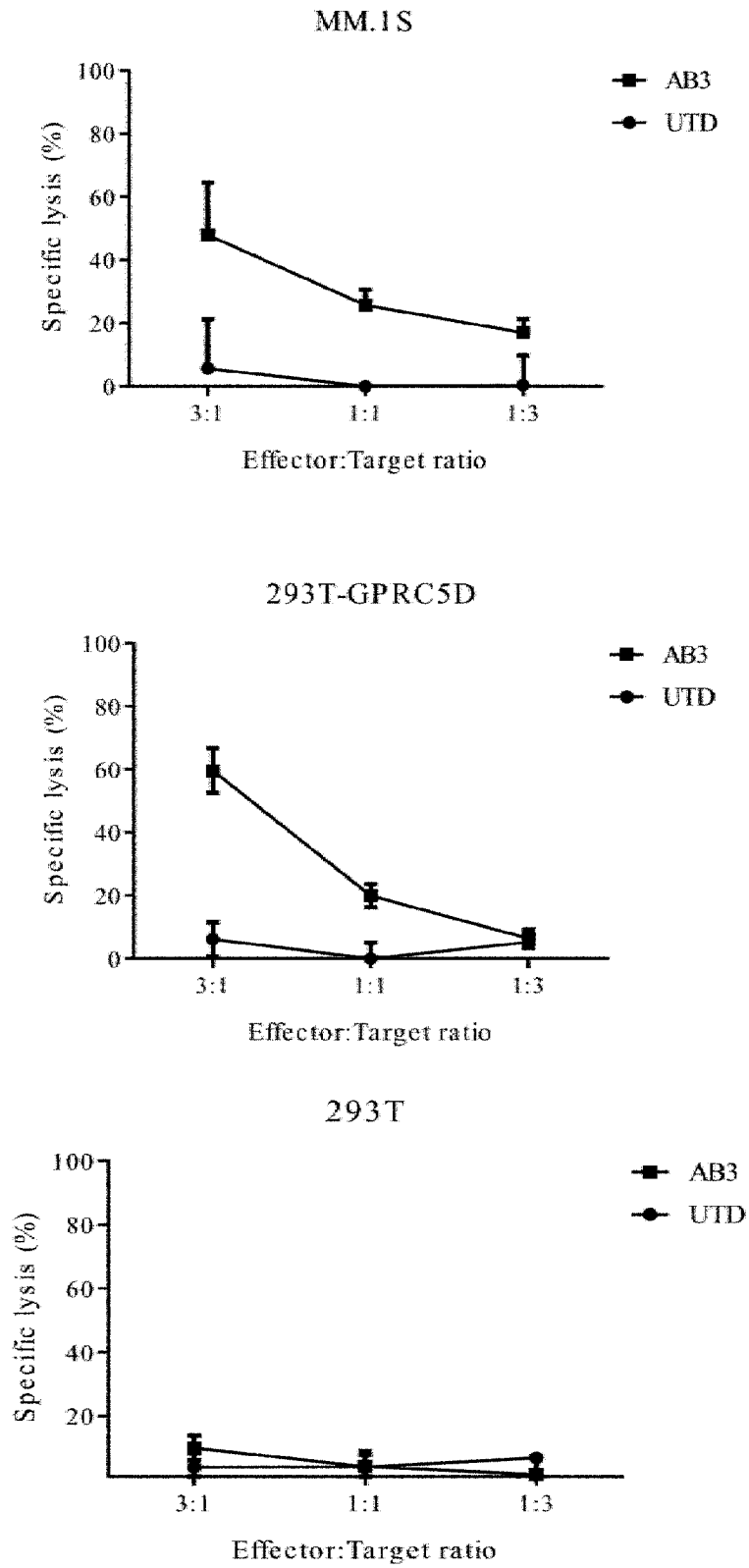


图 11

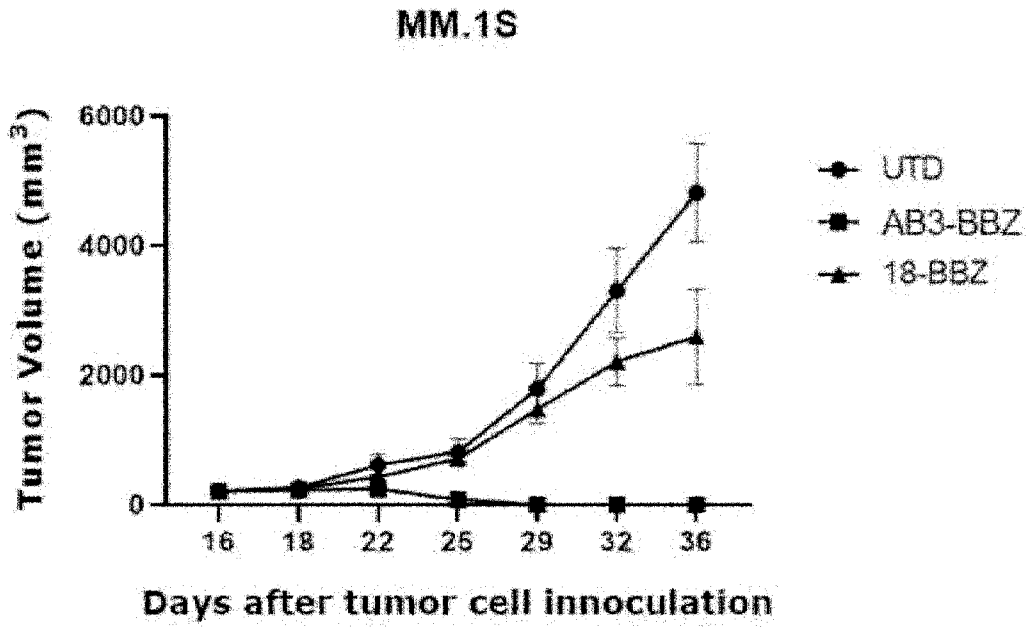


图 12

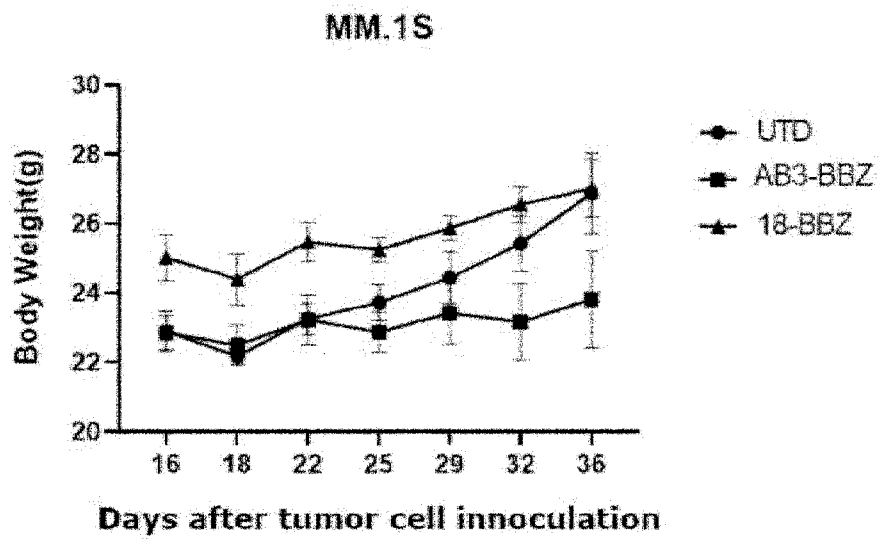


图 13

ELISA test of positive clones to GPRC5D

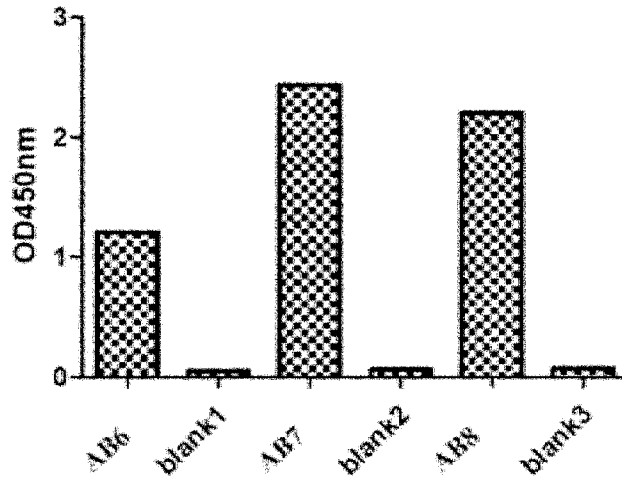


图 14

FACS test of anti-GPRC5D-scFv to cells

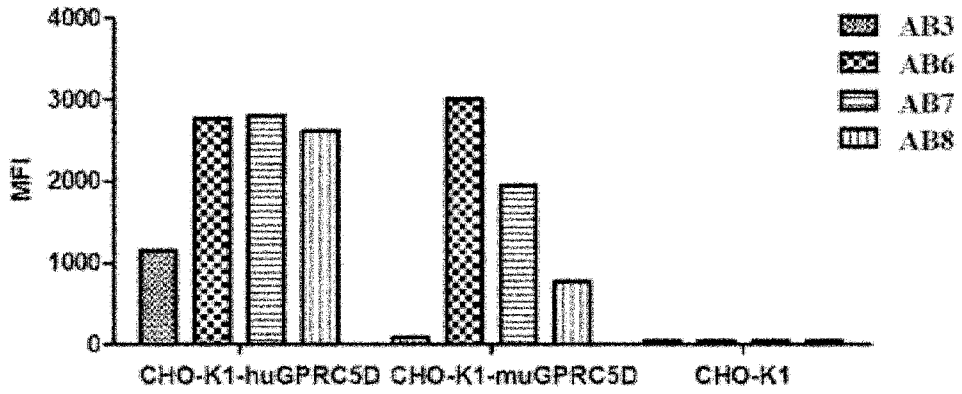


图 15

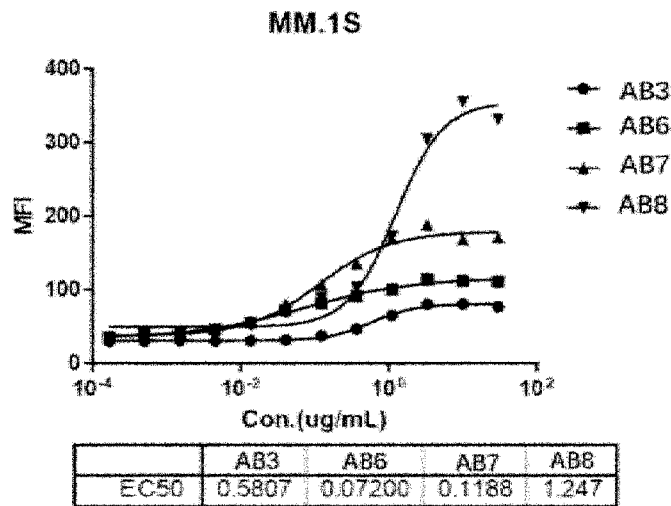
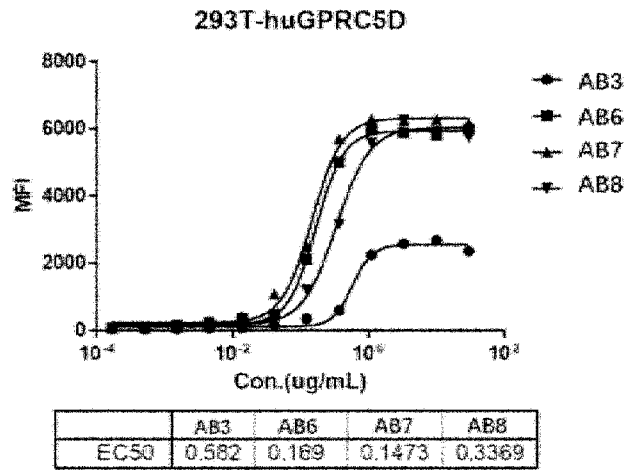
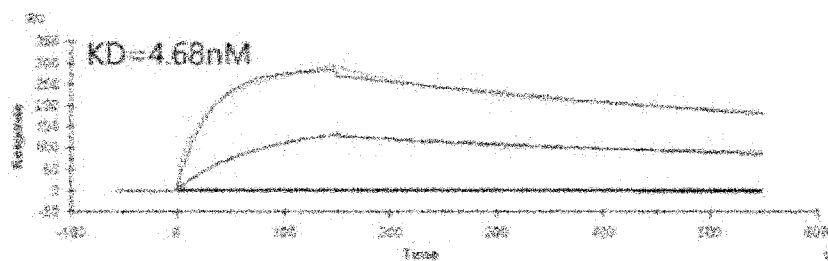


图 16

A. V152S-AB3-*hisFc*



B. V152S-AB7-*hisFc*

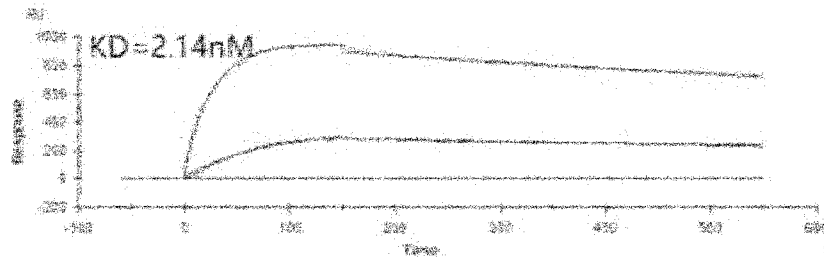


图 17

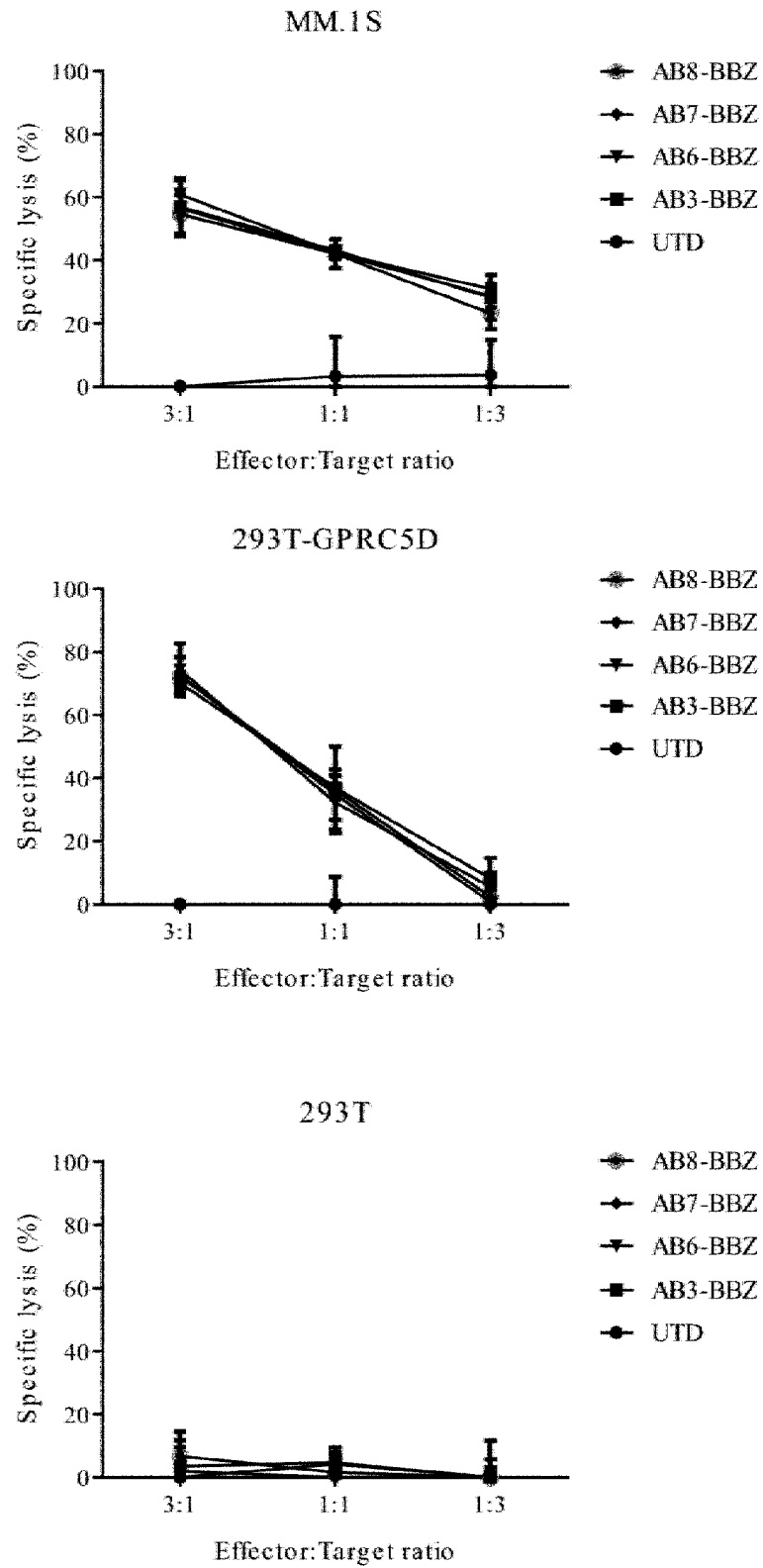


图 18

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2023/073614

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
C07K16/28(2006.01)i;C12N15/13(2006.01)i;C12N5/10(2006.01)i;C12N15/63(2006.01)i;C12N15/64(2006.01)i;A61P35/00(2006.01)i;A61K39/395(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC: C07K; C12N; A61P; A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CNABS; CNMED; CNTXT; VEN; DWPI; SIPOABS; EPTXT; WOTXT; USTXT; JPTXT; CNKI; 中国专利生物序列检索系统, China Patent Biological Sequence Search System; Genbank; NCBI; EMBL; STN; Elsevier; WEB OF SCIENCE; Pubmed and search terms: G蛋白偶联受体家族C组5成员D, G蛋白偶联受体C类5族成员D, G蛋白偶联受体C5家族亚型D, GPCR5D, G-protein coupled receptor family C group 5 member D, G protein coupled receptor , GPCR, SEQ ID Nos.: 1-6 etc.		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 109715667 A (JANSSEN PHARMACEUTICA NV) 03 May 2019 (2019-05-03) see entire document, in particular claims 1-65	1-24, 26 (all in part)
A	CN 110462038 A (DAIICHI SANKYO COMPANY, LIMITED) 15 November 2019 (2019-11-15) see entire document, in particular claims 1-87	1-24, 26 (all in part)
A	IN 201917002488 A (EDAVETTAL) 26 April 2019 (2019-04-26) see entire document, in particular abstract	1-24, 26 (all in part)
A	US 2019367612 A1 (DAIICHI SANKYO CO., LTD.) 05 December 2019 (2019-12-05) see entire document, in particular abstract	1-24, 26 (all in part)
A	CN 111788231 A (F. HOFFMANN-LA ROCHE AG) 16 October 2020 (2020-10-16) see entire document, in particular claims 1-42	1-24, 26 (all in part)
A	IN 201917036056 A (CHAEN) 08 November 2019 (2019-11-08) see entire document, in particular abstract	1-24, 26 (all in part)
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 06 April 2023		Date of mailing of the international search report 02 May 2023
Name and mailing address of the ISA/CN China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088 Facsimile No. (86-10)62019451		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2023/073614

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	PILLARISSETTI, K. "A T-cell-redirecting Bispecific G-protein-coupled Receptor Class 5 Member D x CD3 Antibody to Treat Multiple Myeloma" <i>Blood.</i> , Vol. 135, No. (15), 09 April 2020 (2020-04-09), see entire document, in particular abstract	1-24, 26 (all in part)
A	H Bruner-OsBorne . "Cloning and Characterization of a Human Orphan Family C G-protein Coupled Receptor GPRC5D" <i>Biochim Biophys Acta.</i> , Vol. 1518, No. (3), 16 April 2001 (2001-04-16), see entire document, in particular abstract	1-24, 26 (all in part)

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

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
 - a. forming part of the international application as filed.
 - b. furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)),
 accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.
2. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.
3. Additional comments:

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

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

1. Claims Nos.: 25
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
PCT Rule 39.1(iv) – methods for treatment of the human or animal body by surgery or therapy, as well as diagnostic methods.
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

Invention 1: claims 1-24 and 26 (all in part) relate to an antibody recognizing GPRC5D, the antibody including HCDR1 shown in SEQ ID NO: 1, HCDR2 shown in SEQ ID NO: 2, HCDR3 shown in SEQ ID NO: 3, LCDR1 shown in SEQ ID NO: 4, LCDR2 shown in SEQ ID NO: 5, and LCDR3 shown in SEQ ID NO: 6; an immunoconjugate and a chimeric receptor which include the antibody; a nucleic acid encoding the antibody, the immunoconjugate and the chimeric receptor; a vector, a virus and a cell which include the encoding nucleic acid; and a pharmaceutical composition, a combined medication and a kit which include the antibody, the immunoconjugate, the chimeric receptor, the nucleic acid, the vector and or the cell, and preparation methods therefor and the use thereof in the preparation of a drug for treating/diagnosing diseases.

Invention 2: claims 1-24 and 26 (all in part) relate to an antibody recognizing GPRC5D, the antibody including HCDR1 shown in SEQ ID NO: 1, HCDR2 shown in SEQ ID NO: 2, HCDR3 shown in SEQ ID NO: 7, LCDR1 shown in SEQ ID NO: 4, LCDR2 shown in SEQ ID NO: 5, and LCDR3 shown in SEQ ID NO: 8; an immunoconjugate and a chimeric receptor which include the antibody; a nucleic acid encoding the antibody, the immunoconjugate and the chimeric receptor; a vector, a virus and a cell which include the encoding nucleic acid; and a pharmaceutical composition, a combined medication and a kit which include the antibody, the immunoconjugate, the chimeric receptor, the nucleic acid, the vector and or the cell, and preparation methods therefor and the use thereof in the preparation of a drug for treating/diagnosing diseases.

Invention 3: claims 1-24 and 26 (all in part) relate to an antibody recognizing GPRC5D, the antibody including HCDR1 shown in SEQ ID NO: 1, HCDR2 shown in SEQ ID NO: 2, HCDR3 shown in SEQ ID NO: 9, LCDR1 shown in SEQ ID NO: 4, LCDR2 shown in SEQ ID NO: 5, and LCDR3 shown in SEQ ID NO: 10; an immunoconjugate and a chimeric receptor which include the antibody; a nucleic acid encoding the antibody, the immunoconjugate and the chimeric receptor; a vector, a virus and a cell which include the encoding nucleic acid; and a pharmaceutical composition, a combined medication and a kit which include the antibody, the immunoconjugate, the chimeric receptor, the nucleic acid, the vector and or the cell, and preparation methods therefor and the use thereof in the preparation of a drug for treating/diagnosing diseases.

Invention 4: claims 1-24 and 26 (all in part) relate to an antibody recognizing GPRC5D, the antibody including HCDR1 shown in SEQ ID NO: 11, HCDR2 shown in SEQ ID NO: 12, HCDR3 shown in SEQ ID NO: 13, LCDR1 shown in SEQ ID NO: 14, LCDR2 shown in SEQ ID NO: 15, and LCDR3 shown in SEQ ID NO: 16; an immunoconjugate and a chimeric receptor which include the antibody; a nucleic acid encoding the antibody, the immunoconjugate and the chimeric receptor; a vector, a virus and a cell which include the encoding nucleic acid; and a pharmaceutical composition, a combined medication and a kit which include the antibody, the immunoconjugate,

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

the chimeric receptor, the nucleic acid, the vector and or the cell, and preparation methods therefor and the use thereof in the preparation of a drug for treating/diagnosing diseases.

Invention 5: claims 1-24 and 26 (all in part) relate to an antibody recognizing GPRC5D, the antibody including HCDR1 shown in SEQ ID NO: 17, HCDR2 shown in SEQ ID NO: 18, HCDR3 shown in SEQ ID NO: 19, LCDR1 shown in SEQ ID NO: 20, LCDR2 shown in SEQ ID NO: 21, and LCDR3 shown in SEQ ID NO: 22; an immunoconjugate and a chimeric receptor which include the antibody; a nucleic acid encoding the antibody, the immunoconjugate and the chimeric receptor; a vector, a virus and a cell which include the encoding nucleic acid; and a pharmaceutical composition, a combined medication and a kit which include the antibody, the immunoconjugate, the chimeric receptor, the nucleic acid, the vector and or the cell, and preparation methods therefor and the use thereof in the preparation of a drug for treating/diagnosing diseases.

Invention 6: claims 1-24 and 26 (all in part) relate to an antibody recognizing GPRC5D, the antibody including HCDR1 shown in SEQ ID NO: 70, HCDR2 shown in SEQ ID NO: 72, HCDR3 shown in SEQ ID NO: 3, LCDR1 shown in SEQ ID NO: 4, LCDR2 shown in SEQ ID NO: 5, and LCDR3 shown in SEQ ID NO: 6; an immunoconjugate and a chimeric receptor which include the antibody; a nucleic acid encoding the antibody, the immunoconjugate and the chimeric receptor; a vector, a virus and a cell which include the encoding nucleic acid; and a pharmaceutical composition, a combined medication and a kit which include the antibody, the immunoconjugate, the chimeric receptor, the nucleic acid, the vector and or the cell, and preparation methods therefor and the use thereof in the preparation of a drug for treating/diagnosing diseases.

Invention 7: claims 1-24 and 26 (all in part) relate to an antibody recognizing GPRC5D, the antibody including HCDR1 shown in SEQ ID NO: 71, HCDR2 shown in SEQ ID NO: 73, HCDR3 shown in SEQ ID NO: 3, LCDR1 shown in SEQ ID NO: 4, LCDR2 shown in SEQ ID NO: 5, and LCDR3 shown in SEQ ID NO: 6; an immunoconjugate and a chimeric receptor which include the antibody; a nucleic acid encoding the antibody, the immunoconjugate and the chimeric receptor; a vector, a virus and a cell which include the encoding nucleic acid; and a pharmaceutical composition, a combined medication and a kit which include the antibody, the immunoconjugate, the chimeric receptor, the nucleic acid, the vector and or the cell, and preparation methods therefor and the use thereof in the preparation of a drug for treating/diagnosing diseases.

Invention 8: claims 1-24 and 26 (all in part) relate to an antibody recognizing GPRC5D, the antibody including HCDR1 shown in SEQ ID NO: 1, HCDR2 shown in SEQ ID NO: 2, HCDR3 shown in SEQ ID NO: 3, LCDR1 shown in SEQ ID NO: 74, LCDR2 shown in SEQ ID NO: 75, and LCDR3 shown in SEQ ID NO: 6; an immunoconjugate and a chimeric receptor which include the antibody; a nucleic acid encoding the antibody, the immunoconjugate and the chimeric receptor; a vector, a virus and a cell which include the encoding nucleic acid; and a pharmaceutical composition, a combined medication and a kit which include the antibody, the immunoconjugate, the chimeric receptor, the nucleic acid, the vector and or the cell, and preparation methods therefor and the use thereof in the preparation of a drug for treating/diagnosing diseases.

The same or corresponding technical feature of the eight inventions is "an antibody recognizing GPRC5D", and this technical feature is disclosed in the prior art (for example, CN 109715667 A, 03 May 2019, see claims 1-21). Therefore, the eight inventions do not have the same or corresponding special technical features that define a contribution which the inventions make over the prior art, do not belong to a single general inventive concept, and thus do not meet the requirement of unity of invention and do not comply with PCT Rule 13.1.

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

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.: **1-24, 26 (all in part)**

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2023/073614

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)	
CN	109715667	A	03 May 2019	CR	20190025 A	14 March 2019
				AR	109499 A1	19 December 2018
				ZA	201901066 B	28 October 2020
				BR	112019001055 A2	01 October 2019
				NI	201900005 A	10 May 2019
				TW	201809005 A	16 March 2018
				TWI	781108 B	21 October 2022
				UY	37340 A	31 January 2018
				KR	20190028534 A	18 March 2019
				ECSP	19012075 A	28 February 2019
				PH	12019500152 A1	14 October 2019
				EP	3487882 A2	29 May 2019
				US	2023084967 A1	16 March 2023
				CL	2019000146 A1	26 April 2019
				SG	11201900468 YA	27 February 2019
				EA	201990346 A1	28 June 2019
				CA	3031472 A1	25 January 2018
				AU	2017299673 A1	07 February 2019
				IL	264334 A	28 February 2019
				IL	298277 A	01 January 2023
				MA	45712 A	29 May 2019
				JP	2019527061 A	26 September 2019
				WO	2018017786 A2	25 January 2018
				WO	2018017786 A3	01 March 2018
				US	2018037651 A1	08 February 2018
				US	10562968 B2	18 February 2020
				JP	2023011774 A	24 January 2023
PE	20190392 A1	13 March 2019				
CO	2019001114 A2	19 February 2019				
MX	2019000825 A	04 September 2019				
CN	110462038	A	15 November 2019	BR	112019016204 A2	07 July 2020
				KR	20190133160 A	02 December 2019
				EP	3581651 A1	18 December 2019
				EP	3581651 A4	12 May 2021
				PH	12019501824 A1	14 September 2020
				MX	2019009358 A	02 December 2019
				ZA	201905905 B	25 May 2022
				IL	268588 A	26 September 2019
				SG	10201912368 XA	27 February 2020
				SG	11201907321 TA	27 September 2019
				WO	2018147245 A1	16 August 2018
				AU	2018218753 A1	26 September 2019
				TW	201837174 A	16 October 2018
				CA	3052938 A1	16 August 2018
				RU	2019128134 A	09 March 2021
				RU	2019128134 A3	27 December 2021
				JPWO	2018147245 A1	21 November 2019
				US	2019367612 A1	05 December 2019
				CO	2019009680 A2	07 February 2020
				IN	201917002488	A

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2023/073614

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)		Publication date (day/month/year)	
US	2019367612	A1	05 December 2019	None			
CN	111788231	A	16 October 2020	TW	201936641	A	16 September 2019
				RU	2020129004	A	09 March 2022
				KR	20200119833	A	20 October 2020
				EP	3749692	A1	16 December 2020
				PE	20201341	A1	25 November 2020
				CO	2020008940	A2	31 August 2020
				IL	276537	A	30 September 2020
				MX	2020007012	A	07 September 2020
				MA	51734	A	19 May 2021
				JP	2021513334	A	27 May 2021
				AU	2019219061	A1	06 August 2020
				CR	20200341	A	02 November 2020
				US	2021054094	A1	25 February 2021
				WO	2019154890	A1	15 August 2019
				CL	2020001854	A1	23 October 2020
				SG	11202007578	SA	29 September 2020
				BR	112020015297	A2	08 December 2020
				CA	3088730	A1	15 August 2019
				AR	117392	A1	04 August 2021
				PH	12020551211	A1	17 May 2021
IN	201917036056	A	08 November 2019	None			

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2023/073614

<p>A. 主题的分类</p> <p>C07K16/28 (2006.01) i; C12N15/13 (2006.01) i; C12N5/10 (2006.01) i; C12N15/63 (2006.01) i; C12N15/64 (2006.01) i; A61P35/00 (2006.01) i; A61K39/395 (2006.01) i</p> <p>按照国际专利分类 (IPC) 或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类</p>																							
<p>B. 检索领域</p> <p>检索的最低限度文献 (标明分类系统和分类号)</p> <p>IPC: C07K; C12N; A61P; A61K</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>在国际检索时查阅的电子数据库 (数据库的名称, 和使用的检索词 (如使用))</p> <p>CNABS; CNMED; CNTXT; VEN; DWPI; SIPOABS; EPTXT; WOTXT; USTXT; JPTXT; CNKI; 中国专利生物序列检索系统; Genbank; NCB I; EMBL; STN; Elsevier; WEB OF SCIENCE; Pubmed 和检索项: G 蛋白偶联受体家族 C 组 5 成员 D, G 蛋白偶联受体 C 类 5 族成员 D, G 蛋白偶联受体 C5 家族亚型 D, GPCR5D, G-protein coupled receptor family C group 5 member D, G protein coupled receptor, GPCR, SEQ ID Nos.: 1-6 等</p>																							
<p>C. 相关文件</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>类型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>A</td> <td>CN 109715667 A (詹森药业有限公司) 2019年5月3日 (2019-05-03) 见全文, 特别是权利要求1-65</td> <td>1-24、26 (均为部分)</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 110462038 A (第一三共株式会社) 2019年11月15日 (2019-11-15) 见全文, 特别是权利要求1-87</td> <td>1-24、26 (均为部分)</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>IN 201917002488 A (EDAVETTAL) 2019年4月26日 (2019-04-26) 见全文, 特别是摘要</td> <td>1-24、26 (均为部分)</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>US 2019367612 A1 (DAIICHI SANKYO CO LTD) 2019年12月5日 (2019-12-05) 见全文, 特别是摘要</td> <td>1-24、26 (均为部分)</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 111788231 A (豪夫迈·罗氏有限公司) 2020年10月16日 (2020-10-16) 见全文, 特别是权利要求1-42</td> <td>1-24、26 (均为部分)</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>IN 201917036056 A (CHAEN) 2019年11月8日 (2019-11-08) 见全文, 特别是摘要</td> <td>1-24、26 (均为部分)</td> </tr> </tbody> </table> <p><input checked="" type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。 <input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p> <p>* 引用文件的具体类型: “A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 “D” 申请人在国际申请中引证的文件 “E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 “L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件 (如具体说明的) “O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 “P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 “T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 “X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 “Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 “&” 同族专利的文件</p>			类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	A	CN 109715667 A (詹森药业有限公司) 2019年5月3日 (2019-05-03) 见全文, 特别是权利要求1-65	1-24、26 (均为部分)	A	CN 110462038 A (第一三共株式会社) 2019年11月15日 (2019-11-15) 见全文, 特别是权利要求1-87	1-24、26 (均为部分)	A	IN 201917002488 A (EDAVETTAL) 2019年4月26日 (2019-04-26) 见全文, 特别是摘要	1-24、26 (均为部分)	A	US 2019367612 A1 (DAIICHI SANKYO CO LTD) 2019年12月5日 (2019-12-05) 见全文, 特别是摘要	1-24、26 (均为部分)	A	CN 111788231 A (豪夫迈·罗氏有限公司) 2020年10月16日 (2020-10-16) 见全文, 特别是权利要求1-42	1-24、26 (均为部分)	A	IN 201917036056 A (CHAEN) 2019年11月8日 (2019-11-08) 见全文, 特别是摘要	1-24、26 (均为部分)
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求																					
A	CN 109715667 A (詹森药业有限公司) 2019年5月3日 (2019-05-03) 见全文, 特别是权利要求1-65	1-24、26 (均为部分)																					
A	CN 110462038 A (第一三共株式会社) 2019年11月15日 (2019-11-15) 见全文, 特别是权利要求1-87	1-24、26 (均为部分)																					
A	IN 201917002488 A (EDAVETTAL) 2019年4月26日 (2019-04-26) 见全文, 特别是摘要	1-24、26 (均为部分)																					
A	US 2019367612 A1 (DAIICHI SANKYO CO LTD) 2019年12月5日 (2019-12-05) 见全文, 特别是摘要	1-24、26 (均为部分)																					
A	CN 111788231 A (豪夫迈·罗氏有限公司) 2020年10月16日 (2020-10-16) 见全文, 特别是权利要求1-42	1-24、26 (均为部分)																					
A	IN 201917036056 A (CHAEN) 2019年11月8日 (2019-11-08) 见全文, 特别是摘要	1-24、26 (均为部分)																					
国际检索实际完成的日期	2023年4月6日	国际检索报告邮寄日期	2023年5月2日																				
ISA/CN的名称和邮寄地址	中国国家知识产权局 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 传真号 (86-10)62019451	授权官员	张金丽 电话号码 (+86) 010-62411124																				

C. 相关文件		
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
A	Kodandaram Pillarisetti. "A T-cell-redirecting bispecific G-protein-coupled receptor class 5 member D x CD3 antibody to treat multiple myeloma" Blood., 第135卷, 第15期, 2020年4月9日 (2020 - 04 - 09), 见全文, 特别是摘要	1-24、26 (均为部分)
A	H Bräuner-Osborne . "Cloning and characterization of a human orphan family C G-protein coupled receptor GPRC5D" Biochim Biophys Acta., 第1518卷, 第3期, 2001年4月16日 (2001 - 04 - 16), 见全文, 特别是摘要	1-24、26 (均为部分)

第I栏

核苷酸和/或氨基酸序列(续第1页第1.c项)

1. 关于国际申请中所公开的任何核苷酸和/或氨基酸序列, 国际检索是基于下列序列列表进行的:
 - a. 作为国际申请的一部分提交的;
 - b. 为国际检索的目的在国际申请日之后提交(细则13之三.1(a)),
 附有说明序列列表不超出所提交国际申请公开范围的声明。
2. 本报告是在没有收到符合WIPO ST. 26标准的序列列表的情况下, 考虑了国际申请中披露的任何核苷酸和/或氨基酸序列, 在可进行有意义检索的范围内做出的。
3. 补充意见:

第II栏 某些权利要求被认为是不能检索的意见(续第1页第2项)

根据条约第17条(2)(a),对某些权利要求未做国际检索报告的理由如下:

- 权利要求: 25
因为它们涉及不要求本单位进行检索的主题,即:
PCT细则39.1(iv)——处置人体或者动物体的外科手术方法或治疗方法,以及诊断方法。
- 权利要求:
因为它们涉及国际申请中不符合规定的要求的部分,以致不能进行任何有意义的国际检索,具体地说:
- 权利要求:
因为它们是从属权利要求,并且没有按照细则6.4(a)第2句和第3句的要求撰写。

第III栏 缺乏发明单一性的意见(续第1页第3项)

本国际检索单位在该国际申请中发现多项发明,即:

发明1: 权利要求1-24、26(均为部分): 涉及识别GPCR5D的抗体,包含SEQ ID NO:

1所示的HCDR1、SEQ ID NO; 2所示的HCDR2、SEQ ID NO; 3所示的HCDR3, SEQ ID NO; 4所示的LCDR1、SEQ ID NO; 5所示的LCDR2、SEQ ID NO; 6所示的LCDR3, 包含前述抗体的免疫缀合物、嵌合受体, 编码前述抗体、免疫缀合物、嵌合受体的核酸, 包含前述编码核酸的载体、病毒、细胞, 包含前述抗体、免疫缀合物、嵌合受体、核酸、载体和/或细胞的药物组合物、联合用药、试剂盒及其制备方法和在制备用于治疗/诊断疾病的药物中的用途;

发明2: 权利要求1-24、26(均为部分): 涉及识别GPCR5D的抗体, 包含SEQ ID NO:

1所示的HCDR1、SEQ ID NO; 2所示的HCDR2、SEQ ID NO; 7所示的HCDR3, SEQ ID NO; 4所示的LCDR1、SEQ ID NO; 5所示的LCDR2、SEQ ID NO; 8所示的LCDR3, 包含前述抗体的免疫缀合物、嵌合受体, 编码前述抗体、免疫缀合物、嵌合受体的核酸, 包含前述编码核酸的载体、病毒、细胞, 包含前述抗体、免疫缀合物、嵌合受体、核酸、载体和/或细胞的药物组合物、联合用药、试剂盒及其制备方法和在制备用于治疗/诊断疾病的药物中的用途;

发明3: 权利要求1-24、26(均为部分): 涉及识别GPCR5D的抗体, 包含SEQ ID NO:

1所示的HCDR1、SEQ ID NO; 2所示的HCDR2、SEQ ID NO; 9所示的HCDR3, SEQ ID NO; 4所示的LCDR1、SEQ ID NO; 5所示的LCDR2、SEQ ID NO; 10所示的LCDR3, 包含前述抗体的免疫缀合物、嵌合受体, 编码前述抗体、免疫缀合物、嵌合受体的核酸, 包含前述编码核酸的载体、病毒、细胞, 包含前述抗体、免疫缀合物、嵌合受体、核酸、载体和/或细胞的药物组合物、联合用药、试剂盒及其制备方法和在制备用于治疗/诊断疾病的药物中的用途;

发明4: 权利要求1-24、26(均为部分): 涉及识别GPCR5D的抗体, 包含SEQ ID NO:

11所示的HCDR1、SEQ ID NO; 12所示的HCDR2、SEQ ID NO; 13所示的HCDR3, SEQ ID NO; 14所示的LCDR1、SEQ ID NO; 15所示的LCDR2、SEQ ID NO; 16所示的LCDR3, 包含前述抗体的免疫缀合物、嵌合受体, 编码前述抗体、免疫缀合物、嵌合受体的核酸, 包含前述编码核酸的载体、病毒、细胞, 包含前述抗体、免疫缀合物、嵌合受体、核酸、载体和/或细胞的药物组合物、联合用药、试剂盒及其制备方法和在制备用于治疗/诊断疾病的药物中的用途;

发明5: 权利要求1-24、26(均为部分): 涉及识别GPCR5D的抗体, 包含SEQ ID NO:

17所示的HCDR1、SEQ ID NO; 18所示的HCDR2、SEQ ID NO; 19所示的HCDR3, SEQ ID NO; 20所示的LCDR1、SEQ ID NO; 21所示的LCDR2、SEQ ID NO; 22所示的LCDR3, 包含前述抗体的免疫缀合物、嵌合受体, 编码前述抗体、免疫缀合物、嵌合受体的核酸, 包含前述编码核酸的载体、病毒、细胞, 包含前述抗体、免疫缀合物、嵌合受体、核酸、载体和/或细胞的药物组合物、联合用药、试剂盒及其制备方法和在制备用于治疗/诊断疾病的药物中的用途;

第III栏 缺乏发明单一性的意见(续第1页第3项)

发明6: 权利要求1-24、26 (均为部分): 涉及识别GPC5D的抗体, 包含SEQ ID NO:

70所示的HCDR1、SEQ ID NO: 72所示的HCDR2、SEQ ID NO: 3所示的HCDR3, SEQ ID NO: 4所示的LCDR1、SEQ ID NO: 5所示的LCDR2、SEQ ID NO: 6所示的LCDR3, 包含前述抗体的免疫缀合物、嵌合受体, 编码前述抗体、免疫缀合物、嵌合受体的核酸, 包含前述编码核酸的载体、病毒、细胞, 包含前述抗体、免疫缀合物、嵌合受体、核酸、载体和/或细胞的药物组合物、联合用药、试剂盒及其制备方法和在制备用于治疗/诊断疾病的药物中的用途;

发明7: 权利要求1-24、26 (均为部分): 涉及识别GPC5D的抗体, 包含SEQ ID NO:

71所示的HCDR1、SEQ ID NO: 73所示的HCDR2、SEQ ID NO: 3所示的HCDR3, SEQ ID NO: 4所示的LCDR1、SEQ ID NO: 5所示的LCDR2、SEQ ID NO: 6所示的LCDR3, 包含前述抗体的免疫缀合物、嵌合受体, 编码前述抗体、免疫缀合物、嵌合受体的核酸, 包含前述编码核酸的载体、病毒、细胞, 包含前述抗体、免疫缀合物、嵌合受体、核酸、载体和/或细胞的药物组合物、联合用药、试剂盒及其制备方法和在制备用于治疗/诊断疾病的药物中的用途;

发明8: 权利要求1-24、26 (均为部分): 涉及识别GPC5D的抗体, 包含SEQ ID NO:

1所示的HCDR1、SEQ ID NO: 2所示的HCDR2、SEQ ID NO: 3所示的HCDR3, SEQ ID NO: 74所示的LCDR1、SEQ ID NO: 75所示的LCDR2、SEQ ID NO: 6所示的LCDR3, 包含前述抗体的免疫缀合物、嵌合受体, 编码前述抗体、免疫缀合物、嵌合受体的核酸, 包含前述编码核酸的载体、病毒、细胞, 包含前述抗体、免疫缀合物、嵌合受体、核酸、载体和/或细胞的药物组合物、联合用药、试剂盒及其制备方法和在制备用于治疗/诊断疾病的药物中的用途。

这8项发明的相同或相应的技术特征为“识别GPC5D的抗体”, 这一技术特征已经被现有技术公开(例如, CN109715667A, 公开日2019年05月03日, 参见权利要求1-21)。因此, 这8项发明不具有相同或相应的体现发明对现有技术作出贡献的特定技术特征, 不属于一个总的发明构思, 因而不满足发明单一性的要求, 不符合PCT实施细则13.1的规定。

- 由于申请人按时缴纳了被要求缴纳的全部附加检索费, 本国际检索报告涉及全部可作检索的权利要求。
- 由于无需付出有理由要求附加费的劳动即能对全部可检索的权利要求进行检索, 本单位未通知缴纳任何加费。
- 由于申请人仅按时缴纳了部分被要求缴纳的附加检索费, 本国际检索报告仅涉及已缴费的那些权利要求, 具体地说, 是权利要求:
- 申请人未按时缴纳被要求缴纳的附加检索费。因此, 本国际检索报告仅涉及权利要求书中首先提及的发明; 包含该发明的权利要求是: 1-24、26 (均为部分)

对异议的意见

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

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2023/073614

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	109715667	A	2019年5月3日	CR	20190025	A	2019年3月14日
				AR	109499	A1	2018年12月19日
				ZA	201901066	B	2020年10月28日
				BR	112019001055	A2	2019年10月1日
				NI	201900005	A	2019年5月10日
				TW	201809005	A	2018年3月16日
				TWI	781108	B	2022年10月21日
				UY	37340	A	2018年1月31日
				KR	20190028534	A	2019年3月18日
				ECSP	19012075	A	2019年2月28日
				PH	12019500152	A1	2019年10月14日
				EP	3487882	A2	2019年5月29日
				US	2023084967	A1	2023年3月16日
				CL	2019000146	A1	2019年4月26日
				SG	11201900468	YA	2019年2月27日
				EA	201990346	A1	2019年6月28日
				CA	3031472	A1	2018年1月25日
				AU	2017299673	A1	2019年2月7日
				IL	264334	A	2019年2月28日
				IL	298277	A	2023年1月1日
				MA	45712	A	2019年5月29日
				JP	2019527061	A	2019年9月26日
				WO	2018017786	A2	2018年1月25日
				WO	2018017786	A3	2018年3月1日
				US	2018037651	A1	2018年2月8日
				US	10562968	B2	2020年2月18日
				JP	2023011774	A	2023年1月24日
				PE	20190392	A1	2019年3月13日
				CO	2019001114	A2	2019年2月19日
				MX	2019000825	A	2019年9月4日
CN	110462038	A	2019年11月15日	BR	112019016204	A2	2020年7月7日
				KR	20190133160	A	2019年12月2日
				EP	3581651	A1	2019年12月18日
				EP	3581651	A4	2021年5月12日
				PH	12019501824	A1	2020年9月14日
				MX	2019009358	A	2019年12月2日
				ZA	201905905	B	2022年5月25日
				IL	268588	A	2019年9月26日
				SG	10201912368	XA	2020年2月27日
				SG	11201907321	TA	2019年9月27日
				WO	2018147245	A1	2018年8月16日
				AU	2018218753	A1	2019年9月26日
				TW	201837174	A	2018年10月16日
				CA	3052938	A1	2018年8月16日
				RU	2019128134	A	2021年3月9日
				RU	2019128134	A3	2021年12月27日
				JPWO	2018147245	A1	2019年11月21日
				US	2019367612	A1	2019年12月5日
				CO	2019009680	A2	2020年2月7日
IN	201917002488	A	2019年4月26日	无			

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2023/073614

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
US	2019367612	A1	2019年12月5日	无	
CN	111788231	A	2020年10月16日	TW	201936641 A 2019年9月16日
				RU	2020129004 A 2022年3月9日
				KR	20200119833 A 2020年10月20日
				EP	3749692 A1 2020年12月16日
				PE	20201341 A1 2020年11月25日
				CO	2020008940 A2 2020年8月31日
				IL	276537 A 2020年9月30日
				MX	2020007012 A 2020年9月7日
				MA	51734 A 2021年5月19日
				JP	2021513334 A 2021年5月27日
				AU	2019219061 A1 2020年8月6日
				CR	20200341 A 2020年11月2日
				US	2021054094 A1 2021年2月25日
				WO	2019154890 A1 2019年8月15日
				CL	2020001854 A1 2020年10月23日
				SG	11202007578 SA 2020年9月29日
				BR	112020015297 A2 2020年12月8日
				CA	3088730 A1 2019年8月15日
				AR	117392 A1 2021年8月4日
				PH	12020551211 A1 2021年5月17日
IN	201917036056	A	2019年11月8日	无	