(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 118271463 A
(43)申请公布日 2024.07.02

(21)申请号 202410434671.2
(22)申请日 2015.12.04
(30)优先权数据
62/088,286 2014.12.05 US
(62)分案原申请数据
201580075557.4 2015.12.04
(71)申请人 纪念斯隆-凯特琳癌症中心
地址 美国
申请人 尤里卡治疗公司
(72)发明人 R·J·布伦特延斯 E·L·史密斯 C·刘
(74)专利代理机构 北京尚诚知识产权代理有限公司 11322
专利代理师 龙淳 周琴
(51)Int.Cl.
C07K 19/00(2006.01)

权利要求书3页 说明书166页
序列表（电子公布） 附图16页

(54)发明名称

靶向G-蛋白偶联受体的嵌合抗原受体及其用途

(57)摘要

本发明公开的主题提供用于治疗多发性骨髓瘤的方法和组合物。本发明公开的主题涉及特异性地靶向G-蛋白偶联受体(例如,G-蛋白偶联受体C家族5组D成员(GPRC5D))的嵌合抗原受体(CAR)和包含此类CAR的免疫应答细胞。本发明公开的靶向G-蛋白偶联受体(例如GPRC5D)的CAR具有增强的免疫活化性能,包括抗肿瘤活性。



LTR，长末端重复启动子；SD，SA，剪接供体和受体；Ψ，包装元件；黑盒，信号肽；IRES，内部核糖体进入位点；Gluc，Gaussia荧光素酶；CD8，人CD8跨膜结构域

CN 118271463 A

1.一种嵌合抗原受体(CAR),其包含细胞外抗原结合结构域、跨膜结构域和细胞内结构域,其中所述细胞外抗原结合结构域特异性地结合G-蛋白偶联受体,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:

(a)包含序列如SEQ ID NO:124所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:125所示的氨基酸的重链可变区CDR2;包含序列如SEQ ID NO:126所示的氨基酸的重链可变区CDR3;包含序列如SEQ ID NO:127所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:128所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:129所示的氨基酸的轻链可变区CDR3。

2.一种嵌合抗原受体(CAR),其包含细胞外抗原结合结构域、跨膜结构域和细胞内结构域,其中所述细胞外抗原结合结构域特异性地结合G-蛋白偶联受体,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:

(b)包含序列如SEQ ID NO:130所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:131所示的氨基酸的重链可变区CDR2;包含序列如SEQ ID NO:132所示的氨基酸的重链可变区CDR3;包含序列如SEQ ID NO:133所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:134所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:135所示的氨基酸的轻链可变区CDR3。

3.一种嵌合抗原受体(CAR),其包含细胞外抗原结合结构域、跨膜结构域和细胞内结构域,其中所述细胞外抗原结合结构域特异性地结合G-蛋白偶联受体,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:

(c)包含序列如SEQ ID NO:136所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:137所示的氨基酸的重链可变区CDR2;包含序列如SEQ ID NO:138所示的氨基酸的重链可变区CDR3;包含序列如SEQ ID NO:139所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:140所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:141所示的氨基酸的轻链可变区CDR3。

4.一种嵌合抗原受体(CAR),其包含细胞外抗原结合结构域、跨膜结构域和细胞内结构域,其中所述细胞外抗原结合结构域特异性地结合G-蛋白偶联受体,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:

(d)包含序列如SEQ ID NO:142所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:143所示的氨基酸的重链可变区CDR2;包含序列如SEQ ID NO:144所示的氨基酸的重链可变区CDR3;包含序列如SEQ ID NO:145所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:146所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:147所示的氨基酸的轻链可变区CDR3。

5.一种嵌合抗原受体(CAR),其包含细胞外抗原结合结构域、跨膜结构域和细胞内结构域,其中所述细胞外抗原结合结构域特异性地结合G-蛋白偶联受体,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:

(e)包含序列如SEQ ID NO:148所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:149所示的氨基酸的重链可变区CDR2;包含序列如SEQ ID NO:150所示的氨基酸的重链可变区CDR3;包含序列如SEQ ID NO:151所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:152所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:153所示的氨基酸的

轻链可变区CDR3。

6.一种嵌合抗原受体(CAR),其包含细胞外抗原结合结构域、跨膜结构域和细胞内结构域,其中所述细胞外抗原结合结构域特异性地结合G-蛋白偶联受体,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:

(f)包含序列如SEQ ID NO:154所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:155所示的氨基酸的重链可变区CDR2;包含序列如SEQ ID NO:156所示的氨基酸的重链可变区CDR3;包含序列如SEQ ID NO:157所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:158所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:159所示的氨基酸的轻链可变区CDR3。

7.一种嵌合抗原受体(CAR),其包含细胞外抗原结合结构域、跨膜结构域和细胞内结构域,其中所述细胞外抗原结合结构域特异性地结合G-蛋白偶联受体,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:

(g)包含序列如SEQ ID NO:160所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:161所示的氨基酸的重链可变区CDR2;包含序列如SEQ ID NO:162所示的氨基酸的重链可变区CDR3;包含序列如SEQ ID NO:163所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:164所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:165所示的氨基酸的轻链可变区CDR3。

8.一种嵌合抗原受体(CAR),其包含细胞外抗原结合结构域、跨膜结构域和细胞内结构域,其中所述细胞外抗原结合结构域特异性地结合G-蛋白偶联受体,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:

(h)包含序列如SEQ ID NO:166所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:167所示的氨基酸的重链可变区CDR2;包含序列如SEQ ID NO:168所示的氨基酸的重链可变区CDR3;包含序列如SEQ ID NO:169所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:170所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:171所示的氨基酸的轻链可变区CDR3。

9.一种嵌合抗原受体(CAR),其包含细胞外抗原结合结构域、跨膜结构域和细胞内结构域,其中所述细胞外抗原结合结构域特异性地结合G-蛋白偶联受体,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:

(i)包含序列如SEQ ID NO:172所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:173所示的氨基酸的重链可变区CDR2;包含序列如SEQ ID NO:174所示的氨基酸的重链可变区CDR3;包含序列如SEQ ID NO:175所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:176所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:177所示的氨基酸的轻链可变区CDR3。

10.一种嵌合抗原受体(CAR),其包含细胞外抗原结合结构域、跨膜结构域和细胞内结构域,其中所述细胞外抗原结合结构域特异性地结合G-蛋白偶联受体,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:

(j)包含序列如SEQ ID NO:178所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:179所示的氨基酸的重链可变区CDR2;包含序列如SEQ ID NO:180所示的氨基酸的重链可变区CDR3;包含序列如SEQ ID NO:181所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ

ID NO:182所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:183所示的氨基酸的轻链可变区CDR3。

靶向G-蛋白偶联受体的嵌合抗原受体及其用途

[0001] 本申请是2021年9月24日提交到中华人民共和国国家知识产权局的发明名称为“靶向G-蛋白偶联受体的嵌合抗原受体及其用途”、申请日为2015年12月4日、申请号为“202111119531.9”的发明专利申请的分案申请。

[0002] 相关申请的交叉引用

[0003] 本申请要求2014年12月5日提交的序列号为62/088,286的美国临时专利申请的优先权,其全部内容引入本文以供参考,并要求其优先权。

技术领域

[0004] 本发明公开的主题提供用于治疗癌症的方法和组合物。其涉及特异性地靶向G-蛋白偶联受体(例如,G-蛋白偶联受体C家族5组D成员(GPRC5D))的嵌合抗原受体(CAR)、包含此类CAR的免疫应答细胞、和使用此类细胞用于治疗癌症(例如,多发性骨髓瘤)的方法。

背景技术

[0005] 基于细胞的免疫疗法是对癌症治疗具有治愈潜力的疗法。T细胞和其它免疫细胞通过引入编码针对抗原的人工或合成受体的遗传物质被修饰为靶向肿瘤抗原,所述受体称为嵌合抗原受体(CAR),其对所选择的抗原具有特异性。使用CAR的靶向T细胞疗法已经显示最近在治疗血液恶性肿瘤中获得临床成功。

[0006] 多发性骨髓瘤(MM)是第二常见的血液恶性肿瘤。[9]大约25％的患者具有高危细胞遗传学,这预示中位生存期低于2年。[10,11]尽管已经取得了近期的进展,但无论细胞遗传学如何,该疾病仍然被认为是在同种异体移植的免疫治疗性移植物抗骨髓瘤(GvM)效应之外的不治之症。然而,同种异体移植受到条件不符(ineligibility)和高比率的移植相关发病率和死亡率的限制。[12]与GvM效应相似,可以通过自体过继性T细胞疗法以最小的毒性实现潜在的治愈性T细胞效应。

[0007] 骨髓瘤可能是检测过继性T细胞疗法的理想疾病。第一,如上所述,同种异体移植物证明,T细胞可以是治愈性治疗,即使比如在非清髓移植或移植后供体淋巴细胞输注之后使用最少或没有伴随的化学疗法。第二,条件化学疗法(conditioning chemotherapy),可能是通过消耗调节性T细胞(Tregs)的机制,增强过继性T细胞疗法的效力,[5,13]这样,立即的自体移植后期间可以是施用T细胞的最佳时间,并且骨髓瘤是其中自体干细胞移植是护理标准的少数几种疾病之一。第三,免疫调节药物来那度胺可以改善基于CAR的疗法,如已经在小鼠中所示,[14]并且来那度胺通常用于治疗MM。第四,与实体瘤或髓外CLL相比,[5]过继性T细胞疗法在骨髓主要疾病如ALL中最有效,[7,8]并且与ALL类似,骨髓瘤是骨髓的疾病。

[0008] 尽管有各种理由预期过继性T细胞疗法可能在MM中发挥作用,但将过继性T细胞疗法推至骨髓瘤也产生独特的挑战。与其他B细胞恶性肿瘤不同,仅在2％的骨髓瘤患者中见到CD19的表达。[15]此外,与CD19不同,骨髓瘤中常见的细胞外免疫表型标志物(CD138、CD38和CD56)都在其他基本细胞类型上共表达,并且我们预测针对任意这些靶标的CAR会导致不可接受的“肿瘤脱靶、靶标中靶(off tumor,on target)”毒性[7],这即使在抗体耐受性良好的

靶标中也可能是致命的,如使用靶向HER2的CAR的情况。[16]为了解决这些挑战,我们已经鉴定了具有预测的高MM表达和基本正常组织有限表达的细胞外靶标,其可以是用于MM的过继性T细胞疗法的最佳靶标。因此,需要新型治疗策略来设计靶向在MM细胞中高度表达并且在正常组织中有限表达的抗原的CAR,用于治疗多发性骨髓瘤,这种策略能够以最小的毒性和免疫原性诱导有效的肿瘤根除。

发明内容

[0009] 本发明公开的主题总体提供特异性地靶向G-蛋白偶联受体的嵌合抗原受体(CAR)、包含此类CAR的免疫应答细胞、以及这些CAR和免疫应答细胞用于治疗多发性骨髓瘤的用途。

[0010] 本发明公开的主题提供CAR。在一个非限制性实例中,CAR包含细胞外抗原结合结构域、跨膜结构域和细胞内结构域,其中细胞外抗原结合结构域特异性地结合G-蛋白偶联受体。在某些实施方式中,G-蛋白偶联受体是G-蛋白偶联受体C家族5组D成员(GPRC5D)。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域以约1x 10^{-9}M至约3x 10^{-6}M的结合亲和力(K_D)特异性地结合GPRC5D。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是单链可变区片段(scFv)。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是鼠scFv。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是人scFv。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是任选交联的Fab。在某些实施方式中,细胞外结合结构域是$F(ab)_2$。在某些实施方式中,任何前述分子可以包含在具有异源序列的融合蛋白中以形成细胞外抗原结合结构域。

[0011] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与选自SEQ ID NO:1、5、9、13、17、21、25、29、33、37、41、45、49、53、57、61、65、69、73、77、81、85、89、93、302、314、326、338、350、362、374和386的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的重链可变区。

[0012] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与选自SEQ ID NO:2、6、10、14、18、22、26、30、34、38、42、46、50、54、58、62、66、70、74、78、82、86、90、94、303、315、327、339、351、363、375和387的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的轻链可变区。

[0013] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含(a)含有与选自SEQ ID NO:1、5、9、13、17、21、25、29、33、37、41、45、49、53、57、61、65、69、73、77、81、85、89、93、302、314、326、338、350、362、374和386的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的重链可变区;和(b)含有与选自SEQ ID NO:2、6、10、14、18、22、26、30、34、38、42、46、50、54、58、62、66、70、74、78、82、86、90、94、303、315、327、339、351、363、375和387的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的轻链可变区。

[0014] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有选自SEQ ID NO:1、5、9、13、

17、21、25、29、33、37、41、45、49、53、57、61、65、69、73、77、81、85、89、93、302、314、326、338、350、362、374和386的氨基酸序列及其保守修饰的重链可变区。

[0015] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有选自SEQ ID NO:2、6、10、14、18、22、26、30、34、38、42、46、50、54、58、62、66、70、74、78、82、86、90、94、303、315、327、339、351、363、375和387的氨基酸序列及其保守修饰的轻链可变区。

[0016] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含(a)含有选自SEQ ID NO:1、5、9、13、17、21、25、29、33、37、41、45、49、53、57、61、65、69、73、77、81、85、89、93、302、314、326、338、350、362、374和386的氨基酸序列及其保守修饰的重链可变区,和(b)含有选自SEQ ID NO:2、6、10、14、18、22、26、30、34、38、42、46、50、54、58、62、66、70、74、78、82、86、90、94、303、315、327、339、351、363、375和387的氨基酸序列及其保守修饰的轻链可变区。

[0017] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含重链可变区,其包含具有选自SEQ ID NO:1、5、9、13、17、21、25、29、33、37、41、45、49、53、57、61、65、69、73、77、81、85、89、93、302、314、326、338、350、362、374和386的序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含轻链可变区,其包含具有选自SEQ ID NO:2、6、10、14、18、22、26、30、34、38、42、46、50、54、58、62、66、70、74、78、82、86、90、94、303、315、327、339、351、363、375和387的序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含重链可变区,其包含具有SEQ ID NO:53所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含重链可变区,其包含具有SEQ ID NO:57所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含重链可变区,其包含具有SEQ ID NO:61所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含重链可变区,其包含具有SEQ ID NO:65所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含重链可变区,其包含具有SEQ ID NO:69所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含轻链可变区,其包含具有SEQ ID NO:54所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含轻链可变区,其包含具有SEQ ID NO:58所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含轻链可变区,其包含具有SEQ ID NO:62所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含轻链可变区,其包含具有SEQ ID NO:66所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含轻链可变区,其包含具有SEQ ID NO:70所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:(a)包含具有SEQ ID NO:1所示序列的氨基酸的重链可变区,和包含具有SEQ ID NO:2所示序列的氨基酸的轻链可变区;(b)包含具有SEQ ID NO:5所示序列的氨基酸的重链可变区,和包含具有SEQ ID NO:6所示序列的氨基酸的轻链可变区;(c)包含具有SEQ ID NO:9所示序列的氨基酸的重链可变区,和包含具有SEQ ID NO:10所示序列的氨基酸的轻链可变区;(d)包含具有SEQ ID NO:13所示序列的氨基酸的重链可变区,和包含具有SEQ ID NO:14所示序列的氨基酸的轻链可变区;(e)包含具有SEQ ID NO:17所示序列的氨基酸的重链可变区,和包含具有SEQ ID NO:18所示序列的氨基酸的轻链可变区;(f)包含具有SEQ ID NO:21所示序列的氨基酸的重链可变区,和包含具有SEQ ID NO:22所示序列的氨基酸的轻链可变区;(g)包含具有SEQ ID NO:25所示序列的氨基酸的重链可变区,和包含具有SEQ ID NO:26所示序列的氨基酸的轻链可变区;(h)包含具有SEQ ID NO:29所示序列的氨基酸的重链可变区,和包含具有SEQ ID NO:30所示序列的氨基酸的轻链可变区;(i)包含具有SEQ ID NO:33所示序列的氨基酸的重链可变

区,和包含具有SEQ ID NO:34所示序列的氨基酸的轻链可变区;(j)包含具有SEQ ID NO:37所示序列的氨基酸的重链可变区,和包含具有SEQ ID NO:38所示序列的氨基酸的轻链可变区;(k)包含具有SEQ ID NO:41所示序列的氨基酸的重链可变区,和包含具有SEQ ID NO:42所示序列的氨基酸的轻链可变区;(l)包含具有SEQ ID NO:45所示序列的氨基酸的重链可变区,和包含具有SEQ ID NO:46所示序列的氨基酸的轻链可变区;(m)包含具有SEQ ID NO:49所示序列的氨基酸的重链可变区,和包含具有SEQ ID NO:50所示序列的氨基酸的轻链可变区;(n)包含具有SEQ ID NO:53所示序列的氨基酸的重链可变区,和包含具有SEQ ID NO:54所示序列的氨基酸的轻链可变区;(o)包含具有SEQ ID NO:57所示序列的氨基酸的重链可变区,和包含具有SEQ ID NO:58所示序列的氨基酸的轻链可变区;(p)包含具有SEQ ID NO:61所示序列的氨基酸的重链可变区,和包含具有SEQ ID NO:62所示序列的氨基酸的轻链可变区;(q)包含具有SEQ ID NO:65所示序列的氨基酸的重链可变区,和包含具有SEQ ID NO:66所示序列的氨基酸的轻链可变区;(r)包含具有SEQ ID NO:69所示序列的氨基酸的重链可变区,和包含具有SEQ ID NO:70所示序列的氨基酸的轻链可变区;(s)包含具有SEQ ID NO:73所示序列的氨基酸的重链可变区,和包含具有SEQ ID NO:74所示序列的氨基酸的轻链可变区;(t)包含具有SEQ ID NO:77所示序列的氨基酸的重链可变区,和包含具有SEQ ID NO:78所示序列的氨基酸的轻链可变区;(u)包含具有SEQ ID NO:81所示序列的氨基酸的重链可变区,和包含具有SEQ ID NO:82所示序列的氨基酸的轻链可变区;(v)包含具有SEQ ID NO:85所示序列的氨基酸的重链可变区,和包含具有SEQ ID NO:86所示序列的氨基酸的轻链可变区;(w)包含具有SEQ ID NO:89所示序列的氨基酸的重链可变区,和包含具有SEQ ID NO:90所示序列的氨基酸的轻链可变区;(x)包含具有SEQ ID NO:93所示序列的氨基酸的重链可变区,和包含具有SEQ ID NO:94所示序列的氨基酸的轻链可变区,(y)包含具有SEQ ID NO:302所示序列的氨基酸的重链可变区,和包含具有SEQ ID NO:303所示序列的氨基酸的轻链可变区;(z)包含具有SEQ ID NO:314所示序列的氨基酸的重链可变区,和包含具有SEQ ID NO:315所示序列的氨基酸的轻链可变区;(aa)包含具有SEQ ID NO:326所示序列的氨基酸的重链可变区,和包含具有SEQ ID NO:327所示序列的氨基酸的轻链可变区;(ab)包含具有SEQ ID NO:338所示序列的氨基酸的重链可变区,和包含具有SEQ ID NO:339所示序列的氨基酸的轻链可变区;(ac)包含具有SEQ ID NO:350所示序列的氨基酸的重链可变区,和包含具有SEQ ID NO:351所示序列的氨基酸的轻链可变区;(ad)包含具有SEQ ID NO:362所示序列的氨基酸的重链可变区,和包含具有SEQ ID NO:363所示序列的氨基酸的轻链可变区;(ae)包含具有SEQ ID NO:374所示序列的氨基酸的重链可变区,和包含具有SEQ ID NO:375所示序列的氨基酸的轻链可变区;或(af)包含具有SEQ ID NO:386所示序列的氨基酸的重链可变区,和包含具有SEQ ID NO:387所示序列的氨基酸的轻链可变区。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:53所示序列的氨基酸的重链可变区;和包含具有SEQ ID NO:54所示序列的氨基酸的轻链可变区。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:57所示序列的氨基酸的重链可变区;和包含具有SEQ ID NO:58所示序列的氨基酸的轻链可变区。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:61所示序列的氨基酸的重链可变区;和包含具有SEQ ID NO:62所示序列的氨基酸的轻链可变区。在另一个实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:65所示序列的氨基酸的重链可变区;和包含具有SEQ ID NO:66所示序列

的氨基酸的轻链可变区。在又一个实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:69所示序列的氨基酸的重链可变区;和包含具有SEQ ID NO:70所示序列的氨基酸的轻链可变区。

[0018] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含所述重链和轻链两者,任选地具有在重链可变区和轻链可变区之间的接头序列,例如接头肽。例如,在某些非限制性实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:(i)包含具有SEQ ID NO:57所示序列的氨基酸的重链可变区和(ii)包含具有SEQ ID NO:58所示序列的氨基酸的轻链可变区,任选地具有(iii)在重链可变区和轻链可变区之间的接头序列,例如接头肽。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:(i)包含具有SEQ IDNO:61所示序列的氨基酸的重链可变区和(ii)包含具有SEQ ID NO:62所示序列的氨基酸的轻链可变区,任选地具有(iii)在重链可变区和轻链可变区之间的接头序列,例如接头肽。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:(i)包含具有SEQ ID NO:53所示序列的氨基酸的重链可变区和(ii)包含具有SEQ ID NO:54所示序列的氨基酸的轻链可变区,任选地具有(iii)在重链可变区和轻链可变区之间的接头序列,例如接头肽。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:(i)包含具有SEQ ID NO:61所示序列的氨基酸的重链可变区和(ii)包含具有SEQ ID NO:62所示序列的氨基酸的轻链可变区,任选地具有(iii)在重链可变区和轻链可变区之间的接头序列,例如接头肽。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:(i)包含具有SEQ ID NO:65所示序列的氨基酸的重链可变区和(ii)包含具有SEQ ID NO:66所示序列的氨基酸的轻链可变区,任选地具有(iii)在重链可变区和轻链可变区之间的接头序列,例如接头肽。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:(i)包含具有SEQ ID NO:69所示序列的氨基酸的重链可变区和(ii)包含具有SEQ ID NO:70所示序列的氨基酸的轻链可变区,任选地具有(iii)在重链可变区和轻链可变区之间的接头序列,例如接头肽。

[0019] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含(a)包含选自SEQ ID NO:126、132、138、144、150、156、162、168、174、180、186、192、198、204、210、216、222、228、234、240、246、252、258、264、306、318、330、342、354、366、378和390的氨基酸序列的重链可变区CDR3;和(b)包含选自SEQ ID NO:129、135、141、147、153、159、165、171、177、183、189、195、201、207、213、219、225、231、237、243、249、255、261、267、309、321、333、345、357、369、381和393的氨基酸序列的轻链可变区CDR3。

[0020] 在某些实施方式中,重链可变区CDR2包含选自SEQ ID NO:125、131、137、143、149、155、161、167、173、179、185、191、197、203、209、215、221、227、233、239、245、251、257、263、305、317、329、341、353、365、377和389的氨基酸序列及其保守修饰;并且(b)轻链可变区CDR2包含选自SEQ ID NO:128、134、140、146、152、158、164、170、176、182、188、194、200、206、212、218、224、230、236、242、248、254、260、266、308、320、332、344、356、368、380和392的氨基酸序列及其保守修饰。

[0021] 在某些实施方式中,重链可变区CDR1包含选自SEQ ID NO:124、130、136、142、148、154、160、166、172、178、184、190、196、202、208、214、220、226、232、238、244、250、256、262、304、316、328、340、352、364、376和388的氨基酸序列及其保守修饰;并且(b)轻链可变区CDR1包含选自127、133、139、145、151、157、163、169、175、181、187、193、199、205、211、217、223、229、235、241、247、253、259、265、307、319、331、343、355、367、379和391的氨基酸序列

及其保守修饰。

[0022] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:(a)包含选自SEQ ID NO:124、130、136、142、148、154、160、166、172、178、184、190、196、202、208、214、220、226、232、238、244、250、256、262、304、316、328、340、352、364、376和388的氨基酸序列的重链可变区CDR1;(b)包含选自SEQ ID NO:125、131、137、143、149、155、161、167、173、179、185、191、197、203、209、215、221、227、233、239、245、251、257、263、305、317、329、341、353、365、377和389的氨基酸序列的重链可变区CDR2;(c)包含选自SEQ ID NO:126、132、138、144、150、156、162、168、174、180、186、192、198、204、210、216、222、228、234、240、246、252、258、264、306、318、330、342、354、366、378和390的氨基酸序列的重链可变区CDR3;(d)包含选自127、133、139、145、151、157、163、169、175、181、187、193、199、205、211、217、223、229、235、241、247、253、259、265、307、319、331、343、355、367、379和391的氨基酸序列的轻链可变区CDR1;(e)包含选自SEQ ID NO:128、134、140、146、152、158、164、170、176、182、188、194、200、206、212、218、224、230、236、242、248、254、260、266、308、320、332、344、356、368、380和392的氨基酸序列的轻链可变区CDR2;和(f)包含选自SEQ ID NO:129、135、141、147、153、159、165、171、177、183、189、195、201、207、213、219、225、231、237、243、249、255、261、267、309、321、333、345、357、369、381和393的氨基酸序列的轻链可变区CDR3。

[0023] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含(a)包含具有SEQ ID NO:124所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:125所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:126所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR3;(b)包含具有SEQ ID NO:130所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:131所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:132所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR3;(c)包含具有SEQ ID NO:136所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:137所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:138所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR3;(d)包含具有SEQ ID NO:142所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:143所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:144所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR3;(e)包含具有SEQ ID NO:148所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:149所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:150所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR3;(f)包含具有SEQ ID NO:154所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:155所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:156所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR3;(g)包含具有SEQ ID NO:160所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:161所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:162所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR3;(h)包含具有SEQ ID NO:166所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:167所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:168所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR3;(i)包含具有SEQ ID NO:172所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:

173所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:174所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR3;(j)包含具有SEQ ID NO:178所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:179所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:180所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR3;(k)包含具有SEQ ID NO:184所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:185所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:186所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR3;(l)包含具有SEQ ID NO:190所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:191所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:192所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR3;(m)包含具有SEQ ID NO:196所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:197所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:198所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR3;(n)包含具有SEQ ID NO:202所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:203所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:204所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR3;(o)包含具有SEQ ID NO:208所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:209所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:210所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR3;(p)包含具有SEQ ID NO:214所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:215所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:216所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR3;(q)包含具有SEQ ID NO:220所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:221所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:222所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR3;(r)包含具有SEQ ID NO:226所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:227所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:228所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR3;(s)包含具有SEQ ID NO:232所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:233所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:234所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR3;(t)包含具有SEQ ID NO:238所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:239所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:240所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR3;(u)包含具有SEQ ID NO:244所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:245所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:246所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR3;(v)包含具有SEQ ID NO:250所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:251所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:252所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR3;(w)包含具有SEQ ID NO:256所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:257所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:258所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR3;(x)包含具有SEQ

ID NO:262所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:263所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:264所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR3;(y)包含具有SEQ ID NO:304所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:305所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:306所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR3;(z)包含具有SEQ ID NO:316所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:317所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:318所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR3;(aa)包含具有SEQ ID NO:328所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:329所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:330所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR3;(ab)包含具有SEQ ID NO:340所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:341所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:342所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR3;(ac)包含具有SEQ ID NO:352所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:353所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:354所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR3;(ad)包含具有SEQ ID NO:364所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:365所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:366所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR3;(ae)包含具有SEQ ID NO:376所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:377所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:378所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR3;或(af)包含具有SEQ ID NO:388所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:389所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:390所示序列或其保守修饰的氨基酸的重链可变区CDR3。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:202所示序列的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:203所示序列的氨基酸的重链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:204所示序列的氨基酸的重链可变区CDR3。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:208所示序列的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:209所示序列的氨基酸的重链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:210所示序列的氨基酸的重链可变区CDR3。在另一个非限制性实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:214所示序列的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:215所示序列的氨基酸的重链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:216所示序列的氨基酸的重链可变区CDR3。在又一个非限制性实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:220所示序列的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:221所示序列的氨基酸的重链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:222所示序列的氨基酸的重链可变区CDR3。在另一个实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:226所示序列的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:227所示序列的氨基酸的重链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:228所示序列的氨基酸的重链可变区CDR3。

[0024] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:(a)包含具有SEQ ID NO:127所

示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:129所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:130所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR3;(b)包含具有SEQ ID NO:133所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:134所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含SEQ ID NO:135或其保守修饰的轻链可变区CDR3;(c)包含具有SEQ ID NO:139所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:140所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:141所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR3;(d)包含具有SEQ ID NO:145所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含SEQ ID NO:146或其保守修饰的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:147所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR3;(e)包含具有SEQ ID NO:151所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:152所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:153所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR3;(f)包含具有SEQ ID NO:157所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:158所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:159所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR3;(g)包含具有SEQ ID NO:163所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:164所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:165所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR3;(h)包含具有SEQ ID NO:169所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:170所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含SEQ ID NO:171或其保守修饰的轻链可变区CDR3;(i)包含具有SEQ ID NO:175所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:176所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:177所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR3;(j)包含具有SEQ ID NO:181所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:182所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:183所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR3;(k)包含具有SEQ ID NO:187所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:188所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:189所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR3;(l)包含具有SEQ ID NO:193所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:194所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:195所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR3;(m)包含具有SEQ ID NO:199所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:200所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:201所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR3;(n)包含具有SEQ ID NO:205所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:206所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:207所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR3;(o)包含具有SEQ ID NO:211所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:212所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:213所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR3;(p)包含具有SEQ

ID NO:217所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:218所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:219所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR3;(q)包含具有SEQ ID NO:223所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:224所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:225所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR3;(r)包含具有SEQ ID NO:229所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:230所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:231所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR3;(s)包含具有SEQ ID NO:235所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:236所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:237所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR3;(t)包含具有SEQ ID NO:241所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:242所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:243所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR3;(u)包含具有SEQ ID NO:247所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:248所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:249所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR3;(v)包含具有SEQ ID NO:253所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:254所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:255所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR3;(w)包含具有SEQ ID NO:259所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:260所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:261所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR3;(x)包含具有SEQ ID NO:265所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:266所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:267所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR3;(y)包含具有SEQ ID NO:307所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:308所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:309所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR3;(z)包含具有SEQ ID NO:319所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:320所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:321所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR3;(aa)包含具有SEQ ID NO:331所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:332所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:333所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR3;(ab)包含具有SEQ ID NO:343所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:344所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:345所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR3;(ac)包含具有SEQ ID NO:355所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:356所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:357所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR3;(ad)包含具有SEQ ID NO:367所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:368所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含

具有SEQ ID NO:369所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR3;(ae)包含具有SEQ ID NO:379所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:380所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:381所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR3;或(af)包含具有SEQ ID NO:391所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:392所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:393所示序列或其保守修饰的氨基酸的轻链可变区CDR3。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:205所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:206所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:207所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR3。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:211所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:212所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:213所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR3。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:217所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:218所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:219所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR3。在另一个非限制性实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:223所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:224所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:225所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR3。在又一个非限制性实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:229所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:230所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:231所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR3。

[0025] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:(a)包含具有SEQ ID NO:124所示序列的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:125所示序列的氨基酸的重链可变区CDR2;包含具有SEQ ID NO:126所示序列的氨基酸的重链可变区CDR3;包含具有SEQ ID NO:127所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:128所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:129所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR3;(b)包含具有SEQ ID NO:130所示序列的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:131所示序列的氨基酸的重链可变区CDR2;包含具有SEQ ID NO:132所示序列的氨基酸的重链可变区CDR3;包含具有SEQ ID NO:133所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:134所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:135所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR3;(c)包含具有SEQ ID NO:136所示序列的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:137所示序列的氨基酸的重链可变区CDR2;包含具有SEQ ID NO:138所示序列的氨基酸的重链可变区CDR3;包含具有SEQ ID NO:139所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:140所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:141所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR3;(d)包含具有SEQ ID NO:142所示序列的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:143所示序列的氨基酸的重链可变区CDR2;包含具有SEQ ID NO:144所示序列的氨基酸的重链可变区CDR3;包含具有SEQ ID NO:145所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:146所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:147所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR3;(e)包含具有SEQ ID NO:148所示序列的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:149所示序列的

氨基酸的重链可变区CDR2;包含具有SEQ ID NO:150所示序列的氨基酸的重链可变区CDR3;包含具有SEQ ID NO:151所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:152所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:153所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR3;(f)包含具有SEQ ID NO:154所示序列的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:155所示序列的氨基酸的重链可变区CDR2;包含具有SEQ ID NO:156所示序列的氨基酸的重链可变区CDR3;包含具有SEQ ID NO:157所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:158所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:159所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR3;(g)包含具有SEQ ID NO:160所示序列的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:161所示序列的氨基酸的重链可变区CDR2;包含具有SEQ ID NO:162所示序列的氨基酸的重链可变区CDR3;包含具有SEQ ID NO:163所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:164所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:165所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR3;(h)包含具有SEQ ID NO:166所示序列的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:167所示序列的氨基酸的重链可变区CDR2;包含具有SEQ ID NO:168所示序列的氨基酸的重链可变区CDR3;包含具有SEQ ID NO:169所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:170所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:171所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR3;(i)包含具有SEQ ID NO:172所示序列的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:173所示序列的氨基酸的重链可变区CDR2;包含具有SEQ ID NO:174所示序列的氨基酸的重链可变区CDR3;包含具有SEQ ID NO:175所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:176所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:177所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR3;(j)包含具有SEQ ID NO:178所示序列的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:179所示序列的氨基酸的重链可变区CDR2;包含具有SEQ ID NO:180所示序列的氨基酸的重链可变区CDR3;包含具有SEQ ID NO:181所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:182所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:183所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR3;(k)包含具有SEQ ID NO:184所示序列的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:185所示序列的氨基酸的重链可变区CDR2;包含具有SEQ ID NO:186所示序列的氨基酸的重链可变区CDR3;包含具有SEQ ID NO:187所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:188所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:189所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR3;(l)包含具有SEQ ID NO:190所示序列的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:191所示序列的氨基酸的重链可变区CDR2;包含具有SEQ ID NO:192所示序列的氨基酸的重链可变区CDR3;包含具有SEQ ID NO:193所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:194所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:195所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR3;(m)包含具有SEQ ID NO:196所示序列的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:197所示序列的氨基酸的重链可变区CDR2;包含具有SEQ ID NO:198所示序列的氨基酸的重链可变区CDR3;包含具有SEQ ID NO:199所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:200所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:201所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR3;(n)包含具有SEQ ID NO:202所示序列的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:203所示序列的氨基酸的重链可变区CDR2;

包含具有SEQ ID NO:204所示序列的氨基酸的重链可变区CDR3;包含具有SEQ ID NO:205所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:206所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:207所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR3;(o)包含具有SEQ ID NO:208所示序列的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:209所示序列的氨基酸的重链可变区CDR2;包含具有SEQ ID NO:210所示序列的氨基酸的重链可变区CDR3;包含具有SEQ ID NO:211所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:212所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:213所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR3;(p)包含具有SEQ ID NO:214所示序列的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:215所示序列的氨基酸的重链可变区CDR2;包含具有SEQ ID NO:216所示序列的氨基酸的重链可变区CDR3;包含具有SEQ ID NO:217所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:218所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:219所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR3;(q)包含具有SEQ ID NO:220所示序列的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:221所示序列的氨基酸的重链可变区CDR2;包含具有SEQ ID NO:222所示序列的氨基酸的重链可变区CDR3;包含具有SEQ ID NO:223所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:224所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:225所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR3;(r)包含具有SEQ ID NO:226所示序列的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:227所示序列的氨基酸的重链可变区CDR2;包含具有SEQ ID NO:228所示序列的氨基酸的重链可变区CDR3;包含具有SEQ ID NO:229所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:230所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:231所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR3;(s)包含具有SEQ ID NO:232所示序列的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:233所示序列的氨基酸的重链可变区CDR2;包含具有SEQ ID NO:234所示序列的氨基酸的重链可变区CDR3;包含具有SEQ ID NO:235所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:236所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:237所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR3;(t)包含具有SEQ ID NO:238所示序列的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:239所示序列的氨基酸的重链可变区CDR2;包含具有SEQ ID NO:240所示序列的氨基酸的重链可变区CDR3;包含具有SEQ ID NO:241所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:242所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:243所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR3;(u)包含具有SEQ ID NO:244所示序列的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:245所示序列的氨基酸的重链可变区CDR2;包含具有SEQ ID NO:246所示序列的氨基酸的重链可变区CDR3;包含具有SEQ ID NO:247所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:248所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:249所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR3;(v)包含具有SEQ ID NO:250所示序列的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:251所示序列的氨基酸的重链可变区CDR2;包含具有SEQ ID NO:252所示序列的氨基酸的重链可变区CDR3;包含具有SEQ ID NO:253所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:254所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:255所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR3;(w)包含具有SEQ ID NO:256所示序列的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:257所示序列的氨基酸的重链可变区CDR2;包含具有SEQ ID NO:258所

示序列的氨基酸的重链可变区CDR3;包含具有SEQ ID NO:259所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:260所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:261所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR3;(x)包含具有SEQ ID NO:262所示序列的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:263所示序列的氨基酸的重链可变区CDR2;包含具有SEQ ID NO:264所示序列的氨基酸的重链可变区CDR3;包含具有SEQ ID NO:265所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:266所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:267所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR3;(y)包含具有SEQ ID NO:304所示序列的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:305所示序列的氨基酸的重链可变区CDR2;包含具有SEQ ID NO:306所示序列的氨基酸的重链可变区CDR3;包含具有SEQ ID NO:307所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:308所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:309所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR3;(z)包含具有SEQ ID NO:316所示序列的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:317所示序列的氨基酸的重链可变区CDR2;包含具有SEQ ID NO:318所示序列的氨基酸的重链可变区CDR3;包含具有SEQ ID NO:319所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:320所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:321所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR3;(aa)包含具有SEQ ID NO:328所示序列的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:329所示序列的氨基酸的重链可变区CDR2;包含具有SEQ ID NO:330所示序列的氨基酸的重链可变区CDR3;包含具有SEQ ID NO:331所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:332所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:333所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR3;(ab)包含具有SEQ ID NO:340所示序列的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:341所示序列的氨基酸的重链可变区CDR2;包含具有SEQ ID NO:342所示序列的氨基酸的重链可变区CDR3;包含具有SEQ ID NO:343所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:344所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:345所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR3;(ac)包含具有SEQ ID NO:352所示序列的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:353所示序列的氨基酸的重链可变区CDR2;包含具有SEQ ID NO:354所示序列的氨基酸的重链可变区CDR3;包含具有SEQ ID NO:355所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:356所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:357所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR3;(ad)包含具有SEQ ID NO:364所示序列的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:365所示序列的氨基酸的重链可变区CDR2;包含具有SEQ ID NO:366所示序列的氨基酸的重链可变区CDR3;包含具有SEQ ID NO:367所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:368所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:369所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR3;(ae)包含具有SEQ ID NO:376所示序列的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:377所示序列的氨基酸的重链可变区CDR2;包含具有SEQ ID NO:378所示序列的氨基酸的重链可变区CDR3;包含具有SEQ ID NO:379所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:380所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:381所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR3;或(af)包含具有SEQ ID NO:388所示序列的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:389所示序列的氨基酸的重链可变区CDR2;包含具有SEQ ID NO:390所示序列的氨基酸的重

链可变区CDR3;包含具有SEQ ID NO:391所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:392所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:393所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR3。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:202所示序列的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:203所示序列的氨基酸的重链可变区CDR2;包含具有SEQ ID NO:204所示序列的氨基酸的重链可变区CDR3;包含具有SEQ ID NO:205所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:206所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:207所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR3。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:208所示序列的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:209所示序列的氨基酸的重链可变区CDR2;包含具有SEQ ID NO:210所示序列的氨基酸的重链可变区CDR3;包含具有SEQ ID NO:211所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:212所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:213所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR3。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:214所示序列的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:215所示序列的氨基酸的重链可变区CDR2;包含具有SEQ ID NO:216所示序列的氨基酸的重链可变区CDR3;包含具有SEQ ID NO:217所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:218所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:219所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR3。在另一个非限制性实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:220所示序列的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:221所示序列的氨基酸的重链可变区CDR2;包含具有SEQ ID NO:222所示序列的氨基酸的重链可变区CDR3;包含具有SEQ ID NO:223所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:224所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:225所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR3。在又一个非限制性实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:226所示序列的氨基酸的重链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:227所示序列的氨基酸的重链可变区CDR2;包含具有SEQ ID NO:228所示序列的氨基酸的重链可变区CDR3;包含具有SEQ ID NO:229所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含具有SEQ ID NO:230所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含具有SEQ ID NO:231所示序列的氨基酸的轻链可变区CDR3。在某些实施方式中,人scFv包含重链可变区、轻链可变区、重链可变区和轻链可变区之间的接头肽,以及His-标签和HA-标签。在某些实施方式中,His-标签和HA-标签的氨基酸序列包含SEQ ID NO:275的氨基酸序列,其提供如下:

[0026] TSGQAGQHHHHHHGAYPYDVPDYAS [SEQ ID NO: 275]

[0027] 编码SEQ ID NO:275的核苷酸序列是SEQ ID NO:276,其提供如下:

[0028] ACTAGTGGCCAGGCCGGCCAGCACCATCACCATCACCATGGCGCAT ACCCGTACGACGTTCCGGACTACGCTTCT [SEQ ID NO: 276]

[0029] 在某些实施方式中,GPRC5D包含SEQ ID NO:97所示的氨基酸序列。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域结合一个、两个、三个或四个选自下述的表位区域:包含SEQ ID NO:97的氨基酸1-27的N-端区域中的表位区域、包含SEQ ID NO:97的氨基酸85-93的ECL1区域中的表位区域、包含SEQ ID NO:97的氨基酸145-167的ECL2区域中的表位区域、和

包含SEQ ID NO:97的氨基酸226-239的ECL3区中域的表位区域。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域结合包含SEQ ID NO:97的氨基酸16-23的表位区域。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域结合包含SEQ ID NO:97的氨基酸15-23的表位区域。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域结合包含SEQ ID NO:97的氨基酸16-25的表位区域。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域结合包含SEQ ID NO:97的氨基酸10-17的表位区域。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域结合包含SEQ ID NO:97的氨基酸5-17的表位区域。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域结合包含SEQ ID NO:97的氨基酸85-95的表位区域。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域结合包含SEQ ID NO:97的氨基酸157-164的表位区域。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域结合包含SEQ ID NO:97的氨基酸157-167的表位区域。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域结合包含SEQ ID NO:97的氨基酸230-237的表位区域。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域结合包含SEQ ID NO:97的氨基酸229-237的表位区域。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域结合包含SEQ ID NO:97的氨基酸230-243的表位区域。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域结合包含SEQ ID NO:97的氨基酸227-237的表位区域。

[0030] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域结合一个、两个或三个选自下述的表位区域:包含SEQ ID NO:97的氨基酸16-25的表位区域、包含SEQ ID NO:97的氨基酸157-164的表位区域和包含SEQ ID NO:97的氨基酸229-237的表位区域。例如,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:57所示序列的氨基酸的重链可变区和包含具有SEQ ID NO:58所示序列的氨基酸的轻链可变区。例如,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:208所示序列的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:209所示序列的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:210所示序列的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:211所示序列的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:212所示序列的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:213所示序列的氨基酸的V_L CDR3。

[0031] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域结合一个、两个或三个选自下述的表位区域:包含SEQ ID NO:97的氨基酸5-17的表位区域、包含SEQ ID NO:97的氨基酸85-95的表位区域、和包含SEQ ID NO:97的氨基酸157-164的表位区域。例如,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:61所示序列的氨基酸的重链可变区和包含具有SEQ ID NO:62所示序列的氨基酸的轻链可变区。例如,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:214所示序列的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:215所示序列的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:216所示序列的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:217所示序列的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:218所示序列的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:219所示序列的氨基酸的V_L CDR3。

[0032] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域结合一个或两个选自包含SEQ ID NO:97的氨基酸15-23的表位区域以及包含SEQ ID NO:97的氨基酸230-243的表位区域中的表位区域。例如,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:65所示序列的氨基酸的重链可变区和包含具有SEQ ID NO:66所示序列的氨基酸的轻链可变区。例如,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:220所示序列的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:221所示序列的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:222所示序列的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:223所示序列的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:224所示

序列的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:225所示序列的氨基酸的V_L CDR3。

[0033] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域结合一个、两个或三个选自包含SEQ ID NO:97的氨基酸10-17的表位区域、包含SEQ ID NO:97的氨基酸157-167的表位区域、和包含SEQ ID NO:97的氨基酸227-237的表位区域中的表位区域。例如,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:69所示序列的氨基酸的重链可变区和包含具有SEQ ID NO:70所示序列的氨基酸的轻链可变区。例如,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:226所示序列的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:227所示序列的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:228所示序列的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:229所示序列的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:230所示序列的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:231所示序列的氨基酸的V_L CDR3。

[0034] 根据本发明公开的主题,将细胞外抗原结合结构域共价结合至跨膜结构域。细胞外抗原结合结构域可以包含共价结合至细胞外抗原结合结构域的5'端的信号肽。在某些实施方式中,CAR的跨膜结构域包含CD8多肽、CD28多肽、CD3ζ多肽、CD4多肽、4-1BB多肽、OX40多肽、ICOS多肽、CTLA-4多肽、PD-1多肽、LAG-3多肽、2B4多肽、BTLA多肽、合成肽(非基于与免疫应答相关的蛋白质)、或其组合。在某些实施方式中,跨膜结构域包含CD8多肽。在某些实施方式中,跨膜结构域包含CD28多肽。

[0035] 根据本发明公开的主题,细胞内结构域包含CD3ζ多肽。在某些实施方式中,细胞内结构域还包含至少一个信号传导区。在某些实施方式中,所述至少一个信号传导区包含CD28多肽、4-1BB多肽、OX40多肽、ICOS多肽、DAP-10多肽、PD-1多肽、CTLA-4多肽、LAG-3多肽、2B4多肽、BTLA多肽、合成肽(非基于与免疫应答相关的蛋白质)、或其组合。在某些实施方式中,信号传导区是共刺激信号传导区。在某些实施方式中,共刺激信号传导区包含CD28多肽、4-1BB多肽、OX40多肽、ICOS多肽、DAP-10多肽、或其组合。在某些实施方式中,所述至少一个共刺激信号传导区包含CD28多肽。在某些实施方式中,所述至少一个共刺激信号传导区包含4-1BB多肽。在某些实施方式中,跨膜结构域包含CD28多肽,细胞内结构域包含CD3ζ多肽,并且共刺激信号传导结构域包含CD28多肽。

[0036] 在某些实施方式中,CAR是重组表达的。CAR可以由载体表达。在某些实施方式中,载体是γ-逆转录病毒载体。

[0037] 本发明公开的主题还提供包含上述CAR的分离的免疫应答细胞。在某些实施方式中,用CAR转导分离的免疫应答细胞,例如,CAR在免疫应答细胞的表面上组成型表达。在某些实施方式中,用至少一种共刺激配体进一步转导分离的免疫应答细胞使得免疫应答细胞表达该至少一种共刺激配体。在某些实施方式中,至少一种共刺激配体选自4-1BBL、CD80、CD86、CD70、OX40L、CD48、TNFRSF14、及其组合。在某些实施方式中,用至少一种细胞因子进一步转导分离的免疫应答细胞使得免疫应答细胞分泌该至少一种细胞因子。在某些实施方式中,至少的细胞因子选自IL-2、IL-3、IL-6、IL-7、IL-11、IL-12、IL-15、IL-17、IL-21、及其组合。在一些实施方式中,分离的免疫应答细胞选自T细胞、自然杀伤(NK)细胞、细胞毒性T淋巴细胞(CTL)、调节性T细胞、人胚胎干细胞、淋巴样祖细胞、T细胞前体细胞和可分化成淋巴样细胞的多能干细胞。在某些实施方式中,免疫应答细胞是T细胞。

[0038] 本发明公开的主题还提供编码本发明公开的CAR的核酸分子、包含该核酸分子的载体、和表达此类核酸分子的宿主细胞。在某些实施方式中,核酸分子包含具有SEQ ID NO:

397所示序列的核酸。在某些实施方式中,核酸分子包含具有SEQ ID NO:398所示序列的核酸。在某些实施方式中,核酸分子包含具有SEQ ID NO:399所示序列的核酸。在某些实施方式中,核酸分子包含具有SEQ ID NO:400所示序列的核酸。在某些实施方式中,核酸分子包含具有SEQ ID NO:401所示序列的核酸。在某些实施方式中,核酸分子包含具有SEQ ID NO:402所示序列的核酸。在某些实施方式中,核酸分子包含具有SEQ ID NO:403所示序列的核酸。在某些实施方式中,核酸分子包含具有SEQ ID NO:406所示序列的核酸。在某些实施方式中,核酸分子包含具有SEQ ID NO:407所示序列的核酸。在某些实施方式中,核酸分子包含具有SEQ ID NO:408所示序列的核酸。在某些实施方式中,载体是γ-逆转录病毒载体。在某些实施方式中,宿主细胞是T细胞。

[0039] 此外,本发明公开的主题提供使用上述免疫应答细胞用于减少受试者的肿瘤负荷的方法。例如,本发明公开的主题提供减少受试者的肿瘤负荷的治疗方法,其中该方法包括将有效量的本发明公开的免疫应答细胞施用于受试者,从而诱导受试者的肿瘤细胞死亡。在某些实施方式中,该方法减少肿瘤细胞的数目。在另一个实施方式中,该方法减少肿瘤尺寸。在又一个实施方式中,该方法根除受试者中的肿瘤。在某些实施方式中,受试者是人。在某些实施方式中,免疫应答细胞是T细胞。在某些实施方式中,肿瘤是多发性骨髓瘤或瓦氏巨球蛋白血症(Waldenstrom's Macroglobulinemia)。在某些实施方式中,肿瘤是多发性骨髓瘤。

[0040] 此外,本发明公开的主题提供使用上述免疫应答细胞用于增加或延长患有瘤形成(neoplasia)的受试者的存活的方法。例如,本发明公开的主题提供增加或延长患有瘤形成的受试者的存活的方法,其中该方法包括将有效量的本发明公开的免疫应答细胞施用于受试者,从而增加或延长受试者的存活。在某些实施方式中,瘤形成是多发性骨髓瘤或瓦氏巨球蛋白血症。在某些实施方式中,瘤形成是多发性骨髓瘤。在某些实施方式中,该方法减少或根除受试者的肿瘤负荷。

[0041] 本发明公开的主题还提供用于产生结合G-蛋白偶联受体的免疫应答细胞的方法。在一个非限制性实例中,该方法包括将编码嵌合抗原受体(CAR)的核酸序列引入免疫应答细胞,该嵌合抗原受体(CAR)包含细胞外抗原结合结构域、跨膜结构域和细胞内结构域,其中细胞外抗原结合结构域特异性地结合G-蛋白偶联受体。在某些实施方式中,G-蛋白偶联受体是G-蛋白偶联受体C家族5组D成员(GPRC5D)。在具体的非限制性实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv。

[0042] 本发明公开的主题还提供包含有效量的本发明公开的免疫应答细胞和药学上可接受的赋形剂的药物组合物。在某些实施方式中,药物组合物用于治疗瘤形成。在某些实施方式中,瘤形成是多发性骨髓瘤或瓦氏巨球蛋白血症。在某些实施方式中,瘤形成是多发性骨髓瘤。

[0043] 本发明公开的主题还提供包含本发明公开的免疫应答细胞的用于治疗瘤形成的试剂盒。在某些实施方式中,试剂盒还包括使用免疫应答细胞用于治疗瘤形成的书面说明书。在某些实施方式中,瘤形成是多发性骨髓瘤或瓦氏巨球蛋白血症。在某些实施方式中,瘤形成是多发性骨髓瘤。

[0044] 1.一种嵌合抗原受体(CAR),其包含细胞外抗原结合结构域、跨膜结构域和细胞内结构域,其中所述细胞外抗原结合结构域特异性地结合G-蛋白偶联受体。

[0045] 2.根据实施方式1所述的CAR,其中所述G蛋白受体是G-蛋白偶联受体C家族5组D成员(GPRC5D)。

[0046] 3.根据实施方式2所述的CAR,其中所述CAR的所述细胞外抗原结合结构域以约1×10^{-9}M至约3×10^{-6}M的结合亲和力(K_d)结合GPRC5D。

[0047] 4.根据实施方式1所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域是单链可变片段(scFv)。

[0048] 5.根据实施方式4所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域是鼠scFv。

[0049] 6.根据实施方式4所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域是人scFv。

[0050] 7.根据实施方式1所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域是任选交联的Fab。

[0051] 8.根据实施方式1所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域是$F(ab)_2$。

[0052] 9.根据实施方式2-8中任一项所述的CAR,所述scFv、Fab和$F(ab)_2$中的一个或多个与异源序列包含在融合蛋白中以形成所述细胞外抗原结合结构域。

[0053] 10.根据实施方式1-9中任一项所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含重链可变区,所述重链可变区含有与选自SEQ ID NO:1、5、9、13、17、21、25、29、33、37、41、45、49、53、57、61、65、69、73、77、81、85、89、93、302、314、326、338、350、362、374和386的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列。

[0054] 11.根据实施方式1-10中任一项所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:含有选自SEQ ID NO:1、5、9、13、17、21、25、29、33、37、41、45、49、53、57、61、65、69、73、77、81、85、89、93、302、314、326、338、350、362、374和386的氨基酸序列及其保守修饰的重链可变区。

[0055] 12.根据实施方式1-11中任一项所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:含有序列选自SEQ ID NO:1、5、9、13、17、21、25、29、33、37、41、45、49、53、57、61、65、69、73、77、81、85、89、93、302、314、326、338、350、362、374和386的氨基酸的重链可变区。

[0056] 13.根据实施方式12所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含重链可变区,所述重链可变区包含序列如SEQ ID NO:53所示的氨基酸。

[0057] 14.根据实施方式12所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含重链可变区,所述重链可变区包含序列如SEQ ID NO:57所示的氨基酸。

[0058] 15.根据实施方式12所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含重链可变区,所述重链可变区包含序列如SEQ ID NO:61所示的氨基酸。

[0059] 16.根据实施方式12所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含重链可变区,所述重链可变区包含序列如SEQ ID NO:65所示的氨基酸。

[0060] 17.根据实施方式12所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含重链可变区,所述重链可变区包含序列如SEQ ID NO:69所示的氨基酸。

[0061] 18.根据实施方式1-17中任一项所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含轻链可变区,所述轻链可变区含有与选自SEQ ID NO:2、6、10、14、18、22、26、30、34、38、42、46、50、54、58、62、66、70、74、78、82、86、90、94、303、315、327、339、351、363、375和387的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约

89％、约90％、约91％、约92％、约93％、约94％、约95％、约96％、约97％、约98％或约99％同源的氨基酸序列。

[0062] 19.根据实施方式1-18中任一项所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:含有选自SEQ ID NO:2、6、10、14、18、22、26、30、34、38、42、46、50、54、58、62、66、70、74、78、82、86、90、94、303、315、327、339、351、363、375和387的氨基酸序列及其保守修饰的轻链可变区。

[0063] 20.根据实施方式1-19中任一项所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:含有序列选自SEQ ID NO:2、6、10、14、18、22、26、30、34、38、42、46、50、54、58、62、66、70、74、78、82、86、90、94、303、315、327、339、351、363、375和387的氨基酸的轻链可变区。

[0064] 21.根据实施方式20所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含轻链可变区,所述轻链可变区包含序列如SEQ ID NO:54所示的氨基酸。

[0065] 22.根据实施方式20所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含轻链可变区,所述轻链可变区包含序列如SEQ ID NO:58所示的氨基酸。

[0066] 23.根据实施方式20所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含轻链可变区,所述轻链可变区包含序列如SEQ ID NO:62所示的氨基酸。

[0067] 24.根据实施方式20所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含轻链可变区,所述轻链可变区包含序列如SEQ ID NO:66所示的氨基酸。

[0068] 25.根据实施方式20所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含轻链可变区,所述轻链可变区包含序列如SEQ ID NO:70所示的氨基酸。

[0069] 26.根据实施方式1-25中任一项所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:(a)含有与选自SEQ ID NO:1、5、9、13、17、21、25、29、33、37、41、45、49、53、57、61、65、69、73、77、81、85、89、93、302、314、326、338、350、362、374和386的氨基酸序列至少约80％、约81％、约82％、约83％、约84％、约85％、约86％、约87％、约88％、约89％、约90％、约91％、约92％、约93％、约94％、约95％、约96％、约97％、约98％或约99％同源的氨基酸序列的重链可变区;和(b)含有与选自SEQ ID NO:2、6、10、14、18、22、26、30、34、38、42、46、50、54、58、62、66、70、74、78、82、86、90、94、303、315、327、339、351、363、375和387的氨基酸序列至少约80％、约81％、约82％、约83％、约84％、约85％、约86％、约87％、约88％、约89％、约90％、约91％、约92％、约93％、约94％、约95％、约96％、约97％、约98％或约99％同源的氨基酸序列的轻链可变区。

[0070] 27.根据实施方式1-26中任一项所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:(a)含有选自SEQ ID NO:1、5、9、13、17、21、25、29、33、37、41、45、49、53、57、61、65、69、73、77、81、85、89、93、302、314、326、338、350、362、374和386的氨基酸序列及其保守修饰的重链可变区,和(b)含有选自SEQ ID NO:2、6、10、14、18、22、26、30、34、38、42、46、50、54、58、62、66、70、74、78、82、86、90、94、303、315、327、339、351、363、375和387的氨基酸序列及其保守修饰的轻链可变区。

[0071] 28.根据实施方式1-27中任一项所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:(a)包含序列选自SEQ ID NO:1、5、9、13、17、21、25、29、33、37、41、45、49、53、57、61、65、69、73、77、81、85、89、93、302、314、326、338、350、362、374和386的氨基酸的重链可变区;和(b)包含序列选自SEQ ID NO:2、6、10、14、18、22、26、30、34、38、42、46、50、54、58、62、66、70、

74、78、82、86、90、94、303、315、327、339、351、363、375和387的氨基酸的轻链可变区。

[0072] 29.根据实施方式28所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:

[0073] (a)包含序列如SEQ ID NO:1所示的氨基酸的重链可变区和包含序列如SEQ ID NO:2所示的氨基酸的轻链可变区;

[0074] (b)包含序列如SEQ ID NO:5所示的氨基酸的重链可变区和包含序列如SEQ ID NO:6所示的氨基酸的轻链可变区;

[0075] (c)包含序列如SEQ ID NO:9所示的氨基酸的重链可变区和包含序列如SEQ ID NO:10所示的氨基酸的轻链可变区;

[0076] (d)包含序列如SEQ ID NO:13所示的氨基酸的重链可变区和包含序列如SEQ ID NO:14所示的氨基酸的轻链可变区;

[0077] (e)包含序列如SEQ ID NO:17所示的氨基酸的重链可变区和包含序列如SEQ ID NO:18所示的氨基酸的轻链可变区;

[0078] (f)包含序列如SEQ ID NO:21所示的氨基酸的重链可变区和包含序列如SEQ ID NO:22所示的氨基酸的轻链可变区;

[0079] (g)包含序列如SEQ ID NO:25所示的氨基酸的重链可变区和包含序列如SEQ ID NO:26所示的氨基酸的轻链可变区;

[0080] (h)包含序列如SEQ ID NO:29所示的氨基酸的重链可变区和包含序列如SEQ ID NO:30所示的氨基酸的轻链可变区;

[0081] (i)包含序列如SEQ ID NO:33所示的氨基酸的重链可变区和包含序列如SEQ ID NO:34所示的氨基酸的轻链可变区;

[0082] (j)包含序列如SEQ ID NO:37所示的氨基酸的重链可变区和包含序列如SEQ ID NO:38所示的氨基酸的轻链可变区;

[0083] (k)包含序列如SEQ ID NO:41所示的氨基酸的重链可变区和包含序列如SEQ ID NO:42所示的氨基酸的轻链可变区;

[0084] (l)包含序列如SEQ ID NO:45所示的氨基酸的重链可变区和包含序列如SEQ ID NO:46所示的氨基酸的轻链可变区;

[0085] (m)包含序列如SEQ ID NO:49所示的氨基酸的重链可变区和包含序列如SEQ ID NO:50所示的氨基酸的轻链可变区;

[0086] (n)包含序列如SEQ ID NO:53所示的氨基酸的重链可变区和包含序列如SEQ ID NO:54所示的氨基酸的轻链可变区;

[0087] (o)包含序列如SEQ ID NO:57所示的氨基酸的重链可变区和包含序列如SEQ ID NO:58所示的氨基酸的轻链可变区;

[0088] (p)包含序列如SEQ ID NO:61所示的氨基酸的重链可变区和包含序列如SEQ ID NO:62所示的氨基酸的轻链可变区;

[0089] (q)包含序列如SEQ ID NO:65所示的氨基酸的重链可变区和包含序列如SEQ ID NO:66所示的氨基酸的轻链可变区;

[0090] (r)包含序列如SEQ ID NO:69所示的氨基酸的重链可变区和包含序列如SEQ ID NO:70所示的氨基酸的轻链可变区;

[0091] (s)包含序列如SEQ ID NO:73所示的氨基酸的重链可变区和包含序列如SEQ ID

NO:74所示的氨基酸的轻链可变区;

[0092] (t)包含序列如SEQ ID NO:77所示的氨基酸的重链可变区和包含序列如SEQ ID NO:78所示的氨基酸的轻链可变区;

[0093] (u)包含序列如SEQ ID NO:81所示的氨基酸的重链可变区和包含序列如SEQ ID NO:82所示的氨基酸的轻链可变区;

[0094] (v)包含序列如SEQ ID NO:85所示的氨基酸的重链可变区和包含序列如SEQ ID NO:86所示的氨基酸的轻链可变区;

[0095] (w)包含序列如SEQ ID NO:89所示的氨基酸的重链可变区和包含序列如SEQ ID NO:90所示的氨基酸的轻链可变区;

[0096] (x)包含序列如SEQ ID NO:93所示的氨基酸的重链可变区和包含序列如SEQ ID NO:94所示的氨基酸的轻链可变区;

[0097] (y)包含序列如SEQ ID NO:302所示的氨基酸的重链可变区和包含序列如SEQ ID NO:303所示的氨基酸的轻链可变区;

[0098] (z)包含序列如SEQ ID NO:314所示的氨基酸的重链可变区和包含序列如SEQ ID NO:315所示的氨基酸的轻链可变区;

[0099] (aa)包含序列如SEQ ID NO:326所示的氨基酸的重链可变区和包含序列如SEQ ID NO:327所示的氨基酸的轻链可变区;

[0100] (ab)包含序列如SEQ ID NO:338所示的氨基酸的重链可变区和包含序列如SEQ ID NO:339所示的氨基酸的轻链可变区;

[0101] (ac)包含序列如SEQ ID NO:350所示的氨基酸的重链可变区和包含序列如SEQ ID NO:351所示的氨基酸的轻链可变区;

[0102] (ad)包含序列如SEQ ID NO:362所示的氨基酸的重链可变区和包含序列如SEQ ID NO:363所示的氨基酸的轻链可变区;

[0103] (ae)包含序列如SEQ ID NO:374所示的氨基酸的重链可变区和包含序列如SEQ ID NO:375所示的氨基酸的轻链可变区;或

[0104] (af)包含序列如SEQ ID NO:386所示的氨基酸的重链可变区和包含序列如SEQ ID NO:387所示序列的氨基酸的轻链可变区。

[0105] 30.根据实施方式29所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:包含序列如SEQ ID NO:53所示的氨基酸的重链可变区;和包含序列如SEQ ID NO:54所示的氨基酸的轻链可变区。

[0106] 31.根据实施方式29所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:包含序列如SEQ ID NO:57所示的氨基酸的重链可变区;和包含序列如SEQ ID NO:58所示的氨基酸的轻链可变区。

[0107] 32.根据实施方式29所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:包含序列如SEQ ID NO:61所示的氨基酸的重链可变区;和包含序列如SEQ ID NO:62所示的氨基酸的轻链可变区。

[0108] 33.根据实施方式29所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:包含序列如SEQ ID NO:65所示的氨基酸的重链可变区;和包含序列如SEQ ID NO:66所示的氨基酸的轻链可变区。

[0109] 34.根据实施方式29所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:包含序列如SEQ ID NO:69所示的氨基酸的重链可变区;和包含序列如SEQ ID NO:70所示的氨基酸的轻链可变区。

[0110] 35.根据实施方式1-34中任一项所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含所述细胞外抗原结合结构域的重链可变区和轻链可变区之间的接头。

[0111] 36.根据实施方式1-35中任一项所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:(a)含有选自SEQ ID NO:126、132、138、144、150、156、162、168、174、180、186、192、198、204、210、216、222、228、234、240、246、252、258、264、306、318、330、342、354、366、378和390的氨基酸序列及其保守修饰的重链可变区CDR3;和(b)含有选自SEQ ID NO:129、135、141、147、153、159、165、171、177、183、189、195、201、207、213、219、225、231、237、243、249、255、261、267、309、321、333、345、357、369、381和393的氨基酸序列及其保守修饰的轻链可变区CDR3。

[0112] 37.根据实施方式36所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:(a)包含选自SEQ ID NO:125、131、137、143、149、155、161、167、173、179、185、191、197、203、209、215、221、227、233、239、245、251、257、263、305、317、329、341、353、365、377和389的氨基酸序列及其保守修饰的重链可变区CDR2;和(b)包含选自SEQ ID NO:128、134、140、146、152、158、164、170、176、182、188、194、200、206、212、218、224、230、236、242、248、254、260、266、308、320、332、344、356、368、380和392的氨基酸序列及其保守修饰的轻链可变区CDR2。

[0113] 38.根据实施方式36或37所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:(a)包含选自SEQ ID NO:124、130、136、142、148、154、160、166、172、178、184、190、196、202、208、214、220、226、232、238、244、250、256、262、304、316、328、340、352、364、376和388的氨基酸序列及其保守修饰的重链可变区CDR1;和(b)包含选自SEQ ID NO:127、133、139、145、151、157、163、169、175、181、187、193、199、205、211、217、223、229、235、241、247、253、259、265、307、319、331、343、355、367、379和391的氨基酸序列及其保守修饰的轻链可变区CDR1。

[0114] 39.根据实施方式1-38中任一项所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:(a)含有选自SEQ ID NO:124、130、136、142、148、154、160、166、172、178、184、190、196、202、208、214、220、226、232、238、244、250、256、262、304、316、328、340、352、364、376和388的氨基酸序列的重链可变区CDR1;(b)含有选自SEQ ID NO:125、131、137、143、149、155、161、167、173、179、185、191、197、203、209、215、221、227、233、239、245、251、257、263、305、317、329、341、353、365、377和389的氨基酸序列的重链可变区CDR2;(c)含有选自SEQ ID NO:126、132、138、144、150、156、162、168、174、180、186、192、198、204、210、216、222、228、234、240、246、252、258、264、306、318、330、342、354、366、378和390的氨基酸序列的重链可变区CDR3;(d)含有选自SEQ ID NO:127、133、139、145、151、157、163、169、175、181、187、193、199、205、211、217、223、229、235、241、247、253、259、265、307、319、331、343、355、367、379和391的氨基酸序列的轻链可变区CDR1;(e)含有选自SEQ ID NO:128、134、140、146、152、158、164、170、176、182、188、194、200、206、212、218、224、230、236、242、248、254、260、266、308、320、332、344、356、368、380和392的氨基酸序列的轻链可变区CDR2;和(f)含有选自SEQ ID NO:129、135、141、147、153、159、165、171、177、183、189、195、201、207、213、219、225、231、237、243、249、255、261、267、309、321、333、345、357、369、381和393的氨基酸序列

的轻链可变区CDR3。

[0115] 40.根据实施方式1-39中任一项所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:

[0116] (a)包含序列如SEQ ID NO:124所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:125所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:126所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR3;

[0117] (b)包含序列如SEQ ID NO:130所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:131所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:132所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR3;

[0118] (c)包含序列如SEQ ID NO:136所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:137所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:138所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR3;

[0119] (d)包含序列如SEQ ID NO:142所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:143所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:144所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR3;

[0120] (e)包含序列如SEQ ID NO:148所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:149所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:150所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR3;

[0121] (f)包含序列如SEQ ID NO:154所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:155所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:156所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR3;

[0122] (g)包含序列如SEQ ID NO:160所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:161所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:162所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR3;

[0123] (h)包含序列如SEQ ID NO:166所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:167所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:168所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR3;

[0124] (i)包含序列如SEQ ID NO:172所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:173所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:174所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR3;

[0125] (j)包含序列如SEQ ID NO:178所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:179所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:180所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR3;

[0126] (k)包含序列如SEQ ID NO:184所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:185所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:186所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR3;

[0127] (l)包含序列如SEQ ID NO:190所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:191所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:192所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR3;

[0128] (m)包含序列如SEQ ID NO:196所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:197所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:198所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR3;

[0129] (n)包含序列如SEQ ID NO:202所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:203所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:204所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR3;

[0130] (o)包含序列如SEQ ID NO:208所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:209所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:210所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR3;

[0131] (p)包含序列如SEQ ID NO:214所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:215所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:216所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR3;

[0132] (q)包含序列如SEQ ID NO:220所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:221所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:222所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR3;

[0133] (r)包含序列如SEQ ID NO:226所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:227所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:228所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR3;

[0134] (s)包含序列如SEQ ID NO:232所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:233所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:234所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR3;

[0135] (t)包含序列如SEQ ID NO:238所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:239所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:240所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR3;

[0136] (u)包含序列如SEQ ID NO:244所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:245所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:246所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR3;

[0137] (v)包含序列如SEQ ID NO:250所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:251所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:252所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR3;

[0138] (w)包含序列如SEQ ID NO:256所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:257所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:258所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR3;

[0139] (x)包含序列如SEQ ID NO:262所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:263所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:264所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR3;

[0140] (y)包含序列如SEQ ID NO:304所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:305所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:306所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR3;

[0141] (z)包含序列如SEQ ID NO:316所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:317所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:318所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR3;

[0142] (aa)包含序列如SEQ ID NO:328所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:329所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:330所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR3;

[0143] (ab)包含序列如SEQ ID NO:340所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:341所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:342所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR3;

[0144] (ac)包含序列如SEQ ID NO:352所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:353所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:354所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR3;

[0145] (ad)包含序列如SEQ ID NO:364所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:365所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:366所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR3;

[0146] (ae)包含序列如SEQ ID NO:376所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:377所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:378所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR3;或

[0147] (af)包含序列如SEQ ID NO:388所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:389所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:390所示的氨基酸或其保守修饰的重链可变区CDR3。

[0148] 41.根据实施方式40所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:包含序列如SEQ ID NO:202所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:203所示的氨基酸的重链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:204所示的氨基酸的重链可变区CDR3。

[0149] 42.根据实施方式40所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:包含序列如SEQ ID NO:208所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:209所示的氨基酸的重链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:210所示的氨基酸的重链可变区CDR3。

[0150] 43.根据实施方式40所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:包含序列如SEQ ID NO:214所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:215所示的氨基酸的重链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:216所示的氨基酸的重链可变区CDR3。

[0151] 44.根据实施方式40所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:包含序列如SEQ ID NO:220所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:221所示的氨基酸的重链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:222所示的氨基酸的重链可变区CDR3。

[0152] 45.根据实施方式40所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:包含序列如SEQ ID NO:226所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:227所示的氨基酸的重链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:228所示的氨基酸的重链可变区CDR3;

[0153] 46.根据实施方式1-45中任一项所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:

[0154] (a)包含序列如SEQ ID NO:127所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR1;包

含序列如SEQ ID NO:129所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:130所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR3;

[0155] (b)包含序列如SEQ ID NO:133所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:134所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR2;和包含SEQ ID NO:135或其保守修饰的轻链可变区CDR3;

[0156] (c)包含序列如SEQ ID NO:139所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:140所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:141所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR3;

[0157] (d)包含序列如SEQ ID NO:145所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR1;包含SEQ ID NO:146或其保守修饰的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:147所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR3;

[0158] (e)包含序列如SEQ ID NO:151所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:152所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:153所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR3;

[0159] (f)包含序列如SEQ ID NO:157所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:158所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:159所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR3;

[0160] (g)包含序列如SEQ ID NO:163所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:164所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:165所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR3;

[0161] (h)包含序列如SEQ ID NO:169所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:170所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR2;和包含SEQ ID NO:171或其保守修饰的轻链可变区CDR3;

[0162] (i)包含序列如SEQ ID NO:175所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:176所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:177所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR3;

[0163] (j)包含序列如SEQ ID NO:181所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:182所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:183所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR3;

[0164] (k)包含序列如SEQ ID NO:187所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:188所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:189所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR3;

[0165] (l)包含序列如SEQ ID NO:193所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:194所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:195所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR3;

[0166] (m)包含序列如SEQ ID NO:199所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:200所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:201所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR3;

[0167] (n)包含序列如SEQ ID NO:205所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR1;包

含序列如SEQ ID NO:206所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:207所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR3;

[0168] (o)包含序列如SEQ ID NO:211所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:212所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:213所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR3;

[0169] (p)包含序列如SEQ ID NO:217所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:218所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:219所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR3;

[0170] (q)包含序列如SEQ ID NO:223所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:224所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:225所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR3;

[0171] (r)包含序列如SEQ ID NO:229所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:230所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:231所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR3;

[0172] (s)包含序列如SEQ ID NO:235所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:236所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:237所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR3;

[0173] (t)包含序列如SEQ ID NO:241所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:242所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:243所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR3;

[0174] (u)包含序列如SEQ ID NO:247所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:248所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:249所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR3;

[0175] (v)包含序列如SEQ ID NO:253所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:254所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:255所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR3;

[0176] (w)包含序列如SEQ ID NO:259所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:260所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:261所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR3;

[0177] (x)包含序列如SEQ ID NO:265所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:266所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:267所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR3;

[0178] (y)包含序列如SEQ ID NO:307所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:308所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:309所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR3;

[0179] (z)包含序列如SEQ ID NO:319所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:320所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:321所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR3;

[0180] (aa)包含序列如SEQ ID NO:331所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR1;

包含序列如SEQ ID NO:332所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:333所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR3;

[0181] (ab)包含序列如SEQ ID NO:343所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:344所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:345所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR3;

[0182] (ac)包含序列如SEQ ID NO:355所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:356所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:357所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR3;

[0183] (ad)包含序列如SEQ ID NO:367所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:368所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:369所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR3;

[0184] (ae)包含序列如SEQ ID NO:379所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:380所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:381所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR3;或

[0185] (af)包含序列如SEQ ID NO:391所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:392所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:393所示的氨基酸或其保守修饰的轻链可变区CDR3。

[0186] 47.根据实施方式46所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:包含序列如SEQ ID NO:205所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:206所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:207所示的氨基酸的轻链可变区CDR3。

[0187] 48.根据实施方式46所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:包含序列如SEQ ID NO:211所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:212所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:213所示的氨基酸的轻链可变区CDR3。

[0188] 49.根据实施方式46所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:包含序列如SEQ ID NO:217所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:218所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:219所示的氨基酸的轻链可变区CDR3。

[0189] 50.根据实施方式46所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:包含序列如SEQ ID NO:223所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:224所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:225所示的氨基酸的轻链可变区CDR3。

[0190] 51.根据实施方式46所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:包含序列如SEQ ID NO:229所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:230所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:231所示的氨基酸的轻链可变区CDR3。

[0191] 52.根据实施方式1-51中任一项所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:

[0192] (a)包含序列如SEQ ID NO:124所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:125所示的氨基酸的重链可变区CDR2;包含序列如SEQ ID NO:126所示的氨基酸的重链可变区CDR3;包含序列如SEQ ID NO:127所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:128所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:129所示的氨基酸的轻链可变区CDR3;

[0193] (b)包含序列如SEQ ID NO:130所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:131所示的氨基酸的重链可变区CDR2;包含序列如SEQ ID NO:132所示的氨基酸的重链可变区CDR3;包含序列如SEQ ID NO:133所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:134所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:135所示的氨基酸的轻链可变区CDR3;

[0194] (c)包含序列如SEQ ID NO:136所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:137所示的氨基酸的重链可变区CDR2;包含序列如SEQ ID NO:138所示的氨基酸的重链可变区CDR3;包含序列如SEQ ID NO:139所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:140所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:141所示的氨基酸的轻链可变区CDR3;

[0195] (d)包含序列如SEQ ID NO:142所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:143所示的氨基酸的重链可变区CDR2;包含序列如SEQ ID NO:144所示的氨基酸的重链可变区CDR3;包含序列如SEQ ID NO:145所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:146所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:147所示的氨基酸的轻链可变区CDR3;

[0196] (e)包含序列如SEQ ID NO:148所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:149所示的氨基酸的重链可变区CDR2;包含序列如SEQ ID NO:150所示的氨基酸的重链可变区CDR3;包含序列如SEQ ID NO:151所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:152所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:153所示的氨基酸的轻链可变区CDR3;

[0197] (f)包含序列如SEQ ID NO:154所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:155所示的氨基酸的重链可变区CDR2;包含序列如SEQ ID NO:156所示的氨基酸的重链可变区CDR3;包含序列如SEQ ID NO:157所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:158所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:159所示的氨基酸的轻链可变区CDR3;

[0198] (g)包含序列如SEQ ID NO:160所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:161所示的氨基酸的重链可变区CDR2;包含序列如SEQ ID NO:162所示的氨基酸的重链可变区CDR3;包含序列如SEQ ID NO:163所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:164所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:165所示的氨基酸的轻链可变区CDR3;

[0199] (h)包含序列如SEQ ID NO:166所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:167所示的氨基酸的重链可变区CDR2;包含序列如SEQ ID NO:168所示的氨基酸的重链可变区CDR3;包含序列如SEQ ID NO:169所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:170所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:171所示的氨基酸的轻链可变区CDR3;

[0200] (i)包含序列如SEQ ID NO:172所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:173所示的氨基酸的重链可变区CDR2;包含序列如SEQ ID NO:174所示的氨基酸的重链可变区CDR3;包含序列如SEQ ID NO:175所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:176所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:177所示的氨基

酸的轻链可变区CDR3;

[0201] (j)包含序列如SEQ ID NO:178所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:179所示的氨基酸的重链可变区CDR2;包含序列如SEQ ID NO:180所示的氨基酸的重链可变区CDR3;包含序列如SEQ ID NO:181所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:182所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:183所示的氨基酸的轻链可变区CDR3;

[0202] (k)包含序列如SEQ ID NO:184所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:185所示的氨基酸的重链可变区CDR2;包含序列如SEQ ID NO:186所示的氨基酸的重链可变区CDR3;包含序列如SEQ ID NO:187所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:188所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:189所示的氨基酸的轻链可变区CDR3;

[0203] (l)包含序列如SEQ ID NO:190所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:191所示的氨基酸的重链可变区CDR2;包含序列如SEQ ID NO:192所示的氨基酸的重链可变区CDR3;包含序列如SEQ ID NO:193所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:194所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:195所示的氨基酸的轻链可变区CDR3;

[0204] (m)包含序列如SEQ ID NO:196所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:197所示的氨基酸的重链可变区CDR2;包含序列如SEQ ID NO:198所示的氨基酸的重链可变区CDR3;包含序列如SEQ ID NO:199所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:200所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:201所示的氨基酸的轻链可变区CDR3;

[0205] (n)包含序列如SEQ ID NO:202所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:203所示的氨基酸的重链可变区CDR2;包含序列如SEQ ID NO:204所示的氨基酸的重链可变区CDR3;包含序列如SEQ ID NO:205所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:206所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:207所示的氨基酸的轻链可变区CDR3;

[0206] (o)包含序列如SEQ ID NO:208所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:209所示的氨基酸的重链可变区CDR2;包含序列如SEQ ID NO:210所示的氨基酸的重链可变区CDR3;包含序列如SEQ ID NO:211所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:212所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:213所示的氨基酸的轻链可变区CDR3;

[0207] (p)包含序列如SEQ ID NO:214所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:215所示的氨基酸的重链可变区CDR2;包含序列如SEQ ID NO:216所示的氨基酸的重链可变区CDR3;包含序列如SEQ ID NO:217所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:218所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:219所示的氨基酸的轻链可变区CDR3;

[0208] (q)包含序列如SEQ ID NO:220所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:221所示的氨基酸的重链可变区CDR2;包含序列如SEQ ID NO:222所示的氨基酸的重链可变区CDR3;包含序列如SEQ ID NO:223所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如

SEQ ID NO:224所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:225所示的氨基酸的轻链可变区CDR3;

[0209] (r)包含序列如SEQ ID NO:226所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:227所示的氨基酸的重链可变区CDR2;包含序列如SEQ ID NO:228所示的氨基酸的重链可变区CDR3;包含序列如SEQ ID NO:229所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:230所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:231所示的氨基酸的轻链可变区CDR3;

[0210] (s)包含序列如SEQ ID NO:232所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:233所示的氨基酸的重链可变区CDR2;包含序列如SEQ ID NO:234所示的氨基酸的重链可变区CDR3;包含序列如SEQ ID NO:235所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:236所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:237所示的氨基酸的轻链可变区CDR3;

[0211] (t)包含序列如SEQ ID NO:238所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:239所示的氨基酸的重链可变区CDR2;包含序列如SEQ ID NO:240所示的氨基酸的重链可变区CDR3;包含序列如SEQ ID NO:241所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:242所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:243所示的氨基酸的轻链可变区CDR3;

[0212] (u)包含序列如SEQ ID NO:244所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:245所示的氨基酸的重链可变区CDR2;包含序列如SEQ ID NO:246所示的氨基酸的重链可变区CDR3;包含序列如SEQ ID NO:247所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:248所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:249所示的氨基酸的轻链可变区CDR3;

[0213] (v)包含序列如SEQ ID NO:250所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:251所示的氨基酸的重链可变区CDR2;包含序列如SEQ ID NO:252所示的氨基酸的重链可变区CDR3;包含序列如SEQ ID NO:253所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:254所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:255所示的氨基酸的轻链可变区CDR3;

[0214] (w)包含序列如SEQ ID NO:256所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:257所示的氨基酸的重链可变区CDR2;包含序列如SEQ ID NO:258所示的氨基酸的重链可变区CDR3;包含序列如SEQ ID NO:259所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:260所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:261所示的氨基酸的轻链可变区CDR3;

[0215] (x)包含序列如SEQ ID NO:262所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:263所示的氨基酸的重链可变区CDR2;包含序列如SEQ ID NO:264所示的氨基酸的重链可变区CDR3;包含序列如SEQ ID NO:265所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:266所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:267所示的氨基酸的轻链可变区CDR3;

[0216] (y)包含序列如SEQ ID NO:304所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:305所示的氨基酸的重链可变区CDR2;包含序列如SEQ ID NO:306所示的氨基酸的重

链可变区CDR3;包含序列如SEQ ID NO:307所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:308所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:309所示的氨基酸的轻链可变区CDR3;

[0217] (z)包含序列如SEQ ID NO:316所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:317所示的氨基酸的重链可变区CDR2;包含序列如SEQ ID NO:318所示的氨基酸的重链可变区CDR3;包含序列如SEQ ID NO:319所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:320所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:321所示的氨基酸的轻链可变区CDR3;

[0218] (aa)包含序列如SEQ ID NO:328所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:329所示的氨基酸的重链可变区CDR2;包含序列如SEQ ID NO:330所示的氨基酸的重链可变区CDR3;包含序列如SEQ ID NO:331所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:332所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:333所示的氨基酸的轻链可变区CDR3;

[0219] (ab)包含序列如SEQ ID NO:340所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:341所示的氨基酸的重链可变区CDR2;包含序列如SEQ ID NO:342所示的氨基酸的重链可变区CDR3;包含序列如SEQ ID NO:343所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:344所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:345所示的氨基酸的轻链可变区CDR3;

[0220] (ac)包含序列如SEQ ID NO:352所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:353所示的氨基酸的重链可变区CDR2;包含序列如SEQ ID NO:354所示的氨基酸的重链可变区CDR3;包含序列如SEQ ID NO:355所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:356所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:357所示的氨基酸的轻链可变区CDR3;

[0221] (ad)包含序列如SEQ ID NO:364所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:365所示的氨基酸的重链可变区CDR2;包含序列如SEQ ID NO:366所示的氨基酸的重链可变区CDR3;包含序列如SEQ ID NO:367所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:368所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:369所示的氨基酸的轻链可变区CDR3;

[0222] (ae)包含序列如SEQ ID NO:376所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:377所示的氨基酸的重链可变区CDR2;包含序列如SEQ ID NO:378所示的氨基酸的重链可变区CDR3;包含序列如SEQ ID NO:379所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:380所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:381所示的氨基酸的轻链可变区CDR3;或

[0223] (af)包含序列如SEQ ID NO:388所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:389所示的氨基酸的重链可变区CDR2;包含序列如SEQ ID NO:390所示的氨基酸的重链可变区CDR3;包含序列如SEQ ID NO:391所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:392所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:393所示的氨基酸的轻链可变区CDR3。

[0224] 53.根据实施方式52所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:包含序列

如SEQ ID NO:202所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:203所示的氨基酸的重链可变区CDR2;包含序列如SEQ ID NO:204所示的氨基酸的重链可变区CDR3;包含序列如SEQ ID NO:205所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:206所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:207所示的氨基酸的轻链可变区CDR3。

[0225] 54.根据实施方式52所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:包含序列如SEQ ID NO:208所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:209所示的氨基酸的重链可变区CDR2;包含序列如SEQ ID NO:210所示的氨基酸的重链可变区CDR3;包含序列如SEQ ID NO:211所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:212所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:213所示的氨基酸的轻链可变区CDR3。

[0226] 55.根据实施方式52所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:包含序列如SEQ ID NO:214所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:215所示的氨基酸的重链可变区CDR2;包含序列如SEQ ID NO:216所示的氨基酸的重链可变区CDR3;包含序列如SEQ ID NO:217所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:218所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:219所示的氨基酸的轻链可变区CDR3。

[0227] 56.根据实施方式52所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:包含序列如SEQ ID NO:220所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:221所示的氨基酸的重链可变区CDR2;包含序列如SEQ ID NO:222所示的氨基酸的重链可变区CDR3;包含序列如SEQ ID NO:223所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:224所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:225所示的氨基酸的轻链可变区CDR3。

[0228] 57.根据实施方式52所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:包含序列如SEQ ID NO:226所示的氨基酸的重链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:227所示的氨基酸的重链可变区CDR2;包含序列如SEQ ID NO:228所示的氨基酸的重链可变区CDR3;包含序列如SEQ ID NO:229所示的氨基酸的轻链可变区CDR1;包含序列如SEQ ID NO:230所示的氨基酸的轻链可变区CDR2;和包含序列如SEQ ID NO:231所示的氨基酸的轻链可变区CDR3。

[0229] 58.根据实施方式1-57中任一项所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含共价结合至所述细胞外抗原结合结构域的5’端的信号肽。

[0230] 59.根据实施方式2-58中任一项所述的CAR,其中所述GPRC5D包含如SEQ ID NO:97所示的氨基酸序列。

[0231] 60.根据实施方式59所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域结合一个、两个、三个或四个选自下述的表位区域:包含SEQ ID NO:97的氨基酸1-27的N-端区域中的表位区域、包含SEQ ID NO:97的氨基酸85-93的ECL1区域中的表位区域、包含SEQ ID NO:97的氨基酸145-167的ECL2区域中的表位区域、和包含SEQ ID NO:97的氨基酸226-239的ECL3区域中的表位区域。

[0232] 61.根据实施方式60所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域结合包含SEQ ID NO:97的氨基酸16-23的表位区域。

[0233] 62.根据实施方式61所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域结合包含SEQ ID NO:97的氨基酸15-23的表位区域。

[0234] 63.根据实施方式61所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域结合包含SEQ ID NO:97的氨基酸16-25的表位区域。

[0235] 64.根据实施方式60所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域结合包含SEQ ID NO:97的氨基酸10-17的表位区域。

[0236] 65.根据实施方式64所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域结合包含SEQ ID NO:97的氨基酸5-17的表位区域。

[0237] 66.根据实施方式60所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域结合包含SEQ ID NO:97的氨基酸85-95的表位区域。

[0238] 67.根据实施方式60所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域结合包含SEQ ID NO:97的氨基酸157-164的表位区域。

[0239] 68.根据实施方式67所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域结合包含SEQ ID NO:97的氨基酸157-167的表位区域。

[0240] 69.根据实施方式60所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域结合包含SEQ ID NO:97的氨基酸230-237的表位区域。

[0241] 70.根据实施方式69所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域结合包含SEQ ID NO:97的氨基酸229-237的表位区域。

[0242] 71.根据实施方式69所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域结合包含SEQ ID NO:97的氨基酸230-243的表位区域。

[0243] 72.根据实施方式69所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域结合包含SEQ ID NO:97的氨基酸227-237的表位区域。

[0244] 73.根据实施方式60所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域结合一个、两个或三个选自下述的表位区域:包含SEQ ID NO:97的氨基酸16-25的表位区域、包含SEQ ID NO:97的氨基酸157-164的表位区域和包含SEQ ID NO:97的氨基酸229-237的表位区域。

[0245] 74.根据实施方式73所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:包含序列如SEQ ID NO:57所示的氨基酸的重链可变区和包含序列如SEQ ID NO:58所示的氨基酸的轻链可变区。

[0246] 75.根据实施方式73或实施方式74所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:包含序列如SEQ ID NO:208所示的氨基酸的V_H CDR1、包含序列如SEQ ID NO:209所示的氨基酸的V_H CDR2、包含序列如SEQ ID NO:210所示的氨基酸的V_H CDR3、包含序列如SEQ ID NO:211所示的氨基酸的V_L CDR1、包含序列如SEQ ID NO:212所示的氨基酸的V_L CDR2、和包含序列如SEQ ID NO:213所示的氨基酸的V_L CDR3。

[0247] 76.根据实施方式60所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域结合一个、两个或三个选自下述的表位区域:包含SEQ ID NO:97的氨基酸5-17的表位区域、包含SEQ ID NO:97的氨基酸85-95的表位区域、和包含SEQ ID NO:97的氨基酸157-164的表位区域。

[0248] 77.根据实施方式76所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:包含序列如SEQ ID NO:61所示的氨基酸的重链可变区和包含序列如SEQ ID NO:62所示的氨基酸的轻链可变区。

[0249] 78.根据实施方式76或实施方式77所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:包含序列如SEQ ID NO:214所示的氨基酸的V_H CDR1、包含序列如SEQ ID NO:215所示的氨基酸的V_H CDR2、包含序列如SEQ ID NO:216所示的氨基酸的V_H CDR3、包含序列如SEQ ID NO:217所示的氨基酸的V_L CDR1、包含序列如SEQ ID NO:218所示的氨基酸的V_L CDR2、和包

含序列如SEQ ID NO:219所示的氨基酸的V_L CDR3。

[0250] 79.根据实施方式60所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域结合一个或两个选自包含SEQ ID NO:97的氨基酸15-23的表位区域和包含SEQ ID NO:97的氨基酸230-243的表位区域中的表位区域。

[0251] 80.根据实施方式79所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:包含序列如SEQ ID NO:65所示的氨基酸的重链可变区和包含序列如SEQ ID NO:66所示的氨基酸的轻链可变区。

[0252] 81.根据实施方式79或实施方式80所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:包含序列如SEQ ID NO:220所示的氨基酸的V_H CDR1、包含序列如SEQ ID NO:221所示的氨基酸的V_H CDR2、包含序列如SEQ ID NO:222所示的氨基酸的V_H CDR3、包含序列如SEQ ID NO:223所示的氨基酸的V_L CDR1、包含序列如SEQ ID NO:224所示的氨基酸的V_L CDR2、和包含序列如SEQ ID NO:225所示的氨基酸的V_L CDR3。

[0253] 82.根据实施方式60所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域结合一个、两个或三个选自下述的表位区域:包含SEQ ID NO:97的氨基酸10-17的表位区域、包含SEQ ID NO:97的氨基酸157-167的表位区域、和包含SEQ ID NO:97的氨基酸227-237的表位区域。

[0254] 83.根据实施方式82所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:包含序列如SEQ ID NO:69所示的氨基酸的重链可变区和包含序列如SEQ ID NO:70所示的氨基酸的轻链可变区。

[0255] 84.根据实施方式82或实施方式83所述的CAR,其中所述细胞外抗原结合结构域包含:包含序列如SEQ ID NO:226所示的氨基酸的V_H CDR1、包含序列如SEQ ID NO:227所示的氨基酸的V_H CDR2、包含序列如SEQ ID NO:228所示的氨基酸的V_H CDR3、包含序列如SEQ ID NO:229所示的氨基酸的V_L CDR1、包含序列如SEQ ID NO:230所示的氨基酸的V_L CDR2、和包含序列如SEQ ID NO:231所示的氨基酸的V_L CDR3。

[0256] 85.根据实施方式1-84中任一项所述的CAR,其中所述跨膜结构域包含CD8多肽、CD28多肽、CD3ζ多肽、CD4多肽、4-1BB多肽、OX40多肽、ICOS多肽、CTLA-4多肽、PD-1多肽、LAG-3多肽、2B4多肽、BTLA多肽、合成肽(非基于与免疫应答相关的蛋白质)、或其组合。

[0257] 86.根据实施方式85所述的CAR,其中所述跨膜结构域包含CD8多肽。

[0258] 87.根据实施方式85所述的CAR,其中所述跨膜结构域包含CD28多肽。

[0259] 88.根据实施方式1-87中任一项所述的CAR,其中所述细胞内结构域包含CD3ζ多肽。

[0260] 89.根据实施方式1-88中任一项所述的CAR,其中所述细胞内结构域还包含至少一个信号传导区。

[0261] 90.根据实施方式89所述的CAR,其中所述至少一个信号传导区包含CD28多肽、4-1BB多肽、OX40多肽、ICOS多肽、DAP-10多肽、PD-1多肽、CTLA-4多肽、LAG-3多肽、2B4多肽、BTLA多肽、合成肽(非基于与免疫应答相关的蛋白质)、或其组合。

[0262] 91.根据实施方式89或实施方式90所述的CAR,其中所述信号传导区是共刺激信号传导区。

[0263] 92.根据实施方式91所述的CAR,其中所述至少一个共刺激信号传导区包含CD28多肽、4-1BB多肽、OX40多肽、ICOS多肽、DAP-10多肽、或其组合。

[0264] 93.根据实施方式92所述的CAR,其中所述至少一个共刺激信号传导区包含CD28多肽。

[0265] 94.根据实施方式92所述的CAR,其中所述至少一个共刺激信号传导区包含4-1BB多肽。

[0266] 95.根据实施方式89-93中任一项所述的CAR,其中所述跨膜结构域包含CD28多肽,所述细胞内结构域包含CD3ζ多肽,并且所述信号传导结构域包含CD28多肽。

[0267] 96.根据实施方式89-92和94中任一项所述的CAR,其中所述跨膜结构域包含CD8多肽,所述细胞内结构域包含CD3ζ多肽,并且所述信号传导结构域包含4-1BB多肽。

[0268] 97.根据实施方式1-96中任一项所述的CAR,其中所述CAR是重组表达的。

[0269] 98.根据实施方式1-97中任一项所述的CAR,其中所述CAR由载体表达。

[0270] 99.根据实施方式98所述的CAR,其中所述载体是γ-逆转录病毒载体。

[0271] 100.一种分离的免疫应答细胞,其包含前述实施方式中任一项所述的CAR。

[0272] 101.根据实施方式100所述的分离的免疫应答细胞,其中所述免疫应答细胞用所述CAR进行转导。

[0273] 102.根据实施方式100或101所述的分离的免疫应答细胞,其中所述CAR在所述免疫应答细胞的表面上组成型表达。

[0274] 103.根据实施方式100-102中任一项所述的分离的免疫应答细胞,其中所述分离的免疫应答细胞用至少一种共刺激配体进一步转导使得所述免疫应答细胞表达所述至少一种共刺激配体。

[0275] 104.根据实施方式103所述的分离的免疫应答细胞,其中所述至少一种共刺激配体选自4-1BBL、CD80、CD86、CD70、OX40L、CD48、TNFRSF14、及其组合。

[0276] 105.根据实施方式100-104中任一项所述的分离的免疫应答细胞,其中所述分离的免疫应答细胞用至少一种细胞因子进一步转导使得所述免疫应答细胞分泌所述至少一种细胞因子。

[0277] 106.根据实施方式105所述的分离的免疫应答细胞,其中所述至少一种细胞因子选自IL-2、IL-3、IL-6、IL-7、IL-11、IL-12、IL-15、IL-17、IL-21、及其组合。

[0278] 107.根据实施方式100-106中任一项所述的分离的免疫应答细胞,其中所述免疫应答细胞选自T细胞、自然杀伤(NK)细胞、细胞毒性T淋巴细胞(CTL)、调节性T细胞、人胚胎干细胞、淋巴样祖细胞、T细胞前体细胞和可分化成淋巴样细胞的多能干细胞。

[0279] 108.根据实施方式107所述的分离的免疫应答细胞,其中所述免疫应答细胞是T细胞。

[0280] 109.一种分离的核酸分子,其编码根据实施方式1-99中任一项所述的嵌合抗原受体(CAR)。

[0281] 110.根据实施方式109所述的分离的核酸分子,其包含序列如SEQ ID NO:397所示的核酸。

[0282] 111.根据实施方式109所述的分离的核酸分子,其包含序列如SEQ ID NO:398所示的核酸。

[0283] 112.根据实施方式109所述的分离的核酸分子,其包含序列如SEQ ID NO:399所示的核酸。

[0284] 113.根据实施方式109所述的分离的核酸分子,其包含序列如SEQ ID NO:400所示的核酸。

[0285] 114.根据实施方式109所述的分离的核酸分子,其包含序列如SEQ ID NO:401所示的核酸。

[0286] 115.根据实施方式109所述的分离的核酸分子,其包含序列如SEQ ID NO:402所示的核酸。

[0287] 116.根据实施方式109所述的分离的核酸分子,其包含序列如SEQ ID NO:403所示的核酸。

[0288] 117.根据实施方式109所述的分离的核酸分子,其包含序列如SEQ ID NO:406所示的核酸。

[0289] 118.根据实施方式109所述的分离的核酸分子,其包含序列如SEQ ID NO:407所示的核酸。

[0290] 119.根据实施方式109所述的分离的核酸分子,其包含序列如SEQ ID NO:408所示的核酸。

[0291] 120.一种载体,其包含根据实施方式109-119中任一项所述的分离的核酸分子。

[0292] 121.根据实施方式120所述的载体,其中所述载体是γ-逆转录病毒载体。

[0293] 122.一种宿主细胞,其表达根据实施方式109-119中任一项所述的核酸分子。

[0294] 123.根据实施方式122所述的宿主细胞,其中所述宿主细胞是T细胞。

[0295] 124.一种减少受试者的肿瘤负荷的方法,其包括将有效量的根据实施方式100-108中任一项所述的免疫应答细胞施用于所述受试者,从而诱导受试者的肿瘤细胞死亡。

[0296] 125.根据实施方式124所述的方法,其中所述方法减少肿瘤细胞的数目。

[0297] 126.根据实施方式124所述的方法,其中所述方法减小肿瘤尺寸。

[0298] 127.根据实施方式124所述的方法,其中所述方法根除所述受试者中的肿瘤。

[0299] 128.根据实施方式124-127中任一项所述的方法,其中所述肿瘤是多发性骨髓瘤或瓦氏巨球蛋白血症。

[0300] 129.根据实施方式128所述的方法,其中所述肿瘤是多发性骨髓瘤。

[0301] 130.根据实施方式124-129中任一项所述的方法,其中所述受试者是人。

[0302] 131.根据实施方式124-130中任一项所述的方法,其中所述免疫应答细胞是T细胞。

[0303] 132.一种增加或延长患有瘤形成的受试者的存活的方法,其包括将有效量的根据实施方式100-108中任一项所述的免疫应答细胞施用于所述受试者,从而增加或延长所述受试者的存活。

[0304] 133.根据实施方式132所述的方法,其中所述瘤形成是多发性骨髓瘤或瓦氏巨球蛋白血症。

[0305] 134.根据实施方式133所述的方法,其中所述瘤形成是多发性骨髓瘤。

[0306] 135.根据实施方式132-134中任一项所述的方法,其中所述方法减小或根除所述受试者的肿瘤负荷。

[0307] 136.一种用于制备结合G-蛋白偶联受体的免疫应答细胞的方法,其包括向所述免疫应答细胞引入

[0308] 一种核酸序列,其编码包含细胞外抗原结合结构域、跨膜结构域和细胞内结构域的嵌合抗原受体(CAR),其中所述细胞外抗原结合结构域特异性地结合至G-蛋白偶联受体。

[0309] 137.根据实施方式136所述的方法,其中所述G蛋白受体是G-蛋白偶联受体C家族5组D成员(GPRC5D)。

[0310] 138.一种药物组合物,其包含有效量的根据实施方式100-108中任一项所述的免疫应答细胞和药学上可接受的赋形剂。

[0311] 139.根据实施方式138所述的药物组合物,其中所述药物组合物用于治疗瘤形成。

[0312] 140.根据实施方式139所述的药物组合物,其中所述瘤形成是多发性骨髓瘤或瓦氏巨球蛋白血症。

[0313] 141.根据实施方式140所述的药物组合物,其中所述瘤形成是多发性骨髓瘤。

[0314] 142.一种用于治疗多发性骨髓瘤的试剂盒,其包含根据实施方式100-108中任一项所述的免疫应答细胞。

[0315] 143.根据实施方式142所述的试剂盒,其中所述试剂盒还包含使用所述免疫应答细胞用于治疗患有瘤形成的受试者的书面说明书。

[0316] 144.根据实施方式142或143所述的试剂盒,其中所述瘤形成是多发性骨髓瘤或瓦氏巨球蛋白血症。

[0317] 145.根据实施方式144所述的试剂盒,其中所述瘤形成是多发性骨髓瘤。

附图说明

[0318] 可以结合附图来理解下述具体实施方式,其以实例方式给出但并非意在将本发明局限于所描述的具体实施方式。

[0319] 图1示出根据本发明公开主题的一个非限制性实施方式的靶向G-蛋白偶联受体的嵌合抗原受体。

[0320] 图2描绘正常组织和人癌症细胞系中的人GPRC5D表达。

[0321] 图3描绘本发明公开的GPRC5D CAR在人T细胞上的表达。

[0322] 图4描绘本发明公开的GPRC5D对过表达GPRC5D的3T3细胞的杀伤活性。

[0323] 图5描绘本发明公开的GPRC5D对人多发性骨髓瘤细胞系的杀伤活性。

[0324] 图6示出根据本发明公开主题的一个非限制性实施方式的靶向GPRC5D的嵌合抗原受体。

[0325] 图7描绘根据本发明公开主题的一个非限制性实施方式的编码靶向GPRC5D的CAR的核酸分子。

[0326] 图8描绘根据本发明公开主题的一个非限制性实施方式的编码靶向GPRC5D的CAR的核酸分子。

[0327] 图9描绘根据本发明公开主题的一个非限制性实施方式的编码靶向GPRC5D的CAR的核酸分子。

[0328] 图10描绘靶向GPRC5D的CAR T细胞对人多发性骨髓瘤细胞系的细胞毒性。

[0329] 图11描绘靶向GPRC5D的CAR T细胞的细胞因子分泌的诱导。

[0330] 图12描绘靶向GPRC5D的CAR T细胞的抗肿瘤活性。

[0331] 图13A和图13B描绘靶向GPRC5D的CAR T细胞的杀伤活性。(A)示出在时间0时的GFP

+肿瘤细胞系的百分比。(B)示出在时间36小时时杀伤GFP+肿瘤细胞系的百分比。

[0332] 图14示出CLIPS技术。CLIPS反应在CLIPS支架的溴基团和半胱氨酸的巯基侧链之间发生。反应在温和条件下是快速且特异性的。使用这种巧妙的化学作用,将天然蛋白质序列转化成具有一系列结构的CLIPS构建体。从左到右:两个不同的单T2环,T3双环,共轭T2+T3环,稳定的β折叠和稳定的α螺旋(Timmerman等人,J.Mol.Recognit.2007;20:283-29)。

[0333] 图15示出组合CLIPS文库筛选。含有不连续构象表位的靶蛋白(左)被转化为矩阵文库(matrix library)(中间)。组合肽在专有的缩微平片上合成,并经化学作用转化为空间限定的CLIPS构建体(右)。

[0334] 图16描绘T3成环的CLIPSTM构建体。

[0335] 图17A-17D示出热图技术。(A)组合肽的表格,其中两个子序列表示为“环1”和“环2”。(B)展示为矩阵的A的数据。(C)热图表示法的颜色条标示。(D)来自A的数据的热图可视化。

[0336] 图18示出针对ET150-2记录的强度分布。在记录单肽的信号的高度从该肽的起始残基到结束残基绘制线。

[0337] 图19示出在高严格条件下针对ET150-5记录的数据的热图分析。

[0338] 图20示出ET150-18记录的强度分布。

[0339] 图21示出ET150-8记录的强度分布。

[0340] 图22描绘包含七个跨膜螺旋(TM)和3个胞外区(ECL)的GPCR的示意图。用彩色箭头描绘每个抗体的结合位点。

[0341] 图23描绘对于每个样本记录的所有数据的散点图分析。斜线是统计数据分布。

[0342] 图24描绘抗-GPRC5D抗体的FACS分析。

[0343] 图25描绘抗-GPRC5D抗体的FACS分析。

[0344] 图26描绘根据本发明公开主题的一个非限制性实施方式的编码靶向GPRC5D的CAR的核酸分子。

[0345] 图27描绘根据本发明公开主题的一个非限制性实施方式的编码靶向GPRC5D的CAR的核酸分子。

具体实施方式

[0346] 本发明公开的主题总体提供靶向G-蛋白偶联受体(例如,G-蛋白偶联受体C家族5组D成员(GPRC5D))的嵌合抗原受体(CAR)。在一个非限制性实例中,CAR包含细胞外抗原结合结构域、跨膜结构域和细胞内结构域,其中细胞外抗原结合结构域特异性地结合G-蛋白偶联受体。本发明公开的主题还提供表达靶向G-蛋白偶联受体的CAR的免疫应答细胞(例如,T细胞、自然杀伤(NK)细胞、细胞毒性T淋巴细胞(CTL)、调节性T细胞、人胚胎干细胞、淋巴样祖细胞、T细胞前体细胞和可分化成淋巴样细胞的多能干细胞)、以及使用此类免疫应答细胞用于治疗癌症例如多发性骨髓瘤的方法。

[0347] I.定义

[0348] 除非另有定义,本文使用的所有技术和科学术语具有本发明所属领域的技术人员通常理解的含义。以下参考文献为本领域技术人员提供本发明中使用的许多术语的一般定义:Singleton等,Dictionary of Microbiology and Molecular Biology(第二版,1994);

The Cambridge Dictionary of Science and Technology(Walker编,1988);The Glossary of Genetics,第五版,R.Rieger等(编),Springer Verlag(1991);和Hale&Marham,The Harper Collins Dictionary of Biology(1991)。除非另有说明,本文使用的以下术语具有下文给出的含义。

[0349] 本文使用的术语“约”或“大约”是指在由本领域普通技术人员确定的特定值的可接受误差范围内,这将部分地取决于如何测量或确定该值,即测量系统的局限性。例如,根据本领域的惯例,“约”可以指在3个或多于3个标准偏差内。或者,“约”可以表示给定值的高达20%、优选高达10%、更优选高达5%、再更优选高达1%的范围。或者,特别是关于生物系统或过程,该术语可以表示在数值的一个数量级内、优选在5倍以内、更优选在2倍以内。

[0350] 本文使用的术语“细胞群体”是指表达相似或不同表型的至少两种细胞的组。在非限制性实例中,细胞群体可以包括至少约10个、至少约100个、至少约200个、至少约300个、至少约400个、至少约500个、至少约600个、至少约700个、至少约800个、至少约900个、至少约1000个表达相似或不同表型的细胞。

[0351] 本文使用的术语“抗体”不仅指完整的抗体分子,而且指保留免疫原结合能力的抗体分子片段。此类片段在本领域中也是众所周知的,并且在体外和体内常规使用。因此,本文使用的术语“抗体”不仅指完整的免疫球蛋白分子,而且指众所周知的活性片段$F(ab')_2$和Fab。缺少完整抗体的Fc片段的$F(ab')_2$和Fab片段,更快地从循环中清除,并且可能具有更少的完整抗体的非特异性组织结合(Wahl等,J.Nucl.Med.24:316～325(1983))。本发明的抗体包括完整天然抗体、双特异性抗体;嵌合抗体;Fab、Fab'、单链V区片段(scFv)、融合多肽和非常规抗体。

[0352] 本文使用的术语“单链可变片段”或“scFv”是免疫球蛋白(例如小鼠或人)的重链(V_H)和轻链(V_L)的可变区的融合蛋白,其共价连接形成V_H::V_L异源二聚体。重链(V_H)和轻链(V_L)直接连接或通过编码肽的接头(例如,10、15、20、25个氨基酸)连接,其将V_H的N末端与V_L的C-末端连接或将V_H的C末端与V_L的N末端连接。接头通常富含用于柔性的甘氨酸,以及用于溶解性的丝氨酸或苏氨酸。接头可以连接细胞外抗原结合结构域的重链可变区和轻链可变区。接头的非限制性实例公开于Shen等人,Anal.Chem.80(6):1910-1917(2008)和WO 2014/087010,其全部内容并入本文以供参考。在某些实施方式中,接头是G4S接头。

[0353] 在非限制性实例中,接头包含具有如下文所提供的SEQ ID NO:897所示序列的氨基酸。

[0354] GGGGSGGGGSGGGGS[SEQ ID NO:284]。在某些实施方式中,编码SEQ ID NO:284的氨基酸序列的核酸序列示于SEQ ID NO:285中,其提供如下:

[0355] GGTGGAGGTGGATCAGGTGGAGGTGGATCTGGTGGAGGTGGATCT [SEQ ID NO:285]

[0356] 在另一个非限制性实例中,接头包含具有如下文所提供的SEQ ID NO:98所示序列的氨基酸。

[0357] SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA [SEQ ID NO:98]

[0358] 在某些实施方式中,编码SEQ ID NO:98的氨基酸序列的核酸序列示于SEQ ID NO:99中,其提供如下:

[0359] tctagaggtggtggtggtagcggcggcggcggctctggtggtggtggatccctcgagatggcc [SEQ ID NO:99]

[0360] 尽管去除了恒定区并引入了接头,scFv蛋白保留了原始免疫球蛋白的特异性。单链Fv多肽抗体可以由包含V_H和V_L编码序列的核酸表达,如Huston等人所述(Proc.Nat.Acad.Sci.USA,85:5879～5883,1988)。还可参见美国专利号5,091,513、5,132,405和4,956,778;以及美国专利公开号20050196754和20050196754。具有抑制活性的拮抗性scFv已有描述(参见,例如,Zhao等,Hyrbidoma(Larchmt)2008 27(6):455～51;Peter等,J Cachexia Sarcopenia Muscle 2012年8月12日;Shieh等,J Imunol 2009 183(4):2277～85;Giomarelli等,Thromb Haemost 200797(6):955～63;Fife等,J Clin Invst 2006 116(8):2252～61;Brocks等,Immunotechnology 1997 3(3):173～84;Moosmayer等,Ther Immunol1995 2(10:31～40)。具有刺激活性的激动性scFv已有描述(参见,例如,Peter等,J Bioi Chern 2003 25278(38):36740～7;Xie等,Nat Biotech1997 15(8):768～71;Ledbetter等,Crit Rev Immunol 1997 17(5-6):427～55;Ho等,BioChim Biophys Acta 2003 1638(3):257～66)。

[0361] 本文使用的"F(ab)"是指结合抗原但是是单价的并且不具有Fc部分的抗体结构的片段,例如,由木瓜蛋白酶消化的抗体产生两个F(ab)片段和一个Fc片段(例如,重(H)链恒定区;不结合抗原的Fc区)。

[0362] 本文使用的"$F(ab')_2$"是指由胃蛋白酶消化完整IgG抗体产生的抗体片段,其中该片段具有两个抗原结合(ab')(二价)区,其中每个(ab')区包含两条分开的氨基酸链,H链的一部分通过S-S键与轻(L)链连接用于结合抗原,其中H链的剩余部分连接在一起。"$F(ab')_2$"片段可以分裂成两个单独的Fab'片段。

[0363] 本文使用的术语"载体"是指任何遗传元件,比如质粒、噬菌体、转座子、粘粒、染色体、病毒、病毒粒子等,其当关联有适当的控制元件时能够复制,并且其可以将基因序列转移到细胞中。因此,该术语包括克隆和表达载体,以及病毒载体和质粒载体。

[0364] 本文使用的术语"表达载体"是指一种重组核酸序列,即重组DNA分子,其含有期望编码序列和在特定宿主生物体中表达可操作连接的编码序列所必需的适当的核酸序列。用于在原核生物中表达所必需的核酸序列通常包括启动子、操纵子(可选的)和核糖体结合位点,通常伴随其它序列。已知真核细胞利用启动子、增强子和终止子及聚腺苷酸化信号。

[0365] 本文使用的"CDR"定义为抗体的互补决定区氨基酸序列,其为免疫球蛋白重链和轻链的高变区。参见例如Kabat等人,Sequences of Proteins of Immunological Interest,4th U.S.Department of Health and Human Services,National Institutes of Health(1987)。通常,抗体在可变区中包含三个重链和三个轻链CDR或CDR区。CDR为抗体与抗原或表位结合提供多数接触残基。在某些实施方式中,使用Kabat系统(Kabat,E.A.,等人(1991)Sequences of Proteins of Immunological Interest,Fifth Edition,U.S.Department of Health and Human Services,NIH Publication No.91-3242)描述CDR区。

[0366] 本文使用的术语"亲和力"(affinity)是指结合强度的量度。不受理论的束缚,亲和力取决于抗体结合位点和抗原决定簇之间的立体化学配合的紧密程度、它们之间接触区域的大小以及带电和疏水基团的分布。亲和力还包括术语"亲合力"(avidity),其是指形成可逆复合物后抗原-抗体键的强度。用于计算抗体对抗原的亲和力的方法在本领域是已知的,包括使用结合实验来计算亲和力。功能试验(例如,流式细胞术试验)中的抗体活性也反

映抗体亲和力。可以使用功能试验(例如,流式细胞术试验)对抗体进行表型鉴定并比较亲和力。

[0367] 本发明的方法中有用的核酸分子包括任何编码本发明多肽或其片段的核酸分子。此类核酸分子不需要与内源核酸序列100%相同,但通常表现出基本同一性。与内源序列具有"基本同一性"的多核苷酸通常能够与双链核酸分子的至少一条链杂交。"杂交"是指在各种严格条件下,在互补多核苷酸序列(例如,本文所述的基因)或其部分之间配对以形成双链分子。(参见,例如,Wahl,G.M.和S.L.Berger(1987)Methods Enzymol,152:399;Kimmel,A.R.(1987)Methods Enzymol,152:507)。

[0368] 例如,严格的盐浓度通常小于约750mM NaCl和75mM柠檬酸三钠,优选小于约500mM NaCl和50mM柠檬酸三钠,更优选小于约250mM NaCl和25mM柠檬酸三钠。低严格杂交可以在不存在有机溶剂例如甲酰胺的情况下获得,而高严格杂交可以在至少约35%甲酰胺、更优选至少约50%甲酰胺的存在下获得。严格温度条件通常包括至少约30℃、更优选至少约37℃、最优选至少约42℃的温度。改变其它参数,例如杂交时间、洗涤剂例如十二烷基硫酸钠(SDS)的浓度、以及载体DNA的包含或排除,对本领域技术人员来说是熟知的。通过根据需要组合这些不同条件来实现各种严格的水平。在优选的实施方式中,杂交将在30℃下在750mM NaCl、75mM柠檬酸三钠和1%SDS中发生。在更优选的实施方式中,杂交将在37℃下在500mM NaCl、50mM柠檬酸三钠、1%SDS、35%甲酰胺和100μg/ml变性鲑鱼精子DNA(ssDNA)中发生。在最优选的实施方式中,杂交将在42℃下在250mM NaCl、25mM柠檬酸三钠、1%SDS、50%甲酰胺和200μg/ml ssDNA中发生。这些条件的可用变化对于本领域技术人员将是显而易见的。

[0369] 对于大多数应用,杂交后的洗涤步骤也将在严格性上变化。洗涤严格性条件可以通过盐浓度和温度来定义。如上文,可以通过降低盐浓度或通过升高温度来提高洗涤严格性。例如,洗涤步骤的严格的盐浓度优选小于约30mM NaCl和3mM柠檬酸三钠,最优选小于约15mM NaCl和1.5mM柠檬酸三钠。洗涤步骤的严格温度条件通常包括至少约25℃、更优选至少约42℃、甚至更优选至少约68℃的温度。在优选的实施方式中,洗涤步骤将在25℃下在30mM NaCl、3mM柠檬酸三钠和0.1%SDS中发生。在更优选的实施方式中,洗涤步骤将在42℃下在15mM NaCl、1.5mM柠檬酸三钠和0.1%SDS中发生。在更优选的实施方式中,洗涤步骤将在68℃下在15mM NaCl、1.5mM柠檬酸三钠和0.1%SDS中发生。这些条件的另外的变化对于本领域技术人员将是显而易见的。杂交技术是本领域技术人员熟知的,并且描述于例如Benton和Davis(Science 196:180,1977);Grunstein和Rogness(Proc.Natl.Acad.Sci.,USA72:3961,1975);Ausubel等(Current Protocols in Molecular Biology,Wiley Interscience,New York,2001);Berger和Kimmel(Guide to Molecular Cloning Techniques,1987,Academic Press,New York);和Sambrook等,Molecular Cloning:ALaboratory Manual,Cold Spring Harbor Laboratory Press,New York。

[0370] "基本同一性"是指与参照氨基酸序列(例如,本文所述的任何一种氨基酸序列)或核酸序列(例如,本文所述的任何一种核酸序列)表现出至少50%同一性的多肽或核酸分子。优选地,此类序列在氨基酸水平或核酸与用于比较的序列至少60%、更优选80%或85%、更优选90%、95%或甚至99%相同。

[0371] 序列同一性通常使用序列分析软件(例如,Sequence Analysis Software

Package of the Genetics Computer Group,University of Wisconsin Biotechnology Center,1710University Avenue,Madison,Wis.53705、BLAST、BESTFIT、GAP或PILEUP/PRETTYBOX程序)测定。此类软件通过对各种取代、缺失和/或其它修饰指定同源性程度来匹配相同或相似的序列。在确定同一性程度的示例性方法中,可以使用BLAST程序,e-3和e-100之间的概率得分表示密切相关的序列。

[0372] 本文使用的术语“类似物”是指结构相关的多肽或核酸分子,其具有参照多肽或核酸分子的功能。

[0373] 本文使用的术语“配体”是指结合受体的分子。特别地,配体结合另一个细胞上的受体,允许细胞与细胞的识别和/或相互作用。

[0374] 本文使用的术语“疾病”是指破坏或干扰细胞、组织或器官的正常功能的任何病症或障碍。疾病的实例包括瘤形成或细胞的病原体感染。

[0375] 本文使用的术语“有效量”是指足以具有治疗效果的量。在某些实施方式中,“有效量”是足以阻止、改善或抑制瘤形成的持续增殖、生长或转移(例如,侵袭或迁移)的量。

[0376] 本文使用的术语“异源核酸分子或多肽”是指并非正常存在于细胞中或由细胞获得的样品中的核酸分子(例如,cDNA、DNA或RNA分子)或多肽。该核酸可以来自另一生物体,或者其可以是例如细胞或样品中并非正常表达的mRNA分子。

[0377] 本文使用的术语“免疫应答细胞”是指在免疫应答中起作用的细胞、或其祖细胞、或其子代。

[0378] 本文使用的术语“调节”是指正或负地改变。示例性调节包括约1%、约2%、约5%、约10%、约25%、约50%、约75%或约100%的变化。

[0379] 本文使用的术语“增加”是指正向地改变至少约5%,包括但不限于正向地改变约5%、约10%、约25%、约30%、约50%、约75%或约100%。

[0380] 本文使用的术语“减少”是指负向地改变至少约5%,包括但不限于负向地改变约5%、约10%、约25%、约30%、约50%、约75%或约100%。

[0381] 本文使用的术语“分离的细胞”是指与天然伴随细胞的分子和/或细胞组分分离开的细胞。

[0382] 本文使用的术语“分离的”、“纯化的”或“生物纯的”是指不同程度地游离于在其天然状态中发现的正常伴随的组分之外的物质。“分离”表示从原始来源或环境分开的程度。“纯化”表示比分离更高的分开程度。“纯化的”或“生物纯的”蛋白质与其它物质充分分离,使得任何杂质不会实质上影响蛋白质的生物学性质或引起其他不良后果。也就是说,如果本发明的核酸或肽在通过重组DNA技术产生时基本上不含细胞物质、病毒物质或培养基,或化学合成时基本上不含化学前体或其它化学品,则其是纯化的。纯度和均一性通常使用分析化学技术例如聚丙烯酰胺凝胶电泳或高效液相色谱法测定。术语“纯化的”可以表示核酸或蛋白质在电泳凝胶中产生基本上一条带。对于可以进行修饰(例如磷酸化或糖基化)的蛋白质,不同的修饰可以产生不同的分离的蛋白质,其可以单独纯化。

[0383] 本文使用的术语“分泌的”是指多肽通过内质网、高尔基体的分泌通路从细胞中释放,以及作为在细胞质膜瞬时融合的囊泡将蛋白质释放到细胞外。

[0384] 本文使用的术语“特异性地结合”或“特异性地结合到”或“特异性靶向”是指多肽或其片段识别并结合目的生物分子(例如多肽),但其基本上不识别结合样品中的其他分

子,例如天然地包括本发明多肽的生物样品中的其他分子。

[0385] 本文使用的术语“治疗(treating、treatment)”是指试图改变所治疗的个体或细胞的疾病过程的临床干预,并且可以用于预防或者在临床病理过程期间进行。治疗的治疗效果包括但不限于防止疾病的发生或复发、症状的缓解、疾病的任何直接或间接病理学后果的减少、防止转移、降低疾病进展的速度、减轻或缓和疾病状态、以及缓解或改善的预后。通过防止疾病或病症的进展,治疗可以防止受影响或经诊断的受试者或疑似患有病症的受试者中病症引起的恶化,而且治疗可以防止具有病症风险或疑似患有病症的受试者中病症的发作或病症症状。

[0386] 本文使用的术语“受试者”是指任何动物(例如哺乳动物),包括但不限于人、非人灵长类动物、啮齿动物等(例如,其将是特定治疗的受者、或从其中收获细胞)。

[0387] II.G-蛋白偶联受体

[0388] G蛋白偶联受体(“GPR”)也称为七跨膜结构域受体、7TM受体、七螺旋受体、蛇型受体和G蛋白连接的受体,其构成感知细胞外分子并激活内部信号转导通路且最终激活细胞应答的大类蛋白受体家族。GPCR可以根据序列同源性和功能相似性分为六类:A类(视紫红质样)、B类(分泌素受体家族)、C类(代谢型谷氨酸/信息素)、D类(真菌交配信息素受体)、E类(环AMP受体)和F类(卷曲/平滑(Frizzled/Smoothened))。在某些实施方式中,GRP是C类GRP。在某些非限制性实施方式中,C类GRP是G蛋白偶联受体C家族5组D成员。

[0389] G蛋白偶联受体C家族5组D成员(GPRC5D)是在人类中没有已知配体或功能的孤独受体。它是视黄酸诱导型G蛋白偶联受体家族的成员。它在多发性骨髓瘤(MM)细胞中过表达,并且在任何其他细胞类型、良性或恶性肿瘤中都不表达或以显著更低的水平表达,如图2所示。几个研究组已经通过将原发性MM细胞的基因表达分析与正常组织[1]或其他血液恶性肿瘤[2-4]相比较而鉴定出该基因高度差异性表达。已经表明,更高的mRNA表达与更差的总体存活率相关。[1]来自MM患者的骨髓抽吸物的表面染色显示浆细胞特异性染色。[4]根据发明人的了解,这是首次通过任何治疗靶向GPRC5D。此外,根据本发明人的了解,这是首次产生靶向任何G蛋白偶联受体的CAR。

[0390] 在某些非限制性实施方式中,GPRC5D是具有SEQ ID NO:97所示的氨基酸序列的人GPRC5D,或其片段。

[0391] SEQ ID NO:97提供如下:

MYKDCIESTGDYFLLCDAEGPWGIILESLAILGIVVTILLLLAFLFLMRKIQDCSQWNVL

PTQLLFLLSVLGLFGLAFAFIIELNQQTAPVRYFLFGVLFALCFSCLLAHASNLVKLVRG

CVSFSWTTILCIAIGCSLLQIIIATEYVTLIMTRGMMFVNMTPCQLNVDFVVLLVYVLFL

[0392] MALTFFVSKATFCGPCENWKQHGRLIFITVLFSIIIWVVWISMLLRGNPQFQRQPQWDDP

VVCIALVTNAWVFLLLYIVPELCILYRSCRQECPLQGNACPVTAYQHSFQVENQELSRAR

DSDGAEEDVALTSYGTPIQPQTVDPTQECFIPQAKLSPQQDAGGV

[SEQ ID NO:97]

[0393] 人GPRC5D的N端区域具有SEQ ID NO:97的氨基酸1-27。人GPRC5D的胞外环1(ECL1)区域具有SEQ ID NO:97的氨基酸85-93。人GPRC5D的胞外环2(ECL2)区域具有SEQ ID NO:97的氨基酸145-167。人GPRC5D的胞外环3(ECL3)区域具有SEQ ID NO:97的氨基酸226-239。

[0394] III.嵌合抗原受体(CAR)

[0395] 嵌合抗原受体(CAR)是工程化的受体,其将感兴趣的特异性移植或赋予到免疫效应细胞。CAR可以用于通过逆转录病毒载体促进其编码序列的转移将单克隆抗体的特异性移植到T细胞上。

[0396] 有三代CAR。“第一代”CAR通常由细胞外抗原结合结构域(例如单链可变片段(scFv))与跨膜结构域融合,再与T细胞受体链的胞质/细胞内结构域融合而组成。“第一代”CAR通常具有来自CD3ζ链的细胞内结构域,其是来自内源性TCR的信号的主要传递者。“第一代”CAR可以提供重新的抗原识别并且通过在单个融合分子中的CD3ζ链信号传导结构域激活$CD4^+$和$CD8^+$T细胞,而不依赖HLA介导的抗原递呈。“第二代”CAR将来自各种共刺激分子(例如CD28、4-1BB、ICOS、OX40)的细胞内结构域添加到CAR的胞质尾部,以向T细胞提供额外的信号。“第二代”CAR包括既提供共刺激(例如CD28或4-1BB)又提供激活(CD3ζ)的那些CAR。临床前研究表明,“第二代”CAR可以提高T细胞的抗肿瘤活性。例如,在慢性淋巴细胞白血病(CLL)和急性淋巴细胞白血病(ALL)患者中,靶向CD19分子的临床试验证实了“第二代”CAR修饰的T细胞的强烈功效。“第三代”CAR包括提供多种共刺激(例如CD28和4-1BB)和激活(CD3ζ)的那些CAR。

[0397] 根据本发明公开的主题,CAR包含细胞外抗原结合结构域、跨膜结构域和细胞内结构域,其中细胞外抗原结合结构域结合G-蛋白偶联受体。在某些实施方式中,G-蛋白偶联受体是GPRC5D。在具体的非限制性实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv。在具体的非限制性实施方式中,细胞外抗原结合结构域是任选交联的Fab。在具体的非限制性实施方式中,细胞外结合结合域是$F(ab)_2$。在具体的非限制性实施方式中,任何前述分子可以包含在具有异源序列的融合蛋白中以形成细胞外抗原结合结构域。

[0398] 在某些非限制性实施方式中,本发明公开的CAR的细胞外抗原结合结构域对G-蛋白偶联受体(例如,GPRC5D)具有高结合特异性以及高结合亲和力。例如,在此类实施方式中,CAR的细胞外抗原结合结构域(例如,以scFv或其类似物实施)结合GPRC5D的解离常数(K_D)为约3×10^{-6}M或更小。在某些实施方式中,K_D为约1×10^{-6}M或更小、约1×10^{-7}M或更小、约1×10^{-8}M或更小、或约1×10^{-9}M或更小、约1×10^{-10}M或更小、或约1×10^{-11}M或更小。在某些实施方式中,K_D为约1×10^{-8}M或更小。在某些实施方式中,K_D为约1×10^{-11}M至约3×10^{-6}M,比如约1×10^{-11}M至约1×10^{-10}M、约1×10^{-10}M至约1×10^{-9}M、约1×10^{-9}M至约1×10^{-8}M、约1×10^{-8}M至约1×10^{-7}M、或约1×10^{-7}M至约1×10^{-6}M、或约1×10^{-6}M至约3×10^{-6}M。在某些实施方式中,K_D为约1×10^{-9}M至约1×10^{-8}M。在某些实施方式中,K_D为约1×10^{-9}M至约1.5×10^{-9}M。在某些实施方式中,K_D为约1.2×10^{-9}M。在某些实施方式中,K_D为约4×10^{-9}M至约5×10^{-9}M。在某些实施方式中,K_D为约5×10^{-9}M。在某些实施方式中,K_D为约4.8×10^{-9}M。在某些实施方式中,K_D为约8×10^{-9}M至约9×10^{-9}M。在某些实施方式中,K_D为约8×10^{-9}M。在某些实施方式中,K_D为约8.1×10^{-9}M。

[0399] 本发明公开的CAR的细胞外抗原结合结构域(例如以scFv或其类似物的实施方式)与G-蛋白偶联受体(例如,GPRC5D)的结合可以通过例如酶联免疫吸附法(ELISA)、放射免疫法(RIA)、FACS分析、生物检测法(例如,生长抑制)或Western Blot检测来确认。这些试验中的每一种通常通过使用对目的复合物特异的标记试剂(例如,抗体或scFv)来检测特定目的蛋白质-抗体复合物的存在。例如,scFv可以放射性标记并用于放射免疫法(RIA)(见例如Weintraub,B.,Principles of Radioimmunoassays,Seventh Training Course on

Radioligand Assay Techniques,The Endocrine Society,1986年3月,其引入本文以供参考)。放射性同位素可以通过比如使用γ计数器或闪烁计数器或通过放射自显影术的方法检测。在某些实施方式中,用荧光标记物标记GPRC5D靶向的细胞外抗原结合结构域。荧光标记物的非限制性实例包括绿色荧光蛋白(GFP)、蓝色荧光蛋白(例如EBFP、EBFP2、Azurite和mKalama1)、青色荧光蛋白(例如ECFP、Cerulean和CyPet)和黄色荧光蛋白(例如YFP、Citrine、Venus和YPet)。在某些实施方式中,靶向GPRC5D的人scFv是用GFP标记的。

[0400] 在某些实施方式中,本发明公开的CAR的细胞外抗原结合结构域包含单链可变区片段(scFv)。在一个特定的实施方式中,本发明公开的CAR的细胞外抗原结合结构域包含特异性地结合人GPRC5D的人scFv。在另一个特定的实施方式中,本发明公开的CAR的细胞外抗原结合结构域包含特异性地结合人GPRC5D的鼠scFv。在某些实施方式中,通过用表达GPRC5D的细胞(例如,3T3细胞)筛选scFv噬菌体文库进行鉴定。

[0401] CAR的细胞外抗原结合结构域

[0402] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域(例如,scFv)包含重链可变区,其包含具有选自SEQ ID NO:1、5、9、13、17、21、25、29、33、37、41、45、49、53、57、61、65、69、73、77、81、85、89和93的序列的氨基酸。编码SEQ ID NO:1、5、9、13、17、21、25、29、33、37、41、45、49、53、57、61、65、69、73、77、81、85、89和93的氨基酸序列的核酸序列分别为SEQ ID NO:3、7、11、15、19、23、27、31、35、39、43、47、51、55、59、63、67、71、75、79、83、87、91和95。在一些实施方式中,细胞外抗原结合结构域(例如,scFv)包含轻链可变区,其包含具有选自SEQ ID NO:2、6、10、14、18、22、26、30、34、38、42、46、50、54、58、62、66、70、74、78、82、86、90和94的序列的氨基酸。编码SEQ ID NO:2、6、10、14、18、22、26、30、34、38、42、46、50、54、58、62、66、70、74、78、82、86、90和94的氨基酸序列的核酸序列分别为SEQ ID NO:4、8、12、16、20、24、28、32、36、40、44、48、52、56、60、64、68、72、76、80、84、88、92和96。SEQ ID NO:1-96的序列记载于下表1-24中。

[0403] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域(例如,scFv)包含含有与本文所述的和表1-24中所公开的氨基酸序列同源的氨基酸序列的重链可变区和轻链可变区。例如,并且并非通过限制的方式,细胞外抗原结合结构域(例如,scFv)包含含有与选自SEQ ID NO:1、5、9、13、17、21、25、29、33、37、41、45、49、53、57、61、65、69、73、77、81、85、89、93、302、314、326、338、350、362、374和386的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的重链可变区。

[0404] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域(例如,scFv)包含含有与选自SEQ ID NO:2、6、10、14、18、22、26、30、34、38、42、46、50、54、58、62、66、70、74、78、82、86、90、94、303、315、327、339、351、363、375和387的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的轻链可变区。

[0405] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域(例如,scFv)包含(a)含有与选自SEQ ID NO:1、5、9、13、17、21、25、29、33、37、41、45、49、53、57、61、65、69、73、77、81、85、89、93、302、314、326、338、350、362、374和386的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、

约95％、约96％、约97％、约98％或约99％同源的氨基酸序列的重链可变区;和(b)含有与选自SEQ ID NO:2、6、10、14、18、22、26、30、34、38、42、46、50、54、58、62、66、70、74、78、82、86、90、94、303、315、327、339、351、363、375和387的氨基酸序列至少约80％、约81％、约82％、约83％、约84％、约85％、约86％、约87％、约88％、约89％、约90％、约91％、约92％、约93％、约94％、约95％、约96％、约97％、约98％或约99％同源的氨基酸序列的轻链可变区。

[0406] 本发明公开的主题还提供包含重链可变区和轻链可变区CDR例如CDR1、CDR2和CDR3的细胞外抗原结合结构域(例如,scFv),如本文表1-24中所公开。使用Kabat系统(Kabat,E.A.,等人(1991)Sequences of Proteins of Immunological Interest,Fifth Edition,U.S.Department of Health and Human Services,NIH Publication No.91-3242)描述CDR区。本发明公开的主题还提供包含本文公开的抗体序列的保守修饰的细胞外抗原结合结构域(例如,scFv)。例如,并且并非通过限制的方式,本发明公开主题的细胞外抗原结合结构域(例如,scFv)包含含有CDR1、CDR2和CDR3序列的重链可变区以及含有CDR1、CDR2和CDR3序列的轻链可变区,其中这些CDR序列中的一个或多个包含本文公开的指定氨基酸序列或其保守修饰,并且其中细胞外抗原结合结构域保留所需的功能性质。

[0407] 在某些实施方式中,本发明公开的主题提供的细胞外抗原结合结构域(例如,scFv)包含重链可变区,其中重链可变区包含:(a)包含选自SEQ ID NO:124、130、136、142、148、154、160、166、172、178、184、190、196、202、208、214、220、226、232、238、244、250、256、262、304、316、328、340、352、364、376和388的氨基酸序列及其保守修饰的CDR1;(b)包含选自SEQ ID NO:125、131、137、143、149、155、161、167、173、179、185、191、197、203、209、215、221、227、233、239、245、251、257、263、305、317、329、341、353、365、377和389的氨基酸序列及其保守修饰的CDR2;和(c)包含选自SEQ ID NO:126、132、138、144、150、156、162、168、174、180、186、192、198、204、210、216、222、228、234、240、246、252、258、264、306、318、330、342、354、366、378和390的氨基酸序列及其保守修饰的CDR3。

[0408] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域(例如,scFv)包含轻链可变区,其中轻链可变区包含:(a)包含选自SEQ ID NO:127、133、139、145、151、157、163、169、175、181、187、193、199、205、211、217、223、229、235、241、247、253、259、265、307、319、331、343、355、367、379和391的氨基酸序列及其保守修饰的CDR1;(b)包含选自SEQ ID NO:128、134、140、146、152、158、164、170、176、182、188、194、200、206、212、218、224、230、236、242、248、254、260、266、308、320、332、344、356、368、380和392的氨基酸序列及其保守修饰的CDR2;和(c)包含选自SEQ ID NO:129、135、141、147、153、159、165、171、177、183、189、195、201、207、213、219、225、231、237、243、249、255、261、267、309、321、333、345、357、369、381和393的氨基酸序列及其保守修饰的CDR3。

[0409] 本发明公开的主题提供包含含有CDR1、CDR2和CDR3序列的重链可变区以及含有CDR1、CDR2和CDR3序列的轻链可变区的细胞外抗原结合结构域(例如,scFv),其中:(a)重链可变区CDR3包含选自SEQ ID NO:126、132、138、144、150、156、162、168、174、180、186、192、198、204、210、216、222、228、234、240、246、252、258、264、306、318、330、342、354、366、378和390的氨基酸序列及其保守修饰;并且(b)轻链可变区CDR3包含选自SEQ ID NO:129、135、141、147、153、159、165、171、177、183、189、195、201、207、213、219、225、231、237、243、249、255、261、267、309、321、333、345、357、369、381和393的氨基酸序列及其保守修饰;其中细胞

外抗原结合结构域特异性地结合GPRC5D多肽(例如,人GPRC5D多肽)。在某些实施方式中,重链可变区CDR2包含选自SEQ ID NO:125、131、137、143、149、155、161、167、173、179、185、191、197、203、209、215、221、227、233、239、245、251、257、263、305、317、329、341、353、365、377和389的氨基酸序列及其保守修饰;并且(b)轻链可变区CDR2包含选自SEQ ID NO:128、134、140、146、152、158、164、170、176、182、188、194、200、206、212、218、224、230、236、242、248、254、260、266、308、320、332、344、356、368、380和392的氨基酸序列及其保守修饰;其中细胞外抗原结合结构域特异性地结合GPRC5D多肽(例如,人GPRC5D多肽)。在某些实施方式中,重链可变区CDR1包含选自SEQ ID NO:124、130、136、142、148、154、160、166、172、178、184、190、196、202、208、214、220、226、232、238、244、250、256、262、304、316、328、340、352、364、376和388的氨基酸序列及其保守修饰;并且(b)轻链可变区CDR1包含选自SEQ ID NO:127、133、139、145、151、157、163、169、175、181、187、193、199、205、211、217、223、229、235、241、247、253、259、265、307、319、331、343、355、367、379和391的氨基酸序列及其保守修饰;其中细胞外抗原结合结构域特异性地结合GPRC5D多肽(例如,人GPRC5D多肽)。

[0410] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含SEQ ID NO:100的氨基酸序列并且特异性地结合GPRC5D多肽(例如,具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的GPRC5D多肽,或其片段),该scFv命名为ET150-153 scFv(也称为"ET150-3 scFv")。

[0411] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含:包含具有SEQ ID NO:1所示序列的氨基酸的重链可变区和包含具有SEQ ID NO:2所示序列的氨基酸的轻链可变区,任选地具有(iii)在重链可变区和轻链可变区之间的接头序列,例如接头肽。在某些实施方式中,接头包含具有SEQ ID NO:98所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv-Fc融合蛋白或全长人IgG,其V_H和V_L区或CDR选自表1。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_H,如表1中所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_H,其包含具有SEQ ID NO:1所示序列的氨基酸,如表1中所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_L,如表1中所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_L,其包含具有SEQ ID NO:2所示序列的氨基酸,如表1中所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:1所示序列的氨基酸V_H和包含具有SEQ ID NO:2所示序列的氨基酸的V_L,如表1中所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:124所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:125所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、和包含具有SEQ ID NO:126所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3,如表1中所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:127所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:128所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:129所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3,如表1中所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:124所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H

CDR1、包含具有SEQ ID NO:125所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:126所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:127所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:128所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:129所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3,如表1中所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:124所示序列的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:125所示序列的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:126所示序列的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:127所示序列的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:128所示序列的氨基酸V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:129所示序列的氨基酸的V_L CDR3。

[0412] 表1

抗原	具有SEQ ID No: 97的氨基酸序列的GPRC5D多肽		
CDR	1	2	3
V_H	GYTFTSYY [SEQ ID NO:124]	GYTFTSYY [SEQ ID NO:125]	ARGMYRSLLFYDP [SEQ ID NO:126]
V_L	RSNVGNYY [SEQ ID NO:127]	DNN [SEQ ID NO:128]	GTWDGSLSAHV [SEQ ID NO:129]
全长V_H	QVQLVQSGSELKKPGASVRVSCTASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGVINPNAGSTRYAQKFQGRVTMSTDTSTSTAYMDLSSLRSEDTAVYYCARGMYRSLLFYDPWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:1]		
DNA	Caggtgcagctggtgcagtctgggtctgagttgaagaagcctggggcctcagtcagagtctcctgcacggcttctggatacaccttcaccagttactatatgcactgggtgcgacaggcccctggacaagggcttgagtggatgggagtaatcaaccctaatgctggcagcacaagatacgcacagaaattccagggcagagtca		
	ccatgagcactgacacgtccacgagcacagcctacatggacctgagcagtctgagatctgaggacacggccgtgtattactgtgcgcgcggtatgtaccgttctctgctgttctacgatccgtggggtcaaggtactctggtgaccgtctcctca [SEQ ID NO:3]		
全长V_L	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTIPCSGSRSNVGNYYVSWYQQLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYFCGTWDGSLSAHVFGTGTKVTVLG [SEQ ID NO:2]		
DNA	Cagtctgtgttgacgcagccgccctcagtgtctgcggccccaggacagaaggtcaccatccctgctctggaagccgttccaacgttgggaattattatgtgtcctggtaccagcaactcccaggaacagcccccaaactcctcatttatgacaataataagcgaccctcagggattcctgaccgattctctggctccaagtctggcacgtcagccacccctgggcatcaccggactccagactggggacgaggccgattatttctgcggaacatggatggcagcctgagtgcccatgtcttcggaactgggaccaaggtcaccgtcctaggt [SEQ ID NO:4]		
scFv	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTIPCSGSRSNVGNYYVSWYQQLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYFCGTWDGSLSAHVFGTGTKVTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAQVQLVQSGSELKKPGASVRVSCTASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGVINPNAGSTRYAQKFQGRVTMSTDTSTSTAYMDLSSLRSEDTAVYYCARGMYRSLLFYDPWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:100]		

[0413]

[0414] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含SEQ ID NO:101的氨基酸序列并且特异性地结合GPRC5D多肽(例如,具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的GPRC5D多肽,或其片段),该scFv命名为ET150-166 scFv(也称为“ET150-16 scFv”)。

[0415] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含:包含具有SEQ ID NO:5所示序列的氨基酸的重链可变区和包含具有SEQ ID NO:6所示序列的氨基酸的轻链可变区,任选地具有(iii)在重链可变区和轻链可变区之间的接头序列,例如接头肽。在某些实施方式中,接头包含具有SEQ ID NO:98所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv-Fc融合蛋白或全长人IgG,其V_H和V_L区或CDR选自表2。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是人scFv。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:5所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_H,如表2中所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_H,其包含具有SEQ ID NO:5所示序列的氨基酸,如表2中所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:6所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_L,如表2中所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_L,其包含具有SEQ ID NO:6所示序列的氨基酸,如表2中所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:5所示序列的氨基酸的V_H和包含具有SEQ ID NO:6所示序列的氨基酸的V_L,如表2中所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:130所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:131所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、和包含具有SEQ ID NO:132所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3,如表2中所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:133所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:134所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:135所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3,如表2中所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:130所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:131所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:132所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:133所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:134所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:135所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3,如表2中所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:130所示序列的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:131所示序列的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:132所示序列的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:133所示序列的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:134所示序列的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:135所示序列的氨基酸的V_L CDR3。

[0416] 表2

[0417]

抗原	具有SEQ ID No: 97的氨基酸序列的GPRC5D多肽		
CDR	1	2	3
V_H	GFTFSNYA [SEQ ID NO:130]	ISGSGNT [SEQ ID NO:131]	ARGSVRYTDI [SEQ ID NO:132]
V_L	SGAIAGAY [SEQ ID NO:133]	DDN [SEQ ID NO:134]	QSYDYDSSNVL [SEQ ID NO:135]
全长V_H	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGK GLEWVSAISGSGNTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARGSVRYTDIWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:5]		
DNA	Gaggtgcagctggtggagtctgggggaggcttggtacagcctgggggtccctgagactctcctgtg cagcctctggattcacctttagcaactatgccatgagttgggtccgccaggctccagggaagggactgg agtgggtctcagctattagtggtagtggtaacacatactacgcagactccgtgaagggccggttcaccat ctccagagacaattccaagaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgagagccgaggacacggcc gtatattactgtgcgcgcggttctgttcgttacactgatatctggggtcaaggtactctggtgaccgtctcct ca [SEQ ID NO:7]		
全长V_L	NFMLTQPHSVSESPGKTVSISCTRTSGAIAGAYVQWFQQRPGSAP TTVIYDDNKRPSGVPDRFSGSIDKSSNSASLTISGLKTEDEADYYC QSYDYDSSNVLFGGGTKLTVLG [SEQ ID NO:6]		
DNA	Aattttatgctgactcagccccactcagtgtcggagtctccggggaagacggtaagcatctcctgcacc cgcaccagtggcgccattgccggcgcctatgtgcagtggttccagcagcgcccgggcagtgccccca ccactgtgatctatgacgataacaaaagaccctctggggtccctgatcggttctctgggtccatcgacaa gtcctccaactctgcctccctcaccatctctggactgaagactgaggacgaggctgactattattgtcagt cttatgattatgatagcagcaatgtgctattcggcggagggaccaagctgaccgtcctaggt [SEQ ID NO:8]		
scFv	NFMLTQPHSVSESPGKTVSISCTRTSGAIAGAYVQWFQQRPGSAP TTVIYDDNKRPSGVPDRFSGSIDKSSNSASLTISGLKTEDEADYYC QSYDYDSSNVLFGGGTKLTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGK GLEWVSAISGSGNTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARGSVRYTDIWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:101]		

[0418] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含SEQ ID NO:102的氨基酸序列并且特异性地结合GPRC5D多肽(例如,具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的GPRC5D多肽,或其片段),该scFv命名为ET150-170 scFv(也称为“ET150-20 scFv”)。

[0419] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含:包含具有SEQ ID NO:9所示序列的氨基酸的重链可变区和包含具有SEQ ID NO:10所示序列的氨基酸的轻链可变区,任选地具有(iii)在重链可变区和轻链可变区之间的接头序列,例如接头肽。在某些实施方式中,接头包含具有SEQ ID NO:98所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv-Fc融合蛋白或全长人IgG,其V_H和V_L区或CDR选自表3。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_H,如表3所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_H,其包含具有SEQ ID NO:9所示序列的氨基酸,如表3所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约

87％、约88％、约89％、约90％、约91％、约92％、约93％、约94％、约95％、约96％、约97％、约98％或约99％同源的氨基酸序列的V_L，如表3所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含V_L，其包含具有SEQ ID NO:10所示序列的氨基酸，如表3所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:9所示序列的氨基酸的V_H和包含具有SEQ ID NO:10所示序列的氨基酸的V_L，如表3所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:136所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:137所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、和包含具有SEQ ID NO:138所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3，如表3所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:139所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:140所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:141所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3，如表3所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:136所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:137所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:138所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:139所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:140所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:141所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3，如表3所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:136所示序列的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:137所示序列的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:138所示序列的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:139所示序列的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:140所示序列的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:141所示序列的氨基酸的V_L CDR3。

[0420] 表3

[0421]

抗原	具有SEQ ID No: 97的氨基酸序列的GPRC5D多肽		
CDR	1	2	3
V_H	GFTFNNYW [SEQ ID NO:136]	IKQDGSEK [SEQ ID NO:137]	ARSMSTAV [SEQ ID NO:138]
V_L	QSISSY [SEQ ID NO:139]	AAS [SEQ ID NO:140]	QQSYSVPYT [SEQ ID NO:141]
全长V_H	EVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCATSGFTFNNYWMSWVRQAPGK GLEWVANIKQDGSEKYYADSVRGRFTISRDNAKNSLSLQLNNLRA EDTAVYYCARSMSTAWGYDEWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:9]		
DNA	Gaggtgcagctggtgcagtctgggggaggcttggtccagcctgggggtccctgagactctcctgtgc		
	aacctctggattcacctttaataactattggatgagttgggtccgccaggctccagggaaggggctggagt gggtggccaacataaagcaagatggaagtgagaaatactacgcggactctgtgaggggccgattcacc atctccagagacaacgccaagaactcactgtctctgcaattgaacaacctgagagccgaggacacggcc gtgtattactgtgcgcgctctatgtctactgcttggggttacgatgaatggggtcaaggtactctggtgacc gtctcctca [SEQ ID NO:11]		
全长V_L	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKL LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPADFATYYCQQSYS VPYTFGQGTKLEIKR [SEQ ID NO:10]		
DNA	Gacatccagttgacccagtctccatcctccctgtctgcatctgtcggagacagagtcaccatcacttgccg ggcaagtcagagcattagcagctatttaaattggtatcaacagaaaccagggaaagcccctaagctcctg atctatgctgcatccagtttgcaaagtggggtcccatcaaggttcagtggcagtggatctgggacagatttc actctcaccatcagcagtctgcaacctgcagattttgcaacttactactgtcaacagagttacagtgtcccgt acacttttggccaggggaccaagctggagatcaaacgt [SEQ ID NO:12]		
scFv	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKL LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPADFATYYCQQSYS VPYTFGQGTKLEIKRSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSG GGLVQPGGSLRLSCATSGFTFNNYWMSWVRQAPGKGLEWVANI KQDGSEKYYADSVRGRFTISRDNAKNSLSLQLNNLRAEDTAVYY CARSMSTAWGYDEWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:102]		

[0422] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含SEQ ID NO:103的氨基酸序列并且特异性地结合GPRC5D多肽(例如,具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的GPRC5D多肽,或其片段),该scFv命名为ET150-171 scFv(也称为“ET150-21 scFv”)。

[0423] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含:包含具有SEQ ID NO:13所示序列的氨基酸的重链可变区和包含具有SEQ ID NO:14所示序列的氨基酸的轻链可变区,任选地具有(iii)在重链可变区和轻链可变区之间的接头序列,例如接头肽。在某些实施方式中,接头包含具有SEQ ID NO:98所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv-Fc融合蛋白或全长人IgG,其V_H和V_L区或CDR选自表4。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_H,如表4所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_H,其包含具有SEQ ID NO:13所示序列的氨基酸,如表4所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、

约98％或约99％同源的氨基酸序列的V_L，如表4所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含V_L，其包含具有SEQ ID NO:14所示序列的氨基酸，如表4所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:13所示序列的氨基酸的V_H和包含具有SEQ ID NO:14所示序列的氨基酸的V_L，如表4所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:142所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:143所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、和包含具有SEQ ID NO:144所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3，如表4所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:145所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:146所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:147所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3，如表4所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:142所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:143所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:144所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:145所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:146所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:147所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3，如表4所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:142所示序列的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:143所示序列的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:144所示序列的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:145所示序列的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:146所示序列的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:147所示序列的氨基酸的V_L CDR3。

[0424] 表4

[0425]

抗原	具有SEQ ID No: 97的氨基酸序列的GPRC5D多肽		
CDR	1	2	3
V_H	GYTFTSYY [SEQ ID NO:142]	INPSGGST [SEQ ID NO:143]	ARGSSRWGGWTGDY [SEQ ID NO:144]
V_L	SSDVGGYNF [SEQ ID NO:145]	DVS [SEQ ID NO:146]	SSYTSTRTVIFAGGTKVTVL [SEQ ID NO:147]
全长V_H	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTRYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGSSRWGGWTGDYWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:13]		
DNA	Caggtgcagctggtgcagtctggggctgaggtgaagaagcctggggcctcagtgaaggtttcctgcaaggcatctggatacaccttcaccagctactatatgcactgggtgcgacaggcccctggacaagggcttgagtggatgggaataatcaaccctagtggtggtagcacaaggtacgcacagaagttccagggcagagtcaccatgaccagggacacgtcaacgagcacagtctacatggagctgagcagcctgagatctgaggacacggccgtgtattactgtgcgcgcggttcttctcgctggggtggttggactggtgattactggggtcaaggtactctggtgaccgtctcctca [SEQ ID NO:15]		
全长V_L	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNFVSWYQQHPGKAPKVMIYDVSKRPSGISNRFSGSKSGNTASLTISGLQVEDEAEYYCSSYTSTRTVIFAGGTKVTVLG [SEQ ID NO:14]		
DNA	Caatctgccctgactcagcctgcctccgtgtctgggtctcctggacagtcgatcaccatctcctgcactggaaccagcagtgacgttggtggttataactttgtctcctggtaccaacagcacccaggcaaagccccaaagtcatgatttatgatgtcagtaagcggccctcagggatttctaatcgcttctctggctccaagtctggcaacacggcctccctgaccatctctgggctccaggttgaggacgaggctgaatattactgcagctcatatacaagcactagaactgtgatattcgccggagggaccaaggtcaccgtcctaggt [SEQ ID NO:16]		
scFv	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNFVSWYQQHPGKAPKVMIYDVSKRPSGISNRFSGSKSGNTASLTISGLQVEDEAEYYCSSYTSTRTVIFAGGTKVTVLG SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTRYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGSSRWGGWTGDYWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:103]		

[0426] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含SEQ ID NO:104的氨基酸序列并且特异性地结合GPRC5D多肽(例如,具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的GPRC5D多肽,或其片段),该scFv命名为ET150-175 scFv(也称为“ET150-25 scFv”)。

[0427] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含:包含具有SEQ ID NO:17所示序列的氨基酸的重链可变区和包含具有SEQ ID NO:18所示序列的氨基酸的轻链可变区,任选地具有(iii)在重链可变区和轻链可变区之间的接头序列,例如接头肽。在某些实施方式中,接头包含具有SEQ ID NO:98所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv-Fc融合蛋白或全长人IgG,其V_H和V_L区或CDR选自表5。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:17所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_H,如表5所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_H,其包含具有SEQ ID NO:17所示序列的氨基酸,如表5所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ

ID NO:18所示的氨基酸序列至少约80％、约81％、约82％、约83％、约84％、约85％、约86％、约87％、约88％、约89％、约90％、约91％、约92％、约93％、约94％、约95％、约96％、约97％、约98％或约99％同源的氨基酸序列的V_L,如表5所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_L,其包含具有SEQ ID NO:18所示序列的氨基酸,如表5所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:17所示序列的氨基酸的V_H和包含具有SEQ ID NO:18所示序列的氨基酸的V_L,如表5所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:148所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:149所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、和包含具有SEQ ID NO:150所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3,如表5所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:151所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:152所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:153所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3,如表5所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:148所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:149所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:150所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:151所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:152所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:153所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3,如表5所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:148所示序列的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:149所示序列的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:150所示序列的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:151所示序列的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:152所示序列的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:153所示序列的氨基酸的V_L CDR3。

[0428] 表5

[0429]

抗原	具有SEQ ID No: 97的氨基酸序列的GPRC5D多肽		
CDR	1	2	3
V_H	GSTFSSYA [SEQ ID NO:148]	ISGRGRST [SEQ ID NO:149]	ARYYKSKDH [SEQ ID NO:150]
V_L	RSNIGTNY [SEQ ID NO:151]	RNH [SEQ ID NO:152]	AAWDDNLSGVV [SEQ ID NO:153]
全长V_H	EVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAASGSTFSSYAMSWVRQAPGKG LEWVSAISGRGRSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA		
	EDTAVYYCARYYKSSKDHWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:17]		
DNA	Gaggtgcagctggtggagactgggggaggcttggtacagcctgggggtccctgagactctcctgtg cagcctctggatccacctttagcagctatgccatgagctgggtccgccaggctccagggaaggggctg gagtgggtctcagctattagtggtcgtggtcgtagcacatactacgcagactccgtgaagggccggttc accatctccagagacaattccaagaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgagagccgaggacac ggccgtatattactgtgcgcgctactacaaatcttctaaagatcattggggtcaaggtactctggtgaccg tctcctca [SEQ ID NO:19]		
全长V_L	QSVLTQPPSLSGAPGQRVTISCSGSRSNIGTNYVSWXQQLPGTAP KLLIYRNHQWPSGVPDRFTGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCA AWDDNLSGVVFGGGTKLTVLG [SEQ ID NO:18]		
DNA	Cagtctgtgttgacgcagccgccctcactgtctggggccccagggcagagggtcaccatctcttgttcc ggaagcaggtccaacatcggaactaattatgtatcctggnaccagcaactcccaggaacggcccccaa actcctcatctataggaatcatcagtggccctcaggggtccctgaccgattcactggctccaagtctggc acctcagcctccctggccatcagtgggctccggtccgaggatgaggctgattactactgtgcagcatgg gatgacaatttgagtggtgtggtgttcggcggagggaccaagctgaccgtcctaggt [SEQ ID NO:20]		
scFv	QSVLTQPPSLSGAPGQRVTISCSGSRSNIGTNYVSWXQQLPGTAP KLLIYRNHQWPSGVPDRFTGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCA AWDDNLSGVVFGGGTKLTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA EVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAASGSTFSSYAMSWVRQAPGKG LEWVSAISGRGRSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARYYKSSKDHWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:104]		

[0430] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含SEQ ID NO:105的氨基酸序列并且特异性地结合GPRC5D多肽(例如,具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的GPRC5D多肽,或其片段),该scFv命名为ET150-154 scFv(也称为"ET150-4 scFv")。

[0431] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含:包含具有SEQ ID NO:21所示序列的氨基酸的重链可变区和包含具有SEQ ID NO:22所示序列的氨基酸的轻链可变区,任选地具有(iii)在重链可变区和轻链可变区之间的接头序列,例如接头肽。在某些实施方式中,接头包含具有SEQ ID NO:98所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv-Fc融合蛋白或全长人IgG,其V_H和V_L区或CDR选自表6。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:21所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_H,如表6所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_H,其包含具有SEQ ID NO:21所示序列的氨基酸,如表6所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:22所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、

约87％、约88％、约89％、约90％、约91％、约92％、约93％、约94％、约95％、约96％、约97％、约98％或约99％同源的氨基酸序列的V_L，如表6所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含V_L，其包含具有SEQ ID NO:22所示序列的氨基酸，如表6所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:21所示序列的氨基酸的V_H和包含具有SEQ ID NO:22所示序列的氨基酸的V_L，如表6所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:154所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:155所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、和包含具有SEQ ID NO:156所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3，如表6所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:157所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:158所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:159所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3，如表6所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:154所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:155所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:156所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:157所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:158所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:159所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3，如表6所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:154所示序列的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:155所示序列的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:156所示序列的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:157所示序列的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:158所示序列的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:159所示序列的氨基酸的V_L CDR3。

[0432] 表6

[0433]

抗原	具有SEQ ID No: 97的氨基酸序列的GPRC5D多肽		
CDR	1	2	3
V_H	AYTFTDYY [SEQ ID NO:154]	INPKSGRT [SEQ ID NO:155]	ARVYGYSRWSGFDL [SEQ ID NO:156]
V_L	SSNIGSNY [SEQ ID NO:157]	RNN [SEQ ID NO:158]	AAWDDSLSGYV [SEQ ID NO:159]
全长V_H	QVQLVQSGAEVQRPGASVRVSCKAIAYTFTDYYIHWVRQAPGQGPEWMGWINPKSGRTQYAPKFQDRVTLARETPISTASMELRGLTSDDTAVYYCARVYGYSRWSGFDLWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:21]		

[0434]

DNA	Caggtccagctggtgcagtctggggctgaggtgcagaggcctggggcctcagtgagggtctcctgca aggctattgcgtacaccttcaccgactactatatccactgggtgcgacaggcccctggacaagggcctg agtggatggggtggatcaaccctaaaagtggtcgcacacagtatgcaccgaagtttcaagacagggtc accctggccagggagacgcccatcagcacagcctccatggagctgcgcggactgacatctgacgac acggccgtgtattactgtgcgcgcgtttacggttactctcgttggtctggtttcgatctgtggggtcaaggt actctggtgaccgtctcctca [SEQ ID NO:23]
全长V_L	QAVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNYVYWYQQLPGTAP KLLIYRNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCA AWDDSLSGYVFGTGTKVTVLG [SEQ ID NO:22]
DNA	Caggctgtgctgactcagccaccctcagcgtctgggacccccgggcagagggtcaccatctcttgttct ggaagcagctccaacatcggaagtaattatgtatactggtaccagcagctcccaggaacggcccccaa actcctcatctataggaataatcagcggccctcaggggtccctgaccgattctctggctccaagtctggc acctcagcctccctggccatcagtgggctccggtccgaggatgaggctgattattactgtgcagcatgg gatgacagcctgagtggttatgtcttcggaactgggaccaaggtcaccgtcctaggt [SEQ ID NO:24]
scFv	QAVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNYVYWYQQLPGTAP KLLIYRNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCA AWDDSLSGYVFGTGTKVTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAQ VQLVQSGAEVQRPGASVRVSCKAIAYTFTDYYIHWVRQAPGQGP EWMGWINPKSGRTQYAPKFQDRVTLARETPISTASMELRGLTSD DTAVYYCARVYGYSRWSGFDLWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:105]

[0435] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含SEQ ID NO:106的氨基酸序列并且特异性地结合GPRC5D多肽(例如,具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的GPRC5D多肽,或其片段),该scFv命名为ET150-156 scFv(也称为“ET150-6 scFv”)。

[0436] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含:包含具有SEQ ID NO:25所示序列的氨基酸的重链可变区和包含具有SEQ ID NO:26所示序列的氨基酸的轻链可变区,任选地具有(iii)在重链可变区和轻链可变区之间的接头序列,例如接头肽。在某些实施方式中,接头包含具有SEQ ID NO:98所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv-Fc融合蛋白或全长人IgG,其V_H和V_L区或CDR选自表7。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_H,如表7所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_H,其包含具有SEQ ID NO:25所示序列的氨基酸,如表7所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_L,如表7所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_L,其包含具有SEQ ID NO:26所示序列的氨基酸,如表7所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:25所示序列的氨基酸的V_H和包含具有SEQ ID NO:26所示序列的氨基酸的V_L,如表7所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:160所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:161所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、和包含具有SEQ ID NO:162

所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3,如表7所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:163所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:164所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:165所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3,如表7所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:160所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:161所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:162所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:163所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:164所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:165所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3,如表7所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:160所示序列的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:161所示序列的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:162所示序列的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:163所示序列的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:164所示序列的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:165所示序列的氨基酸的V_L CDR3。

[0437] 表7

抗原	具有SEQ ID No: 97的氨基酸序列的GPRC5D多肽		
CDR	1	2	3
V_H	GYTFTTYY [SEQ ID NO:160]	INPNGGGT [SEQ ID NO: 161]	ARGHKVYKSHPTGGYDR [SEQ ID NO:162]
V_L	SRDVGGYNY [SEQ ID NO:163]	EVS [SEQ ID NO:164]	SSYTSSSTLD [SEQ ID NO:165]
全长V_H	QVQLVQSGAEVKQPGASVKVSCQASGYTFTTYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPNGGGTFYAQKFQDRVTMTRDTSTGTVYMELSSLRSDDTAVYYCARGHKVYKSHPTGGYDRWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:25]		
DNA	Caggtgcagctggtgcaatctggggctgaggtgaagcagcctggggcctcagtgaaggtttcctgccaggcatctggatacaccttcaccacttattatatgcactgggtgcgacaggcccctggacaagggcttgagtggatgggaataatcaaccctaatggtggtggcacattctacgcacagaagttccaggacagagtcaccatgaccagggacacgtccacgggcacagtctacatggaactgagcagcctgagatctgacgacactgccgtgtattactgtgcgcgcggtcataaagtttacaaatctcatccgactggtggttacgatcgttggggtcaaggtactctggtgaccgtctcctca [SEQ ID NO:27]		
全长V_L	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSRDVGGYNYVSWYQQYPGKAPKLMIYEVSKRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTLDFGTGTKVTVLG [SEQ ID NO:26]		
DNA	Caatctgccctgactcagcctgcctccgtgtctgggtctcctggacagtcgatcaccatctcctgcactggaaccagccgtgacgttggtggttataactatgtctcctggtaccaacagtacccaggcaaagcccccaaactcatgatttatgaggtcagtaagcggccctcaggggtttctaatcgcttctctggctccaagtctggcaacacggcctccctgaccatctctgggctccaggctgaggacgaggctgattattactgcagctcatataccagtagcagcactttagacttcggaactgggaccaaggtcaccgtcctaggt [SEQ ID NO:28]		
scFv	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSRDVGGYNYVSWYQQYPGKAPKLMIYEVSKRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTSSSTLDFGTGTKVTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAQVQLVQSGAEVKQPGASVKVSCQASGYTFTTYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPNGGGTFYAQKFQDRVTMTRDTSTGTVYMELSSLRSDDTAVYYCARGHKVYKSHPTGGYDRWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:106]		

[0438]

[0439] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含SEQ ID NO:107的氨基酸序列并且特异性地结合GPRC5D多肽(例如,具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的GPRC5D多肽,或其片段),该scFv命名为ET150-157 scFv(也称为"ET150-7 scFv")。

[0440] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含:包含具有SEQ ID NO:29所示序列的氨基酸的重链可变区和包含具有SEQ ID NO:30所示序列的氨基酸的轻链可变区,任选地具有(iii)在重链可变区和轻链可变区之间的接头序列,例如接头肽。在某些实施方式中,接头包含具有SEQ ID NO:98所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv-Fc融合蛋白或全长人IgG,其V_H和V_L区或CDR选自表8。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:29所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_H,如表8所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_H,其包含具有SEQ ID NO:29所示序列的氨基酸,如表8所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:30所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_L,如表8所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_L,其包含具有SEQ ID NO:30所示序列的氨基酸,如表8所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:29所示序列的氨基酸的V_H和包含具有SEQ ID NO:30所示序列的氨基酸的V_L,如表8所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:166所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:167所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、和包含具有SEQ ID NO:168所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3,如表8所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:169所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:170所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:171所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3,如表8所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:166所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:167所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:168所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:169所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:170所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:171所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3,如表8所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:166所示序列的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:167所示序列的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:168所示序列的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:169所示序列的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:170所示序列的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:171所示序列的氨基酸的V_L CDR3。

[0441] 表8

[0442]

抗原	具有SEQ ID No: 97的氨基酸序列的GPRC5D多肽		
CDR	1	2	3
V_H	GGTFSSYA [SEQ ID NO:166]	IIPIFGTA [SEQ ID NO: 167]	ARSHVAWSLLDY [SEQ ID NO: 168]
V_L	SSNIGSNY [SEQ ID NO: 169]	RNN [SEQ ID NO: 170]	AAWDDSLSGVV [SEQ ID NO: 171]
全长V_H	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQG LEWMGGIIPIFGTAKYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARSHVAWSLLDYWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:29]		
DNA	Gaggtccagctggtgcagtctggggctgaggtgaagaagcctgggtcctcggtgaaggtctcctgca aggcttctggaggcaccttcagcagctatgctatcagctgggtgcgacaggcccctggacaagggctt gagtggatgggagggattatccctatctttggtacagcaaaatatgcacagaagttccagggcagagtc acgattaccgcggacgaatccacgagcacagcctacatggagctgagcagcctgagatctgaggaca cggccgtgtattactgtgcgcgctctcatgttgcttggtctctgctggattactggggtcaaggtactctgg tgaccgtctcctca [SEQ ID NO:31]		
全长V_L	SYELTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNYVSWYQQLPGTAPK LLIYRNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAA WDDSLSGVVFGGGTKLTVLG [SEQ ID NO:30]		
DNA	Tcctatgagctgactcagccaccctcagcgtctgggacccccgggcagagggtcaccatctcttgttct ggaagcagctccaacatcggaagtaattatgtatcctggtaccagcagctcccaggaacggcccccaa actcctcatctataggaataatcagcggccctcaggggtccctgaccgattctctggctccaagtctggc acctcagcctccctggccatcagtgggctccggtccgaggatgaggctgattattactgtgcagcatgg gatgacagcctgagtggtgtggtattcggcggagggaccaagctgaccgtcctaggt [SEQ ID NO:32]		
scFv	SYELTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNYVSWYQQLPGTAPK LLIYRNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAA WDDSLSGVVFGGGTKLTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAEV QLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLE WMGGIIPIFGTAKYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDT		
	AVYYCARSHVAWSLLDYWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:107]		

[0443] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含SEQ ID NO:108的氨基酸序列并且特异性地结合GPRC5D多肽(例如,具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的GPRC5D多肽,或其片段),该scFv命名为ET150-159 scFv(也称为“ET150-9 scFv”)。

[0444] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含:包含具有SEQ ID NO:33所示序列的氨基酸的重链可变区和包含具有SEQ ID NO:34所示序列的氨基酸的轻链可变区,任选地具有(iii)在重链可变区和轻链可变区之间的接头序列,例如接头肽。在某些实施方式中,接头包含具有SEQ ID NO:98所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv-Fc融合蛋白或全长人IgG,其V_H和V_L区或CDR选自表9。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:33所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_H,如表9所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_H,其包含具有SEQ ID NO:33所示序列的氨基酸,如表9所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:34所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、

约87％、约88％、约89％、约90％、约91％、约92％、约93％、约94％、约95％、约96％、约97％、约98％或约99％同源的氨基酸序列的V_L，如表9所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含V_L，其包含具有SEQ ID NO:34所示序列的氨基酸，如表9所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:33所示序列的氨基酸的V_H和包含具有SEQ ID NO:34所示序列的氨基酸的V_L，如表9所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:172所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:173所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、和包含具有SEQ ID NO:174所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3，如表9所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:175所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:176所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:177所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3，如表9所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:172所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:173所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:174所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:175所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:176所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:177所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3，如表9所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:172所示序列的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:173所示序列的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:174所示序列的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:175所示序列的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:176所示序列的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:177所示序列的氨基酸的V_L CDR3。

[0445] 表9

[0446]

抗原	具有SEQ ID No: 97的氨基酸序列的GPRC5D多肽		
CDR	1	2	3
V_H	GGTFSSYA [SEQ ID NO:172]	MNPNSGNT [SEQ ID NO:173]	ARYQSYKGSQSDS [SEQ ID NO:174]
V_L	SSNIGSNY[SEQ ID NO:175]	RNN [SEQ ID NO:176]	AAWDDSLSGWV [SEQ ID NO:177]
全长V_H	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQG LEWMGWMNPNSGNTGYAQKFQGRVTMTRNTSISTAYMELSSLR SEDTAVYYCARYQSYKGSQSDSWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:33]		
DNA	Caggtgcagctggtgcagtctggggctgaggtgaagaagcctgggtcctcagtgaaggtctcctgca aggcttctggaggcaccttcagcagctatgctatcagctgggtgcgacaggcccctggacaagggctt gagtggatgggatggatgaaccctaacagtggtaacacaggctatgcacagaagttccagggcagag tcaccatgaccaggaacacctccataagcacagcctacatggagctgagcagcctgagatctgaggac acggccgtgtattactgtgcgcgctaccagtcttacaaaggttctcagtctgattcttggggtcaaggtact ctggtgaccgtctcctca [SEQ ID NO:35]		
全长V_L	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNYVYWYQQLPGTAP KLLIYRNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCA AWDDSLSGWVFGGGTKLTVLG [SEQ ID NO:34]		
DNA	Cagtctgtgttgacgcagccaccctcagcgtctgggacccccgggcagagggtcaccatctcttgttct ggaagcagctccaacatcggaagtaattatgtatactggtaccagcagctcccaggaacggccccaa actcctcatctataggaataatcagcggccctcaggggtccctgaccgattctctggctccaagtctggc acctcagcctccctggccatcagtgggctccggtccgaggatgaggctgattattactgtgcagcatgg gatgacagcctgagtggttgggtgttcggcggagggaccaagctgaccgtcctaggt [SEQ ID NO:36]		
scFv	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNYVYWYQQLPGTAP KLLIYRNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCA AWDDSLSGWVFGGGTKLTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQG LEWMGWMNPNSGNTGYAQKFQGRVTMTRNTSISTAYMELSSLR SEDTAVYYCARYQSYKGSQSDSWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:108]		

[0447] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含SEQ ID NO:109的氨基酸序列并且特异性地结合GPRC5D多肽(例如,具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的GPRC5D多肽,或其片段),该scFv命名为ET150-160 scFv(也称为“ET150-10 scFv”)。

[0448] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含:包含具有SEQ ID NO:37所示序列的氨基酸的重链可变区和包含具有SEQ ID NO:38所示序列的氨基酸的轻链可变区,任选地具有(iii)在重链可变区和轻链可变区之间的接头序列,例如接头肽。在某些实施方式中,接头包含具有SEQ ID NO:98所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv-Fc融合蛋白或全长人IgG,其V_H和V_L区或CDR选自表10。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:37所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_H,如表10所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_H,其包含具有SEQ ID NO:37所示序列的氨基酸,如表10所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ

ID NO:38所示的氨基酸序列至少约80％、约81％、约82％、约83％、约84％、约85％、约86％、约87％、约88％、约89％、约90％、约91％、约92％、约93％、约94％、约95％、约96％、约97％、约98％或约99％同源的氨基酸序列的V_L,如表10所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_L,其包含具有SEQ ID NO:38所示序列的氨基酸,如表10所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:37所示序列的氨基酸的V_H和包含具有SEQ ID NO:38所示序列的氨基酸的V_L,如表10所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:178所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:179所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、和包含具有SEQ ID NO:180所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3,如表10所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:181所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:182所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:183所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3,如表10所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:178所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:179所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:180所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:181所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:182所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:183所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3,如表10所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:178所示序列的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:179所示序列的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:180所示序列的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:181所示序列的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:182所示序列的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:183所示序列的氨基酸的V_L CDR3。

[0449] 表10

[0450]

抗原	具有SEQ ID No: 97的氨基酸序列的GPRC5D多肽		
CDR	1	2	3
V_H	GYTFTSYY[SEQ ID NO:178]	INPSGGST [SEQ ID NO:179]	ARGGSKKWSGEKW RRENFDY [SEQ ID NO:180]
V_L	SSDVGGYNY [SEQ ID NO:181]	DVS [SEQ ID NO:182]	SSYTRSSTEV [SEQ ID NO:183]
全长V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCARGGSKKWSGEKWRRENFDYWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:37]		
DNA	Gaggtccagctggtacagtctggggctgaggtgaagaagcctggggcctcagtgaaggtttcctgcaa ggcatctggatacaccttcaccagctactatatgcactgggtgcgacaggcccctggacaagggcttga gtggatgggaataatcaaccctagtggtggtagcacaagctacgcacagaagttccagggcagagtcac catgaccagggacacgtccacgagcacagtctacatggagctgagcagcctgagatctgaggacacg gccgtgtattactgtgcgcgcggtggttctaaaaaatggtctggtgaaaaatggcgtcgtgaaaacttcga ttactggggtcaaggtactctggtgaccgtctcctca [SEQ ID NO:39]		
全长V_L	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKA PKLMIYDVSKRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCS SYTRSSTEVFGGGTKLTVLG [SEQ ID NO:38]		

[0451]

DNA	Caatctgccctgactcagcctgcctccgtgtctgggtctcctggacagtcgatcaccatctcctgcactgg aaccagcagtgacgttggtggttataactatgtctcctggtaccaacagcacccaggcaaagcccccaaa ctcatgatttatgatgtcagtaagcggccctcaggggtttctaatcgcttctctggctccaagtctggcaaca cggcctccctgaccatctctgggctccaggctgaggacgaggctgattattactgcagctcatatacaag aagcagcactgaggtattcggcggagggaccaagctgaccgtcctaggt [SEQ ID NO:40]
scFv	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKA PKLMIYDVSKRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCS SYTRSSTEVFGGGTKLTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQ LVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLE WMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDT AVYYCARGGSKKWSGEKWRRENFDYWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:109]

[0452] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含SEQ ID NO:110的氨基酸序列并且特异性地结合GPRC5D多肽(例如,具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的GPRC5D多肽,或其片段),该scFv命名为ET150-161 scFv(也称为“ET150-11 scFv”)。

[0453] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含:包含具有SEQ ID NO:41所示序列的氨基酸的重链可变区和包含具有SEQ ID NO:42所示序列的氨基酸的轻链可变区,任选地具有(iii)在重链可变区和轻链可变区之间的接头序列,例如接头肽。在某些实施方式中,接头包含具有SEQ ID NO:98所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv-Fc融合蛋白或全长人IgG,其V_H和V_L区或CDR选自表11。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:41所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_H,如表11所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_H,其包含具有SEQ ID NO:41所

示序列的氨基酸,如表11所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:42所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_L,如表11所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_L,其包含具有SEQ ID NO:42所示序列的氨基酸,如表11所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:41所示序列的氨基酸的V_H和包含具有SEQ ID NO:42所示序列的氨基酸的V_L,如表11所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:184所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:185所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、和包含具有SEQ ID NO:186所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3,如表11所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:187所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:188所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:189所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3,如表11所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:184所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:185所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:186所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:187所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:188所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:189所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3,如表11所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:184所示序列的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:185所示序列的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:186所示序列的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:187所示序列的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:188所示序列的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:189所示序列的氨基酸的V_L CDR3。

[0454] 表11

[0455]

抗原	具有SEQ ID No: 97的氨基酸序列的GPRC5D多肽		
CDR	1	2	3
V_H	EYTFTRHI [SEQ ID NO: 184]	INPGNGNT [SEQ ID NO: 185]	ARLPDQ [SEQ ID NO: 186]
V_L	SSNIGSNT [SEQ ID NO: 187]	RNN [SEQ ID NO: 188]	AAWDDSLSGL [SEQ ID NO:189]
全长V_H	QMQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASEYTFTRHILHWVRQAPGQ SLEWMGWINPGNGNTKYSQKFQVRVTFTRDTSASTVYMELSSLR SEDTAVYYCARLPDQWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:41]		

[0456]

DNA	Cagatgcagctggtgcagtctggggctgaggtgaagaagcctggggcctcagtgaaggtttcctgcaaggcttctgaatacaccttcactaggcatattctacattgggtgcgccaggctcccggacaaagccttgagtggatgggatggatcaacccaggcaatggtaatacaaaatattcacagaagttccaggtcagagtcaccttaccagggacacatccgcgagcacagtctatatggagctgagcagcctgagatctgaagacacggccgtgtattactgtgcgcgcctgccggatcagtggggtcaaggtactctggtgaccgtctcctca [SEQ ID NO:43]
全长V_L	SYVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLIYRNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLSGLFGTGTKVTVLG [SEQ ID NO:42]
DNA	Tcctatgtgctgactcagccaccctcagcgtctgggacccccgggcagagggtcaccatctcttgttctggaagcagctccaacatcggaagtaatactgtaaactggtaccagcagctcccaggaacggccccaaactcctcatctataggaataatcagcggccctcaggggtccctgaccgattctctggctccaagtctggcacctcagcctccctggccatcagtgggctccggtccgaggatgaggctgattattactgtgcagcatggatgacagcctgagtggtctcttcggaactgggaccaaggtcaccgtcctaggt [SEQ ID NO:44]
scFv	SYVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLIYRNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLSGLFGTGTKVTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAQMQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASEYTFTRHILHWVRQAPGQSLEWMGWINPGNGNTKYSQKFQVRVTFTRDTSASTVYMELSSLRSEDTAVYYCARLPDQWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:110]

[0457] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含SEQ ID NO:111的氨基酸序列并且特异性地结合GPRC5D多肽(例如,具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的GPRC5D多肽,或其片段),该scFv命名为ET150-162 scFv(也称为“ET150-12 scFv”)。

[0458] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含:包含具有SEQ ID NO:45所示序列的氨基酸的重链可变区和包含具有SEQ ID NO:46所示序列的氨基酸的轻链可变区,任选地具有(iii)在重链可变区和轻链可变区之间的接头序列,例如接头肽。在某些实施方式中,接头包含具有SEQ ID NO:98所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv-Fc融合蛋白或全长人IgG,其V_H和V_L区或CDR选自表12。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_H,如表12所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_H,其包含具有SEQ ID NO:45所示序列的氨基酸,如表12所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:46所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_L,如表12所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_L,其包含具有SEQ ID NO:46所示序列的氨基酸,如表12所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:45所示序列的氨基酸的V_H和包含具有SEQ ID NO:46所示序列的氨基酸的V_L,如表12所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:190所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:191所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、和包含具有SEQ ID NO:192所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3,如表12所示。在某些实施方式中,细胞外抗原

结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:193所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:194所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:195所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3,如表12所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:190所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:191所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:192所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:193所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:194所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:195所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3,如表12所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:190所示序列的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:191所示序列的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:192所示序列的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:193所示序列的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:194所示序列的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:195所示序列的氨基酸的V_L CDR3。

[0459] 表12

抗原	具有SEQ ID No: 97的氨基酸序列的GPRC5D多肽		
CDR	1	2	3
V_H	GFTFGDYG [SEQ ID NO: 190]	INWNGGST [SEQ ID NO: 191]	ARSKQDY [SEQ ID NO: 192]
V_L	SRDAGGYNY [SEQ ID NO: 193]	EVT [SEQ ID NO: 194]	SSYGGSNNFRV [SEQ ID NO:195]
全长V_H	EVQLVESGGGVVRPGGSLRLSCAASGFTFGDYGMSWVRQAPGK GLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLR AEDTAVYYCARSKQDYWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:45]		
DNA	Gaggtgcagctggtggagtctgggggaggtgtggtacggcctgggggtccctgagactctcctgtg cagcctctggattcacctttggtgattatggcatgagctgggtccgccaagctccagggaaggggctgg agtgggtctctggtattaattggaatggtggtagcacaggttatgcagactctgtgaagggccgattcacc atctccagagacaacgccaagaactccctgtatctgcaaatgaacagtctgagagccgaggacacggc cgtatattactgtgcgcgctctaaacaggattactggggtcaaggtactctggtgaccgtctcctca [SEQ ID NO:47]		
全长V_L	QSALTQPPSASGSPGQSVTISCTGTSRDAGGYNYFSWYQQHPGKA PKLLIYEVTKRPSGVPDRFSGSKSGKTASLTVSGLQADDEAVYYC SSYGGSNNFRVFGGGTKLTVLG [SEQ ID NO:46]		
DNA	Cagtctgccctgactcagcctccctccgcgtccgggtctcctggacagtcagtcaccatctcctgcactg gaaccagcagggacgctggtggttataattatttctcctggtaccaacaacacccaggcaaagccccca aactcctgatttatgaggtcactaagcggccctcaggggtccctgatcgcttctctggctccaagtctggc aagacggcctccctgaccgtctctgggctccaggctgacgatgaggctgtatattactgcagctcatatg		
	gaggcagcaacaactttcgggtgttcggcggagggaccaagctgaccgtcctaggt [SEQ ID NO:48]		
scFv	QSALTQPPSASGSPGQSVTISCTGTSRDAGGYNYFSWYQQHPGKA PKLLIYEVTKRPSGVPDRFSGSKSGKTASLTVSGLQADDEAVYYC SSYGGSNNFRVFGGGTKLTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA EVQLVESGGGVVRPGGSLRLSCAASGFTFGDYGMSWVRQAPGK GLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLR AEDTAVYYCARSKQDYWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:111]		

[0460]

[0461] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含SEQ ID NO:112的氨基酸序列并且特异性地结合GPRC5D多肽(例如,具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的GPRC5D多肽,或其片段),该scFv命名为ET150-163 scFv(也称为"ET150-13 scFv")。

[0462] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含:包含具有SEQ ID NO:49所示序列的氨基酸的重链可变区和包含具有SEQ ID NO:50所示序列的氨基酸的轻链可变区,任选地具有(iii)在重链可变区和轻链可变区之间的接头序列,例如接头肽。在某些实施方式中,接头包含具有SEQ ID NO:98所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv-Fc融合蛋白或全长人IgG,其V_H和V_L区或CDR选自表13。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:49所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_H,如表13所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_H,其包含具有SEQ ID NO:49所示序列的氨基酸,如表13所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_L,如表13所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_L,其包含具有SEQ ID NO:50所示序列的氨基酸,如表13所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:49所示序列的氨基酸的V_H和包含具有SEQ ID NO:50所示序列的氨基酸的V_L,如表13所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:196所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:197所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、和包含具有SEQ ID NO:198所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3,如表13所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:199所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:200所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:201所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3,如表13所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:196所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:197所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:198所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:199所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:200所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:201所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3,如表13所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:196所示序列的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:197所示序列的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:198所示序列的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:199所示序列的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:200所示序列的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:201所示序列的氨基酸的V_L CDR3。

[0463] 表13

[0464]

抗原	具有SEQ ID No: 97的氨基酸序列的GPRC5D多肽		
CDR	1	2	3
V_H	GFSFSGTA[SEQ ID NO: 196]	ISSTGRST [SEQ ID NO: 197]	ARVSFDY [SEQ ID NO: 198]
V_L	SSNIGAGYD [SEQ ID NO: 199]	GNS [SEQ ID NO:200]	QSYDSSLSGSYV [SEQ ID NO:201]
全长V_H	EVQLVETGGNLVQPGASLRLSCAASGFSFSGTAMHWVRQAPGK GLEWVSTISSTGRSTYYRDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRG EDTAVYYCARVSFDYWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:49]		
DNA	Gaggtgcagctggtggagactgggggaaacttggtacagccgggggcgtccctgagactctcctgtg cagcctctggattcagctttagtggcactgccatgcactgggtccgccaggctccagggaaggggctg gaatgggtctcgactattagtagtactgggcgtagcacatactacagagactccgtgaagggccggttc accatctccagagacaattccaagaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgagaggcgaggacac ggccgtatattactgtgcgcgcgtttctttcgattactggggtcaaggtactctggtgaccgtctcctca [SEQ ID NO:51]		
全长V_L	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTA PKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYC QSYDSSLSGSYVFGTGTKLTVLG [SEQ ID NO:50]		
DNA	Cagtctgtcgtgacgcagccgccctcagtgtctggggccccagggcagagggtcaccatctcctgca ctgggagcagctccaacatcggggcaggttatgatgtacactggtaccagcagcttccaggaacagcc cccaaactcctcatctatggtaacagcaatcggccctcaggggtccctgaccgattctctggctccaagt ctggcacctcagcctccctggccatcactgggctccaggctgaggatgaggctgattattactgccagt cctatgacagcagcctgagtggctcctacgtcttcggaactgggaccaagctgaccgtcctaggt [SEQ ID NO:52]		
scFv	QSVVTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTA PKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYC QSYDSSLSGSYVFGTGTKLTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA EVQLVETGGNLVQPGASLRLSCAASGFSFSGTAMHWVRQAPGK GLEWVSTISSTGRSTYYRDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRG EDTAVYYCARVSFDYWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:112]		

[0465] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含SEQ ID NO:113的氨基酸序列并且特异性地结合GPRC5D多肽(例如,具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的GPRC5D多肽,或其片段),该scFv命名为ET150-151 scFv(也称为“ET150-1 scFv”)。

[0466] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:53所示序列的氨基酸的重链可变区和包含具有SEQ ID NO:54所示序列的氨基酸的轻链可变区,任选地具有(iii)在重链可变区和轻链可变区之间的接头序列,例如接头肽。在某些实施方式中,接头包含具有SEQ ID NO:98所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv-Fc融合蛋白或全长人IgG,其V_H和V_L区或CDR选自表14。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:53所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_H,如表14所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_H,其包含具有SEQ ID NO:53所示序列的氨基酸,如表14所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约

87％、约88％、约89％、约90％、约91％、约92％、约93％、约94％、约95％、约96％、约97％、约98％或约99％同源的氨基酸序列的V_L，如表14所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含V_L，其包含具有SEQ ID NO:54所示序列的氨基酸，如表14所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:53所示序列的氨基酸的V_H和包含具有SEQ ID NO:54所示序列的氨基酸的V_L，如表14所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:202所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:203所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、和包含具有SEQ ID NO:204所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3，如表14所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:205所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:206所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:207所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3，如表14所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:202所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:203所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:204所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:205所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:206所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:207所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3，如表14所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:202所示序列的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:203所示序列的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:204所示序列的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:205所示序列的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:206所示序列的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:207所示序列的氨基酸的V_L CDR3。

[0467] 表14

[0468]

抗原	具有SEQ ID No: 97的氨基酸序列的GPRC5D多肽		
CDR	1	2	3
V_H	GFTFSSYA [SEQ ID NO: 202]	ISGRGRST [SEQ ID NO: 203]	ARYYHAGAFDL [SEQ ID NO: 204]
V_L	SSDVGGYNY [SEQ ID NO: 205]	DVS [SEQ ID NO: 206]	SSYTSSSTLV [SEQ ID NO: 207]
全长V_H	EVQLVESGGAFVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMTWVRQAPGKG LEWVSTISGRGRSTFYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAE DTAVYYCARYYHAGAFDLWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:53]		
DNA	Gaggtgcagctggtggagtctgggggagcctttgtacagcctgggggtccctgagactctcctgtgc agcctctggattcacctttagcagctatgccatgacctgggtccgccaggctccagggaagggcctgga atgggtctcgactattagtggtcgtggtcgtagcacattctacgcagactccgtgaagggccggtttacca tctccagagacaattccaagaacacgctatatctgcaaatgaacagtctgagagccgaggacacggcc gtatattactgtgcgcgctactaccatgctggtgctttcgatctgtggggtcaaggtactctggtgaccgtc tcctca [SEQ ID NO:55]		
全长V_L	QSVVTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKA PKLMIYDVSKRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYC SSYTSSSTLVFGGGTKLTVLG [SEQ ID NO:54]		
DNA	Cagtctgtcgtgacgcagcctgcctccgtgtctgggtctcctggacagtcgatcaccatctcctgcactg gaaccagcagtgacgttggtggttataactatgtctcctggtaccaacagcacccaggcaaagccccca aactcatgatttatgatgtcagtaagcggccctcaggggtttctaatcgcttctctggctccaagtctggca acacggcctccctgaccatctctgggctccaggctgaggacgaggctgattattactgcagctcatatac		
	aagcagcagcactttggtattcggcggagggaccaagctgaccgtcctaggt [SEQ ID NO:56]		
scFv	QSVVTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKA PKLMIYDVSKRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYC SSYTSSSTLVFGGGTKLTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAEV QLVESGGAFVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMTWVRQAPGKGLE WVSTISGRGRSTFYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCARYYHAGAFDLWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:113]		

[0469] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含SEQ ID NO:114的氨基酸序列并且特异性地结合GPRC5D多肽(例如,具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的GPRC5D多肽,或其片段),该scFv命名为ET150-152 scFv(也称为"ET150-2 scFv")。

[0470] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含:包含具有SEQ ID NO:57所示序列的氨基酸的重链可变区和包含具有SEQ ID NO:58所示序列的氨基酸的轻链可变区,任选地具有(iii)在重链可变区和轻链可变区之间的接头序列,例如接头肽。在某些实施方式中,接头包含具有SEQ ID NO:98所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv-Fc融合蛋白或全长人IgG,其V_H和V_L区或CDR选自表15。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:57所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_H,如表15所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_H,其包含具有SEQ ID NO:57所示序列的氨基酸,如表15所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:58所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、

约98％或约99％同源的氨基酸序列的V_L，如表15所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含V_L，其包含具有SEQ ID NO:58所示序列的氨基酸，如表15所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:57所示序列的氨基酸的V_H和包含具有SEQ ID NO:58所示序列的氨基酸的V_L，如表15所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:208所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:209所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、和包含具有SEQ ID NO:210所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3，如表15所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:211所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:212所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:213所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3，如表15所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:208所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:209所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:210所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:211所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:212所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:213所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3，如表15所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:208所示序列的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:209所示序列的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:210所示序列的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:211所示序列的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:212所示序列的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:213所示序列的氨基酸的V_L CDR3。

[0471] 表15

[0472]

抗原	具有SEQ ID No: 97的氨基酸序列的GPRC5D多肽		
CDR	1	2	3
V_H	GYTFNRYA [SEQ ID NO: 208]	ISAYNGNS [SEQ ID NO: 209]	ARMAYDS [SEQ ID NO: 210]
V_L	SNDVGAYKY [SEQ ID NO: 211]	DVF [SEQ ID NO: 212]	FSLTSSNTYV [SEQ ID NO: 213]
全长V_H	QMQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFNRYAITWVRQAPGQ GLEWMGWISAYNGNSHYAQKLQGRVTMTTDTSTGTAYMELRRL RSDDTAVYYCARMAYDSWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:57]		
DNA	Cagatgcagctggtgcagtctggagctgaggtgaagaagcctggggcctcagtgaaggtctcctgcaa ggcttctggttacacctttaacagatatgctatcacctgggtgcgacaggcccctggacaaggccttgagt ggatgggatggatcagcgcttacaatggtaattcacactatgcacagaagctccagggcagagtcaccat gaccacagacacatccacgggcacagcctatatggagctgaggaggctgagatctgacgacacggcc gtgtattactgtgcgcgcatggcttacgattcttggggtcaaggtactctggtgaccgtctcctca [SEQ ID NO:59]		
全长V_L	QSVLTQPASVSGSPGQSLTISCTGTSNDVGAYKYVSWYQQYPGKA PKLILYDVFKRPSGVSNRFSGSKSDNTASLTISGLQAEDEADYYCF SLTSSNTYVFGTGTKVTVLG [SEQ ID NO:58]		
DNA	Cagtctgtgttgacgcagcctgcctccgtgtctgggtctcctggacagtcgctcaccatctcctgcactgg aaccagcaatgacgttggtgcttataagtatgtctcctggtatcaacagtacccaggcaaagcccccaaac tcatactttatgatgtctttaagcggccctcaggggtctctaatcgcttctctggctccaagtctgacaacac ggcctccctgaccatctctgggctccaggctgaggacgaggctgattattactgcttctcacttacaagca gtaacacttatgtcttcggaactgggaccaaggtcaccgtcctaggt [SEQ ID NO:60]		

[0473]

scFv	QSVLTQPASVSGSPGQSLTISCTGTSNDVGAYKYVSWYQQYPGKA PKLILYDVFKRPSGVSNRFSGSKSDNTASLTISGLQAEDEADYYCF SLTSSNTYVFGTGTKVTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAQMQ LVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFNRYAITWVRQAPGQGLEW MGWISAYNGNSHYAQKLQGRVTMTTDTSTGTAYMELRRLRSDD TAVYYCARMAYDSWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:114]

[0474] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含SEQ ID NO:115的氨基酸序列并且特异性地结合GPRC5D多肽(例如,具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的GPRC5D多肽,或其片段),该scFv命名为ET150-155 scFv(也称为"ET150-5 scFv")。

[0475] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含:包含具有SEQ ID NO:61所示序列的氨基酸的重链可变区和包含具有SEQ ID NO:62所示序列的氨基酸的轻链可变区,任选地具有(iii)在重链可变区和轻链可变区之间的接头序列,例如接头肽。在某些实施方式中,接头包含具有SEQ ID NO:98所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv-Fc融合蛋白或全长人IgG,其V_H和V_L区或CDR选自表16。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_H,如表16所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_H,其包含具有SEQ ID NO:61所示序列的氨基酸,如表16所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:62所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、

约87％、约88％、约89％、约90％、约91％、约92％、约93％、约94％、约95％、约96％、约97％、约98％或约99％同源的氨基酸序列的V_L，如表16所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含V_L，其包含具有SEQ ID NO:62所示序列的氨基酸，如表16所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:61所示序列的氨基酸的V_H和包含具有SEQ ID NO:62所示序列的氨基酸的V_L，如表16所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:214所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:215所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、和包含具有SEQ ID NO:216所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3，如表16所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:217所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:218所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:219所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3，如表16所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含V_H CDR1包含：包含具有SEQ ID NO:214所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:215所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:216所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:217所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:218所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:219所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3，如表16所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:214所示序列的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:215所示序列的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:216所示序列的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:217所示序列的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:218所示序列的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:219所示序列的氨基酸的V_L CDR3。

[0476] 表16

抗原	具有SEQ ID No: 97的氨基酸序列的GPRC5D多肽		
CDR	1	2	3
V_H	GFTFSDYY [SEQ ID NO: 214]	ISSSGSTI [SEQ ID NO: 215]	ARGYGKAYDQ [SEQ ID NO: 216]
V_L	RSNVGGNY [SEQ ID NO: 217]	RSN [SEQ ID NO: 218]	ATWDDSLSGFV [SEQ ID NO: 219]

[0477]

全长V_H	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGYGKAYDQWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:61]
DNA	Gaggtgcagctggtggagtctgggggaggcttggtcaagcctggagggtccctgagactctcctgtgcagcctctggattcaccttcagtgactactacatgagctggatccgccaggctccagggaaggggctggagtgggtttcatacattagtagtagtggtagtaccatatactacgcagactctgtgaagggccgattcaccatctccagggacaacgccaagaactcactgtatctgcaaatgaacagcctgagagccgaggacacggccgtatattactgtgcgcgcggttacggtaaagcttacgatcagtggggtcaaggtactctggtgaccgtctcctca [SEQ ID NO:63]

[0478]

全长V_L	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSRSNVGGNYVFWYQQVPGATP KLLIYRSNQRPSGVPDRFAGSKSGSSASLAISGLRSEDEADYYCAT WDDSLSGFVFGTGTKVTVLG [SEQ ID NO:62]
DNA	Cagtctgtgttgactcagccaccctcagcgtctgggacccccggacagagggtcaccatctcttgttct ggaagcaggtccaacgtaggaggtaattatgtattttggtaccagcaagtcccggagcgaccccaa actcctcatctataggagtaatcagcggccctcgggggtccctgaccgattcgctggctccaagtctgg ctcctcagcctccctggccatcagtggactccggtccgaggatgaggctgattattactgtgcaacatgg gatgacagcctgagtggttttgtcttcggaactgggaccaaggtcaccgtcctaggt [SEQ ID NO:64]
scFv	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSRSNVGGNYVFWYQQVPGATP KLLIYRSNQRPSGVPDRFAGSKSGSSASLAISGLRSEDEADYYCAT WDDSLSGFVFGTGTKVTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAEV QLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLE WVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDT AVYYCARGYGKAYDQWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:115]

[0479] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含SEQ ID NO:116的氨基酸序列并且特异性地结合GPRC5D多肽(例如,具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的GPRC5D多肽,或其片段),该scFv命名为ET150-158 scFv(也称为"ET150-8 scFv")。

[0480] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含:包含具有SEQ ID NO:65所示序列的氨基酸的重链可变区和包含具有SEQ ID NO:66所示序列的氨基酸的轻链可变区,任选地具有(iii)在重链可变区和轻链可变区之间的接头序列,例如接头肽。在某些实施方式中,接头包含具有SEQ ID NO:98所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv-Fc融合蛋白或全长人IgG,其V_H和V_L区或CDR选自表17。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_H,如表17所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_H,其包含具有SEQ ID NO:65所示序列的氨基酸,如表17所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:66所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_L,如表17所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_L,其包含具有SEQ ID NO:66所示序列的氨基酸,如表17所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:65所示序列的氨基酸的V_H和包含具有SEQ ID NO:66所示序列的氨基酸的V_L,如表17所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:220所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:221所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、和包含具有SEQ ID NO:222所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3,如表17所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:223所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:224所示序列的氨基酸或其保守修饰的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:225所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3,如表17所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:220所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:221所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:

222所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:223所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:224所示序列的氨基酸或其保守修饰的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:225所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3,如表17所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:220所示序列的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:221所示序列的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:222所示序列的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:223所示序列的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:224所示序列的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:225所示序列的氨基酸的V_L CDR3。

[0481] 表17

[0482]

抗原	具有SEQ ID No: 97的氨基酸序列的GPRC5D多肽		
CDR	1	2	3
V_H	GFTFRSHS [SEQ ID NO: 220]	ISSDSTYT [SEQ ID NO: 221]	ARSGGQWKYYDY [SEQ ID NO: 222]
V_L	SLRSYY [SEQ ID NO: 223]	GKN [SEQ ID NO: 224]	NSRDSSGNPPVV [SEQ ID NO: 225]

[0483]

全长V_H	QVQLVESGGGLVHPGGSLRLSCAASGFTFRSHSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSDSTYTYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGGQWKYYDYWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:65]
DNA	Caggtgcagctggtggagtctgggggaggcctggtccaccctgggggtccctgagactctcctgtgcagcctctggattcaccttcagaagccatagcatgaactgggtccgccaggctccagggaaggggctggagtgggtctcatccattagtagtgatagtacttacacatactacgcagactcagtgaagggccgattcaccatctccagagacaacgccaagaactcactgtatctgcaaatgaacagcctgagagccgaggacacggccgtatattactgtgcgcgctctggtggtcagtggaaatactacgattactggggtcaaggtactctggtgaccgtctcctca [SEQ ID NO:67]
全长V_L	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSSGNPPVVFGGGTKLTVLG [SEQ ID NO:66]
DNA	Tcttctgagctgactcaggaccctgctgtgtctgtggccttgggacagacagtcaggatcacatgccaaggagacagcctcagaagctattatgcaagctggtaccagcagaagccaggacaggcccctgtacttgtcatctatggtaaaaacaaccggccctcagggatcccagaccgattctctggctccagctcaggaaacacagcttccttgaccatcactggggctcaggcggaagatgaggctgactattactgtaactcccgggacagcagtggtaaccccccctgtggtattcggcggagggaccaagctgaccgtcctaggt [SEQ ID NO:68]
scFv	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYASWYQQKPGQAPVLVIYGKNNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSSGNPPVVFGGGTKLTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAQVQLVESGGGLVHPGGSLRLSCAASGFTFRSHSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSDSTYTYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGGQWKYYDYWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:116]

[0484] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含SEQ ID NO:117的氨基酸序列并且特异性地结合GPRC5D多肽(例如,具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的GPRC5D多肽,或其片段),该scFv命名为ET150-168 scFv(也称为“ET150-18 scFv”)。

[0485] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含:包含具有SEQ ID NO:69所示序列的氨基酸的重链可变区和包含具有SEQ ID NO:70所示序列的氨基酸的轻链可

变区,任选地具有(iii)在重链可变区和轻链可变区之间的接头序列,例如接头肽。在某些实施方式中,接头包含具有SEQ ID NO:98所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv-Fc融合蛋白或全长人IgG,其V_H和V_L区或CDR选自表18。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:69所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_H,如表18所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_H,其包含具有SEQ ID NO:69所示序列的氨基酸,如表18所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:70所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_L,如表18所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_L,其包含具有SEQ ID NO:70所示序列的氨基酸,如表18所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:69所示序列的氨基酸的V_H和包含具有SEQ ID NO:70所示序列的氨基酸的V_L,如表18所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:226所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:227所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、和包含具有SEQ ID NO:228所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3,如表18所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:229所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:230所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:231所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3,如表18所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:226所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:227所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:228所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:229所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:230所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:231所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3,如表18所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:226所示序列的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:227所示序列的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:228所示序列的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:229所示序列的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:230所示序列的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:231所示序列的氨基酸的V_L CDR3。

[0486] 表18

[0487]

抗原	具有SEQ ID No: 97的氨基酸序列的GPRC5D多肽		
CDR	1	2	3
V_H	GFTFSNYA [SEQ ID NO: 226]	INGRGSST [SEQ ID NO: 227]	ARYISRGLGDS [SEQ ID NO: 228]
V_L	NSNIERNY[SEQ ID NO: 229]	DND [SEQ ID NO: 230]	GTWDSSLRGWV [SEQ ID NO: 231]
全长V_H	EVQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMNWVRQAPGKG LEWVSTINGRGSSTIYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TATYYCARYISRGLGDSWGQGTLVTV [SEQ ID NO:69]		
DNA	Gaggtgcagctggtggagtccgggggaggcttgatacagcctgggggtccctgagactctcctgtgc agcctctggattcacctttagcaactatgccatgaactgggtccgccaggctccagggaaggggctgga gtgggtctcaactattaatggtcgtggtagtagtacaatctacgcagactccgtgaagggccggttcacca tctccagagacaattccaagaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgagagccgaggacacagcca cgtattactgtgcgcgctacatctctcgtggtctgggtgattcttggggtcaaggtactctggtgaccgtctc ctca [SEQ ID NO:71]		
全长V_L	QSVVTQPPSMSAAPGQQVTISCSGGNSNIERNYVSWYLQLPGTAP KLVIFDNDRRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGT WDSSLRGWVFGGGTKLTVLG [SEQ ID NO:70]		
DNA	Cagtctgtcgtgacgcagccgccctcaatgtctgcggccccaggacagcaagtcaccatctcctgctct ggaggcaactccaacattgagagaaattatgtatcctggtacctccagctccctggaacagccccaaac tcgtcatttttgacaatgataggcgaccctcagggattcctgaccgattctctggctccaagtctggcacgt cagccaccctgggcatcaccggactccagactggggacgaggccgattattactgcggaacatgggat agcagcctgagaggttgggtgttcggcggagggaccaagctgaccgtcctaggt [SEQ ID		
	NO:72]		
scFv	QSVVTQPPSMSAAPGQQVTISCSGGNSNIERNYVSWYLQLPGTAP KLVIFDNDRRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGT WDSSLRGWVFGGGTKLTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAEV QLVESGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMNWVRQAPGKGLE WVSTINGRGSSTIYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDT ATYYCARYISRGLGDSWGQGTLVTV [SEQ ID NO:117]		

[0488] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含SEQ ID NO:118的氨基酸序列并且特异性地结合GPRC5D多肽(例如,具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的GPRC5D多肽,或其片段),该scFv命名为ET150-164 scFv(也称为"ET150-14 scFv")。

[0489] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含:包含具有SEQ ID NO:73所示序列的氨基酸的重链可变区和包含具有SEQ ID NO:74所示序列的氨基酸的轻链可变区,任选地具有(iii)在重链可变区和轻链可变区之间的接头序列,例如接头肽。在某些实施方式中,接头包含具有SEQ ID NO:98所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv-Fc融合蛋白或全长人IgG,其V_H和V_L区或CDR选自表19。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:73所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_H,如表19所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_H,其包含具有SEQ ID NO:73所示序列的氨基酸,如表19所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:74所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、

约87％、约88％、约89％、约90％、约91％、约92％、约93％、约94％、约95％、约96％、约97％、约98％或约99％同源的氨基酸序列的V_L，如表19所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含V_L，其包含具有SEQ ID NO:74所示序列的氨基酸，如表19所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:73所示序列的氨基酸的V_H和包含具有SEQ ID NO:74所示序列的氨基酸的V_L，如表19所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:232所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:233所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、和包含具有SEQ ID NO:234所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3，如表19所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:235所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:236所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:237所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3，如表19所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:232所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:233所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:234所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3，包含具有SEQ ID NO:235所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:236所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:237所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3，如表19所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:232所示序列的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:233所示序列的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:234所示序列的氨基酸的V_H CDR3，包含具有SEQ ID NO:235所示序列的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:236所示序列的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:237所示序列的氨基酸的V_L CDR3。

[0490] 表19

[0491]

抗原	具有SEQ ID No: 97的氨基酸序列的GPRC5D多肽		
CDR	1	2	3
V_H	GYTFTSYY [SEQ ID NO: 232]	INPSGGST [SEQ ID NO: 233	ARAGMGMDT [SEQ ID NO: 234]
V_L	SSDVGGYNY [SEQ ID NO: 235]	EVS [SEQ ID NO: 236]	SSYAGSNTLV [SEQ ID NO: 237]
全长V_H	QMQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPG QGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSL RSEDTAVYYCARAGMGMDTWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:73]		
DNA	Cagatgcagctggtgcagtctggggctgaggtgaagaagcctggggcctcagtgaaggtttcctgca aggcatctggatacaccttcaccagctactatatgcactgggtgcgacaggcccctggacaagggcttg agtggatgggaataatcaaccctagtggtggtagcacaagctacgcacagaagttccagggcagagtc accatgaccagggacacgtccacgagcacagtctacatggagctgagcagcctgagatctgaggaca cggccgtgtattactgtgcgcgcgctggtatgggtatggatacttggggtcaaggtactctggtgaccgt ctcctca [SEQ ID NO:75]		
全长V_L	QSALTQPPSASGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGK APKLMIYEVSKRPSGVPDRFSGSKSGNTASLTVSGLQAEDEADYY CSSYAGSNTLVFGGGTKLTVLG [SEQ ID NO:74]		
DNA	Cagtctgccctgactcagcctccctccgcgtccgggtctcctggacagtcagtcaccatctcctgcact ggaaccagcagtgacgttggtggttataactatgtctcctggtaccaacagcacccaggcaaagccccc aaactcatgatttatgaggtcagtaagcggccctcaggggtccctgatcgcttctctggctccaagtctgg caacacggcctccctgaccgtctctgggctccaggctgaggatgaggctgattattactgcagctcatat gcaggcagcaacaccttggtgttcggcggagggaccaagctgaccgtcctaggt [SEQ ID NO:76]		
scFv	QSALTQPPSASGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGK APKLMIYEVSKRPSGVPDRFSGSKSGNTASLTVSGLQAEDEADYY CSSYAGSNTLVFGGGTKLTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA QMQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPG QGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSL RSEDTAVYYCARAGMGMDTWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:118]		

[0492] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含SEQ ID NO:119的氨基酸序列并且特异性地结合GPRC5D多肽(例如,具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的GPRC5D多肽,或其片段),该scFv命名为ET150-165 scFv(也称为“ET150-15 scFv”)。

[0493] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含:包含具有SEQ ID NO:77所示序列的氨基酸的重链可变区和包含具有SEQ ID NO:78所示序列的氨基酸的轻链可变区,任选地具有(iii)在重链可变区和轻链可变区之间的接头序列,例如接头肽。在某些实施方式中,接头包含具有SEQ ID NO:98所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv-Fc融合蛋白或全长人IgG,其V_H和V_L区或CDR选自表20。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:77所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_H,如表20所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_H,其包含具有SEQ ID NO:77所示序列的氨基酸,如表20所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:78所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、

约87％、约88％、约89％、约90％、约91％、约92％、约93％、约94％、约95％、约96％、约97％、约98％或约99％同源的氨基酸序列的V_L，如表20所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含V_L，其包含具有SEQ ID NO:78所示序列的氨基酸，如表20所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:77所示序列的氨基酸的V_H和包含具有SEQ ID NO:78所示序列的氨基酸的V_L，如表20所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:238所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:239所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、和包含具有SEQ ID NO:240所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3，如表20所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:241所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:242所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:243所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3，如表20所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:238所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:239所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:240所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:241所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:242所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:243所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3，如表20所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:238所示序列的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:239所示序列的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:240所示序列的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:241所示序列的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:242所示序列的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:243所示序列的氨基酸的V_L CDR3。

[0494] 表20

[0495]

抗原	具有SEQ ID No: 97的氨基酸序列的GPRC5D多肽		
CDR	1	2	3
V_H	GYTFTAYS [SEQ ID NO: 238]	INPSSGGA [SEQ ID NO: 239]	ARNVGGQADD [SEQ ID NO: 240]
V_L	SSDIGGYNY [SEQ ID NO: 241]	EVN [SEQ ID NO: 242]	ASFAGRKTLV [SEQ ID NO: 243]
全长V_H	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCRASGYTFTAYSLHWVRQAPGQ GLEWMGWINPSSGGAVYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSGL RSDDTAVYYCARNVGGQADDWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:77]		
DNA	Caggtgcagctggtgcagtctggggctgaggtgaagaagcctggggcctcagtgaaggtctcctgca gggcttctggatacaccttcaccgcctactctttacactgggtgcgacaggcccctggacaagggcttg agtggatgggatggatcaaccctagcagtggtggcgcagtttatgcacagaaatttcagggtagggtca ccatgaccagggacacgtccatcagcacagcctacatggagctgagtggcctgagatctgacgacac ggccgtgtattactgtgcgcgcaacgttggtggtcaggctgatgactggggtcaaggtactctggtgac cgtctcctca [SEQ ID NO:79]		
全长V_L	QSALTQPPSASGSPGQSVTISCTGTSSDIGGYNYVSWYQQHPGKA PKLMIYEVNKRPSGVPDRFSGSKSGNTASLTVSGLQAEDEADYY CASFAGRKTLVFGGGTKLTVLG [SEQ ID NO:78]		
DNA	Caatctgccctgactcagcctccctccgcgtccgggtctcctggacagtcagtcaccatctcctgcactg gaaccagcagtgacattggtggttataactatgtctcctggtaccaacagcacccaggcaaagccccca aactcatgatttatgaggtcaataagcggccctcaggggtccctgatcgcttctcgggctccaagtctgg caacacggcctccctgaccgtctctgggctccaggctgaggatgaggctgattattactgcgcctcattt		

[0496]

	gcgggcaggaagacattggtcttcggcggagggaccaagctgaccgtcctaggt [SEQ ID NO:80]
scFv	QSALTQPPSASGSPGQSVTISCTGTSSDIGGYNYVSWYQQHPGKA PKLMIYEVNKRPSGVPDRFSGSKSGNTASLTVSGLQAEDEADYY CASFAGRKTLVFGGGTKLTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCRASGYTFTAYSLHWVRQAPGQ GLEWMGWINPSSGGAVYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSGL RSDDTAVYYCARNVGGQADDWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:119]

[0497] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含SEQ ID NO:120的氨基酸序列并且特异性地结合GPRC5D多肽(例如,具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的GPRC5D多肽,或其片段),该scFv命名为ET150-167 scFv(也称为“ET150-17 scFv”)。

[0498] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含:包含具有SEQ ID NO:81所示序列的氨基酸的重链可变区和包含具有SEQ ID NO:82所示序列的氨基酸的轻链可变区,任选地具有(iii)在重链可变区和轻链可变区之间的接头序列,例如接头肽。在某些实施方式中,接头包含具有SEQ ID NO:98所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv-Fc融合蛋白或全长人IgG,其V_H和V_L区或CDR选自表21。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:81所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_H,如表21所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_H,其包含具有SEQ ID NO:81所示序列的氨基酸,如表21所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:82所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、

约87％、约88％、约89％、约90％、约91％、约92％、约93％、约94％、约95％、约96％、约97％、约98％或约99％同源的氨基酸序列的V_L，如表21所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含V_L，其包含具有SEQ ID NO:82所示序列的氨基酸，如表21所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:81所示序列的氨基酸的V_H和包含具有SEQ ID NO:82所示序列的氨基酸的V_L，如表21所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:244所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:245所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、和包含具有SEQ ID NO:246所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3，如表21所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:247所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:248所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:249所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3，如表21所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:244所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:245所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:246所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:247所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:248所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:249所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3，如表21所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:244所示序列的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:245所示序列的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:246所示序列的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:247所示序列的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:248所示序列的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:249所示序列的氨基酸的V_L CDR3。

[0499] 表21

[0500]

抗原	具有SEQ ID No: 97的氨基酸序列的GPRC5D多肽		
CDR	1	2	3
V_H	GYTFTAYS [SEQ ID NO: 244]	INPSSGGA [SEQ ID NO: 245]	ARNVGGHADD [SEQ ID NO: 246]
V_L	STDIGGYNY [SEQ ID NO: 247]	EVN [SEQ ID NO: 248]	ASFAGRKTLV [SEQ ID NO: 249]
全长V_H	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCRASGYTFTAYSLHWVRQAPGQ GLEWMGWINPSSGGAVYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSGL RSDDTAVYYCARNVGGHADDWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:81]		

[0501]

DNA	Caggtgcagctggtgcagtctggggctgaggtgaaaaagcctggggcctcagtgaaagtctcctgcagggcttctggatacaccttcaccgcctactctttacactgggtgcgacaggcccctggacaagggcttgagtggatgggatggatcaaccctagcagtggtggcgcagtttatgcacagaaatttcagggtagggtcaccatgaccagggacacgtccatcagcacagcctacatggagctgagtggcctgagatctgacgacacggccgtgtattactgtgcgcgcaacgttggtggtcacgctgatgactggggtcaaggtactctggtgaccgtctcctca [SEQ ID NO:83]
全长V_L	QSALTQPPSASGSPGQSVTISCTGTSTDIGGYNYVSWYQHHPSKAPKLMIYEVNKRPSGVPDRFSGSKSGNTASLTVSGLQAEDEADYYCASFAGRKTLVFGGGTKLTVLG [SEQ ID NO:82]
DNA	Caatctgccctgactcagcctccctccgcgtccgggtctcctggacagtcagtcaccatctcctgcactggaaccagcactgacattggtggttataactatgtctcctggtaccaacaccacccaagcaaagccccaaactcatgatttatgaggtcaataagcggccctcaggggtccctgatcgcttctcgggctccaagtctggcaacacggcctccctgaccgtctctgggctccaggctgaggatgaggctgattattactgcgcctcatttgcgggcaggaagacattggtcttcggcggagggaccaagctgaccgtcctaggt [SEQ ID NO:84]
scFv	QSALTQPPSASGSPGQSVTISCTGTSTDIGGYNYVSWYQHHPSKAPKLMIYEVNKRPSGVPDRFSGSKSGNTASLTVSGLQAEDEADYYCASFAGRKTLVFGGGTKLTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCRASGYTFTAYSLHWVRQAPGQGLEWMGWINPSSGGAVYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSGLRSDDTAVYYCARNVGGHADDWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:120]

[0502] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含SEQ ID NO:121的氨基酸序列并且特异性地结合GPRC5D多肽(例如,具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的GPRC5D多肽,或其片段),该scFv命名为ET150-169 scFv(也称为"ET150-19 scFv")。

[0503] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含:包含具有SEQ ID NO:85所示序列的氨基酸的重链可变区和包含具有SEQ ID NO:86所示序列的氨基酸的轻链可变区,任选地具有(iii)在重链可变区和轻链可变区之间的接头序列,例如接头肽。在某些实施方式中,接头包含具有SEQ ID NO:98所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv-Fc融合蛋白或全长人IgG,其V_H和V_L区或CDR选自表22。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:85所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_H,如表22所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_H,其包含具有SEQ ID NO:85所示序列的氨基酸,如表22所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:86所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_L,如表22所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_L,其包含具有SEQ ID NO:86所示序列的氨基酸,如表22所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:85所示序列的氨基酸的V_H和包含具有SEQ ID NO:86所示序列的氨基酸的V_L,如表22所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:250所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:251所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、和包含具有SEQ ID NO:252所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3,如表22所示。在某些实施方式中,细胞外抗原

结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:253所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:254所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:255所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3,如表22所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:250所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:251所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:252所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:253所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:254所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:255所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3,如表22所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:250所示序列的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:251所示序列的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:252所示序列的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:253所示序列的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:254所示序列的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:255所示序列的氨基酸的V_L CDR3。

[0504] 表22

[0505]

抗原	具有SEQ ID No: 97的氨基酸序列的GPRC5D多肽		
CDR	1	2	3
V_H	GFTFNTYG [SEQ ID NO: 250]	ISANNGHT [SEQ ID NO: 251]	ARGGYHHQMQRYY KATSVYSDY [SEQ ID NO: 252]
V_L	SSNIGNNY [SEQ ID NO: 253]	DNN [SEQ ID NO: 254]	GTWDSSLSGVV [SEQ ID NO: 255]
全长V_H	QVQLVQSGGEVKKPGASVKVSCKASGFTFNTYGISWVRQAPGQ GLEWMGWISANNGHTKSAQRFQDRVAMATDTSTSTAYMELRSL KFDDTAVYYCARGGYHHQMQRYYKATSVYSDYWGQGTLVTVS S [SEQ ID NO:85]		
DNA	Caggtccagctggtgcagtctggaggtgaggtgaagaagcctggggcctcagtgaaggtctcctgca aggcttctggtttcacctttaacacctatggcatcagttgggtgcgacaggccccctggacaagggcttga gtggatgggatggatcagcgctaacaatggtcacacaaagtctgcacagaggttccaggacagagtcg ccatggccacagacacatccacgagcacggcctacatggagctgaggagcctgaaatttgacgacac ggccgtgtattactgtgcgcgcggtggttaccatcatcagatgcagcggtactacaaagctacttctgttt actctgattactggggtcaaggtactctggtgaccgtctcctca [SEQ ID NO:87]		
全长V_L	QSVVTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAP KLLIYDNNKRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGT WDSSLSGVVFGGGTKLTVLG [SEQ ID NO:86]		
DNA	Cagtctgtcgtgacgcagccgccctcagtgtctgcggccccaggacagaaggtcaccatctcctgctc tggaagcagctccaacattgggaataattatgtatcctggtaccagcaactcccaggaacagccccaa		
	actcctcatttatgacaataataagcgaccctcagggattcctgaccgattctctggctccaagtctggca cgtctgccaccctgggcatcaccggactccagactggggacgaggccgattattactgcggaacatgg gatagcagcctgagtggtgtggtattcggcggagggaccaagctgaccgtcctaggt [SEQ ID NO:88]		
scFv	QSVVTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAP KLLIYDNNKRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGT WDSSLSGVVFGGGTKLTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAQV QLVQSGGEVKKPGASVKVSCKASGFTFNTYGISWVRQAPGQGLE WMGWISANNGHTKSAQRFQDRVAMATDTSTSTAYMELRSLKFD DTAVYYCARGGYHHQMQRYYKATSVYSDYWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:121]		

[0506] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含SEQ ID NO:122的氨基酸序列并且特异性地结合GPRC5D多肽(例如,具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的GPRC5D多肽,或其片段),该scFv命名为ET150-172 scFv(也称为“ET150-22 scFv”)。

[0507] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含:包含具有SEQ ID NO:89所示序列的氨基酸的重链可变区和包含具有SEQ ID NO:90所示序列的氨基酸的轻链可变区,任选地具有(iii)在重链可变区和轻链可变区之间的接头序列,例如接头肽。在某些实施方式中,接头包含具有SEQ ID NO:98所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv-Fc融合蛋白或全长人IgG,其V_H和V_L区或CDR选自表23。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:89所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_H,如表23所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_H,其包含具有SEQ ID NO:89所

示序列的氨基酸,如表23所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:90所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_L,如表23所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_L,其包含具有SEQ ID NO:90所示序列的氨基酸,如表23所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:89所示序列的氨基酸的V_H和包含具有SEQ ID NO:90所示序列的氨基酸的V_L,如表23所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:256所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:257所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、和包含具有SEQ ID NO:258所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3,如表23所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:259所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:260所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:261所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3,如表23所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:256所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:257所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:258所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:259所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:260所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:261所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3,如表23所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:256所示序列的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:257所示序列的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:258所示序列的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:259所示序列的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:260所示序列的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:261所示序列的氨基酸的V_L CDR3。

[0508] 表23

[0509]

抗原	具有SEQ ID No: 97的氨基酸序列的GPRC5D多肽		
CDR	1	2	3
V_H	GYTFTSYY [SEQ ID NO: 256]	INPSGGSS [SEQ ID NO: 257]	ARAGMGMDT [SEQ ID NO: 258]
V_L	SSDVGGYNY [SEQ ID NO: 259]	EVS [SEQ ID NO: 260]	SSYAGSNTLV [SEQ ID NO: 261]
全长V_H	QMQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPG QGLEWMGIINPSGGSSSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSL RSEDTAVYYCARAGMGMDTWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:89]		
DNA	Cagatgcagctggtgcagtctggggctgaggtgaagaagcctggggcctcagtgaaggtttcctgca aggcatctggatacaccttcaccagctactatatgcactgggtgcgacaggcccctggacaagggcttg agtggatgggaataatcaaccctagtggtggtagctcaagctacgcacagaagttccagggcagagtc accatgaccagggacacgtccacgagcacagtctacatggagctgagcagcctgagatctgaggaca cggccgtgtattactgtgcgcgcgctggtatgggtatggatacttggggtcaaggtactctggtgaccgt ctcctca [SEQ ID NO:91]		
全长V_L	QSALTQPPSASGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGK APKLMIYEVSKRPSGVPDRFSGSKSGNTASLTVSGLQAEDEADYY CSSYAGSNTLVFGGGTKLTVLG [SEQ ID NO:90]		
DNA	Cagtctgccctgactcagcctccctccgcgtccgggtctcctggacagtcagtcaccatctcctgcact ggaaccagcagtgacgttggtggttataactatgtctcctggtaccaacagcacccaggcaaagccccc aaactcatgatttatgaggtcagtaagcggccctcaggggtccctgatcgcttctctggctccaagtctgg caacacggcctccctgaccgtctctgggctccaggctgaggatgaggctgattattactgcagctcatat gcaggcagcaacaccttggtgttcggcggagggaccaagctgaccgtcctaggt [SEQ ID NO:92]		
scFv	QSALTQPPSASGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGK APKLMIYEVSKRPSGVPDRFSGSKSGNTASLTVSGLQAEDEADYY CSSYAGSNTLVFGGGTKLTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA QMQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPG QGLEWMGIINPSGGSSSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSL RSEDTAVYYCARAGMGMDTWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:122]		

[0510] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含SEQ ID NO:123的氨基酸序列并且特异性地结合GPRC5D多肽(例如,具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的GPRC5D多肽,或其片段),该scFv命名为ET150-173 scFv(也称为“ET150-23 scFv”)。

[0511] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含:包含具有SEQ ID NO:93所示序列的氨基酸的重链可变区和包含具有SEQ ID NO:94所示序列的氨基酸的轻链可变区,任选地具有(iii)在重链可变区和轻链可变区之间的接头序列,例如接头肽。在某些实施方式中,接头包含具有SEQ ID NO:98所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv-Fc融合蛋白或全长人IgG,其V_H和V_L区或CDR选自表24。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:93所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_H,如表24所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_H,其包含具有SEQ ID NO:93所示序列的氨基酸,如表24所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:94所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、

约87％、约88％、约89％、约90％、约91％、约92％、约93％、约94％、约95％、约96％、约97％、约98％或约99％同源的氨基酸序列的V_L，如表24所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含V_L，其包含具有SEQ ID NO:94所示序列的氨基酸，如表24所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:93所示序列的氨基酸的V_H和包含具有SEQ ID NO:94所示序列的氨基酸的V_L，如表24所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:262所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:263所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、和包含具有SEQ ID NO:264所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3，如表24所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:265所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:266所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:267所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3，如表24所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:262所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:263所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:264所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:265所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:266所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:267所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3，如表24所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:262所示序列的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:263所示序列的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:264所示序列的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:265所示序列的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:266所示序列的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:267所示序列的氨基酸的V_L CDR3。

[0512] 表24

[0513]

抗原	具有SEQ ID No: 97的氨基酸序列的GPRC5D多肽		
CDR	1	2	3
V_H	GYTFTSYY [SEQ ID NO: 262]	INPSGGST [SEQ ID NO: 263]	ARDVISGFDS [SEQ ID NO: 264]
V_L	SSDVGGYNY [SEQ ID NO: 265]	GVS [SEQ ID NO: 266]	SSYAGVNNLM [SEQ ID NO: 267]
全长V_H	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQ GLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRS EDTAVYYCARDVISGFDSWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:93]		
DNA	Caggtgcagctggtgcaatctggggctgaggtgaagaagcctggggcctcagtgaaggtttcctgcaa ggcatctggatacaccttcaccagctactatatgcactgggtgcgacaggcccctggacaagggcttga gtggatgggaataatcaaccctagtggtggtagcacaagctacgcacagaagttccagggcagagtcac catgaccagggacacgtccacgagcacagtctacatggagctgagcagcctgagatctgaggacactg ccgtgtattactgtgcgcgcgacgttatctctggtttcgattcttggggtcaaggtactctggtgaccgtctc ctca [SEQ ID NO:95]		
全长V_L	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQSPGKAP RLMIYGVSKRPSGVPDRFSGSKSGNTASLTVSGLQAEDEADYYCS SYAGVNNLMFGGGTKLTVLG [SEQ ID NO:94]		
DNA	Cagtctgccctgactcagcctgcctccgtgtctgggtctcctggacagtcgatcaccatctcctgcactgg		
	aaccagcagtgacgttggtggttataactatgtctcctggtaccaacaatccccaggcaaagccccaga ctcatgatttatggggtcagtaagcggccctctggggtccctgatcgcttctctggctccaagtctggcaac acggcctccctgaccgtctctgggctccaggctgaagatgaggctgattattactgcagctcatatgcagg cgtcaacaatttaatgttcggcggagggaccaagctgaccgtcctaggt [SEQ ID NO:96]		

[0514]

scFv	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQSPGKAP RLMIYGVSKRPSGVPDRFSGSKSGNTASLTVSGLQAEDEADYYCS SYAGVNNLMFGGGTKLTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAQV QLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGL EWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCARDVISGFDSWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:123]

[0515] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含SEQ ID NO:301的氨基酸序列并且特异性地结合GPRC5D多肽(例如,具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的GPRC5D多肽,或其片段),该scFv命名为ET150-024 scFv(也称为“ET150-174 scFv”)。

[0516] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含:包含具有SEQ ID NO:302所示序列的氨基酸的重链可变区和包含具有SEQ ID NO:303所示序列的氨基酸的轻链可变区,任选地具有(iii)在重链可变区和轻链可变区之间的接头序列,例如接头肽。在某些实施方式中,接头包含具有SEQ ID NO:98所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv-Fc融合蛋白或全长人IgG,其V_H和V_L区或CDR选自表25。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:302所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_H,如表25所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_H,其包含具有SEQ ID NO:302所示序列的氨基酸,如表25所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:303所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、

约97％、约98％或约99％同源的氨基酸序列的V_L，如表25所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含V_L，其包含具有SEQ ID NO:303所示序列的氨基酸，如表25所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:302所示序列的氨基酸的V_H和包含具有SEQ ID NO:303所示序列的氨基酸的V_L，如表25所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:304所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:305所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、和包含具有SEQ ID NO:306所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3，如表25所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:307所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:308所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:309所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3，如表25所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:304所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:305所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:306所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:307所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:308所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:309所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3，如表25所示。在某些实施方式中，细胞外抗原结合结构域包含：包含具有SEQ ID NO:304所示序列的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:305所示序列的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:306所示序列的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:307所示序列的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:308所示序列的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:309所示序列的氨基酸的V_L CDR3。

[0517] 表25

[0518]

抗原	具有SEQ ID No: 97的氨基酸序列的GPRC5D多肽		
CDR	1	2	3
V_H	GFTFGDYG [SEQ ID NO: 304]	INWNGGST [SEQ ID NO: 305]	ARSKQGY [SEQ ID NO: 306]
V_L	SRDAGGYNY [SEQ ID NO: 307]	EVT [SEQ ID NO: 308]	SSYGGSNNFRV [SEQ ID NO: 309]
全长V_H	EVQLVESGGGVVRPGGSLRLSCAASGFTFGDYGMSWVRQAPGK GLEWVSGINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSL RAEDTAVYYCARSKQDYWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:302]		

[0519]

DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGTGTGGTACGGCCT GGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCT TTGGTGATTATGGCATGAGCTGGGTCCGCCAAGCTCCAGGGAA GGGGCTGGAGTGGGTCTCTGGTATTAATTGGAATGGTGGTAGC ACAGGTTATGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCA GAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAGTC TGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGCGCTCTAA ACAGGATTACTGGGGTCAAGGTACTCTGGTGACCGTCTCCTCA [SEQ ID NO:310]
全长V_L	MKKTAIAIAVALAGFATVAQAAELQSALTQPPSASGSPGQSVTIS CTGTSRDAGGYNYFSWYQQHPGKAPKLLIYEVTKRPSGVPDRFS GSKSGKTASLTVSGLQADDEAVYYCSSYGGSNNFRVFGGGTKLT VLG [SEQ ID NO:302]
DNA	ATGAAAAAGACAGCTATCGCGATTGCAGTGGCACTGGCTGGT TTCGCTACCGTGGCCCAGGCGGCCGAGCTCCAGTCTGCCCTGA CTCAGCCTCCCTCCGCGTCCGGGTCTCCTGGACAGTCAGTCAC CATCTCCTGCACTGGAACCAGCAGGGACGCTGGTGGTTATAAT TATTTCTCCTGGTACCAACAACACCCAGGCAAAGCCCCCAAAC TCCTGATTTATGAGGTCACTAAGCGGCCCTCAGGGGTCCCTGA TCGCTTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCAAGACGGCCTCCCTGACC GTCTCTGGGCTCCAGGCTGACGATGAGGCTGTATATTACTGCA GCTCATATGGAGGCAGCAACAACTTTCGGGTGTTCGGCGGAG GGACCAAGCTGACCGTCCTAGGT [SEQ ID NO:311]
scFv	MKKTAIAIAVALAGFATVAQAAELQSALTQPPSASGSPGQSVTIS CTGTSRDAGGYNYFSWYQQHPGKAPKLLIYEVTKRPSGVPDRFS GSKSGKTASLTVSGLQADDEAVYYCSSYGGSNNFRVFGGGTKLT VLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVESGGGVVRPGGSLR LSCAASGFTFGDYGMSWVRQAPGKGLEWVSGINWNGGSTGYA DSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSKQDYW GQGTLVTVSS [SEQ ID NO:301]
DNA	ATGAAAAAGACAGCTATCGCGATTGCAGTGGCACTGGCTGGT TTCGCTACCGTGGCCCAGGCGGCCGAGCTCCAGTCTGCCCTGA CTCAGCCTCCCTCCGCGTCCGGGTCTCCTGGACAGTCAGTCAC CATCTCCTGCACTGGAACCAGCAGGGACGCTGGTGGTTATAAT TATTTCTCCTGGTACCAACAACACCCAGGCAAAGCCCCCAAAC
	TCCTGATTTATGAGGTCACTAAGCGGCCCTCAGGGGTCCCTGA TCGCTTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCAAGACGGCCTCCCTGACC GTCTCTGGGCTCCAGGCTGACGATGAGGCTGTATATTACTGCA GCTCATATGGAGGCAGCAACAACTTTCGGGTGTTCGGCGGAG GGACCAAGCTGACCGTCCTAGGTTCTAGAGGTGGTGGTGGTA GCGGCGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGTGGATCCCTCGAGATGG CCGAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGTGTGGTACGGC CTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAC CTTTGGTGATTATGGCATGAGCTGGGTCCGCCAAGCTCCAGGG AAGGGGCTGGAGTGGGTCTCTGGTATTAATTGGAATGGTGGTA GCACAGGTTATGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTC CAGAGACAACGCCAAGAACTCCCTGTATCTGCAAATGAACAG TCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGCGCTCT AAACAGGATTACTGGGGTCAAGGTACTCTGGTGACCGTCTCCT CA [SEQ ID NO:312]

[0520] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含SEQ ID NO:313的氨基酸序列并且特异性地结合GPRC5D多肽(例如,具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的GPRC5D多

肽,或其片段),该scFv命名为ET150-026 scFv(也称为“ET150-176 scFv”)。

[0521] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含:包含具有SEQ ID NO:314所示序列的氨基酸的重链可变区和包含具有SEQ ID NO:315所示序列的氨基酸的轻链可变区,任选地具有(iii)在重链可变区和轻链可变区之间的接头序列,例如接头肽。在某些实施方式中,接头包含具有SEQ ID NO:98所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv-Fc融合蛋白或全长人IgG,其V_H和V_L区或CDR选自表26。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:314所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_H,如表26所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_H,其包含具有SEQ ID NO:314所示序列的氨基酸,如表26所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:315所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_L,如表26所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_L,其包含具有SEQ ID NO:315所示序列的氨基酸,如表26所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:314所示序列的氨基酸V_H和包含具有SEQ ID NO:315所示序列的氨基酸的V_L,如表26所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:316所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:317所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、和包含具有SEQ ID NO:318所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3,如表26所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:319所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:320所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:321所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3,如表26所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:316所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:317所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:318所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:319所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:320所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:321所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3,如表26所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:316所示序列的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:317所示序列的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:318所示序列的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:319所示序列的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:320所示序列的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:321所示序列的氨基酸的V_L CDR3。

[0522] 表26

[0523]

抗原	具有SEQ ID No: 97的氨基酸序列的GPRC5D多肽		
CDR	1	2	3
V_H	GFTFSNYA [SEQ ID NO: 316]	ITNSGRST [SEQ ID NO: 317]	ARVTHRRYGSTFDS [SEQ ID NO: 318]
V_L	SSNIGSNT [SEQ ID NO: 319]	SNN [SEQ ID NO: 320]	AAWDDSVNGYV [SEQ ID NO: 321]
全长V_H	QLQLQESGGGSVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGK GLEWVSAITNSGRSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLSLQMSSLRA EDTAVYYCARVTHRRYGSTFDSRGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:314]		
DNA	CAGCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGGGGAGGCTCGGTACAGCCG GGGGGGTCTCTGAGACTGTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCT TTAGCAACTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGA AGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATCACTAATAGTGGTCGTAG TACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCC AGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTCTTTGCAAATGAGCAGC CTGAGAGCCGAAGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGCGCGTTA CTCATCGTCGTTACGGTTCTACTTTCGATTCTCGGGGTCAAGGT ACTCTGGTGACCGTCTCCTCA ACTAGTGGCCAGGCCGGCCAGC [SEQ ID NO:322]		

[0524]

全长V_L	MKKTAIAIAVALAGFATVAQAAELSYELTQPPSASGTPGQRVSIS CSGSSSNIGSNTVNWYQQFPGTAPKLLIHSNNQRPSGVPDRFSGS KSGTSASLAISGPQSEDEADYYCAAWDDSVNGYVFGTGTKVTVL G [SEQ ID NO:315]
DNA	ATGAAAAAGACAGCTATCGCGATTGCAGTGGCACTGGCTGGT TTCGCTACCGTGGCCCAGGCGGCCGAGCTCTCCTATGAGCTGA CTCAGCCACCCTCAGCGTCTGGGACCCCCGGGCAGAGGGTCA GCATCTCTTGTTCTGGAAGCAGCTCCAACATCGGGAGTAATAC TGTAAACTGGTACCAACAGTTCCCCGGAACGGCCCCCAAACTC CTCATCCATAGTAATAATCAGCGGCCCTCAGGGGTCCCTGACC GATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCCTCCCTGGCCAT CAGTGGGCCCCAGTCTGAGGATGAGGCTGATTATTACTGTGCA GCTTGGGATGACAGTGTGAATGGTTATGTCTTCGGAACTGGGA CCAAGGTCACCGTCCTAGGT [SEQ ID NO:323]
scFv	MKKTAIAIAVALAGFATVAQAAELSYELTQPPSASGTPGQRVSIS CSGSSSNIGSNTVNWYQQFPGTAPKLLIHSNNQRPSGVPDRFSGS KSGTSASLAISGPQSEDEADYYCAAWDDSVNGYVFGTGTKVTVL
	GSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAQLQLQESGGGSVQPGGSLRLS CAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVSAITNSGRSTYYADSV KGRFTISRDNSKNTLSLQMSSLRAEDTAVYYCARVTHRRYGSTF DSRGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:313]
DNA	ATGAAAAAGACAGCTATCGCGATTGCAGTGGCACTGGCTGGT TTCGCTACCGTGGCCCAGGCGGCCGAGCTCTCCTATGAGCTGA CTCAGCCACCCTCAGCGTCTGGGACCCCCGGGCAGAGGGTCA GCATCTCTTGTTCTGGAAGCAGCTCCAACATCGGGAGTAATAC TGTAAACTGGTACCAACAGTTCCCCGGAACGGCCCCCAAACTC CTCATCCATAGTAATAATCAGCGGCCCTCAGGGGTCCCTGACC GATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCCTCCCTGGCCAT CAGTGGGCCCCAGTCTGAGGATGAGGCTGATTATTACTGTGCA GCTTGGGATGACAGTGTGAATGGTTATGTCTTCGGAACTGGGA CCAAGGTCACCGTCCTAGGTTCTAGAGGTGGTGGTGGTAGCGG CGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGTGGATCCCTCGAGATGGCCCA GCTGCAGCTGCAGGAGTCGGGGGGAGGCTCGGTACAGCCGGG GGGGTCTCTGAGACTGTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTT AGCAACTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAG GGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATCACTAATAGTGGTCGTAGTA CATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAG AGACAATTCCAAGAACACGCTGTCTTTGCAAATGAGCAGCCTG AGAGCCGAAGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGCGCGTTACTC ATCGTCGTTACGGTTCTACTTTCGATTCTCGGGGTCAAGGTACT CTGGTGACCGTCTCCTCA [SEQ ID NO:324]

[0525] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含SEQ ID NO:325的氨基酸序列并且特异性地结合GPRC5D多肽(例如,具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的GPRC5D多肽,或其片段),该scFv命名为ET150-028 scFv(也称为“ET150-178 scFv”)。

[0526] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含:包含具有SEQ ID NO:326所示序列的氨基酸的重链可变区和包含具有SEQ ID NO:327所示序列的氨基酸的轻链可变区,任选地具有(iii)在重链可变区和轻链可变区之间的接头序列,例如接头肽。在某

些实施方式中,接头包含具有SEQ ID NO:98所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv-Fc融合蛋白或全长人IgG,其V_H和V_L区或CDR选自表27。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:325所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_H,如表27所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_H,其包含具有SEQ ID NO:325所示序列的氨基酸,如表27所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:326所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_L,如表27所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_L,其包含具有SEQ ID NO:326所示序列的氨基酸,如表27所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:325所示序列的氨基酸的V_H和包含具有SEQ ID NO:327所示序列的氨基酸的V_L,如表27所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:328所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:329所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、和包含具有SEQ ID NO:330所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3,如表27所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:331所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:332所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:333所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3,如表27所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:328所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:329所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:330所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:331所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:332所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:333所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3,如表27所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:328所示序列的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:329所示序列的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:330所示序列的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:331所示序列的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:332所示序列的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:333所示序列的氨基酸的V_L CDR3。

[0527] 表27

[0528]

抗原	具有SEQ ID No: 97的氨基酸序列的GPRC5D多肽		
CDR	1	2	3
V_H	GGTFRSYA [SEQ ID NO: 328]	IIPMLDIT [SEQ ID NO: 329]	ARTYSRSPFHMEDF [SEQ ID NO: 330]
V_L	SSNIGGNT [SEQ ID NO: 331]	RNN [SEQ ID NO: 332]	AAWDASRQGV [SEQ ID NO: 333]
全长V_H	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFRSYAITWVRQAPGQGLEWMGRIIPMLDITNYAQKFQGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARTYSRSPFHMEDFWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:326]		
DNA	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCCTCGGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGAGGCACCTTCCGCAGCTATGCTATCACCTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGAAGGATCATCCCTATGCTTGATATAACAAACTACGCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACGATTACCGCGGACAAATCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGCGCACTTACTCTCGTTCTCCGTTCCATATGGAAGATTTCTGGGGTCAAGGTACTCTGGTGACCGTCTCCTCA [SEQ ID NO:334]		
全长V_L	MKKTAIAIAVALAGFATVAQAAELQPVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGGNTVSWYQQVPGTAPRLLIFRNNQRPPGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDASRQGVFGGGTKLTVLG [SEQ ID NO:327]		
DNA	ATGAAAAAGACAGCTATCGCGATTGCAGTGGCACTGGCTGGTTTCGCTACCGTGGCCCAGGCGGCCGAGCTCCAGCCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCAGCGTCTGGGACCCCCGGGCAGAGGGTCACCATCTCTTGTTCTGGAAGCAGCTCCAATATCGGAGGTAACACTGTCAGCTGGTACCAGCAGGTCCCAGGAACGGCCCCCAGACTCCTCATTTTTAGGAATAATCAACGGCCCCCAGGGGTCCCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCCTCCCTGGCCATCAGTGGGCTCCGGTCTGAGGATGAGGCTGATTATTACTGTGC		

[0529]

	AGCATGGGACGCCAGTCGACAAGGGGTGTTCGGCGGAGGGAC CAAGCTGACCGTCCTAGGT [SEQ ID NO:335]
scFv	MKKTAIAIAVALAGFATVAQAAELQPVLTQPPSASGTPGQRVTIS CSGSSSNIGGNTVSWYQQVPGTAPRLLIFRNNQRPPGVPDRFSGS KSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDASRQGVFGGGTKLTVLG SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSC KASGGTFRSYAITWVRQAPGQGLEWMGRIIPMLDITNYAQKFQG RVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARTYSRSPFHMEDF WGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:325]
DNA	ATGAAAAAGACAGCTATCGCGATTGCAGTGGCACTGGCTGGT TTCGCTACCGTGGCCCAGGCGGCCGAGCTCCAGCCTGTGCTGA CTCAGCCACCCTCAGCGTCTGGGACCCCCGGGCAGAGGGTCA CCATCTCTTGTTCTGGAAGCAGCTCCAATATCGGAGGTAACAC TGTCAGCTGGTACCAGCAGGTCCCAGGAACGGCCCCCAGACT CCTCATTTTTAGGAATAATCAACGGCCCCCAGGGGTCCCTGAC CGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCCTCCCTGGCCA TCAGTGGGCTCCGGTCTGAGGATGAGGCTGATTATTACTGTGC AGCATGGGACGCCAGTCGACAAGGGGTGTTCGGCGGAGGGAC CAAGCTGACCGTCCTAGGTTCTAGAGGTGGTGGTGGTAGCGGC GGCGGCGGCTCTGGTGGTGGTGGATCCCTCGAGATGGCCCAG GTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGG TCCTCGGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGAGGCACCTTCC GCAGCTATGCTATCACCTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAG GGCTTGAGTGGATGGGAAGGATCATCCCTATGCTTGATATAAC AAACTACGCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACGATTACCGC GGACAAATCCACGAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCT GAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGCGCACTTAC TCTCGTTCTCCGTTCCATATGGAAGATTTCTGGGGTCAAGGTA CTCTGGTGACCGTCTCCTCA [SEQ ID NO:336]

[0530] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含SEQ ID NO:337的氨基酸序列并且特异性地结合GPRC5D多肽(例如,具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的GPRC5D多肽,或其片段),该scFv命名为ET150-029 scFv(也称为“ET150-179 scFv”)。

[0531] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含:包含具有SEQ ID NO:338所示序列的氨基酸的重链可变区和包含具有SEQ ID NO:339所示序列的氨基酸的轻链可变区,任选地具有(iii)在重链可变区和轻链可变区之间的接头序列,例如接头肽。在某些实施方式中,接头包含具有SEQ ID NO:98所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv-Fc融合蛋白或全长人IgG,其V_H和V_L区或CDR选自表28。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:338所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_H,如表28所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_H,其包含具有SEQ ID NO:338所示序列的氨基酸,如表28所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:339所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_L,如表28所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_L,其包含具有SEQ ID NO:339所示序列的氨基酸,如表28所示。在某

些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:338所示序列的氨基酸的V_H和包含具有SEQ ID NO:339所示序列的氨基酸的V_L,如表28所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:340所示序列或其保守修饰的氨基酸V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:341所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、和包含具有SEQ ID NO:342所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3,如表28所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:343所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:344所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:345所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3,如表28所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:340所示序列或其保守修饰的氨基酸V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:341所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:342所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:343所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:344所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:345所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3,如表28所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:340所示序列的氨基酸V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:341所示序列的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:342所示序列的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:343所示序列的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:344所示序列的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:345所示序列的氨基酸的V_L CDR3。

[0532] 表28

[0533]

抗原	具有SEQ ID No: 97的氨基酸序列的GPRC5D多肽		
CDR	1	2	3
V_H	GFTFSSYA[SEQ ID NO: 340]	ISGSGGST [SEQ ID NO: 341]	ARKYQDV [SEQ ID NO: 342]
V_L	SSNIGSNT[SEQ ID NO: 343]	RNN [SEQ ID NO: 344]	AAWDDSLSGRV [SEQ ID NO: 345]
全长V_H	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARKYQDVWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:338]		
DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGGTAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATGCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGCGCAAATACCAGGATGTTTGGGGTCAAGGTACTCTGGTGACCGTCTCCTCA [SEQ ID NO:346]		
全长V_L	MKKTAIAIAVALAGFATVAQAAELQSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLIYRNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLSGRVFGGGTKLTVLG [SEQ ID NO:339]		
DNA	ATGAAAAAGACAGCTATCGCGATTGCAGTGGCACTGGCTGGTTTCGCTACCGTGGCCCAGGCGGCCGAGCTCCAGTCTGTGCTGACGCAGCCGCCCTCAGCGTCTGGGACCCCCGGGCAGAGGGTCACCATCTCTTGTTCTGGAAGCAGCTCCAACATCGGAAGTAATAC		
	TGTAAACTGGTACCAGCAGCTCCCAGGAACGGCCCCCAAACTCCTCATCTATAGGAATAATCAGCGGCCCTCAGGGGTCCCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCCTCCCTGGCCATCAGTGGGCTCCGGTCCGAGGATGAGGCTGATTATTACTGTGCAGCATGGGATGACAGCCTGAGTGGTAGGGTGTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTAGGT [SEQ ID NO:347]		
scFv	MKKTAIAIAVALAGFATVAQAAELQSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLIYRNNQRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLSGRVFGGGTKLTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARKYQDVWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:337]		

[0534]

DNA	ATGAAAAAGACAGCTATCGCGATTGCAGTGGCACTGGCTGGT TTCGCTACCGTGGCCCAGGCGGCCGAGCTCCAGTCTGTGCTGA CGCAGCCGCCCTCAGCGTCTGGGACCCCCGGGCAGAGGGTCA CCATCTCTTGTTCTGGAAGCAGCTCCAACATCGGAAGTAATAC TGTAAACTGGTACCAGCAGCTCCCAGGAACGGCCCCCAAACT CCTCATCTATAGGAATAATCAGCGGCCCTCAGGGGTCCCTGAC CGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCCTCCCTGGCCA TCAGTGGGCTCCGGTCCGAGGATGAGGCTGATTATTACTGTGC AGCATGGGATGACAGCCTGAGTGGTAGGGTGTTCGGCGGAGG GACCAAGCTGACCGTCCTAGGTTCTAGAGGTGGTGGTGGTAGC GGCGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGTGGATCCCTCGAGATGGCC GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCT GGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCT TTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGA AGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATTAGTGGTAGTGGTGGTA GCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTC CAGAGACAATGCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAG CCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGCGCAA ATACCAGGATGTTTGGGGTCAAGGTACTCTGGTGACCGTCTCC TCA [SEQ ID NO:348]

[0535] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含SEQ ID NO:349的氨基酸序列并且特异性地结合GPRC5D多肽(例如,具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的GPRC5D多肽,或其片段),该scFv命名为ET150-030 scFv(也称为“ET150-180 scFv”)。

[0536] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含:包含具有SEQ ID NO:350所示序列的氨基酸的重链可变区和包含具有SEQ ID NO:351所示序列的氨基酸的轻链可变区,任选地具有(iii)在重链可变区和轻链可变区之间的接头序列,例如接头肽。在某些实施方式中,接头包含具有SEQ ID NO:98所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv-Fc融合蛋白或全长人IgG,其V_H和V_L区或CDR选自表29。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:350所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_H,如表29所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_H,其包含具有SEQ ID NO:350所示序列的氨基酸,如表29所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:351所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_L,如表29所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_L,其包含具有SEQ ID NO:351所示序列的氨基酸,如表29所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:350所示序列的氨基酸的V_H和包含具有SEQ ID NO:351所示序列的氨基酸的V_L,如表29所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:352所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:353所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、和包含具有SEQ ID NO:354所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3,如表29所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:355所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L

CDR1、包含具有SEQ ID NO:356所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:357所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3,如表29所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:352所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:353所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:354所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:355所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:356所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:357所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3,如表29所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:352所示序列的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:353所示序列的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:354所示序列的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:355所示序列的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:356所示序列的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:357所示序列的氨基酸的V_L CDR3。

[0537] 表29

[0538]

抗原	具有SEQ ID No: 97的氨基酸序列的GPRC5D多肽		
CDR	1	2	3
V_H	GFSFSGTA [SEQ ID NO: 352]	ISSTGRST [SEQ ID NO: 353]	ARPVSSMTLSIQSDG [SEQ ID NO: 354]
V_L	SSNIGAGYD [SEQ ID NO: 355]	GNS [SEQ ID NO: 356]	QSYDSSLRGYV [SEQ ID NO: 357]
全长V_H	QVQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCAASGFSFSGTAMHWVRQAPG KGLEWVSTISSTGRSTYYRDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSL RGEDTAVYYCARPVSSMTLSIQSDGWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:350]		
DNA	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCT GGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAGC TTTAGTGGCACTGCCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGG AAGGGGCTGGAATGGGTCTCGACTATTAGTAGTACTGGGCGT AGCACATACTACAGAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATC TCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAAC AGCCTGAGAGGCGAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGCGC CCGGTTTCTTCTATGACTCTGTCTATCCAGTCTGATGGTTGGG GTCAAGGTACTCTGGTGACCGTCTCCTCA [SEQ ID NO:358]		
全长V_L	MKKTAIAIAVALAGFATVAQAAELQSVLTQPPSVSGAPGQRVTI SCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGRAPKLLIYGNSNRPSGVPDRF SGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLRGYVFGTGTKV		
	TVLG [SEQ ID NO:351]		
DNA	ATGAAAAAGACAGCTATCGCGATTGCAGTGGCACTGGCTGGT TTCGCTACCGTGGCCCAGGCGGCCGAGCTCCAGTCTGTGTTG ACGCAGCCGCCCTCAGTGTCTGGGGCCCCAGGGCAGAGGGTC ACCATCTCCTGCACTGGGAGCAGCTCCAACATCGGGGCAGGT TATGATGTACACTGGTACCAGCAGCTTCCAGGAAGAGCCCCC AAACTCCTCATCTATGGTAACAGCAATCGGCCCTCAGGGGTC CCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCCTCCC TGGCCATCACTGGGCTCCAGGCTGAGGATGAGGCTGATTATT ACTGCCAGTCCTATGACAGCAGCCTGAGAGGTTATGTCTTCG GAACTGGGACCAAGGTCACCGTCCTAGGT [SEQ ID NO:359]		
scFv	MKKTAIAIAVALAGFATVAQAAELQSVLTQPPSVSGAPGQRVTI SCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGRAPKLLIYGNSNRPSGVPDRF SGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLRGYVFGTGTKV TVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAQVQLVQSGGGVVQPGRS LRLSCAASGFSFSGTAMHWVRQAPGKGLEWVSTISSTGRSTYYR DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRGEDTAVYYCARPVSSMT LSIQSDGWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:349]		

[0539]

DNA	ATGAAAAAGACAGCTATCGCGATTGCAGTGGCACTGGCTGGT TTCGCTACCGTGGCCCAGGCGGCCGAGCTCCAGTCTGTGTTG ACGCAGCCGCCCTCAGTGTCTGGGGCCCCAGGGCAGAGGGTC ACCATCTCCTGCACTGGGAGCAGCTCCAACATCGGGGCAGGT TATGATGTACACTGGTACCAGCAGCTTCCAGGAAGAGCCCCC AAACTCCTCATCTATGGTAACAGCAATCGGCCCTCAGGGGTC CCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCCTCCC TGGCCATCACTGGGCTCCAGGCTGAGGATGAGGCTGATTATT ACTGCCAGTCCTATGACAGCAGCCTGAGAGGTTATGTCTTCG GAACTGGGACCAAGGTCACCGTCCTAGGTTCTAGAGGTGGTG GTGGTAGCGGCGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGTGGATCCCTCG AGATGGCCCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGAGGCGTG GTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCT GGATTCAGCTTTAGTGGCACTGCCATGCACTGGGTCCGCCAG GCTCCAGGGAAGGGGCTGGAATGGGTCTCGACTATTAGTAGT ACTGGGCGTAGCACATACTACAGAGACTCCGTGAAGGGCCGG TTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTG CAAATGAACAGCCTGAGAGGCGAGGACACGGCCGTATATTA CTGTGCGCGCCCGGTTTCTTCTATGACTCTGTCTATCCAGTCT GATGGTTGGGGTCAAGGTACTCTGGTGACCGTCTCCTCA [SEQ ID NO:360]

[0540] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含SEQ ID NO:361的氨基酸序列并且特异性地结合GPRC5D多肽(例如,具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的GPRC5D多肽,或其片段),该scFv命名为ET150-031 scFv(也称为“ET150-181 scFv”)。

[0541] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含:包含具有SEQ ID NO:362所示序列的氨基酸的重链可变区和包含具有SEQ ID NO:363所示序列的氨基酸的轻链可变区,任选地具有(iii)在重链可变区和轻链可变区之间的接头序列,例如接头肽。在某些实施方式中,接头包含具有SEQ ID NO:98所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv-Fc融合蛋白或全长人IgG,其V_H和V_L区或CDR选自表30。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:362所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_H,如表30所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_H,其包含具有SEQ ID NO:362所示序列的氨基酸,如表30所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:363所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_L,如表30所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_L,其包含具有SEQ ID NO:363所示序列的氨基酸,如表30所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:362所示序列的氨基酸的V_H和包含具有SEQ ID NO:363所示序列的氨基酸的V_L,如表30所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:364所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:365所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、和包含具有SEQ ID NO:366所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3,如表30所示。在某些实施方式中,细

胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:367所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:368所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:369所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3,如表30所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:364所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:365所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:366所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:367所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:368所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:369所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3,如表30所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:364所示序列的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:365所示序列的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:366所示序列的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:367所示序列的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:368所示序列的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:369所示序列的氨基酸的V_L CDR3。

[0542] 表30

[0543]

抗原	具有SEQ ID No: 97的氨基酸序列的GPRC5D多肽		
CDR	1	2	3
V_H	GYTFTSYY [SEQ ID NO: 364]	INPSGGST [SEQ ID NO: 365]	ARGQKYHSQYSRG GTGGGMTQDM [SEQ ID NO: 366]
V_L	SSNIGNNY [SEQ ID NO: 367]	DNN [SEQ ID NO: 368]	GTWDSSLRNWV [SEQ ID NO: 369]
全长V_H	QMQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPG QGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSL RSEDTAVYYCARGQKYHSQYSRGGTGGGMTQDMWGQGTLVTV SS [SEQ ID NO:362]		
DNA	CAGATGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCT GGGGCCTCAGTGAAGGTTTCCTGCAAGGCATCTGGATACACCT TCACCAGCTACTATATGCACTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACA AGGGCTTGAGTGGATGGGAATAATCAACCCTAGTGGTGGTAG CACAAGCTACGCACAAAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCATGAC		
	CAGGGACACGTCCACGAGCACAGTCTACATGGAGCTGAGCAG CCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGCGCGGT CAGAAATACCATTCTCAGTACTCTCGTGGTGGTACTGGTGGTG GTATGACTCAGGATATGTGGGGTCAAGGTACTCTGGTGACCGT CTCCTCA [SEQ ID NO:370]		
全长V_L	MKKTAIAIAVALAGFATVAQAAELQSVVTQPPSVSAAPGQRVTIS CSGGSSNIGNNYVSWFQQLPRTAPKLLIYDNNKRPSGIPDRFSGSK SGTSAALDITVLQTGDEADYYCGTWDSSLRNWVFGGGTKLTVL G [SEQ ID NO:363]		
DNA	ATGAAAAAGACAGCTATCGCGATTGCAGTGGCACTGGCTGGT TTCGCTACCGTGGCCCAGGCGGCCGAGCTCCAGTCTGTCGTGA CGCAGCCGCCCTCTGTGTCTGCGGCCCCAGGACAGAGGGTCAC CATCTCCTGCTCTGGAGGTAGTTCCAACATTGGGAATAATTAT GTTTCCTGGTTCCAACAACTCCCACGAACAGCCCCCAAACTCC TCATTTATGACAATAATAAGCGACCCTCAGGGATTCCTGACCG ATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACGTCAGCCGCCCTGGACATC ACCGTTCTCCAGACTGGGGACGAGGCCGATTATTACTGCGGAA CTTGGGATAGCAGCCTGAGAAATTGGGTGTTCGGCGGAGGGA CCAAGCTGACCGTCCTAGGT [SEQ ID NO:371]		
scFv	MKKTAIAIAVALAGFATVAQAAELQSVVTQPPSVSAAPGQRVTIS CSGGSSNIGNNYVSWFQQLPRTAPKLLIYDNNKRPSGIPDRFSGSK SGTSAALDITVLQTGDEADYYCGTWDSSLRNWVFGGGTKLTVL GSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAQMQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKF QGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGQKYHSQYS RGGTGGGMTQDMWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:361]		

[0544]

DNA	ATGAAAAAGACAGCTATCGCGATTGCAGTGGCACTGGCTGGT TTCGCTACCGTGGCCCAGGCGGCCGAGCTCCAGTCTGTCGTGA CGCAGCCGCCCTCTGTGTCTGCGGCCCCAGGACAGAGGGTCAC CATCTCCTGCTCTGGAGGTAGTTCCAACATTGGGAATAATTAT GTTTCCTGGTTCCAACAACTCCCACGAACAGCCCCCAAACTCC TCATTTATGACAATAATAAGCGACCCTCAGGGATTCCTGACCG ATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACGTCAGCCGCCCTGGACATC ACCGTTCTCCAGACTGGGGACGAGGCCGATTATTACTGCGGAA CTTGGGATAGCAGCCTGAGAAATTGGGTGTTCGGCGGAGGGA CCAAGCTGACCGTCCTAGGTTCTAGAGGTGGTGGTGGTAGCGG CGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGTGGATCCCTCGAGATGGCCCA GATGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGG GGCCTCAGTGAAGGTTTCCTGCAAGGCATCTGGATACACCTTC ACCAGCTACTATATGCACTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAA GGGCTTGAGTGGATGGGAATAATCAACCCTAGTGGTGGTAGC ACAAGCTACGCACAAAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCATGACC AGGGACACGTCCACGAGCACAGTCTACATGGAGCTGAGCAGC CTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGCGCGGTC AGAAATACCATTCTCAGTACTCTCGTGGTGGTACTGGTGGTGG TATGACTCAGGATATGTGGGGTCAAGGTACTCTGGTGACCGTC TCCTCA [SEQ ID NO:372]

[0545] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含SEQ ID NO:373的氨基酸序列并且特异性地结合GPRC5D多肽(例如,具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的GPRC5D多肽,或其片段),该scFv命名为ET150-032 scFv(也称为"ET150-182 scFv")。

[0546] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含:包含具有SEQ ID NO:374所示序列的氨基酸的重链可变区和包含具有SEQ ID NO:375所示序列的氨基酸的轻链可变区,任选地具有(iii)在重链可变区和轻链可变区之间的接头序列,例如接头肽。在某些实施方式中,接头包含具有SEQ ID NO:98所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv-Fc融合蛋白或全长人IgG,其V_H和V_L区或CDR选自表31。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:374所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_H,如表31所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_H,其包含具有SEQ ID NO:374所示序列的氨基酸,如表31所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:375所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_L,如表31所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_L,其包含具有SEQ ID NO:375所示序列的氨基酸,如表31所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:374所示序列的氨基酸的V_H和包含具有SEQ ID NO:375所示序列的氨基酸的V_L,如表31所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:376所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:377所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、和包含具有SEQ ID NO:378所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3,如表31所示。在某些实施方式中,细

胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:379所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:380所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:381所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3,如表31所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:376所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:377所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:378所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:379所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:380所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:381所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3,如表31所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:376所示序列的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:377所示序列的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:378所示序列的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:379所示序列的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:380所示序列的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:381所示序列的氨基酸的V_L CDR3。

[0547] 表31

[0548]

抗原	具有SEQ ID No: 97的氨基酸序列的GPRC5D多肽		
CDR	1	2	3
V_H	GYTFSRYY [SEQ ID NO: 376]	MNPNSGNT [SEQ ID NO: 377]	ARGRYHVIDY [SEQ ID NO: 378]
V_L	SSDVGGYNH [SEQ ID NO: 379]	EVT [SEQ ID NO: 380]	SSYAGSAHWV [SEQ ID NO: 381]
全长V_H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSRYYIHWVRQAPGQGLEWMGWMNPNSGNTGYAQKFQGRVTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGRYHVIDYWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:374]		
DNA	GAGGTCCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTTTCCTGCAAGGCATCTGGATACACCTTCAGCAGGTACTATATACACTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATGAACCCTAACAGTGGTAACACAGGCTATGCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCAGGAACACCTCCATAAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGCGCGGTCGTTACCATGTTATCGATTACTGGGGTCAAGGTACTCTGGTGACCGTCTCCTCA [SEQ ID NO:382]		
全长V_L	MKKTAIAIAVALAGFATVAQAAELQSVLTQPPSASGSPGQSLTISCTGTSSDVGGYNHVSWYQQYPGKAPKLMIYEVTKRPSGVPDRFSGSKSGNTASLTVSGLQAEDEADYYCSSYAGSAHWVFGGGTKLTVLG [SEQ ID NO:375]		
DNA	ATGAAAAAGACAGCTATCGCGATTGCAGTGGCACTGGCTGGTTTCGCTACCGTGGCCCAGGCGGCCGAGCTCCAGTCTGTGTTGACTCAGCCACCCTCCGCGTCCGGGTCTCCTGGACAGTCACTCACCATCTCCTGCACTGGAACCAGCAGTGACGTTGGTGGTTATAACCATGTCTCCTGGTACCAACAGTACCCAGGCAAAGCCCCCAAACTCATGATTTATGAGGTCACTAAGCGGCCCTCAGGGGTCCCTGATCGCTTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCAACACGGCCTCCCTGACCGTCTCTGGGCTCCAGGCTGAGGATGAGGCTGATTATTACTGCAGCTCATATGCAGGCAGCGCCCATTGGGTGTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTAGGT [SEQ ID NO:383]		
scFv	MKKTAIAIAVALAGFATVAQAAELQSVLTQPPSASGSPGQSLTISCTGTSSDVGGYNHVSWYQQYPGKAPKLMIYEVTKRPSGVPDRFSGSKSGNTASLTVSGLQAEDEADYYCSSYAGSAHWVFGGGTKLTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSRYYIHWVRQAPGQGLEWMGWMNPNSGNTGYAQKFQGRVTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGRYHVIDYWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:373]		

[0549]

DNA	ATGAAAAAGACAGCTATCGCGATTGCAGTGGCACTGGCTGGT TTCGCTACCGTGGCCCAGGCGGCCGAGCTCCAGTCTGTGTTGA CTCAGCCACCCTCCGCGTCCGGGTCTCCTGGACAGTCACTCAC CATCTCCTGCACTGGAACCAGCAGTGACGTTGGTGGTTATAAC CATGTCTCCTGGTACCAACAGTACCCAGGCAAAGCCCCCAAAC TCATGATTTATGAGGTCACTAAGCGGCCCTCAGGGGTCCCTGA TCGCTTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCAACACGGCCTCCCTGACC GTCTCTGGGCTCCAGGCTGAGGATGAGGCTGATTATTACTGCA GCTCATATGCAGGCAGCGCCCATTGGGTGTTCGGCGGAGGGA CCAAGCTGACCGTCCTAGGTTCTAGAGGTGGTGGTGGTAGCGG CGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGTGGATCCCTCGAGATGGCCGA GGTCCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGG GGCCTCAGTGAAGGTTTCCTGCAAGGCATCTGGATACACCTTC AGCAGGTACTATATACACTGGGTGCGACAGGCCCCTGGACAA GGGCTTGAGTGGATGGGATGGATGAACCCTAACAGTGGTAAC ACAGGCTATGCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCATGACC
	AGGAACACCTCCATAAGCACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGC CTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGCGCGGTC GTTACCATGTTATCGATTACTGGGGTCAAGGTACTCTGGTGAC CGTCTCCTCA [SEQ ID NO:384]

[0550] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含SEQ ID NO:385的氨基酸序列并且特异性地结合GPRC5D多肽(例如,具有SEQ ID NO:97的氨基酸序列的GPRC5D多肽,或其片段),该scFv命名为ET150-033 scFv(也称为“ET150-183 scFv”)。

[0551] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv,其包含:包含具有SEQ ID NO:386所示序列的氨基酸的重链可变区和包含具有SEQ ID NO:387所示序列的氨基酸的轻链可变区,任选地具有(iii)在重链可变区和轻链可变区之间的接头序列,例如接头肽。在某些实施方式中,接头包含具有SEQ ID NO:98所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv-Fc融合蛋白或全长人IgG,其V_H和V_L区或CDR选自表32。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:386所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_H,如表32所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_H,其包含具有SEQ ID NO:386所示序列的氨基酸,如表32所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:387所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_L,如表32所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_L,其包含具有SEQ ID NO:387所示序列的氨基酸,如表32所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:386所示序列的氨基酸的V_H和包含具有SEQ ID NO:387所示序列的氨基酸的V_L,如表32所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:388所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:389所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、和包含具有SEQ ID NO:390所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3,如表32所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:391所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L

CDR1、包含具有SEQ ID NO:392所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:393所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3,如表32所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:388所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:389所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:390所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:391所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:392所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:393所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3,如表32所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:388所示序列的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:389所示序列的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:390所示序列的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:391所示序列的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:392所示序列的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:393所示序列的氨基酸的V_L CDR3。

[0552] 表32

[0553]

抗原	具有SEQ ID No: 97的氨基酸序列的GPRC5D多肽		
CDR	1	2	3
V_H	GYTFNTYY [SEQ ID NO: 388]	INPNNGGT [SEQ ID NO: 389]	ARSYDY [SEQ ID NO: 390]
V_L	SSNIGSNY [SEQ ID NO: 391]	RNN [SEQ ID NO: 392]	AAWDDSLSGRV [SEQ ID NO: 393]
全长V_H	QLQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFNTYYLHWVRQAPGQ GLEWMGRINPNNGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSINTAYMELSRL RSDDTAVYYCARSYDYWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:386]		
DNA	CAGCTGCAGCTGGTGCAATCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCT GGGTCCTCGGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACCT TCAACACCTACTATCTGCACTGGGTACGACAGGCCCCTGGACA AGGGCTTGAGTGGATGGGACGGATCAACCCTAACAATGGTGG CACAAACTATGCACAGAAGTTTCAGGGCAGGGTCACCATGAC CAGGGACACGTCCATCAACACAGCCTACATGGAGCTGAGCAG GCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGCGCTCT TACGATTACTGGGGTCAAGGTACTCTGGTGACCGTCTCCTCA [SEQ ID NO:394]		
全长V_L	MKKTAIAIAVALAGFATVAQAAELQAVLTQPPSASGTPGQRVTIS CSGSSSNIGSNYVYWYQQLPGTAPKLLIYRNNQRPSGVPDRFSGS KSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLSGRVFGTGTKVTVL G [SEQ ID NO:387]		
DNA	ATGAAAAAGACAGCTATCGCGATTGCAGTGGCACTGGCTGGT TTCGCTACCGTGGCCCAGGCGGCCGAGCTCCAGGCTGTGCTGA CTCAGCCACCCTCAGCGTCTGGGACCCCCGGGCAGAGGGTCA CCATCTCTTGTTCTGGAAGCAGCTCCAACATCGGAAGTAATTA TGTATACTGGTACCAGCAGCTCCCAGGAACGGCCCCCAAACTC CTCATCTATAGGAATAATCAGCGGCCCTCAGGGGTCCCTGACC GATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCCTCCCTGGCCAT CAGTGGGCTCCGGTCCGAGGATGAGGCTGATTATTACTGTGCA GCATGGGATGACAGCCTGAGTGGTCGGGTCTTCGGAACTGGG ACCAAGGTCACCGTCCTAGGT [SEQ ID NO:395]		
scFv	MKKTAIAIAVALAGFATVAQAAELQAVLTQPPSASGTPGQRVTIS CSGSSSNIGSNYVYWYQQLPGTAPKLLIYRNNQRPSGVPDRFSGS KSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLSGRVFGTGTKVTVL GSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAQLQLVQSGAEVKKPGSSVKVS CKASGYTFNTYYLHWVRQAPGQGLEWMGRINPNNGGTNYAQK FQGRVTMTRDTSINTAYMELSRLRSDDTAVYYCARSYDYWGQG TLVTVSS [SEQ ID NO:385]		

[0554]

DNA	ATGAAAAAGACAGCTATCGCGATTGCAGTGGCACTGGCTGGT TTCGCTACCGTGGCCCAGGCGGCCGAGCTCCAGGCTGTGCTGA CTCAGCCACCCTCAGCGTCTGGGACCCCCGGGCAGAGGGTCA CCATCTCTTGTTCTGGAAGCAGCTCCAACATCGGAAGTAATTA TGTATACTGGTACCAGCAGCTCCCAGGAACGGCCCCCAAACTC CTCATCTATAGGAATAATCAGCGGCCCTCAGGGGTCCCTGACC GATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCCTCCCTGGCCAT CAGTGGGCTCCGGTCCGAGGATGAGGCTGATTATTACTGTGCA GCATGGGATGACAGCCTGAGTGGTCGGGTCTTCGGAACTGGG ACCAAGGTCACCGTCCTAGGTTCTAGAGGTGGTGGTGGTAGCG GCGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGTGGATCCCTCGAGATGGCCC
	AGCTGCAGCTGGTGCAATCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTG GGTCCTCGGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGATACACCTT CAACACCTACTATCTGCACTGGGTACGACAGGCCCCTGGACAA GGGCTTGAGTGGATGGGACGGATCAACCCTAACAATGGTGGC ACAAACTATGCACAGAAGTTTCAGGGCAGGGTCACCATGACC AGGGACACGTCCATCAACACAGCCTACATGGAGCTGAGCAGG CTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGCGCTCTT ACGATTACTGGGGTCAAGGTACTCTGGTGACCGTCTCCTCA [SEQ ID NO:396]

[0555] 包含与上述序列的V_H和V_L区具有高(即,80%或更大)同源性的V_H和/或V_L区的细胞外抗原结合结构域(例如,scFv)可以通过诱变(例如,定点或PCR介导的诱变)获得,然后使用本文所述的结合测定法来测试所编码的改变的scFv的保留功能(即,结合亲和力)。在某些实施方式中,相对于参照序列,具有至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源性的V_H序列包含取代(例如,保守取代以产生序列的保守修饰)、插入或缺失,但包含该序列的细胞外抗原结合结构域(例如,scFv)保留结合GPRC5D多肽的能力。在某些实施方式中,相对于参照序列,具有至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源性的V_L序列包含取代(例如,保守取代)、插入或缺失,但包含该序列的细胞外抗原结合结构域(例如,scFv)保留结合GPRC5D多肽的能力。在某些实施方案中,在所公开的序列中总共约1至约10个氨基酸被取代、插入和/或缺失。例如,并且并非通过限制的方式,V_H序列或V_L序列可以有至多约一个、至多约两个、至多约三个、至多约四个、至多约五个、至多约六个、至多约七个、至多约八个、至多约九个或至多约十个被修饰和/或取代的氨基酸残基。保守修饰的非限制性实例提供如下,例如,在表33中。

[0556] 本文使用的术语"保守序列修饰"是指不显著影响或改变包含氨基酸序列的本发明公开的CAR(例如,细胞外抗原结合结构域)的结合特征的氨基酸修饰。这种保守修饰包括氨基酸取代、添加和缺失。可以通过本领域已知的标准技术,比如定点诱变和PCR介导的诱变,将修饰引入本发明公开主题的人scFv中。可以根据其物理化学性质如电荷和极性将氨基酸分组。保守性氨基酸取代是其中氨基酸残基被相同组内的氨基酸替代的取代。例如,氨基酸可以通过电荷分类:带正电荷的氨基酸包括赖氨酸、精氨酸、组氨酸,带负电荷的氨基酸包括天冬氨酸、谷氨酸,中性电荷氨基酸包括丙氨酸、天冬酰胺、半胱氨酸、谷氨酰胺、甘

氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸。此外，氨基酸可以通过极性分类：极性氨基酸包括精氨酸(碱性极性)、天冬酰胺、天冬氨酸(酸性极性)、谷氨酸(酸性极性)、谷氨酰胺、组氨酸(碱性极性)、赖氨酸(碱性极性)、丝氨酸、苏氨酸和酪氨酸；非极性氨基酸包括丙氨酸、半胱氨酸、甘氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、色氨酸和缬氨酸。因此，CDR区内的一个或多个氨基酸残基可以被来自相同组的其他氨基酸残基替换，并且可以使用本文所述的功能试验检测改变的抗体的保留功能(即，以上(c)至(l)中所述的功能)。在某些实施方式中，在特定序列或CDR区内改变不超过一个、不超过两个、不超过三个、不超过四个、不超过五个残基。示例性保守氨基酸取代在表33中示出。

[0557] 表33

[0558]

原始残基	示例性的保守氨基酸取代
Ala (A)	Val; Leu; Ile
Arg (R)	Lys; Gln; Asn
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg
Asp (D)	Glu; Asn

[0559]

原始残基	示例性的保守氨基酸取代
Cys (C)	Ser; Ala
Gln (Q)	Asn; Glu
Glu (E)	Asp; Gln
Gly (G)	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe
Leu (L)	Ile; Val; Met; Ala; Phe
Lys (K)	Arg; Gln; Asn
Met (M)	Leu; Phe; Ile
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr
Pro (P)	Ala
Ser (S)	Thr
Thr (T)	Val; Ser
Trp (W)	Tyr; Phe
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala

[0560] 在某些非限制性实施方式中,CAR的细胞外抗原结合结构域可包含连接细胞外抗原结合结构域的重链可变区和轻链可变区的接头。本文使用的术语“接头”是指共价连接两个或多个多肽或核酸使得它们彼此连接的官能团(例如,化学的或多肽)。本文使用的“肽接头”是指用于将两种蛋白质偶联在一起(例如,偶联V_H和V_L结构域)的一个或多个氨基酸。肽接头的非限制性实例公开于Shen等人,Anal.Chem.80(6):1910-1917(2008)和WO 2014/087010中。

[0561] 在一个非限制性实例中,接头是包含具有SEQ ID NO:98所示序列的氨基酸的G4S接头。在某些实施方式中,编码SEQ ID NO:98的氨基酸序列的核苷酸序列如SEQ ID NO:99所示。在一个非限制性实例中,接头包含具有SEQ ID NO:284所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,编码SEQ ID NO:307的氨基酸序列的核苷酸序列如SEQ IDNO:285所示。

[0562] 在某些实施方式中,接头包含具有如下文所提供的SEQ ID NO:286所示序列的氨基酸。

[0563] GGGGS [SEQ ID NO:286]。

[0564] 在某些实施方式中,接头包含具有如下文所提供的SEQ ID NO:287所示序列的氨基酸。

[0565] SGGSGGS [SEQ ID NO:287]。

[0566] 在某些实施方式中,接头包含具有如下文所提供的SEQ ID NO:288所示序列的氨基酸。

[0567] GGGGSGGGS [SEQ ID NO:288]。

[0568] 在某些实施方式中,接头包含具有如下文所提供的SEQ ID NO:289所示序列的氨基酸。

[0569] GGGGSGGGGS [SEQ ID NO:289]。

[0570] 在某些实施方式中,接头包含具有如下文所提供的SEQ ID NO:290所示序列的氨基酸。

[0571] GGGGSGGGGSGGGGGGGS [SEQ ID NO:290]。

[0572] 在某些实施方式中,接头包含具有如下文所提供的SEQ ID NO:291所示序列的氨基酸。

[0573] GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS [SEQ ID NO:291]。

[0574] 在某些实施方式中,接头包含具有如下文所提供的SEQ ID NO:292所示序列的氨基酸。

[0575] GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS [SEQ ID NO:292]。

[0576] 在某些实施方式中,接头包含具有如下文所提供的SEQ ID NO:293所示序列的氨基酸。

[0577] GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS [SEQ ID NO:293]。

[0578] 在某些实施方式中,接头包含具有如下文所提供的SEQ ID NO:294所示序列的氨基酸。

[0579] GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS [SEQ ID NO:294]。

[0580] 在某些实施方式中,接头包含具有如下文所提供的SEQ ID NO:295所示序列的氨基酸。

[0581] EPKSCDKTHTCPPCP [SEQ ID NO:295]。

[0582] 在某些实施方式中,接头包含具有如下文所提供的SEQ ID NO:296所示序列的氨基酸。

[0583] GGGGSGGGSEPKSCDKTHTCPPCP [SEQ ID NO:296]。

[0584] 在某些实施方式中,接头包含具有如下文所提供的SEQ ID NO:297所示序列的氨基酸。

[0585] ELKTPLGDTTHTCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCP [SEQ ID NO:297]。

[0586] 在某些实施方式中,接头包含具有如下文所提供的SEQ ID NO:298所示序列的氨基酸。

[0587] GSGSGS [SEQ ID NO:298]。

[0588] 在某些实施方式中,接头包含具有如下文所提供的SEQ ID NO:299所示序列的氨基酸。

[0589] AAA [SEQ ID NO:299]。

[0590] 此外,细胞外抗原结合结构域能够包含将新生蛋白质导入内质网的前导序列或信号肽。如果CAR将被糖基化并锚定在细胞膜中,信号肽或前导序列可能是必需的。信号序列或前导序列可以是存在于新合成的蛋白质的N端的肽序列(约5、约10、约15、约20、约25或约30个氨基酸长度),其指导蛋白质进入分泌通路。在非限制性实例中,信号肽共价连接到细胞外抗原结合结构域的5'端。在某些实施方式中,信号肽包含CD8多肽,其包含具有如下文所提供的SEQ ID NO:268所示序列的氨基酸。

[0591] MALPVTALLLPLALLLHAAR [SEQ ID NO:268]

[0592] 编码SEQ ID NO:268的氨基酸序列的核苷酸序列如SEQ ID NO:269所示,其提供如下:

[0593] ATGGCTCTCCCAGTGACTGCCCTACTGCTTCCCCTAGCGCTTCTCCTGCATGCAGCTCGT [SEQ ID NO:269]

[0594] 在某些实施方式中,信号肽包含具有如下文所提供的SEQ ID NO:282所示序列的氨基酸。

[0595] METDTLLLWVLLLWVPGSTG [SEQ ID NO:282]

[0596] 编码SEQ ID NO:282的氨基酸序列的核苷酸序列如SEQ IDNO:283所示,其提供如下:

[0597] ATGGAAACCGACACCCTGCTGCTGTGGGTGCTGCTGCTGTGGGTGCCAGGATCCACAGGA [SEQ ID NO:283]

[0598] 在某些实施方式中,人scFv包含重链可变区、轻链可变区、重链可变区和轻链可变区之间的接头肽,以及His-标签和HA-标签。在某些实施方式中,His-标签和HA-标签的氨基酸序列包含SEQ ID NO:409的氨基酸序列,其提供如下:

[0599] TSGQAGQHHHHHHGAYPYDVPDYAS [SEQ ID NO: 409]

[0600] 编码SEQ ID NO:409的核苷酸序列为SEQ ID NO:410,其提供如下:

[0601] ACTAGTGGCCAGGCCGGCCAGCACCATCACCATCACCATGGCGCATACCCGTACGACGTTCCG GACTACGCTTCT [SEQ ID NO: 410]

[0602] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域结合包含SEQ ID NO:97所示的氨基酸序列的人GPRC5D多肽。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域结合N-端区域(SEQ ID NO:97的氨基酸1-27)、ECL1区域(SEQ ID NO:97的氨基酸85-93)、ECL2区域(SEQ ID NO:97的氨基酸145-167)和ECL3区域(SEQ ID NO:97的氨基酸226-239)中的一个、两个、三个或四个。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域结合N-端区域中的表位区域,包括但不限于,包含SEQ ID NO:97的氨基酸16-23的表位区域,和包含SEQ ID NO:97的氨基酸10-17的表位区域。在某些实施方式中,N-端区域中的表位区域包含SEQ ID NO:97的氨基酸15-23。在某些实施方式中,N-端区域中的表位区域包含SEQ ID NO:97的氨基酸16-25。在某些实施方式中,N-端区域中的表位区域包含SEQ ID NO:97的氨基酸10-17。在某些实施方式中,N-端区域中的表位区域包含SEQ ID NO:97的氨基酸5-17。

[0603] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域结合ECL1区域中的表位区域,包括但不限于,包含SEQ ID NO:97的氨基酸85-95的表位区域。

[0604] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域结合ECL2区域中的表位区域,包括但不限于,包含SEQ ID NO:97的氨基酸157-164的表位区域。在某些实施方式中,ECL2区域中的表位区域包含SEQ ID NO:97的氨基酸157-164。在某些实施方式中,ECL2区域中的表位区域包含SEQ ID NO:97的氨基酸157-167。

[0605] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域结合ECL3区域中的表位区域,包括但不限于,包含SEQ ID NO:97的氨基酸230-237的表位区域。在某些实施方式中,ECL3区域中的表位区域包含SEQ ID NO:97的氨基酸229-237。在某些实施方式中,ECL3区域中的表位区域包含SEQ ID NO:97的氨基酸230-243。在某些实施方式中,ECL3区域中的表位区域包含SEQ ID NO:97的氨基酸227-237。

[0606] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域结合一个、两个或三个选自下述的表位区域:包含SEQ ID NO:97的氨基酸16-25的表位区域、包含SEQ ID NO:97的氨基酸157-164的表位区域和包含SEQ ID NO:97的氨基酸229-237的表位区域。例如,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:57所示序列的氨基酸的重链可变区和包含具有SEQ ID NO:58所示序列的氨基酸的轻链可变区,任选地具有(iii)在重链可变区和轻链可变区之间的接头序列,例如接头肽。在某些实施方式中,接头包含具有SEQ ID NO:98所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv-Fc融合蛋白或全长人IgG,其V_H和V_L区或CDR选自表15。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:57所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_H。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_H,其包含具有SEQ ID NO:57所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:58所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_L。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_L,其包含具有SEQ ID NO:58所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:57所示序列的氨基酸的V_H和包含具有SEQ ID NO:58所示序列的氨基酸的V_L。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:208所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:209所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、和包含具有SEQ ID NO:210所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:211所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:212所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:213所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:208所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:209所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:210所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:211所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:212所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L

CDR2、和包含具有SEQ ID NO:213所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:208所示序列的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:209所示序列的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:210所示序列的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:211所示序列的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:212所示序列的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:213所示序列的氨基酸的V_L CDR3。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是ET150-2 scFv(或ET150-152 scFv)。

[0607] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域结合一个、两个或三个选自下述的表位区域:包含SEQ ID NO:97的氨基酸5-17的表位区域、包含SEQ ID NO:97的氨基酸85-95的表位区域、和包含SEQ ID NO:97的氨基酸157-164的表位区域。例如,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:61所示序列的氨基酸的重链可变区和包含具有SEQ ID NO:62所示序列的氨基酸的轻链可变区,任选地具有(iii)在重链可变区和轻链可变区之间的接头序列,例如接头肽。在某些实施方式中,接头包含具有SEQ ID NO:98所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv-Fc融合蛋白或全长人IgG,其V_H和V_L区或CDR选自表16。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_H。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_H,其包含具有SEQ ID NO:61所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:62所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_L。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_L,其包含具有SEQ ID NO:62所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:61所示序列的氨基酸的V_H和包含具有SEQ ID NO:62所示序列的氨基酸的V_L。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:214所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:215所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、和包含具有SEQ ID NO:216所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:217所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:218所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:219所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:214所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:215所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:216所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3,包含具有SEQ ID NO:217所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:218所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:219所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:214所示序列的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:215所示序列的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:216所示序列的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:217所示序列的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID

NO:218所示序列的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:219所示序列的氨基酸的V_L CDR3。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是ET150-155 scFv(或ET150-5 scFv)。

[0608] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域结合一个或两个选自下述的表位区域:包含SEQ ID NO:97的氨基酸15-23的表位区域、和包含SEQ ID NO:97的氨基酸230-243的表位区域。例如,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:65所示序列的氨基酸的重链可变区和包含具有SEQ ID NO:66所示序列的氨基酸的轻链可变区,任选地具有(iii)在重链可变区和轻链可变区之间的接头序列,例如接头肽。在某些实施方式中,接头包含具有SEQ ID NO:98所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv-Fc融合蛋白或全长人IgG,其V_H和V_L区或CDR选自表17。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_H。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_H,其包含具有SEQ ID NO:65所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:66所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_L,如表17所示。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_L,其包含具有SEQ ID NO:66所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:65所示序列的氨基酸的V_H和包含具有SEQ ID NO:66所示序列的氨基酸的V_L。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:220所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:221所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、和包含具有SEQ ID NO:222所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:223所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:224所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:225所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:220所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:221所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:222所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:223所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:224所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:225所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:220所示序列的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:221所示序列的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:222所示序列的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:223所示序列的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:224所示序列的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:225所示序列的氨基酸的V_L CDR3。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是ET150-8 scFv(或ET150-158 scFv)。

[0609] 在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域结合一个、两个或三个选自下述的表位区域:包含SEQ ID NO:97的氨基酸10-17的表位区域、包含SEQ ID NO:97的氨基酸157-167的表位区域、和包含SEQ ID NO:97的氨基酸227-237的表位区域。例如,细胞外抗原结合

结构域包含:包含具有SEQ ID NO:69所示序列的氨基酸的重链可变区和包含具有SEQ ID NO:70所示序列的氨基酸的轻链可变区,任选地具有(iii)在重链可变区和轻链可变区之间的接头序列,例如接头肽。在某些实施方式中,接头包含具有SEQ ID NO:98所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是scFv-Fc融合蛋白或全长人IgG,其V_H和V_L区或CDR选自表18。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:69所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_H。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_H,其包含具有SEQ ID NO:69所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含含有与SEQ ID NO:70所示的氨基酸序列至少约80%、约81%、约82%、约83%、约84%、约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%同源的氨基酸序列的V_L。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含V_L,其包含具有SEQ ID NO:70所示序列的氨基酸。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:69所示序列的氨基酸的V_H和包含具有SEQ ID NO:70所示序列的氨基酸的V_L。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:226所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:227所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、和包含具有SEQ ID NO:228所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:229所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:230所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:231所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:226所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:227所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:228所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:229所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:230所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:231所示序列或其保守修饰的氨基酸的V_L CDR3。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域包含:包含具有SEQ ID NO:226所示序列的氨基酸的V_H CDR1、包含具有SEQ ID NO:227所示序列的氨基酸的V_H CDR2、包含具有SEQ ID NO:228所示序列的氨基酸的V_H CDR3、包含具有SEQ ID NO:229所示序列的氨基酸的V_L CDR1、包含具有SEQ ID NO:230所示序列的氨基酸的V_L CDR2、和包含具有SEQ ID NO:231所示序列的氨基酸的V_L CDR3。在某些实施方式中,细胞外抗原结合结构域是ET150-18 scFv(或ET150-168 scFv)。

[0610] CAR的跨膜结构域

[0611] 在某些非限制性实施方式中,CAR的跨膜结构域包含跨越膜的至少一部分的疏水性α螺旋。不同的跨膜结构域产生不同的受体稳定性。在抗原识别之后,受体簇和信号被传递到细胞。根据本发明公开的主题,CAR的跨膜结构域包含CD8多肽、CD28多肽、CD3ζ多肽、CD4多肽、4-1BB多肽、OX40多肽、ICOS多肽、CTLA-4多肽、PD-1多肽、LAG-3多肽、2B4多肽、BTLA多肽、合成肽(非基于与免疫应答相关的蛋白质)、或其组合。

[0612] 在某些实施方式中,本发明公开的CAR的跨膜结构域包含CD28多肽。CD28多肽可具

有与NCBI参考编号为P10747或NP_006130的序列(SEQ ID NO:270)或其片段至少约85%、约90%、约95%、约96%、约97%、约98%、约99%或100%同源的氨基酸序列,和/或可任选地包含至多一个或至多两个或至多三个保守氨基酸取代。在非限制性实施方式中,CD28多肽的氨基酸序列可以是SEQ ID NO:270的连续部分,其长度为至少20、或至少30、或至少40、或至少50,并且至多220个氨基酸。或者,或另外,在非限制性的各种实施方式中,CD28多肽的氨基酸序列为SEQ ID NO:270的氨基酸1～220、1～50、50～100、100～150、150～200或200～220。在某些实施方式中,本发明公开的CAR包含含有CD28多肽的跨膜结构域和包含含有含CD28多肽的共刺激信号传导区的细胞内结构域。在某些实施方式中,包含在跨膜结构域和胞内结构域中的CD28多肽的氨基酸序列为SEQ ID NO:270的氨基酸114～220。

[0613] SEQ ID NO:270提供如下:

[0614]
```
1   MLRLLLALNL FPSIQVTGNK ILVKQSPMLV AYDNAVNLSC KYSYNLFSRE FRASLHKGLD
61  SAVEVCVVYG NYSQQLQVYS KTGFNCDGKL GNESVTFYLQ NLYVNQTDIY FCKIEVMYPP
121 PYLDNEKSNG TIIHVKGKHL CPSPLFPGPS KPFWVLVVVG GVLACYSLLV TVAFIIFWVR
181 SKRSRLLHSD YMNMTPRRPG PTRKHYQPYA PPRDFAAYRS [SEQ ID NO:270]
```

[0615] 根据本发明公开的主题,“CD28核酸分子”是指编码CD28多肽的多核苷酸。在某些实施方式中,编码本发明公开的CAR的跨膜结构域和细胞内结构域(例如,共刺激信号传导区)中所包含的CD28多肽(SEQ ID NO:270的氨基酸114～220)的CD28核酸分子包含具有如下文所提供的SEQ ID NO:271所示序列的核酸。

[0616]
```
ATTGAAGTTATGTATCCTCCTCCTTACCTAGACAATGAGAAGAGCAATGGAACCATTATCCAT
GTGAAAGGGAAACACCTTTGTCCAAGTCCCCTATTTCCCGGACCTTCTAAGCCCTTTTGGGTGCTGGTG
GTGGTTGGTGGAGTCCTGGCTTGCTATAGCTTGCTAGTAACAGTGGCCTTTATTATTTTCTGGGTGAGG
AGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGACTACATGAACATGACTCCCCGCCGCCCCGGGCCCACCCGC
AAGCATTACCAGCCCTATGCCCCACCACGCGACTTCGCAGCCTATCGCTCC [SEQ ID NO:271]
```

[0617] 在某些实施方式中,本发明公开的CAR的跨膜结构域包含CD8多肽。CD8多肽可以具有与NCBI参考编号为AAH25715的序列(SEQ ID NO:404)或其片段至少约85%、约90%、约95%、约96%、约97%、约98%、约99%或100%同源的氨基酸序列,和/或可以任选地包含至多一个或至多两个或至多三个保守氨基酸取代。在非限制性实施方式中,CD8多肽的氨基酸序列可以是SEQ ID NO:404的连续部分,其长度为至少20个、或至少30个、或至少40个、或至少50个、或至少70个、或至少100个、或至少150个、或至少200各并且至多235个氨基酸。或者,或另外,在非限制性的各种实施方式中,CD28多肽具有SEQ ID NO:404的氨基酸1～235、1～50、50～100、100～150、150～200、130～210或200～235的氨基酸序列。在某些实施方式中,跨膜结构域中包含的CD8多肽具有SEQ ID NO:404的氨基酸137～207的氨基酸序列。

[0618] SEQ ID NO:226提供如下:

[0619]
```
1     MALPVTALLL PLALLLHAAR PSQFRVSPLD RTWNLGETVE LKCQVLLSNP TSGCSWLFQP
61    RGAAASPTFL LYLSQNKPKA AEGLDTQRFS GKRLGDTFVL TLSDFRRENE GCYFCSALSN
121   SIMYFSHFVP VFLPAKPTTT PAPRPPTPAP TIASQPLSLR PEACRPAAGG AVHTRGLDFA
181   CDIYIWAPLA GTCGVLLLSL VITLYCNHRN RRRVCKCPRP VVKSGDKPSL SARYV [SEQ ID NO:
404].
```

[0620] 根据本发明公开的主题,“CD8核酸分子”是指编码CD8多肽的多核苷酸。在某些实施方式中,编码本发明公开的CAR的跨膜结构域中的CD8多肽(SEQ ID NO:404的氨基酸137

～207)的CD8核酸分子包含具有如下文所提供的SEQ ID NO:405所示序列的核酸。

[0621] CCCACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACCCCGGCGCCCACGATCGCGTCGCAGCCCCTG TCCCTGCGCCCAGAGGCGTGCCGGCCAGCGGCGGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCGCC TGTGATATCTACATCTGGGCGCCCCTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACC CTTTACTGCAAC [SEQ ID NO:227]

[0622] 在某些非限制性实施方式中,CAR还可包含将细胞外抗原结合结构域连接至跨膜结构域的间隔区(spacer region)。间隔区可以是足够柔性的,以允许抗原结合结构域在不同方向上定向,以利于抗原识别。间隔区可以是来自IgG1的铰链区、或免疫球蛋白的CH_2CH_3区和CD3的部分。

[0623] CAR的细胞内结构域

[0624] 在某些非限制性实施方式中,CAR的细胞内结构域可以包含CD3ζ多肽,其可以激活或刺激细胞(例如,淋巴谱系的细胞,例如,T细胞)。CD3ζ包含三个ITAM,并且在抗原结合后向细胞(例如,淋巴谱系的细胞,例如,T细胞)发送激活信号。CD3ζ多肽可以具有与SEQ ID NO:272所示的序列或其片段至少约85%、约90%、约95%、约96%、约97%、约98%、约99%或约100%同源的氨基酸序列,和/或可以任选地包含至多一个或至多两个或至多三个保守氨基酸取代。在非限制性实施方式中,CD3ζ多肽的氨基酸序列可以是SEQ ID NO:272的连续部分,其长度为至少20个、或至少30个、或至少40个、或至少50个、并且至多163个氨基酸。或者,或另外,在非限制性的各种实施方式中,CD3ζ多肽可以具有SEQ ID NO:272的氨基酸1～163、1～50、50～100、100～150、或150～163的氨基酸序列。在某些实施方式中,本发明公开的CAR的细胞内结构域中包含的CD3ζ多肽具有SEQ ID NO:272的氨基酸52～163的氨基酸序列。

[0625] SEQ ID NO:272提供如下:

[0626] 1 MKWKALFTAA ILQAQLPITE AQSFGLLDPK LCYLLDGILF IYGVILTALF LRVKFSRSAD 61 APAYQQGQNQ LYNELNLGRR EEYDVLDKRR GRDPEMGGKP RRKNPQEGLY NELQKDKMAE 121 AYSEIGMKGE RRRGKGHDGL YQGLSTATKD TYDALHMQAL PPR [SEQ ID NO: 272]

[0627] 根据本发明公开的主题,“CD3ζ核酸分子”是指编码CD3ζ多肽的多核苷酸。在某些实施方式中,编码本发明公开的CAR的细胞内结构域中包含的CD3ζ多肽(SEQ ID NO:272的氨基酸52～163)的CD3ζ核酸分子包含具有如下文所提供的SEQ ID NO:273所示序列的核酸。

[0628] AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACCAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTAT AACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAG ATGGGGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATG GCGGAGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTAC CAGGGTCTCAGTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGCTAA [SEQ ID NO: 273]

[0629] 在某些非限制性实施方式中,CAR的细胞内结构域还包含至少一个信号传导区。至少一个信号传导区可以包含CD28多肽、4-1BB多肽、OX40多肽、ICOS多肽、DAP-10多肽、PD-1多肽、CTLA-4多肽、LAG-3多肽、2B4多肽、BTLA多肽、合成肽(非基于与免疫应答相关的蛋白质)、或其组合。

[0630] 在某些实施方式中,信号传导区是共刺激信号传导区。在某些实施方式中,共刺激

区包含至少一个可提供最佳淋巴细胞活化的共刺激分子。本文使用的“共刺激分子”是指淋巴细胞对抗原的有效应答所需的除抗原受体或其配体之外的细胞表面分子。至少一个共刺激信号传导区可包含CD28多肽、4-1BB多肽、OX40多肽、ICOS多肽、DAP-10多肽、或其组合。共刺激分子可以结合共刺激配体,共刺激配体是在细胞表面上表达的蛋白质,其在结合其受体时产生共刺激应答,即实现当抗原结合其CAR分子时所提供的刺激的细胞内应答。共刺激配体包括但不限于CD80、CD86、CD70、OX40L、4-1BBL、CD48、TNFRSF14和PD-L1。作为一个实例,4-1BB配体(即4-1BBL)可结合4-1BB(也称为“CD137”)以提供细胞内信号,其与CAR信号联合诱导CAR^{+}T细胞的效应细胞功能。U.S.7,446,190中公开了包含细胞内结构域的CAR,其细胞内结构域包含含有4-1BB、ICOS或DAP-10的共刺激信号传导区(例如,在US7,446,190中,编码4-1BB的核苷酸序列如SEQ ID NO:15所示,编码ICOS的核苷酸序列如SEQ ID NO:16所示,编码DAP-10的核苷酸序列如SEQ ID NO:17所示),其全部内容通过引入本文以供参考。在某些实施方式中,CAR的细胞内结构域包含共刺激信号传导区,其包含CD28多肽。在某些实施方式中,CAR的细胞内结构域包含共刺激信号传导区,其包含两种共刺激分子:CD28和4-1BB,或CD28和OX40。

[0631] 4-1BB可以作为肿瘤坏死因子(TNF)配体并具有刺激活性。4-1BB多肽具有与NCBI参考编号为P41273或NP_001552(SEQ ID NO:274)的序列或其片段至少约85%、约90%、约95%、约96%、约97%、约98%、约99%或100%同源性的氨基酸序列,和/或可任选地包含至多一个或至多两个或至多三个保守氨基酸取代。在某些实施方式中,本发明公开的CAR的细胞内结构域中包含的4-1BB多肽具有SEQ ID NO:274的氨基酸214～255的氨基酸序列。SEQ ID NO:274提供如下:

[0632]
```
1   MGNSCYNIVA TLLLVLNFER TRSLQDPCSN CPAGTFCDNN RNQICSPCPP NSFSSAGGQR
61  TCDICRQCKG VFRTRKECSS TSNAECDCTP GFHCLGAGCS MCEQDCKQGQ ELTKKGCKDC
121 CFGTFNDQKR GICRPWTNCS LDGKSVLVNG TKERDVVCGP SPADLSPGAS SVTPPAPARE
181 PGHSPQIISF FLALTSTALL FLLFFLTLRF SVVKRGRKKL LYIFKQPFMR PVQTTQEEDG
241 CSCRFPEEEE GGCEL [SEQ ID NO: 274]
```

[0633] 根据本发明公开的主题,“4-1BB核酸分子”是指编码4-1BB多肽的多核苷酸。在某些实施方式中,编码本发明公开的CAR的细胞内结构域中所包含的4-1BB多肽(SEQ ID NO:274的氨基酸214～255)的4-1BB核酸分子包含具有如下文所提供的SEQ ID NO:300所示序列的核酸。

[0634]
```
aaacggggcagaaagaagctcctgtatatattcaaacaaccatttatgagaccagtacaaactactcaagagga
agatggctgtagctgccgatttccagaagaagaagaaggaggatgtgaactg [SEQ ID NO: 300]
```

[0635] OX40多肽可具有与NCBI参考编号为P43489或NP_003318(SEQ ID NO:275)的序列或其片段至少约85%、约90%、约95%、约96%、约97%、约98%、约99%或100%同源的氨基酸序列,和/或可任选地包含至多一个或至多两个或至多三个保守氨基酸取代。

[0636] SEQ ID NO:275提供如下:

[0637]
```
1   MCVGARRLGR GPCAALLLLG LGLSTVTGLH CVGDTYPSND RCCHECRPGN GMVSRCSRSQ
61  NTVCRPCGPG FYNDVVSSKP CKPCTWCNLR SGSERKQLCT ATQDTVCRCR AGTQPLDSYK
121 PGVDCAPCPP GHFSPGDNQA CKPWTNCTLA GKHTLQPASN SSDAICEDRD PPATQPQETQ
181 GPPARPITVQ PTEAWPRTSQ GPSTRPVEVP GGRAVAAILG LGLVLGLLGP LAILLALYLL
241 RRDQRLPPDA HKPPGGGSFR TPIQEEQADA HSTLAKI [SEQ ID NO: 275]
```

[0638] 根据本发明公开的主题,“OX40核酸分子”是指编码OX40多肽的多核苷酸。

[0639] ICOS多肽具有与NCBI参考编号为NP_036224(SEQ ID NO:276)的序列或其片段至少约85%、约90%、约95%、约96%、约97%、约98%、约99%或100%同源的氨基酸序列,和/或可任选地包含至多一个或至多两个或至多三个保守氨基酸取代。

[0640] SEQ ID NO:276提供如下:

[0641]
```
1   MKSGLWYFFL FCLRIKVLTG EINGSANYEM FIFHNGGVQI LCKYPDIVQQ FKMQLLKGGQ
61  ILCDLTKTKG SGNTVSIKSL KFCHSQLSNN SVSFFLYNLD HSHANYYFCN LSIFDPPPFK
121 VTLTGGYLHI YESQLCCQLK FWLPIGCAAF VVVCILGCIL ICWLTKKKYS SSVHDPNGEY
181 MFMRAVNTAK KSRLTDVTL [SEQ ID NO: 276]
```

[0642] 根据本发明公开的主题,“ICOS核酸分子”是指编码ICOS多肽的多核苷酸。

[0643] CTLA-4是由活化的T细胞表达的抑制性受体,其在被相应的配体(分别为CD80和CD86;B7-1和B7-2)接合时介导活化的T细胞抑制或无反应性(anergy)。在临床前和临床研究中,通过系统性抗体输注引起的CTLA-4阻断尽管增强了内源性抗肿瘤应答,但在临床环境中具有显著的未预见的毒性。

[0644] CTLA-4包含细胞外V结构域、跨膜结构域和胞质尾区。已经表征了编码不同亚型的替代剪接变体。膜结合亚型作为通过二硫键互连的同源二聚体起作用,而可溶性亚型则作为单体起作用。细胞内结构域类似于CD28的结构域,因为其没有内在的催化活性并且包含能够结合PI3K、PP2A和SHP-2的一个YVKM基序和一个能够结合包含SH3的蛋白质的富含脯氨酸的基序。CTLA-4在抑制T细胞应答中的一种作用似乎直接通过TCR-近端信号传导蛋白比如CD3和LAT的SHP-2和PP2A去磷酸化。CTLA-4也可通过与CD28竞争CD80/86结合而间接影响信号传导。CTLA-4也已示出与PI3K、CD80、AP2M1和PPP2R5A结合和/或相互作用。

[0645] 根据本发明公开的主题,CTLA-4多肽可具有与UniProtKB/Swiss-Prot参考号P16410.3(SEQ ID NO:277)或其片段至少约85%、约90%、约95%、约96%、约97%、约98%、约99%或约100%同源的(本文中的同源性可使用标准软件如BLAST或FASTA确定)氨基酸序列,和/或可任选地包含至多一个或至多两个或至多三个保守氨基酸取代。

[0646] SEQ ID NO:277提供如下:

[0647]
```
1   MACLGFQRHK AQLNLATRTW PCTLLFFLLF IPVFCKAMHV AQPAVVLASS RGIASFVCEY
61  ASPGKATEVR VTVLRQADSQ VTEVCAATYM MGNELTFLDD SICTGTSSGN QVNLTIQGLR
121 AMDTGLYICK VELMYPPPYY LGIGNGTQIY VIDPEPCPDS DFLLWILAAV SSGLFFYSFL
181  LTAVSLSKML KKRSPLTTGV YVKMPPTEPE CEKQFQPYFI PIN [SEQ ID NO: 277]
```

[0648] 根据本发明公开的主题,“CTLA-4核酸分子”是指编码CTLA-4多肽的多核苷酸。

[0649] PD-1是与在内源性巨噬细胞和树突细胞上表达的其相应配体PD-L1和PD-L2接合时的活化T细胞的负免疫调节剂。PD-1是268个氨基酸的I型膜蛋白。PD-1具有两种配体PD-L1和PD-L2,它们是B7家族的成员。该蛋白质的结构包含细胞外IgV结构域,其后是跨膜区和细胞内尾区。细胞内尾区包含位于免疫受体基于酪氨酸的抑制基序和免疫受体基于酪氨酸

的开关基序的两个磷酸化位点,PD-1负调节TCR信号。SHP-1和SHP-2磷酸酶在配体结合时结合PD-1的细胞质尾部。PD-L1的上调是肿瘤细胞逃避宿主免疫系统的一种机制。在临床前和临床试验中,通过拮抗性抗体引起的PD-1阻断诱导通过宿主内源性免疫系统介导的抗肿瘤反应。

[0650] 根据本发明公开的主题,PD-1多肽可具有与NCBI参考号NP_005009.2(SEQ ID NO:278)或其片段至少约85%、约90%、约95%、约96%、约97%、约98%、约99%或约100%同源的氨基酸序列,和/或可任选地包含至多一个或至多两个或至多三个保守氨基酸取代。

[0651] SEQ ID NO:278提供如下:

[0652]
```
1   MQIPQAPWPV VWAVLQLGWR PGWFLDSPDR PWNPPTFSPA LLVVTEGDNA TFTCSFSNTS
61  ESFVLNWYRM SPSNQTDKLA AFPEDRSQPG QDCRFRVTQL PNGRDFHMSV VRARRNDSGT
121 YLCGAISLAP KAQIKESLRA ELRVTERRAE VPTAHPSPSP RPAGQFQTLV VGVVGGLLGS
181 LVLLVWVLAV ICSRAARGTI GARRTGQPLK EDPSAVPVFS VDYGELDFQW REKTPEPPVP
241 CVPEQTEYAT IVFPSGMGTS SPARRGSADG PRSAQPLRPE DGHCSWPL [SEQ ID NO:
278]
```

[0653] 根据本发明公开的主题,“PD-1核酸分子”是指编码PD-1多肽的多核苷酸。

[0654] 淋巴细胞活化蛋白3(LAG-3)是免疫细胞的负免疫调节剂。LAG-3属于免疫球蛋白(Ig)超家族,并且含有4个胞外Ig样结构域。LAG3基因含有8个外显子。序列数据、外显子/内含子组成和染色体定位都表明LAG3与CD4的密切关系。LAG3也被称为CD223(分化簇223)。

[0655] 根据本发明公开的主题,LAG-3多肽可具有与UniProtKB/Swiss-Prot参考号P18627.5(SEQ ID NO:279)或其片段至少约85%、约90%、约95%、约96%、约97%、约98%、约99%或约100%同源的氨基酸序列,和/或可任选地包含至多一个或至多两个或至多三个保守氨基酸取代。

[0656] SEQ ID NO:279提供如下:

[0657]
```
1 MWEAQFLGLL FLQPLWVAPV KPLQPGAEVP VVWAQEGAPA QLPCSPTIPL QDLSLLRRAG
61 VTWQHQPDSG PPAAAPGHPL APGPHPAAPS SWGPRPRRYT VLSVGPGGLR SGRLPLQPRV
121 QLDERGRQRG DFSLWLRPAR RADAGEYRAA VHLRDRALSC RLRLRLGQAS MTASPPGSLR
181 ASDWVILNCS FSRPDRPASV HWFRNRGQGR VPVRESPHHH LAESFLFLPQ VSPMDSGPWG
241 CILTYRDGFN VSIMYNLTVL GLEPPTPLTV YAGAGSRVGL PCRLPAGVGT RSFLTAKWTP
301 PGGGPDLLVT GDNGDFTLRL EDVSQAQAGT YTCHIHLQEQ QLNATVTLAI ITVTPKSFGS
361 PGSLGKLLCE VTPVSGQERF VWSSLDTPSQ RSFSGPWLEA QEAQLLSQPW QCQLYQGERL
421 LGAAVYFTEL SSPGAQRSGR APGALPAGHL LLFLILGVLS LLLLVTGAFG FHLWRRQWRP
481 RRFSALEQGI HPPQAQSKIE ELEQEPEPEP EPEPEPEPEP EPEQL [SEQ ID NO:
279]
```

[0658] 根据本发明公开的主题,“LAG-3核酸分子”是指编码LAG-3多肽的多核苷酸。

[0659] 自然杀伤细胞受体2B4(2B4)介导NK细胞和T细胞亚群上的非MHC限制性细胞杀伤。到目前为止,2B4的功能仍在研究中,其中2B4-S亚型被认为是激活受体,2B4-L亚型被认为是免疫细胞的负免疫调节剂。2B4在结合其高亲和力配体CD48时变得契合。2B4含有基于酪氨酸的开关基序,一种允许蛋白质与各种磷酸酶结合的分子开关。2B4也被称为CD244(分化簇244)。

[0660] 根据本发明公开的主题,2B4多肽可具有与UniProtKB/Swiss-Prot参考号Q9BZW8.2(SEQ ID NO:280)或其片段至少约85%、约90%、约95%、约96%、约97%、约98%、

约99％或约100％同源的氨基酸序列,和/或可任选地包含至多一个或至多两个或至多三个保守氨基酸取代。

[0661] SEQ ID NO:280提供如下:

1 MLGQVVTLIL LLLLKVYQGK GCQGSADHVV SISGVPLQLQ PNSIQTKVDS IAWKKLLPSQ
61 NGFHHILKWE NGSLPSNTSN DRFSFIVKNL SLLIKAAQQQ DSGLYCLEVT SISGKVQTAT
121 FQVFVFESLL PDKVEKPRLQ GQGKILDRGR CQVALSCLVS RDGNVSYAWY RGSKLIQTAG
[0662] 181 NLTYLDEEVD INGTHTYTCN VSNPVSWESH TLNLTQDCQN AHQEFRFWPF LVIIVILSAL
241 FLGTLACFCV WRRKRKEKQS ETSPKEFLTI YEDVKDLKTR RNHEQEQTFP GGGSTIYSMI
301 QSQSSAPTSQ EPAYTLYSLI QPSRKSGSRK RNHSPSFNST IYEVIGKSQP KAQNPARLSR
361 KELENFDVYS [SEQ ID NO: 280]

[0663] 根据本发明公开的主题,“2B4核酸分子”是指编码2B4多肽的多核苷酸。

[0664] 在T细胞激活期间诱导B和T淋巴细胞衰减子(BTLA)表达,并且BTLA保持在Th1细胞上表达而不在Th2细胞上表达。与PD1和CTLA4一样,BTLA与B7同源物B7H4相互作用。然而,与PD-1和CTLA-4不同的是,BTLA通过与肿瘤坏死家族受体(TNF-R)的相互作用表现T细胞抑制,而不仅仅是细胞表面受体的B7家族。BTLA是肿瘤坏死因子(受体)超家族成员14(TNFRSF14)的配体,也称为疱疹病毒侵入介体(HVEM)。BTLA-HVEM复合物负调节T细胞免疫应答。已示出BTLA活化抑制人$CD8^+$癌症特异性T细胞的功能。BTLA也称为CD272(分化簇272)。

[0665] 根据本发明公开的主题,BTLA多肽可具有与UniProtKB/Swiss-Prot参考号Q7Z6A9.3(SEQ ID NO:281)或其片段至少约85％、约90％、约95％、约96％、约97％、约98％、约99％或约100％同源的氨基酸序列,和/或可任选地包含至多一个或至多两个或至多三个保守氨基酸取代。

[0666] SEQ ID NO:281提供如下:

1 MKTLPAMLGT GKLFWVFFLI PYLDIWNIHG KESCDVQLYI KRQSEHSILA GDPFELECPV
61 KYCANRPHVT WCKLNGTTCV KLEDRQTSWK EEKNISFFIL HFEPVLPNDN GSYRCSANFQ
[0667] 121 SNLIESHSTT LYVTDVKSAS ERPSKDEMAS RPWLLYRLLP LGGLPLLITT CFCLFCCLRR
181 HQGKQNELSD TAGREINLVD AHLKSEQTEA STRQNSQVLL SETGIYDNDP DLCFRMQEGS
241 EVYSNPCLEE NKPGIVYASL NHSVIGPNSR LARNVKEAPT EYASICVRS [SEQ ID NO: 281]

[0668] 根据本发明公开的主题,“BTLA核酸分子”是指编码BTLA多肽的多核苷酸。

[0669] 在某些实施方式中,CAR包含特异性地结合G-蛋白偶联受体(例如,GPRC5D)的细胞外抗原结合区、包含CD28多肽的跨膜结构域、和包含CD3ζ多肽的细胞内结构域以及包含CD28多肽的共刺激信号传导区,如图1所示。如图1所示,CAR还包含共价结合至细胞外抗原结合结构域的5’端的信号肽或前导序列。在某些实施方式中,信号肽包含具有SEQ ID NO:282所示序列的氨基酸。

[0670] 在某些实施方式中,CAR包含特异性地结合G-蛋白偶联受体(例如,GPRC5D)的细胞外抗原结合区、包含CD8多肽的跨膜结构域、和包含CD3ζ多肽的细胞内结构域以及包含4-1BB多肽的共刺激信号传导区,如图6所示。如图6所示,CAR还包含共价结合至细胞外抗原结合结构域的5’端的信号肽或前导序列。在某些实施方式中,信号肽包含具有SEQ ID NO:所示序列的氨基酸282。

[0671] 在一些实施方式中,本发明公开的主题的CAR可进一步包含用于在人细胞中表达核酸序列的诱导型启动子。用于表达CAR基因的启动子是组成型启动子,例如泛素C(UbiC)启动子。

[0672] 本发明公开的主题还提供分离的核酸分子,其编码本文所述的靶向G-蛋白偶联受体(例如,GPRC5D)的CAR或其功能部分。在某些实施方式中,分离的核酸分子编码本发明公开的靶向G-蛋白偶联受体(例如,GPRC5D)的CAR,所述CAR包含特异性地结合人GPRC5D的scFv、包含CD28多肽的跨膜结构域、和包含CD3ξ多肽的细胞内结构域以及包含CD28多肽的共刺激信号传导区。在某些实施方式中,该scFv是人scFv。在某些实施方式中,该scFv是鼠scFv。在一个特定的非限制性实例中,分离的核酸分子包含具有下文所提供的SEQ ID NO:397所示序列的核酸:

[0673] cagtctgtgttgacgcagcctgcctccgtgtctgggtctcctggacagtcgctcaccatctcctgcactggaacc agcaatgacgttggtgcttataagtatgtctcctggtatcaacagtacccaggcaaagcccccaaactcatactttatgatgtc tttaagcggccctcaggggtctctaatcgcttctctggctccaagtctgacaacacggcctccctgaccatctctgggctcca ggctgaggacgaggctgattattactgcttctcacttacaagcagtaacacttatgtcttcggaactgggaccaaggtcaccg tcctaggttctagaggtggtggtggtagcggcggcggcggctctggtggtggtggatccctcgagatggcccagatgcag ctggtgcagtctggagctgaggtgaagaagcctggggcctcagtgaaggtctcctgcaaggcttctggttacacctttaaca gatatgctatcacctgggtgcgacaggcccctggacaaggccttgagtggatgggatggatcagcgcttacaatggtaatt cacactatgcacagaagctccagggcagagtcaccatgaccacagacacatccacgggcacagcctatatggagctgag gaggctgagatctgacgacacggccgtgtattactgtgcgcgcatggcttacgattcttggggtcaaggtactctggtgacc gtctcctcagcggccgcaattgaagttatgtatcctcctccttacctagacaatgagaagagcaatggaaccattatccatgtg aaagggaaacacctttgtccaagtcccctatttcccggaccttctaagccctttgggtgctggtggtggttggtggagtcctg gcttgctatagcttgctagtaacagtggcctttattattttctgggtgaggagtaagaggagcaggctcctgcacagtgactac atgaacatgactccccgccgccccgggcccacccgcaagcattaccagccctatgccccaccacgcgacttcgcagcct atcgctccagagtgaagttcagcaggagcgcagacgcccccgcgtaccagcagggccagaaccagctctataacgagc tcaatctaggacgaagagaggagtacgatgttttggacaagagacgtggccgggaccctgagatggggggaaagccga gaaggaagaaccctcaggaaggcctgtacaatgaactgcagaaagataagatggcggaggcctacagtgagattgggat gaaaggcgagcgccggaggggcaaggggcacgatggcctttaccagggtctcagtacagccaccaaggacacctacg acgcccttcacatgcaggccctgcccccgc [SEQ ID NO:397]

[0674] 在一个特定的非限制性实例中,分离的核酸分子包含具有下文所提供的SEQ ID NO:398所示序列的核酸:

cagtctgtgttgactcagccaccctcagcgtctgggacccccggacagagggtcaccatctcttgttctggaagc

aggtccaacgtaggaggtaattatgtattttggtaccagcaagtccccggagcgacccccaaactcctcatctataggagta

atcagcggccctcgggggtccctgaccgattcgctggctccaagtctggctcctcagcctccctggccatcagtggactcc

ggtccgaggatgaggctgattattactgtgcaacatgggatgacagcctgagtggttttgtcttcggaactgggaccaaggt

caccgtcctaggttctagaggtggtggtggtagcggcggcggcggctctggtggtggtggatccctcgagatggccgag

gtgcagctggtggagtctgggggaggcttggtcaagcctggagggtccctgagactctcctgtgcagcctctggattcacc

ttcagtgactactacatgagctggatccgccaggctccagggaaggggctggagtgggtttcatacattagtagtagtggta

gtaccatatactacgcagactctgtgaagggccgattcaccatctccagggacaacgccaagaactcactgtatctgcaaat

gaacagcctgagagccgaggacacggccgtatattactgtgcgcgcggttacggtaaagcttacgatcagtggggtcaag

[0675] gtactctggtgaccgtctcctcagcggccgcaattgaagttatgtatcctcctccttacctagacaatgagaagagcaatgga

accattatccatgtgaaagggaaacacctttgtccaagtcccctatttcccggaccttctaagccctttgggtgctggtggtg

gttggtggagtcctggcttgctatagcttgctagtaacagtggcctttattattttctgggtgaggagtaagaggagcaggctc

ctgcacagtgactacatgaacatgactccccgccgccccgggcccacccgcaagcattaccagccctatgccccaccac

gcgacttcgcagcctatcgctccagagtgaagttcagcaggagcgcagacgcccccgcgtaccagcagggccagaacc

agctctataacgagctcaatctaggacgaagagaggagtacgatgttttggacaagagacgtggccgggaccctgagatg

gggggaaagccgagaaggaagaaccctcaggaaggcctgtacaatgaactgcagaaagataagatggcggaggccta

cagtgagattgggatgaaaggcgagcgccggaggggcaaggggcacgatggcctttaccagggtctcagtacagccac

caaggacacctacgacgcccttcacatgcaggccctgcccccctcgc [SEQ ID NO:398]

[0676] 在一个特定的非限制性实例中,分离的核酸分子包含具有下文所提供的SEQ ID NO:399所示序列的核酸:

Tcttctgagctgactcaggaccctgctgtgtctgtggccttgggacagacagtcaggatcacatgccaaggaga

cagcctcagaagctattatgcaagctggtaccagcagaagccaggacaggcccctgtacttgtcatctatggtaaaaacaa

ccggccctcagggatcccagaccgattctctggctccagctcaggaaacacagcttccttgaccatcactggggctcaggc

[0677] ggaagatgaggctgactattactgtaactcccgggacagcagtggtaacccccctgtggtattcggcggagggaccaagc

tgaccgtcctaggttctagaggtggtggtggtagcggcggcggcggctctggtggtggtggatccctcgagatggccCa

ggtgcagctggtggagtctgggggaggcctggtccaccctgggggtccctgagactctcctgtgcagcctctggattca

ccttcagaagccatagcatgaactgggtccgccaggctccagggaaggggctggagtgggtctcatccattagtagtgata

gtacttacacatactacgcagactcagtgaagggccgattcaccatctccagagacaacgccaagaactcactgtatctgca
aatgaacagcctgagagccgaggacacggccgtatattactgtgcgcgctctggtggtcagtggaaatactacgattactg
gggtcaaggtactctggtgaccgtctcctcagcggccgcaattgaagttatgtatcctcctccttacctagacaatgagaaga
gcaatggaaccattatccatgtgaaagggaaacacctttgtccaagtcccctatttcccggaccttctaagccctttgggtgc
tggtggtggttggtggagtcctggcttgctatagcttgctagtaacagtggcctttattattttctgggtgaggagtaagagga

[0678] gcaggctcctgcacagtgactacatgaacatgactccccgccgccccgggcccacccgcaagcattaccagccctatgc
cccaccacgcgacttcgcagcctatcgctccagagtgaagttcagcaggagcgcagacgcccccgcgtaccagcaggg
ccagaaccagctctataacgagctcaatctaggacgaagagaggagtacgatgttttggacaagagacgtggccgggac
cctgagatgggggggaaagccgagaaggaagaaccctcaggaaggcctgtacaatgaactgcagaaagataagatggc
ggaggcctacagtgagattgggatgaaaggcgagcgccggaggggcaaggggcacgatggcctttaccagggtctca
gtacagccaccaaggacacctacgacgcccttcacatgcaggccctgcccccctcgc [SEQ ID NO:399]

[0679] 在一个特定的非限制性实例中,分离的核酸分子包含具有下文所提供的SEQ ID NO:400所示序列的核酸:

cagtctgtcgtgacgcagccgccctcaatgtctgcggccccaggacagcaagtcaccatctcctgctctggag
gcaactccaacattgagagaaattatgtatcctggtacctccagctccctggaacagcccccaaactcgtcatttttgacaatg
ataggcgaccctcagggattcctgaccgattctctggctccaagtctggcacgtcagccaccctgggcatcaccggactcc
agactggggacgaggccgattattactgcggaacatgggatagcagcctgagaggttgggtgttcggcggagggaccaa
gctgaccgtcctaggttctagaggtggtggtggtagcggcggcggcggctctggtggtggtggatccctcgagatggccg
aggtgcagctggtggagtccgggggaggcttgatacagcctgggggtccctgagactctcctgtgcagcctctggattc
acctttagcaactatgccatgaactgggtccgccaggctccagggaaggggctggagtgggtctcaactattaatggtcgt
ggtagtagtacaatctacgcagactccgtgaagggccggttcaccatctccagagacaattccaagaacacgctgtatctg
caaatgaacagcctgagagccgaggacacagccacgtattactgtgcgcgctacatctctcgtggtctgggtgattcttggg

[0680] gtcaaggtactctggtgaccgtctcctcagcggccgcaattgaagttatgtatcctcctccttacctagacaatgagaagagc
aatggaaccattatccatgtgaaagggaaacacctttgtccaagtcccctatttcccggaccttctaagccctttgggtgctg
gtggtggttggtggagtcctggcttgctatagcttgctagtaacagtggcctttattattttctgggtgaggagtaagaggagc
aggctcctgcacagtgactacatgaacatgactccccgccgccccgggcccacccgcaagcattaccagccctatgcccc
accacgcgacttcgcagcctatcgctccagagtgaagttcagcaggagcgcagacgcccccgcgtaccagcagggcca
gaaccagctctataacgagctcaatctaggacgaagagaggagtacgatgttttggacaagagacgtggccgggaccctg
agatgggggggaaagccgagaaggaagaaccctcaggaaggcctgtacaatgaactgcagaaagataagatggcggag
gcctacagtgagattgggatgaaaggcgagcgccggaggggcaaggggcacgatggcctttaccagggtctcagtaca
gccaccaaggacacctacgacgcccttcacatgcaggccctgcccccctcgc [SEQ ID NO:400]

[0681] 在一个特定的非限制性实例中,分离的核酸分子包含具有下文所提供的SEQ ID NO:401所示序列的核酸:

CCGGTGCCGCCACCATGGAAACCGACACCCTGCTGCTGTGGGTGCTGCTGCTGTGGGTGCCAGGATCCACAGGACAGTCT
GTCGTGACGCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCCTGGACAGTCGATCACCATCTCCTGCACTGGAACCAGCAGTGACGT
TGGTGGTTATAACTATGTCTCCTGGTACCAACAGCACCCAGGCAAAGCCCCCAAACTCATGATTTATGATGTCAGTAAGC
GGCCCTCAGGGGTTTCTAATCGCTTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCAACACGGCCTCCCTGACCATCTCTGGGCTCCAGGCT
GAGGACGAGGCTGATTATTACTGCAGCTCATATACAAGCAGCAGCACTTTGGTATTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGT
CCTAGGTTCTAGAGGTGGTGGTGGTAGCGGCGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGTGGATCCCTCGAGATGGCCGAGGTGCAGC
TGGTGGAGTCTGGGGGAGCCTTTGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTAGC
AGCTATGCCATGACCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGCCTGGAATGGGTCTCGACTATTAGTGGTCGTGGTCGTAG
CACATTCTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTATATCTGCAAATGA
ACAGTCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGCGCTACTACCATGCTGGTGCTTTCGATCTGTGGGGTCAA
GGTACTCTGGTGACCGTCTCCTCAGAACAAAAACTCATCTCAGAAGAGGATCTGGCggccgcacccaccacgacgccagc
gccgcgaccaccaaccccggcgcccacgatcgcgtcgcagcccctgtccctgcgcccagaggcgtgccggccagcggcgg
ggggcgcagtgcacacgaggggctggacttcgcctgtgatatctacatctgggcgcccctggccgggacttgtggggtc
cttctcctgtcactggttatcacccttactgcaacaaacggggcagaaagaagctcctgtatatattcaaacaaccatt
tatgagaccagtacaaactactcaagaggaagatggctgtagctgccgatttccagaagaagaagaaggaggatgtgaac
tgagagtgaagttcagcaggagcgcagagccccccgcgtaccagcagggccagaaccagctctataacgagctcaatcta
ggacgaagagaggagtacgatgttttggacaagagacgtggccgggaccctgagatgggggaaagccgagaaggaagaa
ccctcaggaaggcctgtacaatgaactgcagaaagataagatggcggaggcctacagtgagattgggatgaaaggcgagc
gccggaggggcaaggggcacgatggcctttaccagggtctcagtacagccaccaaggacacctacgacgcccttcacatg
caggccctgcccccctcgctaacagccactcgaggatccggattagtccaatttgttaaagacaggatatcagtggtccag
gctctagttttgactcaacaatatcaccagctgaagcctatagagtacgagccatagataaaataaaagattttatttag
tctccagaaaaaggggggaatgaaagaccccacctgtaggtttggcaagctagcttaagtaacgccattttgcaaggcat
ggaaaaatacataactgagaatagagaagttcagatcaaggtcaggaacagatggaacagctgaatatgggccaaacagg
[0682] atatctgtggtaagcagttcctgccccggctcagggccaagaacagatggaacagctgaatatgggccaaacaggatatc
tgtggtaagcagttcctgccccggctcagggccaagaacagatggtccccagatgcggtccagccctcagcagtttctag
agaaccatcagatgtttccagggtgccccaaggacctgaaatgaccctgtgccttatttgaactaaccaatcagttcgct
tctcgcttctgttcgcgcgcttctgctccccgagctcaataaaagagcccacaacccctcactcggggcgccagtcctcc
gattgactgagtcgcccgggtacccgtgtatccaataaaccctcttgcagttgcatccgacttgtggtctcgctgttcct
tgggagggtctcctctgagtgattgactacccgtcagcgggggtctttcacacatgcagcatgtatcaaaattaatttgg
ttttttttcttaagtatttacattaaatggccatagtacttaaagttacattggcttccttgaaataaacatggagtatt
cagaatgtgtcataaatatttctaatttaagatagtatctccattggctttctacttttttcttttatttttttttgtcc
tctgtcttccatttgttgttgttgtttgtttgtttgtttgttggttggttggttaatttttttttaaagatcctaca
ctatagttcaagctagactattagctactctgtaacccagggtgaccttgaagtcatgggtagcctgctgttttagcctt
cccacatctaagattacaggtatgagctatcatttttggtatattgattgattgattgatgtgtgtgtgtgtgatt
gtgtttgtgtgtgtgactgtgaaaatgtgtgtatgggtgtgtgtgaatgtgtgtatgtatgtgtgtgtgtgagtgtgtgt
gtgtgtgtgtgcatgtgtgtgtgtgtgactgtgtctatgtgtatgactgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt
gtgtgtgtgtgtgttgtgaaaaaatattctatggtagtgagagccaacgctccggctcaggtgtcaggttggtttttgag
acagagtctttcacttagcttggAATTCACTGGCCGTCGTTTTACAACGTCGTGACTGGGAAAACCCTGGCGTTACCCAA
CTTAATCGCCTTGCAGCACATCCCCCTTTCGCCAGCTGGCGTAATAGCGAAGAGGCCCGCACCGATCGCCCTTCCCAACA
GTTGCGCAGCCTGAATGGCGAATGGCGCCTGATGCGGTATTTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTATTTCACACCGCATAT
GGTGCACTCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAGTTAAGCCAGCCCCGACACCCGCCAACACCCGCTGACGCGCCC
TGACGGGCTTGTCTGCTCCCGGCATCCGCTTACAGACAAGCTGTGACCGTCTCCGGGAGCTGCATGTGTCAGAGGTTTTC
ACCGTCATCACCGAAACGCGCGATGACGAAAGGGCCTCGTGATACGCCTATTTTTATAGGTTAATGTCATGATAATAATG
GTTTCTTAGACGTCAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTTATTTTTCTAAATACATTCAAA
TATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGAGTATTCAACATT
TCCGTGTCGCCCTTATTCCCTTTTTTGCGGCATTTTGCCTTCCTGTTTTTGCTCACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAA
GATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTCG

[0683]

CCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTATTGACGCCGGGC
AAGAGCAACTCGGTCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACG
GATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAAC
GATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAACTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGG
AGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACTATTA
ACTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCT
GCGCTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTCGCGGTATCATTGCAG
CACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAAT
AGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTAACTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGAT
TGATTTAAAACTTCATTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATCCCTTAAC
GTGAGTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTA
ATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTTTGCCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCC
GAAGGTAACTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGTCCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGA
ACTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTT
ACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTCGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAG
CTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCATTGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAA
AGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGTAT
CTTTATAGTCCTGTCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATG
GAAAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTTCTTTCCTGCGTTAT
CCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGC
GAGTCAGTGAGCGAGGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCCGCGCGTTGGCCGATTCATTAATGCAG
CTGGCACGACAGGTTTCCCGACTGGAAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAATGTGAGTTAGCTCACTCATTAGGCAC
CCCAGGCTTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGGATAACAATTTCACACAGGAAACAGC
TATGACCATGATTACGCCAAGCTTTGCTCTTAGGAGTTTCCTAATACATCCCAAACTCAAATATATAAAGCATTTGACTT
GTTCTATGCCCTAGGGGGCGGGGGGAAGCTAAGCCAGCTTTTTTTAACATTTAAAATGTTAATTCCATTTTAAATGCACA
GATGTTTTTATTTCATAAGGGTTTCAATGTGCATGAATGCTGCAATATTCCTGTTACCAAAGCTAGTATAAATAAAAATA
GATAAACGTGGAAATTACTTAGAGTTTCTGTCATTAACGTTTCCTTCCTCAGTTGACAACATAAATGCGCTGCTGAGCAA
GCCAGTTTGCATCTGTCAGGATCAATTTCCCATTATGCCAGTCATATTAATTACTAGTCAATTAGTTGATTTTTATTTTT
GACATATACATGTGAATGAAAGACCCCACCTGTAGGTTTGGCAAGCTAGCTTAAGTAACGCCATTTTGCAAGGCATGGAA
AAATACATAACTGAGAATAGAAAAGTTCAGATCAAGGTCAGGAACAGATGGAACAGCTGAATATGGGCCAAACAGGATAT
CTGTGGTAAGCAGTTCCTGCCCCGGCTCAGGGCCAAGAACAGATGGAACAGCTGAATATGGGCCAAACAGGATATCTGTG
GTAAGCAGTTCCTGCCCCGGCTCAGGGCCAAGAACAGATGGTCCCCAGATGCGGTCCAGCCCTCAGCAGTTTCTAGAGAA
CCATCAGATGTTTCCAGGGTGCCCCAAGGACCTGAAATGACCCTGTGCCTTATTTGAACTAACCAATCAGTTCGCTTCTC
GCTTCTGTTCGCGCGCTTATGCTCCCCGAGCTCAATAAAAGAGCCCACAACCCCTCACTCGGGGCGCCAGTCCTCCGATT
GACTGAGTCGCCCGGGTACCCGTGTATCCAATAAACCCTCTTGCAGTTGCATCCGACTTGTGGTCTCGCTGTTCCTTGGG
AGGGTCTCCTCTGAGTGATTGACTACCCGTCAGCGGGGGTCTTTCATTTGGGGGCTCGTCCGGGATCGGGAGACCCCTGC
CCAGGGACCACCGACCCACCACCGGGAGGTAAGCTGGCCAGCAACTTATCTGTGTCTGTCCGATTGTCTAGTGTCTATGA
CTGATTTTATGCGCCTGCGTCGGTACTAGTTAGCTAACTAGCTCTGTATCTGGCGGACCCGTGGTGGAACTGACGAGTTC
GGAACACCCGGCCGCAACCCTGGGAGACGTCCCAGGGACTTCGGGGGCCGTTTTTGTGGCCCGACCTGAGTCCTAAAATC
CCGATCGTTTAGGACTCTTTGGTGCACCCCCCTTAGAGGAGGGATATGTGGTTCTGGTAGGAGACGAGAACCTAAAACAG
TTCCCGCCTCCGTCTGAATTTTTGCTTTCGGTTTGGGACCGAAGCCGCGCCGCGTCTTGTCTGCTGCAGCATCGTTCT
GTGTTGTCTCTGTCTGACTGTGTTTCTGTATTTGTCTGAAAATATGGGCCCGGGCTAGACTGTTACCACTCCCTTAAGTT
TGACCTTAGGTCACTGGAAAGATGTCGAGCGGATCGCTCACAACCAGTCGGTAGATGTCAAGAAGAGACGTTGGGTTACC
TTCTGCTCTGCAGAATGGCCAACCTTTAACGTCGGATGGCCGCGAGACGGCACCTTTAACCGAGACCTCATCACCCAGGT
TAAGATCAAGGTCTTTTCACCTGGCCCGCATGGACACCCAGACCAGGTCCCCTACATCGTGACCTGGGAAGCCTTGGCTT
TTGACCCCCCTCCCTGGGTCAAGCCCTTTGTACACCCTAAGCCTCCGCCTCCTCTTCCTCCATCCGCCCCGTCTCTCCCC
CTTGAACCTCCTCGTTCGACCCCGCCTCGATCCTCCCTTTATCCAGCCCTCACTCCTTCTCTAGGCGCCCCCATATGGCC
ATATGAGATCTTATATGGGGCACCCCCGCCCCTTGTAAACTTCCCTGACCCTGACATGACAAGAGTTACTAACAGCCCCT
CTCTCCAAGCTCACTTACAGGCTCTCTACTTAGTCCAGCACGAAGTCTGGAGACCTCTGGCGGCAGCCTACCAAGAACAA
CTGGACCGA [SEQ ID NO: 401]

[0684] 在一个特定的非限制性实例中,分离的核酸分子包含具有下文所提供的SEQ ID NO:402所示序列的核酸:

CCGGTGCCGCCACCATGGAAACCGACACCCTGCTGCTGTGGGTGCTGCTGCTGTGGGTGCCAGGATCCACAGGACAGTCT
GTGTTGACTCAGCCACCCTCAGCGTCTGGGACCCCCGGACAGAGGGTCACCATCTCTTGTTCTGGAAGCAGGTCCAACGT
AGGAGGTAATTATGTATTTTGGTACCAGCAAGTCCCCGGAGCGACCCCCAAACTCCTCATCTATAGGAGTAATCAGCGGC
CCTCGGGGGTCCCTGACCGATTCGCTGGCTCCAAGTCTGGCTCCTCAGCCTCCCTGGCCATCAGTGGACTCCGGTCCGAG
GATGAGGCTGATTATTACTGTGCAACATGGGATGACAGCCTGAGTGGTTTTGTCTTCGGAACTGGGACCAAGGTCACCGT
CCTAGGTTCTAGAGGTGGTGGTGGTAGCGGCGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGTGGATCCCTCGAGATGGCCGAGGTGCAGC
TGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAGT
GACTACTACATGAGCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTTCATACATTAGTAGTAGTGGTAGTAC
CATATACTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCCAGGGACAACGCCAAGAACTCACTGTATCTGCAAATG
AACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTACTGTGCGCGCGGGTTACGGTAAAGCTTACGATCAGTGGGGTCAAG
GTACTCTGGTGACCGTCTCCTCAGAACAAAAACTCATCTCAGAAGAGGATCTGGCggccgcacccaccacgacgccagcg
ccgcgaccaccaaccccggcgcccacgatcgcgtcgcagcccctgtccctgcgcccagaggcgtgccggccagcggcggg
gggcgcagtgcacacgagggggctggacttcgcctgtgatatctacatctgggcgcccctggccgggacttgtggggtcc
ttctcctgtcactggttatcacccttactgcaacaaacggggcagaaagaagctcctgtatatattcaaacaaccattt
atgagaccagtacaaactactcaagaggaagatggctgtagctgccgatttccagaagaagaagaaggaggatgtgaact
gagagtgaagttcagcaggagcgcagagccccccgcgtaccagcagggccagaaccagctctataacgagctcaatctag
gacgaagagaggagtacgatgttttggacaagagacgtggccgggaccctgagatgggggaaagccgagaaggaagaac
cctcaggaaggcctgtacaatgaactgcagaaagataagatggcggaggcctacagtgagattgggatgaaaggcgagcg
ccggaggggcaaggggcacgatggcctttaccagggtctcagtacagccaccaaggacacctacgacgcccttcacatgc
aggccctgccccctcgctaacagccactcgaggatccggattagtccaatttgttaaagacaggatatcagtggtccagg
ctctagttttgactcaacaatatcaccagctgaagcctatagagtacgagccatagataaaataaaagattttatttagt
ctccagaaaaaggggggaatgaaagaccccacctgtaggtttggcaagctagcttaagtaacgccattttgcaaggcatg
gaaaaatacataactgagaatagagaagttcagatcaaggtcaggaacagatggaacagctgaatatgggccaaacagga
[0685] tatctgtggtaagcagttcctgccccggctcagggccaagaacagatggaacagctgaatatgggccaaacaggatatct
gtggtaagcagttcctgccccggctcagggccaagaacagatggtccccagatgcggtccagccctcagcagtttctaga
gaaccatcagatgtttccagggtgccccaaggacctgaaatgaccctgtgccttatttgaactaaccaatcagttcgctt
ctcgcttctgttcgcgcgcttctgctccccgagctcaataaaagagcccacaacccctcactcggggcgccagtcctccg
attgactgagtcgcccgggtacccgtgtatccaataaaccctcttgcagttgcatccgacttgtggtctcgctgttcctt
gggagggtctcctctgagtgattgactacccgtcagcgggggtctttcacacatgcagcatgtatcaaaattaatttggt
ttttttttcttaagtatttacattaaatggccatagtacttaaagttacattggcttccttgaaataaacatggagtattc
agaatgtgtcataaatatttctaattttaagatagtatctccattggctttctacttttttcttttatttttttttgtcct
ctgtcttccatttgttgttgttgttgtttgtttgtttgtttgttggttggttggttaatttttttttaaagatcctacac
tatagttcaagctagactattagctactctgtaacccagggtgaccttgaagtcatgggtagcctgctgttttagccttc
ccacatctaagattacaggtatgagctatcatttttggtatattgattgattgattgattgatgtgtgtgtgtgtgattg
tgtttgtgtgtgtgactgtgaaaatgtgtgtatgggtgtgtgtgaatgtgtgtatgtatgtgtgtgtgtgagtgtgtgtg
tgtgtgtgtgcatgtgtgtgtgtgtgactgtgtctatgtgtatgactgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtg
tgtgtgtgtgtgttgtgaaaaaatattctatggtagtgagagccaacgctccggctcaggtgtcaggttggtttttgaga
cagagtctttcacttagcttggAATTCACTGGCCGTCGTTTTACAACGTCGTGACTGGGAAAACCCTGGCGTTACCCAAC
TTAATCGCCTTGCAGCACATCCCCCTTTCGCCAGCTGGCGTAATAGCGAAGAGGCCCGCACCGATCGCCCTTCCCAACAG
TTGCGCAGCCTGAATGGCGAATGGCGCCTGATGCGGTATTTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTATTTCACACCGCATATG
GTGCACTCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAGTTAAGCCAGCCCCGACACCCGCCAACACCCGCTGACGCGCCCT
GACGGGCTTGTCTGCTCCCGGCATCCGCTTACAGACAAGCTGTGACCGTCTCCGGGAGCTGCATGTGTCAGAGGTTTTCA
CCGTCATCACCGAAACGCGCGATGACGAAAGGGCCTCGTGATACGCCTATTTTTATAGGTTAATGTCATGATAATAATGG
TTTCTTAGACGTCAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTTATTTTTCTAAATACATTCAAAT
ATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGAGTATTCAACATTT
CCGTGTCGCCCTTATTCCCTTTTTTGCGGCATTTTGCCTTCCTGTTTTTGCTCACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAG
ATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTCGC

[0686] CCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTATTGACGCCGGGCA
AGAGCAACTCGGTCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGG
ATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAACG
ATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAACTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGA
GCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACTATTAA
CTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTG
CGCTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTCGCGGTATCATTGCAGC
ACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATA
GACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTAACTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATT
GATTTAAAACTTCATTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATCCCTTAACG
TGAGTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAA
TCTGCTGCTTGCAAACAAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTTTGCCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCG
AAGGTAACTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGTCCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAA
CTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTA
CCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTCGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGC
TTGGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCATTGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAA
GGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGTATC
TTTATAGTCCTGTCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGG
AAAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTTCTTTCCTGCGTTATC
CCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGCG
AGTCAGTGAGCGAGGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCCGCGCGTTGGCCGATTCATTAATGCAGC
TGGCACGACAGGTTTCCCGACTGGAAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAATGTGAGTTAGCTCACTCATTAGGCACC
CCAGGCTTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGGATAACAATTTCACACAGGAAACAGCT
ATGACCATGATTACGCCAAGCTTTGCTCTTAGGAGTTTCCTAATACATCCCAAACTCAAATATATAAAGCATTTGACTTG
TTCTATGCCCTAGGGGGCGGGGGGAAGCTAAGCCAGCTTTTTTTAACATTTAAAATGTTAATTCCATTTTAAATGCACAG
ATGTTTTTATTTCATAAGGGTTTCAATGTGCATGAATGCTGCAATATTCCTGTTACCAAAGCTAGTATAAATAAAAATAG
ATAAACGTGGAAATTACTTAGAGTTTCTGTCATTAACGTTTCCTTCCTCAGTTGACAACATAAATGCGCTGCTGAGCAAG
CCAGTTTGCATCTGTCAGGATCAATTTCCCATTATGCCAGTCATATTAATTACTAGTCAATTAGTTGATTTTTATTTTTG
ACATATACATGTGAATGAAAGACCCCACCTGTAGGTTTGGCAAGCTAGCTTAAGTAACGCCATTTTGCAAGGCATGGAAA
AATACATAACTGAGAATAGAAAAGTTCAGATCAAGGTCAGGAACAGATGGAACAGCTGAATATGGGCCAAACAGGATATC
TGTGGTAAGCAGTTCCTGCCCCGGCTCAGGGCCAAGAACAGATGGAACAGCTGAATATGGGCCAAACAGGATATCTGTGG
TAAGCAGTTCCTGCCCCGGCTCAGGGCCAAGAACAGATGGTCCCCAGATGCGGTCCAGCCCTCAGCAGTTTCTAGAGAAC
CATCAGATGTTTCCAGGGTGCCCCAAGGACCTGAAATGACCCTGTGCCTTATTTGAACTAACCAATCAGTTCGCTTCTCG
CTTCTGTTCGCGCGCTTATGCTCCCCGAGCTCAATAAAAGAGCCCACAACCCCTCACTCGGGGCGCCAGTCCTCCGATTG
ACTGAGTCGCCCGGGTACCCGTGTATCCAATAAACCCTCTTGCAGTTGCATCCGACTTGTGGTCTCGCTGTTCCTTGGGA
GGGTCTCCTCTGAGTGATTGACTACCCGTCAGCGGGGGTCTTTCATTTGGGGGCTCGTCCGGGATCGGGAGACCCCTGCC
CAGGGACCACCGACCCACCACCGGGAGGTAAGCTGGCCAGCAACTTATCTGTGTCTGTCCGATTGTCTAGTGTCTATGAC
TGATTTTATGCGCCTGCGTCGGTACTAGTTAGCTAACTAGCTCTGTATCTGGCGGACCCGTGGTGGAACTGACGAGTTCG
GAACACCCGGCCGCAACCCTGGGAGACGTCCCAGGGACTTCGGGGGCCGTTTTTGTGGCCCGACCTGAGTCCTAAAATCC
CGATCGTTTAGGACTCTTTGGTGCACCCCCCTTAGAGGAGGGATATGTGGTTCTGGTAGGAGACGAGAACCTAAAACAGT
TCCCGCCTCCGTCTGAATTTTTGCTTTCGGTTTGGGACCGAAGCCGCGCCGCGCGTCTTGTCTGCTGCAGCATCGTTCTG
TGTTGTCTCTGTCTGACTGTGTTTCTGTATTTGTCTGAAAATATGGGCCCGGGCTAGACTGTTACCACTCCCTTAAGTTT
GACCTTAGGTCACTGGAAAGATGTCGAGCGGATCGCTCACAACCAGTCGGTAGATGTCAAGAAGAGACGTTGGGTTACCT
TCTGCTCTGCAGAATGGCCAACCTTTAACGTCGGATGGCCGCGAGACGGCACCTTTAACCGAGACCTCATCACCCAGGTT
AAGATCAAGGTCTTTTCACCTGGCCCGCATGGACACCCAGACCAGGTCCCCTACATCGTGACCTGGGAAGCCTTGGCTTT
TGACCCCCCTCCCTGGGTCAAGCCCTTTGTACACCCTAAGCCTCCGCCTCCTCTTCCTCCATCCGCCCCGTCTCTCCCCC
TTGAACCTCCTCGTTCGACCCCGCCTCGATCCTCCCTTTATCCAGCCCTCACTCCTTCTCTAGGCGCCCCCATATGGCCA
TATGAGATCTTATATGGGGCACCCCCGCCCCTTGTAAACTTCCCTGACCCTGACATGACAAGAGTTACTAACAGCCCCTC
TCTCCAAGCTCACTTACAGGCTCTCTACTTAGTCCAGCACGAAGTCTGGAGACCTCTGGCGGCAGCCTACCAAGAACAAC
TGGACCGA [SEQ ID NO: 402]

[0687] 在一个特定的非限制性实例中,分离的核酸分子包含具有下文所提供的SEQ ID NO:403所示序列的核酸:

[0688]

CCGGTGCCGCCACCATGGAAACCGACACCCTGCTGCTGTGGGTGCTGCTGCTGTGGGTGCCAGGATCCACAGGACAGTCT
GTCGTGACGCAGCCGCCCTCAATGTCTGCGGCCCCAGGACAGCAAGTCACCATCTCCTGCTCTGGAGGCAACTCCAACAT
TGAGAGAAATTATGTATCCTGGTACCTCCAGCTCCCTGGAACAGCCCCCAAACTCGTCATTTTTGACAATGATAGGCGAC
CCTCAGGGATTCCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACGTCAGCCACCCTGGGCATCACCGGACTCCAGACTGGG
GACGAGGCCGATTATTACTGCGGAACATGGGATAGCAGCCTGAGAGGTTGGGTGTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGT
CCTAGGTTCTAGAGGTGGTGGTGGTAGCGGCGGCGGCGGCTCTGGTGGTGGTGGATCCCTCGAGATGGCCGAGGTGCAGC
TGGTGGAGTCCGGGGGAGGCTTGATACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTTAGC
AACTATGCCATGAACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAACTATTAATGGTCGTGGTAGTAG
TACAATCTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGA
ACAGCCTGAGAGCCGAGGACACAGCCACGTATTACTGTGCGCGCTACATCTCTCGTGGTCTGGGTGATTCTTGGGGTCAA
GGTACTCTGGTGACCGTCTCCTCAGAACAAAAACTCATCTCAGAGGAGGATCTGGCggccgcacccaccacgacgccagc
gccgcgaccaccaaccccggcgcccacgatcgcgtcgcagcccctgtccctgcgcccagaggcgtgccggccagcggcgg
ggggcgcagtgcacacgaggggggctggacttcgcctgtgatatctacatctgggcgcccctggccgggacttgtggggtc
cttctcctgtcactggttatcacccttactgcaacaaacggggcagaaagaagctcctgtatatattcaaacaaccatt
tatgagaccagtacaaactactcaagaggaagatggctgtagctgccgatttccagaagaagaagaaggaggatgtgaac
tgagagtgaagttcagcaggagcgcagagccccccgcgtaccagcagggccagaaccagctctataacgagctcaatcta
ggacgaagagaggagtacgatgttttggacaagagacgtggccgggaccctgagatgggggaaagccgagaaggaagaa
ccctcaggaaggcctgtacaatgaactgcagaaagataagatggcggaggcctacagtgagattgggatgaaaggcgagc
gccggaggggcaaggggcacgatggcctttaccagggtctcagtacagccaccaaggacacctacgacgcccttcacatg
caggccctgccccctcgctaacagccactcgaggatccggattagtccaatttgttaaagacaggatatcagtggtccag
gctctagttttgactcaacaatatcaccagctgaagcctatagagtacgagccatagataaaataaaagattttatttag
tctccagaaaaaggggggaatgaaagaccccacctgtaggtttggcaagctagcttaagtaacgccattttgcaaggcat
ggaaaaatacataactgagaatagagaagttcagatcaaggtcaggaacagatggaacagctgaatatgggccaaacagg
atatctgtggtaagcagttcctgccccggctcagggccaagaacagatggaacagctgaatatgggccaaacaggatatc
tgtggtaagcagttcctgccccggctcagggccaagaacagatggtccccagatgcggtccagccctcagcagtttctag
agaaccatcagatgtttccagggtgccccaaggacctgaaatgaccctgtgccttatttgaactaaccaatcagttcgct
tctcgcttctgttcgcgcgcttctgctccccgagctcaataaaagagcccacaacccctcactcggggcgccagtcctcc
gattgactgagtcgcccgggtacccgtgtatccaataaaccctcttgcagttgcatccgacttgtggtctcgctgttcct
tgggagggtctcctctgagtgattgactacccgtcagcgggggtctttcacacatgcagcatgtatcaaaattaatttgg
ttttttttcttaagtatttacattaaatggccatagtacttaaagttacattggcttccttgaaataaacatggagtatt
cagaatgtgtcataaatatttctaattttaagatagtatctccattggctttctacttttttcttttatttttttttgtcc
tctgtcttccatttgttgttgttgttgtttgtttgtttgtttgttggttggttggttaatttttttttaaagatcctaca
ctatagttcaagctagactattagctactctgtaacccagggtgaccttgaagtcatgggtagcctgctgttttagcctt
cccacatctaagattacaggtatgagctatcatttttggtatattgattgattgattgattgatgtgtgtgtgtgtgatt
gtgtttgtgtgtgtgactgtgaaaatgtgtgtatgggtgtgtgtgaatgtgtgtatgtatgtgtgtgtgtgagtgtgtgt
gtgtgtgtgtgcatgtgtgtgtgtgtgactgtgtctatgtgtatgactgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt
gtgtgtgtgtgtgttgtgaaaaaatattctatggtagtgagagccaacgctccggctcaggtgtcaggttggttttgag
acagagtctttcacttagcttggAATTCACTGGCCGTCGTTTTACAACGTCGTGACTGGGAAAACCCTGGCGTTACCCAA
CTTAATCGCCTTGCAGCACATCCCCCTTTCGCCAGCTGGCGTAATAGCGAAGAGGCCCGCACCGATCGCCCTTCCCAACA
GTTGCGCAGCCTGAATGGCGAATGGCGCCTGATGCGGTATTTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTATTTCACACCGCATAT
GGTGCACTCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAGTTAAGCCAGCCCCGACACCCGCCAACACCCGCTGACGCGCCC
TGACGGGCTTGTCTGCTCCCGGCATCCGCTTACAGACAAGCTGTGACCGTCTCCGGGAGCTGCATGTGTCAGAGGTTTTC
ACCGTCATCACCGAAACGCGCGATGACGAAAGGGCCTCGTGATACGCCTATTTTTATAGGTTAATGTCATGATAATAATG
GTTTCTTAGACGTCAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTTATTTTTCTAAATACATTCAAA
TATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGAGTATTCAACATT
TCCGTGTCGCCCTTATTCCCTTTTTTGCGGCATTTTGCCTTCCTGTTTTTGCTCACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAA
GATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTCG

[0689]

CCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTATTGACGCCGGGC
AAGAGCAACTCGGTCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACG
GATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAAC
GATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAACTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGG
AGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACTATTA
ACTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCT
GCGCTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTCGCGGTATCATTGCAG
CACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAAT
AGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTAACTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGAT
TGATTTAAAACTTCATTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATCCCTTAAC
GTGAGTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTA
ATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTTTGCCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCC
GAAGGTAACTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGTCCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGA
ACTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTT
ACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTCGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAG
CTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCATTGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAA
AGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGTAT
CTTTATAGTCCTGTCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATG
GAAAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTTCTTTCCTGCGTTAT
CCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGC
GAGTCAGTGAGCGAGGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCCGCGCGTTGGCCGATTCATTAATGCAG
CTGGCACGACAGGTTTCCCGACTGGAAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAATGTGAGTTAGCTCACTCATTAGGCAC
CCCAGGCTTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGGATAACAATTTCACACAGGAAACAGC
TATGACCATGATTACGCCAAGCTTTGCTCTTAGGAGTTTCCTAATACATCCCAAACTCAAATATATAAAGCATTTGACTT
GTTCTATGCCCTAGGGGGCGGGGGGAAGCTAAGCCAGCTTTTTTTAACATTTAAAATGTTAATTCCATTTTAAATGCACA
GATGTTTTTATTTCATAAGGGTTTCAATGTGCATGAATGCTGCAATATTCCTGTTACCAAAGCTAGTATAAATAAAAATA
GATAAACGTGGAAATTACTTAGAGTTTCTGTCATTAACGTTTCCTTCCTCAGTTGACAACATAAATGCGCTGCTGAGCAA
GCCAGTTTGCATCTGTCAGGATCAATTTCCCATTATGCCAGTCATATTAATTACTAGTCAATTAGTTGATTTTTATTTTT
GACATATACATGTGAATGAAAGACCCCACCTGTAGGTTTGGCAAGCTAGCTTAAGTAACGCCATTTTGCAAGGCATGGAA
AAATACATAACTGAGAATAGAAAAGTTCAGATCAAGGTCAGGAACAGATGGAACAGCTGAATATGGGCCAAACAGGATAT
CTGTGGTAAGCAGTTCCTGCCCCGGCTCAGGGCCAAGAACAGATGGAACAGCTGAATATGGGCCAAACAGGATATCTGTG
GTAAGCAGTTCCTGCCCCGGCTCAGGGCCAAGAACAGATGGTCCCCAGATGCGGTCCAGCCCTCAGCAGTTTCTAGAGAA
CCATCAGATGTTTCCAGGGTGCCCCAAGGACCTGAAATGACCCTGTGCCTTATTTGAACTAACCAATCAGTTCGCTTCTC
GCTTCTGTTCGCGCGCTTATGCTCCCCGAGCTCAATAAAAGAGCCCACAACCCCTCACTCGGGGCGCCAGTCCTCCGATT
GACTGAGTCGCCCGGGTACCCGTGTATCCAATAAACCCTCTTGCAGTTGCATCCGACTTGTGGTCTCGCTGTTCCTTGGG
AGGGTCTCCTCTGAGTGATTGACTACCCGTCAGCGGGGGTCTTTCATTTGGGGGCTCGTCCGGGATCGGGAGACCCCTGC
CCAGGGACCACCGACCCACCACCGGGAGGTAAGCTGGCCAGCAACTTATCTGTGTCTGTCCGATTGTCTAGTGTCTATGA
CTGATTTTATGCGCCTGCGTCGGTACTAGTTAGCTAACTAGCTCTGTATCTGGCGGACCCGTGGTGGAACTGACGAGTTC
GGAACACCCGGCCGCAACCCTGGGAGACGTCCCAGGGACTTCGGGGGCCGTTTTTGTGGCCCGACCTGAGTCCTAAAATC
CCGATCGTTTAGGACTCTTTGGTGCACCCCCCTTAGAGGAGGGATATGTGGTTCTGGTAGGAGACGAGAACCTAAAACAG
TTCCCGCCTCCGTCTGAATTTTTGCTTTCGGTTTGGGACCGAAGCCGCGCCGCGCGTCTTGTCTGCTGCAGCATCGTTCT
GTGTTGTCTCTGTCTGACTGTGTTTCTGTATTTGTCTGAAAATATGGGCCCGGGCTAGACTGTTACCACTCCCTTAAGTT
TGACCTTAGGTCACTGGAAAGATGTCGAGCGGATCGCTCACAACCAGTCGGTAGATGTCAAGAAGAGACGTTGGGTTACC
TTCTGCTCTGCAGAATGGCCAACCTTTAACGTCGGATGGCCGCGAGACGGCACCTTTAACCGAGACCTCATCACCCAGGT
TAAGATCAAGGTCTTTTCACCTGGCCCGCATGGACACCCAGACCAGGTCCCCTACATCGTGACCTGGGAAGCCTTGGCTT
TTGACCCCCCTCCCTGGGTCAAGCCCTTTGTACACCCTAAGCCTCCGCCTCCTCTTCCTCCATCCGCCCCGTCTCTCCCC
CTTGAACCTCCTCGTTCGACCCCGCCTCGATCCTCCCTTTATCCAGCCCTCACTCCTTCTCTAGGCGCCCCCATATGGCC
ATATGAGATCTTATATGGGGCACCCCCGCCCCTTGTAAACTTCCCTGACCCTGACATGACAAGAGTTACTAACAGCCCCT
CTCTCCAAGCTCACTTACAGGCTCTCTACTTAGTCCAGCACGAAGTCTGGAGACCTCTGGCGGCAGCCTACCAAGAACAA
CTGGACCGA [SEQ ID NO: 403]

[0690] 在一个特定的非限制性实例中,分离的核酸分子包含具有下文所提供的SEQ ID NO:406所示序列的核酸:

atggaaaccgacaccctgctgctgtgggtgctgctgctgtgggtgccaggatccacaggacag
tctgtcgtgacgcagcctgcctccgtgtctgggtctcctggacagtcgatcaccatctcctgc
actggaaccagcagtgacgttggtggttataactatgtctcctggtaccaacagcacccaggc
aaagcccccaaactcatgatttatgatgtcagtaagcggccctcaggggtttctaatcgcttc
tctggctccaagtctggcaacacggcctccctgaccatctctgggctccaggctgaggacgag
gctgattattactgcagctcatatacaagcagcagcactttggtattcggcggagggaccaag
ctgaccgtcctaggttctagaggtggtggtggtagcggcggcggcggctctggtggtggtgga
tccctcgagatggccgaggtgcagctggtggagtctgggggagcctttgtacagcctgggggg
tccctgagactctcctgtgcagcctctggattcacctttagcagctatgccatgacctgggtc
cgccaggctccagggaagggcctggaatgggtctcgactattagtggtcgtggtcgtagcaca
ttctacgcagactccgtgaagggccggtttaccatctccagagacaattccaagaacacgcta
tatctgcaaatgaacagtctgagagccgaggacacggccgtatattactgtgcgcgctactac

[0691] catgctggtgctttcgatctgtggggtcaaggtactctggtgaccgtctcctcagaacaaaaa
ctcatctcagaagaggatctggcggccgcaattgaagttatgtatcctcctccttacctagac
aatgagaagagcaatggaaccattatccatgtgaaagggaaacacctttgtccaagtccccta
tttcccggaccttctaagccctttgggtgctggtggtggttggtggagtcctggcttgctat
agcttgctagtaacagtggcctttattattttctgggtgaggagtaagaggagcaggctcctg
cacagtgactacatgaacatgactccccgccgccccgggcccacccgcaagcattaccagccc
tatgccccaccacgcgacttcgcagcctatcgctccagagtgaagttcagcaggagcgcagac
gcccccgcgtaccagcagggccagaaccagctctataacgagctcaatctaggacgaagagag
gagtacgatgttttggacaagagacgtggccgggaccctgagatgggggggaaagccgagaagg
aagaaccctcaggaaggcctgtacaatgaactgcagaaagataagatggcggaggcctacagt
gagattgggatgaaaggcgagcgccggaggggcaaggggcacgatggcctttaccagggtctc
agtacagccaccaaggacacctacgacgcccttcacatgcaggccctgcccctcgctaa
[SEQ ID NO: 406]

[0692] 在一个特定的非限制性实例中,分离的核酸分子包含具有下文所提供的SEQ ID NO:407所示序列的核酸:

CCGGTGCCGCCACcatggaaaccgacaccctgctgctgtgggtgctgctgctgtgggtgccaggatccacaggacagtct
gtgttgacgcagcctgcctccgtgtctgggtctcctggacagtcgctcaccatctcctgcactggaaccagcaatgacgt
tggtgcttataagtatgtctcctggtatcaacagtacccaggcaaagccccaaactcatactttatgatgtctttaagc
ggccctcaggggtctctaatcgcttctctggctccaagtctgacaacacggcctccctgaccatctctgggctccaggct
gaggacgaggctgattattactgcttctcacttacaagcagtaacacttatgtcttcggaactgggaccaaggtcaccgt

[0693] cctaggttctagaggtggtggtggtagcggcggcggcggctctggtggtggtggatccctcgagatggcccagatgcagc
tggtgcagtctggagctgaggtgaagaagcctggggcctcagtgaaggtctcctgcaaggcttctggttacacctttaac
agatatgctatcacctgggtgcgacaggcccctggacaaggccttgagtggatgggatggatcagcgcttacaatggtaa
ttcacactatgcacagaagctccagggcagagtcaccatgaccacagacacatccacgggcacagcctatatggagctga
ggaggctgagatctgacgacacggccgtgtattactgtgcgcgcatggcttacgattcttggggtcaaggtactctggtg
accgtctcctcagaacaaaaactcatctcagaagaggatctggcggccgcacccaccacgacgccagcgccgcgaccacc

aaccccggcgcccacgatcgcgtcgcagcccctgtccctgcgcccagaggcgtgccggccagcggcgggggcgcagtgc

acacgaggggctggacttcgcctgtgatatctacatctgggcgcccctggccgggacttgtggggtccttctcctgtca

ctggttatcacccttactgcaacaaacggggcagaaagaagctcctgtatatattcaaacaaccatttatgagaccagt

acaaactactcaagaggaagatggctgtagctgccgatttccagaagaagaagaaggaggatgtgaactgagagtgaagt

tcagcaggagcgcagaCGcccccgcgtaccagcagggccagaaccagctctataacgagctcaatctaggacgaagagag

gagtacgatgttttggacaagagacgtggccgggaccctgagatgggggaaagccgagaaggaagaaccctcaggaagg

cctgtacaatgaactgcagaaagataagatggcggaggcctacagtgagattgggatgaaaggcgagcgccggaggggca

aggggcacgatggcctttaccagggtctcagtacagccaccaaggacacctacgacgcccttcacatgcaggccctgccc

cctcgctaacagccactcgaggatccggattagtccaatttgttaaagacaggatatcagtggtccaggctctagttttg

actcaacaatatcaccagctgaagcctatagagtacgagccatagataaaataaaagattttatttagtctccagaaaaa

gggggaatgaaagaccccacctgtaggtttggcaagctagcttaagtaacgccattttgcaaggcatggaaaaatacat

aactgagaatagagaagttcagatcaaggtcaggaacagatggaacagctgaatatgggccaaacaggatatctgtggta

agcagttcctgccccggctcagggccaagaacagatggaacagctgaatatgggccaaacaggatatctgtggtaagcag

ttcctgccccggctcagggccaagaacagatggtccccagatgcggtccagccctcagcagtttctagagaaccatcaga

tgtttccagggtgccccaaggacctgaaatgaccctgtgccttatttgaactaaccaatcagttcgcttctcgcttctgt

tcgcgcgcttctgctccccgagctcaataaaagagcccacaacccctcactcggggcgccagtcctccgattgactgagt

cgcccgggtacccgtgtatccaataaaccctcttgcagttgcatccgacttgtggtctcgctgttccttgggagggtctc

ctctgagtgattgactacccgtcagcgggggtctttcacacatgcagcatgtatcaaaattaatttggttttttttctta

agtatttacattaaatggccatagtacttaaagttacattggcttccttgaaataaacatggagtattcagaatgtgtca

taaatatttctaattttaagatagtatctccattggctttctacttttttcttttatttttttttgtcctctgtcttccat

ttgttgttgttgttgtttgtttgtttgtttgttggttggttggttaatttttttttaaagatcctacactatagttcaag

ctagactattagctactctgtaacccagggtgaccttgaagtcatgggtagcctgctgttttagccttcccacatctaag

attacaggtatgagctatcatttttggtatattgattgattgattgattgatgtgtgtgtgtgtgattgtgtttgtgtgt

gtgactgtgaaaatgtgtgtatgggtgtgtgtgaatgtgtgtatgtatgtgtgtgtgtgagtgtgtgtgtgtgtgtgtgc

atgtgtgtgtgtgtgactgtgtctatgtgtatgactgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt

[0694] gttgtgaaaaaatattctatggtagtgagagccaacgctccggctcaggtgtcaggttggtttttgagacagagtctttc

acttagcttggAATTCACTGGCCGTCGTTTTACAACGTCGTGACTGGGAAAACCCTGGCGTTACCCAACTTAATCGCCTT

GCAGCACATCCCCCTTTCGCCAGCTGGCGTAATAGCGAAGAGGCCCGCACCGATCGCCCTTCCCAACAGTTGCGCAGCCT

GAATGGCGAATGGCGCCTGATGCGGTATTTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTATTTCACACCGCATATGGTGCACTCTCA

GTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAGTTAAGCCAGCCCCGACACCCGCCAACACCCGCTGACGCGCCCTGACGGGCTTGT

CTGCTCCCGGCATCCGCTTACAGACAAGCTGTGACCGTCTCCGGGAGCTGCATGTGTCAGAGGTTTTCACCGTCATCACC

GAAACGCGCGATGACGAAAGGGCCTCGTGATACGCCTATTTTTATAGGTTAATGTCATGATAATAATGGTTTCTTAGACG

TCAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTTATTTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCT

CATGAGACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCCC

TTATTCCCTTTTTTGCGGCATTTTGCCTTCCTGTTTTTGCTCACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGAT

CAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAACG

TTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCG

GTCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACA

GTAAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACC

GAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAACTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAG

CCATACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACTATTAACTGGCGAACTA

CTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGGCCCT

TCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTCGCGGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAG

ATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCT

GAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTAACTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAAACT

TCATTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATCCCTTAACGTGAGTTTTCGT

TCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTG

CAAACAAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTTTGCCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAACTGG

CTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGTCCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCAC

CGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTACCGGGTTGGAC

TCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTCGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAGCTTGGAGCGAAC

GACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCATTGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGT
ATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCCT
GTCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAG
CAACGCGGCCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTTCTTTCCTGCGTTATCCCCTGATTCTG
TGGATAACCGTATTACCGCCTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGC
GAGGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCCGCGCGTTGGCCGATTCATTAATGCAGCTGGCACGACAG
GTTTCCCGACTGGAAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAATGTGAGTTAGCTCACTCATTAGGCACCCCAGGCTTTAC
ACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGGATAACAATTTCACACAGGAAACAGCTATGACCATGAT
TACGCCAAGCTTTGCTCTTAGGAGTTTCCTAATACATCCCAAACTCAAATATATAAAGCATTTGACTTGTTCTATGCCCT
AGGGGGCGGGGGGAAGCTAAGCCAGCTTTTTTTAACATTTAAAATGTTAATTCCATTTTAAATGCACAGATGTTTTTATT
TCATAAGGGTTTCAATGTGCATGAATGCTGCAATATTCCTGTTACCAAAGCTAGTATAAATAAAAATAGATAAACGTGGA
AATTACTTAGAGTTTCTGTCATTAACGTTTCCTTCCTCAGTTGACAACATAAATGCGCTGCTGAGCAAGCCAGTTTGCAT
CTGTCAGGATCAATTTCCCATTATGCCAGTCATATTAATTACTAGTCAATTAGTTGATTTTTATTTTTGACATATACATG
TGAATGAAAGACCCCACCTGTAGGTTTGGCAAGCTAGCTTAAGTAACGCCATTTTGCAAGGCATGGAAAAATACATAACT
GAGAATAGAAAAGTTCAGATCAAGGTCAGGAACAGATGGAACAGCTGAATATGGGCCAAACAGGATATCTGTGGTAAGCA
GTTCCTGCCCCGGCTCAGGGCCAAGAACAGATGGAACAGCTGAATATGGGCCAAACAGGATATCTGTGGTAAGCAGTTCC
TGCCCCGGCTCAGGGCCAAGAACAGATGGTCCCCAGATGCGGTCCAGCCCTCAGCAGTTTCTAGAGAACCATCAGATGTT
[0695] TCCAGGGTGCCCCAAGGACCTGAAATGACCCTGTGCCTTATTTGAACTAACCAATCAGTTCGCTTCTCGCTTCTGTTCGC
GCGCTTATGCTCCCCGAGCTCAATAAAAGAGCCCACAACCCCTCACTCGGGGCGCCAGTCCTCCGATTGACTGAGTCGCC
CGGGTACCCGTGTATCCAATAAACCCTCTTGCAGTTGCATCCGACTTGTGGTCTCGCTGTTCCTTGGGAGGGTCTCCTCT
GAGTGATTGACTACCCGTCAGCGGGGGTCTTTCATTTGGGGGCTCGTCCGGGATCGGGAGACCCCTGCCCAGGGACCACC
GACCCACCACCGGGAGGTAAGCTGGCCAGCAACTTATCTGTGTCTGTCCGATTGTCTAGTGTCTATGACTGATTTTATGC
GCCTGCGTCGGTACTAGTTAGCTAACTAGCTCTGTATCTGGCGGACCCGTGGTGGAACTGACGAGTTCGGAACACCCGGC
CGCAACCCTGGGAGACGTCCCAGGGACTTCGGGGGCCGTTTTTGTGGCCCGACCTGAGTCCTAAAATCCCGATCGTTTAG
GACTCTTTGGTGCACCCCCCTTAGAGGAGGGATATGTGGTTCTGGTAGGAGACGAGAACCTAAAACAGTTCCCGCCTCCG
TCTGAATTTTTGCTTTCGGTTTGGGACCGAAGCCGCGCCGCGCGTCTTGTCTGCTGCAGCATCGTTCTGTGTTGTCTCTG
TCTGACTGTGTTTCTGTATTTGTCTGAAAATATGGGCCCGGGCTAGACTGTTACCACTCCCTTAAGTTTGACCTTAGGTC
ACTGGAAAGATGTCGAGCGGATCGCTCACAACCAGTCGGTAGATGTCAAGAAGAGACGTTGGGTTACCTTCTGCTCTGCA
GAATGGCCAACCTTTAACGTCGGATGGCCGCGAGACGGCACCTTTAACCGAGACCTCATCACCCAGGTTAAGATCAAGGT
CTTTTCACCTGGCCCGCATGGACACCCAGACCAGGTCCCCTACATCGTGACCTGGGAAGCCTTGGCTTTTGACCCCCCTC
CCTGGGTCAAGCCCTTTGTACACCCTAAGCCTCCGCCTCCTCTTCCTCCATCCGCCCCGTCTCTCCCCCTTGAACCTCCT
CGTTCGACCCCGCCTCGATCCTCCCTTTATCCAGCCCTCACTCCTTCTCTAGGCGCCCCCATATGGCCATATGAGATCTT
ATATGGGGCACCCCCGCCCCTTGTAAACTTCCCTGACCCTGACATGACAAGAGTTACTAACAGCCCCTCTCTCCAAGCTC
ACTTACAGGCTCTCTACTTAGTCCAGCACGAAGTCTGGAGACCTCTGGCGGCAGCCTACCAAGAACAACTGGACCGA [SEQ
ID NO: 407]

[0696] 在一个特定的非限制性实例中,分离的核酸分子包含具有下文所提供的SEQ ID NO:408所示序列的核酸:

CCGGTGCCGCCACcatggaaaccgacaccctgctgctgtgggtgctgctgctgtgggtgccaggatccacaggatcttct
gagctgactcaggaccctgctgtgtctgtggccttgggacagacagtcaggatcacatgccaaggagacagcctcagaag
ctattatgcaagctggtaccagcagaagccaggacaggcccctgtacttgtcatctatggtaaaaacaaccggccctcag
ggatcccagaccgattctctggctccagctcaggaaacacagcttccttgaccatcactggggctcaggcggaagatgag
gctgactattactgtaactcccgggacagcagtggtaaccccccctgtggtattcggcggagggaccaagctgaccgtcct
[0697] aggttctagaggtggtggtggtagcggcggcggcggctctggtggtggtggatccctcgagatggcccaggtgcagctgg
tggagtctgggggaggcctggtccaccctgggggtccctgagactctcctgtgcagcctctggattcaccttcagaagc
catagcatgaactgggtccgccaggctccagggaaggggctggagtgggtctcatccattagtagtgatagtacttacac
atactacgcagactcagtgaagggccgattcaccatctccagagacaacgccaagaactcactgtatctgcaaatgaaca
gcctgagagccgaggacacggccgtatattactgtgcgcgctctggtggtcagtggaaatactacgattactggggtcaa
ggtactctggtgaccgtctcctcagaacaaaaactcatctcagaagaggatctggcggccgcacccaccacgacgccagc

gccgcgaccaccaaccccggcgcccacgatcgcgtcgcagcccctgtccctgcgcccagaggcgtgccggccagcggcgg

ggggcgcagtgcacacgaggggctggacttcgcctgtgatatctacatctgggcgcccctggccgggacttgtggggtc

cttctcctgtcactggttatcacccttactgcaacaaacggggcagaaagaagctcctgtatatattcaaacaaccatt

tatgagaccagtacaaactactcaagaggaagatggctgtagctgccgatttccagaagaagaagaaggaggatgtgaac

tgagagtgaagttcagcaggagcgcagaCGcccccgcgtaccagcagggccagaaccagctctataacgagctcaatcta

ggacgaagagaggagtacgatgttttggacaagagacgtggccgggaccctgagatgggggaaagccgagaaggaagaa

ccctcaggaaggcctgtacaatgaactgcagaaagataagatggcggaggcctacagtgagattgggatgaaaggcgagc

gccggaggggcaaggggcacgatggcctttaccagggtctcagtacagccaccaaggacacctacgacgcccttcacatg

caggccctgccccctcgctaacagccactcgaggatccggattagtccaatttgttaaagacaggatatcagtggtccag

gctctagttttgactcaacaatatcaccagctgaagcctatagagtacgagccatagataaaataaaagattttatttag

tctccagaaaaaggggggaatgaaagaccccacctgtaggtttggcaagctagcttaagtaacgccattttgcaaggcat

ggaaaaatacataactgagaatagagaagttcagatcaaggtcaggaacagatggaacagctgaatatgggccaaacagg

atatctgtggtaagcagttcctgccccggctcagggccaagaacagatggaacagctgaatatgggccaaacaggatatc

tgtggtaagcagttcctgccccggctcagggccaagaacagatggtccccagatgcggtccagccctcagcagtttctag

agaaccatcagatgtttccagggtgccccaaggacctgaaatgaccctgtgccttatttgaactaaccaatcagttcgct

tctcgcttctgttcgcgcgcttctgctcccgagctcaataaaagagcccacaacccctcactcggggcgccagtcctcc

gattgactgagtcgcccgggtacccgtgtatccaataaaccctcttgcagttgcatccgacttgtggtctcgctgttcct

tgggagggtctcctctgagtgattgactacccgtcagcgggggtctttcacacatgcagcatgtatcaaaattaatttgg

ttttttttcttaagtatttacattaaatggccatagtacttaaagttacattggcttccttgaaataaacatggagtatt

cagaatgtgtcataaatatttctaatttttaagatagtatctccattggctttctacttttttcttttatttttttttgtcc

tctgtcttccatttgttgttgttgttgtttgtttgtttgtttgttggttggttggttaatttttttttaaagatcctaca

ctatagttcaagctagactattagctactctgtaacccagggtgaccttgaagtcatgggtagcctgctgttttagcctt

cccacatctaagattacaggtatgagctatcatttttggtatattgattgattgattgattgatgtgtgtgtgtgtgatt

gtgtttgtgtgtgtgactgtgaaaatgtgtgtatgggtgtgtgtgaatgtgtgtatgtatgtgtgtgtgtgagtgtgtgt

gtgtgtgtgtgcatgtgtgtgtgtgtgactgtgtctatgtgtatgactgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt

[0698] gtgtgtgtgtgtgttgtgaaaaaatattctatggtagtgagagccaacgctccggctcaggtgtcaggttggtttttgag

acagagtctttcacttagcttggAATTCACTGGCCGTCGTTTTACAACGTCGTGACTGGGAAAACCCTGGCGTTACCCAA

CTTAATCGCCTTGCAGCACATCCCCCTTTCGCCAGCTGGCGTAATAGCGAAGAGGCCCGCACCGATCGCCCTTCCCAACA

GTTGCGCAGCCTGAATGGCGAATGGCGCCTGATGCGGTATTTTCTCCTTACGCATCTGTGCGGTATTTCACACCGCATAT

GGTGCACTCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAGTTAAGCCAGCCCCGACACCCGCCAACACCCGCTGACGCGCCC

TGACGGGCTTGTCTGCTCCCGGCATCCGCTTACAGACAAGCTGTGACCGTCTCCGGGAGCTGCATGTGTCAGAGGTTTTC

ACCGTCATCACCGAAACGCGCGATGACGAAAGGGCCTCGTGATACGCCTATTTTTATAGGTTAATGTCATGATAATAATG

GTTTCTTAGACGTCAGGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTTATTTTTCTAAATACATTCAAA

TATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGAGTATTCAACATT

TCCGTGTCGCCCTTATTCCCTTTTTTGCGGCATTTTGCCTTCCTGTTTTTGCTCACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAA

GATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTCG

CCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTATTGACGCCGGGC

AAGAGCAACTCGGTCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACG

GATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAAC

GATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAACTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGG

AGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACTATTA

ACTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCT

GCGCTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTCGCGGTATCATTGCAG

CACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAAT

AGACAGATCGCTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTAACTGTCAGACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGAT

TGATTTAAAACTTCATTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATCCCTTAAC

GTGAGTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTTCTGCGCGTA

ATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTTTGCCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCC

GAAGGTAACTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGTCCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGA

ACTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTT

ACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTCGGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCCAG

[0699]

CTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCATTGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAA
AGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGGAAACGCCTGGTAT
CTTTATAGTCCTGTCGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGGCGGAGCCTATG
GAAAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGTTCTTTCCTGCGTTAT
CCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGCAGCCGAACGACCGAGCGCAGC
GAGTCAGTGAGCGAGGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCCGCGCGTTGGCCGATTCATTAATGCAG
CTGGCACGACAGGTTTCCCGACTGGAAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAATGTGAGTTAGCTCACTCATTAGGCAC
CCCAGGCTTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGGATAACAATTTCACACAGGAAACAGC
TATGACCATGATTACGCCAAGCTTTGCTCTTAGGAGTTTCCTAATACATCCCAAACTCAAATATATAAAGCATTTGACTT
GTTCTATGCCCTAGGGGGCGGGGGGAAGCTAAGCCAGCTTTTTTTAACATTTAAAATGTTAATTCCATTTTAAATGCACA
GATGTTTTTATTTCATAAGGGTTTCAATGTGCATGAATGCTGCAATATTCCTGTTACCAAAGCTAGTATAAATAAAAATA
GATAAACGTGGAAATTACTTAGAGTTTCTGTCATTAACGTTTCCTTCCTCAGTTGACAACATAAATGCGCTGCTGAGCAA
GCCAGTTTGCATCTGTCAGGATCAATTTCCCATTATGCCAGTCATATTAATTACTAGTCAATTAGTTGATTTTTATTTTT
GACATATACATGTGAATGAAAGACCCCACCTGTAGGTTTGGCAAGCTAGCTTAAGTAACGCCATTTTGCAAGGCATGGAA
AAATACATAACTGAGAATAGAAAAGTTCAGATCAAGGTCAGGAACAGATGGAACAGCTGAATATGGGCCAAACAGGATAT
CTGTGGTAAGCAGTTCCTGCCCCGGCTCAGGGCCAAGAACAGATGGAACAGCTGAATATGGGCCAAACAGGATATCTGTG
GTAAGCAGTTCCTGCCCCGGCTCAGGGCCAAGAACAGATGGTCCCCAGATGCGGTCCAGCCCTCAGCAGTTTCTAGAGAA
CCATCAGATGTTTCCAGGGTGCCCCAAGGACCTGAAATGACCCTGTGCCTTATTTGAACTAACCAATCAGTTCGCTTCTC
GCTTCTGTTCGCGCGCTTATGCTCCCCGAGCTCAATAAAAGAGCCCACAACCCCTCACTCGGGGCGCCAGTCCTCCGATT
GACTGAGTCGCCCGGGTACCCGTGTATCCAATAAACCCTCTTGCAGTTGCATCCGACTTGTGGTCTCGCTGTTCCTTGGG
AGGGTCTCCTCTGAGTGATTGACTACCCGTCAGCGGGGGTCTTTCATTTGGGGGCTCGTCCGGGATCGGGAGACCCCTGC
CCAGGGACCACCGACCCACCACCGGGAGGTAAGCTGGCCAGCAACTTATCTGTGTCTGTCCGATTGTCTAGTGTCTATGA
CTGATTTTATGCGCCTGCGTCGGTACTAGTTAGCTAACTAGCTCTGTATCTGGCGGACCCGTGGTGGAACTGACGAGTTC
GGAACACCCGGCCGCAACCCTGGGAGACGTCCCAGGGACTTCGGGGGCCGTTTTTGTGGCCCGACCTGAGTCCTAAAATC
CCGATCGTTTAGGACTCTTTGGTGCACCCCCCTTAGAGGAGGGATATGTGGTTCTGGTAGGAGACGAGAACCTAAAACAG
TTCCCGCCTCCGTCTGAATTTTTGCTTTCGGTTTGGGACCGAAGCCGCGCCGCGCGTCTTGTCTGCTGCAGCATCGTTCT
GTGTTGTCTCTGTCTGACTGTGTTTCTGTATTTGTCTGAAAATATGGGCCCGGGCTAGACTGTTACCACTCCCTTAAGTT
TGACCTTAGGTCACTGGAAAGATGTCGAGCGGATCGCTCACAACCAGTCGGTAGATGTCAAGAAGAGACGTTGGGTTACC
TTCTGCTCTGCAGAATGGCCAACCTTTAACGTCGGATGGCCGCGAGACGGCACCTTTAACCGAGACCTCATCACCCAGGT
TAAGATCAAGGTCTTTTCACCTGGCCCGCATGGACACCCAGACCAGGTCCCCTACATCGTGACCTGGGAAGCCTTGGCTT
TTGACCCCCCTCCCTGGGTCAAGCCCTTTGTACACCCTAAGCCTCCGCCTCCTCTTCCTCCATCCGCCCCGTCTCTCCCC
CTTGAACCTCCTCGTTCGACCCCGCCTCGATCCTCCCTTTATCCAGCCCTCACTCCTTCTCTAGGCGCCCCCATATGGCC
ATATGAGATCTTATATGGGGCACCCCCGCCCCTTGTAAACTTCCCTGACCCTGACATGACAAGAGTTACTAACAGCCCCT
CTCTCCAAGCTCACTTACAGGCTCTCTACTTAGTCCAGCACGAAGTCTGGAGACCTCTGGCGGCAGCCTACCAAGAACAA
CTGGACCGA [SEQ ID NO: 408]

[0700] 具有SEQ ID NO:406的核苷酸序列的分离的核酸分子编码靶向GPRC5D的CAR(命名为GRPC5D 28z CAR1),其包含人scFv(该scFv包含:包含具有SEQ ID NO:53所示序列的氨基酸的重链可变区、包含具有SEQ ID NO:54所示序列的氨基酸的轻链可变区、以及位于重链可变区和轻链可变区之间的具有SEQ ID NO:98的氨基酸序列的接头)、包含CD28多肽的跨膜结构域、和包含含有SEQ ID NO:272的氨基酸52～163的CD3ξ多肽的细胞内结构域、以及包含CD28多肽的共刺激信号传导区,其中跨膜结构域和共刺激信号传导区中包含的CD28区包含SEQ ID NO:270的氨基酸114～220。

[0701] 具有SEQ ID NO:397的核苷酸序列的分离的核酸分子编码靶向GPRC5D的CAR(命名为GRPC5D 28z CAR2),其包含人scFv(该scFv包含:包含具有SEQ ID NO:57所示序列的氨基酸的重链可变区、包含具有SEQ ID NO:58所示序列的氨基酸的轻链可变区、以及位于重链可变区和轻链可变区之间的具有SEQ ID NO:98的氨基酸序列的接头)、包含CD28多肽的跨膜结构域、和包含含有SEQ ID NO:272的氨基酸52～163的CD3ξ多肽的细胞内结构域、以及包含CD28多肽的共刺激信号传导区,其中跨膜结构域和共刺激信号传导区中包含的CD28区

包含SEQ ID NO:270的氨基酸114～220。

[0702] 具有SEQ ID NO:398的核苷酸序列的分离的核酸分子编码靶向GPRC5D的CAR(命名为GRPC5D 28z CAR5),其包含人scFv(该scFv包含:包含具有SEQ ID NO:61所示序列的氨基酸的重链可变区、包含具有SEQ ID NO:62所示序列的氨基酸的轻链可变区、以及位于重链可变区和轻链可变区之间的具有SEQ ID NO:98的氨基酸序列的接头)、包含CD28多肽的跨膜结构域、和包含含有SEQ ID NO:272的氨基酸52～163的CD3ξ多肽的细胞内结构域、以及包含CD28多肽的共刺激信号传导区,其中跨膜结构域和共刺激信号传导区中包含的CD28区包含SEQ ID NO:270的氨基酸114～220。

[0703] 具有SEQ ID NO:399的核苷酸序列的分离的核酸分子编码靶向GPRC5D的CAR(命名为GRPC5D 28z CAR8),其包含人scFv(该scFv包含:包含具有SEQ ID NO:65所示序列的氨基酸的重链可变区、包含具有SEQ ID NO:66所示序列的氨基酸的轻链可变区、以及位于重链可变区和轻链可变区之间的具有SEQ ID NO:98的氨基酸序列的接头)、包含CD28多肽的跨膜结构域、和包含含有SEQ ID NO:272的氨基酸52～163的CD3ξ多肽的细胞内结构域、以及包含CD28多肽的共刺激信号传导区,其中跨膜结构域和共刺激信号传导区中包含的CD28区包含SEQ ID NO:270的氨基酸114～220。

[0704] 具有SEQ ID NO:400的核苷酸序列的分离的核酸分子编码靶向GPRC5D的CAR(命名为GRPC5D 28z CAR18),其包含人scFv(该scFv包含:包含具有SEQ ID NO:69所示序列的氨基酸的重链可变区、包含具有SEQ ID NO:70所示序列的氨基酸的轻链可变区、以及位于重链可变区和轻链可变区之间的具有SEQ ID NO:98的氨基酸序列的接头)、包含CD28多肽的跨膜结构域、和包含含有SEQ ID NO:272的氨基酸52～163的CD3ξ多肽的细胞内结构域、以及包含CD28多肽的共刺激信号传导区,其中跨膜结构域和共刺激信号传导区中包含的CD28区包含SEQ ID NO:270的氨基酸114～220。

[0705] 具有SEQ ID NO:401的核苷酸序列的分离的核酸分子编码靶向GPRC5D的CAR(命名为GRPC5D BBz CAR1),其包含人scFv(该scFv包含:包含具有SEQ ID NO:53所示序列的氨基酸的重链可变区、包含具有SEQ ID NO:54所示序列的氨基酸的轻链可变区、以及位于重链可变区和轻链可变区之间的具有SEQ ID NO:98的氨基酸序列的接头)、包含具有SEQ ID NO:404的137～207的CD8多肽的跨膜结构域、和包含含有SEQ ID NO:272的氨基酸52～163的CD3ξ多肽的细胞内结构域、以及包含具有SEQ ID NO:274的氨基酸214-255的4-1BB多肽的共刺激信号传导区。SEQ ID NO:401的核苷酸序列6-856编码人scFv。SEQ ID NO:401的核苷酸序列864-1076编码跨膜结构域中包含的CD8多肽。SEQ ID NO:401的核苷酸序列1077-1202编码细胞内结构域中包含的4-1BB多肽。SEQ ID NO:401的核苷酸序列1203-1541编码细胞内结构域中包含的CD3ξ多肽。SEQ ID NO:401的其他部分在表34中示出。

[0706] 表34

[0707]

部分	SEQ ID No: 401的核苷酸序列位置	核苷酸的数目
LTR	1821..2290	470
M13 fwd	2989..3005	17
AmpR 启动子	3480..3584	105
AmpR	3585..4445	861
ori	4616..5204	589
CAP 结合位点	5492..5513	22
lac 启动子	5528..5558	31
lac 操纵子	5566..5582	17
M13 rev	5590..5606	17
LTR	6015..6608	594
MMLV Psi	6671..7028	358
gag (截短的)	7093..7509	417

[0708] 具有SEQ ID NO:407的核苷酸序列的分离的核酸分子编码靶向GPRC5D的CAR(命名为GRPC5D BBz CAR2),其包含人scFv(该scFv包含:包含具有SEQ ID NO:57所示序列的氨基酸的重链可变区、包含具有SEQ ID NO:58所示序列的氨基酸的轻链可变区、以及位于重链可变区和轻链可变区之间的具有SEQ ID NO:98的氨基酸序列的接头)、包含具有SEQ ID NO:404的137～207的CD8多肽的跨膜结构域、和包含含有SEQ ID NO:272的氨基酸52～163的CD3ξ多肽的细胞内结构域、以及包含具有SEQ ID NO:274的氨基酸214-255的4-1BB多肽的共刺激信号传导区。SEQ ID NO:402的核苷酸序列5-855编码人scFv。SEQ ID NO:407的核苷酸序列15-812编码人scFv。SEQ ID NO:407的核苷酸序列852-1064编码跨膜结构域中包含的CD8多肽。SEQ ID NO:407的核苷酸序列1065-1190编码细胞内结构域中包含的4-1BB多肽。SEQ ID NO:407的核苷酸序列1191-1529编码细胞内结构域中包含的CD3ξ多肽。SEQ ID NO:407的其他部分在表41中示出。

[0709] 表41

[0710]

部分	SEQ ID No: 407的核苷酸序列位置	核苷酸的数目
Myc	813..842	30
LTR	1809..2278	470
M13 fwd	2977..2993	17
AmpR 启动子	3468..3572	105
AmpR	3573..4433	861
ori	4604..5192	589
CAP 结合位点	5480..5501	22
lac 启动子	5516..5546	31
lac 操纵子	5554..5570	17
M13 rev	5578..5594	17
LTR	6003..6596	594
MMLV Psi	6659..7016	358
gag (截短的)	7081..7497	417

[0711] 具有SEQ ID NO:402的核苷酸序列的分离的核酸分子编码靶向GPRC5D的CAR(命名

为GRPC5D BBz CAR5),其包含人scFv(该scFv包含:包含具有SEQ ID NO:61所示序列的氨基酸的重链可变区、包含具有SEQ ID NO:62所示序列的氨基酸的轻链可变区、以及位于重链可变区和轻链可变区之间的具有SEQ ID NO:98的氨基酸序列的接头)、包含具有SEQ ID NO:404的137～207的CD8多肽的跨膜结构域、和包含含有SEQ ID NO:272的氨基酸52～163的CD3ξ多肽的细胞内结构域、以及包含具有SEQ ID NO:274的氨基酸214-255的4-1BB多肽的共刺激信号传导区。SEQ ID NO:402的核苷酸序列5-855编码人scFv。SEQ ID NO:402的核苷酸序列863-1075编码跨膜结构域中包含的CD8多肽。SEQ ID NO:402的核苷酸序列1076-1201编码细胞内结构域中包含的4-1BB多肽。SEQ ID NO:402的核苷酸序列1202-1540编码细胞内结构域中包含的CD3ξ多肽。SEQ ID NO:402的其他部分在表35中示出。

[0712] 表35

[0713]

部分	SEQ ID No: 402的核苷酸序列位置	核苷酸的数目
LTR	1820..2289	470
M13 fwd	2988..3004	17
AmpR 启动子	3479..3583	105
AmpR	3584..4444	861
ori	4615..5203	589
CAP 结合位点	5491..5512	22
lac 启动子	5527..5557	31
lac 操纵子	5565..5581	17
M13 rev	5589..5605	17
LTR	6014..6607	594
MMLV Psi	6670..7027	358
gag (截短的)	7092..7508	417

[0714] 具有SEQ ID NO:408的核苷酸序列的分离的核酸分子编码靶向GPRC5D的CAR(命名为GRPC5D BBz CAR8),其包含人scFv(该scFv包含:包含具有SEQ ID NO:65所示序列的氨基酸的重链可变区、包含具有SEQ ID NO:66所示序列的氨基酸的轻链可变区、以及位于重链可变区和轻链可变区之间的具有SEQ ID NO:98的氨基酸序列的接头)、包含具有SEQ ID NO:404的137～207的CD8多肽的跨膜结构域、和包含含有SEQ ID NO:272的氨基酸52～163的CD3ξ多肽的细胞内结构域、以及包含具有SEQ ID NO:274的氨基酸214-255的4-1BB多肽的共刺激信号传导区。SEQ ID NO:408的核苷酸序列15-824编码人scFv。SEQ ID NO:408的核苷酸序列864-1076编码跨膜结构域中包含的CD8多肽。SEQ ID NO:408的核苷酸序列1077-1202编码细胞内结构域中包含的4-1BB多肽。SEQ ID NO:408的核苷酸序列1203-1541编码细胞内结构域中包含的CD3ξ多肽。SEQ ID NO:408的其他部分在表42中示出。

[0715] 表42

[0716]

部分	SEQ ID No: 408的核苷酸序列位置	核苷酸的数目
Myc	825..854	30
LTR	1821..2290	470
M13 fwd	2989..3005	17
AmpR 启动子	3480..3584	105
AmpR	3585..4445	861
ori	4616..5204	589
CAP 结合位点	5492..5513	22
lac 启动子	5528..5558	31
lac 操纵子	5566..5582	17
M13 rev	5590..5606	17
LTR	6015..6608	594
MMLV Psi	6671..7028	358
gag (截短的)	7093..7509	417

[0717] 具有SEQ ID NO:403的核苷酸序列的分离的核酸分子编码靶向GPRC5D的CAR(命名为GRPC5D BBz CAR18),其包含人scFv(该scFv包含:包含具有SEQ ID NO:69所示序列的氨基酸的重链可变区、包含具有SEQ ID NO:70所示序列的氨基酸的轻链可变区、以及位于重链可变区和轻链可变区之间的具有SEQ ID NO:98的氨基酸序列的接头)、包含具有SEQ ID NO:404的137～207的CD8多肽的跨膜结构域、和包含含有SEQ ID NO:272的氨基酸52～163的CD3ξ多肽的细胞内结构域、以及包含具有SEQ ID NO:274的氨基酸214-255的4-1BB多肽的共刺激信号传导区。SEQ ID NO:403的核苷酸序列6-856编码人scFv。SEQ ID NO:403的核苷酸序列864-1076编码跨膜结构域中包含的CD8多肽。SEQ ID NO:403的核苷酸序列1077-1202编码细胞内结构域中包含的4-1BB多肽。SEQ ID NO:403的核苷酸序列1203-1541编码细胞内结构域中包含的CD3ξ多肽。SEQ ID NO:403的其他部分在表36中示出。

[0718] 表36

[0719]

部分	SEQ ID No: 403的核苷酸序列位置	核苷酸的数目
LTR	1821..2290	470
M13 fwd	2989..3005	17
AmpR 启动子	3480..3	105
AmpR	3585..4445	861
ori	4616..5204	589
CAP 结合位点	5492..5513	22
lac 启动子	5528..5558	31
lac 操纵子	566..5582	17
M13 rev	5590..5606	17
LTR	6015..6608	594
MMLV Psi	6671..7028	358
gag (截短的)	7093..7509	417

[0720] 在某些实施方式中,分离的核酸分子编码本发明公开的靶向G-蛋白偶联受体(例如,GPRC5D)的CAR的功能部分。本文使用的术语“功能部分”是指本发明公开的靶向G-蛋白

偶联受体(例如,GPRC5D)的CAR的任何部分(portion)、局部(part)或片段,该部分(portion)、局部(part)或片段保留靶向G-蛋白偶联受体(例如,GPRC5D)的CAR(亲本CAR)的生物学活性。例如,功能部分包括本发明公开的靶向G-蛋白偶联受体(例如,GPRC5D)的CAR的部分(portion)、局部(part)或片段,其保留识别靶细胞的能力,以治疗疾病例如多发性骨髓瘤,达到与亲本CAR相似、相同或甚至更高的程度。在某些实施方式中,编码本发明公开的靶向G-蛋白偶联受体(例如,GPRC5D)的CAR的功能部分的分离的核酸分子可以编码包含亲本CAR的例如约10%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、和95%、或更多的蛋白质。

[0721] III.免疫应答细胞

[0722] 本发明公开的主题提供了表达包含细胞外抗原结合结构域、跨膜结构域和细胞内结构域的CAR的免疫应答细胞,如上所述,其中细胞外抗原结合结构域特异性地结合G-蛋白偶联受体(例如,GPRC5D)。免疫应答细胞可以用本发明公开的CAR进行转导使得该细胞表达CAR。本发明公开的主题还提供使用此类细胞治疗肿瘤例如多发性骨髓瘤(MM)的方法。本发明公开的主题的免疫应答细胞可以是淋巴谱系的细胞。淋巴谱系的细胞包含B、T和天然杀伤(NK)细胞,提供抗体的产生、细胞免疫系统的调节、血液中外来物质的检测、对宿主外源的细胞的检测等。淋巴谱系的免疫应答细胞的非限制性实例包括T细胞、自然杀伤(NK)细胞、细胞毒性T淋巴细胞(CTL)、调节性T细胞、胚胎干细胞和多能干细胞(例如,可分化成淋巴样细胞的多能干细胞)。T细胞可以是在胸腺中成熟的淋巴细胞,并且主要负责细胞介导的免疫。T细胞参与获得性免疫系统。本发明公开主题的T细胞可以是任何类型的T细胞,包括但不限于T辅助细胞、细胞毒性T细胞、记忆T细胞(包括中心记忆T细胞、干细胞样记忆T细胞(或干样记忆T细胞)和两种类型的效应记忆T细胞(例如,T_{EM}细胞和T_{EMRA}细胞)、调节性T细胞(也称为抑制性T细胞)、自然杀伤T细胞、粘膜相关恒定T细胞、和γδT细胞。在某些实施方式中,表达CAR的T细胞表达Foxp3以实现和维持T调节表型。自然杀伤(NK)细胞可以是作为细胞介导的免疫的一部分并且在先天免疫应答期间起作用的淋巴细胞。NK细胞不需要预先活化以便对靶细胞发挥其细胞毒性作用。细胞毒性T细胞(CTL或杀伤T细胞)是能够诱导受感染的体细胞或肿瘤细胞死亡的T淋巴细胞的子集。

[0723] 本发明公开主题的免疫应答细胞可以表达特异性地结合G-蛋白偶联受体(例如,GPRC5D)的细胞外抗原结合结构域(例如scFV、任选交联的Fab或$F(ab)_2$),用于治疗多发性骨髓瘤。此类免疫应答细胞可以施用于有此需要的受试者(例如人受试者),用于治疗多发性骨髓瘤。在某些实施方式中,免疫应答细胞是T细胞。T细胞可以是$CD4^+$T细胞或$CD8^+$T细胞。在某些实施方式中,T细胞是$CD4^+$T细胞。在某些实施方式中,T细胞是$CD8^+$T细胞。

[0724] 本发明公开的免疫应答细胞可以进一步用至少一种共刺激性配体进行转导,使得免疫应答细胞共表达或被诱导以共表达靶向G-蛋白偶联受体(例如,GPRC5D)的CAR和至少一种共刺激性配体。靶向G-蛋白偶联受体(例如,GPRC5D)的CAR和至少一种共刺激配体之间的相互作用提供了对于免疫应答细胞(例如,T细胞)的完全激活而言重要的非抗原特异性信号。共刺激配体包括但不限于肿瘤坏死因子(TNF)超家族成员和免疫球蛋白(Ig)超家族配体。TNF是参与全身炎症并刺激急性期反应的细胞因子。它的主要作用是调节免疫细胞。TNF超家族的成员具有许多共同的特征。大多数TNF超家族成员被合成作为包含短胞质区段和相对长的细胞外区的II型跨膜蛋白(细胞外C末端)。TNF超家族成员包括但不限于神经生

长因子(NGF)、CD40L(CD40L)/CD154、CD137L/4-1BBL、TNF-α、CD134L/OX40L/CD252、CD27L/CD70、Fas配体(FasL)、CD30L/CD153、肿瘤坏死因子β(TNFβ)/淋巴毒素-α(LTα)、淋巴毒素-β(LTβ)、CD257/B细胞激活因子(BAFF)/Blys/THANK/Tall-1、糖皮质激素诱导的TNF受体配体(GITRL)和TNF相关性细胞凋亡诱导配体(TRAIL)、LIGHT(TNFSF14)。免疫球蛋白(Ig)超家族是参与细胞识别、结合或粘附过程的大量细胞表面的可溶性蛋白质。这些蛋白质与免疫球蛋白共享结构特征——它们具有免疫球蛋白结构域(折叠)。免疫球蛋白超家族配体包括但不限于CD80和CD86、CD28的配体、PD-1的配体PD-L1/(B7-H1)。在一些实施方式中,至少一种共刺激配体选自4-1BBL、CD80、CD86、CD70、OX40L、CD48、TNFRSF14、PD-L1,及其组合。在某些实施方式中,免疫应答细胞用4-1BBL作为一个共刺激配体进行转导。在某些实施方式中,免疫应答细胞用4-1BBL和CD80作为两个共刺激配体进行转导。用至少一种共刺激配体转导的CAR描述于美国专利第8,389,282号,其全部内容并入本文以供参考。

[0725] 此外,本发明公开的免疫应答细胞还可以用至少一种细胞因子进行转导,使得免疫应答细胞分泌至少一种细胞因子以及表达靶向G-蛋白偶联受体(例如,GPRC5D)的CAR。在某些实施方式中,至少一种细胞因子选自IL-2、IL-3、IL-6、IL-7、IL-11、IL-12、IL-15、IL-17和IL-21。在某些实施方式中,细胞因子是IL-12。

[0726] G-蛋白偶联受体(例如,GPRC5D)-特异性的或靶向的人淋巴细胞可以用于外周供体淋巴细胞,例如在以下公开的:Sadelain,M.等,2003Nat Rev Cancer 3:35～45(公开了经基因修饰以表达CAR的外周供体淋巴细胞);Morgan,R.A.等2006Science 314:126～129(公开了经基因修饰以表达包含α和β异源二聚体的全长肿瘤抗原识别T细胞受体复合物的外周供体淋巴细胞);Panelli,M.C.等2000J Immunol164:495～504;Panelli,M.C.等2000J Immunol 164:4382～4392(公开了肿瘤活检中源自肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)的淋巴细胞培养物);和Dupont,J.等2005Cancer Res 65:5417～5427;Papanicolaou,G.A.等2003Blood 102:2498～2505(公开了使用人工抗原递呈细胞(AAPC)或脉冲树突状细胞选择性体外扩增的抗原特异性外周血白细胞)。免疫应答细胞(例如T细胞)可以是自体的、非自体的(例如同种异体的)、或在体外衍生自工程化的祖细胞或干细胞。

[0727] 在某些实施方式中,本发明公开的免疫应答细胞(例如T细胞)表达约1至约4、约2至约4、约3至约4、约1至约2、约1至约3、或约2至约3个载体拷贝数/细胞的本发明公开的靶向G-蛋白偶联受体(例如,GPRC5D)的CAR。

[0728] 未纯化的CTL的来源可以是任何本领域已知的,例如骨髓、胎儿、新生儿或成人或其他造血细胞来源,例如胎肝、外周血或脐带血。可以采用各种技术来分离细胞。例如,阴性选择方法可以初步除去非CTL。单克隆抗体特别用于鉴定与特定细胞谱系和/或分化阶段相关的标记用于阳性和阴性选择。

[0729] 大部分终末分化的细胞可以通过相对粗糙的分离在初始除去。例如,磁珠分离可以用于初始除去大量不相关的细胞。优选地,在细胞分离之前,至少约80％、通常至少70％的总造血细胞将被除去。

[0730] 分离步骤包括但不限于密度梯度离心;重调(resetting);偶联至改变细胞密度的颗粒;用抗体包被的磁珠进行磁性分离;亲和层析;与mAb结合或联合使用的细胞毒试剂,包括但不限于补体和细胞毒素;和用附着于例如板、芯片的固体基质的抗体淘选、淘洗或任何其他方便的技术。

[0731] 用于分离和分析的技术包括但不限于流式细胞术,其可具有不同程度的复杂性,例如多个颜色通道、低角度和钝角光散射检测通道、阻抗通道。

[0732] 通过使用与死细胞相关的染料比如碘化丙啶(PI),可以相对于死细胞来选择细胞。优选地,将细胞收集在包含2%胎牛血清(FCS)或0.2%牛血清白蛋白(BSA)或任何其它合适的,优选无菌的、等渗培养基的培养基中。

[0733] IV.载体

[0734] 免疫应答细胞(例如,T细胞、CTL细胞、NK细胞)的基因修饰可以通过用重组DNA或RNA构建体转导基本上同源的细胞组合物来实现。载体可以是逆转录病毒载体(例如,γ逆转录病毒),其用于将DNA或RNA构建体导入宿主细胞基因组。例如,编码G-蛋白偶联受体(例如,GPRC5D)特异性的CAR的多核苷酸可以克隆到逆转录病毒载体中,并且可以从其内源启动子、逆转录病毒长末端重复序列或从替代的内部启动子驱动表达。

[0735] 也可使用非病毒载体或RNA。可以使用随机染色体整合或靶向整合(例如使用核酸酶、转录激活子样效应物核酸酶(TALEN)、锌指核酸酶(ZFN)和/或规律成簇间隔短回文重复(CRISPR)或转基因表达(例如使用天然或化学修饰的RNA)。

[0736] 对于细胞的初始基因修饰以提供表达G-蛋白偶联受体(例如,GPRC5D)特异性的CAR的细胞,通常使用逆转录病毒载体进行转导,然而可以使用任何其它合适的病毒载体或非病毒递送系统。对于细胞的后续基因修饰以提供包含含有至少两种共刺激配体的抗原递呈复合物的细胞,逆转录病毒基因转移(转导)同样证明是有效的。逆转录病毒载体和合适的组装线的联合也是合适的,其中衣壳蛋白对于感染人细胞是有功能的。已知各种产生双嗜性病毒的细胞系,包括但不限于PA12(Miller等人(1985)Mol.Cell.Biol.5:431～437);PA317(Miller等人(1986)Mol.Cell.Biol.6:2895～2902);和CRIP(Danos等人(1988)Proc.Natl.Acad.Sci.USA85:6460～6464)。非嗜性颗粒也是合适的,例如,用VSVG、RD114或GALV包衣假型包装的颗粒和本领域已知的任何其它颗粒。

[0737] 可能的转导方法还包括细胞与生产细胞的直接共培养,例如通过Bregni等人(1992)Blood 80:1418～1422的方法,或者用单独的病毒上清或具有或没有合适的生长因子和聚阳离子的浓缩载体储备液培养,例如通过Xu等人(1994)Exp.Hemat.22:223～230;和Hughes等人(1992)J.Clin.Invest.89:1817的方法。

[0738] 转导病毒载体可用于在免疫应答细胞中表达共刺激配体(例如4-1BBL和IL-12)。优选地,选择的载体表现出高的感染效率和稳定的整合和表达(参见例如Cayouette等人,Human Gene Therapy 8:423～430,1997;Kido等人,Current Eye Research 15:833～844,1996;Bloomer等人,Journal of Virology 71:6641～6649,1997;Naldini等人,Science 272:263～267,1996;和Miyoshi等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 94:10319,1997)。可以使用的其他病毒载体包括例如腺病毒、慢病毒和腺相关病毒载体、牛痘病毒、牛乳头瘤病毒或疱疹病毒,比如Epstein-Barr病毒(也参见例如,Miller,Human Gene Therapy 15-14,1990;Friedman,Science 244:1275～1281,1989;Eglitis等人,BioTechniques 6:608～614,1988;Tolstoshev等人,Current Opinion in Biotechnology 1:55～61,1990;Sharp,The Lancet 337:1277～1278,1991;Cornetta等人,Nucleic Acid Research and Molecular Biology 36:311～322,1987;Anderson,Science 226:401～409,1984;Moen,Blood Cells 17:407～416,1991;Miller等,Biotechnology 7:980～990,1989;Le Gal La

Salle等,Science 259:988～990,1993;和Johnson,Chest 107:77S～83S,1995的载体)。逆转录病毒载体已充分开发,并已用于临床环境中(Rosenberg等人,N.Engl.J.Med 323:370,1990;Anderson等人,美国专利号5,399,346)。

[0739] 在某些非限制性实施方式中,表达本发明公开的G-蛋白偶联受体(例如,GPRC5D)靶向的CAR的载体是逆转录病毒载体,例如,293galv9逆转录病毒载体。

[0740] 非病毒方法也可以用于在细胞中表达蛋白质。例如,可以通过在脂质转染(Feigner等人,Proc.Nat'l.Acad.Sci.USA 84:7413,1987;Ono等人,Neuroscience Letters 17:259,1990;Brigham等人,Am.J.Med.Sci.298:278,1989;Staubinger等人,Methods in Enzymology 101:512,1983)、去唾液酸血清类粘蛋白-多聚赖氨酸缀合物(Wu等人,Journal of Biological Chemistry 263:14621,1988;Wu等人,Journal of Biological Chemistry 264:16985,1989)的存在下施用核酸、或通过在外科条件下的微注射(Wolff等人,Science 247:1465,1990)将核酸分子引入细胞中。用于基因转移的其它非病毒方法包括体外使用磷酸钙、DEAE葡聚糖、电穿孔和原生质体融合的转染。脂质体对于将DNA递送到细胞中也可以是潜在有益的。正常基因移植到受试者的受影响组织中也可以通过将正常核酸离体转移到可培养细胞类型(例如,自体的或异源的原代细胞或其子代)中来实现,之后将细胞(或其子代)注射到靶组织中或全身注射。重组受体也可以使用转座酶或靶向核酸酶(例如锌指核酸酶、(兆碱基)大范围核酸酶或TALE核酸酶)获得或得到。瞬时表达可以通过RNA电穿孔获得。

[0741] 用于多核苷酸治疗方法的cDNA表达可以由任何合适的启动子(例如,人巨细胞病毒(CMV)、猿猴病毒40(SV40)或金属硫蛋白启动子)引导,并且受任何合适的哺乳动物调节元件或内含子(例如,延伸因子1α增强子/启动子/内含子结构)调节。例如,如果需要,可以使用已知优先引导特定细胞类型中的基因表达的增强子来引导核酸的表达。所使用的增强子可以包括但不限于特征为组织或细胞特异性增强子的那些增强子。或者,如果使用基因组克隆作为治疗性构建体,则调节可以通过同源调节序列介导,或如果需要,通过来自包括上述任何启动子或调节元件的异源来源的调节序列介导。

[0742] 所得细胞可以在类似于未修饰细胞的条件下生长,由此可以扩增修饰的细胞并用于多种目的。

[0743] V.多肽及类似物和多核苷酸

[0744] 本发明公开的主题中还包括特异性地结合G-蛋白偶联受体(例如,GPRC5D)的细胞外抗原结合结构域(例如scFv、Fab或$(Fab)_2$)、CD3ζ、CD8、CD28等多肽或其片段、以及编码其的多核苷酸,它们以当在免疫应答细胞中表达时增强其抗肿瘤活性的方式被修饰。本发明公开的主题提供了通过产生序列中的改变来优化氨基酸序列或核酸序列的方法。此类改变包括某些突变、缺失、插入或翻译后修饰。本发明公开的主题还包括本发明公开主题的任何天然存在的多肽的类似物。类似物可以通过氨基酸序列差异、通过翻译后修饰或通过两者而不同于本发明公开主题的天然存在的多肽。本发明公开主题的类似物通常可以表现出与本发明公开主题的天然存在的氨基酸序列的全部或部分至少约85%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%、约99%或更高同一性。序列比较的长度为至少5、10、15、20、25、50、75、100或更多个氨基酸残基。同样,在确定同一性程度的示例性方法中,可以使用BLAST程序,e^{-3}和e^{-100}之间的概率得分表示密切相关的序列。修饰包

括多肽的体内和体外化学衍生化,例如乙酰化、羧化、磷酸化或糖基化;此类修饰可以在多肽合成或加工期间或在用分离的修饰酶处理之后发生。类似物还可以通过一级序列的改变而不同于本发明公开主题的天然存在的多肽。这些改变包括天然和诱导的遗传变异体(例如,产生自通过照射或暴露于甲磺酸乙酯的随机诱变或通过如Sambrook,Fritsch和Maniatis,Molecular Cloning:A Laboratory Manual(第二版)CSH Press,1989,或同上Ausubel等人所述的位点特异性诱变)。还包括环化肽、分子和类似物,其包含除L-氨基酸外的残基,例如D-氨基酸或非天然存在的或合成的氨基酸,例如β或γ氨基酸。

[0745] 除了全长多肽之外,本发明公开的主题还提供本发明公开的主题的多肽或肽结构域中任一者的片段。片段可以是至少5、10、13或15个氨基酸。在某些实施方案中,片段是至少20个连续氨基酸、至少30个连续氨基酸或至少50个连续氨基酸。在某些实施方案中,片段是至少60至80、100、200、300或更多个连续氨基酸。本发明公开的主题的片段可以通过本领域普通技术人员已知的方法产生,或者可以由正常的蛋白质加工产生(例如从新生多肽中除去生物活性不需要的氨基酸或通过备选mRNA剪接或备选蛋白质加工事件除去氨基酸)。

[0746] 非蛋白质类似物可具有设计为模拟本发明蛋白质的功能活性的化学结构。此类类似物根据本发明公开的主题的方法施用。此类类似物可能超过原始多肽的生理活性。模拟设计的方法是本领域公知的,并且可以根据这样的方法通过修饰化学结构来进行类似物的合成,使得当在免疫应答细胞中表达时,所得的类似物增加原始多肽的抗肿瘤活性。这些化学修饰包括但不限于取代替代的R基团和改变参考多肽的特定碳原子的饱和度。蛋白质类似物可以对体内降解相对耐受,导致施用时更长的治疗效果。用于测量功能活性的试验包括但不限于下文实施例中描述的那些。

[0747] 根据本发明公开的主题,编码特异性地结合G-蛋白偶联受体(例如,GPRC5D)的细胞外抗原结合结构域(例如scFV、Fab或$(Fab)_2$)、CD3ζ、CD8、CD28)的多核苷酸可以通过密码子优化进行修饰。密码子优化可以改变天然存在的和重组的基因序列,以在任何给定的表达系统中实现最高可能水平的生产力。涉及蛋白质表达的不同阶段的因子包括密码子适应性、mRNA结构以及转录和翻译中的各种顺式元件。本领域技术人员已知的任何合适的密码子优化方法或技术可用于修饰本发明公开主题的多核苷酸,包括但不限于OPTIMUMGENE™、Encor优化和Blue Heron。

[0748] VI.施用

[0749] 可以全身或直接向受试者提供本发明公开的主题的G-蛋白偶联受体(例如,GPRC5D)特异性的CAR和表达它的免疫应答细胞,用于治疗或预防瘤形成。在某些实施方案中,将G-蛋白偶联受体(例如,GPRC5D)特异性的CAR和表达它的免疫应答细胞直接注射到目标器官(例如,受瘤形成影响的器官)中。或者或另外,将G-蛋白偶联受体(例如,GPRC5D)特异性的CAR和表达它的免疫应答细胞通过例如施用到循环系统中(例如,肿瘤血管系统)间接提供给目标器官。可以在施用细胞和组合物之前、期间或之后提供扩增和分化剂,以增加体外或体内T细胞的产生。

[0750] 本发明公开主题的G-蛋白偶联受体(例如,GPRC5D)特异性的CAR和表达它的免疫应答细胞可以以任何生理学可接受的手段施用,通常是血管内施用,尽管它们也可以被引入骨或其他方便的位点,其中细胞可以找到合适的再生和分化位点(例如,胸腺)。通常,可以施用至少1×10^5个细胞,最终达到1×10^{10}个或更多。包含表达G-蛋白偶联受体(例如,

GPRC5D)特异性的CAR的免疫应答细胞的细胞群体可以包含纯化的细胞群体。本领域技术人员可以使用各种公知的方法,比如荧光激活细胞分选(FACS),容易地确定细胞群体中免疫应答细胞的百分比。包含经遗传修饰的表达G-蛋白偶联受体(例如,GPRC5D)特异性的CAR的免疫应答细胞的细胞群体中的纯度范围可以是约50%至约55%、约55%至约60%、约65%至约70%、约70%至约75%、约75%至约80%、约80%至约85%、约85%至约90%、约90%至约95%或约95至约100%。本领域技术人员可以容易地调整剂量(例如,纯度的降低可能需要增加剂量)。免疫应答细胞可通过注射、导管等引入。如果需要,还可以包含因子,包括但不限于白细胞介素,例如IL-2、IL-3、IL 6、IL-11、IL-7、IL-12、IL-15、IL-21以及其它白细胞介素,集落刺激因子,比如G-、M-和GM-CSF,干扰素,例如γ-干扰素。

[0751] 本发明公开主题的组合物包含药物组合物,其包含表达G-蛋白偶联受体(例如,GPRC5D)特异性的CAR的免疫应答细胞和药学上可接受的载体。施用可以是自体的或非自体的。例如,表达G-蛋白偶联受体(例如,GPRC5D)特异性的CAR的免疫应答细胞和包含它的组合物可以从一个受试者获得,并施用于相同受试者或不同的相容受试者。可以通过局部注射,包括导管给药、全身注射、局部注射、静脉内注射或胃肠外给药来施用本发明公开主题的外周血来源的T细胞或其子代(例如,体内、离体或体外衍生的)。当施用本发明公开主题的药物组合物(例如包含表达G-蛋白偶联受体(例如,GPRC5D)特异性的CAR的免疫应答细胞的药物组合物)时,可以将其配制成单位剂量可注射形式(溶液、悬浊液、乳浊液)。

[0752] VII.制剂

[0753] 本发明公开主题的表达普遍G-蛋白偶联受体(例如,GPRC5D)特异性的CAR的免疫应答细胞和包含其的组合物可以方便地作为无菌液体制剂提供,例如等渗水溶液、悬浊液、乳浊液、分散液或粘性组合物,其可以缓冲至选定的pH。液体制剂通常比凝胶、其它粘性组合物和固体组合物更容易制备。此外,液体组合物更方便施用,特别是通过注射。另一方面,粘性组合物可以在适当的粘度范围内配制,以提供与特定组织的更长的接触时间。液体或粘性组合物可以包含载体,其可以是包含例如水、盐水、磷酸盐缓冲盐水、多元醇(例如甘油、丙二醇、液体聚乙二醇等)和合适的其混合物的溶剂或分散介质。

[0754] 无菌可注射溶液可以通过将包含表达本发明公开主题的普遍G-蛋白偶联受体(例如,GPRC5D)特异性的CAR的免疫应答细胞的组合物掺入所需量的合适溶剂与如果需要的各种量的其它成分来制备。此类组合物可以与合适的载体、稀释剂或赋形剂如无菌水、生理盐水、葡萄糖、右旋糖等混合。组合物也可以是冻干的。根据给药途径和所需制剂,组合物可以包含辅助物质,比如润湿剂、分散剂或乳化剂(例如甲基纤维素)、pH缓冲剂、凝胶或增粘添加剂、防腐剂、调味剂、着色剂等。可以参考标准教科书,比如引入本文以供参考的"REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCE",第17版,1985,来制备合适的制剂,而无需过多的实验。

[0755] 可以加入增强组合物的稳定性和无菌性的各种添加剂,包括抗微生物防腐剂、抗氧化剂、螯合剂和缓冲剂。可以通过各种抗细菌剂和抗真菌剂,例如对羟基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、山梨酸等来确保防止微生物的作用。可注射药物形式的延长吸收可以通过使用延迟吸收的试剂,例如明矾单硬脂酸盐和明胶来实现。然而,根据本发明,使用的任何载体、稀释剂或添加剂必须与表达本发明公开主题的普遍G-蛋白偶联受体(例如,GPRC5D)特异性的CAR的免疫应答细胞相容。

[0756] 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。本发明公开主题的组合物的所需等渗性可使用氯化钠或其它药学上可接受的试剂比如右旋糖、硼酸、酒石酸钠、丙二醇或其它无机或有机溶质来完成。特别优选氯化钠用于含有钠离子的缓冲液。

[0757] 如果需要,组合物的粘度可以使用药学上可接受的增稠剂保持在选定的水平。可以使用甲基纤维素,因为它容易购得且经济可行并且易于操作。其它合适的增稠剂包括例如黄原胶、羧甲基纤维素、羟丙基纤维素、卡波姆等。增稠剂的浓度可以取决于所选择的试剂。重要的是使用将实现所选定的粘度的量。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(例如,是否将组合物配制成溶液、悬浊液、凝胶或另一液体形式,比如时间释放形式或液体填充形式)。

[0758] 本领域技术人员将认识到,组合物的组分应当选择为化学惰性的,并且不会影响如本发明公开主题中所述的免疫应答细胞的存活力或功效。这对化学和药学原理的技术人员将不存在问题,或者可以从本发明公开和本文引用的文献通过参考标准教科书或通过简单实验(不涉及过多实验),容易地避免问题。

[0759] 关于本发明公开主题的免疫应答细胞的治疗用途的一个考虑是获得最佳效果所必需的细胞的量。待施用的细胞的量将根据所治疗的受试者而变化。在某些实施方案中,将约10^4至约10^{10}、约10^5至约10^9或约10^6至约10^8个本发明公开主题的免疫应答细胞施用于受试者。更有效的细胞可以以甚至更小的数量施用。在一些实施方案中,将至少约1x 10^8、约2x 10^8、约3x 10^8、约4x 10^8和约5x 10^8个本发明公开主题的免疫应答细胞施用于人受试者。将被认为是有效剂量的精确确定基于每个受试者个体的因素,包括其大小、年龄、性别、体重和特定受试者的状况。剂量可以由本领域技术人员从本发明公开和本领域的知识中容易地确定。

[0760] 本领域技术人员可容易地确定组合物中细胞和任选的添加剂、媒介物和/或载体的量,并且确定哪些在本发明公开的主题的方法中施用。通常,任何添加剂(除了活性细胞和/或物质之外)在磷酸盐缓冲盐水中以约0.001wt%至约50wt%的溶液的量存在,并且活性成分是以微克至毫克的数量级,比如约0.0001wt%至约5wt%、约0.0001wt%至约1wt%、约0.0001wt%至约0.05wt%、约0.001wt%至约20wt%、约0.01wt%至约10wt%、或约0.05wt%至约5wt%存在。对于要施用于动物或人的任何组合物,以及对于任何特定的施用方法,应当确定毒性,比如通过在合适的动物模型例如啮齿动物比如小鼠中测定致死剂量(LD)和LD50;和引起合适的应答的组合物的剂量、其中组分的浓度和施用组合物的时间。此类确定根据本领域技术人员的知识、本发明公开和本文引用的文献并不需要过度实验。并且,可以在没有过度实验的情况下确定顺序施用的时间。

[0761] VIII.治疗方法

[0762] 肿瘤微环境。肿瘤具有敌对于宿主免疫应答的微环境,其涉及恶性细胞的一连续机制以保护自身免于免疫识别和清除。这种“不利的肿瘤微环境”包括多种免疫抑制因子,包括浸润性调节性$CD4^+$T细胞(Treg)、骨髓衍生抑制细胞(MDSC)、肿瘤相关巨噬细胞(TAM)、包括IL-10和TGF-β的免疫抑制性细胞因子,以及靶向由活化T细胞(CTLA-4和PD-1)表达的免疫抑制性受体的配体的表达。这些免疫抑制机制在维持耐受性和抑制不适当的免疫应答中起作用,然而在肿瘤微环境内,这些机制阻止有效的抗肿瘤免疫应答。总之,这些免疫抑

制因子可以诱导过继转移的CAR修饰的T细胞在遇到靶向的肿瘤细胞时显著的无反应性或凋亡。

[0763] 肿瘤免疫学的挑战。有效的肿瘤免疫需要肿瘤抗原识别和免疫效应细胞的无对抗的肿瘤清除。肿瘤抗原必须包含由肿瘤递呈并且可以被特异性细胞毒性T淋巴细胞(CTL)识别的肽表位。引发的CTL必须扩增到足够数量并迁移到肿瘤位点,在其中它们成熟为效应物以实现其功能,这种功能通过辅助性T细胞增强并被Treg和抑制性巨噬细胞抑制。

[0764] 使用工程化T淋巴细胞的靶向T细胞治疗。T细胞工程是一个开创性的战略,以潜在解决许多以前观察到的早期免疫治疗方法的缺点。在过去一年中,研究人员报道了复发的[17,18]、耐药(chemorefractory)白血病和转移性黑色素瘤[19-21]中的显著的完全缓解,其是使用靶向特定抗原(分别为CD19和NY-ESO-1)的自体外周血T细胞获得的。

[0765] 遗传方法的原理:细胞工程可以用于将T细胞重定向至肿瘤抗原并增强T细胞功能。遗传性T细胞修饰的一个动力是增强T细胞存活和扩增并抵消T细胞死亡、无反应性和免疫抑制的潜力。还可以改进T细胞的遗传靶向以防止正常组织的不期望的破坏。

[0766] 嵌合抗原受体(CAR):可以通过转移编码CAR的基因产生肿瘤特异性T细胞[22-27]。第二代CAR包含肿瘤抗原结合结构域,其融合到能够激活T细胞的细胞内信号传导结构域,以及设计为增强T细胞效能和持续性的共刺激结构域[28]。因此CAR设计可以协调抗原识别与信号传导,生理上由两个单独的复合物TCR异二聚体和CD3复合物承担的两种功能。CAR的细胞外抗原结合结构域通常来源于鼠单克隆抗体(mAb)或来自受体或其配体。因此,抗原识别是非MHC限制的[29,30],因此使用相同的CAR适用于表达靶抗原的任何患者。通过CAR的抗原结合触发细胞内结构域中基于免疫受体酪氨酸的激活基序(ITAM)的磷酸化,启动细胞裂解诱导、细胞因子分泌和增殖所需的信号传导级联。由于抗原识别的MHC限制被绕过,CAR靶向T细胞的功能不受HLA下调或抗原加工装置中的缺陷的影响。

[0767] T细胞对于扩增和存活的要求:肿瘤特异性T细胞的增殖在离体是需要的,并且在体内可以说是期望的。T细胞增殖必须伴随T细胞存活以允许绝对T细胞扩增和持续。为了响应抗原而增殖,T细胞必须接收两种信号。一种是由抗原递呈细胞(APC)的表面上展示的抗原肽/MHC复合物的TCR识别所提供[26]。另一种由T细胞共刺激受体,比如CD28或4-1BB受体所提供。虽然T细胞的细胞裂解活性不需要伴随的共刺激,但是如先前所证明的,提供共刺激信号以维持过继转移T细胞的抗肿瘤功能,存在关键需求[24,28,31-33]。

[0768] 免疫监测:淋巴细胞是多功能“药物”,其在输注后表现出动态演变效应。在遇到抗原时,肿瘤特异性T细胞活化和/或释放多种可以触发肿瘤杀伤、T细胞增殖和其它免疫细胞的募集或免疫调节的蛋白质。因此,测量哪些蛋白质从哪些细胞分泌、以什么数量和在什么时间点,产生了针对特定患者为什么反应或不反应的深刻见解,并且为设计更有效的试验提供关键反馈。这些试验系统将允许直接和有意义的临床方法比较,从而有助于设计合理的下一代治疗策略。

[0769] 对于治疗,施用的量是有效产生所需效果的量。可以在一次或系列施用中提供有效量。可以在推注或通过连续灌注提供有效量。

[0770] “有效量”(或“治疗有效量”)是足以在治疗后实现有益或期望的临床结果的量。可以以一个或多个剂量将有效量施用于受试者。在治疗方面,有效量是足以减轻、改善、稳定、逆转或减缓疾病的进展或以其它方式减少疾病的病理学后果的量。有效量通常由医生根据

具体情况确定,并且在本领域技术人员的技能范围内。当确定合适剂量以达到有效量时,通常考虑几个因素。这些因素包括受试者的年龄、性别和体重、所治疗的病症、病症的严重程度以及施用的免疫应答细胞的剂型和有效浓度。

[0771] 对于使用抗原特异性T细胞的过继免疫治疗,通常输注约10^6至约10^{10}(例如约10^9)范围内的细胞剂量。当将免疫应答细胞施用于受试者并随后分化时,免疫应答细胞诱导为特异性针对一种特定抗原(例如,G-蛋白偶联受体(例如,GPRC5D))。T细胞的"诱导"可以包括比如通过缺失或无反应性实现的抗原特异性T细胞的失活。失活对于建立或重建比如在自身免疫性疾病中的耐受性特别有用。本发明公开主题的免疫应答细胞可以通过本领域已知的任何方法施用,包括但不限于胸膜施用、静脉内施用、皮下施用、结内施用、肿瘤内施用、鞘内施用、胸膜内施用、腹膜内施用和直接施用于胸腺。在某些实施方案中,免疫应答细胞和包含它的组合物经静脉内施用于需要的受试者。

[0772] 本发明公开的主题提供使用表达G-蛋白偶联受体(例如,GPRC5D)特异性的CAR的免疫应答细胞(例如,T细胞)的各种方法。例如,本发明公开的主题提供减少受试者的肿瘤负荷的方法。在一个非限制性实例中,减少肿瘤负荷的方法包括将有效量的本发明公开的免疫应答细胞施用于受试者,从而在受试者中诱导肿瘤细胞死亡。本发明公开的免疫应答细胞可以减少受试者中肿瘤细胞的数量、减小肿瘤尺寸和/或根除肿瘤。合适的肿瘤的非限制性实例包括多发性骨髓瘤、瓦氏巨球蛋白血症。在某些实施方式中,肿瘤是多发性骨髓瘤。

[0773] 本发明公开的主题还提供增加或延长患有瘤形成的受试者的存活的方法。在一个非限制性实例中,增加或延长患有瘤形成的受试者的存活的方法包括将有效量的本发明公开的免疫应答细胞施用于受试者,从而增加或延长受试者的存活。该方法可以减少或根除受试者中的肿瘤负荷。本发明公开的主题还提供用于治疗或预防受试者中的瘤形成的方法,包括将本发明公开的免疫应答细胞施用于受试者。

[0774] 本文使用的术语"瘤形成"是指以细胞或组织的病理增殖及其随后向其它组织或器官的迁移或侵袭为特征的疾病。瘤形成生长通常是不受控制的和进行性的,并且在不会引起或将导致正常细胞增殖停止的条件下发生。瘤形成可以影响多种细胞类型、组织或器官,包括但不限于选自膀胱、结肠、骨、脑、乳腺、软骨、神经胶质、食管、输卵管、胆囊、心脏、肠、肾脏、肝脏、肺、淋巴结、神经组织、卵巢、胸膜、胰腺、前列腺、骨骼肌、皮肤、脊髓、脾、胃、睾丸、胸腺、甲状腺、气管、泌尿生殖道、输尿管、尿道、子宫、和阴道的器官,或其组织或细胞类型。瘤形成包括癌症,例如肉瘤(sarcomas)、癌(carcinoma)或浆细胞瘤(浆细胞的恶性肿瘤)。

[0775] 可使用本发明公开主题的免疫应答细胞抑制其生长的癌症包括通常对免疫疗法应答的癌症。用于治疗的癌症的非限制性实例包括多发性骨髓瘤和瓦氏巨球蛋白血症。在某些实施方式中,癌症是多发性骨髓瘤。

[0776] 另外,本发明公开的主题提供响应受试者中的癌细胞而增加免疫激活细胞因子产生的方法。在一个非限制性实例中,该方法包括将本发明公开的免疫应答细胞施用于受试者。免疫激活细胞因子可以是粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、IFN-α、IFN-β、IFN-γ、TNF-α、IL-2、IL-3、IL-6、IL-11、IL-7、IL-12、IL-15、IL-21、干扰素调节因子7(IRF7),及其组合。在某些实施方案中,本发明公开主题的包含G-蛋白偶联受体(例如,GPRC5D)特异性

CAR的免疫应答细胞增加GM-CSF、IFN-γ和/或TNF-α的产生。

[0777] 进行治疗的合适的人受试者通常包括可以通过临床标准区分的两个治疗组。具有“晚期疾病”或“高肿瘤负荷”的受试者是具有临床可测量的肿瘤(例如,多发性骨髓瘤)的受试者。临床可测量的肿瘤是可以基于肿瘤块检测的(例如通过触诊、CAT扫描、声波图、乳房X线照片或X射线;阳性生物化学或组织病理学标记本身不足以鉴定该群体)的肿瘤。将本发明公开主题所包含的药物组合物施用于这些受试者以引起抗肿瘤反应,目的是减轻他们的病症。理想地,结果是发生肿瘤块的减少,但是任何临床改善均构成益处。临床改善包括肿瘤(例如,多发性骨髓瘤)的风险降低或进展速率降低或病理学后果的减少。

[0778] 第二组合适的受试者在本领域中称为“辅助组”。他们是具有瘤形成(例如,多发性骨髓瘤)史但已对另一种治疗方式应答的个体。先前的治疗可以包括但不限于手术切除、放射治疗和传统化疗。结果,这些个体没有临床可测量的肿瘤。然而,他们被怀疑在原始肿瘤位点附近或通过转移而处于疾病进展的风险中。该组可以进一步细分为高风险和低风险个体。根据在初始治疗之前或之后观察到的特征进行细分。这些特征在临床领域中是已知的,并且针对每种不同的瘤形成被适当地定义。通常的高风险亚组的特征是其中肿瘤(例如,多发性骨髓瘤)侵入邻近组织或示出淋巴结参与的那些。另一组具有瘤形成(例如,多发性骨髓瘤)的遗传易感性,但尚未证实瘤形成(例如,多发性骨髓瘤)的临床表现。例如,对于在与乳腺癌相关的遗传突变的测试为阳性但仍然处于育龄期的妇女,希望预防性地接受本文所述的一种或多种抗原结合片段以预防性地防止瘤形成的发生,直到适合于进行预防性手术。

[0779] 受试者可以具有晚期形式的疾病(例如,多发性骨髓瘤),在这种情况下,治疗目标可以包括缓解或逆转疾病进展和/或减轻副作用。受试者可以具有病史,针对疾病他们已经经过治疗,在这种情况下,治疗目标通常包括复发风险的降低或延迟。

[0780] 可以对表达G-蛋白偶联受体(例如,GPRC5D)特异性CAR的免疫应答细胞(例如,T细胞)引入进一步修饰以避免或最小化免疫并发症(称为“恶性T细胞转化”)的风险,例如移植物抗宿主病(GvHD),或当健康组织表达与肿瘤细胞相同的靶抗原时,导致与GvHD相似的结果。这个问题的潜在解决方案是将自杀基因工程化到表达CAR的T细胞中。合适的自杀基因包括但不限于单纯疱疹病毒胸苷激酶(hsv-tk)、诱导型半胱天冬酶9自杀基因(iCasp-9)和截短的人表皮生长因子受体(EGFRt)多肽。在某些实施方案中,自杀基因是EGFRt多肽。EGFRt多肽可以通过施用抗EGFR单克隆抗体(例如西妥昔单抗(cetuximab))来使T细胞能够清除。EGFRt可以共价连接到G-蛋白偶联受体(例如,GPRC5D)特异性CAR的细胞内结构域的3’末端。自杀基因可以包括在包含编码本发明公开的G-蛋白偶联受体(例如,GPRC5D)特异性CAR的核酸的载体中。以这种方式,施用一种设计为在恶性T细胞转化期间(例如GVHD)活化自杀基因的前药(例如,可以活化iCasp-9的前药如AP1903)引发自杀基因活化的表达CAR的T细胞的凋亡。

[0781] IX.试剂盒

[0782] 本发明公开的主题提供用于治疗或预防瘤形成(例如,多发性骨髓瘤)的试剂盒。在某些实施方案中,试剂盒包含治疗或预防组合物,其包含有效量的包含单位剂量形式的G-蛋白偶联受体(例如,GPRC5D)特异性CAR的免疫应答细胞。在具体实施方案中,细胞还表达至少一种共刺激配体。在某些实施方案中,试剂盒包含含有治疗性或预防性疫苗的无菌

容器;此类容器可以是盒、安瓿、瓶、小瓶、管、袋、小袋、泡罩包装或本领域已知的其它合适的容器形式。此类容器可以由塑料、玻璃、层压纸、金属箔或适合于保存药物的其它材料制成。

[0783] 如果需要,免疫应答细胞与将细胞施用于具有瘤形成(例如,多发性骨髓瘤)或处于发生风险的受试者的说明书一起提供。说明书通常包括关于组合物用于治疗或预防瘤形成(例如,多发性骨髓瘤)的用途的信息。在其它实施方案中,说明书包括以下中的至少一个:治疗剂的说明;用于治疗或预防瘤形成(例如,多发性骨髓瘤)或其症状的剂量方案和施用方法;注意事项;禁忌;适应症;非适应症;过量信息;不良反应;动物药理学;临床研究;和/或参考文献。说明书可以直接印在容器上(当存在时)、或作为标签贴到容器上、或作为单独的页、小册子、卡片或折叠式印刷品,在容器中或与容器一起提供。

[0784] 实施例

[0785] 除非另有说明,本发明的实践采用分子生物学(包括重组技术)、微生物学、细胞生物学、生物化学和免疫学的常规技术,其完全在本领域技术人员的能力范围内。此类技术在文献中有充分解释,比如"Molecular Cloning:A Laboratory Manual",第二版(Sambrook,1989);"Oligonucleotide Synthesis"(Gait,1984);"Animal Cell Culture"(Freshney,1987);"Methods in Enzymology""Handbook of Experimental Immunology"(Weir,1996);"Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells"(Miller和Calos,1987);"Current Protocols in Molecular Biology"(Ausubel,1987);"PCR:The Polymerase Chain Reaction",(Mullis,1994);"Current Protocols in Immunology"(Coligan,1991)。这些技术适用于生产本发明的多核苷酸和多肽,并且因此可以在制备和实施本发明时考虑。在下面的部分中将讨论用于具体实施方式的特别有用的技术。

[0786] 提出以下实施例以便为本领域普通技术人员提供如何进行和利用本发明的试验、筛选和治疗方法的完全公开和描述,并且不意在限制发明人认定作为他们的发明的范围。

[0787] 实施例1.GPRC5D在不同组织中的表达

[0788] 通过研究比如癌细胞系百科全书和BioGPS的数据库中的基因表达谱,评价人GPRC5D在各种恶性和正常组织中的表达。如图2所示,人GPRC5D在多发性骨髓瘤中高度表达,但在其他恶性组织中并非如此。正常表达似乎限于浆细胞。根据发明人使用靶向CD19的CAR T细胞的患者经验,潜在的靶向GPRC5D的CAR T细胞根除这种正常细胞类型可能没有显著的不良反应。任何缺乏的生理性抗体产生可以用静脉注射免疫球蛋白治疗进行解决。

[0789] 实施例2.GPRC5D-特异性的28z CAR的构建

[0790] 产生多种独特的针对GPRC5D的全人scFv,并且产生基于这些scFv的CAR。通过用表达GPRC5D的3T3细胞筛选全人scFv噬菌体文库(>6×10^{10}scFv)来鉴定多种scFv。用12个不同的噬菌体文库针对过表达GPRC5D的3T3细胞进行4轮独立的淘洗,鉴定了80个阳性克隆。通过FACS筛选,在80个克隆中鉴定出72个阳性克隆;阳性克隆率为90%。测序后,在72个测序的阳性克隆中发现32个独特的GPRC5D-3T3阳性结合克隆;独特的克隆率为45%。

[0791] 使用ET150-151 scFv(或"ET150-1 scFv")、ET150-152 scFv(或"ET150-2 scFv")、ET150-155 scFv(或"ET150-5 scFv")、ET150-158(或"ET150-8 scFv")scFv、和ET150-168 scFv(或"ET150-18 scFv")分别产生靶向GPRC5D的28z CAR 2、5、8和18。这些GPRC5D-靶向的28z CAR具有相似的结构,例如,每个具有包含CD28多肽的跨膜结构域、和包

含CD3ξ多肽的细胞内结构域以及包含CD28多肽的共刺激信号传导区,如图1所示。将这些GPRC5D-靶向的CAR中的每个克隆入逆转录病毒载体。然后将这些病毒载体转导入HEK 293galv9病毒包装细胞中,以便产生用于产生CAR^+T细胞的稳定包装系。

[0792] 将人T细胞(来自健康供体的未经选择的(CD4和CD8)人T细胞)用这些靶向GPRC5D的28z CAR中的每个进行转导,使得T细胞表达这些靶向GPRC5D的CAR。

[0793] 通过结合人GPRC5D来评估靶向GPRC5D的28z CAR18在人T细胞上的细胞表面表达,并且通过流式细胞术验证细胞表面检测,如图3所示。

[0794] 实施例3.GPRC5D特异性的28z CAR的活性

[0795] 评价本发明公开的GPRC5D特异性的28z CAR的抗肿瘤活性。体外数据显示,GPRC5D特异性的CAR特异性地杀伤GPRC5D递呈细胞,包括MM细胞系。例如,如图4所示,表达GPRC5D特异性的28zCAR18的T细胞杀伤过表达GPRC5D的3T3细胞(但不杀伤过表达其他抗原的对照3T3)。如图5所示,表达GPRC5D特异性的28z CAR 2、5、8和18的T细胞杀伤人MM细胞系。

[0796] 实施例4.抗-GPRC5D抗体的筛选数据

[0797] FACS筛选:图24示出GPRC5D特异性的噬菌体抗体克隆(ET150-1、ET150-2、ET150-5、ET150-8、ET150-18)的FACS分析。将噬菌体克隆与3T3-GPRC5D细胞系孵育,然后用抗-M13小鼠抗体孵育。最后,再次洗涤后,将APC标记的抗-小鼠IgG第二抗体加入反应中。通过FACS测定结合,并表示为平均荧光强度(MFI)。细胞与M13KO7辅助噬菌体进行孵育,并且仅有细胞用作阴性对照。

[0798] 实施例5.GPRC5D特异性的BBz CAR的构建

[0799] 如实施例2所述,产生多种独特的针对GPRC5D的全人scFv,并且产生基于这些scFv的CAR。使用ET150-151 scFv(或“ET150-1 scFv”)、ET150-152 scFv(或“ET150-2 scFv”)、ET150-155 scFv(或“ET150-5 scFv”)、ET150-158 scFv(或“ET150-8 scFv”)、和ET150-168scFv(或“ET150-18 scFv”)分别产生靶向GPRC5D的BBz CAR 1、2、5、8和18。这些靶向GPRC5D的BBz CAR具有相似的结构,例如,每个具有包含CD8a多肽的跨膜结构域、和包含CD3ξ多肽的细胞内结构域、以及包含4-1BB多肽的共刺激信号传导区,如图6所示。将这些靶向GPRC5D的BBz CAR中的每个克隆入SFG逆转录病毒载体,如图7-9、图26和图27所示。

[0800] 实施例6.靶向GPRC5D的CAR T细胞的活性

[0801] 如图10所示,与不相关地靶向的4h11-28z MUC16靶向的CAR T细胞相比,GPRC5D 28z CAR8裂解人MM细胞系L363、NCL-H929和U266。观察GPRC5D 28z CAR8表现出的细胞毒性对GPRC5D是特异性的,因为它没有裂解GPRC5D阴性的CD19阳性Raji Burkett淋巴瘤细胞系,如图10所示。

[0802] 实施例7.诱导靶向GPRC5D的CAR T细胞的细胞因子分泌

[0803] GPRC5D 28z CAR8 T细胞特异性地与MM细胞系的共培养诱导的细胞因子分泌谱与T细胞活化一致。图11示出CAR T细胞与人肿瘤细胞系(E:T比为1:1)共培养24小时后的IL-2分泌。只有与CD19靶向的CAR T细胞(阳性对照)共培养的淋巴浆细胞淋巴瘤($CD19^+GPRC5D^-$)和与GPRC5D靶向的28z CAR8 T细胞共培养的MM细胞系显示增加的细胞因子产生。IFNg、IL-6、TNFa、sCD40L、GM-CSF都具有相似的分泌谱(数据未显示)。

[0804] 实施例8.靶向GPRC5D的CAR T细胞的抗肿瘤活性

[0805] 靶向GPRC5D的28z CAR18 T细胞介导抗骨髓瘤免疫应答。在第0天将1×10^7的U266

人骨髓瘤细胞系的细胞经IV注射入NSG小鼠。在第4天,将1×10^{6}的靶向GPRC5D的或靶向CD19的第二代CAR T细胞经IV注射。在第11天(在CAR T细胞注射后第7天)的成像显示,不同于不相关的(CD19)靶向的CAR T细胞,GPRC5D A靶向的28z CAR18 T细胞可以介导抗肿瘤应答。参见图12。

[0806] 实施例9.靶向GPRC5D的CAR T细胞的活性

[0807] 测试靶向GPRC5D的CAR T细胞特异性地裂解人骨髓瘤细胞系(HMCL)的能力。将靶向CD19的CAR T细胞或靶向GPRC5D的28zCAR8 T细胞与表达GFP的肿瘤细胞系SET2(急性骨髓性白血病(AML),CD19-GPRC5D-)、BCWM1(淋巴浆细胞淋巴瘤(LPL),CD19-GPRC5D-)、L363(多发性骨髓瘤(MM),CD19-GPRC5D+)进行孵育。在时间0,GFP$^+$肿瘤系的百分比在图13A中示出。在36小时时,阳性对照靶向CD19的CAR T细胞已经特异性地杀伤GFP$^+$LPL系,并且相似地,靶向GPRC5D的28z CAR8 T细胞已经特异性地杀伤GFP$^+$MM系。参见图13B。

[0808] 实施例10.抗-GPRC5D抗体的表位图谱

[0809] 四种抗-GPRC5D抗体:ET150-2、ET150-5、ET150-8和ET150-18mIgG1。在所有实施例中使用的“mIgG1”表示可变区是全人的并且Fc部分是小鼠IgG1。参见表37。

[0810] 表37

[0811]

名称	来源	浓度	位置	状态
ET150-18mIgG1	小鼠Fc	1.1mg/ml	+4℃/22	良好
ET150-2mIgG1	小鼠Fc	0.66mg/ml	+4℃/22	良好
ET150-5mIgG1	小鼠Fc	1.9mg/ml	+4℃/22	良好
ET150-8mIgG1	小鼠Fc	2.9mg/ml	+4℃/22	良好

[0812] 靶蛋白是具有SEQ ID NO:97所示的氨基酸序列的人GPRC5D。人GPRC5D的N端区域具有SEQ ID NO:97的氨基酸1-27。人GPRC5D的胞外环1(ECL1)区域具有SEQ ID NO:97的氨基酸85-93。人GPRC5D的胞外环2(ECL2)区域具有SEQ ID NO:97的氨基酸145-167。人GPRC5D的胞外环3(ECL3)区域具有SEQ ID NO:97的氨基酸226-239。

[0813] 方法

[0814] CLIPS技术的原理——CLIPS技术在结构上将肽装配为确定的三维结构。这导致甚至最复杂的结合位点的功能模拟。CLIPS技术现在常用于将肽文库形成单、双或三环结构以及片状和螺旋状折叠(图14)。

[0815] 组合CLIPS文库筛选细节——CLIPS文库筛选开始于使用组合矩阵设计将靶蛋白转化为多达10,000个重叠肽构建体的文库。在固体载体上,合成线性肽的矩阵,随后将其形成空间确定的CLIPS构建体(图15)。表现出正确的构象中非连续表位的两部分的构建体以高亲和力结合抗体,对亲和力进行检测并定量。呈现不完整表位的构建体以较低的亲和力结合抗体,而不含表位的构建体根本不结合抗体。亲和力信息用于反复筛选以详细地限定表位的序列和构象。

[0816] 热图分析——热图是数据的图形表示,其中二维图中的变量取值表示为颜色。对于双环CLIPS肽,可以从第一和第二环的独立序列导出这样的二维图。例如,图17中描绘的16个CLIPS肽的序列实际是环1中的4个独特子序列(图16中以蓝色着色)和环2中的4个独特子序列(图16中以绿色着色)的排列。因此,所观察到的ELISA数据(图17A中以红色着色)可以以4×4矩阵进行绘制,其中每个X坐标对应于第一个环的序列,并且每个Y坐标对应于第

二个环的序列。例如,对于CLIPS肽CLSSERERVEDLFEYECELLTSEPIFHCRQEDC(在图17A中以箭头指示)观察到的ELISA值可以在图17B的第三行第三列(用箭头和红色方形表示)找到。为了进一步促进可视化,ELISA值可以用连续梯度的颜色代替。在这种情况下,极低的值以绿色着色,极高的值以红色着色,且平均值以黑色着色(参见图17C)。对于上述实例,平均值为0.71。当将该颜色图应用于图17B中绘制的数据矩阵时,获得彩色热图(参见图17D,为了额外的清晰度仍然指示原始数据)。

[0817] 肽的合成——为了重建靶分子的表位,合成肽文库。通过用专有亲水性聚合物制剂接枝,然后使用二环已基碳二亚胺(DCC)与N羟基苯并三唑(HOBt),与叔丁氧羰基-六亚甲基二胺(BocHMDA)进行反应,并随后使用三氟乙酸(TFA)裂解Boc-基团,获得氨基官能化的聚丙烯载体。使用标准的Fmoc-肽合成通过定制改良的JANUS液体处理站(Perkin Elmer)在氨基官能化的固体载体上合成肽。结构模拟物的合成使用Pepscan专有的支架上化学连接肽(Chemically Linked Peptides on Scaffolds)(CLIPS)技术进行。CLIPS技术允许将肽结构转化为单环、双环、三环、片状折叠、螺旋状折叠、及其组合。CLIPS模板偶联至半胱氨酸残基。肽中的多个半胱氨酸的侧链偶联至一个或两个CLIPS模板。例如,将P2 CLIPS(2,6-双(溴甲基)吡啶)的0.5mM溶液溶解在碳酸氢铵(20mM,pH 7.8)/乙腈(1:3(v/v))中。将该溶液加入到肽阵列。CLIPS模板结合至肽阵列(455孔板,3μl孔)的固相结合肽中存在的两个半胱氨酸的侧链。将肽阵列在被覆盖于溶液中的同时在溶液中轻柔晃动30-60分钟。最后,将肽阵列用过量的H_2O充分洗涤,并于70℃在含有1% SDS/0.1%β-巯基乙醇的PBS(pH 7.2)的断裂缓冲液(disrupt-buffer)中超声处理30分钟,然后在H_2O中再超声处理45分钟。携带肽的T3 CLIPS以类似的方式制备,但现在具有三个半胱氨酸。

[0818] ELISA筛选——在基于PEPSCAN的ELISA中测试抗体与每种合成肽的结合。将肽阵列与第一抗体溶液孵育(4℃过夜)。洗涤后,在25℃将肽阵列与合适的抗体过氧化物酶缀合物(SBA)的1/1000稀释液孵育1小时。洗涤后,加入过氧化物酶底物2,2'-连氮-二-3-乙基苯并噻唑啉磺酸盐(ABTS)和2μl/ml的3%的H_2O_2。一小时后,测定显色。用电荷耦合器(CCD)相机和图像处理系统对显色进行定量。

[0819] 数据处理——从CCD相机获得的数值范围为0至3000mAU,类似于标准的96孔板ELISA读数器。对结果进行定量并存储到Peplab数据库中。偶然地含有气泡的孔导致假阳性值,手动检查卡片,并将由气泡引起的任何数值均记为0。

[0820] 合成质量控制——为了验证合成肽的质量,并行合成一组单独的阳性和阴性对照肽。这些用抗体57.9进行筛选(参考Posthumus等人,J.Virology,1990,64:3304-3309)。

[0821] 结果

[0822] 筛选

[0823] 抗体结合取决于多因素的组合,包括抗体的浓度以及ELISA缓冲液中竞争蛋白的量和性质。此外,预包被条件(在与实验样品孵育之前对肽阵列的特别处理)影响结合。这些细节总结在表38中。对于Pepscan缓冲液和预处理(SQ),数字表示竞争蛋白(马血清和卵清蛋白的组合)的相对量。

[0824] 表38——筛选条件

[0825]

标签	稀释	样品缓冲液	预处理
ET150-18mIgG1	1μg/ml	1%SQ	1%SQ

ET150-2mIgG1	1μg/ml	10%SQ	10%SQ
ET150-5mIgG1	1μg/ml	10%SQ	10%SQ
ET150-8mIgG1	3μg/ml	10%SQ	10%SQ

[0826] 抗体ET150-2

[0827] 当在中等严格条件下测试时抗体ET150-2紧密结合来自所有组的肽(图18)。累积数据分析显示,抗体识别由肽段$_{16}$CDAEGPWGII$_{25}$(N端)、$_{157}$MFVNMTPC$_{164}$(ECL2)和$_{229}$PQFQRQPQW$_{237}$(ECL3)组成的非连续表位,其中单独的肽段$_{16}$CDAEGPWGII$_{25}$和$_{229}$PQFQRQPQW$_{237}$足够用于结合。

[0828] 抗体ET150-5

[0829] 当在高度严格条件下测试时抗体ET150-5紧密结合来自所有组的肽(图19)。累积数据分析显示,抗体识别由肽段$_{5}$CIESTGDYFLLCD$_{17}$(N-端)、$_{85}$NQQTAPVRYFL$_{95}$(ECL1)和$_{157}$MFVNMTPC$_{164}$(ECL2)组成的非连续表位,其中单独的肽段$_{5}$CIESTGDYFLCD$_{17}$足够用于结合。

[0830] 抗体ET150-18

[0831] 当在高度严格条件下测试时抗体ET150-18结合来自组4和组7的肽,包含结构受限肽。在包含线性肽的组中没有记录到显著的结合(图20)。累积数据分析显示,抗体识别由片段$_{10}$GDYFLLCD$_{17}$(N-端)、$_{157}$MFVNMTPCQLN$_{167}$(ECL2)和$_{227}$GNPQFQRQPQW$_{237}$(ECL3)组成的非连续表位。肽段$_{10}$GDYFLLCD$_{17}$和$_{227}$GNPQFQRQPQW$_{237}$表示表位的核心,因为两个肽段分别足够用于结合。

[0832] 抗体ET150-8

[0833] 当在高度严格条件下测试时抗体ET150-8结合来自除了组2之外的所有组的肽(图21)。累积数据分析显示,抗体识别由肽段$_{15}$LCDAEGPWG$_{23}$(N-端)和$_{230}$QFQRQPQWDDPVVC$_{243}$(ECL3)组成的非连续表位。其中肽段$_{15}$LCDAEGPWG$_{23}$是表位的显性部分,因为其单独足够用于结合。此外,从第1组(线性)和第4组(环)获得的比较结果表明,对表位模拟物引入结构性限制使肽的结合增强,在包含序列$_{230}$QFQRQPQWDDPVVC$_{243}$的肽的情况下尤其如此。

[0834] 结论

[0835] 所研究的所有抗体均识别非连续表位,使用Pepscan阵列对其作图。核心暂定表位列于表39中。所有抗体普遍识别在蛋白质的N-端和来自一个或两个ECL的区域的重叠区域。两种抗体ET150-18和ET150-8显示出对支持抗体结合的结构限制的要求,表明这两种抗体不仅识别非连续表位,还识别构象表位。抗体ET150-2和ET150-5在肽结合方面在线性和环状肽之间没有显示出显著的差异。

[0836] 表39-表位的列表

[0837]

抗体	N-端	ECL1	ECL2	ECL3
ET150-2	$_{16}$CDAEGPWGII$_{25}$*)	-	$_{157}$MFVNMTPC$_{164}$	$_{229}$PQFQRQPQW$_{237}$*)
ET150-5	$_{5}$CIESTGDYFLLCD$_{17}$*)	$_{85}$NQQTAPVRYFL$_{95}$	$_{157}$MFVNMTPC$_{164}$	-
ET150-8	$_{15}$LCDAEGPWG$_{23}$*)	-	-	$_{230}$QFQRQPQWDDPVVC$_{243}$
ET150-18	$_{10}$GDYFLLCD$_{17}$*)	-	$_{157}$MFVNMTPCQLN$_{167}$	$_{227}$GNPQFQRQPQW$_{237}$*)

[0838] *)显性部分

[0839] 图22是关于GPCR整体结构的研究结果的说明。由于N-端是高度灵活的和非结构化的,它可能与ECL瞬时相互作用形成非连续免疫显性区域。

[0840] 肽结合的差异和共性可以用图23中的散点图分析进行说明。左上角和右下角的数据点表明结合的差异。尽管显著的表位重叠,单个抗体的表位的细微特异性在很大程度上不同。

[0841] 实施例11.抗-GPRC5D抗体的结合亲和力

[0842] 图25示出GPRC5D-特异性的噬菌体抗体克隆(ET150-2、ET150-5、ET150-8、ET150-18)的FACS分析。将每个抗体(ET150-2、ET150-5、ET150-8、ET150-18)以10或1ug/mL与3T3或3T3-GPRC5D细胞孵育,然后与抗-M13小鼠抗体孵育。最后将PE-标记的抗-小鼠IgG第二抗体加入到反应中。通过FACS测量该结合并且表示为平均荧光强度(MFI)。将细胞与单独的第二抗体孵育,单独的ET901 mIgG1同种型对照和细胞用作阴性对照。

[0843] 尽管出于理解清楚的目的以例证和实施例的方式相当详细地描述了前述的本发明公开的主题,但说明书和实施例不应被理解为限制本发明公开主题的范围。本文引用的所有专利和科技文献的公开内容明确地全部并入本文以供参考。

[0844] 参考文献

[0845] 1.Atamaniuk,J.,et al.OverexpreSSion of G protein-coupled receptor 5D in the bone marrow is associated with poor prognosis in patients with multiple myeloma.European journal of clinical investigation 42,953-960(2012).

[0846] 2.Frigyesi,I.,et al.Robust isolation of malignant plasma cells in multiple myeloma.Blood 123,1336-1340(2014).

[0847] 3.Cohen,Y.,Gutwein,O.,Garach-Jehoshua,O.,Bar-Haim,A.&Komberg,A.GPRC5D is a promising marker for monitoring the tumor load and to target multiple myeloma cells.Hematology(Amsterdam,Netherlands)18,348-351(2013).

[0848] 4.Bam,R.,et al.GPRC5D Is a Cell Sufface Plasma Cell Marker Whose Expression Is High In Myeloma Cells and Reduced FollowingCoculture With Osteoclasts.Blood 122,3099(2013).

[0849] 5.Brentjens,R.J.,et al.Safety and persistence of adoptively transferred autologous CD19-targeted T cells in patients with relapsed or chemotherapy refractory B-cell leukemias.Blood 118,4817-4828(2011).

[0850] 6.Brentjens,R.J.,et al.Eradication of systemic B-cell tumors bygenetically targeted human T lymphocytes co-stimulated by CD80 and interleukin-15.Nature medicine9,279-286(2003).

[0851] 7.Brentjens,R.J.,et al.CD19-Targeted T Cells Rapidly Induce Molecular Remissions in Adults with Chemotherapy-Refractory Acute Lymphoblastic Leukemia.Science translational medicine 5,177ra138(2013).

[0852] 8.Davila,M.L.,et al.Efficacy and Toxicity Management of 19-28z CAR T Cell Therapy in B Cell Acute Lymphoblastic Leukemia.Science translational medicine 6,224ra225(2014).

[0853] 9.Siegel,R.,Naishadham,D.&Jemal,A.Cancer statistics,2013.CA:a canc er journal for clinicians 63,11-30(2013).

[0854] 10.Boyd,K.D.,et al.The clinical impact and molecular biology of del

(17p)in multiple myeloma treated with conventional or thalidomide-based therapy.Genes,chromosomes&cancer 50,765-774(2011).

[0855] 11.Shaughnessy,J.D.,Jr.,et al.A validated gene expression model ot high-risk multiple myeloma is defined by deregulated expression of genes mapping to chromosome 1.Blood 109,2276-2284(2007).

[0856] 12.Gahrton,G.,et al.Allogeneic bone marrow transplantation in multiple myeloma.European Group for Bone Marrow Transplantation.The New England journtal of medicine 325,1267-1273(1991).

[0857] 13.Pegram,H.J.,et al.Tumor-targeted T cells modified to secrete IL-12 eradicate systemic tumors without need for prior conditioning.Blood119,4133-4141(2012).

[0858] 14.Sabrina Bertilaccio,M.T.,et al.Low-Dose Lenalidomide Improves CAR-Based Immunotherapy In CLL By Reverting T-Cell Defects In Vivo.Blood 122,4171 (2013).

[0859] 15.Bataille,R.,et al.The phenotype of normal,reactive and malignant plasma cells.Identification of"many and multiple myelomas"and of new targets for myeloma therapy.Haematologica 91,1234-1240f2006).

[0860] 16.Morgan,R.A.,et al.Case report of a serious adverse event following the administration of T cells transduced with a chimeric antigen receptor recognizing ERBB2.Molecular therapy:the journal of the American Society of Genie Therapy 18,843-851(2010).

[0861] 17.Brentjens,R.J.,et al.Safety and persistence of adoptively transferred autologous CD19-targeted T cells in patients with relapsed or chemotherapy refractory B-cell leukemias.Blood 118,4817-4828(2011).

[0862] 18.Brentjens,R.J.,et al.CD19-targeted T cells rapidly induce molecular remissions in adults with chemotherapy-refractory acute lymphoblastic leukemia.Science translational medicine 5,177ra138(2013).

[0863] 19.Hunder,N.N.,et al.Treatment of metastatic melanoma with autologous CD4+T cells against NY-ESO-1.N.Engl.J.Med.358,2698-2703(2008).

[0864] 20.Rosenberg,S.A.,Restifo,N.P.,Yang,J.C.,Morgan,R.A.&Dudley, M.E.Adoptive cell transfer:a clinical path to effective cancer immunotherapy.Nat.Rev.Cancer 8,299-308(2008).

[0865] 21.Dudley,M.E.,et al.Adoptive cell therapy for patients with metastatic melanoma:evaluation of intensive myeloablative chemoradiation preparative regimens.J Clin Oncol 26,5233-5239(2008).

[0866] 22.Brentjens,R.J.,et al.Genetically targeted T cells eradicate systemic acute lymphoblastic leukemia xenografts.Clin.Cancer Res.13,5426-5435 (2007).

[0867] 23.Gade,T.P.,et al.Targeted elimination of prostate cancer by

genetically directed human T lymphocytes.Cancer Res.65,9080-9088(2005).

[0868] 24.Maher,J.,Brentjens,RJ.,Gunset,G.,Riviere,I.&Sadelain,M.Human T-lymphocyte cytotoxicity and proliferation directed by a single chirneric TCRzeta /CD28 receptor.Nat.Biotechnol.20,70-75(2002).

[0869] 25.Kershaw,M.H.,et al.Gene-engineered T cells as a superior adjuvant therapy for metastatic cancer.J Immunol 173,2143-2150(2004).

[0870] 26.Sadelain,M.,Brentjens,R.&Riviere,I.The promise and potential pifalls of chimeric antigen receptors.Curr Opin Immunol(2009).

[0871] 27.Hollyman,D.,et al.Manufacturing validation of biologically functional T cells targeted to CD19antigen for autologouS adoptive cell therapy.J Immunother 32,169-180(2009).

[0872] 28.Sadelain,M.,Brentjens,R.&Riviere,I.The basic principles of chimeric antigen receptor design.Cancer discovery 3,388-398(2013).

[0873] 29.Riviere,I.,Sadelain,M.&Brentjens,R.J.Novel strategies for cancer therapy:the potential of genetically modified T lymphocytes.Curr Hematol Rep 3,290-297(2004).

[0874] 30.Stephan,M.T.,et al.T cell-encoded CD80 and 4-1BBL induce auto-and transco-stimulation,resulting in potent tumor rejection.Nat.Med.13,1440-1449(2007).

[0875] 31.Krause,A.,et al.Antigen-dependent CD28 signaling selectively enhances survival and proliferation in genetically modified activated human Primary T lymphocytes.J Exp Med 188,619-626(1998).

[0876] 32.Gong,M.C.,et al.Cancer patient T cells genetically targeted to prostate-specific membrane antigen specifically lyse Prostate cancer cells and release cytokines in response to prostate-specific membrane antigen.Neoplasia.1,123-127(1999).

[0877] 33.Lyddane,C.,et al.Cutting Edge:CD28 controls dominant regulatory T cell activity during active immunization.J.Immunol.176,3306-3310(2006).

[0878] 从前面的描述中,显然可以对本文所述的本发明进行变化和修改,以使它适用于各种用途和条件。这些实施方式也在所附权利要求的范围内。

[0879] 本说明书中提到的所有专利和出版物以及通过登录号或参考号提到的序列均并入本文以供参考,其程度如同每个独立的专利和出版物以及序列被具体地单独指明并入本文以供参考。



LTR，长末端重复启动子；SD，SA，剪接供体和受体； Ψ，包装元件；黑盒，信号肽；IRES，内部核糖体进入位点；Gluc，Gaussia荧光素酶；CD8，人CD8跨膜结构域

图1

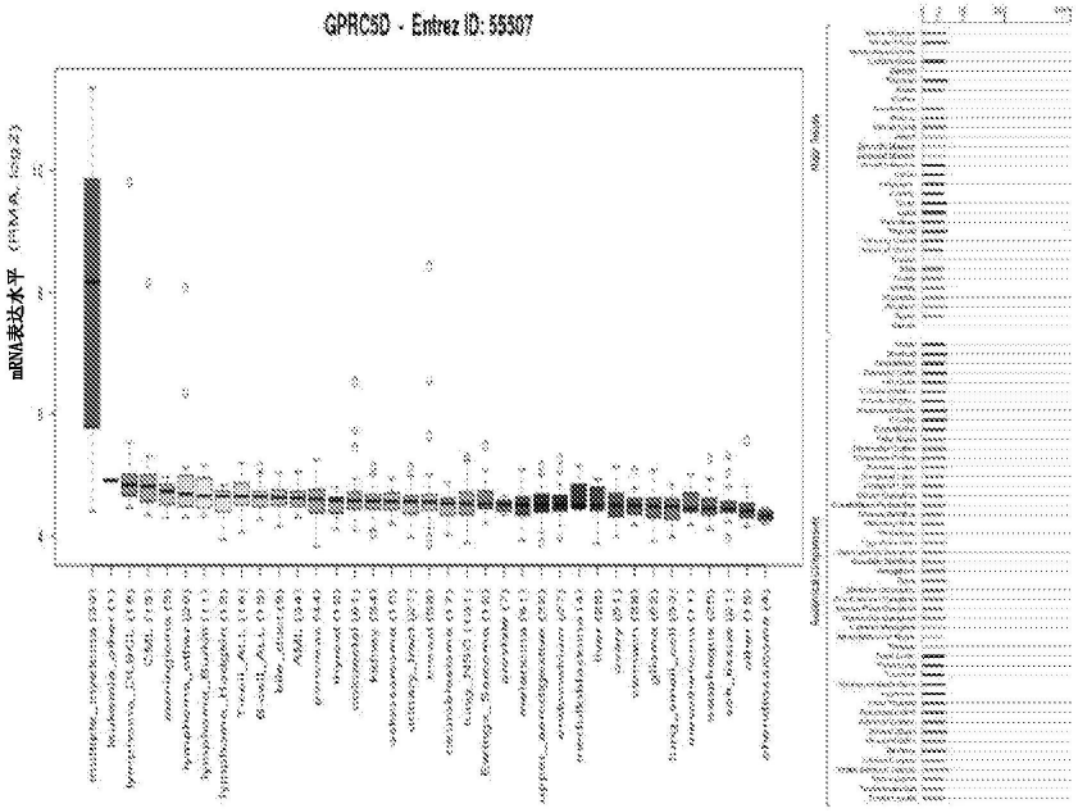


图2

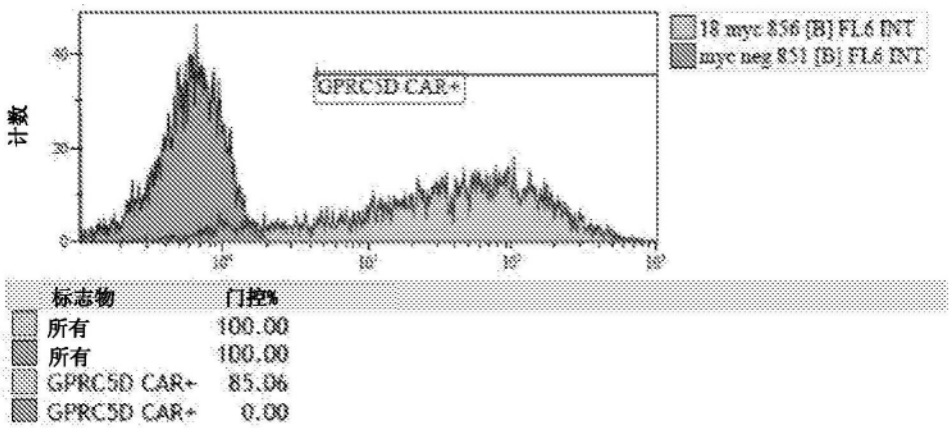

18 myc 856 [B] FL6 INT
myc neg 851 [B] FL6 INT
GPRC5D CAR+
计数
标志物 门控%
所有 100.00
所有 100.00
GPRC5D CAR+ 85.06
GPRC5D CAR+ 0.00

图3

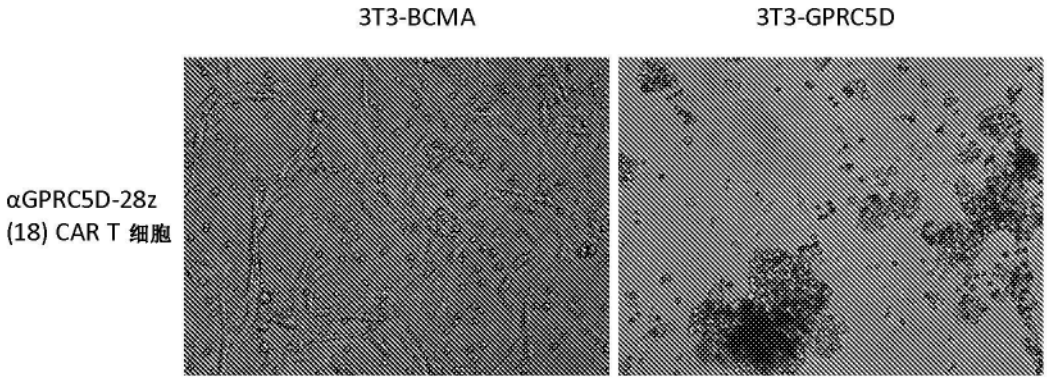

3T3-BCMA
3T3-GPRC5D
αGPRC5D-28z
(18) CAR T 细胞

图4

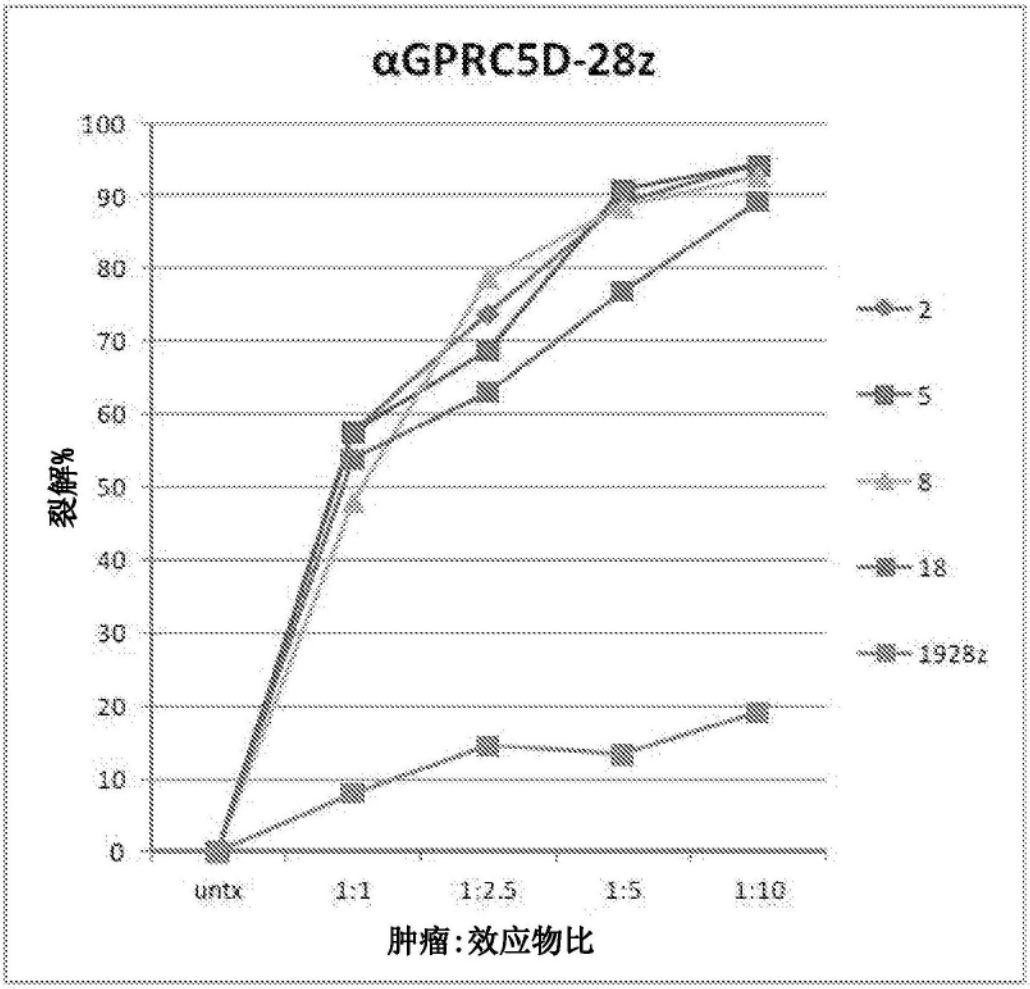

αGPRC5D-28z
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
裂解%
untx
1:1
1:2.5
1:5
1:10
肿瘤:效应物比
2
5
8
18
1928z

图5


5' LTR
SD
SA
αGPRC5D scFv
CD8α TM
4-1BB
3' LTR

图6

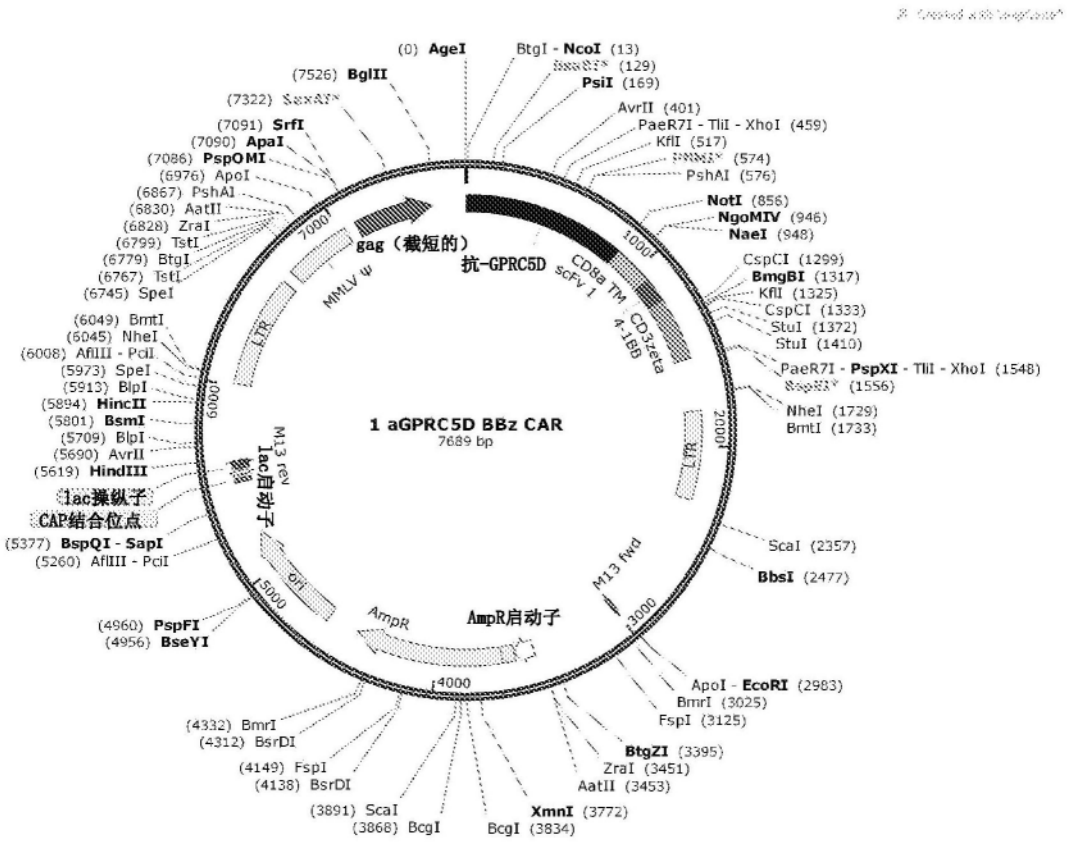

1 aGPRC5D BBz CAR
7689 bp
(0) AgeI
BtgI - NcoI (13)
(129)
PsiI (169)
AvrII (401)
PaeR7I - TliI - XhoI (459)
KflI (517)
(574)
PshAI (576)
NotI (856)
NgoMIV (946)
NaeI (948)
CspCI (1299)
BmgBI (1317)
KflI (1325)
CspCI (1333)
StuI (1372)
StuI (1410)
PaeR7I - PspXI - TliI - XhoI (1548)
(1556)
NheI (1729)
BmtI (1733)
ScaI (2357)
BbsI (2477)
ApoI - EcoRI (2983)
BmrI (3025)
FspI (3125)
BtgZI (3395)
ZraI (3451)
AatII (3453)
XmnI (3772)
BcgI (3834)
(3891) ScaI
(3868) BcgI
(4332) BmrI
(4312) BsrDI
(4149) FspI
(4138) BsrDI
(4960) PspFI
(4956) BseYI
(5377) BspQI - SapI
(5260) AflIII - PciI
lac操纵子
CAP结合位点
(5619) HindIII
(5690) AvrII
(5709) BlpI
(5801) BsmI
(5894) HincII
(5913) BlpI
(5973) SpeI
(6008) AflIII - PciI
(6045) NheI
(6049) BmtI
(6745) SpeI
(6767) TstI
(6779) BtgI
(6799) TstI
(6828) ZraI
(6830) AatII
(6867) PshAI
(6976) ApoI
(7086) PspOMI
(7090) ApaI
(7091) SrfI
(7322)
(7526) BglII
gag（截短的）
抗-GPRC5D scFv
CD8a TM
4-1BB
CD3zeta
MMLV ψ
LTR
M13 rev
lac启动子
ori
AmpR
AmpR启动子
M13 fwd
LTR
1000
2000
3000
4000
5000
6000
7000

图7

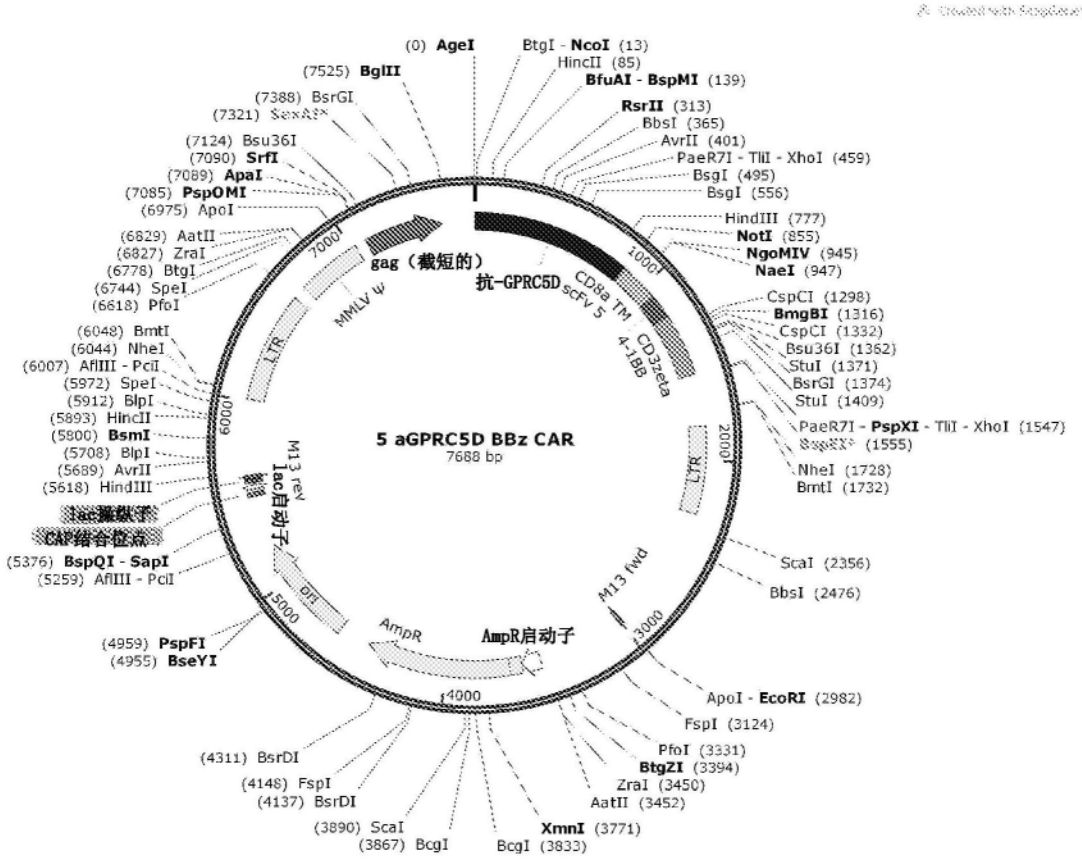

5 aGPRC5D BBz CAR
7688 bp
(0) AgeI
BtgI - NcoI (13)
HincII (85)
BfuAI - BspMI (139)
RsrII (313)
BbsI (365)
AvrII (401)
PaeR7I - TliI - XhoI (459)
BsgI (495)
BsgI (556)
HindIII (777)
NotI (855)
NgoMIV (945)
NaeI (947)
CspCI (1298)
BmgBI (1316)
CspCI (1332)
Bsu36I (1352)
StuI (1371)
BsrGI (1374)
StuI (1409)
PaeR7I - PspXI - TliI - XhoI (1547)
(1555)
NheI (1728)
BmtI (1732)
ScaI (2356)
BbsI (2476)
ApoI - EcoRI (2982)
FspI (3124)
PfoI (3331)
BtgZI (3394)
ZraI (3450)
AatII (3452)
XmnI (3771)
BcgI (3833)
(3890) ScaI
(3867) BcgI
(4311) BsrDI
(4148) FspI
(4137) BsrDI
(4959) PspFI
(4955) BseYI
(5376) BspQI - SapI
(5259) AflIII - PciI
lac操纵子
CAP结合位点
(5618) HindIII
(5689) AvrII
(5708) BlpI
(5800) BsmI
(5893) HincII
(5912) BlpI
(5972) SpeI
(6007) AflIII - PciI
(6044) NheI
(6048) BmtI
(6618) PfoI
(6744) SpeI
(6778) BtgI
(6827) ZraI
(6829) AatII
(7085) PspOMI
(7089) ApaI
(7090) SrfI
(7124) Bsu36I
(7321) SexAI
(7388) BsrGI
(7525) BglII
gag（截短的）
抗-GPRC5D scFv 5
CD8a TM
4-1BB
CD3zeta
MMLV ψ
LTR
M13 rev
lac启动子
ORI
AmpR
AmpR启动子
M13 fwd
LTR
1000
2000
3000
4000
5000
6000
7000

图8

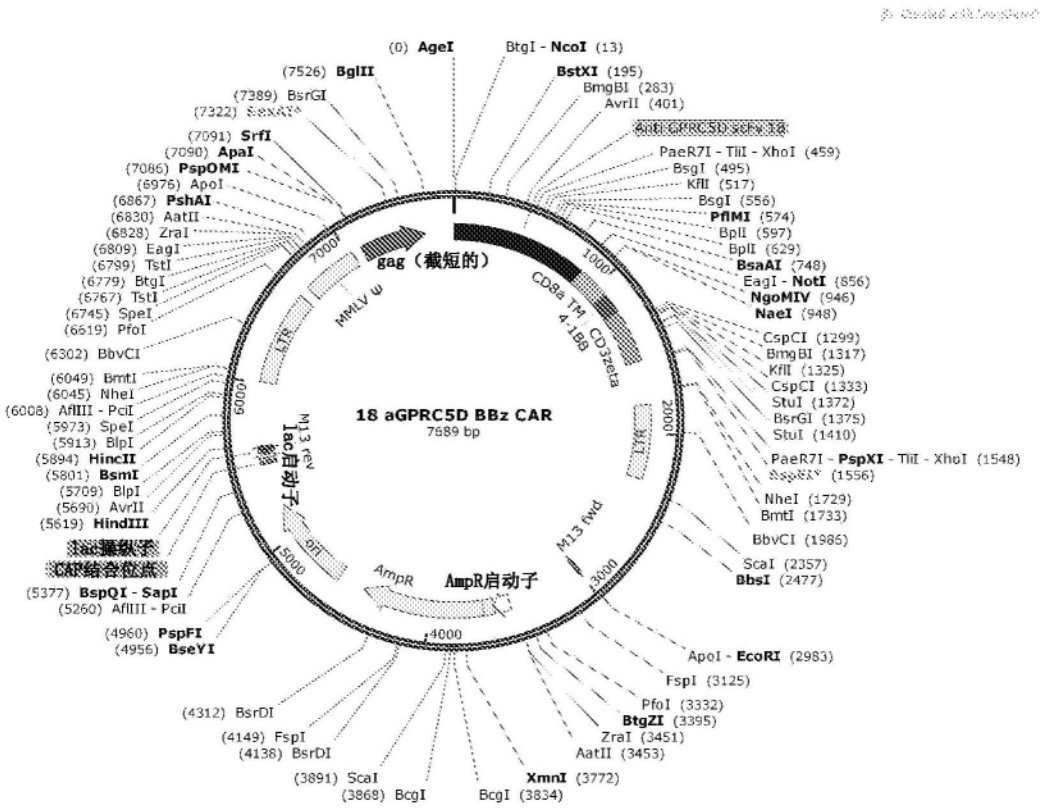

18 aGPRC5D BBz CAR
7689 bp
gag（截短的）
MMLV ψ
LTR
CD8a TM
4-1BB
CD3zeta
SV40
M13 fwd
AmpR
AmpR启动子
ori
M13 rev
lac启动子
lac操纵子
CAR结合位点
(0) AgeI
BtgI - NcoI (13)
BstXI (195)
BmgBI (283)
AvrII (401)
Anti-GPRC5D scFv 18
PaeR7I - TliI - XhoI (459)
BsgI (495)
KflI (517)
BsgI (556)
PflMI (574)
BplI (597)
BplI (629)
BsaAI (748)
EagI - NotI (856)
NgoMIV (946)
NaeI (948)
CspCI (1299)
BmgBI (1317)
KflI (1325)
CspCI (1333)
StuI (1372)
BsrGI (1375)
StuI (1410)
PaeR7I - PspXI - TliI - XhoI (1548)
NheI (1729)
BmtI (1733)
BbvCI (1986)
ScaI (2357)
BbsI (2477)
ApoI - EcoRI (2983)
FspI (3125)
PfoI (3332)
BtgZI (3395)
ZraI (3451)
AatII (3453)
XmnI (3772)
BcgI (3834)
(3868) BcgI
(3891) ScaI
(4138) BsrDI
(4149) FspI
(4312) BsrDI
(4956) BseYI
(4960) PspFI
(5260) AflIII - PciI
(5377) BspQI - SapI
(5619) HindIII
(5690) AvrII
(5709) BlpI
(5801) BsmI
(5894) HincII
(5913) BlpI
(5973) SpeI
(6008) AflIII - PciI
(6045) NheI
(6049) BmtI
(6302) BbvCI
(6619) PfoI
(6745) SpeI
(6767) TstI
(6779) BtgI
(6799) TstI
(6809) EagI
(6828) ZraI
(6830) AatII
(6867) PshAI
(6976) ApoI
(7086) PspOMI
(7090) ApaI
(7091) SrfI
(7322) SexAI
(7389) BsrGI
(7526) BglII

图9

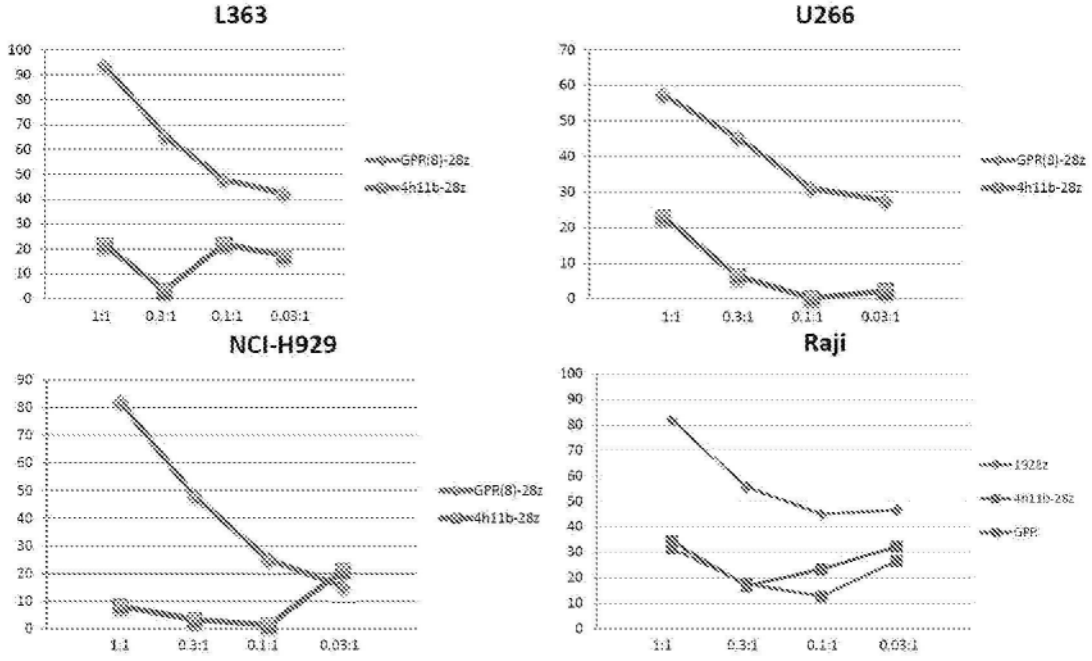

L363
U266
NCI-H929
Raji
GPR(8)-28z
4h11b-28z
1928z
1:1
0.3:1
0.1:1
0.03:1

图10

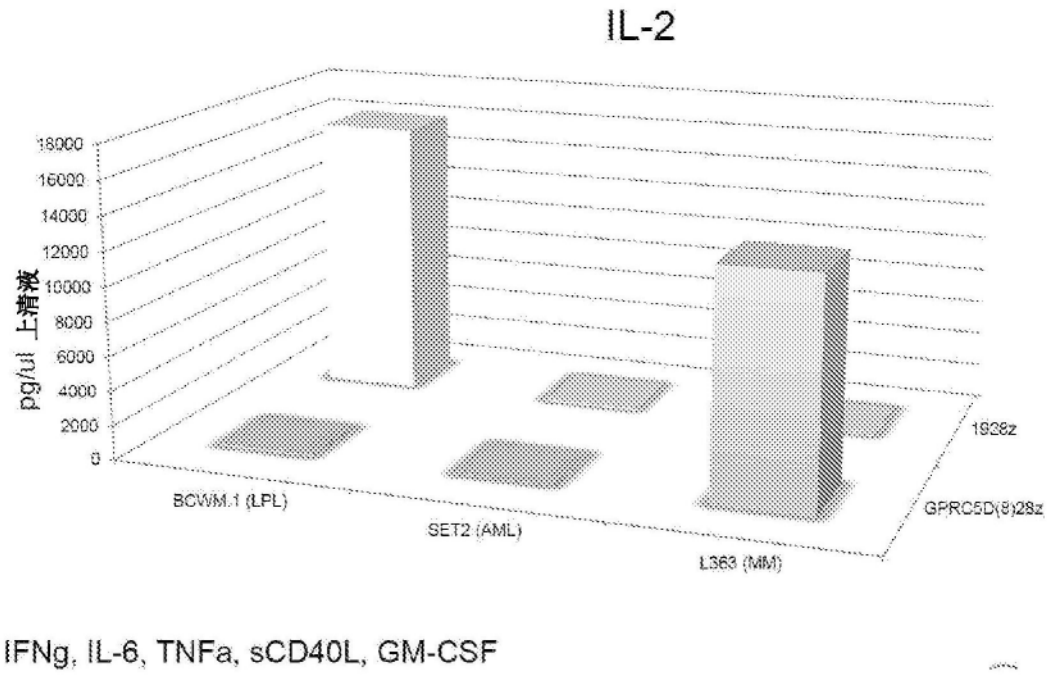

IL-2
pg/ul 上清液
18000
16000
14000
12000
10000
8000
6000
4000
2000
0
BCWM.1 (LPL)
SET2 (AML)
L363 (MM)
1928z
GPRC5D(8)28z
IFNg, IL-6, TNFa, sCD40L, GM-CSF

图11

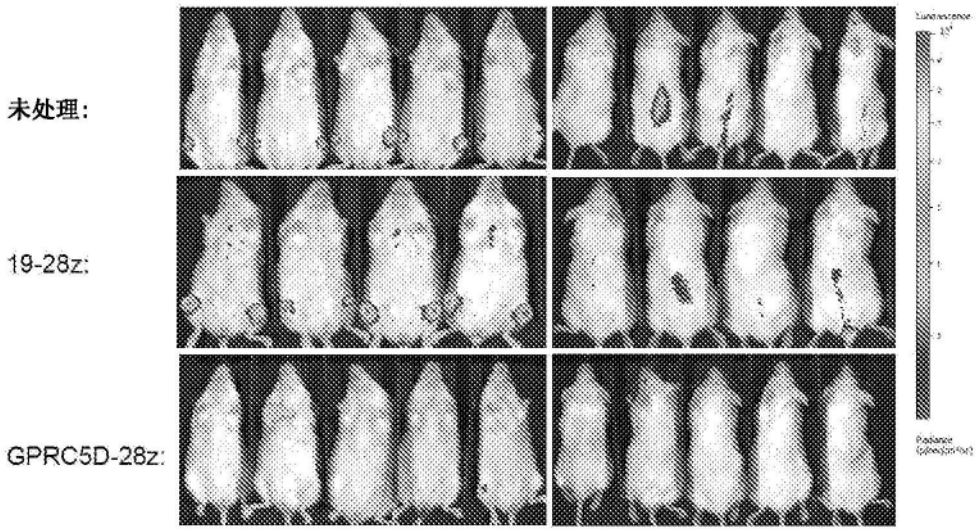

未处理:
19-28z:
GPRC5D-28z:

图12

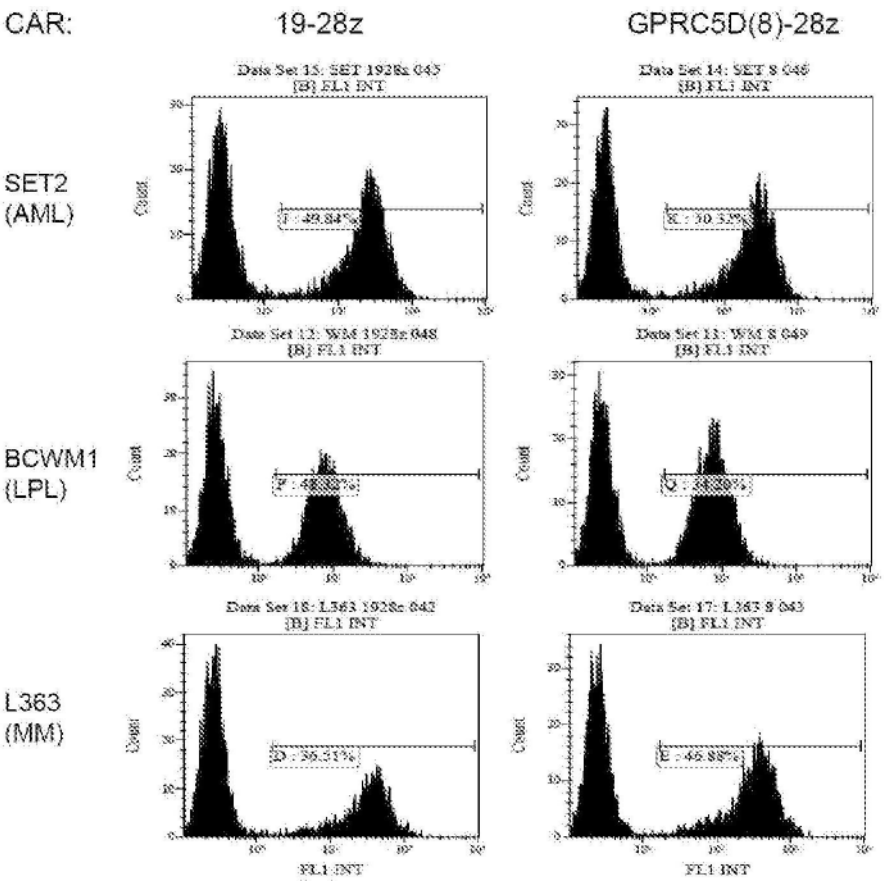

CAR:
19-28z
GPRC5D(8)-28z
SET2
(AML)
BCWM1
(LPL)
L363
(MM)
Count
FL1 INT

图13A

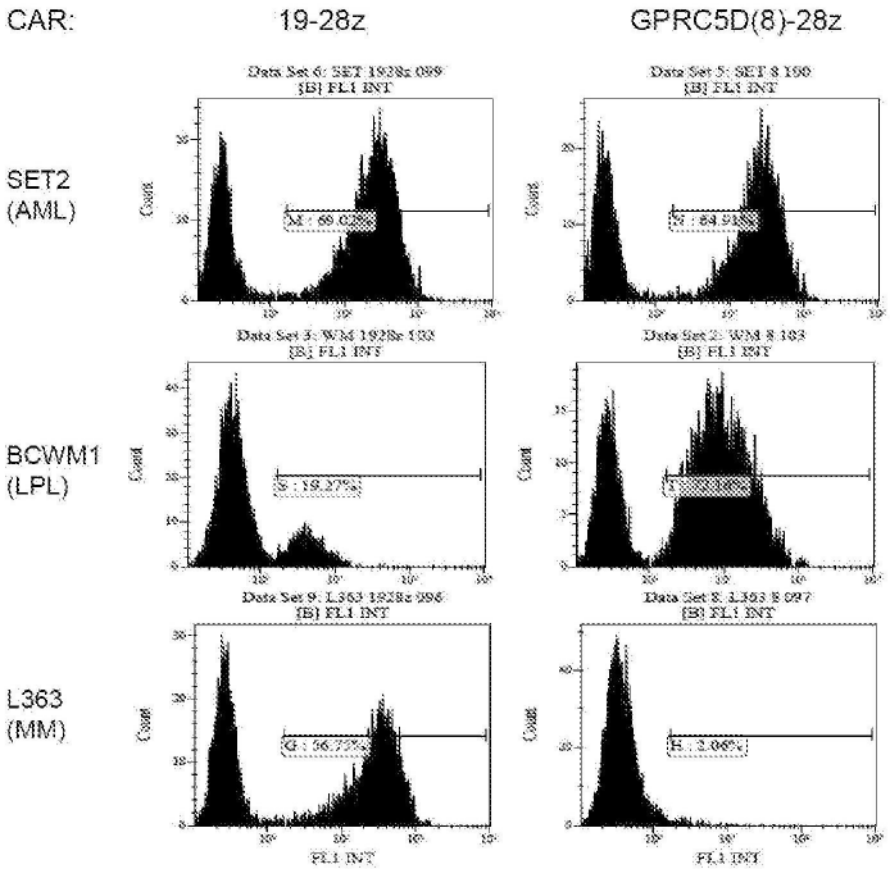

CAR:
19-28z
GPRC5D(8)-28z
SET2
(AML)
BCWM1
(LPL)
L363
(MM)
Count
FL1 INT

图13B

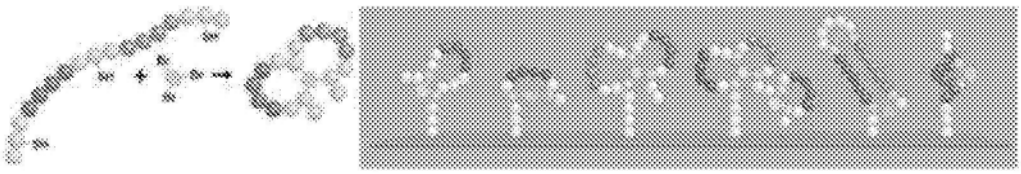


图14

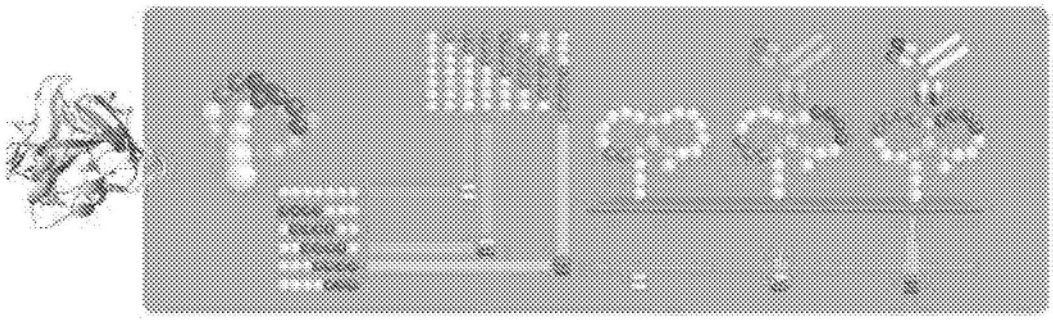


图15

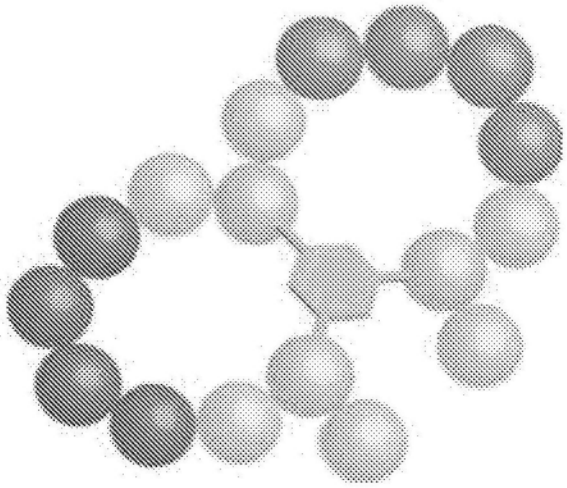


图16

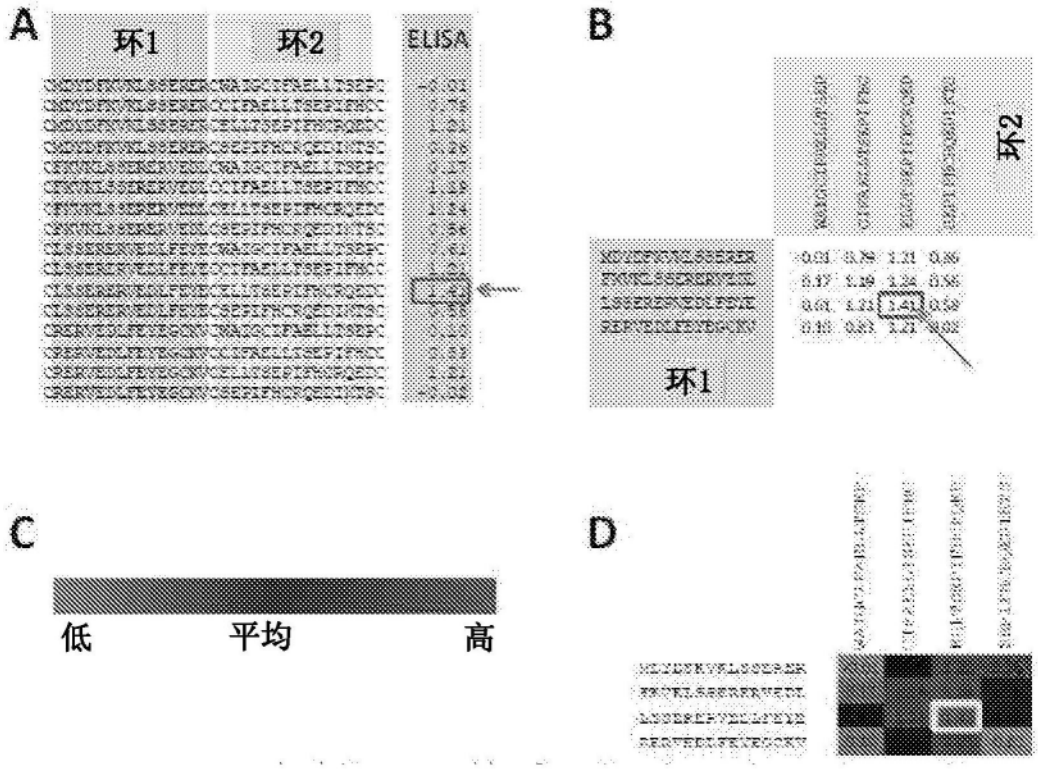


图17A-17D

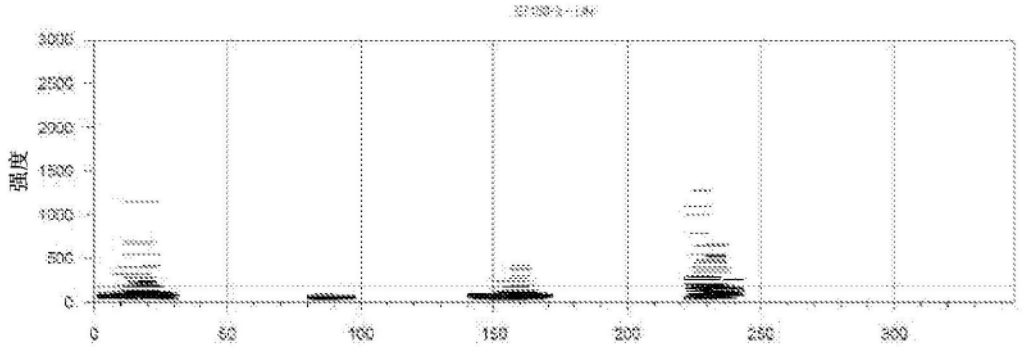


图18

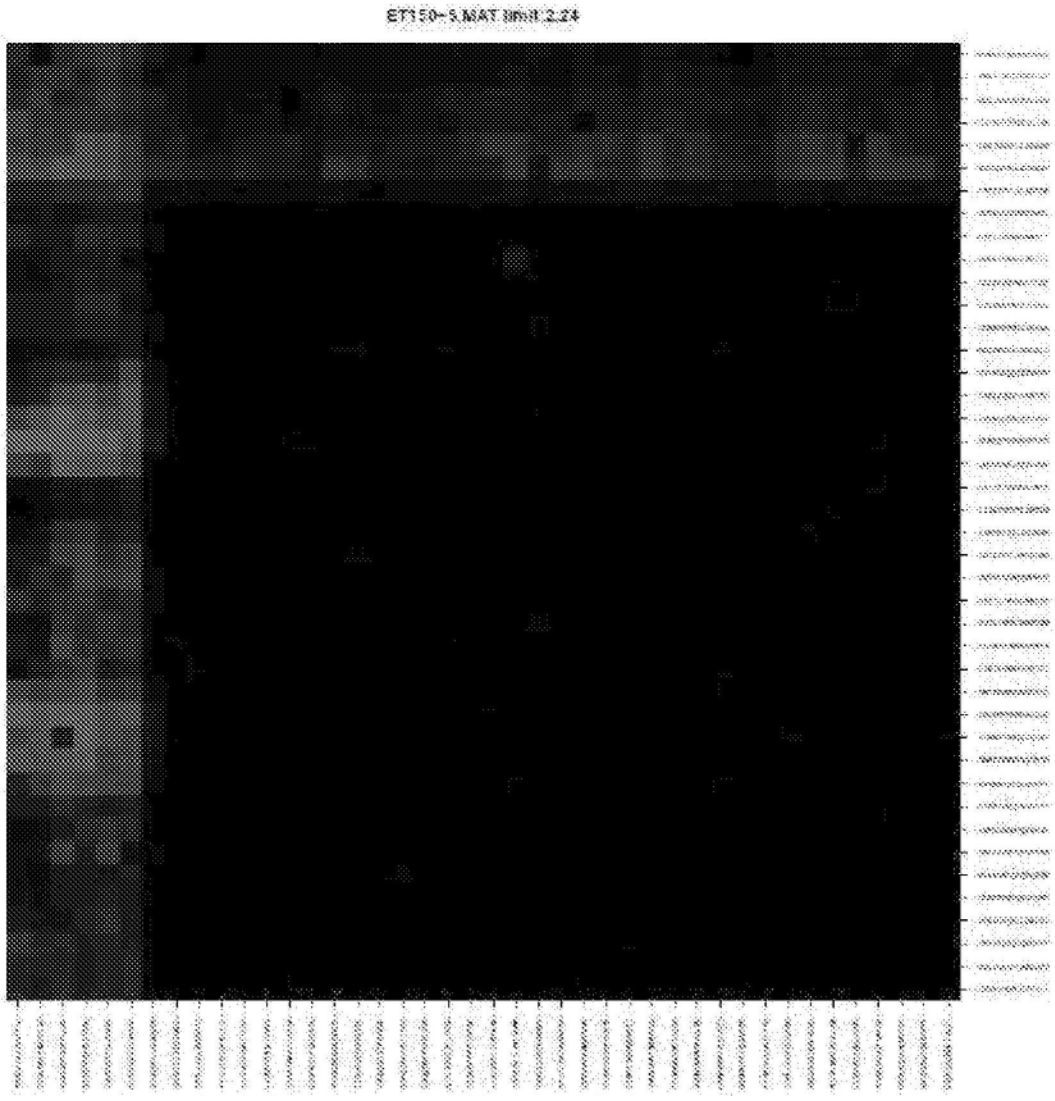


图19

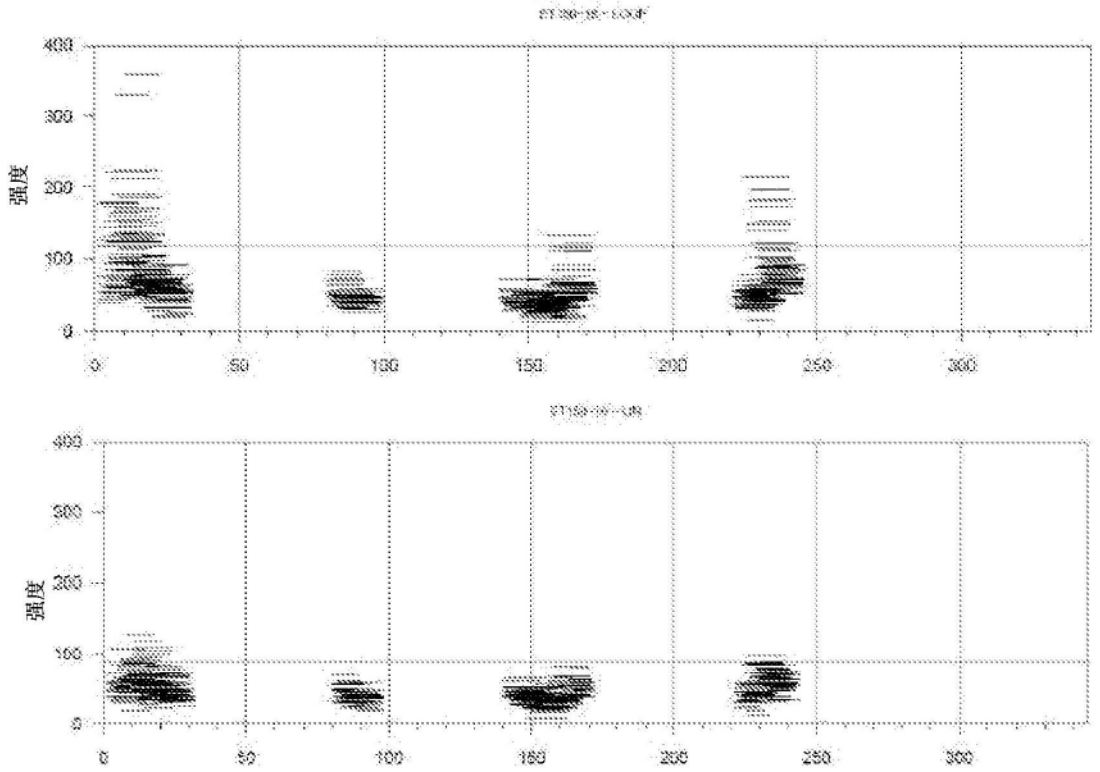


图20

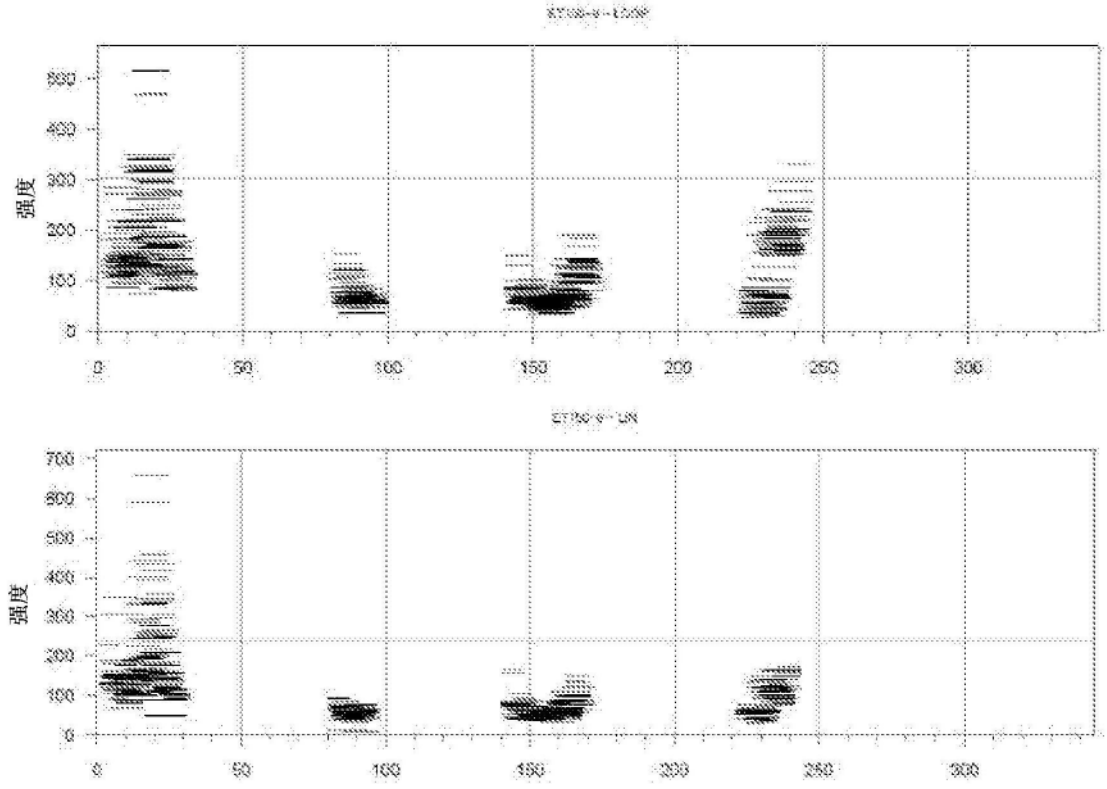


图21

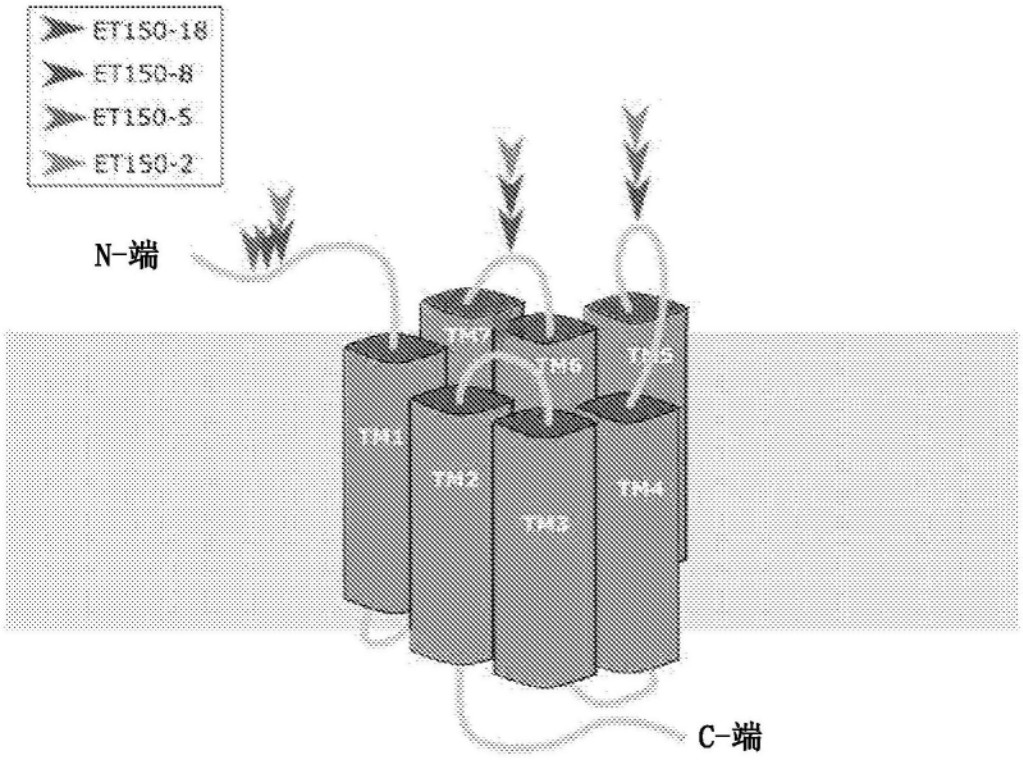

ET150-18
ET150-8
ET150-5
ET150-2
N-端
TM7
TM6
TM5
TM1
TM2
TM3
TM4
C-端

图22

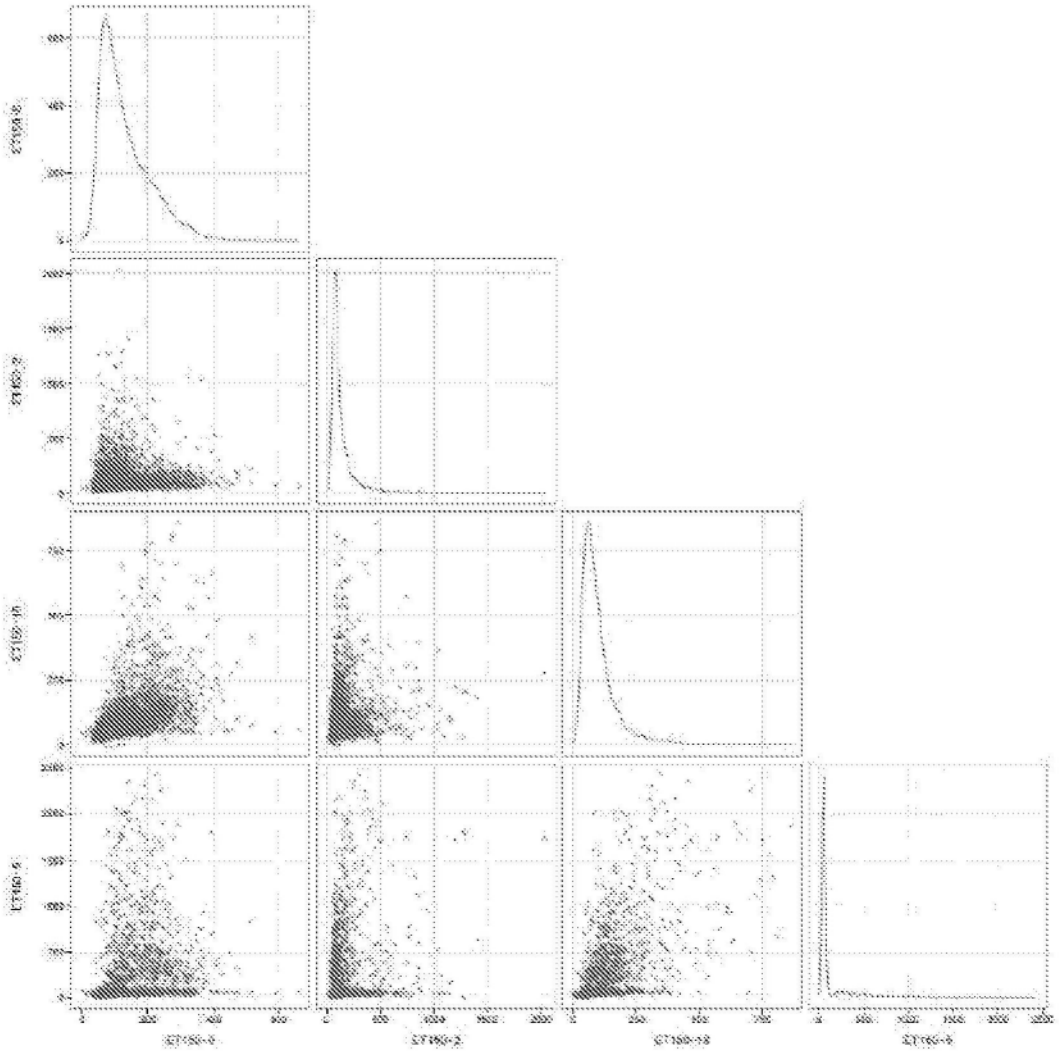


图23

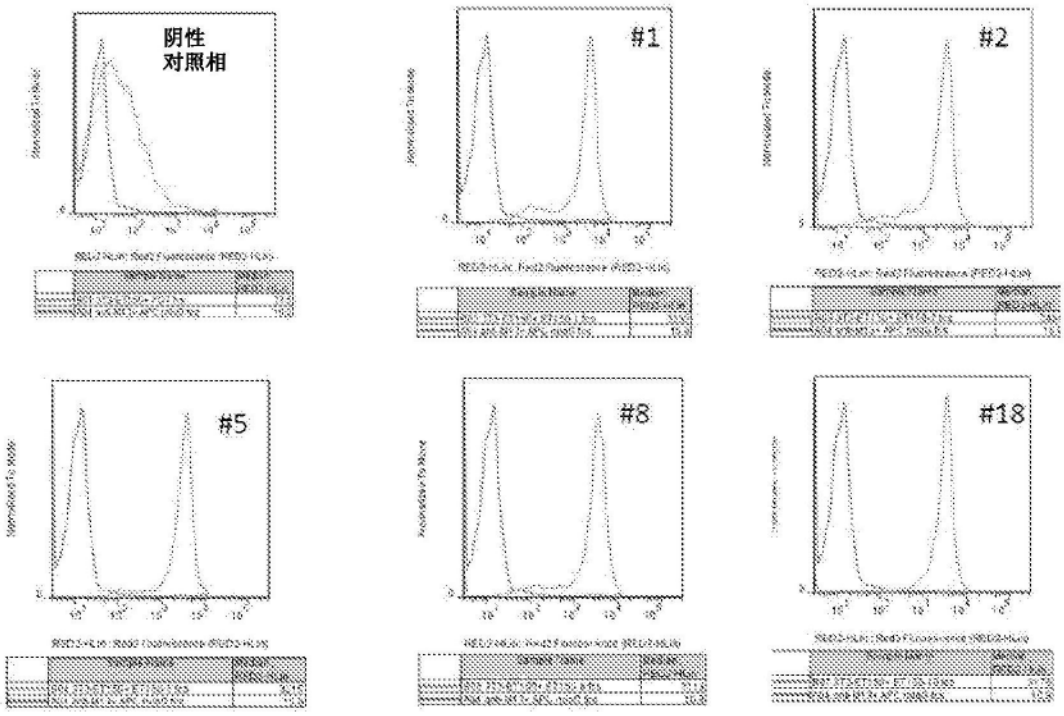

阴性
对照相
#1
#2
#5
#8
#18

图24

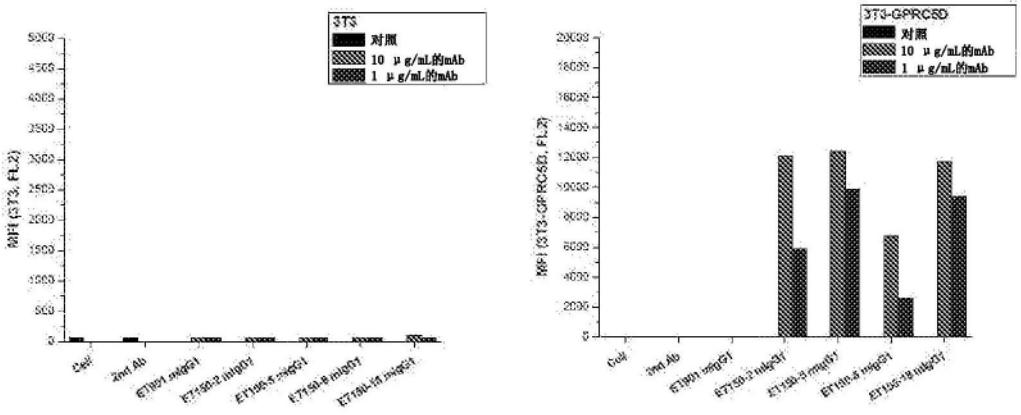

3T3
对照
10 μg/mL的mAb
1 μg/mL的mAb
3T3-GPRC5D
对照
10 μg/mL的mAb
1 μg/mL的mAb

图25

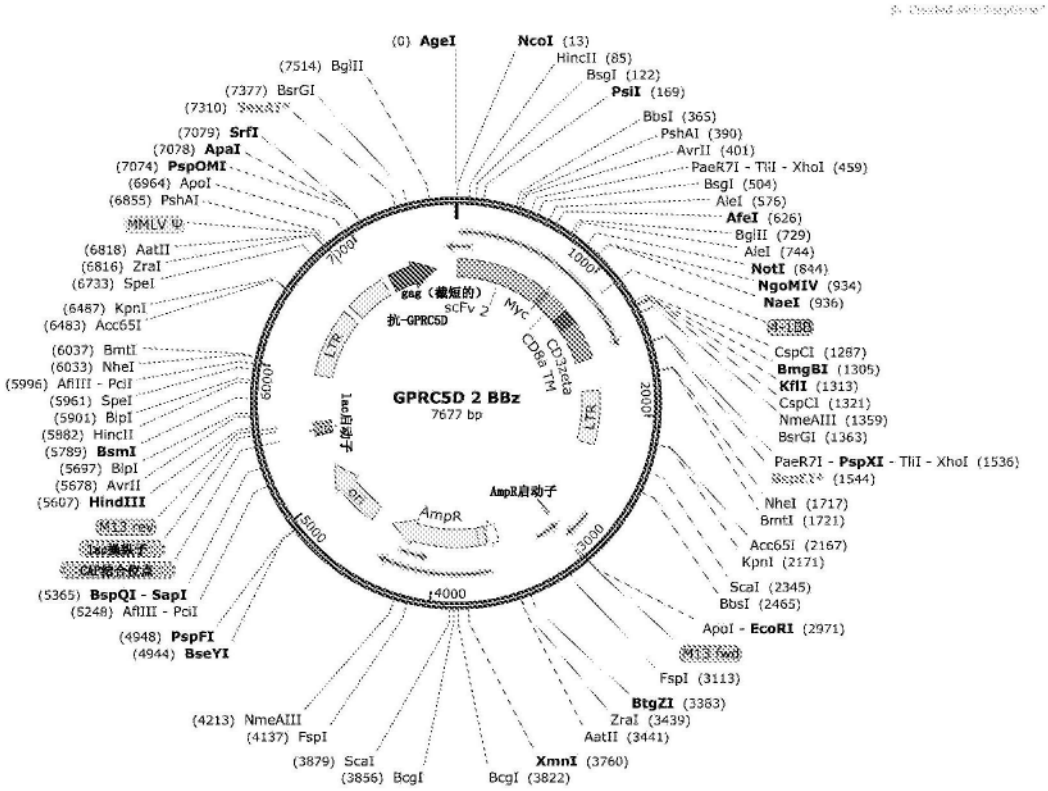

GPRC5D 2 BBz
7677 bp
gag（截短的）
scFv 2
抗-GPRC5D
Myc
CD8a TM
CD3zeta
LTR
lacI启动子
ori
AmpR
AmpR启动子
(0) AgeI
NcoI (13)
HincII (85)
BsgI (122)
PsiI (169)
BbsI (365)
PshAI (390)
AvrII (401)
PaeR7I - TliI - XhoI (459)
BsgI (504)
AleI (576)
AfeI (626)
BglII (729)
AleI (744)
NotI (844)
NgoMIV (934)
NaeI (936)
4-1BB
CspCI (1287)
BmgBI (1305)
KflI (1313)
CspCI (1321)
NmeAIII (1359)
BsrGI (1363)
PaeR7I - PspXI - TliI - XhoI (1536)
SexAI (1544)
NheI (1717)
BmtI (1721)
Acc65I (2167)
KpnI (2171)
ScaI (2345)
BbsI (2465)
ApoI - EcoRI (2971)
M13 rev
FspI (3113)
BtgZI (3383)
ZraI (3439)
AatII (3441)
XmnI (3760)
BcgI (3822)
(4213) NmeAIII
(4137) FspI
(3879) ScaI
(3856) BcgI
(4948) PspFI
(4944) BseYI
(5365) BspQI - SapI
(5248) AflIII - PciI
M13 rev
(5607) HindIII
(5678) AvrII
(5697) BlpI
(5789) BsmI
(5882) HincII
(5901) BlpI
(5961) SpeI
(5996) AflIII - PciI
(6033) NheI
(6037) BmtI
(6483) Acc65I
(6487) KpnI
(6733) SpeI
(6816) ZraI
(6818) AatII
MMLV Ψ
(6855) PshAI
(6964) ApoI
(7074) PspOMI
(7078) ApaI
(7079) SrfI
(7310) SexAI
(7377) BsrGI
(7514) BglII
1000
2000
3000
4000
5000
6000
7000

图26

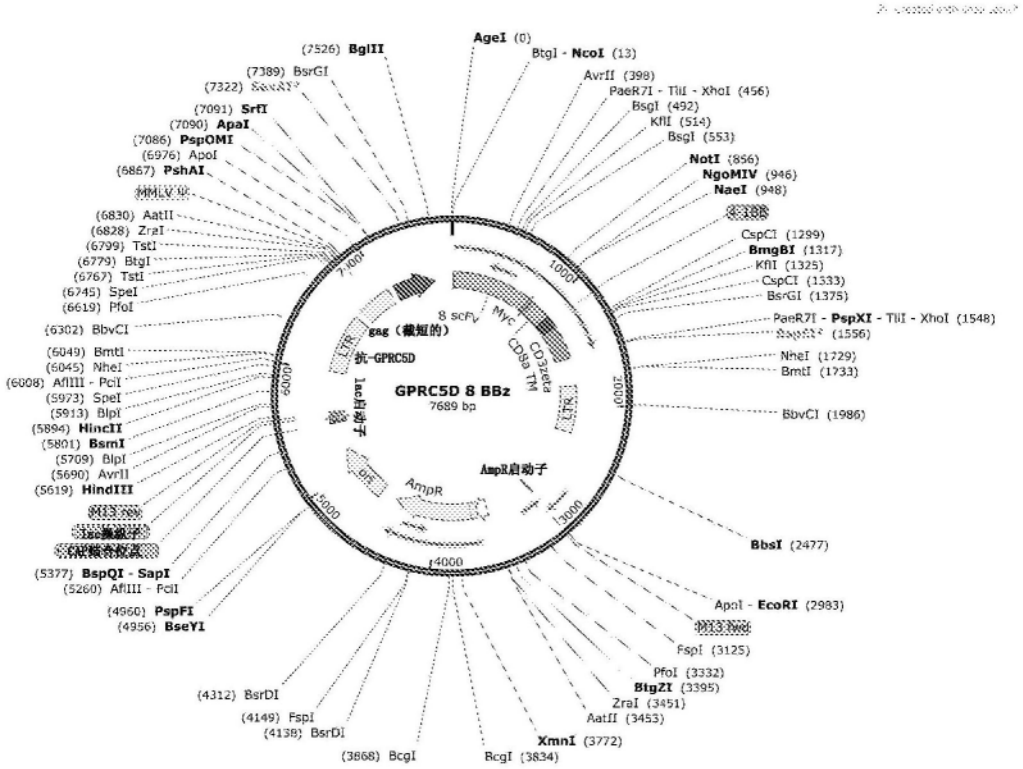

GPRC5D 8 BBz
7689 bp
gag（截短的）
8 scFv
抗-GPRC5D
Myc
CD8a TM
CD3zeta
LTR
lacI启动子
ori
AmpR
AmpR启动子
AgeI (0)
BtgI - NcoI (13)
AvrII (398)
PaeR7I - TliI - XhoI (456)
BsgI (492)
KflI (514)
BsgI (553)
NotI (856)
NgoMIV (946)
NaeI (948)
4-1BB
CspCI (1299)
BmgBI (1317)
KflI (1325)
CspCI (1333)
BsrGI (1375)
PaeR7I - PspXI - TliI - XhoI (1548)
SexAI (1556)
NheI (1729)
BmtI (1733)
BbvCI (1986)
BbsI (2477)
ApoI - EcoRI (2983)
M13 rev
FspI (3125)
PfoI (3332)
BtgZI (3395)
ZraI (3451)
AatII (3453)
XmnI (3772)
BcgI (3834)
(4312) BsrDI
(4149) FspI
(4138) BsrDI
(3868) BcgI
(4960) PspFI
(4956) BseYI
(5377) BspQI - SapI
(5260) AflIII - PciI
M13 rev
(5619) HindIII
(5690) AvrII
(5709) BlpI
(5801) BsmI
(5894) HincII
(5913) BlpI
(5973) SpeI
(6008) AflIII - PciI
(6045) NheI
(6049) BmtI
(6302) BbvCI
(6619) PfoI
(6745) SpeI
(6767) TstI
(6779) BtgI
(6799) TstI
(6828) ZraI
(6830) AatII
MMLV Ψ
(6867) PshAI
(6976) ApoI
(7086) PspOMI
(7090) ApaI
(7091) SrfI
(7322) SexAI
(7389) BsrGI
(7526) BglII
1000
2000
3000
4000
5000
6000
7000

图27