(19)国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 107614519 B
(45)授权公告日 2022.08.05

(21)申请号 201680023511.2

(22)申请日 2016.10.21

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 107614519 A

(43)申请公布日 2018.01.19

(30)优先权数据
62/245,944 2015.10.23 US
62/304,918 2016.03.07 US
62/345,649 2016.06.03 US
62/369,694 2016.08.01 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2017.10.23

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2016/058305 2016.10.21

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2017/070608 EN 2017.04.27

(73)专利权人 优瑞科生物技术公司
地址 美国加利福尼亚州

(72)发明人 路经伟 杨智源 刘诚 刘宏 许奕阳 言甦 V·W·陈 L·霍兰

(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494
专利代理师 封新琴

(51)Int.Cl.
C07K 14/725(2006.01)
A61K 38/17(2006.01)
A61K 35/17(2006.01)
C12N 15/62(2006.01)
C12N 15/63(2006.01)

(56)对比文件
US 7521053 B2,2009.04.21
CN 101282993 A,2008.10.08
CN 1266714 A,2000.09.20
EP 0340793 A2,1989.11.08
WO 2007034489 A2,2007.03.29
WO 2007131092 A2,2007.11.15
US 2015183877 A1,2015.07.02
C O Yun 等.Targeting of T lymphocytes to melanoma cells through chimeric anti-GD3 immunoglobulin T-cell receptors.《Neoplasia》.2000,第2卷(第5期),
Michael Girardi 等.Immunosurveillance and Immunoregulation by γδ T Cells.《J Invest Dermatol》.2006,第126卷(第1期),
Hiroki Torikai 等.A foundation for universal T-cell based immunotherapy: T cells engineered to express a CD19-specific chimeric-antigen-receptor and eliminate expression of endogenous TCR.《Blood》.2012,第119卷(第24期),
Y Takihara 等.Sequence and organization of the diversity, joining, and constant region genes of the human T-cell δ-chain locus.《Proc Natl Acad Sci U S A》.1988,第85卷(第16期),
M P Lefranc 等.Genetic polymorphism and exon changes of the constant regions of the human T-cell rearranging gene γ.《Proc Natl Acad Sci U S A》.1986,第83卷(第24期),
(续)

审查员 陈晋

权利要求书2页 说明书132页
序列表55页 附图54页

(54)发明名称

抗体/T细胞受体嵌合构建体及其用途

(57)摘要

本申请提供抗体-TCR嵌合构建体,其包含特异性结合至靶抗原的抗体部分,该抗体部分与能够招募至少一个TCR相关信号传导模块的TCRM融合。还提供这些构建体的制造及使用方法。

CN 107614519 B

[转续页]

[接上页]

(56)对比文件

GenBank.immunoglobulin heavy chain, partial [Homo sapiens].《GenBank》.2004,

Xiufeng Wu 等.Protein design of IgG/TCR chimeras for the co-expression of Fab-like moieties within bispecific antibodies.《MAbs》.2015,第7卷(第2期),

K M Müller 等.The first constant domain (C(H)1 and C(L)) of an antibody used as heterodimerization domain for bispecific miniantibodies.《FEBS Lett》.1998,第422卷(第2期),

Z Eshhar 等.Chimeric T cell receptor which incorporates the anti-tumour specificity of a monoclonal antibody with the cytolytic activity of T cells: a model system for immunotherapeutical approach.《Br J Cancer Suppl》.1990,(第10期),

Lars T van der Veken 等.α β T cell receptor transfer to γ δT cells generates functional effector cells without mixed TCR dimers in vivo.《J Immunol》.2009,第182卷(第1期),

Gautam K Sahu 等.Anti-HIV designer T cells progressively eradicate a latently infected cell line by sequentially inducing HIV reactivation then killing the newly gp120-positive cells.《Virology》.2013,第446卷(第1-2期),

Y J Wu 等.Signal transduction of gamma/delta T cell antigen receptor with a novel mitogenic anti-delta antibody.《J Immunol》.1988,第141卷(第5期),

Irma Airoldi 等.γ δ T-cell reconstitution after HLA-haploidentical hematopoietic transplantation depleted of TCR-α β+/CD19+ lymphocytes.《Blood》.2015,第125卷(第15期),

Ravit Oren 等.Functional comparison of engineered T cells carrying a native TCR versus TCR-like antibody-based chimeric antigen receptors indicates affinity/avidity thresholds.《J Immunol》.2014,第193卷(第11期),

1.一种特异性结合至靶抗原的抗体-T细胞受体(TCR)嵌合分子(abTCR),其包含:

a)第一多肽链,其包含第一抗原结合域及第一T细胞受体域(TCRD),所述第一抗原结合域自N端至C端包含V_H及C_H1抗体域,所述第一TCRD包含第一TCR亚单元的第一跨膜域,其中所述第一多肽链缺少所述第一TCR亚单元的可变域和恒定域;及

b)第二多肽链,其包含第二抗原结合域及第二TCRD,所述第二抗原结合域自N端至C端包含V_L及C_L抗体域,所述第二TCRD包含第二TCR亚单元的第二跨膜域,其中所述第二多肽链缺少所述第二TCR亚单元的可变域和恒定域;

其中所述第一抗原结合域的所述V_H及所述C_H1域与所述第二抗原结合域的所述V_L及所述C_L域形成特异性结合至所述靶抗原的抗原结合模块,

其中所述第一TCRD与所述第二TCRD形成能够招募至少一个TCR相关信号传导模块的T细胞受体模块(TCRM),且

其中i)所述第一TCR亚单元为TCRγ链,且所述第二TCR亚单元为TCRδ链,或ii)所述第一TCR亚单元为TCRδ链,且所述第二TCR亚单元为TCRγ链。

2.权利要求1的abTCR,其中所述第一TCR亚单元为TCRγ链,且所述第二TCR亚单元为TCRδ链。

3.权利要求1的abTCR,其中所述第一TCR亚单元为TCRδ链,且所述第二TCR亚单元为TCRγ链。

4.权利要求1的abTCR,其中所述第一多肽链进一步包含在所述第一抗原结合域与所述第一TCRD之间的第一肽接头且所述第二多肽链进一步包含在所述第二抗原结合域与所述第二TCRD之间的第二肽接头。

5.权利要求1的abTCR,其中所述靶抗原为细胞表面抗原。

6.权利要求5的abTCR,其中所述细胞表面抗原为CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D或FCRL5。

7.权利要求1的abTCR,其中所述靶抗原为包含肽及主要组织相容性复合体(MHC)蛋白质的复合体。

8.权利要求7的abTCR,其中所述靶抗原复合体中的所述肽源自选自以下的蛋白质:WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA。

9.权利要求1的abTCR,其中所述第一TCRD进一步包含TCR亚单元中在所述第一跨膜域N端的第一连接肽或其片段,且所述第二TCRD进一步包含TCR亚单元中在所述第二跨膜域N端的第二连接肽或其片段。

10.权利要求1的abTCR,其中所述CH1抗体域的氨基酸序列如SEQ ID NO:39所示,且所述CL抗体域的氨基酸序列如SEQ ID NO:41所示。

11.权利要求1的abTCR,其中所述TCRδ链的跨膜域的氨基酸序列如SEQ ID NO:3所示,且所述TCRγ链的跨膜域的氨基酸序列如SEQ ID NO:4所示。

12.权利要求9的abTCR,其中包含所述TCRδ链的跨膜域的TCRD的连接肽的氨基酸序列如SEQ ID NO:7所示,且包含所述TCRγ链的跨膜域的TCRD的连接肽的氨基酸序列如SEQ ID NO:8所示。

13.权利要求12的abTCR,其中包含所述TCRδ链的跨膜域的TCRD的连接肽的氨基酸序列如SEQ ID NO:11所示,且包含所述TCRγ链的跨膜域的TCRD的连接肽的氨基酸序列如SEQ

ID NO:12所示。

14.权利要求10的abTCR,其中所述TCRδ链的跨膜域的氨基酸序列如SEQ ID NO:3所示,且所述TCRγ链的跨膜域的氨基酸序列如SEQ ID NO:4所示。

15.权利要求12的abTCR,其中所述CH1抗体域的氨基酸序列如SEQ ID NO:39所示,且所述CL抗体域的氨基酸序列如SEQ ID NO:41所示,且其中所述TCRδ链的跨膜域的氨基酸序列如SEQ ID NO:3所示,且所述TCRγ链的跨膜域的氨基酸序列如SEQ ID NO:4所示。

16.权利要求15的abTCR,其中所述V_H抗体域的氨基酸序列如SEQ ID NO:59所示,且所述V_L抗体域的氨基酸序列如SEQ ID NO:57所示。

17.权利要求15的abTCR,其中所述V_H抗体域的氨基酸序列如SEQ ID NO:38所示,且所述V_L抗体域的氨基酸序列如SEQ ID NO:40所示。

18.一种核酸,其编码权利要求1的abTCR的所述第一及所述第二多肽链。

19.一种复合体,其包含权利要求1的abTCR及至少一个选自CD3δε、CD3γε及ζζ的TCR相关信号传导模块。

20.一种T细胞,其递呈权利要求1的abTCR于其表面上。

21.一种T细胞,其包含权利要求18的核酸。

22.权利要求20的T细胞,其中所述T细胞不表达TCRγ和/或TCRδ。

23.权利要求22的T细胞,

其中所述T细胞为αβT细胞。

24.权利要求20的T细胞,其中所述T细胞经修饰以阻断或减少第一内源性TCR亚单元和/或第二内源性TCR亚单元的表达。

25.权利要求20的T细胞,其中所述T细胞选自下组:细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞。

26.权利要求20的T细胞,其包含载体,所述载体包含编码所述abTCR的所述第一多肽链的第一核酸序列及编码所述abTCR的所述第二多肽链的第二核酸序列,其中所述第一核酸在第一启动子的控制下,并且所述第二核酸在第二启动子的控制下,或者其中所述第一核酸和第二核酸在单一启动子的控制下。

27.一种药物组合物,其包含权利要求20至26中任一项的T细胞以及药物上可接受的载剂。

28.权利要求20-26中任一项的T细胞在制备用于治疗有需要个体的靶抗原相关疾病的药物中的用途。

29.权利要求28的用途,其中所述靶抗原相关疾病为癌症。

30.权利要求29的用途,其中所述癌症为淋巴瘤、白血病、肝细胞癌。

抗体/T细胞受体嵌合构建体及其用途

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请主张2015年10月23日申请的美国临时申请第62/245,944号、2016年3月7日申请的美国临时申请第62/304,918号、2016年6月3日申请的美国临时申请第62/345,649号及2016年8月1日申请的美国临时申请第62/369,694号的优先权,这些申请都以全文引用的方式并入本文中。

技术领域

[0003] 本发明涉及抗体/T细胞受体嵌合构建体及其用途,包括治疗及诊断疾病。

[0004] 以ASCII文本档案形式提交序列表

[0005] 以ASCII文本档案提交的以下内容以全文引用的方式并入本文中:电脑可读形式(CRF)的序列表(档案名称:750042000340SEQLIST.txt,记录日期:2016年10月20日,大小:104KB)。

背景技术

[0006] T细胞介导免疫为发展出抗原(Ag)-特异性T淋巴细胞来消除病毒、细菌、寄生虫感染或恶性细胞的适应性过程。其也可涉及自体抗原的异常识别,导致自体免疫性炎症疾病。T淋巴细胞的Ag特异性是基于T细胞受体(TCR)对由主要组织相容性复合体(MHC)分子于Ag递呈细胞(APC)上递呈的独特抗原肽的识别(Broere等人,Principles of Immunopharmacology,2011)。由于在胸腺中成熟后的发育选择,各T淋巴细胞于细胞表面上表达独特的TCR。TCR以两种形式存在:αβ杂二聚体或γδ杂二聚体。T细胞于细胞表面上表达αβ形式或γδ形式的TCR。四条链α/β/γ/δ都具有由高度多态的“免疫球蛋白可变区”样N端域及“免疫球蛋白恒定区”样第二域组成的特征性细胞外结构。这些域各自具有特征性域内二硫桥。恒定区最靠近细胞膜,其后为连接肽、跨膜区及短胞质尾。杂二聚TCR的2条链之间的共价键是由位于短连接肽序列内的半胱氨酸残基形成,该短连接肽序列桥接细胞外恒定域与跨膜区,该半胱氨酸残基与所配对的TCR链半胱氨酸残基在对应位置形成二硫键(The T cell Receptor Factsbook,2001)。

[0007] αβ及γδTCR与非多态膜结合CD3蛋白质结合以形成功能性八聚TCR-CD3复合体,由TCR杂二聚体及三个二聚信号传导模块CD3δ/ε、CD3γ/ε及CD3ζ/ζ或ζ/η组成。各亚单元的跨膜域中的可电离残基形成将复合体固定在一起的极性相互作用网。关于T细胞活化,TCR的N端可变区识别于靶细胞表面上递呈的肽/MHC复合体,而CD3蛋白质则参与信号转导(Call等人,Cell.111(7):967-79,2002;The T cell Receptor Factsbook,2001)。

[0008] αβTCR也称作常规TCR,于大部分淋巴细胞上表达且由糖基化多态α及β链组成。不同的αβTCR可区分嵌入于尺寸及形状相对恒定的MHCII(大部分表达于APC细胞表面上)及MHCI(于所有有核细胞上表达)分子的表面中的不同肽。γδTCR尽管在结构上类似于αβTCR,但以与MHC递呈无关的方式识别携带糖、核苷酸或磷光体的抗原(The T cell Receptor Factsbook,2001;Girardi等人,J.Invest.Dermatol.126(1):25-31,2006;Hayes等人,

Immunity.16(6):827-38,2002)。

[0009] 细胞表面蛋白质仅构成细胞蛋白质的一小部分且这些蛋白质的大部分并非肿瘤特异性的。相比之下,突变的或致癌肿瘤相关的蛋白质通常位于细胞内、为细胞核的、细胞质的或分泌性的。大部分细胞内蛋白质作为蛋白质分解代解及MHC分子递呈的正常过程的一部分而暴露于细胞表面上。细胞内蛋白质通常通过蛋白酶体或内体/溶酶体降解,且所得特异性肽片段结合至MHCI类/II类分子。这些肽/MHC复合体呈现于细胞表面,其中其经由肽/MHC TCR相互作用提供T细胞识别标靶(Scheinberg等人,Oncotarget.4(5):647-8,2013;Cheever等人,Clin.Cancer Res.15(17):5323-37,2009)。

[0010] 在过去的二十年里,在免疫学及肿瘤生物学方面的根本性进展以及大量肿瘤抗原的鉴别促成了基于细胞的免疫疗法领域的显著进展。在基于细胞的免疫疗法领域中,T细胞疗法占据重要位置,其目标为通过将自体性及离体扩增的T细胞转移给患者来治疗癌症,且已产生了一些值得注意的抗肿瘤响应(Blattman等人,Science.305(5681):200-5,2004)。举例而言,在黑素瘤患者中,包括庞大的侵袭性肿瘤,在多个部位施用天然产生的经离体扩增的肿瘤浸润性淋巴细胞(TIL)可介导在50-70%范围内的客观响应率(Rosenberg等人,Nat.Rev.Cancer.8(4):299-308,2008;Dudley ME等人,J.Clin.Oncol.23(10):2346-57,2005)。

[0011] TIL疗法的普遍应用的主要限制为难以产生具有抗肿瘤潜力的人类T细胞。作为替代方法,可经由T细胞工程化将外源性高亲和力TCR引入患者的正常自体性T细胞中。这些细胞至淋巴缺乏患者中的授受性转移已显示可介导例如黑素瘤、结肠直肠癌及滑膜肉瘤的癌症的癌症消退(Kunert R等人,Front.Immunol.4:363,2013)。最新的I期临床试验使用针对滑膜肉瘤的抗NY-ESO-1TCR,报导66%的整体响应率且在一名接受T细胞疗法的患者中达成完全响应(Robbins PF等人,Clin.Cancer Res.21(5):1019-27,2015)。

[0012] TCR工程化T细胞疗法的优点之一为其可靶向潜在细胞内肿瘤特异性蛋白质的整个阵列,其经由MHC递呈经处理及传递至细胞表面。另外,TCR为高度敏感的且可仅由一些抗原肽/MHC分子活化,其又可触发细胞溶解性T细胞响应,包括细胞因子分泌、T细胞增殖及限定靶细胞的细胞溶解。因此,相比于抗体或小分子疗法,经TCR工程化的T细胞因为其以细胞内靶抗原的极少拷贝杀伤靶细胞的能力而特别有价值(Kunert R等人,Front.Immunol.4:363,2013)。

[0013] 然而,不同于治疗性抗体,其多半经由杂交瘤或呈现技术发现,标靶特异性TCR的鉴别要求自患者T细胞建立靶肽/MHC特异性TCR克隆且筛选出具有最佳靶抗原结合亲和力的正确α-β链组合。经常在自患者T细胞克隆TCR之后采用噬菌体/酵母呈现来进一步增强TCR的标靶结合亲和力。整个过程要求诸多领域的专业知识且耗时(Kobayashi E等人,Oncoimmunology.3(1):e27258,2014)。TCR探索过程中的难处极大地阻碍了经TCR工程化的T细胞疗法的普遍应用。其也受到治疗相关的毒性的妨碍,尤其是针对于肿瘤细胞上过度表达且也于健康细胞上表达的抗原的TCR,或识别脱靶肽/MHC复合体的TCR(Rosenberg SA等人,Science.348(6230):62-8,2015)。

[0014] 近年来已研发出一种不同的方法来使T细胞参与靶向癌症免疫疗法。此新方法称作嵌合抗原受体T细胞疗法(CAR-T)。其合并单克隆抗体的敏锐的靶向特异性与由细胞毒性T细胞提供的强力细胞毒性及长期持久性。CAR是由识别细胞表面抗原的细胞外域、跨膜区

及细胞内信号传导域构成。细胞外域由来自单克隆抗体的重链及轻链的抗原结合可变区组成，其融合成单链可变片段(scFv)。细胞内信号传导域含有基于免疫受体酪氨酸的活化基序(ITAM)，例如来自CD3ζ或FcRγ的那些，及一或多个共刺激信号传导域，例如来自CD28、4-1BB或OX40的那些(Barrett DM等人，Annu.Rev.Med.65:333-47,2014;Davila ML等人，Oncoimmunology.1(9):1577-1583,2012)。移植至T细胞表面上的CAR对靶抗原的结合可触发与TCR-肽/MHC复合体相互作用无关的T细胞效应功能。因此，具有CAR的T细胞可重新定向以攻击多种细胞，包括不匹配T细胞上的TCR的MHC类型但表达靶细胞表面抗原的那些细胞。此方法克服了MHC限制性TCR识别的约束且避免了经由抗原递呈或MHC分子表达障碍所致的肿瘤逃逸。临床试验已显示CAR-T疗法在神经母细胞瘤(Louis CU等人，Blood.118(23):6050-6056,2011)、B-ALL(Maude,SL等人，New England Journal of Medicine 371:16:1507-1517,2014)、CLL(Brentjens,RJ,et al.Blood 118:18:4817-4828,2011)及B细胞淋巴瘤(Kochenderfer,JN,et al.Blood 116:20:4099-4102,2010)中在临床上具有相当大的抗肿瘤活性。在一个研究中，报导用CD19-CART疗法治疗的30位患有B-ALL的患者中90％的完全缓解率(Maude,SL等人，同前文献)。

[0015] 迄今为止的大部分(若非全部)CAR研究都针对具有高细胞表面表达的肿瘤抗原。为靶向低拷贝数细胞表面肿瘤抗原及细胞内肿瘤抗原，其代表95％的所有已知的肿瘤特异性抗原，需要研发更强力且更有效的经工程化的细胞疗法(Cheever等人，Clin.Cancer Res.15(17):5323-37,2009)。

[0016] 已作出若干尝试来工程化具有抗体特异性与T细胞受体效应功能的嵌合受体分子。参见例如Kuwana,Y等人，Biochem.Biophys.Res.Commun.149(3):960-968,1987;Gross,G等人，Proc.Natl.Acad.Sci.USA.86:10024-10028,1989;Gross,G&Eshhar,Z,FASEB J.6(15):3370-3378,1992;美国专利第7,741,465号。迄今为止，这些嵌合受体中无一者用于临床使用，且需要针对在人类T细胞中具有改良表达及功能的抗体-TCR嵌合受体的新颖设计。

[0017] 本文所提及的所有公开案、专利、专利申请及公开专利申请的内容在此以全文引用的方式并入本文中。

[0018] 发明概述

[0019] 在一个方面中，本申请提供一种构建体(例如经分离构建体)，其包含与T细胞受体模块融合的抗体部分(例如Fab样抗原结合模块)(该构建体在本文中也称作“抗体-TCR嵌合分子”或“abTCR”)。在一些实施方案中，abTCR包含特异性结合至靶抗原的Fab样抗原结合模块及能够招募至少一个TCR相关信号传导模块的T细胞受体模块(TCRM)。在一些实施方案中，靶抗原为包含肽及MHC蛋白质(例如MHC I类蛋白质或MHC II类蛋白质)的复合体。在一些实施方案中，靶抗原为细胞表面抗原。

[0020] 在一些实施方案中，提供一种特异性结合至靶抗原的abTCR(例如经分离abTCR)，其中该abTCR包含：a)第一多肽链，其包含第一抗原结合域及第一T细胞受体域(TCRD)，该第一抗原结合域包含V_H及C_H1抗体域，该第一T细胞受体域(TCRD)包含第一TCR亚单元的第一跨膜域；及b)第二多肽链，其包含第二抗原结合域及第二TCRD，该第二抗原结合域包含V_L及C_L抗体域，该第二TCRD包含第二TCR亚单元的第二跨膜域，其中第一抗原结合域的V_H及C_H1域与第二抗原结合域的V_L及C_L域形成特异性结合至靶抗原的Fab样抗原结合模块，且其中第一TCRD与第二TCRD形成能够招募至少一个TCR相关信号传导模块的T细胞受体模块(TCRM)。在

一些实施方案中，第一多肽链及第二多肽链经由一或多个二硫键连接。在一些实施方案中，Fab样抗原结合模块包含在第一多肽链中的C_H1域中的残基与第二多肽链中的C_L域中的残基之间的二硫键。在一些实施方案中，第一多肽链进一步包含在第一抗原结合域与第一TCRD之间的第一肽接头。在一些实施方案中，第二多肽链进一步包含在第二抗原结合域与第二TCRD之间的第二肽接头。在一些实施方案中，第一肽接头和/或第二肽接头的长度分别为约5至约50个氨基酸。在一些实施方案中，靶抗原为细胞表面抗原。在一些实施方案中，细胞表面抗原选自下组：蛋白质、糖及脂质。在一些实施方案中，细胞表面抗原为CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D或FCRL5。在一些实施方案中，靶抗原为包含肽及主要组织相容性复合体(MHC)蛋白质的复合体。

[0021] 在一些实施方案中，提供一种特异性结合至靶抗原的abTCR，其包含：a)第一多肽链，其包含第一抗原结合域及第一TCRD，该第一抗原结合域包含V_H抗体域，该第一TCRD包含第一TCR亚单元的第一跨膜域；及b)第二多肽链，其包含第二抗原结合域及第二TCRD，该第二抗原结合域包含V_L抗体域，该第二TCRD包含第二TCR亚单元的第二跨膜域，其中第一抗原结合域的V_H域与第二抗原结合域的V_L域形成特异性结合至靶抗原的抗原结合模块，其中第一TCRD与第二TCRD形成能够招募至少一个TCR相关信号传导模块的T细胞受体模块(TCRM)，且其中靶抗原为包含肽及MHC蛋白质的复合体。在一些实施方案中，第一多肽链进一步包含在第一抗原结合域与第一TCRD之间的第一肽接头且第二多肽链进一步包含在第二抗原结合域与第二TCRD之间的第二肽接头。在一些实施方案中，第一和/或第二肽接头分别包含来自免疫球蛋白或T细胞受体亚单元的恒定域或其片段。在一些实施方案中，第一和/或第二肽接头分别包含CH1、CH2、CH3、CH4或CL抗体域或其片段。在一些实施方案中，第一和/或第二肽接头分别包含Cα、Cβ、Cγ或CδTCR域或其片段。

[0022] 在一些实施方案中，根据以上所述的abTCR(例如经分离abTCR)中的任一者，第一TCRD进一步包含TCR亚单元中在第一跨膜域N端的第一连接肽或其片段。第二TCRD进一步包含TCR亚单元中在第二跨膜域N端的第二连接肽或其片段。在一些实施方案中，TCRM包含在第一连接肽中的残基与第二连接肽中的残基之间的二硫键。在一些实施方案中，第一TCRD进一步包含第一TCR细胞内域，其包含在第一跨膜域C端的TCR细胞内序列。在一些实施方案中，第二TCRD进一步包含第二TCR细胞内域，其包含在第二跨膜域C端的TCR细胞内序列。在一些实施方案中，abTCR以约0.1pM至约500nM的平衡解离常数(K_d)结合至靶抗原。在一些实施方案中，TCR相关信号传导模块选自下组：CD3δε、CD3γε及ζζ。

[0023] 在一些实施方案中，根据以上所述abTCR(例如经分离abTCR)中的任一者，第一多肽链进一步包含第一附属细胞内域，其包含在第一跨膜域C端的共刺激细胞内信号传导序列。在一些实施方案中，第二多肽链进一步包含第二附属细胞内域，其包含在第二跨膜域C端的共刺激细胞内信号传导序列。在一些实施方案中，第一多肽链进一步包含在第一抗原结合域N端的第一信号传导肽。在一些实施方案中，第二多肽链进一步包含在第二抗原结合域N端的第二信号传导肽。

[0024] 在一些实施方案中，根据以上所述abTCR(例如经分离abTCR)中的任一者，其中靶抗原为包含肽及主要组织相容性复合体(MHC)蛋白质的复合体，该肽源自选自下组的蛋白质：WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA。

[0025] 在一些实施方案中，根据以上所述abTCR(例如经分离abTCR)中的任一者，a)第一

TCR亚单元为TCRα链，且第二TCR亚单元为TCRβ链；b)第一TCR亚单元为TCRβ链，且第二TCR亚单元为TCRα链；c)第一TCR亚单元为TCRγ链，且第二TCR亚单元为TCRδ链；或d)第一TCR亚单元为TCRδ链，且第二TCR亚单元为TCRγ链。

[0026] 在一些实施方案中，根据以上所述abTCR(例如经分离abTCR)中的任一者，提供一种核酸，其编码abTCR的第一及第二多肽链。

[0027] 在一些实施方案中，根据以上所述abTCR(例如经分离abTCR)中的任一者，提供一种复合体，其包含abTCR及至少一个选自下组的TCR相关信号传导模块：CD3δε、CD3γε及ζζ。在一些实施方案中，复合体为包含abTCR及CD3δε、CD3γε及ζζ的八聚物。

[0028] 在一些实施方案中，根据以上所述abTCR(例如经分离abTCR)中的任一者，提供一种效应细胞，其递呈abTCR于其表面上。在一些实施方案中，效应细胞包含编码abTCR的核酸。在一些实施方案中，效应细胞不表达第一TCR亚单元和/或第二TCR亚单元。举例而言，在一些实施方案中，a)第一TCR亚单元为TCRγ且第二TCR亚单元为TCRδ；或b)第一TCR亚单元为TCRδ且第二TCR亚单元为TCRγ；且效应细胞为αβT细胞。在一些实施方案中，a)第一TCR亚单元为TCRγ且第二TCR亚单元为TCRδ；或b)第一TCR亚单元为TCRδ且第二TCR亚单元为TCRγ；且效应细胞为αβT细胞。在一些实施方案中，效应细胞经修饰以阻断或减少第一内源性TCR亚单元和/或第二内源性TCR亚单元的表达。举例而言，在一些实施方案中，第一TCR亚单元为TCRα且第二TCR亚单元为TCRβ；或b)第一TCR亚单元为TCRβ且第二TCR亚单元为TCRα；且效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRα和/或TCRβ的表达的αβT细胞。在一些实施方案中，a)第一TCR亚单元为TCRγ且第二TCR亚单元为TCRδ；或b)第一TCR亚单元为TCRδ且第二TCR亚单元为TCRγ；且效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRγ和/或TCRδ的表达的γδT细胞。

[0029] 在一些实施方案中，根据以上所述abTCR(例如经分离abTCR)中的任一者，提供一种效应细胞，其递呈abTCR于其表面上，其中该效应细胞为T细胞。在一些实施方案中，T细胞选自下组：细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞。

[0030] 在一些实施方案中，根据以上所述abTCR(例如经分离abTCR)中的任一者，提供一种效应细胞，其递呈abTCR于其表面上，其中该效应细胞包含a)第一载体，其包含在第一启动子控制下编码abTCR的第一多肽链的第一核酸序列；及b)第二载体，其包含在第二启动子控制下编码abTCR的第二多肽链的第二核酸序列。

[0031] 在一些实施方案中，根据以上所述abTCR(例如经分离abTCR)中的任一者，提供一种效应细胞，其递呈abTCR于其表面上，其中该效应细胞包含载体，其包含a)在第一启动子控制下编码abTCR的第一多肽链的第一核酸序列；及b)在第二启动子控制下编码abTCR的第二多肽链的第二核酸序列。

[0032] 在一些实施方案中，根据以上所述abTCR(例如经分离abTCR)中的任一者，提供一种效应细胞，其递呈abTCR于其表面上，其中该效应细胞包含载体，其包含a)编码abTCR的第一多肽链的第一核酸序列及编码abTCR的第二多肽链的第二核酸序列，其中第一及第二核酸序列是在单一启动子的控制下。

[0033] 在一些实施方案中，根据以上所述abTCR(例如经分离abTCR)中的任一者，提供一种效应细胞，其递呈abTCR于其表面上，其中abTCR的第一多肽链的表达与abTCR的第二多肽链的表达相差超过两倍。

[0034] 在一些实施方案中，提供一种杀伤递呈靶抗原的靶细胞的方法，其包含使靶细胞

与表达根据以上所述abTCR(例如经分离abTCR)中的任一者的abTCR的效应细胞接触,其中abTCR特异性结合至靶抗原。

[0035] 在一些实施方案中,提供一种杀伤递呈靶抗原的靶细胞的方法,其包含使靶细胞与效应αβT细胞接触,该效应αβT细胞包含特异性结合至靶抗原的abTCR,其包含:a)第一多肽链,其包含第一抗原结合域及第一TCRD,该第一抗原结合域包含V_H抗体域,该第一TCRD包含第一TCR亚单元的第一跨膜域;及b)第二多肽链,其包含第二抗原结合域及第二TCRD,该第二抗原结合域包含V_L抗体域,该第二TCRD包含第二TCR亚单元的第二跨膜域,其中第一抗原结合域的V_H域与第二抗原结合域的V_L域形成特异性结合至靶抗原的抗原结合模块,其中第一TCRD与第二TCRD形成能够招募至少一个TCR相关信号传导模块的T细胞受体模块(TCRM),且其中第一TCR亚单元为TCRγ且第二TCR亚单元为TCRδ,或第一TCR亚单元为TCRδ且第二TCR亚单元为TCRγ。在一些实施方案中,第一多肽链进一步包含在第一抗原结合域与第一TCRD之间的第一肽接头且第二多肽链进一步包含在第二抗原结合域与第二TCRD之间的第二肽接头。在一些实施方案中,第一和/或第二肽接头分别包含来自免疫球蛋白或T细胞受体亚单元的恒定域或其片段。在一些实施方案中,第一和/或第二肽接头分别包含CH1、CH2、CH3、CH4或CL抗体域或其片段。在一些实施方案中,第一和/或第二肽接头分别包含Cα、Cβ、Cγ或CδTCR域或其片段。

[0036] 在一些实施方案中,根据以上所述的靶细胞杀伤方法中的任一者,该接触为体内的。在一些实施方案中,该接触为体外的。

[0037] 在一些实施方案中,提供一种药物组合物,其包含根据以上所述abTCR(例如经分离abTCR)中的任一者的abTCR及药物上可接受的载剂。在一些实施方案中,提供一种药物组合物,其包含编码根据以上所述实施方案中的任一者的abTCR的核酸及药物上可接受的载剂。在一些实施方案中,提供一种药物组合物,其包含表达根据以上所述abTCR(例如经分离abTCR)中的任一者的abTCR的效应细胞及药物上可接受的载剂。

[0038] 在一些实施方案中,提供一种治疗有需要个体的靶抗原相关疾病的方法,其包含向个体施用有效量的药物组合物,该药物组合物包含表达根据以上所述abTCR(例如经分离abTCR)中的任一者的abTCR的效应细胞。

[0039] 在一些实施方案中,提供一种治疗有需要个体的靶抗原相关疾病的方法,其包含向个体施用有效量的组合物,该组合物包含效应αβT细胞,该效应αβT细胞包含特异性结合至靶抗原的abTCR,其包含:a)第一多肽链,其包含第一抗原结合域及第一TCRD,该第一抗原结合域包含V_H抗体域,该第一TCRD包含第一TCR亚单元的第一跨膜域;及b)第二多肽链,其包含第二抗原结合域及第二TCRD,该第二抗原结合域包含V_L抗体域,该第二TCRD包含第二TCR亚单元的第二跨膜域,其中第一抗原结合域的V_H域与第二抗原结合域的V_L域形成特异性结合至靶抗原的抗原结合模块,其中第一TCRD与第二TCRD形成能够招募至少一个TCR相关信号传导模块的T细胞受体模块(TCRM),且其中第一TCR亚单元为TCRγ且第二TCR亚单元为TCRδ,或第一TCR亚单元为TCRδ且第二TCR亚单元为TCRγ。在一些实施方案中,第一多肽链进一步包含在第一抗原结合域与第一TCRD之间的第一肽接头且第二多肽链进一步包含在第二抗原结合域与第二TCRD之间的第二肽接头。在一些实施方案中,第一和/或第二肽接头分别包含来自免疫球蛋白或T细胞受体亚单元的恒定域或其片段。在一些实施方案中,第一和/或第二肽接头分别包含CH1、CH2、CH3、CH4或CL抗体域或其片段。在一些实施方案中,第

一和/或第二肽接头分别包含Cα、Cβ、Cγ或CδTCR域或其片段。

[0040] 在一些实施方案中，根据以上所述治疗靶抗原相关疾病的方法中的任一者，该靶抗原相关疾病为癌症。在一些实施方案中，癌症选自下组：肾上腺皮质癌、膀胱癌、乳腺癌、子宫颈癌、胆管癌、结肠直肠癌、食道癌、神经胶母细胞瘤、神经胶质瘤、肝细胞癌、头颈癌、肾癌、淋巴瘤、白血病、肺癌、黑素瘤、间皮瘤、多发性骨髓瘤、胰脏癌、嗜铬细胞瘤、浆细胞瘤、神经母细胞瘤、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤、胃癌、子宫癌及甲状腺癌。在一些实施方案中，靶抗原相关疾病为病毒感染。在一些实施方案中，病毒感染是由选自以下的病毒引起：巨细胞病毒(CMV)、埃-巴二氏病毒(Epstein-BarrVirus;EBV)、B型肝炎病毒(HBV)、卡波西氏肉瘤相关疱疹病毒(Kaposi'sSarcomaassociatedherpesvirus;KSHV)、人类乳头状瘤病毒(HPV)、传染性软疣病毒(MCV)、人类T细胞白血病病毒1(HTLV-1)、HIV(人类免疫缺乏病毒)及C型肝炎病毒(HCV)。

[0041] 在一些实施方案中，提供一种治疗有需要个体的靶抗原相关疾病的方法，其包含向个体施用有效量的药物组合物，该药物组合物包含编码根据以上所述abTCR(例如经分离abTCR)中的任一者的abTCR的核酸。

[0042] 在一些实施方案中，提供一种富集异质性细胞群体中表达根据以上所述abTCR(例如经分离abTCR)中的任一者的abTCR的效应细胞的方法，其中该方法包含a)使异质性细胞群体与包含靶抗原或其中所含的一或多个表位的配体接触，形成效应细胞与配体结合的复合体；及b)自异质性细胞群体中分离复合体，从而产生针对效应细胞富集的细胞群体。

[0043] 在一些实施方案中，提供一种核酸文库，其包含编码多个根据以上所述abTCR(例如经分离abTCR)中的任一者的abTCR的序列。

[0044] 在一些实施方案中，提供一种筛选根据以上所述实施方案中的任一者的核酸文库中编码对靶抗原具有特异性的abTCR的序列的方法，其包含：a)将核酸文库引入至多个细胞中，使得abTCR表达于多个细胞的表面上；b)将多个细胞与包含靶抗原或其中所含的一或多个表位的配体一起温育；c)收集结合至配体的细胞；及d)自步骤c)中所收集的细胞中分离编码abTCR的序列，从而鉴别对靶抗原具有特异性的abTCR。

[0045] 还提供本文所述构建体中的任一者的制造方法、制品及适合于本文所述方法的试剂盒。

附图说明

[0046] 图1A显示各种abTCR构建体设计(abTCR-3、abTCR-4、abTCR-5及abTCR-6)的示意性图示。

[0047] 图1B显示abTCR构建体设计的预期变化形式。

[0048] 图2显示用于组装TCR-CD3复合体的常规模型。

[0049] 图3显示来自J.RT3-T3.5或Jurkat细胞的裂解物的蛋白免疫印迹分析，所述细胞分别经具有抗AFP158/HLA*02:01结合部分的abTCR-3、-4、-5、-6或-6MD构建体转导，经抗FLAG(源自TCRα及TCRγ的嵌合亚单元)或抗HA抗体(源自TCRβ及TCRδ的嵌合亚单元)染色。

[0050] 图4A显示J.RT3-T3.5细胞中的表面CD3ε表达的流式细胞术分析，所述细胞分别经具有抗AFP158/HLA-A*02:01结合部分的abTCR-3、-4、-5、-6或-6MD构建体转导；细胞用抗CD3ε抗体染色。

[0051] 图4B显示J.RT3-T3.5细胞中的表面AFP158/HLA-A*02:01四聚物结合的流式细胞术分析，所述细胞分别经具有抗AFP158/HLA-A*02:01结合部分的abTCR-3、-4、-5、-6或-6MD构建体转导；细胞用经藻红素(PE)标记的AFP158/HLA-A*02:01四聚物染色。

[0052] 图4C显示J.RT3-T3.5细胞中的表面抗个体基因型抗体结合的流式细胞术分析，所述细胞分别经具有由抗体识别的抗AFP158/HLA-A*02:01结合部分的abTCR-3、-4、-5、-6或-6MD构建体转导；细胞用针对abTCR构建体的抗AFP158/HLA-A*02:01结合部分的抗个体基因型抗体染色。

[0053] 图5A显示Jurkat细胞中的表面抗TCRα/β抗体结合的流式细胞术分析，所述细胞分别经具有抗AFP158/HLA-A*02:01结合部分的abTCR-3、-4、-5、-6或-6MD构建体转导；细胞用抗TCRα/β抗体染色。

[0054] 图5B显示Jurkat细胞中的表面AFP158/HLA-A*02:01四聚物结合的流式细胞术分析，所述细胞分别经具有抗AFP158/HLA-A*02:01结合部分的abTCR-3、-4、-5、-6或-6MD构建体转导；细胞用经PE标记的AFP158/HLA-A*02:01四聚物染色。

[0055] 图5C显示Jurkat细胞中的表面抗个体基因型抗体结合的流式细胞术分析，所述细胞分别经具有由抗体识别的抗AFP158/HLA-A*02:01结合部分的abTCR-3、-4、-5、-6或-6MD构建体转导；细胞用针对abTCR构建体的抗AFP158/HLA-A*02:01结合部分的抗个体基因型抗体染色。

[0056] 图6显示J.RT3-T3.5细胞中CD3ε与abTCR嵌合体的共表达的流式细胞术分析，所述细胞分别经具有抗AFP158/HLA-A*02:01结合部分的abTCR-6或abTCR-6MD构建体转导；细胞用抗CD3ε抗体及AFP158/HLA-A*02:01四聚物共染色。

[0057] 图7A显示经abTCR转导的外周血液淋巴细胞的流式细胞术分析；细胞经具有抗AFP158/HLA-A*02:01结合部分的abTCR-6MD构建体转导且经抗CD4抗体、抗CD8抗体及AFP158/HLA-A*02:01四聚物共染色。虚线框指示图7B中的CD4/CD8图中所示的细胞的四聚物$^{+}$群体闸。

[0058] 图7B显示外周血液淋巴细胞上的CD4及CD8表达的流式细胞术分析，所述细胞经模拟转导或经具有抗AFP158/HLA-A*02:01结合部分的abTCR-6MD构建体转导且经抗CD4及抗CD8抗体共染色；显示未经闸控的细胞(上面2张图)或经四聚物$^{+}$闸控的细胞(下图)的CD4及CD8表达。

[0059] 图8显示外源性abTCR链与CD3复合体的相关性的蛋白免疫印迹分析；毛地黄皂苷裂解物由经模拟转导或经具有抗AFP158/HLA-A*02:01结合部分的abTCR-6MD转导的原代T细胞制得；用抗FLAG、抗CD3δ、抗CD3ε、抗CD3γ或抗CD3ζ抗体对裂解物或抗FLAG免疫沉淀物进行免疫印迹分析。

[0060] 图9A显示原代T细胞在用具有相同的抗AFP158/HLA-A*02:01结合部分可变域的CAR或abTCR-6MD转导后的转导效率；细胞用经PE标记的AFP158/HLA-A*02:01四聚物染色。

[0061] 图9B显示癌细胞系HepG2、SK-HEP-1及SK-HEP-1-AFP-MG的由T细胞介导的杀伤，所述T细胞经具有相同的抗AFP158/HLA-A*02:01结合部分可变域的CAR或abTCR-6MD构建体转导。

[0062] 图10显示经abTCR转导的T细胞在与靶细胞共培养后脱粒的流式细胞术分析；T细胞经具有相同的抗AFP158/HLA-A*02:01结合部分可变域的CAR或abTCR-6MD转导。显示

AFP158/HLA-A*02:01四聚物、抗CD8抗体或抗CD107a抗体对经转导细胞在与靶细胞HepG2、SK-HEP-1及SK-HEP-1-AFP-MG共培养后的染色。

[0063] 图11A显示由经模拟转导的T细胞或经具有相同的抗AFP158/HLA-A*02:01结合部分可变域的CAR或abTCR-6MD转导的T细胞在与HepG2细胞共培养后分泌的一组细胞因子的水平。

[0064] 图11B显示由经模拟转导的T细胞或经具有相同的抗AFP158/HLA-A*02:01结合部分可变域的CAR或abTCR-6MD转导的T细胞在与SK-HEP-1或SK-HEP-1-AFP-MG细胞共培养后分泌的一组细胞因子的水平。

[0065] 图12A至图12H显示经转导的T细胞在存在或不存在靶癌细胞的情况下的细胞因子产生的流式细胞术分析;T细胞经具有相同的抗AFP158/HLA-A*02:01结合部分可变域的CAR或abTCR-6MD转导,与SK-HEP-1、SK-HEP-1-AFP-MG或HepG2细胞共培养;细胞随后用经PE标记的AFP158/HLA-A*02:01四聚物、抗CD4抗体、以及抗TNF-α抗体(12A及12B)、抗IFNγ抗体(12C及12D)、抗IL-2抗体(12E及12F)或抗IL-6抗体(12G及12H)中的一者共染色。所示群体经AFP158/HLA-A*02:01四聚物$^{+}$细胞闸控。

[0066] 图13显示经抗AFP158abTCR转导且与AFP表达阳性或阴性的癌细胞系一起温育的CD4+T细胞中的细胞因子表达的标靶特异性活化。

[0067] 图14显示经具有相同的抗AFP158/HLA-A*02:01结合部分可变域的CAR或abTCR转导的T细胞在暴露于抗原阳性或阴性靶细胞后,其上的T细胞耗尽标记物PD-1、LAG-3及TIM-3的流式细胞术分析。

[0068] 图15显示经具有相同的抗AFP158/HLA-A*02:01结合部分可变域的CAR或abTCR转导的T细胞在暴露于抗原阳性或阴性靶细胞后,其上的T细胞分化标记物CD28、CCR7及颗粒酶B的流式细胞术分析。

[0069] 图16A至图16C显示经具有相同的抗AFP158/HLA-A*02:01结合部分可变域的抗AFP158/HLA-A*02:01abTCR-6MD或抗AFP158/HLA-A*02:01abTCR-7转导的T细胞的表征。图16A显示经转导T细胞的细胞生长。图16B显示abTCR-6MD及abTCR-7在T细胞中的表达的蛋白免疫印迹分析,使用抗FLAG抗体检测经FLAG标记的构建体。包括CD3ζ的染色作为内参考物。图16C显示由经abTCR-6MD或abTCR-7转导的T细胞介导的SK-HEP-1及SK-HEP-1-AFP-MG细胞的杀伤。

[0070] 图17显示由经模拟转导的T细胞或经具有相同的抗CD19结合部分可变域的CAR或abTCR-6MD转导的T细胞介导的癌细胞系JeKo-1、IM9、THP-1及Jurkat的杀伤。

[0071] 图18A及图18B显示由与JeKo-1、IM9、THP-1或Jurkat细胞系共培养的、经模拟转导的T细胞或经具有相同的抗CD19结合部分可变域的CAR或abTCR-6MD转导的T细胞分泌的一组细胞因子的水平。

[0072] 图19显示经抗CD19abTCR转导且与CD19表达阳性或阴性的癌细胞系一起温育的CD4+T细胞中的细胞因子表达的标靶特异性活化。

[0073] 图20显示经具有相同的抗CD19结合部分可变域的CAR或abTCR转导的T细胞在暴露于抗原阳性或阴性靶细胞后,其上的T细胞分化标记物CD28、CCR7及颗粒酶B的流式细胞术分析。

[0074] 图21显示经CAR或abTCR转导的$CD4^{+}$或$CD8^{+}$T细胞在暴露于抗原阳性靶细胞期间的

增殖，两者均为具有相同抗CD19结合部分可变域的嵌合受体，如通过在起始暴露后第2天至第3天的染料稀释所评估。

[0075] 图22显示经CAR或abTCR转导的T细胞上的嵌合受体在指定时间点的内化，所述嵌合受体均为具有相同抗CD19结合部分可变域的嵌合受体，如通过针对具有靶向抗CD19结合部分的抗个体基因型抗体的表面嵌合受体染色的细胞的流式细胞术分析所评估。

[0076] 图23A及图23B显示经具有相同的抗CD19结合部分可变域的abTCR(抗CD19abTCR-6MD)或cTCR(抗CD19-cTCR)转导的T细胞的表征。图23A显示abTCR及cTCRT细胞的细胞生长。图23B显示通过经模拟转导的T细胞或经abTCR或cTCR转导的T细胞介导的CD19阳性癌细胞系Nalm-6的杀伤。

[0077] 图24显示通过经模拟转导的T细胞或经具有相同的抗NY-ESO-1结合部分可变域的CAR(#35CAR)或abTCR-6MD(#35abTCR)转导的T细胞介导的癌细胞系IM9、Colo205、MDA-231、MCF7、JeKo-1、Raji、Hep1及Jurkat的杀伤。

[0078] 图25A显示CD3及CD56在自人类PBMC纯化的NKT细胞子组上的表达的流式细胞术分析。

[0079] 图25B显示由与Raji或Raji-CD19ko细胞系共培养的经模拟转导的T细胞或经具有抗CD19结合部分的abTCR-6MD转导的T细胞分泌的细胞因子IL-2、GM-CSF、IFNγ及TNFα的水平。对照包括单独的经模拟转导或经abTCR转导的T细胞，及单独的Raji或Raji-CD19ko细胞。

[0080] 图26A显示CD25及CD4在自人类PBMC纯化的Treg细胞子组上的表达的流式细胞术分析。

[0081] 图26B显示通过与Raji或Raji-CD19ko细胞系共培养的经模拟转导的T细胞或经具有抗CD19结合部分的abTCR-6MD转导的T细胞分泌的细胞因子IL-2、GM-CSF、IFNγ及TNFα的水平。

[0082] 图27显示通过经模拟转导的T细胞或经具有各种免疫球蛋白CH1域，各自具有相同的抗AFP结合部分的abTCR转导的T细胞介导的癌细胞系HepG2、SK-Hep1及SK-Hep1-AFPMG的杀伤。

[0083] 图28显示含有一或多个共刺激域的各种abTCR构建体设计(abTCR-6M-1、abTCR-6M-2、abTCR-6M-3、abTCR-6M-4、abTCR-6M-5、abTCR-6M-6、abTCR-6M-7、abTCR-6M-8)的示意性图示。

[0084] 图29显示通过经模拟转导的T细胞或经具有一或多个C端共刺激域，各自具有相同抗AFP结合部分的各种abTCR转导的T细胞介导的癌细胞系HepG2、SK-Hep1及SK-Hep1-AFPMG的杀伤。

[0085] 图30显示通过与SK-Hep1或SK-Hep1-AFPMG细胞系共培养的经模拟转导的T细胞或经具有一或多个C端共刺激域，各自具有相同抗AFP结合部分的各种abTCR转导的T细胞分泌的细胞因子IL-2、GM-CSF、IFNγ及TNFα的水平。

[0086] 图31显示通过经模拟转导的T细胞或经具有一或多个C端共刺激域，各自具有相同抗CD19结合部分的各种abTCR转导的T细胞介导的癌细胞系Raji、Raji-CD19ko及JeKo-1的杀伤。

[0087] 图32显示通过与Raji、Raji-CD19ko或JeKo-1细胞共培养的经模拟转导的T细胞或

经具有一或多个C端共刺激域，各自具有相同抗CD19结合部分的各种abTCR转导的T细胞分泌的细胞因子IL-2、GM-CSF、IFNγ及TNFα的水平。

[0088] 图33显示在经静脉内注射经模拟转导的T细胞或经具有抗AFP158/HLA-A*02:01结合部分的abTCR-6MD转导的T细胞处理的SK-HEP-1-AFP-MG的皮下小鼠异种移植模型中，随时间的体重变化。

[0089] 图34A显示在经静脉内注射经模拟转导的T细胞或经具有抗AFP158/HLA-A*02:01结合部分的abTCR-6MD转导的T细胞处理的SK-HEP-1-AFP-MG的皮下小鼠模型中的肿瘤生长。

[0090] 图34B显示在无处理或单次瘤内注射经具有抗AFP158/HLA-A*02:01结合部分的abTCR-6MD转导的T细胞的SK-HEP-1-AFP-MG的皮下小鼠模型中当平均肿瘤体积达到300mm^3时的肿瘤生长。

[0091] 图35显示在经各种抗CD19abTCR(克隆5、5-3、5-9及5-14)转导的T细胞处理的报告基因Raji静脉内异种移植小鼠中的肿瘤生长。包括经模拟转导的T细胞及无T细胞处理作为对照。

[0092] 图36显示注射有经模拟转导的T细胞或经具有克隆5-13抗CD19结合部分可变域的CAR或abTCR-6MD转导的T细胞的Raji异种移植小鼠中IL-2、IFN-γ、TNF-α及IL-10的血清水平。

[0093] 图37显示经具有克隆5-13抗CD19结合部分可变域的CAR或abTCR-6MD转导的T细胞处理的报告基因Raji异种移植小鼠中肿瘤生长的定量。包括经模拟转导的T细胞作为对照。

[0094] 图38显示在经具有克隆5-13抗CD19结合部分可变域的CAR或abTCR-6MD转导的T细胞处理的报告基因Raji异种移植小鼠中源自肿瘤的生物发光的成像结果。包括经模拟转导的T细胞作为对照。灰阶转换热图(grey-scale converted heatmap)指示在肿瘤位置每秒的总光子数，其以覆盖于小鼠影像上的黑点形式出现。

[0095] 图39显示在初始肿瘤细胞植入且用经克隆5-13抗CD19abTCR-6MD转导的T细胞处理之后用肿瘤细胞再攻击7周的报告基因Raji异种移植小鼠中肿瘤生长的定量。包括经模拟转导的T细胞作为对照。

[0096] 图40显示经具有克隆5-13抗CD19结合部分可变域的CAR或abTCR-6MD转导的T细胞处理的报告基因NALM-6静脉内异种移植小鼠中的肿瘤生长。包括经模拟转导的T细胞及无T细胞处理作为对照。

[0097] 图41显示注射有经具有克隆5-13抗CD19结合部分可变域的CAR或abTCR-6MD转导的细胞的NALM-6异种移植小鼠中IL-2、IL-4、IL-6、IL-8、IL-10、IFN-γ及TNF-α的血清水平。包括经模拟转导的T细胞及无T细胞处理作为对照。

[0098] 图42显示在处理后第7天及第13天，注射有经具有克隆5-13抗CD19结合部分可变域的CAR或abTCR-6MD转导的细胞的NALM-6异种移植小鼠的血液中的嵌合受体阳性T细胞的量。

[0099] 图43显示在处理后第13天，注射有经具有克隆5-13抗CD19结合部分可变域的CAR或abTCR-6MD转导的细胞的NALM-6异种移植小鼠的血液中的肿瘤细胞的流式细胞术分析。

[0100] 图44显示在处理后第13天，注射有经具有克隆5-13抗CD19结合部分可变域的CAR或abTCR-6MD转导的细胞的NALM-6异种移植小鼠的骨髓中的肿瘤细胞的流式细胞术分析。

[0101] 图45显示注射有经具有克隆5-13抗CD19结合部分可变域的CAR或abTCR-6MD转导的细胞的NALM-6异种移植小鼠的血液中的$CD4^+$或$CD8^+$的$CD3^+$T细胞上的PD-1表达的流式细胞术分析。

[0102] 图46显示注射有经具有克隆5-13抗CD19结合部分可变域的CAR或abTCR-6MD转导的细胞的NALM-6异种移植小鼠的骨髓中的$CD4^+$或$CD8^+$的$CD3^+$T细胞上的PD-1表达的流式细胞术分析。

[0103] 发明详述

[0104] 本申请提供一种经分离嵌合抗体/T细胞受体构建体(本文中称为“abTCR”),其包含a)特异性结合至靶抗原的抗体部分,例如Fab或Fv片段;及b)能够招募至少一个TCR相关信号传导模块的T细胞受体模块(TCRM)。

[0105] 我们已研发出一系列新颖的合成嵌合抗体/TCR构建体,其将我们的TCR样mAb以及已知mAb的结合特异性及亲和力与通过TCR获得的标靶特异性细胞毒性效能及控制活化相组合。经转导以表达abTCR的原代T细胞显示有效的表面表达且联合内源性CD3分子形成稳定的TCR样信号传导复合体。当经工程化至T细胞中时,abTCR以MHC依赖性(肽/MHC抗原)及MHC非依赖性(细胞表面抗原)组态赋予T细胞体外及体内针对携带标靶的肿瘤细胞的强力细胞毒性。观察到经转导以表达abTCR的多个不同T细胞子组的标靶特异性活化,包括CD4+T细胞、CD8+T细胞、自然杀伤T(NKT)细胞及调节T(Treg)细胞。此外,发现包括细胞内共刺激序列的abTCR的表现与对应的不含任何共刺激序列的abTCR一样好,且在一些情况下更好。

[0106] 尽管CART细胞疗法展现出了显著的治疗潜力,但临床试验连续触发与过量细胞因子释放及不受控制的T细胞增殖相关的严重不良事件。在不受理论限制的情况下,相信abTCR可由天然存在的控制TCR活化的机构调节,需要与内源性CD3复合体组装以活化T细胞介导的杀伤,且可因此避免组成性活化。我们已发现,经abTCR构建体转导的T细胞相比于经携带相同抗体可变区,同时在癌细胞杀伤方面具有同等效能的对应嵌合抗原受体(CAR)转导的T细胞而言,表达较少水平的细胞因子(例如,IL-2)及T细胞耗尽标记物(例如,PD-1、TIM3及LAG1)。此策略由此提供优于使用CAR的显著技术优势,产生细胞毒性信号传导响应于内源性T细胞调节机制且具有体内功能持续更久的潜力的T细胞。通过将单克隆抗体与特异性抗原(例如细胞表面抗原或肽/MHC复合体)的结合的极度最佳化与T细胞受体啮合内源性信号传导复合体以活化免疫细胞的能力相组合,本发明允许经由肽/MHC复合体高度特异性且强力靶向低拷贝数细胞表面抗原,以及细胞内或分泌抗原。

[0107] 本申请由此提供一种abTCR(例如经分离abTCR),其包含特异性结合至靶抗原的抗体部分及能够招募至少一个TCR相关信号传导模块的TCRM。abTCR可为包含第一多肽链及第二多肽链的杂二聚体。抗体部分可包含重链可变抗体域(V_H)及轻链可变抗体域(V_L)。在一些实施方案中,抗体部分进一步包含一或多个抗体重链恒定域,例如重链恒定1抗体域(C_H1)和/或轻链恒定抗体域(C_L)。TCRM包含第一T细胞受体域(TCRD)及第二TCRD,第一TCRD包含第一TCR亚单元的跨膜域,第二TCRD包含第二TCR亚单元的跨膜域。abTCR的第一多肽链及第二多肽链可经由一或多个二硫键连接。关于例示性abTCR构建体设计,参见图1A。

[0108] 在另一方面中,提供一或多个编码abTCR的核酸。

[0109] 在又另一方面中,提供一种复合体(本文中称为“abTCR-CD3复合体”),其包含abTCR及至少一个TCR相关信号传导模块。复合体可为包含四个二聚物abTCR、CD3δε、CD3γε

及ζζ的八聚物。也提供一种效应细胞，例如T细胞，其表达abTCR或abTCR-CD3复合体或者与abTCR或abTCR-CD3复合体相关。

[0110] 在又另一方面中，提供一种组合物，其包含abTCR。组合物可为包含abTCR或效应细胞的药物组合物，该效应细胞表达abTCR或与abTCR相关(例如，表达abTCR的T细胞)。

[0111] 出于治疗目的，还提供abTCR(或表达abTCR或与abTCR相关的细胞)的的制造及使用方法，以及适用于此类方法的试剂盒及制品。进一步提供使用abTCR(或表达abTCR或与abTCR相关的细胞)治疗疾病的方法。

[0112] 定义

[0113] 如本文所用，“治疗(treatment/treating)”为用于获得有益或期望结果(包括临床结果)的方法。出于本发明的目的，有益或期望临床结果包括(但不限于)以下中的一或多者：缓解一或多种产生于疾病的症状、降低疾病程度、使疾病稳定化(例如预防或延迟疾病恶化)、预防或延迟疾病扩散(例如转移)、预防或延迟疾病复发、延迟或减缓疾病进展、改善疾病状态、提供疾病缓解(部分或完全)、减少治疗疾病所需的一或多种其他药物的剂量、延迟疾病进展、增加或改善生活品质、增加体重增长和/或延长存活期。“治疗”也涵盖疾病的病理性结果(例如，癌症中的肿瘤体积)降低。本发明的方法涵盖这些治疗方面中的任何一或多者。

[0114] 术语“复发(recurrence/relapse/relapsed)”是指癌症或疾病在疾病消失的临床评估之后的返回。远端转移或局部复发的诊断可视为复发。

[0115] 术语“难治性”或“耐受性”是指不回应于治疗的癌症或疾病。

[0116] 如本文中关于T细胞所用的“活化”是指已经充分刺激而诱导可检测细胞增殖的T细胞状态。活化也可与诱导的细胞因子产生及可检测效应功能相关联。

[0117] 术语“抗体”或“抗体部分”包括全长抗体及其抗原结合片段。全长抗体包含两个重链及两个轻链。轻链及重链的可变区负责抗原结合。两种链中的可变区一般均含有三个称作互补决定区(CDR)的高度可变环(轻链(LC)CDR包括LC-CDR1、LC-CDR2及LC-CDR3，重链(HC)CDR包括HC-CDR1、HC-CDR2及HC-CDR3)。本文所揭示的抗体及抗原结合片段的CDR边界可通过Kabat、Chothia或Al-Lazikani公约(Al-Lazikani 1997;Chothia 1985;Chothia 1987;Chothia 1989;Kabat 1987;Kabat 1991)界定或鉴别。重链或轻链的三个CDR插入于称为构架区(FR)的侧接伸长部之间，所述侧接伸长部比CDR更高度保守且形成支撑高变环的架构。重链及轻链的恒定区不参与抗原结合，但展现各种效应功能。抗体基于其重链的恒定区氨基酸序列分配至各种类别。抗体的五种主要类别或同型为IgA、IgD、IgE、IgG及IgM，其特征为分别存在α、δ、ε、γ及μ重链。若干主要抗体类别分成子类，例如lgG1(γ1重链)、lgG2(γ2重链)、lgG3(γ3重链)、lgG4(γ4重链)、lgA1(α1重链)或lgA2(α2重链)。

[0118] 如本文所用的术语“抗原结合片段”是指抗体片段，包括例如双抗体、Fab、Fab'、F(ab')2、Fv片段、二硫键稳定性Fv片段(dsFv)、(dsFv)2、双特异性dsFv(dsFv-dsFv')、二硫键稳定性双抗体(ds双抗体)、单链抗体分子(scFv)、scFv二聚体(二价双抗体)、由包含一或多个CDR的抗体的一部分形成的多特异性抗体、骆驼的单域抗体、纳米抗体、域抗体、二价域抗体、或结合至抗原但不包含完整抗体结构的任何其他抗体片段。抗原结合片段能够结合至与亲本抗体或亲本抗体片段(例如亲本scFv)所结合相同的抗原。在一些实施方案中，抗原结合片段可包含接合至来自一或多种不同人类抗体的构架区的来自特定人类抗体的一

或多个CDR。

[0119] “Fab样抗原结合模块”是指包含第一多肽链及第二多肽链的抗体部分，其中第一及第二多肽链包含V_L抗体域、C_L抗体域、V_H抗体域及C_H1抗体域。V_L及C_L抗体域可位于一条链上，且V_H及C_H1抗体域位于另一条链上；或者V_L及C_H1抗体域可位于一条链上，且V_H及C_L抗体域位于另一条链上。在一些实施方案中，第一及第二多肽链经由二硫键连接。

[0120] 如本文所用，当第一抗体部分在等摩尔浓度的第一抗体部分存在下使第二抗体部分的靶抗原结合抑制至少约50％(例如至少约55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、98％或99％中的任一者)时，第一抗体部分与第二抗体部分“竞争”结合至靶抗原，或反之亦然。基于抗体的交叉竞争而将其“框并(binning)”的高通量方法描述于PCT公开案第WO03/48731号中。

[0121] 如本文中所用，术语“特异性结合”或“对.....具有特异性”是指可测量且可再现的相互作用，例如标靶与抗体或抗体部分之间的结合，其在非均质分子(包括生物分子)群体存在下决定标靶的存在。举例而言，特异性结合于标靶(其可为表位)的抗体部分为以相比于其结合至其他标靶而言更大的亲和力、亲合力、更容易和/或以更长持续时间结合该标靶的抗体部分。在一些实施方案中，特异性结合于抗原的抗体部分以至少为其对于其他标靶的结合亲和力约10倍的结合亲和力与抗原(例如细胞表面抗原或肽/MHC蛋白质复合体)的一或多个抗原决定子反应。

[0122] 术语“T细胞受体”或“TCR”是指由T细胞表面上配对的αβ或γδ链构成的杂二聚受体。各α、β、γ及δ链由两个Ig样域构成：经由互补决定区(CDR)赋予抗原识别的可变域(V)，随后为通过连接肽及跨膜(TM)区锚定至细胞膜的恒定域(C)。TM区与CD3信号传导机构的恒定亚单元结合。V域各自具有三个CDR。这些CDR与结合至由主要组织相容性复合体(pMHC)编码的蛋白质的抗原肽之间的复合体相互作用(Davis and Bjorkman(1988)Nature,334,395-402;Davis et al.(1998)Annu Rev Immunol,16,523-544;Murphy(2012),xix,868p.)。

[0123] 术语“TCR相关信号传导模块”是指具有基于细胞质免疫受体酪氨酸的活化基序(ITAM)的分子，其为TCR-CD3复合体的一部分。TCR相关信号传导模块包括CD3γε、CD3δε及ζζ。

[0124] 术语“模块”当涉及蛋白质或蛋白质的一部分时意为该蛋白质或该蛋白质的一部分包含多个多肽链(例如，二聚蛋白质或二聚蛋白质的一部分)。多个多肽链可例如经由接头(例如，肽接头)或化学键(例如，肽键)连接。“模块”意为包括一或多个组成蛋白质的多肽的结构上和/或功能上相关部分。举例而言，二聚受体的跨膜模块可指受体各多肽链的跨膜部分。模块也可指单一多肽链的相关部分。举例而言，单体受体的跨膜模块可指受体单一多肽链的跨膜部分。

[0125] 术语“T细胞受体模块”或“TCRM”是指包含源自T细胞受体的序列的杂二聚体。TCRM包含T细胞受体跨膜域，且可进一步包含所有或一部分T细胞受体连接肽和/或细胞内域。

[0126] 如本文所用的“经分离”构建体(例如abTCR)是指(1)不与自然界中发现的蛋白质相关，(2)不含来自相同来源的其他蛋白质，(3)由来自不同物种的细胞表达，或(4)不存在于自然界中的构建体。

[0127] 如本文所用的术语“经分离核酸”欲意为基因组、cDNA或合成来源或其某一组合的

核酸，凭借其来源，该“经分离核酸”(1)不与发现于自然界中的“经分离核酸”的所有或一部分聚核苷酸相关联，(2)可操作地连接于自然界中不与其连接的聚核苷酸，或(3)在自然界中不作为较大序列的一部分存在。

[0128] 如本文所用，术语“CDR”或“互补决定区”欲意为重链与轻链多肽的可变区内存在的非连续抗原组合位点。这些特定区域已由Kaba等人，J.Biol.Chem.252:6609-6616(1977)；Kabat等人，美国健康及人类服务部(U.S.Dept.of Health and Human Services)，“Sequences of proteins of immunological interest”(1991)；Chothia等人，J.Mol.Biol.196:901-917(1987)；and MacCallum等人，J.Mol.Biol.262:732-745(1996)描述，其中定义包括氨基酸残基相对于彼此比较时的重叠或子组。尽管如此，使用任一定义来提及抗体或接合抗体或其变体的CDR意欲属于如本文所定义及使用的术语的范畴。包涵以上所引用参考文献中的每一者所定义的CDR的氨基酸残基如下阐述于表1中作为对比物。

[0129] 表1:CDR定义

[0130]

	Kabat[1]	Chothia[2]	MacCallum[3]
V_H CDR1	31-35	26-32	30-35
V_H CDR2	50-65	53-55	47-58
V_H CDR3	95-102	96-101	93-101
V_L CDR1	24-34	26-32	30-36
V_L CDR2	50-56	50-52	46-55
V_L CDR3	89-97	91-96	89-96

[0131] [1]残基编号遵循Kabat等人，同前文献的命名法

[0132] [2]残基编号遵循Chothia等人，同前文献的命名法

[0133] [3]残基编号遵循MacCallum等人，同前文献的命名法

[0134] 术语“嵌合抗体”是指如下抗体：其中重链和/或轻链的一部分与源自特定物种或属于特定抗体类别或子类别的抗体中的对应序列相同或同源，而链的其余部分与源自另一物种或属于另一抗体类别或子类别的抗体中的对应序列相同或同源；以及此类抗体的片段，只要其展现本发明的生物活性即可(参见美国专利第4,816,567号；及Morrison等人，Proc.Natl.Acad.Sci.USA,81:6851-6855(1984))。

[0135] 关于抗体或抗体部分的术语“半合成”意为抗体或抗体部分具有一或多个天然存在的序列及一或多个非天然存在的(也即合成)序列。

[0136] 关于抗体或抗体部分的术语“全合成”意为抗体或抗体部分具有固定的、大部分或所有天然产生的V_H/V_L构架配对，但重链及轻链的所有6种CDR的非天然存在的(也即合成)序列。非天然存在的CDR包括包含经修饰的人类CDR序列，例如通过保守氨基酸取代修饰或引入半胱氨酸残基的CDR序列的那些CDR。

[0137] 非人类(例如啮齿动物)抗体的“人源化”形式为含有源自非人类抗体的最小序列的嵌合抗体。在极大程度上，人源化抗体为人类免疫球蛋白(受体抗体)，其中来自受体的高变区(HVR)的残基经来自例如具有所需抗体特异性、亲和力及能力的小鼠、大鼠、兔或非人类灵长类动物的非人类物种(供体抗体)的高变区的残基替换。在一些情况下，人类免疫球蛋白的构架区(FR)残基替换为相应非人类残基。此外，人源化抗体可包含在受体抗体或供

体抗体中未发现的残基。进行这些修饰以进一步改进抗体效能。一般而言，人源化抗体将包含至少一个且通常两个可变域中的大体上全部，其中全部或大体上全部高变环与非人类免疫球蛋白的那些区域相对应且全部或大体上全部FR为人类免疫球蛋白序列的那些区。人源化抗体视情况也将包含免疫球蛋白恒定区(Fc)的至少一部分，通常，人类免疫球蛋白的恒定区的至少一部分。关于其他细节，参见Jones等人，Nature 321:522-525(1986)；Riechmann等人，Nature332:323-329(1988)；and Presta,Curr.Op.Struct.Biol.2:593-596(1992)。

[0138] “同源性”是指两个多肽之间或两个核酸分子之间的序列相似性或序列同一性。当所比较的两个序列中的一个位置由相同碱基或氨基酸单体亚单元占据时，例如若两个DNA分子中的每一者中的一个位置由腺嘌呤占据，则所述分子在该位置处“同源”。两个序列之间的“同源性百分比”或“序列同一性百分比”为两个序列共享的匹配或同源位置的数目除以所比较位置的数目乘以100的函数，任何保守取代视为序列同一性的一部分。举例而言，若两个序列中的10个位置中有6个匹配或同源，则两个序列为60％同源。举例而言，DNA序列ATTGCC及TATGGC共享50％同源性。一般而言，在比对两个序列以得到最大同源性时进行了比较。出于测定氨基酸序列同一性百分比目的的比对可以本领域该技术内的各种方式达成，例如使用公开可获得的电脑软件，例如BLAST、BLAST-2、ALIGN、Megalign(DNASTAR)或MUSCLE软件。本领域的技术人员可确定用于测量比对的适当参数，包括用于达成所比较序列的全长内的最大比对所需的任何算法。然而，出于本文的目的，使用序列比较电脑程序MUSCLE(Edgar,R.C.,Nucleic Acids Research32(5):1792-1797,2004;Edgar,R.C.,BMC Bioinformatics 5(1):113,2004)产生氨基酸序列同一性％值。

[0139] 人类IgG的“C_H1域”(也称为“H1”域的“C1”)通常自约氨基酸118延伸至约氨基酸215(EU编号系统)。

[0140] 除非另外规定，否则“编码氨基酸序列的核苷酸序列”包括为彼此的简并形式且编码相同氨基酸序列的所有核苷酸序列。短语编码蛋白质或RNA的核苷酸序列也可包括内含子，其达到编码蛋白质的核苷酸序列可在一些版本中含有内含子的程度。

[0141] 术语“可操作地连接”是指调节序列与异源核酸序列之间的功能键，其导致后者的表达。举例而言，当第一核酸序列与第二核酸序列处于功能性关系时，第一核酸序列可操作地连接第二核酸序列。举例而言，若启动子影响编码序列的转录或表达，则启动子可操作地连接于编码序列。一般而言，可操作地连接的DNA序列为连续的，且当必需接合两个蛋白质编码区时，在相同阅读框架中。

[0142] 术语“诱导性启动子”是指可通过添加或移除一或多个特定信号来调节活性的启动子。举例而言，诱导性启动子可在一组特定条件下活化可操作地连接的核酸的转录，例如在活化启动子和/或缓解启动子的抑制的诱导剂存在下。

[0143] 如本文所揭示的abTCR或包含abTCR的组合物的“有效量”为足以进行具体陈述的目的的量。“有效量”可凭经验及通过与所述目的相关的已知方法确定。

[0144] 术语“治疗有效量”是指如本文所揭示的abTCR或包含abTCR的组合物可有效“治疗”个体的疾病或病症的量。在癌症的情形下，如本文所揭示的abTCR或包含abTCR的组合物的治疗有效量可减少癌细胞数目；减小肿瘤尺寸或重量；抑制(也即在一定程度上减缓且优选终止)癌细胞浸润至周边器官中；抑制(也即在一定程度上减缓且优选终止)肿瘤转移；在

一定程度上抑制肿瘤生长;和/或在一定程度上减轻一或多种与癌症相关的症状。在如本文所揭示的abTCR或包含abTCR的组合物可阻止生长和/或杀伤现有癌细胞的程度上,其可为细胞生长抑制和/或细胞毒性的。在一些实施方案中,治疗有效量为生长抑制量。在一些实施方案中,治疗有效量为改良患者的无进展存活期的量。在例如病毒感染的传染性疾病的情况下,如本文所揭示的abTCR或包含abTCR的组合物的治疗有效量可减少受到病原体感染的细胞的数目;减少源自病原体的抗原的产生或释放;抑制(也即在一定程度上减缓且优选终止)病原体扩散至未感染细胞中;和/或在一定程度上减轻一或多种与感染相关的症状。在一些实施方案中,治疗有效量为延长患者存活期的量。

[0145] 如本文所使用,“药物上可接受”或“药理学上相容”意为不为生物学上或其他方面不适宜的材料,例如,该材料可并入施用给患者的药物组合物中而不会引起任何显著不当的生物学作用或以有害方式与含有其的组合物的任何其他组分相互作用。药物上可接受的载剂或赋形剂优选满足毒理学及制造测试所要求的标准和/或包括于美国食品药物管理局(U.S.Food and Drug administration)制定的非活性成分导引(Inactive Ingredient Guide)中。

[0146] 应了解,本文所述的本发明实施方案包括“由”实施方案“组成”和/或“基本上由”实施方案“组成”。

[0147] 本文中提及“约”某个值或参数时包括(且描述)针对该值或参数本身的变化。举例而言,关于“约X”的描述包括“X”的描述。如本文所用,提及“不为”某个值或参数时一般意为且描述“除”该值或参数“以外”。举例而言,该方法不用于治疗X型癌症意为该方法用于治疗除X以外的类型的癌症。

[0148] 除非上下文另外明确指示,否则如本文中及所附申请专利范围中所使用,单数形式“一(a/an)”及“该”包括多个参照物。

[0149] 嵌合抗体/T细胞受体构建体

[0150] 在一个方面中,本发明提供一种靶抗原特异性嵌合抗体/T细胞受体(abTCR),其特异性结合至靶抗原(例如细胞表面抗原或肽/MHC复合体)且能够招募至少一个TCR相关信号传导模块(例如CD3δε、CD3γε或ζζ)。在一些实施方案中,abTCR包含第一多肽链及第二多肽链。在一些实施方案中,第一及第二多肽链例如通过共价键(例如,肽键或其他化学键)或非共价键连接。在一些实施方案中,abTCR为包含第一多肽链及第二多肽链的杂二聚体。在一些实施方案中,第一多肽链及第二多肽链经由至少一个二硫键连接。abTCR的特异性源自赋予靶抗原结合特异性的抗体部分。在一些实施方案中,抗体部分为包含V_H、C_H1、V_L及C_L抗体域的Fab样抗原结合模块。在一些实施方案中,抗体部分为包含V_H及V_L抗体域的Fv样抗原结合模块。abTCR招募TCR相关信号传导模块的能力源自T细胞受体模块(TCRM)。在一些实施方案中,TCRM包含TCR的跨膜模块(例如αβTCR或γδTCR)。在一些实施方案中,TCRM进一步包含TCR的连接肽或其片段中的一者或两者。在一些实施方案中,跨膜模块及连接肽或其片段源自同一种TCR类型(αβ或γδ)。在一些实施方案中,跨膜模块源自αβTCR且连接肽或其片段源自γδTCR,或者跨膜模块源自γδTCR且连接肽或其片段源自αβTCR。在一些实施方案中,abTCR进一步包含至少一个细胞内域。在一些实施方案中,abTCR的至少一个细胞内域中的一或多者包含来自TCR的细胞内域的序列。在一些实施方案中,abTCR的至少一个细胞内域中的一或多者包含T细胞共刺激信号传导序列。共刺激信号传导序列可为共刺激分子的细

胞内域的一部分，该共刺激分子包括例如CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30、CD40、ICOS、淋巴细胞功能相关抗原-1(LFA-1)、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、B7-H3、特异性结合CD83的配体及其类似物。在一些实施方案中，抗体部分含于abTCR的细胞外域中。在一些实施方案中，abTCR进一步包含在抗体部分与TCRM之间的一或多个肽接头以最佳化细胞外域的长度。在一些实施方案中，提及特异性结合至靶抗原的抗原结合模块(例如Fab样或Fv样抗原结合模块)时意为抗原结合模块以a)相对于其于其他分子的结合亲和力至少约10(包括例如至少约10、20、30、40、50、75、100、200、300、400、500、750、1000或更大中的任一者)倍的亲和力；或b)相对于其结合至其他分子的K_d不超过约1/10(例如不超过约1/10、1/20、1/30、1/40、1/50、1/75、1/100、1/200、1/300、1/400、1/500、1/750、1/1000或更小中的任一者)的K_d结合至靶抗原。结合亲和力可通过本领域中已知的方法，例如ELISA、荧光活化细胞分选(FACS)分析或放射免疫沉淀分析(RIA)测定。K_d可通过本领域中已知的方法，例如利用例如Biacore仪器的表面等离子共振(SPR)分析，或利用例如Sapidyne仪器的动力学排除分析(KinExA)测定。

[0151] 预期abTCR构建体包括例如特异性结合至细胞表面抗原的abTCR及特异性结合至细胞表面递呈肽/MHC复合体的abTCR。

[0152] 在一些实施方案中，abTCR包含Fab样抗原结合模块，其包含a)第一多肽链，第一多肽链包含第一抗原结合域，第一抗原结合域包含V_H抗体域及C_H1抗体域；及b)第二多肽链，第二多肽链包含第二抗原结合域，第二抗原结合域包含V_L抗体域及C_L抗体域。在一些实施方案中，第一抗原结合域包含C_H1抗体域氨基端的V_H抗体域和/或第二抗原结合域包含C_L抗体域氨基端的V_L抗体域。在一些实施方案中，在V_L与C_L抗体域之间存在肽接头和/或在V_H与C_H1抗体域之间存在肽接头。在一些实施方案中，所有V_L抗体域及V_H抗体域CDR都源自同一抗体部分。在一些实施方案中，V_L抗体域及V_H抗体域包含源自超过一个抗体部分的抗体CDR。在一些实施方案中，V_L抗体域包含源自V_H抗体域的抗体CDR和/或V_H抗体域包含源自V_L抗体域的抗体CDR。在一些实施方案中，V_L抗体域包含源自一个抗体的构架区及一或多个源自另一抗体的CDR；和/或V_H抗体域包含源自一个抗体的构架区及一或多个源自另一抗体的CDR。在一些实施方案中，第一及第二多肽链例如通过共价键(例如，肽键或其他化学键)或非共价键连接。在一些实施方案中，第一及第二抗原结合域通过二硫键连接。在一些实施方案中，第一及第二抗原结合域通过C_H1域中的残基与C_L域中的残基之间的二硫键连接。在一些实施方案中，C_H1域源自IgG(例如IgG1、IgG2、IgG3或IgG4)、IgA(例如，IgA1或IgA2)、IgD、IgM或IgE重链，视情况为人类的。在一些实施方案中，C_H1域包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:39及60至69中的任一者的氨基酸序列。在一些实施方案中，C_H1域为相比于获得其的序列而言包含一或多个修饰(例如，氨基酸取代、插入和/或缺失)的变异体。在一些实施方案中，C_L域源自κ或λ轻链，视情况为人类的。在一些实施方案中，C_L域包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:41的氨基酸序列。在一些实施方案中，C_L域为相比于获得其的序列而言包含一或多个修饰(例如，氨基酸取代、插入和/或缺失)的变异体。在一些实施方案中，C_H1和/或C_L域包含一或多个基本上不改变其彼此之间的结合亲和力的修饰。在一些实施方案中，C_H1和/或C_L域包含一或多个增加其彼此之间的结合亲和力和/或引入非天然存在的二硫键的修饰。在一些实施方案中，C_H1及C_L域包含结进孔(knob-into-hole)修饰(参见例如CarterP.J Immunol Methods.248:7-15,2001)。在一些实施方案中，C_H1及C_L域通过静电转向(electrostatic

steering)修饰以增强其彼此间的结合(参见例如WO2006106905及Gunasekaran K,et al.J Biol Chem.285:19637-46,2010)。在一些实施方案中,Fab样抗原结合模块为人类、人源化、嵌合、半合成或全合成的。

[0153] 在一些实施方案中,abTCR包含Fab样抗原结合模块,其包含a)第一多肽链,第一多肽链包含第一抗原结合域,第一抗原结合域包含V_L抗体域及C_H1抗体域;及b)第二多肽链,第二多肽链包含第二抗原结合域,第二抗原结合域包含V_H抗体域及C_L抗体域。在一些实施方案中,第一抗原结合域包含在C_H1抗体域的氨基端的V_L抗体域和/或第二抗原结合域包含在C_L抗体域的氨基端的V_H抗体域。在一些实施方案中,在V_H与C_L抗体域之间存在肽接头和/或在V_L与C_H1抗体域之间存在肽接头。在一些实施方案中,所有V_L抗体域及V_H抗体域CDR都源自同一抗体部分。在一些实施方案中,V_L抗体域及V_H抗体域包含源自超过一个抗体部分的抗体CDR。在一些实施方案中,V_L抗体域包含源自V_H抗体域的抗体CDR和/或V_H抗体域包含源自V_L抗体域的抗体CDR。在一些实施方案中,V_L抗体域包含源自一个抗体的构架区及一或多个源自另一抗体的CDR;和/或V_H抗体域包含源自一个抗体的构架区及一或多个源自另一抗体的CDR。在一些实施方案中,第一及第二多肽链例如通过共价键(例如,肽键或其他化学键)或非共价键连接。在一些实施方案中,第一及第二抗原结合域通过二硫键连接。在一些实施方案中,第一及第二抗原结合域通过C_H1域中的残基与C_L域中的残基之间的二硫键连接。在一些实施方案中,C_H1域源自IgG(例如IgG1、IgG2、IgG3或IgG4)、IgA(例如,IgA1或IgA2)、IgD、IgM或IgE重链,视情况为人类的。在一些实施方案中,C_H1域包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:39及60至69中的任一者的氨基酸序列。在一些实施方案中,C_H1域为相比于获得其的序列而言包含一或多个修饰(例如,氨基酸取代、插入和/或缺失)的变异体。在一些实施方案中,C_L域源自κ或λ轻链,视情况为人类的。在一些实施方案中,C_L域包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:41的氨基酸序列。在一些实施方案中,C_L域为相比于获得其的序列而言包含一或多个修饰(例如,氨基酸取代、插入和/或缺失)的变异体。在一些实施方案中,C_H1和/或C_L域包含一或多个基本上不改变其彼此之间的结合亲和力的修饰。在一些实施方案中,C_H1和/或C_L域包含一或多个增加其彼此之间的结合亲和力和/或引入非天然存在的二硫键的修饰。在一些实施方案中,C_H1及C_L域包含结进孔修饰(参见例如Carter P.J Immunol Methods.248:7-15,2001)。在一些实施方案中,C_H1及C_L域通过静电转向修饰以增强其彼此间的相关性(参见例如WO2006106905及Gunasekaran K等人JBiolChem.285:19637-46,2010)。在一些实施方案中,Fab样抗原结合模块为人类、人源化、嵌合、半合成或全合成的。

[0154] 在一些实施方案中,abTCR包含Fv样抗原结合模块,其包含a)第一多肽链,第一多肽链包含第一抗原结合域,第一抗原结合域包含V_H抗体域;及b)第二多肽链,第二多肽链包含第二抗原结合域,第二抗原结合域包含V_L抗体域。在一些实施方案中,存在与V_L抗体域的C端融合的第一肽接头和/或与V_H抗体域的C端融合的第二肽接头。在一些实施方案中,第一及第二肽接头能够彼此结合。在一些实施方案中,第一和/或第二肽接头源自免疫球蛋白重链和/或轻链恒定区。在一些实施方案中,第一和/或第二肽接头包含C_H3抗体域或其变异体。在一些实施方案中,肽接头中所含的免疫球蛋白重链恒定域(例如,C_H1或C_H3)源自IgG(例如IgG1、IgG2、IgG3或IgG4)、IgA(例如,IgA1或IgA2)、IgD、IgM或IgE重链,视情况为人类的。在一些实施方案中,第一和/或第二肽接头源自TCR亚单元恒定区。举例而言,在一些实施方案中,第一和/或第二肽接头源自a)TCRα及β亚单元恒定域;或b)TCRγ及δ亚单元恒定

域。在一些实施方案中，第一和/或第二肽接头为合成的。在一些实施方案中，所有V_L抗体域及V_H抗体域CDR都源自同一抗体部分。在一些实施方案中，V_L抗体域及V_H抗体域包含源自超过一个抗体部分的抗体CDR。在一些实施方案中，V_L抗体域包含源自V_H抗体域的抗体CDR和/或V_H抗体域包含源自V_L抗体域的抗体CDR。在一些实施方案中，V_L抗体域包含源自一个抗体的构架区及一或多个源自另一抗体的CDR；和/或V_H抗体域包含源自一个抗体的构架区及一或多个源自另一抗体的CDR。在一些实施方案中，第一及第二多肽链例如通过共价键(例如，肽键或其他化学键)或非共价键连接。在一些实施方案中，第一及第二抗原结合域通过二硫键连接。在一些实施方案中，第一及第二肽接头通过二硫键连接。在一些实施方案中，第一和/或第二肽接头为相比于获得其的序列而言包含一或多个修饰(例如，氨基酸取代、插入和/或缺失)的变异体。在一些实施方案中，第一和/或第二肽接头包含一或多个基本上不改变其彼此之间的结合亲和力的修饰。在一些实施方案中，第一和/或第二肽接头包含一或多个增加其彼此之间的结合亲和力和/或引入非天然存在的二硫键的修饰。在一些实施方案中，第一及第二肽接头包含结进孔修饰(参见例如CarterP.JImmunolMethods.248:7-15,2001)。

[0155] 在一些实施方案中，第一及第二肽接头通过静电转向修饰以增强其彼此间的相关性(参见例如WO2006106905及GunasekaranK等人JBiolChem.285:19637-46,2010)。在一些实施方案中，Fv样抗原结合模块为人类、人源化、嵌合、半合成或全合成的。

[0156] 在一些实施方案中，抗体部分(例如，Fab样抗原结合模块或Fv样抗原结合模块)为半合成的，包含完全人类序列及一或多个合成区。在一些实施方案中，抗体部分为半合成的，包含完全人类V_L及半合成V_H，半合成V_H包含完全人类FR1、HC-CDR1、FR2、HC-CDR2、FR3及FR4区及合成的HC-CDR3。在一些实施方案中，半合成V_H包含全合成HC-CDR3，其序列长度为约5至约25(例如约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25中的任一者)个氨基酸。在一些实施方案中，半合成V_H或合成HC-CDR3是自半合成文库(例如半合成人类文库)获得，包含全合成HC-CDR3区，其序列长度为约5至约25(例如约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25中的任一者)个氨基酸，其中该序列中的各氨基酸随机选自标准人类氨基酸，排除半胱氨酸。在一些实施方案中，合成HC-CDR3的长度为约10至约19(例如约10、11、12、13、14、15、16、17、18或19中的任一者)个氨基酸。在一些实施方案中，抗体部分为半合成的，包含半合成V_L及半合成V_H。在一些实施方案中，抗体部分为全合成的，包含具有固定的人类V_H/V_L构架配对的抗体，但重链及轻链的所有6种CDR为随机合成序列。

[0157] 在一些实施方案中，抗体部分(例如，Fab样抗原结合模块或Fv样抗原结合模块)包含源自一或多个抗体部分(例如单克隆抗体)的特异性CDR序列或此类序列的包含一或多个氨基酸取代的某些变异体。在一些实施方案中，变异序列中的氨基酸取代基本上不会减弱抗体部分结合靶抗原的能力。也涵盖大体上改良靶抗原结合亲和力或影响一些其他特性(例如特异性和/或与靶抗原的相关变异体的交叉响应性)的改变。

[0158] TCRM包含a)第一多肽链，第一多肽链包含第一T细胞受体域(TCRD)，第一TCRD包含第一跨膜域；及b)第二多肽链，第二多肽链包含第二TCRD，第二TCRD包含第二跨膜域。在一些实施方案中，第一跨膜域为第一TCR亚单元的跨膜域和/或第二跨膜域为第二TCR亚单元的跨膜域。在一些实施方案中，第一TCR亚单元为TCRα链(例如，GenBank寄存编号：

CCI73895)，且第二TCR亚单元为TCRβ链(例如，GenBank寄存编号：CCI73893)。在一些实施方案中，第一TCR亚单元为TCRβ链，且第二TCR亚单元为TCRα链。在一些实施方案中，第一TCR亚单元为TCRγ链(例如，GenBank寄存编号：AGE91788)，且第二TCR亚单元为TCRδ链(例如，GenBank寄存编号：AAQ57272)。在一些实施方案中，第一TCR亚单元为TCRδ链，且第二TCR亚单元为TCRγ链。在一些实施方案中，第一和/或第二跨膜域分别包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:77-80的氨基酸序列中的一者中所含的跨膜域。在一些实施方案中，第一和/或第二跨膜域分别包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:1-4的氨基酸序列中的任一者。在一些实施方案中，第一TCRD进一步包含在跨膜域的氨基端的第一连接肽和/或第二TCRD进一步包含在跨膜域的氨基端的第二连接肽。在一些实施方案中，第一连接肽包含第一TCR亚单元的所有或一部分连接肽和/或第二连接肽包含第二TCR亚单元的所有或一部分连接肽。在一些实施方案中，第一跨膜域及第一连接肽源自不同TCR亚单元和/或第二跨膜域及第二连接肽源自不同TCR亚单元。在一些实施方案中，第一和/或第二连接肽分别包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:77-80的氨基酸序列中的一者中所含的连接肽或其片段。在一些实施方案中，第一和/或第二连接肽分别包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:5-12的氨基酸序列中的任一者。在一些实施方案中，第一TCRD进一步包含在第一跨膜域的羧基端的第一TCR细胞内域和/或第二TCRD进一步包含在第二跨膜域的羧基端的第二TCR细胞内域。在一些实施方案中，第一TCR细胞内域包含第一TCR亚单元的所有或一部分细胞内域和/或第二TCR细胞内域包含第二TCR亚单元的所有或一部分细胞内域。在一些实施方案中，第一和/或第二TCR细胞内域分别包含SEQ ID NO:77-80的氨基酸序列中的任一者中所含的所有或一部分细胞内域。在一些实施方案中，第一和/或第二TCR细胞内域分别包含SEQ ID NO:13-14的氨基酸序列中的任一者。在一些实施方案中，第一TCRD为第一TCR亚单元的片段和/或第二TCRD为第二TCR链的片段。在一些实施方案中，第一及第二多肽链例如通过共价键(例如，肽键或其他化学键)或非共价键连接。在一些实施方案中，第一及第二TCRD通过二硫键连接。在一些实施方案中，第一及第二TCRD通过第一连接肽中的残基与第二连接肽中的残基之间的二硫键连接。在一些实施方案中，TCRM能够招募至少一个选自CD3δε、CD3γε及ζζ的TCR相关信号传导模块。在一些实施方案中，TCRM能够招募CD3δε、CD3γε及ζζ中的每一者以形成八聚abTCR-CD3复合体(也即，促进abTCR-CD3复合体形成)。

[0159] 在一些实施方案中，abTCR为如下分子，其包含在TCRM的第一多肽链的氨基端的抗体部分(例如，Fab样抗原结合模块或Fv样抗原结合模块)的第一多肽链的融合体，从而形成abTCR的第一多肽链；及在TCRM的第二多肽链的氨基端的抗体部分的第二多肽链的融合体，从而形成abTCR的第二多肽链。在一些实施方案中，abTCR进一步包含在抗体部分的第一多肽链与TCRM的第一多肽链之间的第一肽接头和/或在抗体部分的第二多肽链与TCRM的第二多肽链之间的第二肽接头。在一些实施方案中，第一和/或第二肽接头的长度介于约5至约70(例如约5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65或70中的任一者，包括在这些值之间的任何范围)个氨基酸之间。在一些实施方案中，abTCR的第一多肽链进一步包含在第一抗原结合域的氨基端的第一信号肽和/或abTCR的第二多肽链进一步包含在第二抗原结合域的氨基端的第二信号肽。在一些实施方案中，第一和/或第二信号肽包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:49的氨基酸序列。在一些实施方案中，abTCR的第一多肽链进一步包含在第一跨膜域的羧基端的第一附属细胞内域和/或abTCR的第二多肽链进一步包含在第二跨膜域的

羧基端的第二附属细胞内域。在一些实施方案中，第一和/或第二附属细胞内域包含TCR共刺激域。在一些实施方案中，TCR共刺激域包含SEQ ID NO:70或71的氨基酸序列中的所有或一部分。在一些实施方案中，第一和/或第二附属细胞内域包含表位标签。在一些实施方案中，表位标签包含SEQ ID NO:50-52的氨基酸序列中的任一者。在一些实施方案中，abTCR的第一及第二多肽链例如通过共价键(例如，肽键或其他化学键)或非共价键连接。在一些实施方案中，abTCR为杂二聚体。

[0160] 在一些实施方案中，靶抗原为细胞表面抗原。在一些实施方案中，细胞表面抗原选自下组：蛋白质、糖及脂质。在一些实施方案中，细胞表面抗原为于病变细胞中表达的疾病相关抗原。在一些实施方案中，靶抗原为包含肽及MHC蛋白质的复合体。肽/MHC复合体包括例如表面递呈复合体，其包含源自在病变细胞中表达的疾病相关抗原的肽及MHC蛋白质。在一些实施方案中，全长疾病相关抗原通常不表达于病变细胞(例如，疾病相关抗原为细胞内或分泌蛋白)的表面上。在一些实施方案中，疾病为癌症且疾病相关抗原为在癌细胞中表达的肿瘤相关抗原。在一些实施方案中，肿瘤相关抗原为癌蛋白。在一些实施方案中，癌蛋白为原癌基因的突变结果，且癌蛋白包含含突变的新生表位。举例而言，在一些实施方案中，靶抗原为细胞表面肿瘤相关抗原(例如，包含新生表位的癌蛋白)。在一些实施方案中，靶抗原为复合体，其包含源自通常不表达于癌细胞(例如，细胞内或分泌的肿瘤相关抗原)的表面上的肿瘤相关抗原(例如，包含新生表位的癌蛋白)的肽及MHC蛋白质。在一些实施方案中，疾病为病毒感染且疾病相关抗原为在感染细胞中表达的病毒相关抗原。举例而言，在一些实施方案中，靶抗原为细胞表面病毒相关抗原。在一些实施方案中，靶抗原为复合体，其包含源自通常不表达于病毒感染细胞(例如，细胞内或分泌的病毒相关抗原)的表面上的病毒相关抗原的肽及MHC蛋白质。在一些实施方案中，abTCR构建体以介于约0.1pM至约500nM(例如约0.1pM、1.0pM、10pM、50pM、100pM、500pM、1nM、10nM、50nM、100nM或500nM中的任一者，包括这些值之间的任何范围)之间的Kd结合靶抗原。

[0161] 在一些实施方案中，abTCR包含特异性结合至细胞表面抗原的抗体部分(例如，Fab样抗原结合模块或Fv样抗原结合模块)，其中细胞表面抗原为CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D或FCRL5。与例如细胞表面抗原的完整抗原的特异性结合有时称为“非MHC限制结合”。

[0162] 在一些实施方案中，abTCR包含特异性结合至复合体的抗体部分(例如，Fab样抗原结合模块或Fv样抗原结合模块)，该复合体包含肽及MHC蛋白质，其中该肽源自选自下组的蛋白质：WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA。与包含肽及MHC蛋白质的复合体的特异性结合有时称为“MHC限制结合”。

[0163] 在一些实施方案中，abTCR包含特异性结合至复合体的抗体部分(例如，Fab样抗原结合模块或Fv样抗原结合模块)，该复合体包含源自疾病相关抗原(例如肿瘤相关或病毒编码抗原)的肽及MHCI类蛋白质，其中MHCI类蛋白质为HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-E、HLA-F或HLA-G。在一些实施方案中，MHCI类蛋白质为HLA-A、HLA-B或HLA-C。在一些实施方案中，MHCI类蛋白质为HLA-A。在一些实施方案中，MHCI类蛋白质为HLA-B。在一些实施方案中，MHCI类蛋白质为HLA-C。在一些实施方案中，MHCI类蛋白质为HLA-A01、HLA-A02、HLA-A03、HLA-A09、HLA-A10、HLA-A11、HLA-A19、HLA-A23、HLA-A24、HLA-A25、HLA-A26、HLA-A28、HLA-A29、HLA-A30、HLA-A31、HLA-A32、HLA-A33、HLA-A34、HLA-A36、HLA-A43、HLA-A66、HLA-A68、HLA-A69、

HLA-A74或HLA-A80。在一些实施方案中，MHCI类蛋白质为HLA-A02。在一些实施方案中，MHCI类蛋白质为HLA-A*02:01-555中的任一者，例如HLA-A*02:01、HLA-A*02:02、HLA-A*02:03、HLA-A*02:04、HLA-A*02:05、HLA-A*02:06、HLA-A*02:07、HLA-A*02:08、HLA-A*02:09、HLA-A*02:10、HLA-A*02:11、HLA-A*02:12、HLA-A*02:13、HLA-A*02:14、HLA-A*02:15、HLA-A*02:16、HLA-A*02:17、HLA-A*02:18、HLA-A*02:19、HLA-A*02:20、HLA-A*02:21、HLA-A*02:22或HLA-A*02:24。在一些实施方案中，MHCI类蛋白质为HLA-A*02:01。

[0164] 在一些实施方案中，abTCR包含特异性结合至复合体的抗体部分(例如，Fab样抗原结合模块或Fv样抗原结合模块)，该复合体包含源自疾病相关抗原(例如肿瘤相关或病毒编码抗原)的肽及MHCII类蛋白质，其中MHCII类蛋白质为HLA-DP、HLA-DQ或HLA-DR。在一些实施方案中，MHCII类蛋白质为HLA-DP。在一些实施方案中，MHCII类蛋白质为HLA-DQ。在一些实施方案中，MHCII类蛋白质为HLA-DR。

[0165] 举例而言，在一些实施方案中，提供一种abTCR(例如经分离abTCR)，其包含a)特异性结合至靶抗原的Fab样抗原结合模块，及b)能够招募至少一个TCR相关信号传导模块的TCRM。在一些实施方案中，Fab样抗原结合模块包含V_H抗体域、C_H1抗体域、V_L抗体域及C_L抗体域。在一些实施方案中，C_H1域源自IgG(例如IgG1、IgG2、IgG3或IgG4)重链，视情况为人类的。在一些实施方案中，C_H1域为相比于获得其的序列而言包含一或多个修饰(例如，氨基酸取代、插入和/或缺失)的变异体。在一些实施方案中，C_L域源自κ或λ轻链，视情况为人类的。在一些实施方案中，C_L域为相比于获得其的序列而言包含一或多个修饰(例如，氨基酸取代、插入和/或缺失)的变异体。在一些实施方案中，Fab样抗原结合模块为人类、人源化、嵌合、半合成或全合成的。在一些实施方案中，TCRM包含TCR的跨膜域，例如αβTCR或γδTCR。在一些实施方案中，TCRM进一步包含TCR的连接肽或其片段，例如αβTCR或γδTCR。在一些实施方案中，跨膜域及连接肽源自αβTCR或γδTCR。在一些实施方案中，跨膜域源自αβTCR且连接肽源自γδTCR，或者跨膜域源自γδTCR且连接肽源自αβTCR。在一些实施方案中，TCRM进一步包含TCR的细胞外域的至少一部分。在一些实施方案中，TCRM进一步包含至少一个包含TCR的细胞内域的序列的TCR细胞内域。在一些实施方案中，TCRM包含TCR亚单元的片段。在一些实施方案中，abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域，其包含T细胞共刺激信号传导序列(例如来自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)和/或表位标签(例如HA、FLAG或myc)。在一些实施方案中，abTCR进一步包含在第一抗原结合域的氨基端的第一信号肽和/或在第二抗原结合域的氨基端的第二信号肽。在一些实施方案中，abTCR进一步包含至少一个二硫键。在一些实施方案中，Fab样抗原结合模块包含二硫键和/或TCRM包含二硫键。在一些实施方案中，Fab样抗原结合模块包含在C_H1域中的残基与C_L域中的残基之间的二硫键和/或TCRM包含在第一连接肽中的残基与第二连接肽中的残基之间的二硫键。在一些实施方案中，TCRM能够招募至少一个选自CD3δε、CD3γε及ζζ的TCR相关信号传导模块。在一些实施方案中，TCRM促进abTCR-CD3复合体形成。在一些实施方案中，在Fab样抗原结合模块与TCRM之间存在肽接头。在一些实施方案中，靶抗原为细胞表面抗原。在一些实施方案中，细胞表面抗原选自下组：蛋白质、糖及脂质。在一些实施方案中，细胞表面抗原为疾病相关抗原，例如肿瘤相关或病毒编码抗原。在一些实施方案中，细胞表面抗原为CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D或FCRL5。在一些实施方案中，靶抗原为表面递呈肽/MHC复合体。在一些实施方案中，肽/MHC复合体包含源自疾病相关抗原(例如肿瘤相关或病毒编码抗原)的肽及MHC蛋

白质。在一些实施方案中，肽/MHC复合体包含肽及MHC蛋白质，其中该肽源自选自下组的蛋白质：WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA。在一些实施方案中，MHC蛋白质为MHCI类蛋白质。在一些实施方案中，MHCI类蛋白质为HLA-A。在一些实施方案中，HLA-A为HLA-A02。在一些实施方案中，HLA-A02为HLA-A*02:01。

[0166] 在一些实施方案中，提供一种abTCR(例如经分离abTCR)，其包含a)特异性结合至靶抗原的Fv样抗原结合模块，及b)能够招募至少一个TCR相关信号传导模块的TCRM，其中靶抗原为肽/MHC复合体。在一些实施方案中，Fv样抗原结合模块包含V_H抗体域及V_L抗体域。在一些实施方案中，存在与V_L抗体域的C端融合的第一肽接头和/或与V_H抗体域的C端融合的第二肽接头。在一些实施方案中，第一及第二肽接头能够彼此结合。在一些实施方案中，第一和/或第二肽接头源自免疫球蛋白重链和/或轻链恒定区。在一些实施方案中，第一和/或第二肽接头源自TCR亚单元恒定区。举例而言，在一些实施方案中，第一和/或第二肽接头源自a)TCRα及β亚单元恒定域；或b)TCRγ及δ亚单元恒定域。在一些实施方案中，第一和/或第二肽接头为合成的。在一些实施方案中，Fv样抗原结合模块为人类、人源化、嵌合、半合成或全合成的。在一些实施方案中，TCRM包含TCR的跨膜域，例如αβTCR或γδTCR。在一些实施方案中，TCRM进一步包含TCR的连接肽或其片段，例如αβTCR或γδTCR。在一些实施方案中，跨膜域及连接肽源自αβTCR或γδTCR。在一些实施方案中，跨膜域源自αβTCR且连接肽源自γδTCR，或者跨膜域源自γδTCR且连接肽源自αβTCR。在一些实施方案中，TCRM进一步包含TCR的细胞外域的至少一部分。在一些实施方案中，TCRM进一步包含至少一个包含TCR的细胞内域的序列的TCR细胞内域。在一些实施方案中，TCRM包含TCR亚单元的片段。在一些实施方案中，abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域，其包含T细胞共刺激信号传导序列(例如来自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)和/或表位标签(例如HA、FLAG或myc)。在一些实施方案中，abTCR进一步包含在第一抗原结合域的氨基端的第一信号肽和/或在第二抗原结合域的氨基端的第二信号肽。在一些实施方案中，abTCR进一步包含至少一个二硫键。在一些实施方案中，第一和/或第二肽接头包含二硫键和/或TCRM包含二硫键。在一些实施方案中，TCRM包含在第一连接肽中的残基与第二连接肽中的残基之间的二硫键。在一些实施方案中，TCRM能够招募至少一个选自CD3δε、CD3γε及ζζ的TCR相关信号传导模块。在一些实施方案中，TCRM促进abTCR-CD3复合体形成。在一些实施方案中，靶抗原肽/MHC复合体包含源自疾病相关抗原(例如肿瘤相关或病毒编码抗原)的肽及MHC蛋白质。在一些实施方案中，肽/MHC复合体包含肽及MHC蛋白质，其中该肽源自选自下组的蛋白质：WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA。在一些实施方案中，MHC蛋白质为MHCI类蛋白质。在一些实施方案中，MHCI类蛋白质为HLA-A。在一些实施方案中，HLA-A为HLA-A02。在一些实施方案中，HLA-A02为HLA-A*02:01。

[0167] 在一些实施方案中，提供一种特异性识别靶抗原的abTCR，其包含a)第一多肽链，第一多肽链包含第一抗原结合域及第一TCRD，第一抗原结合域包含V_H及C_H1抗体域，第一TCRD包含第一TCR亚单元的跨膜域；及b)第二多肽链，第二多肽链包含第二抗原结合域及第二TCRD，第二抗原结合域包含V_L及C_L抗体域，第二TCRD包含第二TCR亚单元的跨膜域，其中第一抗原结合域的V_H及C_H1域与第二抗原结合域的V_L及C_L域形成特异性结合靶抗原的Fab样抗原结合模块，其中第一TCRD与第二TCRD形成能够招募至少一个TCR相关信号传导模块的TCRM。在一些实施方案中，Fab样抗原结合模块为人类、人源化、嵌合、半合成或全合成的。在

一些实施方案中，第一TCR亚单元为TCRα链，且第二TCR亚单元为TCRβ链。在一些实施方案中，第一TCR亚单元为TCRβ链，且第二TCR亚单元为TCRα链。在一些实施方案中，第一TCR亚单元为TCRγ链，且第二TCR亚单元为TCRδ链。在一些实施方案中，第一TCR亚单元为TCRδ链，且第二TCR亚单元为TCRγ链。在一些实施方案中，第一TCRD进一步包含第一TCR亚单元的连接肽或其片段和/或第二TCRD进一步包含第二TCR亚单元的连接肽或其片段。在一些实施方案中，第一TCRD进一步包含第一TCR亚单元的细胞外域的一部分和/或第二TCRD进一步包含第二TCR亚单元的细胞外域的一部分。在一些实施方案中，第一TCRD进一步包含第一TCR细胞内域和/或第二TCRD进一步包含第二TCR细胞内域。在一些实施方案中，第一TCR细胞内域包含来自第一TCR亚单元的细胞内域的序列和/或第二TCR细胞内域包含来自第二TCR亚单元的细胞内域的序列。在一些实施方案中，第一TCRD为第一TCR亚单元的片段和/或第二TCRD为第二TCR链的片段。在一些实施方案中，abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域，其包含T细胞共刺激信号传导序列(例如来自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)和/或表位标签(例如HA、FLAG或myc)。在一些实施方案中，abTCR进一步包含在第一抗原结合域的氨基端的第一信号肽和/或在第二抗原结合域的氨基端的第二信号肽。在一些实施方案中，TCRM能够招募至少一个选自CD3δε、CD3γε及ζζ的TCR相关信号传导模块。在一些实施方案中，TCRM促进abTCR-CD3复合体形成。在一些实施方案中，在第一抗原结合域与第一TCRD之间存在第一肽接头和/或在第二抗原结合域与第二TCRD之间存在第二肽接头。在一些实施方案中，第一及第二多肽链例如通过共价键(例如，肽键或其他化学键)或非共价键连接。在一些实施方案中，第一多肽链及第二多肽链经由以下连接：a)在第一TCRD的连接肽中的残基与第二TCRD的连接肽中的残基之间的二硫键；和/或b)在第一抗原结合域中的C_H1抗体域中的残基与第二抗原结合域中的C_L抗体域中的残基之间的二硫键。在一些实施方案中，C_H1域源自IgG(例如IgG1、IgG2、IgG3或IgG4)重链，视情况为人类的。在一些实施方案中，C_H1域为相比于获得其的序列而言包含一或多个修饰(例如，氨基酸取代、插入和/或缺失)的变异体。在一些实施方案中，C_L域源自κ或λ轻链，视情况为人类的。在一些实施方案中，C_L域为相比于获得其的序列而言包含一或多个修饰(例如，氨基酸取代、插入和/或缺失)的变异体。在一些实施方案中，靶抗原为细胞表面抗原。在一些实施方案中，细胞表面抗原选自下组：蛋白质、糖及脂质。在一些实施方案中，细胞表面抗原为疾病相关抗原，例如肿瘤相关或病毒编码抗原。在一些实施方案中，细胞表面抗原为CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D或FCRL5。在一些实施方案中，靶抗原为表面递呈肽/MHC复合体。在一些实施方案中，肽/MHC复合体包含源自疾病相关抗原(例如肿瘤相关或病毒编码抗原)的肽及MHC蛋白质。在一些实施方案中，肽/MHC复合体包含肽及MHC蛋白质，其中该肽源自选自下组的蛋白质：WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA。在一些实施方案中，MHC蛋白质为MHCI类蛋白质。在一些实施方案中，MHCI类蛋白质为HLA-A。在一些实施方案中，HLA-A为HLA-A02。在一些实施方案中，HLA-A02为HLA-A*02:01。

[0168] 在一些实施方案中，提供一种特异性识别靶抗原的abTCR，其包含a)第一多肽链，第一多肽链包含第一抗原结合域及第一TCRD，第一抗原结合域包含V_H抗体域，第一TCRD包含第一TCR亚单元的跨膜域；及b)第二多肽链，第二多肽链包含第二抗原结合域及第二TCRD，第二抗原结合域包含V_L抗体域，第二TCRD包含第二TCR亚单元的跨膜域，其中第一抗原结合域的V_H域与第二抗原结合域的V_L域形成特异性结合靶抗原的Fv样抗原结合模块，其

中第一TCRD与第二TCRD形成能够招募至少一个TCR相关信号传导模块的TCRM，且其中靶抗原为肽/MHC复合体。在一些实施方案中，Fv样抗原结合模块为人类、人源化、嵌合、半合成或全合成的。在一些实施方案中，第一TCR亚单元为TCRα链，且第二TCR亚单元为TCRβ链。在一些实施方案中，第一TCR亚单元为TCRβ链，且第二TCR亚单元为TCRα链。在一些实施方案中，第一TCR亚单元为TCRγ链，且第二TCR亚单元为TCRδ链。在一些实施方案中，第一TCR亚单元为TCRδ链，且第二TCR亚单元为TCRγ链。在一些实施方案中，第一TCRD进一步包含第一TCR亚单元的连接肽或其片段和/或第二TCRD进一步包含第二TCR亚单元的连接肽或其片段。在一些实施方案中，第一TCRD进一步包含第一TCR亚单元的细胞外域的一部分和/或第二TCRD进一步包含第二TCR亚单元的细胞外域的一部分。在一些实施方案中，第一TCRD进一步包含第一TCR细胞内域和/或第二TCRD进一步包含第二TCR细胞内域。在一些实施方案中，第一TCR细胞内域包含来自第一TCR亚单元的细胞内域的序列和/或第二TCR细胞内域包含来自第二TCR亚单元的细胞内域的序列。在一些实施方案中，第一TCRD为第一TCR亚单元的片段和/或第二TCRD为第二TCR链的片段。在一些实施方案中，abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域，其包含T细胞共刺激信号传导序列(例如来自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)和/或表位标签(例如HA、FLAG或myc)。在一些实施方案中，abTCR进一步包含在第一抗原结合域的氨基端的第一信号肽和/或在第二抗原结合域的氨基端的第二信号肽。在一些实施方案中，TCRM能够招募至少一个选自CD3δε、CD3γε及ζζ的TCR相关信号传导模块。在一些实施方案中，TCRM促进abTCR-CD3复合体形成。在一些实施方案中，在第一抗原结合域与第一TCRD之间存在第一肽接头和/或在第二抗原结合域与第二TCRD之间存在第二肽接头。在一些实施方案中，第一和/或第二肽接头源自免疫球蛋白重链和/或轻链恒定区。在一些实施方案中，第一和/或第二肽接头源自TCR亚单元恒定区。举例而言，在一些实施方案中，第一和/或第二肽接头源自a)TCRα及β亚单元恒定域；或b)TCRγ及δ亚单元恒定域。在一些实施方案中，第一和/或第二肽接头为合成的。在一些实施方案中，第一及第二多肽链例如通过共价键(例如，肽键或其他化学键)或非共价键连接。在一些实施方案中，第一多肽链及第二多肽链经由以下连接：a)在第一TCRD的连接肽中的残基与第二TCRD的连接肽中的残基之间的二硫键；和/或b)在第一肽接头中的残基与第二肽接头中的残基之间的二硫键。在一些实施方案中，第一和/或第二肽接头为相比于获得其的序列而言包含一或多个修饰(例如，氨基酸取代、插入和/或缺失)的变异体。在一些实施方案中，第一和/或第二肽接头包含一或多个基本上不改变其彼此之间的结合亲和力的修饰。在一些实施方案中，第一和/或第二肽接头包含一或多个增加其彼此之间的结合亲和力和/或引入非天然存在的二硫键的修饰。在一些实施方案中，靶抗原肽/MHC复合体包含源自疾病相关抗原(例如肿瘤相关或病毒编码抗原)的肽及MHC蛋白质。在一些实施方案中，肽/MHC复合体包含肽及MHC蛋白质，其中该肽源自选自下组的蛋白质：WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA。在一些实施方案中，MHC蛋白质为MHCI类蛋白质。在一些实施方案中，MHCI类蛋白质为HLA-A。在一些实施方案中，HLA-A为HLA-A02。在一些实施方案中，HLA-A02为HLA-A*02:01。

[0169] 在一些实施方案中，提供一种特异性识别靶抗原的abTCR，其包含a)第一多肽链，第一多肽链包含第一抗原结合域及第一TCRD，第一抗原结合域包含V_H及C_H1抗体域，第一TCRD包含TCRα链的跨膜域；及b)第二多肽链，第二多肽链包含第二抗原结合域及第二TCRD，第二抗原结合域包含V_L及C_L抗体域，第二TCRD包含TCRβ链的跨膜域，其中第一抗原结合域的

V_H及C_H1域与第二抗原结合域的V_L及C_L域形成特异性结合靶抗原的Fab样抗原结合模块，其中第一TCRD与第二TCRD形成能够招募至少一个TCR相关信号传导模块的TCRM。在一些实施方案中，Fab样抗原结合模块为人类、人源化、嵌合、半合成或全合成的。在一些实施方案中，第一TCRD进一步包含TCRα链的连接肽或其片段和/或第二TCRD进一步包含TCRβ链的连接肽或其片段。在一些实施方案中，第一TCRD进一步包含TCRα链的细胞外域的一部分和/或第二TCRD进一步包含TCRβ链的细胞外域的一部分。在一些实施方案中，第一TCRD进一步包含第一TCR细胞内域和/或第二TCRD进一步包含第二TCR细胞内域。在一些实施方案中，第一TCR细胞内域包含来自TCRα链的细胞内域的序列和/或第二TCR细胞内域包含来自TCRβ链的细胞内域的序列。在一些实施方案中，abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域，其包含T细胞共刺激信号传导序列(例如来自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)和/或表位标签(例如HA、FLAG或myc)。在一些实施方案中，abTCR进一步包含在第一抗原结合域的氨基端的第一信号肽和/或在第二抗原结合域的氨基端的第二信号肽。在一些实施方案中，TCRM能够招募至少一个选自CD3δε、CD3γε及ζζ的TCR相关信号传导模块。在一些实施方案中，TCRM促进abTCR-CD3复合体形成。在一些实施方案中，在第一抗原结合域与第一TCRD之间存在第一肽接头和/或在第二抗原结合域与第二TCRD之间存在第二肽接头。在一些实施方案中，第一及第二多肽链例如通过共价键(例如，肽键或其他化学键)或非共价键连接。在一些实施方案中，第一多肽链及第二多肽链经由以下连接：a)在第一TCRD的连接肽中的残基与第二TCRD的连接肽中的残基之间的二硫键；和/或b)在第一抗原结合域中的C_H1抗体域中的残基与第二抗原结合域中的C_L抗体域中的残基之间的二硫键。在一些实施方案中，靶抗原为细胞表面抗原。在一些实施方案中，细胞表面抗原选自下组：蛋白质、糖及脂质。在一些实施方案中，细胞表面抗原为疾病相关抗原，例如肿瘤相关或病毒编码抗原。在一些实施方案中，细胞表面抗原为CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D或FCRL5。在一些实施方案中，靶抗原为表面递呈肽/MHC复合体。在一些实施方案中，肽/MHC复合体包含源自疾病相关抗原(例如肿瘤相关或病毒编码抗原)的肽及MHC蛋白质。在一些实施方案中，肽/MHC复合体包含肽及MHC蛋白质，其中该肽源自选自下组的蛋白质：WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA。在一些实施方案中，MHC蛋白质为MHCI类蛋白质。在一些实施方案中，MHCI类蛋白质为HLA-A。在一些实施方案中，HLA-A为HLA-A02。在一些实施方案中，HLA-A02为HLA-A*02:01。

[0170] 在一些实施方案中，提供一种特异性识别靶抗原的abTCR，其包含a)第一多肽链，第一多肽链包含第一抗原结合域及第一TCRD，第一抗原结合域包含V_H及C_H1抗体域，第一TCRD包含TCRβ链的跨膜域；及b)第二多肽链，第二多肽链包含第二抗原结合域及第二TCRD，第二抗原结合域包含V_L及C_L抗体域，第二TCRD包含TCRα链的跨膜域，其中第一抗原结合域的V_H及C_H1域与第二抗原结合域的V_L及C_L域形成特异性结合靶抗原的Fab样抗原结合模块，其中第一TCRD与第二TCRD形成能够招募至少一个TCR相关信号传导模块的TCRM。在一些实施方案中，Fab样抗原结合模块为人类、人源化、嵌合、半合成或全合成的。在一些实施方案中，第一TCRD进一步包含TCRβ链的连接肽或其片段和/或第二TCRD进一步包含TCRα链的连接肽或其片段。在一些实施方案中，第一TCRD进一步包含TCRβ链的细胞外域的一部分和/或第二TCRD进一步包含TCRα链的细胞外域的一部分。在一些实施方案中，第一TCRD进一步包含第一TCR细胞内域和/或第二TCRD进一步包含第二TCR细胞内域。在一些实施方案中，第一TCR

细胞内域包含来自TCRβ链的细胞内域的序列和/或第二TCR细胞内域包含来自TCRα链的细胞内域的序列。在一些实施方案中，abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域，其包含T细胞共刺激信号传导序列(例如来自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)和/或表位标签(例如HA、FLAG或myc)。在一些实施方案中，abTCR进一步包含在第一抗原结合域的氨基端的第一信号肽和/或在第二抗原结合域的氨基端的第二信号肽。在一些实施方案中，TCRM能够招募至少一个选自CD3δε、CD3γε及ζζ的TCR相关信号传导模块。在一些实施方案中，TCRM促进abTCR-CD3复合体形成。在一些实施方案中，在第一抗原结合域与第一TCRD之间存在第一肽接头和/或在第二抗原结合域与第二TCRD之间存在第二肽接头。在一些实施方案中，第一及第二多肽链例如通过共价键(例如，肽键或其他化学键)或非共价键连接。在一些实施方案中，第一多肽链及第二多肽链经由以下连接：a)在第一TCRD的连接肽中的残基与第二TCRD的连接肽中的残基之间的二硫键；和/或b)在第一抗原结合域中的C_H1抗体域中的残基与第二抗原结合域中的C_L抗体域中的残基之间的二硫键。在一些实施方案中，靶抗原为细胞表面抗原。在一些实施方案中，细胞表面抗原选自下组：蛋白质、糖及脂质。在一些实施方案中，细胞表面抗原为疾病相关抗原，例如肿瘤相关或病毒编码抗原。在一些实施方案中，细胞表面抗原为CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D或FCRL5。在一些实施方案中，靶抗原为表面递呈肽/MHC复合体。在一些实施方案中，肽/MHC复合体包含源自疾病相关抗原(例如肿瘤相关或病毒编码抗原)的肽及MHC蛋白质。在一些实施方案中，肽/MHC复合体包含肽及MHC蛋白质，其中该肽源自选自下组的蛋白质：WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA。在一些实施方案中，MHC蛋白质为MHCI类蛋白质。在一些实施方案中，MHCI类蛋白质为HLA-A。在一些实施方案中，HLA-A为HLA-A02。在一些实施方案中，HLA-A02为HLA-A*02:01。

[0171] 在一些实施方案中，提供一种特异性识别靶抗原的abTCR，其包含a)第一多肽链，第一多肽链包含第一抗原结合域及第一TCRD，第一抗原结合域包含V_H及C_H1抗体域，第一TCRD包含TCRγ链的跨膜域；及b)第二多肽链，第二多肽链包含第二抗原结合域及第二TCRD，第二抗原结合域包含V_L及C_L抗体域，第二TCRD包含TCRδ链的跨膜域，其中第一抗原结合域的V_H及C_H1域与第二抗原结合域的V_L及C_L域形成特异性结合靶抗原的Fab样抗原结合模块，其中第一TCRD与第二TCRD形成能够招募至少一个TCR相关信号传导模块的TCRM。在一些实施方案中，Fab样抗原结合模块为人类、人源化、嵌合、半合成或全合成的。在一些实施方案中，第一TCRD进一步包含TCRγ链的连接肽或其片段和/或第二TCRD进一步包含TCRδ链的连接肽或其片段。在一些实施方案中，第一TCRD进一步包含TCRγ链的细胞外域的一部分和/或第二TCRD进一步包含TCRδ链的细胞外域的一部分。在一些实施方案中，第一TCRD进一步包含第一TCR细胞内域和/或第二TCRD进一步包含第二TCR细胞内域。在一些实施方案中，第一TCR细胞内域包含来自TCRγ链的细胞内域的序列和/或第二TCR细胞内域包含来自TCRδ链的细胞内域的序列。在一些实施方案中，abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域，其包含T细胞共刺激信号传导序列(例如来自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)和/或表位标签(例如HA、FLAG或myc)。在一些实施方案中，abTCR进一步包含在第一抗原结合域的氨基端的第一信号肽和/或在第二抗原结合域的氨基端的第二信号肽。在一些实施方案中，TCRM能够招募至少一个选自CD3δε、CD3γε及ζζ的TCR相关信号传导模块。在一些实施方案中，TCRM促进abTCR-CD3复合体形成。在一些实施方案中，在第一抗原结合域与第一TCRD

之间存在第一肽接头和/或在第二抗原结合域与第二TCRD之间存在第二肽接头。在一些实施方案中,第一及第二多肽链例如通过共价键(例如,肽键或其他化学键)或非共价键连接。在一些实施方案中,第一多肽链及第二多肽链经由以下连接:a)在第一TCRD的连接肽中的残基与第二TCRD的连接肽中的残基之间的二硫键;和/或b)在第一抗原结合域中的C_H1抗体域中的残基与第二抗原结合域中的C_L抗体域中的残基之间的二硫键。在一些实施方案中,靶抗原为细胞表面抗原。在一些实施方案中,细胞表面抗原选自下组:蛋白质、糖及脂质。在一些实施方案中,细胞表面抗原为疾病相关抗原,例如肿瘤相关或病毒编码抗原。在一些实施方案中,细胞表面抗原为CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D或FCRL5。在一些实施方案中,靶抗原为表面递呈肽/MHC复合体。在一些实施方案中,肽/MHC复合体包含源自疾病相关抗原(例如肿瘤相关或病毒编码抗原)的肽及MHC蛋白质。在一些实施方案中,肽/MHC复合体包含肽及MHC蛋白质,其中该肽源自选自下组的蛋白质:WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA。在一些实施方案中,MHC蛋白质为MHCI类蛋白质。在一些实施方案中,MHCI类蛋白质为HLA-A。在一些实施方案中,HLA-A为HLA-A02。在一些实施方案中,HLA-A02为HLA-A*02:01。

[0172] 在一些实施方案中,提供一种特异性识别靶抗原的abTCR,其包含a)第一多肽链,第一多肽链包含第一抗原结合域及第一TCRD,第一抗原结合域包含V_H及C_H1抗体域,第一TCRD包含TCRδ链的跨膜域;及b)第二多肽链,第二多肽链包含第二抗原结合域及第二TCRD,第二抗原结合域包含V_L及C_L抗体域,第二TCRD包含TCRγ链的跨膜域,其中第一抗原结合域的V_H及C_H1域与第二抗原结合域的V_L及C_L域形成特异性结合靶抗原的Fab样抗原结合模块,其中第一TCRD与第二TCRD形成能够招募至少一个TCR相关信号传导模块的TCRM。在一些实施方案中,Fab样抗原结合模块为人类、人源化、嵌合、半合成或全合成的。在一些实施方案中,第一TCRD进一步包含TCRδ链的连接肽或其片段和/或第二TCRD进一步包含TCRγ链的连接肽或其片段。在一些实施方案中,第一TCRD进一步包含TCRδ链的细胞外域的一部分和/或第二TCRD进一步包含TCRγ链的细胞外域的一部分。在一些实施方案中,第一TCRD进一步包含第一TCR细胞内域和/或第二TCRD进一步包含第二TCR细胞内域。在一些实施方案中,第一TCR细胞内域包含来自TCRδ链的细胞内域的序列和/或第二TCR细胞内域包含来自TCRγ链的细胞内域的序列。在一些实施方案中,abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域,其包含T细胞共刺激信号传导序列(例如来自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)和/或表位标签(例如HA、FLAG或myc)。在一些实施方案中,abTCR进一步包含在第一抗原结合域的氨基端的第一信号肽和/或在第二抗原结合域的氨基端的第二信号肽。在一些实施方案中,TCRM能够招募至少一个选自CD3δε、CD3γε及ζζ的TCR相关信号传导模块。在一些实施方案中,TCRM促进abTCR-CD3复合体形成。在一些实施方案中,在第一抗原结合域与第一TCRD之间存在第一肽接头和/或在第二抗原结合域与第二TCRD之间存在第二肽接头。在一些实施方案中,第一及第二多肽链例如通过共价键(例如,肽键或其他化学键)或非共价键连接。在一些实施方案中,第一多肽链及第二多肽链经由以下连接:a)在第一TCRD的连接肽中的残基与第二TCRD的连接肽中的残基之间的二硫键;和/或b)在第一抗原结合域中的C_H1抗体域中的残基与第二抗原结合域中的C_L抗体域中的残基之间的二硫键。在一些实施方案中,靶抗原为细胞表面抗原。在一些实施方案中,细胞表面抗原选自下组:蛋白质、糖及脂质。在一些实施方案中,细胞表面抗原为疾病相关抗原,例如肿瘤相关或病毒编码抗原。在一些实施

方案中，细胞表面抗原为CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D或FCRL5。在一些实施方案中，靶抗原为表面递呈肽/MHC复合体。在一些实施方案中，肽/MHC复合体包含源自疾病相关抗原(例如肿瘤相关或病毒编码抗原)的肽及MHC蛋白质。在一些实施方案中，肽/MHC复合体包含肽及MHC蛋白质，其中该肽源自选自下组的蛋白质：WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA。在一些实施方案中，MHC蛋白质为MHCI类蛋白质。在一些实施方案中，MHCI类蛋白质为HLA-A。在一些实施方案中，HLA-A为HLA-A02。在一些实施方案中，HLA-A02为HLA-A*02:01。

[0173] 在一些实施方案中，提供一种特异性识别靶抗原的abTCR，其包含：a)第一多肽链，第一多肽链包含第一抗原结合域及第一TCRD，第一抗原结合域包含V_H及C_H1抗体域，第一TCRD包含含有(例如由以下组成)SEQ ID NO:1-4中的任一者的氨基酸序列的跨膜域；及b)第二多肽链，第二多肽链包含第二抗原结合域及第二TCRD，第二抗原结合域包含V_L及C_L抗体域，第二TCRD包含含有(例如由以下组成)SEQ ID NO:1-4中的任一者的氨基酸序列的跨膜域，其中第一抗原结合域的V_H及C_H1域与第二抗原结合域的V_L及C_L域形成特异性结合靶抗原的Fab样抗原结合模块，其中第一TCRD与第二TCRD形成能够招募至少一个TCR相关信号传导模块的TCRM。在一些实施方案中，Fab样抗原结合模块为人类、人源化、嵌合、半合成或全合成的。在一些实施方案中，第一TCRD进一步包含第一TCR亚单元的第一连接肽或其片段和/或第二TCRD进一步包含第二TCR亚单元的第二连接肽或其片段，其中第一和/或第二连接肽包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:5-12中的任一者的氨基酸序列。在一些实施方案中，第一TCRD进一步包含第一TCR细胞内域和/或第二TCRD进一步包含第二TCR细胞内域，其中第一和/或第二TCR细胞内域包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:13-14中的任一者的氨基酸序列。在一些实施方案中，abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域，其包含a)至少一个包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:70或71的氨基酸序列的T细胞共刺激信号传导序列；和/或b)包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:50-52中的任一者的氨基酸序列的表位标签。在一些实施方案中，abTCR进一步包含在第一抗原结合域的氨基端的第一信号肽和/或在第二抗原结合域的氨基端的第二信号肽，其中第一和/或第二信号肽包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列。在一些实施方案中，TCRM能够招募至少一个选自CD3δε、CD3γε及ζζ的TCR相关信号传导模块。在一些实施方案中，TCRM促进abTCR-CD3复合体形成。在一些实施方案中，在第一抗原结合域与第一TCRD之间存在第一肽接头和/或在第二抗原结合域与第二TCRD之间存在第二肽接头。在一些实施方案中，第一及第二多肽链例如通过共价键(例如，肽键或其他化学键)或非共价键连接。在一些实施方案中，第一多肽链及第二多肽链经由以下连接：a)在第一TCRD的连接肽中的残基与第二TCRD的连接肽中的残基之间的二硫键；和/或b)在第一抗原结合域中的C_H1抗体域中的残基与第二抗原结合域中的C_L抗体域中的残基之间的二硫键。在一些实施方案中，靶抗原为细胞表面抗原。在一些实施方案中，细胞表面抗原选自下组：蛋白质、糖及脂质。在一些实施方案中，细胞表面抗原为疾病相关抗原，例如肿瘤相关或病毒编码抗原。在一些实施方案中，细胞表面抗原为CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D或FCRL5。在一些实施方案中，靶抗原为表面递呈肽/MHC复合体。在一些实施方案中，肽/MHC复合体包含源自疾病相关抗原(例如肿瘤相关或病毒编码抗原)的肽及MHC蛋白质。在一些实施方案中，肽/MHC复合体包含肽及MHC蛋白质，其中该肽源自选自下组的蛋白质：WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA。在一些实施方案中，MHC蛋白质为MHCI类蛋白质。在

一些实施方案中，MHCI类蛋白质为HLA-A。在一些实施方案中，HLA-A为HLA-A02。在一些实施方案中，HLA-A02为HLA-A*02:01。

[0174] 在一些实施方案中，提供一种特异性识别靶抗原的abTCR，其包含：a)第一多肽链，第一多肽链包含第一抗原结合域及第一TCRD，第一抗原结合域包含V_H抗体域，第一TCRD包含含有(例如由以下组成)SEQ ID NO:1-4中的任一者的氨基酸序列的跨膜域；及b)第二多肽链，第二多肽链包含第二抗原结合域及第二TCRD，第二抗原结合域包含V_L抗体域，第二TCRD包含含有(例如由以下组成)SEQ ID NO:1-4中的任一者的氨基酸序列的跨膜域，其中第一抗原结合域的V_H域与第二抗原结合域的V_L域形成特异性结合靶抗原的Fv样抗原结合模块，其中第一TCRD与第二TCRD形成能够招募至少一个TCR相关信号传导模块的TCRM，且其中靶抗原为肽/MHC复合体。在一些实施方案中，Fv样抗原结合模块为人类、人源化、嵌合、半合成或全合成的。在一些实施方案中，第一TCRD进一步包含第一TCR亚单元的第一连接肽或其片段和/或第二TCRD进一步包含第二TCR亚单元的第二连接肽或其片段，其中第一和/或第二连接肽包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:5-12中的任一者的氨基酸序列。在一些实施方案中，第一TCRD进一步包含第一TCR细胞内域和/或第二TCRD进一步包含第二TCR细胞内域，其中第一和/或第二TCR细胞内域包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:13-14中的任一者的氨基酸序列。在一些实施方案中，abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域，其包含a)至少一个包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:70或71的氨基酸序列的T细胞共刺激信号传导序列；和/或b)包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:50-52中的任一者的氨基酸序列的表位标签。在一些实施方案中，abTCR进一步包含在第一抗原结合域的氨基端的第一信号肽和/或在第二抗原结合域的氨基端的第二信号肽，其中第一和/或第二信号肽包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列。在一些实施方案中，TCRM能够招募至少一个选自CD3δε、CD3γε及ζζ的TCR相关信号传导模块。在一些实施方案中，TCRM促进abTCR-CD3复合体形成。在一些实施方案中，在第一抗原结合域与第一TCRD之间存在第一肽接头和/或在第二抗原结合域与第二TCRD之间存在第二肽接头。在一些实施方案中，第一及第二肽接头能够彼此结合。在一些实施方案中，第一和/或第二肽接头源自免疫球蛋白重链和/或轻链恒定区。在一些实施方案中，第一和/或第二肽接头源自TCR亚单元恒定区。举例而言，在一些实施方案中，第一和/或第二肽接头源自a)TCRα及β亚单元恒定域；或b)TCRγ及δ亚单元恒定域。在一些实施方案中，第一和/或第二肽接头为合成的。在一些实施方案中，第一及第二多肽链例如通过共价键(例如，肽键或其他化学键)或非共价键连接。在一些实施方案中，第一多肽链及第二多肽链经由以下连接：a)在第一TCRD的连接肽中的残基与第二TCRD的连接肽中的残基之间的二硫键；和/或b)在第一肽接头中的残基与第二肽接头中的残基之间的二硫键。在一些实施方案中，第一和/或第二肽接头为相比于获得其的序列而言包含一或多个修饰(例如，氨基酸取代、插入和/或缺失)的变异体。在一些实施方案中，第一和/或第二肽接头包含一或多个基本上不改变其彼此之间的结合亲和力的修饰。在一些实施方案中，第一和/或第二肽接头包含一或多个增加其彼此之间的结合亲和力和/或引入非天然存在的二硫键的修饰。在一些实施方案中，靶抗原肽/MHC复合体包含源自疾病相关抗原(例如肿瘤相关或病毒编码抗原)的肽及MHC蛋白质。在一些实施方案中，肽/MHC复合体包含肽及MHC蛋白质，其中该肽源自选自下组的蛋白质：WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA。在一些实施方案中，MHC蛋白质为MHCI类蛋白质。在一些实施方案中，MHCI类蛋白质为HLA-A。在一些实施方案

中,HLA-A为HLA-A02。在一些实施方案中,HLA-A02为HLA-A*02:01。

[0175] 在一些实施方案中,提供一种特异性识别靶抗原的abTCR,其包含a)第一多肽链,第一多肽链自氨基端至羧基端依次包含第一抗原结合域及第一TCRD,第一抗原结合域包含V_H及C_H1抗体域,第一TCRD包含含有(例如由以下组成)SEQ ID NO:5-12中的任一者的氨基酸序列的连接肽及包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:1-4中的任一者的氨基酸序列的跨膜域;及b)第二多肽链,第二多肽链自氨基端至羧基端依次包含第二抗原结合域及第二TCRD,第二抗原结合域包含V_L及C_L抗体域,第二TCRD包含含有(例如由以下组成)SEQ ID NO:5-12中的任一者的氨基酸序列的连接肽及包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:1-4中的任一者的氨基酸序列的跨膜域;其中第一抗原结合域的V_H及C_H1域与第二抗原结合域的V_L及C_L域形成特异性结合靶抗原的Fab样抗原结合模块,其中第一TCRD与第二TCRD形成能够招募至少一个TCR相关信号传导模块的TCRM。在一些实施方案中,Fab样抗原结合模块为人类、人源化、嵌合、半合成或全合成的。在一些实施方案中,第一TCRD进一步包含第一TCR细胞内域和/或第二TCRD进一步包含第二TCR细胞内域,其中第一和/或第二TCR细胞内域包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:13-14中的任一者的氨基酸序列。在一些实施方案中,abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域,其包含至少一个包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:70或71的氨基酸序列的T细胞共刺激信号传导序列;和/或b)包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:50-52中的任一者的氨基酸序列的表位标签。在一些实施方案中,abTCR进一步包含在第一抗原结合域的氨基端的第一信号肽和/或在第二抗原结合域的氨基端的第二信号肽,其中第一和/或第二信号肽包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列。在一些实施方案中,TCRM能够招募至少一个选自CD3δε、CD3γε及ζζ的TCR相关信号传导模块。在一些实施方案中,TCRM促进abTCR-CD3复合体形成。在一些实施方案中,第一多肽链及第二多肽链经由以下连接:a)在第一TCRD的连接肽中的残基与第二TCRD的连接肽中的残基之间的二硫键;和/或b)在第一抗原结合域中的C_H1抗体域中的残基与第二抗原结合域中的C_L抗体域中的残基之间的二硫键。在一些实施方案中,靶抗原为细胞表面抗原。在一些实施方案中,细胞表面抗原选自下组:蛋白质、糖及脂质。在一些实施方案中,细胞表面抗原为疾病相关抗原,例如肿瘤相关或病毒编码抗原。在一些实施方案中,细胞表面抗原为CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D或FCRL5。在一些实施方案中,靶抗原为表面递呈肽/MHC复合体。在一些实施方案中,肽/MHC复合体包含源自疾病相关抗原(例如肿瘤相关或病毒编码抗原)的肽及MHC蛋白质。在一些实施方案中,肽/MHC复合体包含肽及MHC蛋白质,其中该肽源自选自下组的蛋白质:WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA。在一些实施方案中,MHC蛋白质为MHCI类蛋白质。在一些实施方案中,MHCI类蛋白质为HLA-A。在一些实施方案中,HLA-A为HLA-A02。在一些实施方案中,HLA-A02为HLA-A*02:01。

[0176] 在一些实施方案中,提供一种特异性识别靶抗原的abTCR,其包含a)第一多肽链,第一多肽链自氨基端至羧基端依次包含第一抗原结合域及第一TCRD,第一抗原结合域包含V_H抗体域,第一TCRD包含含有(例如由以下组成)SEQ ID NO:5-12中的任一者的氨基酸序列的连接肽及包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:1-4中的任一者的氨基酸序列的跨膜域;及b)第二多肽链,第二多肽链自氨基端至羧基端依次包含第二抗原结合域及第二TCRD,第二抗原结合域包含V_L抗体域,第二TCRD包含含有(例如由以下组成)SEQ ID NO:5-12中的任一者的氨基酸序列的连接肽及包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:1-4中的任一者的氨基酸序

列的跨膜域;其中第一抗原结合域的V_H域与第二抗原结合域的V_L域形成特异性结合靶抗原的Fv样抗原结合模块,其中第一TCRD与第二TCRD形成能够招募至少一个TCR相关信号传导模块的TCRM,且其中靶抗原为肽/MHC复合体。在一些实施方案中,Fv样抗原结合模块为人类、人源化、嵌合、半合成或全合成的。在一些实施方案中,第一TCRD进一步包含第一TCR亚单元的第一连接肽或其片段和/或第二TCRD进一步包含第二TCR亚单元的第二连接肽或其片段,其中第一和/或第二连接肽包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:5-12中的任一者的氨基酸序列。在一些实施方案中,第一TCRD进一步包含第一TCR细胞内域和/或第二TCRD进一步包含第二TCR细胞内域,其中第一和/或第二TCR细胞内域包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:13-14中的任一者的氨基酸序列。在一些实施方案中,abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域,其包含a)至少一个包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:70或71的氨基酸序列的T细胞共刺激信号传导序列;和/或b)包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:50-52中的任一者的氨基酸序列的表位标签。在一些实施方案中,abTCR进一步包含在第一抗原结合域的氨基端的第一信号肽和/或在第二抗原结合域的氨基端的第二信号肽,其中第一和/或第二信号肽包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列。在一些实施方案中,TCRM能够招募至少一个选自CD3δε、CD3γε及ζζ的TCR相关信号传导模块。在一些实施方案中,TCRM促进abTCR-CD3复合体形成。在一些实施方案中,在第一抗原结合域与第一TCRD之间存在第一肽接头和/或在第二抗原结合域与第二TCRD之间存在第二肽接头。在一些实施方案中,第一及第二肽接头能够彼此结合。在一些实施方案中,第一和/或第二肽接头源自免疫球蛋白重链和/或轻链恒定区。在一些实施方案中,第一和/或第二肽接头源自TCR亚单元恒定区。举例而言,在一些实施方案中,第一和/或第二肽接头源自a)TCRα及β亚单元恒定域;或b)TCRγ及δ亚单元恒定域。在一些实施方案中,第一和/或第二肽接头为合成的。在一些实施方案中,第一及第二多肽链例如通过共价键(例如,肽键或其他化学键)或非共价键连接。在一些实施方案中,第一多肽链及第二多肽链经由以下连接:a)在第一TCRD的连接肽中的残基与第二TCRD的连接肽中的残基之间的二硫键;和/或b)在第一肽接头中的残基与第二肽接头中的残基之间的二硫键。在一些实施方案中,第一和/或第二肽接头为相比于获得其的序列而言包含一或多个修饰(例如,氨基酸取代、插入和/或缺失)的变异体。在一些实施方案中,第一和/或第二肽接头包含一或多个基本上不改变其彼此之间的结合亲和力的修饰。在一些实施方案中,第一和/或第二肽接头包含一或多个增加其彼此之间的结合亲和力和/或引入非天然存在的二硫键的修饰。在一些实施方案中,靶抗原肽/MHC复合体包含源自疾病相关抗原(例如肿瘤相关或病毒编码抗原)的肽及MHC蛋白质。在一些实施方案中,肽/MHC复合体包含肽及MHC蛋白质,其中该肽源自选自下组的蛋白质:WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA。在一些实施方案中,MHC蛋白质为MHCI类蛋白质。在一些实施方案中,MHCI类蛋白质为HLA-A。在一些实施方案中,HLA-A为HLA-A02。在一些实施方案中,HLA-A02为HLA-A*02:01。

[0177] 在一些实施方案中,提供一种特异性识别靶抗原的abTCR,其包含a)第一多肽链,第一多肽链自氨基端至羧基端依次包含第一抗原结合域及第一TCRD,第一TCRD包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列;及b)第二多肽链,第二多肽链自氨基端至羧基端依次包含第二抗原结合域及第二TCRD,第二TCRD包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列;其中第一抗原结合域与第二抗原结合域形成特异性结合靶抗原的Fab样抗原结合模块,其中第一TCRD与第二TCRD形成能够招募至少一个TCR相关信号传导模块的TCRM。在一些实施方案中,Fab样抗原结合模块

为人类、人源化、嵌合、半合成或全合成的。在一些实施方案中，abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域，其包含a)至少一个包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:70或71的氨基酸序列的T细胞共刺激信号传导序列；和/或b)包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:50-52中的任一者的氨基酸序列的表位标签。在一些实施方案中，abTCR进一步包含在第一抗原结合域的氨基端的第一信号肽和/或在第二抗原结合域的氨基端的第二信号肽，其中第一和/或第二信号肽包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列。在一些实施方案中，TCRM能够招募至少一个选自CD3δε、CD3γε及ζζ的TCR相关信号传导模块。在一些实施方案中，TCRM促进abTCR-CD3复合体形成。在一些实施方案中，第一多肽链及第二多肽链经由以下连接：a)在第一TCRD的连接肽中的残基与第二TCRD的连接肽中的残基之间的二硫键；和/或b)在Fab样抗原结合模块中的C_H1及C_L抗体域中的残基之间的二硫键。在一些实施方案中，靶抗原为细胞表面抗原。在一些实施方案中，细胞表面抗原选自下组：蛋白质、糖及脂质。在一些实施方案中，细胞表面抗原为疾病相关抗原，例如肿瘤相关或病毒编码抗原。在一些实施方案中，细胞表面抗原为CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D或FCRL5。在一些实施方案中，靶抗原为表面递呈肽/MHC复合体。在一些实施方案中，肽/MHC复合体包含源自疾病相关抗原(例如肿瘤相关或病毒编码抗原)的肽及MHC蛋白质。在一些实施方案中，肽/MHC复合体包含肽及MHC蛋白质，其中该肽源自选自下组的蛋白质：WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA。在一些实施方案中，MHC蛋白质为MHCI类蛋白质。在一些实施方案中，MHCI类蛋白质为HLA-A。在一些实施方案中，HLA-A为HLA-A02。在一些实施方案中，HLA-A02为HLA-A*02:01。

[0178] 在一些实施方案中，提供一种特异性识别靶抗原的abTCR，其包含a)第一多肽链，第一多肽链自氨基端至羧基端依次包含第一抗原结合域及第一TCRD，第一TCRD包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列；及b)第二多肽链，第二多肽链自氨基端至羧基端依次包含第二抗原结合域及第二TCRD，第二TCRD包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列；其中第一抗原结合域与第二抗原结合域形成特异性结合靶抗原的Fab样抗原结合模块，其中第一TCRD与第二TCRD形成能够招募至少一个TCR相关信号传导模块的TCRM。在一些实施方案中，Fab样抗原结合模块为人类、人源化、嵌合、半合成或全合成的。在一些实施方案中，abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域，其包含a)至少一个包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:70或71的氨基酸序列的T细胞共刺激信号传导序列；和/或b)包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:50-52中的任一者的氨基酸序列的表位标签。在一些实施方案中，abTCR进一步包含在第一抗原结合域的氨基端的第一信号肽和/或在第二抗原结合域的氨基端的第二信号肽，其中第一和/或第二信号肽包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列。在一些实施方案中，TCRM能够招募至少一个选自CD3δε、CD3γε及ζζ的TCR相关信号传导模块。在一些实施方案中，TCRM促进abTCR-CD3复合体形成。在一些实施方案中，第一多肽链及第二多肽链经由以下连接：a)在第一TCRD的连接肽中的残基与第二TCRD的连接肽中的残基之间的二硫键；和/或b)在Fab样抗原结合模块中的C_H1及C_L抗体域中的残基之间的二硫键。在一些实施方案中，靶抗原为细胞表面抗原。在一些实施方案中，细胞表面抗原选自下组：蛋白质、糖及脂质。在一些实施方案中，细胞表面抗原为疾病相关抗原，例如肿瘤相关或病毒编码抗原。在一些实施方案中，细胞表面抗原为CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D或FCRL5。在一些实施方案中，靶抗原为表面递呈肽/MHC复合体。在一些实施方案中，肽/MHC复合体包含源自疾病相关抗原(例如肿瘤相关或病毒编码抗原)的肽及MHC蛋白质。在一些实施方案中，肽/MHC复合体包含肽及MHC蛋白质，其中该肽源

自选自下组的蛋白质:WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA。在一些实施方案中,MHC蛋白质为MHCI类蛋白质。在一些实施方案中,MHCI类蛋白质为HLA-A。在一些实施方案中,HLA-A为HLA-A02。在一些实施方案中,HLA-A02为HLA-A*02:01。

[0179] 在一些实施方案中,提供一种特异性识别靶抗原的abTCR,其包含a)第一多肽链,第一多肽链自氨基端至羧基端依次包含第一抗原结合域及第一TCRD,第一TCRD包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列;及b)第二多肽链,第二多肽链自氨基端至羧基端依次包含第二抗原结合域及第二TCRD,第二TCRD包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列;其中第一抗原结合域与第二抗原结合域形成特异性结合靶抗原的Fab样抗原结合模块,其中第一TCRD与第二TCRD形成能够招募至少一个TCR相关信号传导模块的TCRM。在一些实施方案中,Fab样抗原结合模块为人类、人源化、嵌合、半合成或全合成的。在一些实施方案中,abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域,其包含a)至少一个包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:70或71的氨基酸序列的T细胞共刺激信号传导序列;和/或b)包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:50-52中的任一者的氨基酸序列的表位标签。在一些实施方案中,abTCR进一步包含在第一抗原结合域的氨基端的第一信号肽和/或在第二抗原结合域的氨基端的第二信号肽,其中第一和/或第二信号肽包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列。在一些实施方案中,TCRM能够招募至少一个选自CD3δε、CD3γε及ζζ的TCR相关信号传导模块。在一些实施方案中,TCRM促进abTCR-CD3复合体形成。在一些实施方案中,第一多肽链及第二多肽链经由以下连接:a)在第一TCRD的连接肽中的残基与第二TCRD的连接肽中的残基之间的二硫键;和/或b)在Fab样抗原结合模块中的C_H1及C_L抗体域中的残基之间的二硫键。在一些实施方案中,靶抗原为细胞表面抗原。在一些实施方案中,细胞表面抗原选自下组:蛋白质、糖及脂质。在一些实施方案中,细胞表面抗原为疾病相关抗原,例如肿瘤相关或病毒编码抗原。在一些实施方案中,细胞表面抗原为CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D或FCRL5。在一些实施方案中,靶抗原为表面递呈肽/MHC复合体。在一些实施方案中,肽/MHC复合体包含源自疾病相关抗原(例如肿瘤相关或病毒编码抗原)的肽及MHC蛋白质。在一些实施方案中,肽/MHC复合体包含肽及MHC蛋白质,其中该肽源自选自下组的蛋白质:WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA。在一些实施方案中,MHC蛋白质为MHCI类蛋白质。在一些实施方案中,MHCI类蛋白质为HLA-A。在一些实施方案中,HLA-A为HLA-A02。在一些实施方案中,HLA-A02为HLA-A*02:01。

[0180] 在一些实施方案中,提供一种特异性识别靶抗原的abTCR,其包含a)第一多肽链,第一多肽链自氨基端至羧基端依次包含第一抗原结合域及第一TCRD,第一TCRD包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列;及b)第二多肽链,第二多肽链自氨基端至羧基端依次包含第二抗原结合域及第二TCRD,第二TCRD包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列;其中第一抗原结合域与第二抗原结合域形成特异性结合靶抗原的Fab样抗原结合模块,其中第一TCRD与第二TCRD形成能够招募至少一个TCR相关信号传导模块的TCRM。在一些实施方案中,Fab样抗原结合模块为人类、人源化、嵌合、半合成或全合成的。在一些实施方案中,abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域,其包含a)至少一个包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:70或71的氨基酸序列的T细胞共刺激信号传导序列;和/或b)包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:50-52中的任一者的氨基酸序列的表位标签。在一些实施方案中,abTCR进一步包含在第一抗原结合域的氨基端的第一信号肽和/或在第二抗原结合域的氨基端的第二信号肽,其中第一和/或第二信号肽包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列。在一些实施方案中,TCRM能够招募至少一个选自CD3

δε、CD3γε及ζζ的TCR相关信号传导模块。在一些实施方案中，TCRM促进abTCR-CD3复合体形成。在一些实施方案中，第一多肽链及第二多肽链经由以下连接：a)在第一TCRD的连接肽中的残基与第二TCRD的连接肽中的残基之间的二硫键；和/或b)在Fab样抗原结合模块中的C_H1及C_L抗体域中的残基之间的二硫键。在一些实施方案中，靶抗原为细胞表面抗原。在一些实施方案中，细胞表面抗原选自下组：蛋白质、糖及脂质。在一些实施方案中，细胞表面抗原为疾病相关抗原，例如肿瘤相关或病毒编码抗原。在一些实施方案中，细胞表面抗原为CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D或FCRL5。在一些实施方案中，靶抗原为表面递呈肽/MHC复合体。在一些实施方案中，肽/MHC复合体包含源自疾病相关抗原(例如肿瘤相关或病毒编码抗原)的肽及MHC蛋白质。在一些实施方案中，肽/MHC复合体包含肽及MHC蛋白质，其中该肽源自选自下组的蛋白质：WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA。在一些实施方案中，MHC蛋白质为MHCI类蛋白质。在一些实施方案中，MHCI类蛋白质为HLA-A。在一些实施方案中，HLA-A为HLA-A02。在一些实施方案中，HLA-A02为HLA-A*02:01。

[0181] 在一些实施方案中，提供一种特异性识别包含AFP肽及MHCI蛋白质的复合体的abTCR，其包含a)第一多肽链，第一多肽链包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列；及b)第二多肽链，第二多肽链包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列。在一些实施方案中，第一多肽链及第二多肽链经由一或多个二硫键连接。在一些实施方案中，abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域，其包含T细胞共刺激信号传导序列(例如来自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)和/或表位标签(例如HA、FLAG或myc)。在一些实施方案中，表位标签包含SEQ ID NO:50-52的氨基酸序列中的任一者。在一些实施方案中，第一多肽链进一步包含在第一abTCR域的氨基端的第一信号肽和/或第二多肽链进一步包含在第二abTCR域的氨基端的第二信号肽。在一些实施方案中，第一和/或第二信号肽包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:49的氨基酸序列。

[0182] 在一些实施方案中，提供一种特异性识别包含AFP肽及MHCI蛋白质的复合体的abTCR，其包含a)第一多肽链，第一多肽链包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列；及b)第二多肽链，第二多肽链包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列。在一些实施方案中，第一多肽链及第二多肽链经由一或多个二硫键连接。在一些实施方案中，abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域，其包含T细胞共刺激信号传导序列(例如来自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)和/或表位标签(例如HA、FLAG或myc)。在一些实施方案中，表位标签包含SEQ ID NO:50-52的氨基酸序列中的任一者。在一些实施方案中，第一多肽链进一步包含在第一abTCR域的氨基端的第一信号肽和/或第二多肽链进一步包含在第二abTCR域的氨基端的第二信号肽。在一些实施方案中，第一和/或第二信号肽包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:49的氨基酸序列。

[0183] 在一些实施方案中，提供一种特异性识别包含AFP肽及MHCI蛋白质的复合体的abTCR，其包含a)第一多肽链，第一多肽链包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列；及b)第二多肽链，第二多肽链包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列。在一些实施方案中，第一多肽链及第二多肽链经由一或多个二硫键连接。在一些实施方案中，abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域，其包含T细胞共刺激信号传导序列(例如来自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)和/或表位标签(例如HA、FLAG或myc)。在一些实施方案中，表位标签包含SEQ ID NO:50-52的氨基酸序列中的任一

者。在一些实施方案中，第一多肽链进一步包含在第一abTCR域的氨基端的第一信号肽和/或第二多肽链进一步包含在第二abTCR域的氨基端的第二信号肽。在一些实施方案中，第一和/或第二信号肽包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:49的氨基酸序列。

[0184] 在一些实施方案中，提供一种特异性识别包含AFP肽及MHCI蛋白质的复合体的abTCR，其包含a)第一多肽链，第一多肽链包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列；及b)第二多肽链，第二多肽链包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列。在一些实施方案中，第一多肽链及第二多肽链经由一或多个二硫键连接。在一些实施方案中，abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域，其包含T细胞共刺激信号传导序列(例如来自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)和/或表位标签(例如HA、FLAG或myc)。在一些实施方案中，表位标签包含SEQ ID NO:50-52的氨基酸序列中的任一者。在一些实施方案中，第一多肽链进一步包含在第一abTCR域的氨基端的第一信号肽和/或第二多肽链进一步包含在第二abTCR域的氨基端的第二信号肽。在一些实施方案中，第一和/或第二信号肽包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:49的氨基酸序列。

[0185] 在一些实施方案中，提供一种特异性识别包含AFP肽及MHCI蛋白质的复合体的abTCR，其包含a)第一多肽链，第一多肽链包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列；及b)第二多肽链，第二多肽链包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列。在一些实施方案中，第一多肽链及第二多肽链经由一或多个二硫键连接。在一些实施方案中，abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域，其包含T细胞共刺激信号传导序列(例如来自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)和/或表位标签(例如HA、FLAG或myc)。在一些实施方案中，表位标签包含SEQ ID NO:50-52的氨基酸序列中的任一者。在一些实施方案中，第一多肽链进一步包含在第一abTCR域的氨基端的第一信号肽和/或第二多肽链进一步包含在第二abTCR域的氨基端的第二信号肽。在一些实施方案中，第一和/或第二信号肽包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:49的氨基酸序列。

[0186] 在一些实施方案中，提供一种特异性识别包含AFP肽及MHCI蛋白质的复合体的abTCR，其包含a)第一多肽链，第一多肽链包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列；及b)第二多肽链，第二多肽链包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列。在一些实施方案中，第一多肽链及第二多肽链经由一或多个二硫键连接。在一些实施方案中，abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域，其包含T细胞共刺激信号传导序列(例如来自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)和/或表位标签(例如HA、FLAG或myc)。在一些实施方案中，表位标签包含SEQ ID NO:50-52的氨基酸序列中的任一者。在一些实施方案中，第一多肽链进一步包含在第一abTCR域的氨基端的第一信号肽和/或第二多肽链进一步包含在第二abTCR域的氨基端的第二信号肽。在一些实施方案中，第一和/或第二信号肽包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:49的氨基酸序列。

[0187] 在一些实施方案中，提供一种特异性识别包含AFP肽及MHCI蛋白质的复合体的abTCR，其包含a)第一多肽链，第一多肽链包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列；及b)第二多肽链，第二多肽链包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列。在一些实施方案中，第一多肽链及第二多肽链经由一或多个二硫键连接。在一些实施方案中，abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域，其包含T细胞共刺激信号传导序列(例如来自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)和/或表位标签(例如HA、

FLAG或myc)。在一些实施方案中,表位标签包含SEQ ID NO:50-52的氨基酸序列中的任一者。在一些实施方案中,第一多肽链进一步包含在第一abTCR域的氨基端的第一信号肽和/或第二多肽链进一步包含在第二abTCR域的氨基端的第二信号肽。在一些实施方案中,第一和/或第二信号肽包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:49的氨基酸序列。

[0188] 在一些实施方案中,提供一种特异性识别包含AFP肽及MHCI蛋白质的复合体的abTCR,其包含抗原结合模块,该抗原结合模块包含V_H抗体域及V_L抗体域,V_H抗体域包含(且在一些实施方案中,由以下组成)SEQ ID NO:38的氨基酸序列或其具有至少约95%(例如至少约96%、97%、98%或99%中的任一者)序列同一性的变异体,V_L抗体域包含(且在一些实施方案中,由以下组成)SEQ ID NO:40的氨基酸序列或其具有至少约95%(例如至少约96%、97%、98%或99%中的任一者)序列同一性的变异体。

[0189] 因此,在一些实施方案中,提供一种根据以上所述abTCR中的任一者的特异性识别包含AFP肽及MHCI蛋白质的复合体的abTCR,其中Fab样抗原结合模块的V_H抗体域替换为包含(且在一些实施方案中,由以下组成)SEQ ID NO:38的氨基酸序列的序列或其具有至少约95%(例如至少约96%、97%、98%或99%中的任一者)序列同一性的变异体,且其中Fab样抗原结合模块的V_L抗体域替换为包含(且在一些实施方案中,由以下组成)SEQ ID NO:40的氨基酸序列的序列或其具有至少约95%(例如至少约96%、97%、98%或99%中的任一者)序列同一性的变异体。

[0190] 在一些实施方案中,提供一种特异性识别CD19的abTCR,其包含a)第一多肽链,第一多肽链包含第一abTCR域,第一abTCR域包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列;及b)第二多肽链,第二多肽链包含第二abTCR域,第二abTCR域包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列。在一些实施方案中,第一多肽链及第二多肽链经由一或多个二硫键连接。在一些实施方案中,abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域,其包含T细胞共刺激信号传导序列(例如来自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)和/或表位标签(例如HA、FLAG或myc)。在一些实施方案中,表位标签包含SEQ ID NO:50-52的氨基酸序列中的任一者。在一些实施方案中,第一多肽链进一步包含在第一abTCR域的氨基端的第一信号肽和/或第二多肽链进一步包含在第二abTCR域的氨基端的第二信号肽。在一些实施方案中,第一和/或第二信号肽包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:49的氨基酸序列。

[0191] 在一些实施方案中,提供一种特异性识别CD19的abTCR,其包含a)第一多肽链,第一多肽链包含第一abTCR域,第一abTCR域包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列;及b)第二多肽链,第二多肽链包含第二abTCR域,第二abTCR域包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列。在一些实施方案中,第一多肽链及第二多肽链经由一或多个二硫键连接。在一些实施方案中,abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域,其包含T细胞共刺激信号传导序列(例如来自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)和/或表位标签(例如HA、FLAG或myc)。在一些实施方案中,表位标签包含SEQ ID NO:50-52的氨基酸序列中的任一者。在一些实施方案中,第一多肽链进一步包含在第一abTCR域的氨基端的第一信号肽和/或第二多肽链进一步包含在第二abTCR域的氨基端的第二信号肽。在一些实施方案中,第一和/或第二信号肽包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:49的氨基酸序列。

[0192] 在一些实施方案中,提供一种特异性识别CD19的abTCR,其包含a)第一多肽链,第一多肽链包含第一abTCR域,第一abTCR域包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列;及b)第二多肽

链,第二多肽链包含第二abTCR域,第二abTCR域包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列。在一些实施方案中,第一多肽链及第二多肽链经由一或多个二硫键连接。在一些实施方案中,abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域,其包含T细胞共刺激信号传导序列(例如来自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)和/或表位标签(例如HA、FLAG或myc)。在一些实施方案中,表位标签包含SEQ ID NO:50-52的氨基酸序列中的任一者。在一些实施方案中,第一多肽链进一步包含在第一abTCR域的氨基端的第一信号肽和/或第二多肽链进一步包含在第二abTCR域的氨基端的第二信号肽。在一些实施方案中,第一和/或第二信号肽包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:49的氨基酸序列。

[0193] 在一些实施方案中,提供一种特异性识别CD19的abTCR,其包含a)第一多肽链,第一多肽链包含第一abTCR域,第一abTCR域包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列;及b)第二多肽链,第二多肽链包含第二abTCR域,第二abTCR域包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列。在一些实施方案中,第一多肽链及第二多肽链经由一或多个二硫键连接。在一些实施方案中,abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域,其包含T细胞共刺激信号传导序列(例如来自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)和/或表位标签(例如HA、FLAG或myc)。在一些实施方案中,表位标签包含SEQ ID NO:50-52的氨基酸序列中的任一者。在一些实施方案中,第一多肽链进一步包含在第一abTCR域的氨基端的第一信号肽和/或第二多肽链进一步包含在第二abTCR域的氨基端的第二信号肽。在一些实施方案中,第一和/或第二信号肽包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:49的氨基酸序列。

[0194] 在一些实施方案中,提供一种根据本文所述实施方案中的任一者的特异性识别CD19的abTCR,其包含抗原结合模块,抗原结合模块包含V_H抗体域及V_L抗体域,V_H抗体域包含(且在一些实施方案中,由以下组成)SEQ ID NO:45的氨基酸序列或其具有至少约95%(例如至少约96%、97%、98%或99%中的任一者)序列同一性的变异体,V_L抗体域包含(且在一些实施方案中,由以下组成)SEQ ID NO:46的氨基酸序列或其具有至少约95%(例如至少约96%、97%、98%或99%中的任一者)序列同一性的变异体。

[0195] 在一些实施方案中,提供一种根据本文所述实施方案中的任一者的特异性识别CD19的abTCR,其包含抗原结合模块,抗原结合模块包含V_H抗体域及V_L抗体域,V_H抗体域包含(且在一些实施方案中,由以下组成)SEQ ID NO:45的氨基酸序列或其具有至少约95%(例如至少约96%、97%、98%或99%中的任一者)序列同一性的变异体,V_L抗体域包含(且在一些实施方案中,由以下组成)SEQ ID NO:57的氨基酸序列或其具有至少约95%(例如至少约96%、97%、98%或99%中的任一者)序列同一性的变异体。

[0196] 在一些实施方案中,提供一种根据本文所述实施方案中的任一者的特异性识别CD19的abTCR,其包含抗原结合模块,抗原结合模块包含V_H抗体域及V_L抗体域,V_H抗体域包含(且在一些实施方案中,由以下组成)SEQ ID NO:58的氨基酸序列或其具有至少约95%(例如至少约96%、97%、98%或99%中的任一者)序列同一性的变异体,V_L抗体域包含(且在一些实施方案中,由以下组成)SEQ ID NO:57的氨基酸序列或其具有至少约95%(例如至少约96%、97%、98%或99%中的任一者)序列同一性的变异体。

[0197] 在一些实施方案中,提供一种根据本文所述实施方案中的任一者的特异性识别CD19的abTCR,其包含抗原结合模块,抗原结合模块包含V_H抗体域及V_L抗体域,V_H抗体域包含(且在一些实施方案中,由以下组成)SEQ ID NO:59的氨基酸序列或其具有至少约95%(例

如至少约96％、97％、98％或99％中的任一者)序列同一性的变异体，V_L抗体域包含(且在一些实施方案中，由以下组成)SEQ ID NO:57的氨基酸序列或其具有至少约95％(例如至少约96％、97％、98％或99％中的任一者)序列同一性的变异体。在一些实施方案中，提供一种根据本文所述实施方案中的任一者的特异性识别包含NY-ESO-1157-165肽及MHCI蛋白质的复合体的abTCR，其包含抗原结合模块，抗原结合模块包含V_H抗体域及V_L抗体域，V_H抗体域包含(且在一些实施方案中，由以下组成)SEQ ID NO:72的氨基酸序列或其具有至少约95％(例如至少约96％、97％、98％或99％中的任一者)序列同一性的变异体，V_L抗体域包含(且在一些实施方案中，由以下组成)SEQ ID NO:73的氨基酸序列或其具有至少约95％(例如至少约96％、97％、98％或99％中的任一者)序列同一性的变异体。

[0198] 在一些实施方案中，提供一种根据本文所述abTCR中的任一者的abTCR，其包含第一抗原结合模块，第一抗原结合模块与第二抗原结合模块竞争结合至靶抗原。在一些实施方案中，第一抗原结合模块与第二抗原结合模块结合至相同或大体上相同的表位。在一些实施方案中，第一抗原结合模块与靶抗原的结合使第二抗原结合模块与靶抗原的结合遭到至少约70％(例如至少约75％、80％、85％、90％、95％、98％或99％中的任一者)的抑制，或反之亦然。在一些实施方案中，第一抗原结合模块及第二抗原结合模块交叉竞争结合至靶抗原，也即第一及第二抗原结合模块各自彼此竞争结合至靶抗原。

[0199] 在一些实施方案中，提供一种根据本文所述abTCR中的任一者的abTCR，其中V_L及V_H域互换，使得第一抗原结合域包含V_L及C_H1抗体域且第二抗原结合域包含V_H及C_L抗体域。

[0200] 在一些实施方案中，提供一种复合体，其包含根据本文所述abTCR中的任一者abTCR及至少一个选自CD3δε、CD3γε及ζζ的信号传导模块。在一些实施方案中，复合体包含CD3δε、CD3γε及ζζ中的每一者。因此，在一些实施方案中，提供一种包含abTCR、CD3δε、CD3γε及ζζ的复合体。

[0201] 不同方面更详细地论述于下文各部分中。

[0202] 核酸

[0203] 也涵盖编码abTCR的核酸分子。在一些实施方案中，根据本文所述abTCR中的任一者，提供一种编码abTCR的核酸(或一组核酸)。

[0204] 本发明也提供插入有本发明的核酸的载体。

[0205] 简单概括而言，通过编码abTCR的核酸表达abTCR可通过将核酸插入至适当表达载体中，使得核酸可操作地连接于5'及3'调节元件，包括例如启动子(例如淋巴细胞特异性启动子)及3'非翻译区(UTR)而实现。载体可适合于真核宿主细胞中的复制及整合。典型克隆及表达载体含有转录及翻译终止子、起始序列及适用于调节所要核酸序列的表达的启动子。

[0206] 本发明的核酸也可用于使用标准基因递送方案的核酸免疫接种及基因疗法。基因递送方法为本领域中已知的。参见例如美国专利第5,399,346号、第5,580,859号、第5,589,466号，其以全文引用的方式并入本文中。在一些实施方案中，本发明提供基因疗法载体。

[0207] 核酸可克隆至多种类型的载体中。举例而言，核酸可克隆至载体中，包括(但不限于)质体、噬菌粒、噬菌体衍生物、动物病毒及粘粒。尤其受关注的载体包括表达载体、复制载体、探针产生载体及测序载体。此外，表达载体可以病毒载体形式提供给细胞。病毒载体技术为本领域中熟知的且描述于例如Sambrook等人(2001,Molecular Cloning:A

Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Laboratory,New York)及其他病毒学及分子生物学手册中。适用作载体的病毒包括(但不限于)反转录病毒、腺病毒、腺相关病毒、疱疹病毒及慢病毒。一般而言,适合载体含有在至少一种有机体中起作用的复制起点、启动子序列、方便的限制核酸内切酶位点及一或多种可选标记物(参见例如WO01/96584;WO01/29058;及美国专利第6,326,193号)。

[0208] 已针对至哺乳动物细胞中的基因转移开发出多个基于病毒的系统。举例而言,反转录病毒提供基因递送系统的适宜平台。所选基因可插入至载体中且使用本领域中已知的技术封装于反转录病毒粒子中。重组病毒可随后经分离且体内或离体传递至个体细胞中。本领域中已知多个反转录病毒系统。在一些实施方案中,使用腺病毒载体。本领域中已知多个腺病毒载体。在一些实施方案中,使用慢病毒载体。来源于反转录病毒(例如慢病毒)的载体为实现长期基因转移的适合工具,因为其允许转基因的长期稳定整合及其在子细胞中的传播。慢病毒载体具有优于来源于致癌反转录病毒(例如鼠类白血病病毒)的载体的额外优势,因为其可转导非增殖性细胞,例如肝细胞。其也具有低免疫原性的额外优势。

[0209] 额外启动子元件(例如,强化子)调节转录起始频率。通常,这些元件定位于起始位点上游30-110bp区中,尽管多个启动子最近已显示含有也在起始位点下游的功能元件。启动子元件之间之间距通常为灵活的,使得当元件倒置或相对于彼此移动时,启动子功能保留。在胸苷激酶(tk)启动子中,启动子元件之间之间距在活性开始减退之前可增加至相隔50bp。

[0210] 适合启动子的一个实施例为即刻早期巨细胞病毒(CMV)启动子序列。此启动子序列为能够驱使高程度表达任何可操作地连接至其上的聚核苷酸序列的强组成性启动子序列。适合启动子的另一实施例为延伸生长因子-1α(EF-1α)。然而,也可使用其他组成性启动子序列,包括(但不限于)猴病毒40(SV40)早期启动子、小鼠乳房肿瘤病毒(MMTV)、人类免疫缺乏病毒(HIV)长末端重复序列(LTR)启动子、MoMuLV启动子、禽类白血病病毒启动子、埃-巴二氏病毒即刻早期启动子、劳斯肉瘤病毒启动子(Roussarcoma virus promoter),以及人类基因启动子,例如(但不限于)肌动蛋白启动子、肌球蛋白启动子、血红蛋白启动子及肌酸激酶启动子。

[0211] 此外,本发明应不限于组成性启动子的使用。也涵盖诱导型启动子作为本发明的一部分。诱导型启动子的使用提供分子开关,该分子开关能够在需要此类表达时打开其可操作地连接的聚核苷酸序列的表达,或在不需要表达时关闭表达。用于真核细胞中的例示性诱导型启动子系统包括(但不限于)激素调节元件(例如参见Mader,S.及White,J.H.(1993)Proc.Natl.Acad.Sci.USA90:5603-5607)、合成配体调节元件(参见例如Spencer,D.M.等人1993)Science262:1019-1024)及电离辐射调节元件(例如参见Manome,Y.等人(1993)BioChemistry32:10607-10613;Datta,R.等人(1992)Proc.Natl.Acad.Sci.USA89:1014-10153)。用于体外或体内哺乳动物系统中的其他例示性诱导型启动子系统综述于Gingrich等人(1998)AnnualRev.Neurosci21:377-405中。

[0212] 用于本发明的例示性诱导型启动子系统为Tet系统。此类系统是基于Gossen等人(1993)所述的Tet系统。在一例示性实施方案中,相关聚核苷酸处于包含一或多个Tet操作子(TetO)位点的启动子的控制下。呈非活性状态时,Tet抑制子(TetR)将结合至TetO位点且抑制自启动子转录。呈活性状态时,例如在例如四环素(Tc)、无水四环素、多西环素

(doxycycline;Dox)或其活性类似物的诱导剂存在下,诱导剂引起TetR自TetO释放,从而允许转录发生。多西环素为四环素抗生素家族的成员,化学名称为1-二甲氨基-2,4a,5,7,12-五羟基-11-甲基-4,6-二侧氧基-1,4a,11,11a,12,12a-六氢稠四苯-3-甲酰胺。

[0213] 在一个实施方案中,TetR针对在例如鼠类或人类细胞的哺乳动物细胞中的表达进行密码子最佳化。由于遗传密码的简并性,所以大部分氨基酸是由超过一个密码子编码,从而允许指定核酸的核苷酸序列的实质性变异,但由核酸编码的氨基酸序列无任何改变。然而,多种生物体在密码子使用方面呈现出差异,也称为"密码子偏好(codon bias)"(也即,针对指定氨基酸使用特定密码子的偏好)。密码子偏好常常与特定密码子的tRNA的主要种类的存在相关,其又可提高mRNA的翻译效率。因此,可经由密码子最佳化来调整源自特定生物体(例如,原核生物)的编码序列以改良在不同生物体(例如,真核生物)中的表达。

[0214] Tet系统的其他特定变化形式包括以下"Tet关"及"Tet开"系统。在Tet关系统中,转录在Tc或Dox存在下为不活跃的。在该系统中,四环素控制的转活化蛋白(tTA)调节在四环素响应性启动子元件(TRE)的转录控制下的靶核酸的表达,tTA是由与来自单纯疱疹病毒的VP16的强转活化域融合的TetR构成。TRE是由与启动子(通常为源自人类巨细胞病毒(hCMV)即刻早期启动子的最小启动子序列)融合的TetO序列多联体组成。在不存在Tc或Dox的情况下,tTA结合至TRE且活化靶基因的转录。在Tc或Dox存在下,tTA不能结合至TRE,且来自靶基因的表达仍不活跃。

[0215] 反之,在Tet开系统中,转录在Tc或Dox存在下为活跃的。Tet开系统是基于反向四环素控制的转活化剂rtTA。如同tTA一样,rtTA也为由TetR抑制子及VP16转活化域构成的融合蛋白。然而,TetRDNA结合部分中的四个氨基酸改变使得rtTA的结合特征改变,使得其仅可在Dox存在下识别标靶转基因的TRE中的tetO序列。因此,在Tet开系统中,TRE调节的靶基因的转录仅在Dox存在下受到rtTA刺激。

[0216] 另一诱导型启动子系统为来自大肠杆菌(E.coli)的lac抑制子系统。(参见Brown等人,Cell 49:603-612(1987)。lac抑制子系统通过调节可操作地连接于包含lac操作子(lacO)的启动子的相关聚核苷酸的转录来起作用。lac抑制子(lacR)结合至LacO,从而防止相关聚核苷酸的转录。相关聚核苷酸的表达是由适合诱导剂诱导,例如异丙基-β-D-硫代哌喃半乳糖苷(IPTG)。

[0217] 为评估多肽或其部分的表达,待引入细胞中的表达载体也可含有可选标记基因或报告基因或两者以促进自设法经病毒载体转染或感染的细胞群体鉴别及选择表达细胞。在其他方面中,可选标记物可携载于独立DNA段上且用于共转染程序。可选标记物及报告基因均可侧接适当调节序列以便能够在宿主细胞中表达。适用可选标记物包括例如耐抗生素基因,例如neo及其类似物。报告基因用于鉴别潜在转染细胞及评估调节序列功能。一般而言,报告基因为接受生物体或组织中不存在或不表达且编码表达通过一些容易检测的特性(例如酶促活性)显现的多肽的基因。在DNA已引入受体细胞中之后的适合时间分析报告基因的表达。适合报告基因可包括编码荧光素酶、β-半乳糖苷酶、氯霉素乙酰基转移酶、分泌碱性磷酸酶或绿色荧光蛋白基因的基因(例如Ui-Tel等人,2000FEBS Letters479:79-82)。适合表达系统为熟知的且可使用已知技术制备或商业购买。一般而言,具有展示报告基因最高表达水平的最小5'侧接区的构建体鉴别为启动子。此类启动子区域可连接至报告基因且用于评估调变启动子驱动的转录能力的试剂。

[0218] 在一些实施方案中，提供编码根据本文所述abTCR中的任一者的abTCR的核酸。在一些实施方案中，编码abTCR的核酸包含编码abTCR的第一多肽链的第一核酸序列及编码abTCR的第二多肽链的第二核酸序列。在一些实施方案中，第一核酸序列位于第一载体上且第二核酸序列位于第二载体上。在一些实施方案中，第一及第二核酸序列位于同一载体上。载体可选自例如哺乳动物表达载体及病毒载体(例如源自反转录病毒、腺病毒、腺相关病毒、疱疹病毒及慢病毒的那些载体)。在一些实施方案中，第一核酸序列处于第一启动子控制下且第二核酸序列处于第二启动子控制下。在一些实施方案中，第一及第二启动子具有相同序列。在一些实施方案中，第一及第二启动子具有不同序列。在一些实施方案中，第一及第二核酸序列表达为在多顺反子(例如双顺反子)载体中在单一启动子控制下的单一转录物。参见例如Kim,JH等人,PLoS One6(4):e18556,2011。在一些实施方案中，第一、第二和/或单一启动子为诱导型启动子。在一些实施方案中，第一核酸序列在宿主细胞(例如T细胞)中的表达水平与第二核酸序列在宿主细胞中的表达水平大致相同。在一些实施方案中，第一核酸序列在宿主细胞(例如T细胞)中的表达水平为第二核酸序列在宿主细胞中的表达水平的至少约两(例如至少约2、3、4、5或更大中的任一者)倍。在一些实施方案中，第一核酸序列在宿主细胞(例如T细胞)中的表达水平不超过第二核酸序列在宿主细胞中的表达水平的约1/2(例如不超过约1/2、1/3、1/4、1/5或更小中的任一者)。可以mRNA或蛋白质水平测定表达。mRNA的表达水平可通过使用各种熟知方法测量自核酸转录的mRNA的量来测定，所述方法包括Northern免疫印迹法、定量RT-PCR、微阵列分析等。蛋白质表达水平可通过已知方法测量，包括免疫细胞化学染色、酶联免疫吸附分析(ELISA)、蛋白免疫印迹分析、发光分析、质谱、高效液相层析、高压液相层析-串联质谱等。

[0219] 因此，在一些实施方案中，提供编码根据本文所述abTCR中的任一者的abTCR的核酸，其包含a)编码abTCR的第一多肽链的第一核酸序列，及b)编码abTCR的第二多肽链的第二核酸序列，其中第一核酸序列位于第一载体(例如慢病毒载体)上且可操作地连接于第一启动子，且第二核酸序列位于第二载体(例如慢病毒载体)上且可操作地连接于第二启动子。在一些实施方案中，第一及第二启动子具有相同序列。在一些实施方案中，第一及第二启动子具有不同序列。在一些实施方案中，第一和/或第二启动子为诱导型启动子。在一些实施方案中，第一核酸序列在宿主细胞(例如T细胞)中的表达水平与第二核酸序列在宿主细胞中的表达水平大致相同。在一些实施方案中，第一核酸序列在宿主细胞(例如T细胞)中的表达水平为第二核酸序列在宿主细胞中的表达水平的至少约两(例如至少约2、3、4、5或更大中的任一者)倍。在一些实施方案中，第一核酸序列在宿主细胞(例如T细胞)中的表达水平不超过第二核酸序列在宿主细胞中的表达水平的约1/2(例如不超过约1/2、1/3、1/4、1/5或更小中的任一者)。在一些实施方案中，第一和/或第二载体为病毒载体(例如慢病毒载体)。

[0220] 在一些实施方案中，提供一种包含编码根据本文所述abTCR中的任一者的abTCR的核酸的载体(例如慢病毒载体)，其包含a)第一启动子，第一启动子可操作地连接于编码abTCR的第一多肽链的第一核酸序列；及b)第二启动子，第二启动子可操作地连接于编码abTCR的第二多肽链的第二核酸序列。在一些实施方案中，第一及第二启动子具有相同序列。在一些实施方案中，第一及第二启动子具有不同序列。在一些实施方案中，第一和/或第二启动子为诱导型启动子。在一些实施方案中，第一核酸序列在宿主细胞(例如T细胞)中的

表达水平与第二核酸序列在宿主细胞中的表达水平大致相同。在一些实施方案中，第一核酸序列在宿主细胞(例如T细胞)中的表达水平为第二核酸序列在宿主细胞中的表达水平的至少约两(例如至少约2、3、4、5或更大中的任一者)倍。在一些实施方案中，第一核酸序列在宿主细胞(例如T细胞)中的表达水平不超过第二核酸序列在宿主细胞中的表达水平的约1/2(例如不超过约1/2、1/3、1/4、1/5或更小中的任一者)。在一些实施方案中，载体为病毒载体(例如慢病毒载体)。

[0221] 在一些实施方案中，提供一种包含编码根据本文所述abTCR中的任一者的abTCR的核酸的载体(例如慢病毒载体)，其包含a)第一核酸序列，第一核酸序列编码abTCR的第一多肽链；及b)第二核酸序列，第二核酸序列编码abTCR的第二多肽链；其中第一及第二核酸序列在单一启动子的控制下。在一些实施方案中，启动子可操作地连接于第一核酸序列的5'端，且存在选自内部核糖体进入位点(IRES)及编码自裂解2A肽(例如P2A、T2A、E2A或F2A)的核酸的核酸接头以将第一核酸序列的3'端连接至第二核酸序列的5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在启动子控制下转录为单一RNA。在一些实施方案中，启动子可操作地连接于第二核酸序列的5'端，且存在选自内部核糖体进入位点(IRES)及编码自裂解2A肽(例如P2A、T2A、E2A或F2A)的核酸的核酸接头以将第二核酸序列的3'端连接至第一核酸序列的5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在启动子控制下转录为单一RNA。在一些实施方案中，启动子为诱导型启动子。在一些实施方案中，载体为病毒载体(例如慢病毒载体)。

[0222] 向细胞中引入及表达基因的方法为本领域中已知的。在表达载体的情况下，载体可易于通过本领域中的任何方法引入宿主细胞(例如，哺乳动物、细菌、酵母或昆虫细胞)中。举例而言，表达载体可通过物理、化学或生物方式转移至宿主细胞中。

[0223] 用于将聚核苷酸引入至宿主细胞中的物理方法包括磷酸钙沉淀、脂质体转染、粒子轰击、显微注射、电穿孔及其类似方法。用于制造包含载体和/或外源性核酸的细胞的方法为本领域中熟知的。参见例如Sambrook等人(2001,Molecular Cloning:A Laboratory Manual,Cold Spring Harbor Laboratory,New York)。在一些实施方案中，通过磷酸钙转染将聚核苷酸引入至宿主细胞中。

[0224] 将相关聚核苷酸引入宿主细胞中的生物方法包括使用DNA及RNA载体。病毒载体且尤其反转录病毒载体已成为将基因插入哺乳动物(例如，人类)细胞中的最常用方法。其他病毒载体可来源于慢病毒、痘病毒、1型单纯疱疹病毒、腺病毒及腺相关病毒及其类似病毒。参见例如美国专利第5,350,674号及第5,585,362号。

[0225] 用于将聚核苷酸引入至宿主细胞中的化学方式包括胶态分散系统，例如大分子复合物、纳米囊剂、微球、珠粒及基于脂质的系统，包括水包油乳液、微胞、混合微胞及脂质体。用作体外及体内传递媒剂的例示性胶态系统为脂质体(例如人工膜泡)。

[0226] 在利用非病毒传递系统的情况下，例示性传递媒剂为脂质体。预期使用脂质配制物将核酸引入至宿主细胞(体外、离体或体内)。在另一方面中，核酸可与脂质相关联。与脂质相关联的核酸可囊封于脂质体的水性内部中，穿插于脂质体的脂质双层内，经由与脂质体及寡核苷酸相关联的连接分子附接至脂质体，包覆于脂质体中，与脂质体复合，分散于含有脂质的溶液中，与脂质混合，与脂质组合，以悬浮液形式含于脂质中，含有微胞中或与微胞复合，或以其他方式与脂质相关联。与组合物相关联的脂质、脂质/DNA或脂质/表达载体不限于溶液中的任何特定结构。举例而言，其可存在于双层结构中，呈微胞形式或具有“塌

陷”结构。其也可简单地穿插于溶液中，可能形成大小或形状不均匀的聚集物。脂质为可为天然存在脂质或合成脂质的脂肪物质。举例而言，脂质包括细胞质中天然存在的脂肪滴以及含有长链脂族烃及其衍生物的化合物类别(例如脂肪酸、醇、胺、氨基醇及醛)。

[0227] 无论是用于将外源性核酸引入宿主细胞抑或是以其他方式使细胞暴露于本发明的抑制剂的方法，为了确认宿主细胞中重组DNA序列的存在，可进行多种分析。此类分析包括例如本领域的技术人员熟知的“分子生物”分析，例如Southern和Northern免疫印迹法、RT-PCR及PCR；“生物化学”分析，例如检测特定肽的存在或不存在，例如通过免疫方式(ELISA及蛋白免疫印迹法)或通过本文所述用于鉴别在本发明的范畴内的试剂的分析。

[0228] abTCR效应细胞

[0229] 在一些实施方案中，提供一种效应细胞(例如T细胞)，其递呈根据本文所述abTCR中的任一者的abTCR于其表面上。在一些实施方案中，效应细胞包含编码abTCR的核酸，其中abTCR自核酸表达且定位于效应细胞表面。在一些实施方案中，abTCR外源性表达且与效应细胞组合。在一些实施方案中，效应细胞为T细胞。在一些实施方案中，效应细胞选自下组：细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞。在一些实施方案中，效应细胞不表达获得abTCR的TCRD的TCR亚单元。举例而言，在一些实施方案中，效应细胞为αβT细胞且所引入abTCR的TCRD包含源自TCRδ及γ链的序列，或T细胞为γδT细胞且所引入abTCR的TCRD包含源自TCRα及β链的序列。在一些实施方案中，效应细胞经修饰以阻断或减少获得abTCR的TCRD的内源性TCR亚单元中的一者或两者的表达。举例而言，在一些实施方案中，效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRα和/或β链的表达的αβT细胞且所引入abTCR的TCRD包含源自TCRα及β链的序列，或效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRγ和/或δ链的表达的γδT细胞且所引入abTCR的TCRD包含源自TCRγ及δ链的序列。用于破坏基因表达的细胞修饰包括本领域中已知的任何此类技术，包括例如RNA干扰(例如，siRNA、shRNA、miRNA)、基因编辑(例如，基于CRISPR或TALEN的基因敲除)等。举例而言，在一些实施方案中，提供一种效应细胞(例如T细胞)，其包含编码根据本文所述abTCR中的任一者的abTCR的核酸，其中abTCR自核酸表达且定位于效应细胞表面。在一些实施方案中，编码abTCR的核酸包含编码abTCR的第一多肽链的第一核酸序列及编码abTCR的第二多肽链的第二核酸序列。在一些实施方案中，第一核酸序列位于第一载体上且第二核酸序列位于第二载体上。在一些实施方案中，第一及第二核酸序列位于同一载体上。载体可选自例如哺乳动物表达载体及病毒载体(例如源自反转录病毒、腺病毒、腺相关病毒、疱疹病毒及慢病毒的那些载体)。在一些实施方案中，将载体中的一或多者整合于效应细胞的宿主基因组中。在一些实施方案中，第一核酸序列处于第一启动子控制下且第二核酸序列处于第二启动子控制下。在一些实施方案中，第一及第二启动子具有相同序列。在一些实施方案中，第一及第二启动子具有不同序列。在一些实施方案中，第一及第二核酸处于单一启动子控制下。在一些实施方案中，第一、第二和/或单一启动子为诱导型启动子。在一些实施方案中，第一多肽链的表达与第二多肽链的表达大致相同。在一些实施方案中，第一多肽链的表达为第二多肽链的表达的至少约两(例如至少约2、3、4、5或更大中的任一者)倍。在一些实施方案中，第一多肽链的表达不超过第二多肽链的表达的约1/2(例如不超过约1/2、1/3、1/4、1/5或更小中的任一者)。

[0230] 可以mRNA或蛋白质水平测定表达。mRNA的表达水平可通过使用各种熟知方法测量自核酸转录的mRNA的量来测定，所述方法包括Northern免疫印迹法、定量RT-PCR、微阵列分

析等。蛋白质表达水平可通过已知方法测量，包括免疫细胞化学染色、酶联免疫吸附分析(ELISA)、蛋白免疫印迹分析、发光分析、质谱、高效液相层析、高压液相层析-串联质谱等。在一些实施方案中，效应细胞选自下组：细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞。

[0231] 因此，在一些实施方案中，提供一种abTCR效应细胞(例如T细胞)，其于其表面上表达根据本文所述abTCR中的任一者的abTCR，其中abTCR效应细胞包含a)第一核酸，第一核酸包含第一启动子，第一启动子可操作地连接于编码abTCR的第一多肽链的核酸序列；及b)第二核酸，第二核酸包含第二启动子，第二启动子可操作地连接于编码abTCR的第二多肽链的核酸序列，其中第一多肽链自第一核酸表达且第二多肽链自第二核酸表达以形成abTCR，且其中abTCR定位于效应细胞的表面。在一些实施方案中，第一及第二启动子具有相同序列。在一些实施方案中，第一及第二启动子具有不同序列。在一些实施方案中，第一和/或第二启动子为诱导型启动子。在一些实施方案中，第一多肽链的表达与第二多肽链的表达大致相同。在一些实施方案中，第一多肽链的表达为第二多肽链的表达的至少约两(例如至少约2、3、4、5或更大中的任一者)倍。在一些实施方案中，第一多肽链的表达不超过第二多肽链的表达的约1/2(例如不超过约1/2、1/3、1/4、1/5或更小中的任一者)。在一些实施方案中，效应细胞不表达获得abTCR的TCRD的TCR亚单元。举例而言，在一些实施方案中，效应细胞为αβT细胞且所引入abTCR的TCRD包含源自TCRδ及γ链的序列，或效应细胞为γδT细胞且所引入abTCR的TCRD包含源自TCRα及β链的序列。在一些实施方案中，效应细胞经修饰以阻断或减少获得abTCR的TCRD的内源性TCR亚单元中的一者或两者的表达。举例而言，在一些实施方案中，效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRα和/或β链的表达的αβT细胞且所引入abTCR的TCRD包含源自TCRα及β链的序列，或效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRγ和/或δ链的表达的γδT细胞且所引入abTCR的TCRD包含源自TCRγ及δ链的序列。在一些实施方案中，效应细胞选自下组：细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞。在一些实施方案中，载体为整合至效应细胞的宿主基因组中的病毒载体(例如慢病毒载体)。

[0232] 在一些实施方案中，提供一种abTCR效应细胞(例如T细胞)，其于其表面上表达根据本文所述abTCR中的任一者的abTCR，其中abTCR效应细胞包含a)第一载体，第一载体包含第一启动子，第一启动子可操作地连接于编码abTCR的第一多肽链的第一核酸序列；及b)第二载体，第二载体包含第二启动子，第二启动子可操作地连接于编码abTCR的第二多肽链的第二核酸序列，其中第一多肽链自第一核酸序列表达且第二多肽链自第二核酸序列表达以形成abTCR，且其中abTCR定位于效应细胞的表面。在一些实施方案中，第一及第二启动子具有相同序列。在一些实施方案中，第一及第二启动子具有不同序列。在一些实施方案中，第一和/或第二启动子为诱导型启动子。在一些实施方案中，第一多肽链的表达与第二多肽链的表达大致相同。在一些实施方案中，第一多肽链的表达为第二多肽链的表达的至少约两(例如至少约2、3、4、5或更大中的任一者)倍。在一些实施方案中，第一多肽链的表达不超过第二多肽链的表达的约1/2(例如不超过约1/2、1/3、1/4、1/5或更小中的任一者)。在一些实施方案中，效应细胞不表达获得abTCR的TCRD的TCR亚单元。举例而言，在一些实施方案中，效应细胞为αβT细胞且所引入abTCR的TCRD包含源自TCRδ及γ链的序列，或效应细胞为γδT细胞且所引入abTCR的TCRD包含源自TCRα及β链的序列。在一些实施方案中，效应细胞经修饰以阻断或减少获得abTCR的TCRD的内源性TCR亚单元中的一者或两者的表达。举例而言，

在一些实施方案中，效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRα和/或β链的表达的αβT细胞且所引入abTCR的TCRD包含源自TCRα及β链的序列，或效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRγ和/或δ链的表达的γδT细胞且所引入abTCR的TCRD包含源自TCRγ及δ链的序列。在一些实施方案中，效应细胞选自下组：细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞。在一些实施方案中，第一及第二载体为整合于效应细胞的宿主基因组中的病毒载体(例如慢病毒载体)。

[0233] 在一些实施方案中，提供一种abTCR效应细胞(例如T细胞)，其于其表面上表达根据本文所述abTCR中的任一者的abTCR，其中abTCR效应细胞包含载体，该载体包含a)第一启动子，第一启动子可操作地连接于编码abTCR的第一多肽链的第一核酸序列；及b)第二启动子，第二启动子可操作地连接于编码abTCR的第二多肽链的第二核酸序列，其中第一多肽链自第一核酸序列表达且第二多肽链自第二核酸序列表达以形成abTCR，且其中abTCR定位于效应细胞的表面。在一些实施方案中，第一及第二启动子具有相同序列。在一些实施方案中，第一及第二启动子具有不同序列。在一些实施方案中，第一和/或第二启动子为诱导型启动子。在一些实施方案中，第一多肽链的表达与第二多肽链的表达大致相同。在一些实施方案中，第一多肽链的表达为第二多肽链的表达的至少约两(例如至少约2、3、4、5或更大中的任一者)倍。在一些实施方案中，第一多肽链的表达不超过第二多肽链的表达的约1/2(例如不超过约1/2、1/3、1/4、1/5或更小中的任一者)。在一些实施方案中，效应细胞不表达获得abTCR的TCRD的TCR亚单元。举例而言，在一些实施方案中，效应细胞为αβT细胞且所引入abTCR的TCRD包含源自TCRδ及γ链的序列，或效应细胞为γδT细胞且所引入abTCR的TCRD包含源自TCRα及β链的序列。在一些实施方案中，效应细胞经修饰以阻断或减少获得abTCR的TCRD的内源性TCR亚单元中的一者或两者的表达。举例而言，在一些实施方案中，效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRα和/或β链的表达的αβT细胞且所引入abTCR的TCRD包含源自TCRα及β链的序列，或效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRγ和/或δ链的表达的γδT细胞且所引入abTCR的TCRD包含源自TCRγ及δ链的序列。在一些实施方案中，效应细胞选自下组：细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞。在一些实施方案中，第一及第二载体为整合于效应细胞的宿主基因组中的病毒载体(例如慢病毒载体)。

[0234] 在一些实施方案中，提供一种abTCR效应细胞(例如T细胞)，其于其表面上表达根据本文所述abTCR中的任一者的abTCR，其中abTCR效应细胞包含宿主基因组整合的慢病毒载体，其包含a)第一启动子，第一启动子可操作地连接于编码abTCR的第一多肽链的第一核酸序列；及b)第二启动子，第二启动子可操作地连接于编码abTCR的第二多肽链的第二核酸序列，其中第一多肽链自第一核酸序列表达且第二多肽链自第二核酸序列表达以形成abTCR，且其中abTCR定位于效应细胞的表面。在一些实施方案中，第一及第二启动子具有相同序列。在一些实施方案中，第一及第二启动子具有不同序列。在一些实施方案中，第一和/或第二启动子为诱导型启动子。在一些实施方案中，第一多肽链的表达与第二多肽链的表达大致相同。在一些实施方案中，第一多肽链的表达为第二多肽链的表达的至少约两(例如至少约2、3、4、5或更大中的任一者)倍。在一些实施方案中，第一多肽链的表达不超过第二多肽链的表达的约1/2(例如不超过约1/2、1/3、1/4、1/5或更小中的任一者)。在一些实施方案中，效应细胞不表达获得abTCR的TCRD的TCR亚单元。举例而言，在一些实施方案中，效应细胞为αβT细胞且所引入abTCR的TCRD包含源自TCRδ及γ链的序列，或效应细胞为γδT细胞

且所引入abTCR的TCRD包含源自TCRα及β链的序列。在一些实施方案中，效应细胞经修饰以阻断或减少获得abTCR的TCRD的内源性TCR亚单元中的一者或两者的表达。举例而言，在一些实施方案中，效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRα和/或β链的表达的αβT细胞且所引入abTCR的TCRD包含源自TCRα及β链的序列，或效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRγ和/或δ链的表达的γδT细胞且所引入abTCR的TCRD包含源自TCRγ及δ链的序列。在一些实施方案中，效应细胞经修饰以阻断或减少内源性TCR链中的一者或两者的表达。在一些实施方案中，效应细胞选自下组：细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞。在一些实施方案中，提供一种abTCR效应细胞(例如T细胞)，其于其表面上表达根据本文所述abTCR中的任一者的abTCR，其中abTCR效应细胞包含载体，该载体包含a)编码abTCR的第一多肽链的第一核酸序列及b)编码abTCR的第二多肽链的第二核酸序列，其中第一及第二核酸序列在单一启动子控制下，其中第一多肽链自第一核酸序列表达且第二多肽链自第二核酸序列表达以形成abTCR，且其中abTCR定位于效应细胞的表面。在一些实施方案中，启动子可操作地连接于第一核酸序列的5'端，且存在选自内部核糖体进入位点(IRES)及编码自裂解2A肽(例如P2A、T2A、E2A或F2A)的核酸的核酸接头以将第一核酸序列的3'端连接至第二核酸序列的5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在启动子控制下转录为单一RNA。在一些实施方案中，启动子可操作地连接于第二核酸序列的5'端，且存在选自内部核糖体进入位点(IRES)及编码自裂解2A肽(例如P2A、T2A、E2A或F2A)的核酸的核酸接头以将第二核酸序列的3'端连接至第一核酸序列的5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在启动子控制下转录为单一RNA。在一些实施方案中，启动子为诱导型启动子。在一些实施方案中，效应细胞不表达获得abTCR的TCRD的TCR亚单元。举例而言，在一些实施方案中，效应细胞为αβT细胞且所引入abTCR的TCRD包含源自TCRδ及γ链的序列，或效应细胞为γδT细胞且所引入abTCR的TCRD包含源自TCRα及β链的序列。在一些实施方案中，效应细胞经修饰以阻断或减少获得abTCR的TCRD的内源性TCR亚单元中的一者或两者的表达。举例而言，在一些实施方案中，效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRα和/或β链的表达的αβT细胞且所引入abTCR的TCRD包含源自TCRα及β链的序列，或效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRγ和/或δ链的表达的γδT细胞且所引入abTCR的TCRD包含源自TCRγ及δ链的序列。在一些实施方案中，效应细胞选自下组：细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞。在一些实施方案中，载体为整合至效应细胞的宿主基因组中的病毒载体(例如慢病毒载体)。

[0235] 在一些实施方案中，提供一种abTCR效应细胞(例如T细胞)，其于其表面上表达根据本文所述abTCR中的任一者的abTCR，其中abTCR效应细胞包含宿主基因组整合的慢病毒载体，其包含a)编码abTCR的第一多肽链的第一核酸序列及b)编码abTCR的第二多肽链的第二核酸序列，其中第一及第二核酸序列在单一启动子控制下，其中第一多肽链自第一核酸序列表达且第二多肽链自第二核酸序列表达以形成abTCR，且其中abTCR定位于效应细胞的表面。在一些实施方案中，存在可操作地连接于第一核酸序列的5'端的启动子，且存在选自内部核糖体进入位点(IRES)及编码自裂解2A肽(例如P2A、T2A、E2A或F2A)的核酸的核酸接头以将第一核酸序列的3'端连接至第二核酸序列的5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在启动子控制下转录为单一RNA。在一些实施方案中，存在可操作地连接于第二核酸序列的5'端的启动子，且存在选自内部核糖体进入位点(IRES)及编码自裂解2A肽(例如P2A、T2A、E2A或F2A)的核酸的核酸接头以将第二核酸序列的3'端连接至第一核酸序列的5'端，

其中第一核酸序列及第二核酸序列在启动子控制下转录为单一RNA。在一些实施方案中，启动子为诱导型启动子。在一些实施方案中，效应细胞不表达获得abTCR的TCRD的TCR亚单元。举例而言，在一些实施方案中，效应细胞为αβT细胞且所引入abTCR的TCRD包含源自TCRδ及γ链的序列，或效应细胞为γδT细胞且所引入abTCR的TCRD包含源自TCRα及β链的序列。在一些实施方案中，效应细胞经修饰以阻断或减少获得abTCR的TCRD的内源性TCR亚单元中的一者或两者的表达。举例而言，在一些实施方案中，效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRα和/或β链的表达的αβT细胞且所引入abTCR的TCRD包含源自TCRα及β链的序列，或效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRγ和/或δ链的表达的γδT细胞且所引入abTCR的TCRD包含源自TCRγ及δ链的序列。在一些实施方案中，效应细胞选自下组：细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞。

[0236] 在一些实施方案中，提供一种于表面上表达abTCR的abTCR效应细胞(例如T细胞)，其包含a)编码第一多肽链的第一核酸序列，其自氨基端至羧基端依次包含第一抗原结合域及包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的第一TCRD；及b)编码第二多肽链的第二核酸序列，其自氨基端至羧基端依次包含第二抗原结合域及包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的第二TCRD；其中第一抗原结合域与第二抗原结合域形成特异性结合靶抗原的Fab样抗原结合模块，其中第一TCRD与第二TCRD形成能够招募至少一个TCR相关信号传导模块的TCRM。在一些实施方案中，Fab样抗原结合模块为人类、人源化、嵌合、半合成或全合成的。在一些实施方案中，abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域，其包含a)至少一个包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:70或71的氨基酸序列的T细胞共刺激信号传导序列；和/或b)包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:50-52中的任一者的氨基酸序列的表位标签。在一些实施方案中，abTCR进一步包含在第一抗原结合域的氨基端的第一信号肽和/或在第二抗原结合域的氨基端的第二信号肽，其中第一和/或第二信号肽包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列。在一些实施方案中，TCRM能够招募至少一个选自CD3δε、CD3γε及ζζ的TCR相关信号传导模块。在一些实施方案中，TCRM促进abTCR-CD3复合体形成。在一些实施方案中，存在可操作地连接于第一核酸序列的5'端的启动子，且存在选自内部核糖体进入位点(IRES)及编码自裂解2A肽(例如P2A、T2A、E2A或F2A)的核酸的核酸接头以将第一核酸序列的3'端连接至第二核酸序列的5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在启动子控制下转录为单一RNA。在一些实施方案中，存在可操作地连接于第二核酸序列的5'端的启动子，且存在选自内部核糖体进入位点(IRES)及编码自裂解2A肽(例如P2A、T2A、E2A或F2A)的核酸的核酸接头以将第二核酸序列的3'端连接至第一核酸序列的5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在启动子控制下转录为单一RNA。在一些实施方案中，启动子为诱导型启动子。在一些实施方案中，靶抗原为细胞表面抗原。在一些实施方案中，细胞表面抗原选自下组：蛋白质、糖及脂质。在一些实施方案中，细胞表面抗原为疾病相关抗原，例如肿瘤相关或病毒编码抗原。在一些实施方案中，细胞表面抗原为CD19。在一些实施方案中，靶抗原为表面递呈肽/MHC复合体。在一些实施方案中，肽/MHC复合体包含源自疾病相关抗原(例如肿瘤相关或病毒编码抗原)的肽及MHC蛋白质。在一些实施方案中，肽/MHC复合体包含肽及MHC蛋白质，其中该肽源自选自WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA的蛋白质。在一些实施方案中，MHC蛋白质为MHCI类蛋白质。在一些实施方案中，MHCI类蛋白质为HLA-A。在一些实施方案中，HLA-A为HLA-A02。在一些实施方案中，HLA-A02为HLA-A*02:01。在一些实施方案中，效应细胞为γ

δT细胞。在一些实施方案中，效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRα和/或β链的表达的αβT细胞。在一些实施方案中，效应细胞选自下组：细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞。

[0237] 在一些实施方案中，提供一种于表面上表达abTCR的abTCR效应细胞(例如T细胞)，其包含a)编码第一多肽链的第一核酸序列，其自氨基端至羧基端依次包含第一抗原结合域及包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的第一TCRD；及b)编码第二多肽链的第二核酸序列，其自氨基端至羧基端依次包含第二抗原结合域及包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的第二TCRD；其中第一抗原结合域与第二抗原结合域形成特异性结合靶抗原的Fab样抗原结合模块，其中第一TCRD与第二TCRD形成能够招募至少一个TCR相关信号传导模块的TCRM。在一些实施方案中，Fab样抗原结合模块为人类、人源化、嵌合、半合成或全合成的。在一些实施方案中，abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域，其包含a)至少一个包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:70或71的氨基酸序列的T细胞共刺激信号传导序列；和/或b)包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:50-52中的任一者的氨基酸序列的表位标签。在一些实施方案中，abTCR进一步包含在第一抗原结合域的氨基端的第一信号肽和/或在第二抗原结合域的氨基端的第二信号肽，其中第一和/或第二信号肽包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列。在一些实施方案中，TCRM能够招募至少一个选自CD3δε、CD3γε及ζζ的TCR相关信号传导模块。在一些实施方案中，TCRM促进abTCR-CD3复合体形成。在一些实施方案中，存在可操作地连接于第一核酸序列的5'端的启动子，且存在选自内部核糖体进入位点(IRES)及编码自裂解2A肽(例如P2A、T2A、E2A或F2A)的核酸的核酸接头以将第一核酸序列的3'端连接至第二核酸序列的5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在启动子控制下转录为单一RNA。在一些实施方案中，存在可操作地连接于第二核酸序列的5'端的启动子，且存在选自内部核糖体进入位点(IRES)及编码自裂解2A肽(例如P2A、T2A、E2A或F2A)的核酸的核酸接头以将第二核酸序列的3'端连接至第一核酸序列的5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在启动子控制下转录为单一RNA。在一些实施方案中，启动子为诱导型启动子。在一些实施方案中，靶抗原为细胞表面抗原。在一些实施方案中，细胞表面抗原选自下组：蛋白质、糖及脂质。在一些实施方案中，细胞表面抗原为疾病相关抗原，例如肿瘤相关或病毒编码抗原。在一些实施方案中，细胞表面抗原为CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D或FCRL5。在一些实施方案中，靶抗原为表面递呈肽/MHC复合体。在一些实施方案中，肽/MHC复合体包含源自疾病相关抗原(例如肿瘤相关或病毒编码抗原)的肽及MHC蛋白质。在一些实施方案中，肽/MHC复合体包含肽及MHC蛋白质，其中该肽源自选自WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA的蛋白质。在一些实施方案中，MHC蛋白质为MHCI类蛋白质。在一些实施方案中，MHCI类蛋白质为HLA-A。在一些实施方案中，HLA-A为HLA-A02。在一些实施方案中，HLA-A02为HLA-A*02:01。在一些实施方案中，效应细胞为γδT细胞。在一些实施方案中，效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRα和/或β链的表达的αβT细胞。在一些实施方案中，效应细胞选自下组：细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞。

[0238] 在一些实施方案中，提供一种于表面上表达abTCR的abTCR效应细胞(例如T细胞)，其包含a)编码第一多肽链的第一核酸序列，其自氨基端至羧基端依次包含第一抗原结合域及包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的第一TCRD；及b)编码第二多肽链的第二核酸序列，其自氨基端至羧基端依次包含第二抗原结合域及包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的第二

TCRD;其中第一抗原结合域与第二抗原结合域形成特异性结合靶抗原的Fab样抗原结合模块,其中第一TCRD与第二TCRD形成能够招募至少一个TCR相关信号传导模块的TCRM。在一些实施方案中,Fab样抗原结合模块为人类、人源化、嵌合、半合成或全合成的。在一些实施方案中,abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域,其包含a)至少一个包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:70或71的氨基酸序列的T细胞共刺激信号传导序列;和/或b)包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:50-52中的任一者的氨基酸序列的表位标签。在一些实施方案中,abTCR进一步包含在第一抗原结合域的氨基端的第一信号肽和/或在第二抗原结合域的氨基端的第二信号肽,其中第一和/或第二信号肽包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列。在一些实施方案中,TCRM能够招募至少一个选自CD3δε、CD3γε及ζζ的TCR相关信号传导模块。在一些实施方案中,TCRM促进abTCR-CD3复合体形成。在一些实施方案中,存在可操作地连接于第一核酸序列的5'端的启动子,且存在选自内部核糖体进入位点(IRES)及编码自裂解2A肽(例如P2A、T2A、E2A或F2A)的核酸的核酸接头以将第一核酸序列的3'端连接至第二核酸序列的5'端,其中第一核酸序列及第二核酸序列在启动子控制下转录为单一RNA。在一些实施方案中,存在可操作地连接于第二核酸序列的5'端的启动子,且存在选自内部核糖体进入位点(IRES)及编码自裂解2A肽(例如P2A、T2A、E2A或F2A)的核酸的核酸接头以将第二核酸序列的3'端连接至第一核酸序列的5'端,其中第一核酸序列及第二核酸序列在启动子控制下转录为单一RNA。在一些实施方案中,启动子为诱导型启动子。在一些实施方案中,靶抗原为细胞表面抗原。在一些实施方案中,细胞表面抗原选自下组:蛋白质、糖及脂质。在一些实施方案中,细胞表面抗原为疾病相关抗原,例如肿瘤相关或病毒编码抗原。在一些实施方案中,细胞表面抗原为CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D或FCRL5。在一些实施方案中,靶抗原为表面递呈肽/MHC复合体。在一些实施方案中,肽/MHC复合体包含源自疾病相关抗原(例如肿瘤相关或病毒编码抗原)的肽及MHC蛋白质。在一些实施方案中,肽/MHC复合体包含肽及MHC蛋白质,其中该肽源自选自WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA的蛋白质。在一些实施方案中,MHC蛋白质为MHCI类蛋白质。在一些实施方案中,MHCI类蛋白质为HLA-A。在一些实施方案中,HLA-A为HLA-A02。在一些实施方案中,HLA-A02为HLA-A*02:01。在一些实施方案中,效应细胞为αβT细胞。在一些实施方案中,效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRγ和/或δ链的表达的γδT细胞。在一些实施方案中,效应细胞选自下组:细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞。

[0239] 在一些实施方案中,提供一种于表面上表达abTCR的abTCR效应细胞(例如T细胞),其包含a)编码第一多肽链的第一核酸序列,其自氨基端至羧基端依次包含第一抗原结合域及包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的第一TCRD;及b)编码第二多肽链的第二核酸序列,其自氨基端至羧基端依次包含第二抗原结合域及包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的第二TCRD;其中第一抗原结合域与第二抗原结合域形成特异性结合靶抗原的Fab样抗原结合模块,其中第一TCRD与第二TCRD形成能够招募至少一个TCR相关信号传导模块的TCRM。在一些实施方案中,Fab样抗原结合模块为人类、人源化、嵌合、半合成或全合成的。在一些实施方案中,abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域,其包含a)至少一个包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:70或71的氨基酸序列的T细胞共刺激信号传导序列;和/或b)包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:50-52中的任一者的氨基酸序列的表位标签。在一些实施方案中,abTCR进一步包含在第一抗原结合域的氨基端的第一信号肽和/或在第二抗原结合域的氨基端的第

二信号肽，其中第一和/或第二信号肽包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列。在一些实施方案中，TCRM能够招募至少一个选自CD3δε、CD3γε及ζζ的TCR相关信号传导模块。在一些实施方案中，TCRM促进abTCR-CD3复合体形成。在一些实施方案中，存在可操作地连接于第一核酸序列的5'端的启动子，且存在选自内部核糖体进入位点(IRES)及编码自裂解2A肽(例如P2A、T2A、E2A或F2A)的核酸的核酸接头以将第一核酸序列的3'端连接至第二核酸序列的5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在启动子控制下转录为单一RNA。在一些实施方案中，存在可操作地连接于第二核酸序列的5'端的启动子，且存在选自内部核糖体进入位点(IRES)及编码自裂解2A肽(例如P2A、T2A、E2A或F2A)的核酸的核酸接头以将第二核酸序列的3'端连接至第一核酸序列的5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在启动子控制下转录为单一RNA。在一些实施方案中，启动子为诱导型启动子。在一些实施方案中，靶抗原为细胞表面抗原。在一些实施方案中，细胞表面抗原选自下组：蛋白质、糖及脂质。在一些实施方案中，细胞表面抗原为疾病相关抗原，例如肿瘤相关或病毒编码抗原。在一些实施方案中，细胞表面抗原为CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D或FCRL5。在一些实施方案中，靶抗原为表面递呈肽/MHC复合体。在一些实施方案中，肽/MHC复合体包含源自疾病相关抗原(例如肿瘤相关或病毒编码抗原)的肽及MHC蛋白质。在一些实施方案中，肽/MHC复合体包含肽及MHC蛋白质，其中该肽源自选自WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA的蛋白质。在一些实施方案中，MHC蛋白质为MHCI类蛋白质。在一些实施方案中，MHCI类蛋白质为HLA-A。在一些实施方案中，HLA-A为HLA-A02。在一些实施方案中，HLA-A02为HLA-A*02:01。在一些实施方案中，效应细胞为αβT细胞。在一些实施方案中，效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRγ和/或δ链的表达的γδT细胞。在一些实施方案中，效应细胞选自下组：细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞。

[0240] 在一些实施方案中，提供一种于表面上表达abTCR的abTCR效应细胞(例如T细胞)，其包含a)编码abTCR的第一多肽链的第一核酸序列，第一多肽链包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列；及b)编码abTCR的第二多肽链的第二核酸序列，第二多肽链包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列，其中第一多肽链自第一核酸序列表达且第二多肽链自第二核酸序列表达以形成abTCR，且其中abTCR定位于效应细胞的表面。在一些实施方案中，存在可操作地连接于第一核酸序列的5'端的启动子，且存在选自内部核糖体进入位点(IRES)及编码自裂解2A肽(例如P2A、T2A、E2A或F2A)的核酸的核酸接头以将第一核酸序列的3'端连接至第二核酸序列的5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在启动子控制下转录为单一RNA。在一些实施方案中，存在可操作地连接于第二核酸序列的5'端的启动子，且存在选自内部核糖体进入位点(IRES)及编码自裂解2A肽(例如P2A、T2A、E2A或F2A)的核酸的核酸接头以将第二核酸序列的3'端连接至第一核酸序列的5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在启动子控制下转录为单一RNA。在一些实施方案中，启动子为诱导型启动子。在一些实施方案中，abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域，其包含T细胞共刺激信号传导序列(例如来自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)和/或表位标签(例如HA、FLAG或myc)。在一些实施方案中，表位标签包含SEQ ID NO:50-52的氨基酸序列中的任一者。在一些实施方案中，第一多肽链进一步包含在第一abTCR域的氨基端的第一信号肽和/或第二多肽链进一步包含在第二abTCR域的氨基端的第二信号肽。在一些实施方案中，第一和/或第二信号肽包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:49

的氨基酸序列。在一些实施方案中，效应细胞为γδT细胞。在一些实施方案中，效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRα和/或β链的表达的αβT细胞。在一些实施方案中，效应细胞选自下组：细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞。

[0241] 在一些实施方案中，提供一种于表面上表达abTCR的abTCR效应细胞(例如T细胞)，其包含a)编码abTCR的第一多肽链的第一核酸序列，第一多肽链包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列；及b)编码abTCR的第二多肽链的第二核酸序列，第二多肽链包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列，其中第一多肽链自第一核酸序列表达且第二多肽链自第二核酸序列表达以形成abTCR，且其中abTCR定位于效应细胞的表面。在一些实施方案中，存在可操作地连接于第一核酸序列的5'端的启动子，且存在选自内部核糖体进入位点(IRES)及编码自裂解2A肽(例如P2A、T2A、E2A或F2A)的核酸的核酸接头以将第一核酸序列的3'端连接至第二核酸序列的5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在启动子控制下转录为单一RNA。在一些实施方案中，存在可操作地连接于第二核酸序列的5'端的启动子，且存在选自内部核糖体进入位点(IRES)及编码自裂解2A肽(例如P2A、T2A、E2A或F2A)的核酸的核酸接头以将第二核酸序列的3'端连接至第一核酸序列的5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在启动子控制下转录为单一RNA。在一些实施方案中，启动子为诱导型启动子。在一些实施方案中，abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域，其包含T细胞共刺激信号传导序列(例如来自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)和/或表位标签(例如HA、FLAG或myc)。在一些实施方案中，表位标签包含SEQ ID NO:50-52的氨基酸序列中的任一者。在一些实施方案中，第一多肽链进一步包含在第一abTCR域的氨基端的第一信号肽和/或第二多肽链进一步包含在第二abTCR域的氨基端的第二信号肽。在一些实施方案中，第一和/或第二信号肽包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:49的氨基酸序列。在一些实施方案中，效应细胞为γδT细胞。在一些实施方案中，效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRα和/或β链的表达的αβT细胞。在一些实施方案中，效应细胞选自下组：细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞。

[0242] 在一些实施方案中，提供一种于表面上表达abTCR的abTCR效应细胞(例如T细胞)，其包含a)编码abTCR的第一多肽链的第一核酸序列，第一多肽链包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列；及b)编码abTCR的第二多肽链的第二核酸序列，第二多肽链包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列，其中第一多肽链自第一核酸序列表达且第二多肽链自第二核酸序列表达以形成abTCR，且其中abTCR定位于效应细胞的表面。在一些实施方案中，存在可操作地连接于第一核酸序列的5'端的启动子，且存在选自内部核糖体进入位点(IRES)及编码自裂解2A肽(例如P2A、T2A、E2A或F2A)的核酸的核酸接头以将第一核酸序列的3'端连接至第二核酸序列的5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在启动子控制下转录为单一RNA。在一些实施方案中，存在可操作地连接于第二核酸序列的5'端的启动子，且存在选自内部核糖体进入位点(IRES)及编码自裂解2A肽(例如P2A、T2A、E2A或F2A)的核酸的核酸接头以将第二核酸序列的3'端连接至第一核酸序列的5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在启动子控制下转录为单一RNA。在一些实施方案中，启动子为诱导型启动子。在一些实施方案中，abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域，其包含T细胞共刺激信号传导序列(例如来自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)和/或表位标签(例如HA、FLAG或myc)。在一些实施方案中，表位标签包含SEQ ID

NO:50-52的氨基酸序列中的任一者。在一些实施方案中,第一多肽链进一步包含在第一abTCR域的氨基端的第一信号肽和/或第二多肽链进一步包含在第二abTCR域的氨基端的第二信号肽。在一些实施方案中,第一和/或第二信号肽包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:49的氨基酸序列。在一些实施方案中,效应细胞为γδT细胞。在一些实施方案中,效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRα和/或β链的表达的αβT细胞。在一些实施方案中,效应细胞选自下组:细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞。

[0243] 在一些实施方案中,提供一种于表面上表达abTCR的abTCR效应细胞(例如T细胞),其包含a)编码abTCR的第一多肽链的第一核酸序列,第一多肽链包含第一abTCR域,第一abTCR域包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列;及b)编码abTCR的第二多肽链的第二核酸序列,第二多肽链包含第二abTCR域,第二abTCR域包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列,其中第一多肽链自第一核酸序列表达且第二多肽链自第二核酸序列表达以形成abTCR,且其中abTCR定位于效应细胞的表面。在一些实施方案中,存在可操作地连接于第一核酸序列的5'端的启动子,且存在选自内部核糖体进入位点(IRES)及编码自裂解2A肽(例如P2A、T2A、E2A或F2A)的核酸的核酸接头以将第一核酸序列的3'端连接至第二核酸序列的5'端,其中第一核酸序列及第二核酸序列在启动子控制下转录为单一RNA。在一些实施方案中,存在可操作地连接于第二核酸序列的5'端的启动子,且存在选自内部核糖体进入位点(IRES)及编码自裂解2A肽(例如P2A、T2A、E2A或F2A)的核酸的核酸接头以将第二核酸序列的3'端连接至第一核酸序列的5'端,其中第一核酸序列及第二核酸序列在启动子控制下转录为单一RNA。在一些实施方案中,启动子为诱导型启动子。在一些实施方案中,abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域,其包含T细胞共刺激信号传导序列(例如来自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)和/或表位标签(例如HA、FLAG或myc)。在一些实施方案中,表位标签包含SEQ ID NO:50-52的氨基酸序列中的任一者。在一些实施方案中,第一多肽链进一步包含在第一abTCR域的氨基端的第一信号肽和/或第二多肽链进一步包含在第二abTCR域的氨基端的第二信号肽。在一些实施方案中,第一和/或第二信号肽包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:49的氨基酸序列。在一些实施方案中,效应细胞为αβT细胞。在一些实施方案中,效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRγ和/或δ链的表达的γδT细胞。在一些实施方案中,效应细胞选自下组:细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞。

[0244] 在一些实施方案中,提供一种于表面上表达abTCR的abTCR效应细胞(例如T细胞),其包含a)编码abTCR的第一多肽链的第一核酸序列,第一多肽链包含第一abTCR域,第一abTCR域包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列;及b)编码abTCR的第二多肽链的第二核酸序列,第二多肽链包含第二abTCR域,第二abTCR域包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列,其中第一多肽链自第一核酸序列表达且第二多肽链自第二核酸序列表达以形成abTCR,且其中abTCR定位于效应细胞的表面。在一些实施方案中,存在可操作地连接于第一核酸序列的5'端的启动子,且存在选自内部核糖体进入位点(IRES)及编码自裂解2A肽(例如P2A、T2A、E2A或F2A)的核酸的核酸接头以将第一核酸序列的3'端连接至第二核酸序列的5'端,其中第一核酸序列及第二核酸序列在启动子控制下转录为单一RNA。在一些实施方案中,存在可操作地连接于第二核酸序列的5'端的启动子,且存在选自内部核糖体进入位点(IRES)及编码自裂解2A肽(例如P2A、T2A、E2A或F2A)的核酸的核酸接头以将第二核酸序列的3'端连接至第一核酸序列的5'端,其中第一核酸序列及第二核酸序列在启动子控制下转录为单一RNA。在一些实

施方案中，启动子为诱导型启动子。在一些实施方案中，abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域，其包含T细胞共刺激信号传导序列(例如来自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)和/或表位标签(例如HA、FLAG或myc)。在一些实施方案中，表位标签包含SEQ ID NO:50-52的氨基酸序列中的任一者。在一些实施方案中，第一多肽链进一步包含在第一abTCR域的氨基端的第一信号肽和/或第二多肽链进一步包含在第二abTCR域的氨基端的第二信号肽。在一些实施方案中，第一和/或第二信号肽包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:49的氨基酸序列。在一些实施方案中，效应细胞为αβT细胞。在一些实施方案中，效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRγ和/或δ链的表达的γδT细胞。在一些实施方案中，效应细胞选自下组：细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞。

[0245] 在一些实施方案中，提供一种于表面上表达abTCR的abTCR效应细胞(例如T细胞)，其包含a)编码abTCR的第一多肽链的第一核酸序列，第一多肽链包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列；及b)编码abTCR的第二多肽链的第二核酸序列，第二多肽链包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列，其中第一多肽链自第一核酸序列表达且第二多肽链自第二核酸序列表达以形成abTCR，且其中abTCR定位于效应细胞的表面。在一些实施方案中，存在可操作地连接于第一核酸序列的5'端的启动子，且存在选自内部核糖体进入位点(IRES)及编码自裂解2A肽(例如P2A、T2A、E2A或F2A)的核酸的核酸接头以将第一核酸序列的3'端连接至第二核酸序列的5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在启动子控制下转录为单一RNA。在一些实施方案中，存在可操作地连接于第二核酸序列的5'端的启动子，且存在选自内部核糖体进入位点(IRES)及编码自裂解2A肽(例如P2A、T2A、E2A或F2A)的核酸的核酸接头以将第二核酸序列的3'端连接至第一核酸序列的5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在启动子控制下转录为单一RNA。在一些实施方案中，启动子为诱导型启动子。在一些实施方案中，abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域，其包含T细胞共刺激信号传导序列(例如来自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)和/或表位标签(例如HA、FLAG或myc)。在一些实施方案中，表位标签包含SEQ ID NO:50-52的氨基酸序列中的任一者。在一些实施方案中，第一多肽链进一步包含在第一abTCR域的氨基端的第一信号肽和/或第二多肽链进一步包含在第二abTCR域的氨基端的第二信号肽。在一些实施方案中，第一和/或第二信号肽包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:49的氨基酸序列。在一些实施方案中，效应细胞为αβT细胞。在一些实施方案中，效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRγ和/或δ链的表达的γδT细胞。在一些实施方案中，效应细胞选自下组：细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞。

[0246] 在一些实施方案中，提供一种于表面上表达abTCR的abTCR效应细胞(例如T细胞)，其包含a)编码abTCR的第一多肽链的第一核酸序列，第一多肽链包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列；及b)编码abTCR的第二多肽链的第二核酸序列，第二多肽链包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列，其中第一多肽链自第一核酸序列表达且第二多肽链自第二核酸序列表达以形成abTCR，且其中abTCR定位于效应细胞的表面。在一些实施方案中，存在可操作地连接于第一核酸序列的5'端的启动子，且存在选自内部核糖体进入位点(IRES)及编码自裂解2A肽(例如P2A、T2A、E2A或F2A)的核酸的核酸接头以将第一核酸序列的3'端连接至第二核酸序列的5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在启动子控制下转录为单一RNA。在一些实施方案中，存在可操作地连接

于第二核酸序列的5'端的启动子,且存在选自内部核糖体进入位点(IRES)及编码自裂解2A肽(例如P2A、T2A、E2A或F2A)的核酸的核酸接头以将第二核酸序列的3'端连接至第一核酸序列的5'端,其中第一核酸序列及第二核酸序列在启动子控制下转录为单一RNA。在一些实施方案中,启动子为诱导型启动子。在一些实施方案中,abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域,其包含T细胞共刺激信号传导序列(例如来自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)和/或表位标签(例如HA、FLAG或myc)。在一些实施方案中,表位标签包含SEQ ID NO:50-52的氨基酸序列中的任一者。在一些实施方案中,第一多肽链进一步包含在第一abTCR域的氨基端的第一信号肽和/或第二多肽链进一步包含在第二abTCR域的氨基端的第二信号肽。在一些实施方案中,第一和/或第二信号肽包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:49的氨基酸序列。在一些实施方案中,效应细胞为αβT细胞。在一些实施方案中,效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRγ和/或δ链的表达的γδT细胞。在一些实施方案中,效应细胞选自下组:细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞。

[0247] 在一些实施方案中,提供一种于表面上表达abTCR的abTCR效应细胞(例如T细胞),其包含a)编码abTCR的第一多肽链的第一核酸序列,第一多肽链包含第一abTCR域,第一abTCR域包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列;及b)编码abTCR的第二多肽链的第二核酸序列,第二多肽链包含第二abTCR域,第二abTCR域包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列,其中第一多肽链自第一核酸序列表达且第二多肽链自第二核酸序列表达以形成abTCR,且其中abTCR定位于效应细胞的表面。在一些实施方案中,存在可操作地连接于第一核酸序列的5'端的启动子,且存在选自内部核糖体进入位点(IRES)及编码自裂解2A肽(例如P2A、T2A、E2A或F2A)的核酸的核酸接头以将第一核酸序列的3'端连接至第二核酸序列的5'端,其中第一核酸序列及第二核酸序列在启动子控制下转录为单一RNA。在一些实施方案中,存在可操作地连接于第二核酸序列的5'端的启动子,且存在选自内部核糖体进入位点(IRES)及编码自裂解2A肽(例如P2A、T2A、E2A或F2A)的核酸的核酸接头以将第二核酸序列的3'端连接至第一核酸序列的5'端,其中第一核酸序列及第二核酸序列在启动子控制下转录为单一RNA。在一些实施方案中,启动子为诱导型启动子。在一些实施方案中,abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域,其包含T细胞共刺激信号传导序列(例如来自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)和/或表位标签(例如HA、FLAG或myc)。在一些实施方案中,表位标签包含SEQ ID NO:50-52的氨基酸序列中的任一者。在一些实施方案中,第一多肽链进一步包含在第一abTCR域的氨基端的第一信号肽和/或第二多肽链进一步包含在第二abTCR域的氨基端的第二信号肽。在一些实施方案中,第一和/或第二信号肽包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:49的氨基酸序列。在一些实施方案中,效应细胞为αβT细胞。在一些实施方案中,效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRγ和/或δ链的表达的γδT细胞。在一些实施方案中,效应细胞选自下组:细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞。

[0248] 在一些实施方案中,提供一种于表面上表达abTCR的abTCR效应细胞(例如T细胞),其包含a)编码abTCR的第一多肽链的第一核酸序列,第一多肽链包含第一abTCR域,第一abTCR域包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列;及b)编码abTCR的第二多肽链的第二核酸序列,第二多肽链包含第二abTCR域,第二abTCR域包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列,其中第一多肽链自第一核酸序列表达且第二多肽链自第二核酸序列表达以形成abTCR,且其中abTCR定位于效应细胞的表面。在一些实施方案中,存在可操作地连接于第一核酸序列的5'端的启

动子,且存在选自内部核糖体进入位点(IRES)及编码自裂解2A肽(例如P2A、T2A、E2A或F2A)的核酸的核酸接头以将第一核酸序列的3'端连接至第二核酸序列的5'端,其中第一核酸序列及第二核酸序列在启动子控制下转录为单一RNA。在一些实施方案中,存在可操作地连接于第二核酸序列的5'端的启动子,且存在选自内部核糖体进入位点(IRES)及编码自裂解2A肽(例如P2A、T2A、E2A或F2A)的核酸的核酸接头以将第二核酸序列的3'端连接至第一核酸序列的5'端,其中第一核酸序列及第二核酸序列在启动子控制下转录为单一RNA。在一些实施方案中,启动子为诱导型启动子。在一些实施方案中,abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域,其包含T细胞共刺激信号传导序列(例如来自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)和/或表位标签(例如HA、FLAG或myc)。在一些实施方案中,表位标签包含SEQ ID NO:50-52的氨基酸序列中的任一者。在一些实施方案中,第一多肽链进一步包含在第一abTCR域的氨基端的第一信号肽和/或第二多肽链进一步包含在第二abTCR域的氨基端的第二信号肽。在一些实施方案中,第一和/或第二信号肽包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:49的氨基酸序列。在一些实施方案中,效应细胞为αβT细胞。在一些实施方案中,效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRγ和/或δ链的表达的γδT细胞。在一些实施方案中,效应细胞选自下组:细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞。

[0249] 在一些实施方案中,提供一种于表面上表达abTCR的abTCR效应细胞(例如T细胞),其包含a)编码abTCR的第一多肽链的第一核酸序列,第一多肽链包含第一abTCR域,第一abTCR域包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列;及b)编码abTCR的第二多肽链的第二核酸序列,第二多肽链包含第二abTCR域,第二abTCR域包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列,其中第一多肽链自第一核酸序列表达且第二多肽链自第二核酸序列表达以形成abTCR,且其中abTCR定位于效应细胞的表面。在一些实施方案中,存在可操作地连接于第一核酸序列的5'端的启动子,且存在选自内部核糖体进入位点(IRES)及编码自裂解2A肽(例如P2A、T2A、E2A或F2A)的核酸的核酸接头以将第一核酸序列的3'端连接至第二核酸序列的5'端,其中第一核酸序列及第二核酸序列在启动子控制下转录为单一RNA。在一些实施方案中,存在可操作地连接于第二核酸序列的5'端的启动子,且存在选自内部核糖体进入位点(IRES)及编码自裂解2A肽(例如P2A、T2A、E2A或F2A)的核酸的核酸接头以将第二核酸序列的3'端连接至第一核酸序列的5'端,其中第一核酸序列及第二核酸序列在启动子控制下转录为单一RNA。在一些实施方案中,启动子为诱导型启动子。在一些实施方案中,abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域,其包含T细胞共刺激信号传导序列(例如来自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)和/或表位标签(例如HA、FLAG或myc)。在一些实施方案中,表位标签包含SEQ ID NO:50-52的氨基酸序列中的任一者。在一些实施方案中,第一多肽链进一步包含在第一abTCR域的胺基端的第一信号肽和/或第二多肽链进一步包含在第二abTCR域的氨基端的第二信号肽。在一些实施方案中,第一和/或第二信号肽包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:49的氨基酸序列。在一些实施方案中,效应细胞为αβT细胞。在一些实施方案中,效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRγ和/或δ链的表达的γδT细胞。在一些实施方案中,效应细胞选自下组:细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞。

[0250] 在一些实施方案中,提供一种于表面上表达abTCR的abTCR效应细胞(例如T细胞),abTCR包含a)编码abTCR的第一多肽链的第一核酸序列,第一多肽链包含第一abTCR域,第一abTCR域包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列;及b)编码abTCR的第二多肽链的第二核酸序列,

第二多肽链包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列，其中第一多肽链自第一核酸序列表达且第二多肽链自第二核酸序列表达以形成abTCR，且其中abTCR定位于效应细胞的表面。在一些实施方案中，存在可操作地连接于第一核酸序列的5'端的启动子，且存在选自内部核糖体进入位点(IRES)及编码自裂解2A肽(例如P2A、T2A、E2A或F2A)的核酸的核酸接头以将第一核酸序列的3'端连接至第二核酸序列的5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在启动子控制下转录为单一RNA。在一些实施方案中，存在可操作地连接于第二核酸序列的5'端的启动子，且存在选自内部核糖体进入位点(IRES)及编码自裂解2A肽(例如P2A、T2A、E2A或F2A)的核酸的核酸接头以将第二核酸序列的3'端连接至第一核酸序列的5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在启动子控制下转录为单一RNA。在一些实施方案中，启动子为诱导型启动子。在一些实施方案中，abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域，其包含T细胞共刺激信号传导序列(例如来自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)和/或表位标签(例如HA、FLAG或myc)。在一些实施方案中，表位标签包含SEQ ID NO:50-52的氨基酸序列中的任一者。在一些实施方案中，第一多肽链进一步包含在第一abTCR域的氨基端的第一信号肽和/或第二多肽链进一步包含在第二abTCR域的氨基端的第二信号肽。在一些实施方案中，第一和/或第二信号肽包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:49的氨基酸序列。在一些实施方案中，效应细胞为αβT细胞。在一些实施方案中，效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRγ和/或δ链的表达的γδT细胞。在一些实施方案中，效应细胞选自下组：细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞。

[0251] 在本文所述的一些此类实施方案中的任一者中，当在类似条件下比较时，abTCR效应细胞的嵌合受体内化速率低于对应CAR效应细胞(例如于表面上递呈包含abTCR的抗体部分的CAR的效应细胞，该CAR例如包含含有abTCR的抗体可变域的scFv的CAR)。举例而言，在一些实施方案中，在类似条件下在嵌合受体效应细胞的靶抗原依赖性刺激之后，abTCR效应细胞的嵌合受体内化速率低于对应CAR效应细胞。在一些实施方案中，在用abTCR的靶抗原刺激之后约90分钟，abTCR效应细胞具有小于约50％(例如小于约45％、40％、35％、30％、25％、20％、15％、10％或5％中的任一者，包括这些值之间的任何范围)的abTCR内化。在一些实施方案中，abTCR效应细胞为abTCRT细胞。

[0252] 在本文所述的一些此类实施方案中的任一者中，当在类似条件下比较时，abTCR效应细胞的耗尽率和/或发生率低于对应CAR效应细胞(例如于表面上递呈包含abTCR的抗体部分的CAR的效应细胞)。效应细胞耗尽可通过本领域中已知的任何方式测定，例如通过测量耗尽标记物的表达水平，耗尽标记物包括(但不限于)PD-1、TIM-3及LAG-3。举例而言，在一些实施方案中，在类似条件下在嵌合受体效应细胞的靶抗原依赖性刺激之后，abTCR效应细胞的一或多个耗尽标记物(例如PD-1、TIM-3或LAG-3)的表达水平低于对应CAR效应细胞。在一些实施方案中，在类似条件下在嵌合受体效应细胞的靶抗原依赖性刺激之后，abTCR效应细胞中一或多个耗尽标记物(例如PD-1、TIM-3或LAG-3)为阳性的发生率低于对应CAR效应细胞。在一些实施方案中，在用abTCR的靶抗原刺激之后，abTCR效应细胞中一或多个耗尽标记物(例如PD-1、TIM-3或LAG-3)为阳性的发生率小于约50％(例如小于约45％、40％、35％、30％、25％、20％、15％、10％、5％、4％、3％、2％、1％中的任一者，包括这些值之间的任何范围)。在一些实施方案中，abTCR效应细胞为abTCRT细胞。发生率可通过本领域中已知的任何方式计算，例如通过定量嵌合受体效应细胞群体中耗尽标记物为阳性的嵌合受体效

应细胞的百分比，其中耗尽标记物为阳性的细胞的百分比即为发生率。

[0253] 在本文所述的一些此类实施方案中的任一者中，当在类似条件下比较时，abTCR效应细胞的最后分化率和/或发生率低于对应CAR效应细胞(例如于表面上递呈包含abTCR的抗体部分的CAR的效应细胞)。最后分化可通过本领域中已知的任何方式测定，例如通过测量分化标记物的表达水平，分化标记物包括(但不限于)CD28、CCR7及颗粒酶B。举例而言，在一些实施方案中，在类似条件下，相比于对应CAR效应细胞，abTCR效应细胞中一或多个最后分化标记物(例如颗粒酶B)的表达水平较低和/或一或多个非最后分化标记物(例如CD28或CCR7)的表达较多。在一些实施方案中，在类似条件下，相比于对应CAR效应细胞，abTCR效应细胞中一或多个最后分化标记物(例如颗粒酶B)为阳性的发生率较低和/或一或多个非最后分化标记物(例如CD28或CCR7)为阳性的发生率较大。在一些实施方案中，在用abTCR的靶抗原刺激之后，abTCR效应细胞中一或多个最后分化标记物(例如颗粒酶B)为阳性的发生率小于约50％(例如小于约45％、40％、35％、30％、25％、20％、15％、10％、5％、4％、3％、2％、1％中的任一者，包括这些值之间的任何范围)，和/或一或多个非最后分化标记物(例如CD28或CCR7)为阳性的发生率大于约10％(例如大于约15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％或95％中的任一者，包括这些值之间的任何范围)。在一些实施方案中，abTCR效应细胞为abTCRT细胞。发生率可通过本领域中已知的任何方式计算，例如通过定量嵌合受体效应细胞群体中最后分化标记物为阳性的嵌合受体效应细胞的百分比，其中最后分化标记物为阳性的细胞的百分比即为发生率。

[0254] 在本文所述的一些此类实施方案中的任一者中，当在类似条件下比较时，abTCR效应细胞的增殖率大于对应CAR效应细胞(例如于表面上递呈包含abTCR的抗体部分的CAR的效应细胞)。增殖可通过本领域中已知的任何方式测定，例如通过测量染料稀释。在一些实施方案中，abTCR效应细胞为abTCRT细胞。

[0255] 制备abTCR

[0256] 在一些实施方案中，根据本文所述abTCR中的任一者，抗体部分为包含来自单克隆抗体的序列的Fab样抗原结合模块。在一些实施方案中，Fab样抗原结合模块包含来自单克隆抗体的V_H、C_H1、V_L及C_L域。单克隆抗体可例如使用杂交瘤方法制备，例如由Kohler及Milstein,Nature,256:495(1975)及Sergeeva等人,Blood,117(16):4262-4272所述的那些方法。

[0257] 在杂交瘤方法中，仓鼠、小鼠或其他适当宿主动物通常用免疫剂免疫以产生淋巴细胞，其产生或能够产生将特异性结合于免疫剂的抗体。或者，淋巴细胞可在体外免疫。免疫剂可包括相关蛋白质的多肽或融合蛋白，或包含至少两个分子的复合体，例如包含肽及MHC蛋白质的复合体。通常，若需要人类来源的细胞，则使用外周血液淋巴细胞(“PBL”)；或若需要非人类哺乳动物来源，则使用脾细胞或淋巴结细胞。随后使用适合融合剂(例如聚乙二醇)使淋巴细胞与永生化细胞系融合以形成杂交瘤细胞。参见例如Goding,Monoclonal Antibodies:Principles and Practice(New York:Academic Press,1986),第59-103页。永生化细胞系通常为经转型的哺乳动物细胞，尤其是啮齿动物、牛类及人类来源的骨髓瘤细胞。通常采用大鼠或小鼠骨髓瘤细胞系。杂交瘤细胞可在优选含有一或多种抑制未融合的永生化细胞生长或存活的物质的适合培养基中培养。举例而言，若亲本细胞缺乏酶次黄嘌呤-鸟嘌呤磷酸核糖基转移酶(HGPRT或HPRT)，则用于杂交瘤的培养基通常将包括次黄嘌

呤、氨基喋呤(aminopterin)及胸苷(“HAT培养基”),其阻止缺乏HGPRT的细胞生长。

[0258] 在一些实施方案中,永生化细胞系有效融合,通过所选产抗体细胞支持抗体的稳定高含量表达且对于例如HAT培养基的培养基敏感。在一些实施方案中,永生化细胞系为鼠类骨髓瘤细胞系,其可例如获自Salk Institute Cell Distribution Center,San Diego,California及American Type Culture Collection,Manassas,Virginia。用于产生人类单克隆抗体的人类骨髓瘤及小鼠-人类杂骨髓瘤细胞系也已有描述。Kozbor,J.Immunol.,133:3001(1984);Brodeur等人Mono clonal Antibody Production Techniques and Applications(Marcel Dekker,Inc.:New York,1987)第51-63页。

[0259] 随后可分析培养杂交瘤细胞的培养基中针对多肽的单克隆抗体的存在情况。由杂交瘤细胞产生的单克隆抗体的结合特异性可通过免疫沉淀或通过体外结合分析(例如放射免疫分析(RIA)或酶联免疫吸附分析(ELISA))测定。所述技术及分析为本领域中已知的。单克隆抗体的结合亲和力可例如通过Munson及Pollard,Anal.BioChem.,107:220(1980)的Scatchard分析测定。

[0260] 在鉴别所需杂交瘤细胞之后,克隆可通过限制稀释程序亚克隆且通过标准方法生长。Goding,同前文献。出于此目的的适合培养基包括例如杜尔贝科氏改良伊格尔培养基(Dulbecco’s Modified Eagle’s Medium)及RPMI-1640培养基。或者,杂交瘤细胞可以腹水形式体内生长于哺乳动物中。

[0261] 亚克隆所分泌的单克隆抗体可通过已知免疫球蛋白纯化程序(例如蛋白A-琼脂糖、羟磷灰石层析、凝胶电泳、透析或亲和层析)自培养基或腹水液分离或纯化。

[0262] 在一些实施方案中,根据本文所述abTCR中的任一者,抗体部分为包含选自抗体部分文库(例如递呈scFv或Fab片段的噬菌体文库)的克隆的序列的Fab样抗原结合模块。克隆可通过筛选组合文库中具有所要活性的抗体片段来鉴别。举例而言,本领域中已知多种用于产生噬菌体展示文库且针对具有所需结合特征的抗体筛选此类文库的方法。此类方法综述于例如Hoogenboom等人,Methodsin Molecular Biology 178:1-37(O’Brien等人编,HumanPress,Totowa,NJ,2001)中,且进一步描述于例如McCafferty等人,Nature348:552-554;Clackson等人,Nature 352:624-628(1991);Marks等人,J.Mol.Biol.222:581-597(1992);Marks及Bradbury,Methods in Molecular Biology 248:161-175(Lo编,Human Press,Totowa,NJ,2003);Sidhu等人,J.Mol.Biol.338(2):299-310(2004);Lee等人,J.Mol.Biol.340(5):1073-1093(2004);Fellouse,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 101(34):12467-12472(2004);及Lee等人,J.Immunol.Methods 284(1-2):119-132(2004)中。

[0263] 在某些噬菌体展示方法中,V_H及V_L基因的谱系分别通过聚合酶链反应(PCR)克隆且在噬菌体文库中随机重组,随后可如Winter等人,Ann.Rev.Immunol.12:433-455(1994)中所述,筛选出结合抗原的噬菌体。噬菌体通常展示抗体片段,呈单链Fv(scFv)片段形式或呈Fab片段形式的抗体片段。来自免疫来源的文库提供抗免疫原的高亲和力抗体而无需建构杂交瘤。或者,可克隆原始谱系(例如来自人类)以提供针对广泛范围的非自体抗原以及自体抗原的单一抗体来源而无需任何免疫接种,如Griffiths等人,EMBOJ,12:725-734(1993)所述。最后,原始文库也可以合成方式如下制备:自干细胞克隆未重排V基因区段,且使用含有随机序列的PCR引子以编码高度可变CDR3区且实现体外重排,如Hoogenboom及Winter,J.Mol.Biol.,227:381-388(1992)所述。描述人类抗体噬菌体文库的专利公开案包括例如:

美国专利第5,750,373号及美国专利公开案第2005/0079574号、第2005/0119455号、第2005/0266000号、第2007/0117126号、第2007/0160598号、第2007/0237764号、第2007/0292936号及第2009/0002360号。

[0264] Fab样抗原结合模块可使用噬菌体展示制备以筛选文库中对靶抗原(例如肽/MHCI类/II类复合体或细胞表面抗原)具有特异性的抗体。文库可为具有至少1×10^9(例如至少约1×10^9、2.5×10^9、5×10^9、7.5×10^9、1×10^{10}、2.5×10^{10}、5×10^{10}、7.5×10^{10}或1×10^{11}中的任一者)个独特人类抗体片段的多样性的人类scFv噬菌体展示文库。在一些实施方案中,文库为建构自DNA的未处理人类文库,该DNA是自来自健康供体的人类PMBC及脾脏提取,涵盖所有人类重链及轻链子族。在一些实施方案中,文库为建构自DNA的未处理人类文库,该DNA是自患有各种疾病的患者,例如患有自体免疫疾病的患者、癌症患者及患有传染性疾病的患者分离的PBMC提取。在一些实施方案中,文库为半合成人类文库,其中重链CDR3为完全随机化的,所有氨基酸(除半胱氨酸的外)同等地可能存在于任何指定位置(参见例如Hoet,R.M.等人,Nat.Biotechnol.23(3):344-348,2005)。在一些实施方案中,半合成人类文库的重链CDR3的长度为约5至约24(例如约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23或24中的任一者)个氨基酸。在一些实施方案中,该文库为全合成噬菌体展示文库。在一些实施方案中,文库为非人类噬菌体展示文库。

[0265] 以高亲和力结合至靶抗原的噬菌体克隆可如下选择:通过将噬菌体反复结合至靶抗原,该靶抗原结合至固体载体(例如用于溶液淘选的珠粒或用于细胞淘选的哺乳动物细胞),随后移除未结合噬菌体且洗脱特异性结合的噬菌体。在溶液淘选的实施例中,靶抗原可经生物素标记以固定至固体载体。生物素标记的靶抗原与噬菌体文库及固体载体(例如抗生蛋白链菌素结合的DynabeadsM-280)混合,且随后分离靶抗原-噬菌体-珠粒复合体。所结合的噬菌体克隆随后经洗脱且用于感染用于表达及纯化的适当宿主细胞,例如大肠杆菌(E.coli)XL1-Blue。在细胞淘选的实施例中,负载有AFP肽的T2细胞(缺乏TAP的HLA-A*02:01^+淋巴母细胞细胞系)与噬菌体文库混合,其后收集细胞且所结合的克隆经洗脱且用于感染用于表达及纯化的适当宿主细胞。淘选可通过溶液淘选、细胞淘选或两者的组合进行多轮(例如约2、3、4、5、6或更多个中的任一者)以富集特异性结合至靶抗原的噬菌体克隆。可通过本领域中已知的任何方法,包括例如ELISA及FACS来测试所富集的噬菌体克隆与靶抗原的特异性结合。

[0266] 人类及人源化抗体部分

[0267] abTCR抗体部分可为人类或人源化的。人源化形式的非人类(例如鼠类)抗体部分为嵌合免疫球蛋白、免疫球蛋白链或其片段(例如Fv、Fab、Fab'、F(ab')2、scFv或抗体的其他抗原结合子序列),通常含有源自非人类免疫球蛋白的最小序列。人源化抗体部分包括人类免疫球蛋白、免疫球蛋白链或其片段(受体抗体),其中受体CDR的残基替换为具有所要特异性、亲和力及能力的非人类物种(例如小鼠、大鼠或兔)的CDR(供体抗体)的残基。在一些情况下,人类免疫球蛋白的Fv构架残基替换为相应非人类残基。人源化抗体部分也可包含在受体抗体部分中及在所引入的CDR或构架序列中均不存在的残基。一般而言,人源化抗体部分可包含基本上所有,至少一个且通常两个可变域,其中所有或基本上所有CDR区对应于非人类免疫球蛋白的那些CDR区且所有或基本上所有FR区为人类免疫球蛋白共同序列的那些FR区。参见例如Jones等人,Nature,321:522-525(1986);Riechmann等人,Nature,332:

323-329(1988);Presta,Curr.Op.Struct.Biol.,2:593-596(1992)。

[0268] 一般而言,人源化抗体部分具有一或多个自非人类来源引入至其中的氨基酸残基。这些非人类氨基酸残基通常称为“输入”残基,其通常取自“输入”可变域。根据一些实施方案,人源化可基本上遵循Winter及同事的方法(Jones等人,Nature,321:522-525(1986);Riechmann等人,Nature,332:323-327(1988);Verhoeyen等人,Science,239:1534-1536(1988)),通过用人类抗体部分的对应序列取代啮齿动物CDR或CDR序列进行。因此,此类“人源化”抗体部分为如下抗体部分(美国专利第4,816,567号),其中基本上不到完整的人类可变域已经来自非人类物种的对应序列取代。实际上,人源化抗体部分通常为一些CDR残基且可能一些FR残基经来自啮齿动物抗体中的类似位点的残基取代的人类抗体部分。

[0269] 作为人源化的替代方案,可产生人类抗体部分。举例而言,现在可能产生在免疫接种后能够在不产生内源性免疫球蛋白的情况下产生人类抗体的完全谱系的转基因动物(例如小鼠)。举例而言,已描述嵌合型生殖是突变小鼠中的抗体重链接合区(JH)基因的同型接合缺失导致完全抑制内源性抗体产生。将人类生殖是免疫球蛋白基因阵列转移至此类生殖是突变小鼠中将导致在抗原攻击时产生人类抗体。参见例如Jakobovits等人,PNASUSA,90:2551(1993);Jakobovits等人,Nature,362:255-258(1993);Bruggemann等人,Year in Immunol.,7:33(1993);美国专利第5,545,806号、第5,569,825号、第5,591,669号;第5,545,807号;及WO97/17852。或者,可通过将人类免疫球蛋白基因座引入转基因动物(例如内源免疫球蛋白基因已部分或完全不活化的小鼠)中来制备人类抗体。在攻击之后,观察到有人类抗体产生,其在所有方面与在人类中所见极其类似,包括基因重排、组装及抗体谱系。此方法描述于例如美国专利第5,545,807号;第5,545,806号;第5,569,825号;第5,625,126号;第5,633,425号;及第5,661,016号,及Marks等人,Bio/Technology,10:779-783(1992);Lonberg等人,Nature,368:856-859(1994);Morrison,Nature,368:812-813(1994);Fishwild等人,Nature Biotechnology,14:845-851(1996);Neuberger,Nature Biotechnology,14:826(1996);Lonberg及Huszar,Intern.Rev.Immunol.,13:65-93(1995)中。

[0270] 人类抗体也可通过体外活化B细胞(参见美国专利5,567,610及5,229,275)或通过使用本领域中已知的各种技术(包括噬菌体展示文库)产生。Hoogenboom及Winter,J.Mol.Biol.,227:381(1991);Marks等人,J.Mol.Biol.,222:581(1991)。Cole等人及Boerner等人的技术也可用于制备人类单克隆抗体。Cole等人,Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy,Alan R.Liss,第77页(1985)及Boerner等人,J.Immunol.,147(1):86-95(1991)。

[0271] 变异体

[0272] 在一些实施方案中,涵盖本文所提供的抗体部分的氨基酸序列变异体。举例而言,可能需要改进抗体部分的结合亲和力和/或其他生物特性。抗体部分的氨基酸序列变异体可通过将适当修饰引入编码该抗体部分的核苷酸序列中或通过肽合成制备。此类修饰包括例如在抗体部分的氨基酸序列内的残基的缺失和/或插入和/或取代。可进行缺失、插入及取代的任何组合以获得最终构建体,其限制条件为最终构建体具有所要特征,例如抗原结合。

[0273] 在一些实施方案中,提供具有一或多个氨基酸取代的抗体部分变异体。用于取代

型突变诱发的相关位点包括HVR及FR。氨基酸取代可引入至相关抗体部分中且针对所需活性筛选产物,所需活性例如保留/提高的抗原结合或降低的免疫原性。

[0274] 保守取代显示于下表1中。

[0275] 表1:保守取代

[0276]

原始残基	例示性取代	较佳取代
Ala(A)	Val;Leu;Ile	Val
Arg(R)	Lys;Gln;Asn	Lys
Asn(N)	Gln;His;Asp,Lys;Arg	Gln
Asp(D)	Glu;Asn	Glu
Cys(C)	Ser;Ala	Ser
Gln(Q)	Asn;Glu	Asn
Glu(E)	Asp;Gln	Asp
Gly(G)	Ala	Ala
His(H)	Asn;Gln;Lys;Arg	Arg
Ile(I)	Leu;Val;Met;Ala;Phe;正白胺酸	Leu
Leu(L)	正白胺酸;Ile;Val;Met;Ala;Phe	Ile
Lys(K)	Arg;Gln;Asn	Arg
Met(M)	Leu;Phe;Ile	Leu
Phe(F)	Trp;Leu;Val;Ile;Ala;Tyr	Tyr
Pro(P)	Ala	Ala
Ser(S)	Thr	Thr
Thr(T)	Val;Ser	Ser
Trp(W)	Tyr;Phe	Tyr
Tyr(Y)	Trp;Phe;Thr;Ser	Phe
Val(V)	Ile;Leu;Met;Phe;Ala;正白胺酸	Leu

[0277] 氨基酸可根据共同侧链特性分组为不同类别:

[0278] a.疏水性:正亮氨酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile;

[0279] b.中性亲水性:Cys、Ser、Thr、Asn、Gln;

[0280] c.酸性:Asp、Glu;

[0281] d.碱性:His、Lys、Arg;

[0282] e.影响链取向的残基:Gly、Pro;

[0283] f.芳族:Trp、Tyr、Phe。

[0284] 非保守取代将必然伴有将这些类别中的一者的成员换成另一个类别。

[0285] 例示性取代型变异体为亲和力成熟抗体部分,其可例如使用基于噬菌体展示的亲和力成熟技术便利地产生。简言之,使一或多个CDR残基突变且在噬菌体上呈现变异抗体部分且针对特定生物活性(例如结合亲和力)进行筛选。改变(例如取代)可在HVR中进行以例如提高抗体部分亲和力。此类改变可在HVR“热点”(也即由在体细胞成熟过程期间经历高频率突变的密码子所编码的残基(参见例如Chowdhury,Methods Mol.Biol.207:179-196(2008)))和/或特异性决定残基(SDR)中进行,其中测试所得变异体V_H或V_L的结合亲和力。通

过建构二级文库及自二级文库再选择达成的亲和力成熟已描述于例如Hoogenboom等人Methods in Molecular Biology 178:1-37(O'Brien等人编,Human Press,Totowa,NJ,(2001))中。

[0286] 在亲和力成熟的一些实施方案中,通过多种方法(例如易错PCR、链改组或寡核苷酸引导的突变诱发)中的任一种将多样性引入经选择用于成熟的可变基因中。随后产生二级文库。随后筛选该文库以鉴别任何具有所需亲和力的抗体部分变异体。引入多样性的另一方法涉及HVR引导途径,其中将若干HVR残基(例如一次4-6个残基)随机分组。参与抗原结合的HVR残基可特定鉴别,例如使用丙氨酸扫描突变诱发或模型化来鉴别。具体地,通常靶向CDR-H3及CDR-L3。

[0287] 在一些实施方案中,取代、插入或缺失可发生在一或多个HVR内,只要这些改变实质上不降低抗体部分结合抗原的能力即可。举例而言,可在HVR中进行实质上不降低结合亲和力的保守改变(例如如本文所提供的保守取代)。此类改变可在HVR"热点"或SDR外。在上文所提供的变异V_H及V_L序列的某些实施方案中,各HVR未改变或含有不超过一个、两个或三个氨基酸取代。

[0288] 用于鉴别抗体部分的可针对突变诱发靶向的残基或区域的适用方法称为"丙氨酸扫描突变诱发",如由Cunningham及Wells(1989)Science,244:1081-1085所描述。在此方法中,鉴别一个残基或一组标靶残基(例如带电残基,例如arg、asp、his、lys及glu)且用中性或带负电氨基酸(例如丙氨酸或聚丙氨酸)替换以判定抗体部分与抗原的相互相用是否受到影响。可在对初始取代显示功能敏感性的氨基酸位置处引入其他取代。或者或另外,可测定抗原-抗体部分复合体的晶体结构以鉴别抗体部分与抗原之间的接触点。此类接触残基及邻近残基可作为取代候选物的标靶或排除在取代候选物的外。可筛选变体以判定其是否含有所需特性。

[0289] 氨基酸序列插入包括在一个残基至含有一百个或更多个残基的多肽的长度范围内的氨基和/或羧基端融合物,以及具有单个或多个氨基酸残基的序列内插入。末端插入的实施例包括具有N端甲硫氨酰基残基的抗体部分。抗体部分的其他插入变异体包括抗体部分的N端或C端与酶(例如对于ADEPT而言)或延长抗体部分的血清半衰期的多肽的融合物。

[0290] 衍生物

[0291] 在一些实施方案中,根据本文所述abTCR中的任一者的abTCR可经进一步修饰以含有本领域中已知且可易于获得的额外非蛋白质部分。适合于abTCR衍生作用的部分包括(但不限于)水溶性聚合物。水溶性聚合物的非限制性实施例包括(但不限于)聚乙二醇(PEG)、乙二醇/丙二醇共聚物、羧甲基纤维素、聚葡萄糖、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯啶酮、聚-1,3-二氧杂环戊烷、聚-1,3,6-三恶烷、乙烯/顺丁烯二酸酐共聚物、聚氨基酸(均聚物或无规共聚物)及聚葡萄糖或聚(n-乙烯基吡咯啶酮)聚乙二醇、丙二醇均聚物、聚氧化丙烯/氧化乙烯共聚物、聚氧乙烯多元醇(例如甘油)、聚乙烯醇及其混合物。聚乙二醇丙醛因其于水中的稳定性而可具有制造优势。聚合物可具有任何分子量,且可为分支链或未分支的。连接至abTCR的聚合物的数目可变化,且若连接一个以上聚合物,则其可为相同或不同分子。一般而言,用于衍生作用的聚合物的数目和/或类型可基于包括(但不限于)abTCR的特定待改良特性或功能、abTCR衍生物是否将用于限定条件下的疗法等考虑因素来确定。

[0292] 在一些实施方案中,提供abTCR与可通过暴露于辐射选择性地加热的非蛋白质部

分的偶联物。在一些实施方案中，非蛋白质部分为碳纳米管（Kam等人，Proc.Natl.Acad.Sci.USA 102:11600-11605(2005)）。辐射可具有任何波长，且包括(但不限于)不损害普通细胞但将非蛋白质部分加热至杀伤abTCR-非蛋白质部分近侧的细胞的温度的波长。

[0293] 制备abTCR效应细胞

[0294] 在一个方面中，本发明提供表达abTCR的效应细胞(例如淋巴细胞，例如T细胞)。本文提供表达abTCR的效应细胞(例如T细胞)(abTCR效应细胞，例如abTCRT细胞)的例示性制备方法。

[0295] 在一些实施方案中，abTCR效应细胞(例如abTCRT细胞)可通过将一或多个编码特异性结合至靶抗原(例如疾病相关抗原)的abTCR(例如本文所述abTCR中的任一者)的核酸(包括例如慢病毒载体)引入至效应细胞中而产生。将一或多个核酸引入至效应细胞中可使用本领域中已知的技术实现，例如本文针对核酸所述的那些技术。在一些实施方案中，本发明的abTCR效应细胞(例如abTCRT细胞)能够在体内复制，产生可促成与靶抗原的表达相关的疾病(例如癌症或病毒感染)的持续控制的长期持久性。

[0296] 在一些实施方案中，本发明是关于使用淋巴细胞输注施用经基因修饰T细胞来治疗患有或有风险患上与靶抗原的表达相关的疾病和/或病症(在本文中也称作“靶抗原阳性”或“TA阳性”疾病或病症)的患者，该疾病和/或病症包括例如癌症或病毒感染，该经基因修饰T细胞表达根据本文所述abTCR中的任一者的特异性结合至靶抗原的abTCR。在一些实施方案中，在治疗中使用自体淋巴细胞输注。自需要治疗的患者收集自体PBMC且使用本文所描述及本领域中已知的方法活化及扩增T细胞，且随后将其输注回患者体内。

[0297] 在一些实施方案中，提供一种表达根据本文所述abTCR中的任一者的特异性结合至靶抗原的abTCR的T细胞(在本文中也称作“abTCRT细胞”)。本发明的abTCRT细胞可经历稳固的体内T细胞扩增且可建立以高含量在血液及骨髓中存留较长时间的靶抗原特异性记忆细胞。在一些实施方案中，输注至患者体内的本发明abTCRT细胞可体内消除具有靶抗原相关疾病的患者体内递呈靶抗原的细胞，例如递呈靶抗原的癌症或病毒感染细胞。在一些实施方案中，输注至患者体内的本发明abTCR T细胞可体内消除具有难以用至少一种已知疗法治疗的靶抗原相关疾病的患者体内递呈靶抗原的细胞，例如递呈靶抗原的癌症或病毒感染细胞。

[0298] 在T细胞扩增及基因修饰之前，自个体获得T细胞来源。T细胞可获自多种来源，包括外周血液单核细胞、骨髓、淋巴结组织、脐带血、胸腺组织、来自感染位点的组织、腹水、肋膜积液、脾组织及肿瘤。在本发明的一些实施方案中，可使用任何数目的本领域中可用的T细胞系。在本发明的一些实施方案中，T细胞可获自使用任何数目的本领域的技术人员已知的技术(例如Ficoll™分离)自个体收集的血液单元。在一些实施方案中，通过血球分离(apheresis)获得来自个体的循环血液的细胞。血球分离产物通常含有淋巴细胞，包括T细胞、单核细胞、粒细胞、B细胞、其他有核白细胞、红细胞及血小板。在一些实施方案中，可洗涤通过血球分离收集的细胞以移除血浆部分且将细胞置于适当缓冲液或培养基中以进行后续处理步骤。在一些实施方案中，用磷酸盐缓冲盐水(PBS)洗涤细胞。在一些实施方案中，洗涤溶液缺乏钙且可能缺乏镁或可能缺乏许多(若并非所有)二价阳离子。如本领域的技术人员将容易了解，洗涤步骤可通过本领域的技术人员已知的方法实现，例如通过根据制造

商说明书使用半自动“流通”离心(例如Cobe 2991细胞处理器、Baxter CytoMate或Haemonetics细胞保存器5)。在洗涤之后,细胞可再悬浮于多种生物相容性缓冲剂中,例如不含Ca^{2+}、不含Mg^{2+}的PBS、PlasmaLyteA或其他具有或不具有缓冲剂的生理盐水溶液。或者,可移除血球分离样品的非所要组分且将细胞直接再悬浮于培养基中。

[0299] 在一些实施方案中,通过溶解红细胞及例如通过经PERCOLL™梯度离心或通过逆流离心淘析耗尽单核细胞而自外周血液淋巴细胞分离T细胞。T细胞的特异性亚群(例如$CD3^+$、$CD28^+$、$CD4^+$、$CD8^+$、$CD45RA^+$及$CD45RO^+$T细胞)可通过正向选择或负向选择技术进一步分离。举例而言,在一些实施方案中,通过与抗CD3/抗CD28(也即3×28)结合的珠粒(例如DYNABEADS®M-450CD3/CD28T)一起温育足以正向选择所要T细胞的时段来分离T细胞。在一些实施方案中,时段为约30分钟。在一些实施方案中,时段在30分钟至36小时或更长(包括这些值之间的所有范围)的范围内。在一些实施方案中,时段为至少1、2、3、4、5或6小时。在一些实施方案中,时段为10至24小时。在一些实施方案中,温育时段为24小时。关于T细胞自患有白血病的患者的分离,使用较长温育时间(例如24小时)可提高细胞产量。在任何相较于其他细胞类型存在较少T细胞的情形中可使用较长温育时间分离T细胞,例如自肿瘤组织或免疫功能不全个体分离肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)。此外,使用较长温育时间可提高$CD8^+$T细胞的捕捉效率。因此,通过仅缩短或延长允许T细胞结合至CD3/CD28珠粒的时间和/或通过增加或减小珠粒与T细胞的比率,可对于或针对在培养起始时或该过程期间的其他时间点优先选择T细胞亚群。另外,通过增加或减小珠粒或其他表面上抗CD3和/或抗CD28抗体的比率,可对于或针对在培养起始时或在其他所要时间点优先选择T细胞亚群。本领域的技术人员将认识到本发明的上下文中也可使用多个选择轮。在一些实施方案中,可能需要进行选择程序且在活化及扩增过程中使用“未经选择的”细胞。“未经选择的”细胞也可进行其他选择轮。

[0300] 通过负向选择富集T细胞群体可使用针对负向选择细胞所特有的表面标记物的抗体的组合来实现。一种方法为经负磁性免疫粘附或流动式细胞测量术分选和/或选择细胞,该负磁性免疫粘附或流动式细胞测量术使用针对负向选择细胞上存在的细胞表面标记物的单克隆抗体混合物。举例而言,为了通过负向选择富集$CD4^+$细胞,单克隆抗体混合物通常包括针对CD14、CD20、CD11b、CD16、HLA-DR及CD8的抗体。在一些实施方案中,可能需要富集或正向选择通常表达$CD4^+$、$CD25^+$、CD62Lhi、$GITR^+$及$FoxP3^+$的调节T细胞。或者,在一些实施方案中,T调节细胞通过抗CD25结合珠粒或其他类似选择方法耗尽。

[0301] 为了通过正向选择或负向选择分离所要细胞群体,细胞浓度及表面(例如粒子,例如珠粒)可变化。在一些实施方案中,可能需要显著减小珠粒及细胞混合在一起的体积(也即增加细胞浓度),以确保细胞及珠粒的最大接触。举例而言,在一些实施方案中,使用约20亿个细胞/毫升的浓度。在一些实施方案中,使用约10亿个细胞/毫升的浓度。在一些实施方案中,使用大于约100,000,000个细胞/毫升。在一些实施方案中,使用约10,000,000、15,000,000、20,000,000、25,000,000、30,000,000、35,000,000、40,000,000、45,000,000或50,000,000个细胞/毫升中的任一者的细胞浓度。在一些实施方案中,使用约75,000,000、80,000,000、85,000,000、90,000,000、95,000,000或100,000,000个细胞/毫升中的任一者的细胞浓度。在一些实施方案中,使用约125,000,000或约150,000,000个细胞/毫升的浓度。使用高浓度可导致增加的细胞产量、细胞活化及细胞扩增。此外,使用高细胞浓度使得

更有效捕捉可能弱表达所关注靶抗原的细胞(例如CD28阴性T细胞)或自存在许多肿瘤细胞的样品(也即白血病血液、肿瘤组织等)更有效捕捉细胞。此类细胞群体可具有治疗价值且期望可以获得。举例而言,使用高细胞浓度允许更有效选择通常具有较弱CD28表达的$CD8^+$T细胞。

[0302] 在本发明的一些实施方案中,T细胞直接获自治疗之后的患者。就此而言,已观察到,在某些癌症治疗之后,尤其是使用破坏免疫系统的药物治疗之后,在治疗之后不久在患者通常将自治疗恢复的时段期间,所获得的T细胞的品质可为最佳的或其离体扩增的能力得到改良。同样,在使用本文所描述的方法离体操纵之后,这些细胞的增强移植及体内扩增可呈优选状态。因此,本发明的上下文内涵盖在此恢复阶段期间收集血细胞(包括T细胞)、树突状细胞或造血谱系的其他细胞。此外,在一些实施方案中,可使用移动(例如用GM-CSF移动)及调节方案在个体内建立条件,其中尤其在治疗之后的限定时间窗期间宜再增殖、再循环、再生和/或扩增特定细胞类型。说明性细胞类型包括T细胞、B细胞、树突状细胞及免疫系统的其他细胞。

[0303] 无论是在基因修饰T细胞以表达所需abTCR之前或之后,T细胞一般均可使用如例如以下各者中所描述的方法活化及扩增:美国专利第6,352,694;6,534,055;6,905,680;6,692,964;5,858,358;6,887,466;6,905,681;7,144,575;7,067,318;7,172,869;7,232,566;7,175,843;5,883,223;6,905,874;6,797,514;6,867,041号;及美国专利申请公开案第20060121005号。

[0304] 一般而言,本发明的T细胞通过与某一表面接触而扩增,该表面上连接有刺激CD3/TCR复合体相关信号的药剂及刺激T细胞表面上的共刺激分子的配体。具体地,可例如通过与抗CD3抗体或其抗原结合片段,或固定于表面上的抗CD2抗体接触,或通过与钙离子载体结合的蛋白激酶C活化剂(例如苔藓虫素(bryostatin))接触来刺激T细胞群体。为了共刺激T细胞表面上的辅助分子,使用结合辅助分子的配体。举例而言,T细胞群体可与抗CD3抗体及抗CD28抗体在适于刺激T细胞增殖的条件下接触。为了刺激CD4+T细胞或CD8+T细胞的增殖,抗CD3抗体及抗CD28抗体。抗CD28抗体的实施例包括9.3、B-T3、XR-CD28(DiaClone,Besançon,France),可如本领域中通常已知的其他方法一般可使用(Berg等人,Transplant Proc.30(8):3975-3977,1998;Haanen等人,J.Exp.Med.190(9):13191328,1999;Garland等人,J.Immunol Meth.227(1-2):53-63,1999)。

[0305] 在本文所述的任何此类实施方案中的一些中,abTCR效应细胞的制备导致最小程度或基本上不耗尽abTCR效应细胞。举例而言,在一些实施方案中,制备引起小于约50%(例如小于约45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10或5%中的任一者)的abTCR效应细胞被耗尽。效应细胞耗尽可通过本领域中已知的任何方式测定,包括本文所述的任何方式。

[0306] 在本文所述的任何此类实施方案中的一些中,abTCR效应细胞的制备导致abTCR效应细胞的最小程度或基本上无最后分化。举例而言,在一些实施方案中,制备导致小于约50%(例如小于约45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10或5%中的任一者)的abTCR效应细胞发生最后分化。效应细胞分化可通过本领域中已知的任何方式测定,包括本文所述的任何方式。

[0307] 在本文所述的任何此类实施方案中的一些中,abTCR效应细胞的制备导致abTCR效应细胞上的abTCR的最小程度或基本上无内化。举例而言,在一些实施方案中,制备导致

abTCR效应细胞上小于约50％(例如小于约45％、40％、35％、30％、25％、20％、15％、10或5％中的任一者)的abTCR发生内化。abTCR效应细胞上的abTCR的内化可通过本领域中已知的任何方式测定,包括本文所述的任何方式。

[0308] 基因修饰

[0309] 在一些实施方案中,本发明的abTCR效应细胞(例如abTCRT细胞)是通过用编码如本文所述的abTCR的病毒载体转导效应细胞(例如通过本文所描述的方法制备的T细胞)而产生。病毒载体传递系统包括DNA及RNA病毒,其在传递至效应细胞之后具有游离或整合基因组。关于基因疗法程序的综述,参见Anderson,Science256:808-813(1992);Nabel及Feigner,TIBTECH11:211-217(1993);Mitani及Caskey,TIBTECH11:162-166(1993);Dillon,TIBTECH11:167-175(1993);Miller,Nature357:455-460(1992);VanBrunt,Biotechnology6(10):1149-1154(1988);Vigne,Restorative Neurology and Neuroscience 8:35-36(1995);Kremer及Perricaudet,British Medical Bulletin51(l):31-44(1995);及Yu等人,Gene Therapy1:13-26(1994)。在一些实施方案中,病毒载体为慢病毒载体,且abTCR效应细胞包含整合至abTCR效应细胞基因组中的慢病毒载体。在一些实施方案中,abTCR效应细胞为abTCRT细胞,其包含整合至其基因组中的慢病毒载体。在一些实施方案中,abTCR效应细胞为经修饰以阻断或减少内源性TCR链中的一者或两者的表达的T细胞。举例而言,在一些实施方案中,abTCR效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRα和/或β链的表达的αβT细胞,或者abTCR效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRγ和/或δ链的表达的γδT细胞。用于破坏基因表达的细胞修饰包括本领域中已知的任何此类技术,包括例如RNA干扰(例如,siRNA、shRNA、miRNA)、基因编辑(例如,基于CRISPR或TALEN的基因敲除)等。

[0310] 在一些实施方案中,使用CRISPR/Cas系统产生T细胞的内源性TCR链中的一者或两者的表达减少的abTCRT细胞。关于基因编辑的CRISPR/Cas系统的综述,参见例如JianW及Marraffini LA,Annu.Rev.Microbiol.69,2015;HsuPD等人,Cell,157(6):1262-1278,2014;及O'ConnellMR等人,Nature516:263-266,2014。在一些实施方案中,使用基于TALEN的基因组编辑产生T细胞的内源性TCR链中的一者或两者的表达减少的abTCRT细胞。

[0311] 富集

[0312] 在一些实施方案中,提供一种富集异质性细胞群体中根据本文所述的abTCR效应细胞中的任一者的abTCR效应细胞的方法。

[0313] 可通过正向选择技术富集特异性结合至靶抗原的abTCR效应细胞(例如abTCRT细胞)的特定亚群。举例而言,在一些实施方案中,abTCR效应细胞(例如abTCRT细胞)通过与靶抗原结合的珠粒一起温育足以正向选择所要abTCR效应细胞的时段来进行富集。在一些实施方案中,时段为约30分钟。在一些实施方案中,时段在30分钟至36小时或更长(包括这些值之间的所有范围)的范围内。在一些实施方案中,时段为至少1、2、3、4、5或6小时。在一些实施方案中,时段为10至24小时。在一些实施方案中,温育时段为24小时。关于异质性细胞群体中以低含量存在的abTCR效应细胞的分离,使用较长温育时间(例如24小时)可提高细胞产量。在任何相较于其他细胞类型存在较少abTCR效应细胞的情形中可使用较长温育时间分离abTCR效应细胞。本领域的技术人员将认识到本发明的上下文中也可使用多个选择轮。

[0314] 为了通过正向选择分离所要abTCR效应细胞群体,细胞浓度及表面(例如,粒子,例

如珠粒)可变化。在一些实施方案中,可能需要显著减小珠粒及细胞混合在一起的体积(也即增加细胞浓度),以确保细胞及珠粒的最大接触。举例而言,在一些实施方案中,使用约20亿个细胞/毫升的浓度。

[0315] 在一些实施方案中,使用约10亿个细胞/毫升的浓度。在一些实施方案中,使用大于约1亿个细胞/毫升。在一些实施方案中,使用约10,000,000、15,000,000、20,000,000、25,000,000、30,000,000、35,000,000、40,000,000、45,000,000或50,000,000个细胞/毫升中的任一者的细胞浓度。在一些实施方案中,使用约75,000,000、80,000,000、85,000,000、90,000,000、95,000,000或100,000,000个细胞/毫升中的任一者的细胞浓度。在一些实施方案中,使用约125,000,000或约150,000,000个细胞/毫升的浓度。使用高浓度可导致增加的细胞产量、细胞活化及细胞扩增。此外,使用高细胞浓度使得更有效捕捉可能弱表达abTCR的abTCR效应细胞。

[0316] 在本文所述的任何此类实施方案中的一些中,富集导致最小程度或基本上无abTCR效应细胞耗尽。举例而言,在一些实施方案中,富集导致小于约50%(例如小于约45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10或5%中的任一者)的abTCR效应细胞发生耗尽。效应细胞耗尽可通过本领域中已知的任何方式测定,包括本文所述的任何方式。

[0317] 在本文所述的任何此类实施方案中的一些中,富集导致最小程度或基本上无abTCR效应细胞的最后分化。举例而言,在一些实施方案中,富集导致小于约50%(例如小于约45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10或5%中的任一者)的abTCR效应细胞发生最后分化。效应细胞分化可通过本领域中已知的任何方式测定,包括本文所述的任何方式。

[0318] 在本文所述的任何此类实施方案中的一些中,富集导致abTCR效应细胞上的abTCR的最小程度或基本上无内化。举例而言,在一些实施方案中,富集导致abTCR效应细胞上小于约50%(例如小于约45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10或5%中的任一者)的abTCR发生内化。abTCR效应细胞上的abTCR的内化可通过本领域中已知的任何方式测定,包括本文所述的任何方式。

[0319] 在本文所述的任何此类实施方案中的一些中,富集导致abTCR效应细胞的增殖增加。举例而言,在一些实施方案中,富集导致abTCR效应细胞的数目在富集之后增加至少约10%(例如至少约20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、200%、300%、400%、500%、1000%或更多中的任一者)。

[0320] 因此,在一些实施方案中,提供一种富集异质性细胞群体中表达特异性结合至靶抗原的abTCR的abTCR效应细胞的方法,其包含:a)使异质性细胞群体与包含靶抗原或其中所含的一或多个表位的配体接触,形成包含abTCR效应细胞结合至配体的复合体;及b)自异质性细胞群体分离复合体,从而产生abTCR效应细胞富集的细胞群体。在一些实施方案中,将配体固定至固体载体。在一些实施方案中,固体载体为微粒(例如珠粒)。在一些实施方案中,固体载体为表面(例如孔的底部)。在一些实施方案中,配体经标签标记。在一些实施方案中,标签为荧光分子、亲和力标签或磁性标签。在一些实施方案中,该方法进一步包含自配体洗脱abTCR效应细胞且回收洗脱液。

[0321] 文库筛选

[0322] 为了分离对靶抗原具有特异性的候选abTCR构建体,可使abTCR文库(例如表达编码多个abTCR的核酸文库的细胞)暴露于包含靶抗原或其中所含的一或多个表位的配体,随

后分离文库中特异性结合配体的亲和力成员。在一些实施方案中，将配体固定于固体载体上。在一些实施方案中，载体可为珠粒表面、微量滴定盘、免疫管或本领域中已知适用于此类目的的任何材料。在一些实施方案中，在溶液中在所标记的配体标靶(例如，生物素标记配体)上发生相互作用。在一些实施方案中，该程序涉及一或多个用于移除非特异性且非响应性文库成员的洗涤步骤(淘选)。在一些实施方案中，为了纯化溶液中的复合体，通过固定或通过离心捕捉复合体。在一些实施方案中，将亲和力成员捕捉于可溶性生物素标记配体上，随后于抗生蛋白链菌素珠粒上固定亲和力复合体(亲和力成员及配体)。在一些实施方案中，固体载体为珠粒。在一些实施方案中，珠粒包括例如磁性珠粒(例如，来自Bangs Laboratories、Poly sciencesinc.、Dynal Biotech、Miltenyi Biotech或Quantum Magnetic)、非磁性珠粒(例如，Pierce及Upstatetechnology)、单分散珠粒(例如，Dynal Biotech及Microparticle Gmbh)及多分散珠粒(例如，Chemagen)。磁性珠粒的使用在文献中已有详尽描述(Uhlen,M等人(1994)Advances in Biomagnetic Separation,Bio Techniques press,Westborough,MA)。在一些实施方案中，通过正向选择纯化亲和力成员。在一些实施方案中，通过负向选择纯化亲和力成员以移除不合需要的文库成员。在一些实施方案中，通过正向及负向选择步骤纯化亲和力成员。

[0323] 一般而言，用于制备文库构建体的技术将基于已知的基因工程技术。就此而言，将编码文库中待表达的abTCR的核酸序列并入至适合于待使用类型的表达系统的表达载体中。用于在例如$CD3^+$细胞的细胞中呈现的适当表达载体在本领域中为熟知的且有描述。举例而言，在一些实施方案中，表达载体为病毒载体，例如慢病毒载体。

[0324] 在一些实施方案中，提供一种核酸文库，其包含编码多个根据本文所述实施方案中的任一者的abTCR的序列。在一些实施方案中，核酸文库包含编码多个abTCR的病毒载体。在一些实施方案中，病毒载体为慢病毒载体。在一些实施方案中，提供一种筛选根据本文所述实施方案中的任一者的核酸文库中编码对靶抗原具有特异性的abTCR的序列的方法，其包含：a)将核酸文库引入至多个细胞中，使得abTCR表达于多个细胞的表面上；b)使多个细胞与包含靶抗原或其中所含的一或多个表位的配体一起温育；c)收集结合至配体的细胞；及d)自步骤c)中所收集的细胞分离编码abTCR的序列，从而鉴别对靶抗原具有特异性的abTCR。在一些实施方案中，该方法进一步包含一或多个洗涤步骤。在一些实施方案中，一或多个洗涤步骤是在步骤b)与c)之间进行。在一些实施方案中，多个细胞为多个$CD3^+$细胞。在一些实施方案中，将配体固定于固体载体上。在一些实施方案中，固体载体为珠粒。在一些实施方案中，收集结合至配体的细胞包含自结合至固体载体的配体洗脱细胞且收集洗脱液。在一些实施方案中，配体经标签标记。在一些实施方案中，标签为荧光分子、亲和力标签或磁性标签。在一些实施方案中，收集结合至配体的细胞包含分离包含所述细胞及经标记的配体的复合体。在一些实施方案中，自复合体解离所述细胞。

[0325] MHC蛋白质

[0326] MHCI类蛋白质为两种主要类别的主要组织相容性复合体(MHC)分子中的一者(另一者为MHCII类)且发现于体内几乎每一个有核细胞上。其功能为向T细胞呈现细胞内的蛋白质片段；健康细胞将忽略，而含有外来的或突变的蛋白质的细胞将受到免疫系统攻击。因为MHCI类蛋白质递呈源自胞溶质蛋白质的肽，所以MHCI类的递呈路径通常称作胞溶质或内源性路径。I类MHC分子结合主要由蛋白酶体降解胞溶质蛋白质产生的肽。随后将MHCI:肽复

合体插入至细胞的质膜中。肽结合至I类MHC分子的细胞外部分。因此，I类MHC的功能为向细胞毒性T细胞(CTL)呈现细胞内蛋白质。然而，I类MHC也可在称为交叉递呈的过程中递呈由外源性蛋白质产生的肽。

[0327] MHCI类蛋白质由两个多肽链组成：α及β2-微球蛋白(β2M)。两条链经由β2M与α3域的相互作用非共价连接。仅α链为多态的且由HLA基因编码，而β2M亚单元并非多态的且由β-2微球蛋白基因编码。α3域跨越质膜且与T细胞的CD8共受体相互作用。α3-CD8相互作用将MHCI分子保持在适当的位置，而细胞毒性T细胞表面上的T细胞受体(TCR)结合其α1-α2杂二聚体配体，且检查偶合肽的抗原性。α1及α2域折叠而构成凹槽，用于肽结合。MHCI类蛋白质结合长度为8-10个氨基酸的肽。MHCII类分子为通常仅发现于抗原递呈细胞上的分子家族，抗原递呈细胞例如树突状细胞、单核吞噬细胞、一些内皮细胞、胸腺上皮细胞及B细胞。由II类肽递呈的抗原源自细胞外蛋白质(并非如同I类中的胞溶质蛋白质)；因此，MHCII类依赖性抗原递呈路径称作胞吞或外源性路径。MHCII类分子的负载通过吞噬作用发生；细胞外蛋白质遭胞吞，在溶酶体中消化，且所得表位肽片段负载至MHCII类分子上，其随后迁移至细胞表面。

[0328] 如同MHCI类分子一样，II类分子也为杂二聚体，但在此情况下由两个均匀肽组成：α及β链。子名称α1、α2等是指HLA基因内的单独域；各域通常由该基因内的不同外显子编码，且一些基因具有编码前导序列、跨膜序列等的其他域。因为MHCII类分子的抗原结合凹槽在两个末端均打开而I类分子上的对应凹槽在各末端关闭，所以由MHCII类分子递呈的抗原更长，长度一般介于15个与24个氨基酸残基之间。

[0329] 人类白细胞抗原(HLA)基因为MHC基因的人类型式。人体中的三种主要MHCI类蛋白质为HLA-A、HLA-B及HLA-C，而3种次要MHCI类蛋白质为HLA-E、HLA-F及HLA-G。人体中参与抗原递呈的三种主要MHCII类蛋白质为HLA-DP、HLDA-DQ及HLA-DR，而其他MHCII类蛋白质HLA-DM及HLA-DO则参与抗原的内部处理及负载。HLA-A位列人体中具有最快进化编码序列的基因中。截至2013年12月，存在2432种编码1740种活性蛋白质及117种敲除式蛋白质的已知HLA-A对偶基因。HLA-A基因位于染色体6的短臂上且编码HLA-A的较大α链成分。HLA-Aα-链的变化对于HLA功能至关重要。此变化促进群体中的基因多样性。由于各HLA对于某些结构的肽具有不同亲和力，所以较多种HLA意为较多种抗原“递呈”于细胞表面上，增加群体子组将对任何指定外来侵入物具抗性的可能性。此减小单一病原体具有消灭整个人类群体的能力的可能性。各个体可表达至多两种类型的HLA-A，分别来自其亲本。一些个体将自亲本继承相同HLA-A，减少其个体HLA多样性；然而，大多数个体将接受HLA-A的两种不同拷贝。所有HLA组遵循此相同模式。换言之，个体可仅表达2432种已知HLA-A对偶基因中的一者或两者。

[0330] 所有对偶基因接受至少一个四位数分类，例如HLA-A*02:12。A表示对偶基因所属的HLA基因。存在许多HLA-A对偶基因，使得通过血清型的分类使分类简化。下一对数字指示此分配。举例而言，HLA-A*02:02、HLA-A*02:04及HLA-A*02:324全部为A2血清型(由*02前缀指示)的成员。此组为造成HLA相容性的主要因子。此后的所有数字无法通过血清分型测定且经由基因测序指示。第二组数字指示产生何种HLA蛋白质。这些以发现顺序指定且截至2013年12月，存在456种不同的已知HLA-A02蛋白质(指定名称HLA-A*02:01至HLA-A*02:456)。可能的最短HLA名称包括这些细节中的全部两者。超出其的各扩增表示可或可不改变蛋白质的核苷酸变化。

[0331] 在一些实施方案中,Fab样抗原结合模块特异性结合至包含源自疾病相关抗原(例如肿瘤相关或病毒编码抗原)的肽及MHCI类蛋白质的复合体,其中MHCI类蛋白质为HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-E、HLA-F或HLA-G。在一些实施方案中,MHCI类蛋白质为HLA-A、HLA-B或HLA-C。在一些实施方案中,MHCI类蛋白质为HLA-A。在一些实施方案中,MHCI类蛋白质为HLA-B。在一些实施方案中,MHCI类蛋白质为HLA-C。在一些实施方案中,MHCI类蛋白质为HLA-A01、HLA-A02、HLA-A03、HLA-A09、HLA-A10、HLA-A11、HLA-A19、HLA-A23、HLA-A24、HLA-A25、HLA-A26、HLA-A28、HLA-A29、HLA-A30、HLA-A31、HLA-A32、HLA-A33、HLA-A34、HLA-A36、HLA-A43、HLA-A66、HLA-A68、HLA-A69、HLA-A74或HLA-A80。在一些实施方案中,MHCI类蛋白质为HLA-A02。在一些实施方案中,MHCI类蛋白质为HLA-A*02:01-555中的任一者,例如HLA-A*02:01、HLA-A*02:02、HLA-A*02:03、HLA-A*02:04、HLA-A*02:05、HLA-A*02:06、HLA-A*02:07、HLA-A*02:08、HLA-A*02:09、HLA-A*02:10、HLA-A*02:11、HLA-A*02:12、HLA-A*02:13、HLA-A*02:14、HLA-A*02:15、HLA-A*02:16、HLA-A*02:17、HLA-A*02:18、HLA-A*02:19、HLA-A*02:20、HLA-A*02:21、HLA-A*02:22或HLA-A*02:24。在一些实施方案中,MHCI类蛋白质为HLA-A*02:01。所有高加索人(Caucasian)中有39-46%的人表达HLA-A*02:01且因此其代表用于本发明的MHCI类蛋白质的适合选择。

[0332] 在一些实施方案中,Fab样抗原结合模块特异性结合至包含源自疾病相关抗原(例如肿瘤相关或病毒编码抗原)的肽及MHCII类蛋白质的复合体,其中MHCII类蛋白质为HLA-DP、HLA-DQ或HLA-DR。在一些实施方案中,MHCII类蛋白质为HLA-DP。在一些实施方案中,MHCII类蛋白质为HLA-DQ。在一些实施方案中,MHCII类蛋白质为HLA-DR。

[0333] 适用于产生Fab样抗原结合模块的肽可例如基于蛋白酶体及免疫蛋白酶体的HLA(例如HLA-A*02:01)结合基序及裂解位点的存在,使用本领域的技术人员已知的电脑预测模型来确定。关于预测MHC结合位点,此类模型包括(但不限于)ProPred1(更详细地描述于Singh及Raghava,ProPred:prediction of HLA-DR binding sites.BIOINFORMATICS 17(12):1236-1237,2001中)及SYFPEITHI(参见Schuler等人SYFPEITHI,Database for Searching and T-Cell Epitope Prediction.Immunoinformatics Methods in Molecular Biology,第409卷(1):75-93,2007)。

[0334] 一旦鉴别出适当肽,即可根据一般本领域的技术人员熟知的方案完成肽合成。本发明的肽由于其相对较小的尺寸而可根据已知肽合成技术直接在溶液中或固体载体上合成。各种自动合成器为可商购的且可根据已知方案使用。在溶液相中合成肽已变成用于大规模制造合成肽的公认程序,且因此为用于制备本发明肽的适合替代方法(参见例如Solid Phase Peptide Synthesis,John Morrow Stewart及Martin等人Application of Almez-mediated Amidation Reactionsto Solution Phase Peptide Synthesis,Tetrahedron Letters第39卷,第1517-1520页,1998)。

[0335] 药物组合物

[0336] 本文也提供一种组合物(例如药物组合物,在本文中也称作配制物),其包含根据本文所述实施方案中的任一者的abTCR、编码根据本文所述实施方案中的任一者的abTCR的核酸、或根据本文所述实施方案中的任一者的abTCR效应细胞。在一些实施方案中,组合物为abTCR效应细胞组合物(例如药物组合物),其包含于表面上递呈根据本文所述abTCR中的任一者的abTCR的效应细胞(例如T细胞)。在一些实施方案中,abTCR效应细胞组合物为药物

组合物。

[0337] 组合物可包含均质细胞群体或异质细胞群体，均质细胞群体包含相同细胞类型且表达相同abTCR的abTCR效应细胞，异质细胞群体包含多个包含不同细胞类型和/或表达不同abTCR的abTCR效应细胞的abTCR效应细胞群体。组合物可进一步包含不为abTCR效应细胞的细胞。

[0338] 因此，在一些实施方案中，提供一种abTCR效应细胞组合物，其包含相同细胞类型且表达相同abTCR的abTCR效应细胞(例如abTCRT细胞)的均质细胞群体。在一些实施方案中，abTCR效应细胞为T细胞。在一些实施方案中，abTCR效应细胞选自下组：细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞。在一些实施方案中，abTCR效应细胞组合物为药物组合物。

[0339] 在一些实施方案中，提供一种abTCR效应细胞组合物，其包含异质细胞群体，异质细胞群体包含多个abTCR效应细胞群体，所述abTCR效应细胞群体包含不同细胞类型和/或表达不同abTCR的abTCR效应细胞。在一些实施方案中，abTCR效应细胞为T细胞。在一些实施方案中，各abTCR效应细胞群体具有选自细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞的细胞类型。在一些实施方案中，组合物中的所有abTCR效应细胞具有相同细胞类型(例如，所有abTCR效应细胞都为细胞毒性T细胞)。在一些实施方案中，至少一个abTCR效应细胞群体具有不同于其他abTCR效应细胞群体的细胞类型(例如，一个abTCR效应细胞群体由细胞毒性T细胞组成且其他abTCR效应细胞群体由自然杀伤T细胞组成)。在一些实施方案中，各abTCR效应细胞群体表达相同abTCR。在一些实施方案中，至少一个abTCR效应细胞群体表达不同于其他abTCR效应细胞群体的abTCR。在一些实施方案中，各abTCR效应细胞群体表达不同于其他abTCR效应细胞群体的abTCR。在一些实施方案中，各abTCR效应细胞群体表达特异性结合至相同靶抗原的abTCR。在一些实施方案中，至少一个abTCR效应细胞群体表达特异性结合至不同于其他abTCR效应细胞群体的靶抗原的abTCR(例如，一个abTCR效应细胞群体特异性结合至pMHC复合体且其他abTCR效应细胞群体特异性结合至细胞表面受体)。在一些实施方案中，其中至少一个abTCR效应细胞群体表达特异性结合至不同靶抗原的abTCR，各abTCR效应细胞群体表达特异性结合至与相同疾病或病症相关的靶抗原的abTCR(例如，靶抗原中的每一者与癌症相关，例如乳腺癌)。在一些实施方案中，abTCR效应细胞组合物为药物组合物。

[0340] 因此，在一些实施方案中，提供一种abTCR效应细胞组合物，其包含多个根据本文所述实施方案中的任一者的abTCR效应细胞群体，其中组合物中的所有abTCR效应细胞具有相同细胞类型(例如，所有abTCR效应细胞为细胞毒性T细胞)，且其中各abTCR效应细胞群体表达不同于其他abTCR效应细胞群体的abTCR。在一些实施方案中，abTCR效应细胞为T细胞。在一些实施方案中，abTCR效应细胞选自下组：细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞。在一些实施方案中，各abTCR效应细胞群体表达特异性结合至相同靶抗原的abTCR。在一些实施方案中，至少一个abTCR效应细胞群体表达特异性结合至不同于其他abTCR效应细胞群体的靶抗原的abTCR(例如，一个abTCR效应细胞群体特异性结合至pMHC复合体且其他abTCR效应细胞群体特异性结合至细胞表面受体)。在一些实施方案中，其中至少一个abTCR效应细胞群体表达特异性结合至不同靶抗原的abTCR，各abTCR效应细胞群体表达特异性结合至与相同疾病或病症相关的靶抗原的abTCR(例如，靶抗原中的每一者与癌

症相关,例如乳腺癌)。在一些实施方案中,abTCR效应细胞组合物为药物组合物。

[0341] 在一些实施方案中,提供一种组合物,其包含多个根据本文所述实施方案中的任一者的abTCR效应细胞群体,其中至少一个abTCR效应细胞群体具有不同于其他abTCR效应细胞群体的细胞类型。在一些实施方案中,所有abTCR效应细胞群体全具有不同细胞类型。在一些实施方案中,abTCR效应细胞为T细胞。在一些实施方案中,各abTCR效应细胞群体具有选自细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞的细胞类型。在一些实施方案中,各abTCR效应细胞群体表达相同abTCR。在一些实施方案中,至少一个abTCR效应细胞群体表达不同于其他abTCR效应细胞群体的abTCR。在一些实施方案中,各abTCR效应细胞群体表达不同于其他abTCR效应细胞群体的abTCR。在一些实施方案中,各abTCR效应细胞群体表达特异性结合至相同靶抗原的abTCR。在一些实施方案中,至少一个abTCR效应细胞群体表达特异性结合至不同于其他abTCR效应细胞群体的靶抗原的abTCR(例如,一个abTCR效应细胞群体特异性结合至pMHC复合体且其他abTCR效应细胞群体特异性结合至细胞表面受体)。在一些实施方案中,其中至少一个abTCR效应细胞群体表达特异性结合至不同靶抗原的abTCR,各abTCR效应细胞群体表达特异性结合至与相同疾病或病症相关的靶抗原的abTCR(例如,靶抗原中的每一者与癌症相关,例如乳腺癌)。在一些实施方案中,abTCR效应细胞组合物为药物组合物。

[0342] 在组合物制备期间的各个时刻,可能需要或者宜低温保存细胞。术语“冷冻(frozen/freezing)”及“低温保存(cryopreserved/cryopreserving)”可互换地使用。冷冻包括冷冻干燥。

[0343] 如本领域的技术人员所了解,冷冻细胞可具破坏性(参见Mazur,P.,1977,Cryobiology14:251-272),但存在大量可供防止此类破坏用的程序。举例而言,可通过(a)使用低温保护剂、(b)控制冷冻速率和/或(c)在可使降解响应降到最低的足够低的温度下储存来避免破坏。例示性低温保护剂包括二甲亚砜(DMSO)(Lovelock及Bishop,1959,Nature 183:1394-1395;Ashwood-Smith,1961,Nature 190:1204-1205)、甘油、聚乙烯吡咯啶酮(Rinfret,1960,Ann.N.Y.Acad.Sci.85:576)、聚乙二醇(Sloviter及Ravdin,1962,Nature196:548)、白蛋白、聚葡萄糖、蔗糖、乙二醇、i-赤藻糖醇、D-核糖醇、D-甘露糖醇(Rowe等人,1962,Fed.Proc.21:157)、D-山梨糖醇、i-肌醇、D-乳糖、氯化胆碱(Bender等人,1960,J.Appl.Physiol.15:520)、氨基酸(Phan The Tran及Bender,1960,Exp.CellRes.20:651)、甲醇、乙酰氨、甘油单乙酸酯(Lovelock,1954,BioChem.J.56:265)及无机盐(Phan The Tran及Bender,1960,Proc.Soc.Exp.Biol.Med.104:388;Phan The Tran及Bender,1961,Radiobiology,Proceedings of the Third Australian Conference on Radiobiology,llbery编,Butterworth,London,第59页)。在特定实施方案中,可使用DMSO。添加血浆(例如,至20-25%的浓度)可强化DMSO的保护作用。在添加DMSO之后,细胞可保持在0℃下直至冷冻,因为1%的DMSO浓度在高于4℃的温度下可具有毒性。

[0344] 在细胞的低温保存中,缓慢的控制的冷却速率可为关键的且不同低温保护剂(Rapatz等人,1968,Cryobiology 5(1):18-25)及不同细胞类型具有不同的最佳冷却速率(关于冷却速度对干细胞的存活率及对于其移植潜能的影响,参见例如Rowe及Rinfret,1962,Blood 20:636;Rowe,1966,Cryo biology3(1):12-18;Lewis等人,1967,Transfusion7(1):17-32;及Mazur,1970,Science168:939-949)。水变成冰的融化阶段的热

量应该极少。冷却程序可通过使用例如可程序化冷冻装置或甲醇浴液程序进行。可程序化冷冻设备允许测定最佳冷却速率且促成标准可再现冷却。

[0345] 在特定实施方案中，经DMSO处理的细胞可于冰上预先冷却且转移至含有经冷藏的甲醇的托盘中，其又置放于机械制冷机(例如，Harris或Revco)中置于-80℃下。甲醇浴液及样品的热电偶测量指示1℃至3℃/分钟的冷却速率可为优选的。在至少两个小时之后，样本可达到-80℃的温度且可直接置放于液氮(-196℃)中。在澈底冷冻之后，细胞可迅速转移至长期低温储存容器中。在一优选实施方案中，样品可低温储存于液氮(-196℃)或蒸气(-1℃)中。高效液氮冰箱的可获得性有助于此类储存。

[0346] 关于操控、低温保存及长期储存细胞的其他考虑因素及程序可见于以下例示性参考文献中：美国专利第4,199,022号、第3,753,357号及第4,559,298号；Gorin,1986,Clinics In Haematology 15(1):19-48Bone-Marrow Conservation,Culture and Transplantation,Proceedings of a Panel,Moscow,1968年7月22-26日,International Atomic Energy Agency,Vienna,第107-186页；Livesey及Linner,1987,Nature 327:255；Linner等人,1986,J.HistoChem.CytoChem.34(9):1123-1135；Simione,1992,J.Parenter.Sci.TeChnol.46(6):226-32。

[0347] 在低温保存之后，可解冻冷冻细胞以根据本领域的技术人员已知的方法使用。冷冻细胞优选快速解冻且在解冻后立刻冷藏。在特定实施方案中，含有冷冻细胞的小瓶可浸入温水浴中直至其颈部；平缓旋转将确保细胞悬浮液随着解冻发生混合且提高自温水至内部冰块的热传递。一旦冰完全融化，即可立刻将小瓶置放于冰上。

[0348] 在特定实施方案中，可在解冻期间使用防止细胞凝集的方法。例示性方法包括：在冷冻之前和/或之后添加脱氧核糖核酸酶(Spitzer等人,1980,Cancer45:3075-3085)、低分子量聚葡萄糖及柠檬酸盐、羟乙基淀粉(Stiff等人,1983,Cryobiology20:17-24)等。如本领域的技术人员所了解，若使用对人类有毒的低温保护剂，则其应该在治疗用途之前移除。DMSO无严重毒性。

[0349] 例示性载剂及细胞施用模式描述于美国专利公开案第2010/0183564号第14-15页。其他医药载剂描述于Remington:The Science and Practice of Pharmacy,第21版,David B.Troy编,Lippicott Williams&Wilkins(2005)中。

[0350] 在特定实施方案中，细胞可自培养基收集，且洗涤并于载剂中浓缩至治疗有效量。例示性载剂包括盐水、缓冲盐水、生理食盐水、水、汉克氏溶液(Hanks'solution)、林格氏溶液(Ringer's solution)、Nonnosol-R(Abbott Labs)、Plasma-LyteA(R)(Baxter Laboratories,Inc.,MortonGrove,IL)、甘油、乙醇及其组合。

[0351] 在特定实施方案中，载剂可补充有人类血清白蛋白(HSA)或其他人类血清组分或胎牛血清。在特定实施方案中，输注载剂包括含5％HAS或右旋糖的缓冲盐水。其他等张剂包括多羟基糖醇，包括三元醇或高级糖醇，例如甘油、赤藻糖醇、阿拉伯糖醇、木糖醇、山梨糖醇或甘露糖醇。

[0352] 载剂可包括缓冲剂，例如柠檬酸盐缓冲剂、丁二酸盐缓冲剂、酒石酸盐缓冲剂、反丁烯二酸盐缓冲剂、葡糖酸盐缓冲剂、草酸盐缓冲剂、乳酸盐缓冲剂、乙酸盐缓冲剂、磷酸盐缓冲剂、组氨酸缓冲剂和/或三甲氨盐。

[0353] 稳定剂是指宽泛的一类赋形剂，其功能范围可介于增积剂至有助于防止细胞粘附

于容器壁上的添加剂之间。典型的稳定剂可包括多羟基糖醇;氨基酸,例如精氨酸、赖氨酸、甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰氨、组氨酸、丙氨酸、鸟氨酸、L-亮氨酸、2-苯丙氨酸、谷氨酸及苏氨酸;有机糖或糖醇,例如乳糖、海藻糖、水苏糖、甘露糖醇、山梨糖醇、木糖醇、核糖醇、肌肉肌醇、半乳糖醇、甘油及环醇,例如肌醇;PEG;氨基酸聚合物;含硫还原剂,例如脲、谷胱甘肽、硫辛酸、硫乙醇酸钠、硫代甘油、α-单硫代甘油及硫代硫酸钠;低分子量多肽(也即,<10个残基);蛋白质,例如HSA、牛血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白;亲水性聚合物,例如聚乙烯吡咯啶酮;单糖,例如木糖、甘露糖、果糖及葡萄糖;双糖,例如乳糖、麦芽糖及蔗糖;三糖,例如棉子糖;及多糖,例如聚葡萄糖。

[0354] 在需要时或在有利时,组合物可包括例如利多卡因(lidocaine)的局部麻醉剂以减轻注射部位的疼痛。

[0355] 例示性防腐剂包括苯酚、苯甲醇、间甲酚、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯、氯化十八烷基二甲基苯甲铵、卤化苯甲烃铵、氯化六羟季铵、对羟基苯甲酸烷基酯(例如对羟基苯甲酸甲酯或丙酯)、儿茶酚、间苯二酚、环己醇及3-戊醇。

[0356] 组合物内的细胞的治疗有效量可为大于10^2个细胞、大于10^3个细胞、大于10^4个细胞、大于10^5个细胞、大于10^6个细胞、大于10^7个细胞、大于10^8个细胞、大于10^9个细胞、大于10^{10}个细胞或大于10^{11}个细胞。

[0357] 在本文所揭示的组合物及配制物中,细胞的体积一般为一公升或更小、500ml或更小、250ml或更小、或100ml或更小。因此,所施用的细胞密度通常为大于10^4个细胞/毫升、10^7个细胞/毫升或10^8个细胞/毫升。

[0358] 本文也提供abTCR核酸组合物(例如药物组合物,在本文中也称作配制物),其包含编码本文所述abTCR的核酸中的任一者。在一些实施方案中,abTCR核酸组合物为药物组合物。在一些实施方案中,abTCR核酸组合物进一步包含以下中的任一者:等张剂、赋形剂、稀释剂、增稠剂、稳定剂、缓冲剂和/或防腐剂;和/或含水媒剂,例如纯化水、糖水溶液、缓冲溶液、生理盐水、聚合物水溶液或不含核糖核酸酶的水。待添加的此类添加剂及含水媒剂的量可根据abTCR核酸组合物的使用形式进行适当地选择。

[0359] 本文所揭示的组合物及配制物可经制备用于通过例如注射、输注、灌注或灌洗施用。组合物及配制物可进一步经调配用于骨髓、静脉内、皮内、动脉内、结节内、淋巴管内、腹膜内、病灶内、前列腺内、阴道内、直肠内、局部、鞘内、瘤内、肌肉内、囊泡内和/或皮下注射。

[0360] 用于体内施用的配制物必须为无菌的。此要求容易通过例如经由无菌过滤膜过滤达成。

[0361] 使用abTCR的治疗方法

[0362] 可向个体(例如哺乳动物,例如人类)施用本发明的abTCR和/或组合物以治疗与靶抗原(TA)表达相关的疾病和/或病症(在本文中也称作“靶抗原阳性”或“TA阳性”疾病或病症),包括例如癌症及传染性疾病(例如病毒感染)。因此在一些实施方案中,本申请提供一种用于治疗个体的靶抗原阳性疾病(例如癌症或病毒感染)的方法,其包含向个体施用有效量的组合物(例如药物组合物),该组合物包含含抗体部分的abTCR,例如本文所述abTCR中的任一者。在一些实施方案中,组合物进一步包含与abTCR相关的细胞(例如效应细胞)。在一些实施方案中,癌症是选自例如由以下:肾上腺皮质癌、膀胱癌、乳腺癌、子宫颈癌、胆管癌、结肠直肠癌、食道癌、神经胶母细胞瘤、神经胶质瘤、肝细胞癌、头颈癌、肾癌、肺癌、黑素

瘤、间皮瘤、多发性骨髓瘤、胰脏癌、嗜铬细胞瘤、浆细胞瘤、神经母细胞瘤、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤、胃癌、子宫癌及甲状腺癌。在一些实施方案中，病毒感染由选自例如以下的病毒引起：巨细胞病毒(CMV)、埃-巴二氏病毒(EBV)、B型肝炎病毒(HBV)、卡波西氏肉瘤相关疱疹病毒(KSHV)、人类乳头状瘤病毒(HPV)、传染性软疣病毒(MCV)、人类T细胞白血病病毒1(HTLV-1)、HIV(人类免疫缺乏病毒)及C型肝炎病毒(HCV)。

[0363] 举例而言，在一些实施方案中，提供一种治疗有需要个体的靶抗原相关疾病(例如癌症或病毒感染)的方法，其包含向个体施用有效量的组合物，该组合物包含于表面上递呈abTCR(例如经分离abTCR)的效应细胞(例如T细胞或自然杀伤细胞)，abTCR包含a)特异性结合至靶抗原的Fab样抗原结合模块，及b)能够招募至少一个TCR相关信号传导模块的TCRM。在一些实施方案中，Fab样抗原结合模块包含V_H抗体域、C_H1抗体域、V_L抗体域及C_L抗体域。在一些实施方案中，Fab样抗原结合模块为人类、人源化、嵌合、半合成或全合成的。在一些实施方案中，TCRM包含TCR的跨膜域，例如αβTCR或γδTCR。在一些实施方案中，TCRM进一步包含TCR的连接肽或其片段。在一些实施方案中，TCRM进一步包含TCR的细胞外域的至少一部分。在一些实施方案中，abTCR进一步包含至少一个细胞内域。在一些实施方案中，至少一个细胞内域包含以下中的任一者：来自TCR的细胞内域的序列、共刺激细胞内信号传导序列、表位标签或其组合。在一些实施方案中，abTCR进一步包含至少一个二硫键。在一些实施方案中，Fab样抗原结合模块包含二硫键和/或TCRM包含二硫键。在一些实施方案中，Fab样抗原结合模块包含在C_H1域中的残基与C_L域中的残基之间的二硫键和/或TCRM包含在第一连接肽中的残基与第二连接肽中的残基之间的二硫键。在一些实施方案中，TCRM能够招募至少一个选自CD3δε、CD3γε及ζζ的TCR相关信号传导模块。在一些实施方案中，TCRM促进abTCR-CD3复合体形成。在一些实施方案中，在Fab样抗原结合模块与TCRM之间存在肽接头。在一些实施方案中，靶抗原为细胞表面抗原。在一些实施方案中，细胞表面抗原选自下组：蛋白质、糖及脂质。在一些实施方案中，细胞表面抗原为疾病相关抗原，例如肿瘤相关或病毒编码抗原。在一些实施方案中，细胞表面抗原为CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D或FCRL5。在一些实施方案中，靶抗原为表面递呈肽/MHC复合体。在一些实施方案中，肽/MHC复合体包含源自疾病相关抗原(例如肿瘤相关或病毒编码抗原)的肽及MHC蛋白质。在一些实施方案中，该方法导致最小程度或基本上无abTCR效应细胞耗尽。在一些实施方案中，该方法导致最小程度或基本上无abTCR效应细胞的最后分化。在一些实施方案中，该方法导致abTCR效应细胞上的abTCR的最小程度或基本上无内化。

[0364] 在一些实施方案中，该方法导致abTCR效应细胞的增殖增加。

[0365] 在一些实施方案中，提供一种治疗有需要个体的靶抗原相关疾病(例如癌症或病毒感染)的方法，其包含向个体施用有效量的组合物，该组合物包含于表面上递呈abTCR(例如经分离abTCR)的效应细胞(例如T细胞或自然杀伤细胞)，abTCR包含a)特异性结合至靶抗原的Fv样抗原结合模块，及b)能够招募至少一个TCR相关信号传导模块的TCRM，其中靶抗原为肽/MHC复合体。在一些实施方案中，Fv样抗原结合模块包含V_H抗体域及V_L抗体域。在一些实施方案中，存在与V_L抗体域的C端融合的第一肽接头和/或与V_H抗体域的C端融合的第二肽接头。在一些实施方案中，第一及第二肽接头能够彼此结合。在一些实施方案中，第一和/或第二肽接头源自免疫球蛋白重链和/或轻链恒定区。在一些实施方案中，第一和/或第二肽接头源自TCR亚单元恒定区。举例而言，在一些实施方案中，第一和/或第二肽接头源自a)

TCRα及β亚单元恒定域;或b)TCRγ及δ亚单元恒定域。在一些实施方案中,第一和/或第二肽接头为合成的。在一些实施方案中,Fv样抗原结合模块为人类、人源化、嵌合、半合成或全合成的。在一些实施方案中,TCRM包含TCR的跨膜域,例如αβTCR或γδTCR。在一些实施方案中,TCRM进一步包含TCR的连接肽或其片段,例如αβTCR或γδTCR。在一些实施方案中,跨膜域及连接肽源自αβTCR或γδTCR。在一些实施方案中,跨膜域源自αβTCR且连接肽源自γδTCR,或者跨膜域源自γδTCR且连接肽源自αβTCR。在一些实施方案中,TCRM进一步包含TCR的细胞外域的至少一部分。在一些实施方案中,TCRM进一步包含至少一个包含TCR的细胞内域的序列的TCR细胞内域。在一些实施方案中,TCRM包含TCR亚单元的片段。在一些实施方案中,abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域,其包含T细胞共刺激信号传导序列(例如来自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)和/或表位标签(例如HA、FLAG或myc)。在一些实施方案中,abTCR进一步包含在第一抗原结合域的氨基端的第一信号肽和/或在第二抗原结合域的氨基端的第二信号肽。在一些实施方案中,abTCR进一步包含至少一个二硫键。在一些实施方案中,第一和/或第二肽接头包含二硫键和/或TCRM包含二硫键。在一些实施方案中,TCRM包含在第一连接肽中的残基与第二连接肽中的残基之间的二硫键。在一些实施方案中,TCRM能够招募至少一个选自CD3δε、CD3γε及ζζ的TCR相关信号传导模块。在一些实施方案中,TCRM促进abTCR-CD3复合体形成。在一些实施方案中,靶抗原肽/MHC复合体包含源自疾病相关抗原(例如肿瘤相关或病毒编码抗原)的肽及MHC蛋白质。在一些实施方案中,肽/MHC复合体包含肽及MHC蛋白质,其中该肽源自选自WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA的蛋白质。在一些实施方案中,MHC蛋白质为MHCI类蛋白质。在一些实施方案中,MHCI类蛋白质为HLA-A。在一些实施方案中,HLA-A为HLA-A02。在一些实施方案中,HLA-A02为HLA-A*02:01。在一些实施方案中,该方法导致最小程度或基本上无abTCR效应细胞耗尽。在一些实施方案中,该方法导致最小程度或基本上无abTCR效应细胞的最后分化。在一些实施方案中,该方法导致abTCR效应细胞上的abTCR的最小程度或基本上无内化。在一些实施方案中,该方法导致abTCR效应细胞的增殖增加。

[0366] 在一些实施方案中,提供一种治疗有需要个体的靶抗原相关疾病(例如癌症或病毒感染)的方法,其包含向个体施用有效量的组合物,该组合物包含于表面上递呈特异性识别靶抗原的abTCR的效应细胞(例如T细胞或自然杀伤细胞),abTCR包含a)第一多肽链,第一多肽链包含第一抗原结合域及第一TCRD,第一抗原结合域包含V_H及C_H1抗体域,第一TCRD包含第一TCR亚单元的跨膜域;及b)第二多肽链,第二多肽链包含第二抗原结合域及第二TCRD,第二抗原结合域包含V_L及C_L抗体域,第二TCRD包含第二TCR亚单元的跨膜域,其中第一抗原结合域的V_H及C_H1域与第二抗原结合域的V_L及C_L域形成特异性结合靶抗原的Fab样抗原结合模块,其中第一TCRD与第二TCRD形成能够招募至少一个TCR相关信号传导模块的TCRM。在一些实施方案中,Fab样抗原结合模块为人类、人源化、嵌合、半合成或全合成的。在一些实施方案中,第一TCR亚单元为TCRα链,且第二TCR亚单元为TCRβ链。在一些实施方案中,第一TCR亚单元为TCRβ链,且第二TCR亚单元为TCRα链。在一些实施方案中,第一TCR亚单元为TCRγ链,且第二TCR亚单元为TCRδ链。在一些实施方案中,第一TCR亚单元为TCRδ链,且第二TCR亚单元为TCRγ链。在一些实施方案中,第一TCRD进一步包含第一TCR亚单元的连接肽或其片段和/或第二TCRD进一步包含第二TCR亚单元的连接肽或其片段。在一些实施方案中,第一TCRD进一步包含第一TCR亚单元的细胞外域的一部分和/或第二TCRD进一步包含第二

TCR亚单元的细胞外域的一部分。在一些实施方案中，第一TCRD进一步包含第一TCR细胞内域和/或第二TCRD进一步包含第二TCR细胞内域。在一些实施方案中，第一TCR细胞内域包含来自第一TCR亚单元的细胞内域的序列和/或第二TCR细胞内域包含来自第二TCR亚单元的细胞内域的序列。在一些实施方案中，abTCR进一步包含在第一抗原结合域的氨基端的第一信号肽和/或在第二抗原结合域的氨基端的第二信号肽。在一些实施方案中，TCRM能够招募至少一个选自CD3δε、CD3γε及ζζ的TCR相关信号传导模块。在一些实施方案中，TCRM促进abTCR-CD3复合体形成。在一些实施方案中，在第一抗原结合域与第一TCRD之间存在第一肽接头和/或在第二抗原结合域与第二TCRD之间存在第二肽接头。在一些实施方案中，第一及第二多肽链例如通过共价键(例如，肽键或其他化学键)或非共价键连接。在一些实施方案中，第一多肽链及第二多肽链经由以下连接：a)在第一TCRD的连接肽中的残基与第二TCRD的连接肽中的残基之间的二硫键；和/或b)在第一抗原结合域中的C_H1抗体域中的残基与第二抗原结合域中的C_L抗体域中的残基之间的二硫键。在一些实施方案中，靶抗原为细胞表面抗原。在一些实施方案中，细胞表面抗原选自下组：蛋白质、糖及脂质。在一些实施方案中，细胞表面抗原为疾病相关抗原，例如肿瘤相关或病毒编码抗原。在一些实施方案中，细胞表面抗原为CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D或FCRL5。在一些实施方案中，靶抗原为表面递呈肽/MHC复合体。在一些实施方案中，肽/MHC复合体包含源自疾病相关抗原(例如肿瘤相关或病毒编码抗原)的肽及MHC蛋白质。在一些实施方案中，肽/MHC复合体包含肽及MHC蛋白质，其中该肽源自选自WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA的蛋白质。

[0367] 在一些实施方案中，提供一种治疗有需要个体的靶抗原相关疾病(例如癌症或病毒感染)的方法，其包含向个体施用有效量的组合物，该组合物包含于表面上递呈特异性识别靶抗原的abTCR的效应细胞(例如T细胞或自然杀伤细胞)，abTCR包含a)第一多肽链，第一多肽链包含第一抗原结合域及第一TCRD，第一抗原结合域包含V_H及C_H1抗体域，第一TCRD包含TCRα链的跨膜域；及b)第二多肽链，第二多肽链包含第二抗原结合域及第二TCRD，第二抗原结合域包含V_L及C_L抗体域，第二TCRD包含TCRβ链的跨膜域，其中第一抗原结合域的V_H及C_H1域与第二抗原结合域的V_L及C_L域形成特异性结合至细胞表面抗原的Fab样抗原结合模块，其中第一TCRD及第二TCRD形成能够招募至少一个TCR相关信号传导模块的TCRM。在一些实施方案中，Fab样抗原结合模块为人类、人源化、嵌合、半合成或全合成的。在一些实施方案中，第一TCRD进一步包含TCRα链的连接肽或其片段和/或第二TCRD进一步包含TCRβ链的连接肽或其片段。在一些实施方案中，第一TCRD进一步包含TCRα链的细胞外域的一部分和/或第二TCRD进一步包含TCRβ链的细胞外域的一部分。在一些实施方案中，第一TCRD进一步包含第一TCR细胞内域和/或第二TCRD进一步包含第二TCR细胞内域。在一些实施方案中，第一TCR细胞内域包含来自TCRα链的细胞内域的序列和/或第二TCR细胞内域包含来自TCRβ链的细胞内域的序列。在一些实施方案中，abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域，其包含T细胞共刺激信号传导序列(例如来自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)和/或表位标签(例如HA、FLAG或myc)。在一些实施方案中，abTCR进一步包含在第一抗原结合域的氨基端的第一信号肽和/或在第二抗原结合域的氨基端的第二信号肽。在一些实施方案中，TCRM能够招募至少一个选自CD3δε、CD3γε及ζζ的TCR相关信号传导模块。在一些实施方案中，TCRM促进abTCR-CD3复合体形成。在一些实施方案中，在第一抗原结合域与第一TCRD之

间存在第一肽接头和/或在第二抗原结合域与第二TCRD之间存在第二肽接头。

[0368] 在一些实施方案中，第一及第二多肽链例如通过共价键(例如，肽键或其他化学键)或非共价键连接。在一些实施方案中，第一多肽链及第二多肽链经由以下连接：a)在第一TCRD的连接肽中的残基与第二TCRD的连接肽中的残基之间的二硫键；和/或b)在第一抗原结合域中的C_H1抗体域中的残基与第二抗原结合域中的C_L抗体域中的残基之间的二硫键。在一些实施方案中，靶抗原为细胞表面抗原。在一些实施方案中，细胞表面抗原选自下组：蛋白质、糖及脂质。在一些实施方案中，细胞表面抗原为疾病相关抗原，例如肿瘤相关或病毒编码抗原。在一些实施方案中，细胞表面抗原为CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D或FCRL5。在一些实施方案中，靶抗原为表面递呈肽/MHC复合体。在一些实施方案中，肽/MHC复合体包含源自疾病相关抗原(例如肿瘤相关或病毒编码抗原)的肽及MHC蛋白质。在一些实施方案中，肽/MHC复合体包含肽及MHC蛋白质，其中该肽源自选自WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA的蛋白质。在一些实施方案中，MHC蛋白质为MHCI类蛋白质。在一些实施方案中，MHCI类蛋白质为HLA-A。在一些实施方案中，HLA-A为HLA-A02。在一些实施方案中，HLA-A02为HLA-A*02:01。在一些实施方案中，效应细胞为γδT细胞。在一些实施方案中，效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRα和/或β链的表达的αβT细胞。在一些实施方案中，效应细胞选自下组：细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞。

[0369] 在一些实施方案中，提供一种治疗有需要个体的靶抗原相关疾病(例如癌症或病毒感染)的方法，其包含向个体施用有效量的组合物，该组合物包含于表面上递呈特异性识别靶抗原的abTCR的效应细胞(例如T细胞或自然杀伤细胞)，abTCR包含a)第一多肽链，第一多肽链包含第一抗原结合域及第一TCRD，第一抗原结合域包含V_H及C_H1抗体域，第一TCRD包含TCRβ链的跨膜域；及b)第二多肽链，第二多肽链包含第二抗原结合域及第二TCRD，第二抗原结合域包含V_L及C_L抗体域，第二TCRD包含TCRα链的跨膜域，其中第一抗原结合域的V_H及C_H1域与第二抗原结合域的V_L及C_L域形成特异性结合至细胞表面抗原的Fab样抗原结合模块，其中第一TCRD与第二TCRD形成能够招募至少一个TCR相关信号传导模块的TCRM。在一些实施方案中，Fab样抗原结合模块为人类、人源化、嵌合、半合成或全合成的。在一些实施方案中，第一TCRD进一步包含TCRβ链的连接肽或其片段和/或第二TCRD进一步包含TCRα链的连接肽或其片段。在一些实施方案中，第一TCRD进一步包含TCRβ链的细胞外域的一部分和/或第二TCRD进一步包含TCRα链的细胞外域的一部分。在一些实施方案中，第一TCRD进一步包含第一TCR细胞内域和/或第二TCRD进一步包含第二TCR细胞内域。在一些实施方案中，第一TCR细胞内域包含来自TCRβ链的细胞内域的序列和/或第二TCR细胞内域包含来自TCRα链的细胞内域的序列。在一些实施方案中，abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域，其包含T细胞共刺激信号传导序列(例如来自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)和/或表位标签(例如HA、FLAG或myc)。在一些实施方案中，abTCR进一步包含在第一抗原结合域的氨基端的第一信号肽和/或在第二抗原结合域的氨基端的第二信号肽。在一些实施方案中，TCRM能够招募至少一个选自CD3δε、CD3γε及ζζ的TCR相关信号传导模块。在一些实施方案中，TCRM促进abTCR-CD3复合体形成。在一些实施方案中，在第一抗原结合域与第一TCRD之间存在第一肽接头和/或在第二抗原结合域与第二TCRD之间存在第二肽接头。

[0370] 在一些实施方案中，第一及第二多肽链例如通过共价键(例如，肽键或其他化学键)或非共价键连接。在一些实施方案中，第一多肽链及第二多肽链经由以下连接：a)在第

一TCRD的连接肽中的残基与第二TCRD的连接肽中的残基之间的二硫键;和/或b)在第一抗原结合域中的C_H1抗体域中的残基与第二抗原结合域中的C_L抗体域中的残基之间的二硫键。在一些实施方案中,靶抗原为细胞表面抗原。在一些实施方案中,细胞表面抗原选自下组:蛋白质、糖及脂质。在一些实施方案中,细胞表面抗原为疾病相关抗原,例如肿瘤相关或病毒编码抗原。在一些实施方案中,细胞表面抗原为CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D或FCRL5。在一些实施方案中,靶抗原为表面递呈肽/MHC复合体。在一些实施方案中,肽/MHC复合体包含源自疾病相关抗原(例如肿瘤相关或病毒编码抗原)的肽及MHC蛋白质。在一些实施方案中,肽/MHC复合体包含肽及MHC蛋白质,其中该肽源自选自WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA的蛋白质。在一些实施方案中,MHC蛋白质为MHCI类蛋白质。在一些实施方案中,MHCI类蛋白质为HLA-A。在一些实施方案中,HLA-A为HLA-A02。在一些实施方案中,HLA-A02为HLA-A*02:01。在一些实施方案中,效应细胞为γδT细胞。在一些实施方案中,效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRα和/或β链的表达的αβT细胞。在一些实施方案中,效应细胞选自下组:细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞。

[0371] 在一些实施方案中,提供一种治疗有需要个体的靶抗原相关疾病(例如癌症或病毒感染)的方法,其包含向个体施用有效量的组合物,该组合物包含于表面上递呈特异性识别靶抗原的abTCR的效应细胞(例如T细胞或自然杀伤细胞),abTCR包含a)第一多肽链,第一多肽链包含第一抗原结合域及第一TCRD,第一抗原结合域包含V_H及C_H1抗体域,第一TCRD包含TCRγ链的跨膜域;及b)第二多肽链,第二多肽链包含第二抗原结合域及第二TCRD,第二抗原结合域包含V_L及C_L抗体域,第二TCRD包含TCRδ链的跨膜域,其中第一抗原结合域的V_H及C_H1域与第二抗原结合域的V_L及C_L域形成特异性结合至细胞表面抗原的Fab样抗原结合模块,其中第一TCRD与第二TCRD形成能够招募至少一个TCR相关信号传导模块的TCRM。在一些实施方案中,Fab样抗原结合模块为人类、人源化、嵌合、半合成或全合成的。在一些实施方案中,第一TCRD进一步包含TCRγ链的连接肽或其片段和/或第二TCRD进一步包含TCRδ链的连接肽或其片段。在一些实施方案中,第一TCRD进一步包含TCRγ链的细胞外域的一部分和/或第二TCRD进一步包含TCRδ链的细胞外域的一部分。在一些实施方案中,第一TCRD进一步包含第一TCR细胞内域和/或第二TCRD进一步包含第二TCR细胞内域。在一些实施方案中,第一TCR细胞内域包含来自TCRγ链的细胞内域的序列和/或第二TCR细胞内域包含来自TCRδ链的细胞内域的序列。在一些实施方案中,abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域,其包含T细胞共刺激信号传导序列(例如来自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)和/或表位标签(例如HA、FLAG或myc)。在一些实施方案中,abTCR进一步包含在第一抗原结合域的氨基端的第一信号肽和/或在第二抗原结合域的氨基端的第二信号肽。在一些实施方案中,TCRM能够招募至少一个选自CD3δε、CD3γε及ζζ的TCR相关信号传导模块。在一些实施方案中,TCRM促进abTCR-CD3复合体形成。在一些实施方案中,在第一抗原结合域与第一TCRD之间存在第一肽接头和/或在第二抗原结合域与第二TCRD之间存在第二肽接头。

[0372] 在一些实施方案中,第一及第二多肽链例如通过共价键(例如,肽键或其他化学键)或非共价键连接。在一些实施方案中,第一多肽链及第二多肽链经由以下连接:a)在第一TCRD的连接肽中的残基与第二TCRD的连接肽中的残基之间的二硫键;和/或b)在第一抗原结合域中的C_H1抗体域中的残基与第二抗原结合域中的C_L抗体域中的残基之间的二硫键。在一些实施方案中,靶抗原为细胞表面抗原。在一些实施方案中,细胞表面抗原选自下组:

蛋白质、糖及脂质。在一些实施方案中，细胞表面抗原为疾病相关抗原，例如肿瘤相关或病毒编码抗原。在一些实施方案中，细胞表面抗原为CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D或FCRL5。在一些实施方案中，靶抗原为表面递呈肽/MHC复合体。在一些实施方案中，肽/MHC复合体包含源自疾病相关抗原(例如肿瘤相关或病毒编码抗原)的肽及MHC蛋白质。在一些实施方案中，肽/MHC复合体包含肽及MHC蛋白质，其中该肽源自选自WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA的蛋白质。在一些实施方案中，MHC蛋白质为MHCI类蛋白质。在一些实施方案中，MHCI类蛋白质为HLA-A。在一些实施方案中，HLA-A为HLA-A02。在一些实施方案中，HLA-A02为HLA-A*02:01。在一些实施方案中，效应细胞为αβT细胞。在一些实施方案中，效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRγ和/或δ链的表达的γδT细胞。在一些实施方案中，效应细胞选自下组：细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞。

[0373] 在一些实施方案中，提供一种治疗有需要个体的靶抗原相关疾病(例如癌症或病毒感染)的方法，其包含向个体施用有效量的组合物，该组合物包含于表面上递呈特异性识别靶抗原的abTCR的效应细胞(例如T细胞或自然杀伤细胞)，abTCR包含a)第一多肽链，第一多肽链包含第一抗原结合域及第一TCRD，第一抗原结合域包含V_H及C_H1抗体域，第一TCRD包含TCRδ链的跨膜域；及b)第二多肽链，第二多肽链包含第二抗原结合域及第二TCRD，第二抗原结合域包含V_L及C_L抗体域，第二TCRD包含TCRγ链的跨膜域，其中第一抗原结合域的V_H及C_H1域与第二抗原结合域的V_L及C_L域形成特异性结合至细胞表面抗原的Fab样抗原结合模块，其中第一TCRD与第二TCRD形成能够招募至少一个TCR相关信号传导模块的TCRM。在一些实施方案中，Fab样抗原结合模块为人类、人源化、嵌合、半合成或全合成的。在一些实施方案中，第一TCRD进一步包含TCRδ链的连接肽或其片段和/或第二TCRD进一步包含TCRγ链的连接肽或其片段。在一些实施方案中，第一TCRD进一步包含TCRδ链的细胞外域的一部分和/或第二TCRD进一步包含TCRγ链的细胞外域的一部分。在一些实施方案中，第一TCRD进一步包含第一TCR细胞内域和/或第二TCRD进一步包含第二TCR细胞内域。在一些实施方案中，第一TCR细胞内域包含来自TCRδ链的细胞内域的序列和/或第二TCR细胞内域包含来自TCRγ链的细胞内域的序列。在一些实施方案中，abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域，其包含T细胞共刺激信号传导序列(例如来自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)和/或表位标签(例如HA、FLAG或myc)。在一些实施方案中，abTCR进一步包含在第一抗原结合域的氨基端的第一信号肽和/或在第二抗原结合域的氨基端的第二信号肽。在一些实施方案中，TCRM能够招募至少一个选自CD3δε、CD3γε及ζζ的TCR相关信号传导模块。在一些实施方案中，TCRM促进abTCR-CD3复合体形成。在一些实施方案中，在第一抗原结合域与第一TCRD之间存在第一肽接头和/或在第二抗原结合域与第二TCRD之间存在第二肽接头。

[0374] 在一些实施方案中，第一及第二多肽链例如通过共价键(例如，肽键或其他化学键)或非共价键连接。在一些实施方案中，第一多肽链及第二多肽链经由以下连接：a)在第一TCRD的连接肽中的残基与第二TCRD的连接肽中的残基之间的二硫键；和/或b)在第一抗原结合域中的C_H1抗体域中的残基与第二抗原结合域中的C_L抗体域中的残基之间的二硫键。在一些实施方案中，靶抗原为细胞表面抗原。在一些实施方案中，细胞表面抗原选自下组：蛋白质、糖及脂质。在一些实施方案中，细胞表面抗原为疾病相关抗原，例如肿瘤相关或病毒编码抗原。在一些实施方案中，细胞表面抗原为CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D或FCRL5。在一些实施方案中，靶抗原为表面递呈肽/MHC复合体。在一些实施方案中，肽/MHC复合体包

含源自疾病相关抗原(例如肿瘤相关或病毒编码抗原)的肽及MHC蛋白质。在一些实施方案中,肽/MHC复合体包含肽及MHC蛋白质,其中该肽源自选自WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA的蛋白质。在一些实施方案中,MHC蛋白质为MHCI类蛋白质。在一些实施方案中,MHCI类蛋白质为HLA-A。在一些实施方案中,HLA-A为HLA-A02。在一些实施方案中,HLA-A02为HLA-A*02:01。在一些实施方案中,效应细胞为αβT细胞。在一些实施方案中,效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRγ和/或δ链的表达的γδT细胞。在一些实施方案中,效应细胞选自下组:细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞。在一些实施方案中,提供一种治疗有需要个体的靶抗原相关疾病(例如癌症或病毒感染)的方法,其包含向个体施用有效量的组合物,该组合物包含于表面上递呈特异性识别靶抗原的abTCR的效应细胞(例如T细胞或自然杀伤细胞),abTCR包含a)第一多肽链,其自氨基端至羧基端依次包含第一抗原结合域及包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的第一TCRD;及b)第二多肽链,其自氨基端至羧基端依次包含第二抗原结合域及包含SEQ ID NO:16的氨基酸序列的第二TCRD,其中第一抗原结合域与第二抗原结合域形成特异性结合靶抗原的Fab样抗原结合模块,其中第一TCRD与第二TCRD形成能够招募至少一个TCR相关信号传导模块的TCRM。在一些实施方案中,Fab样抗原结合模块为人类、人源化、嵌合、半合成或全合成的。在一些实施方案中,abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域,其包含a)至少一个包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:70或71的氨基酸序列的T细胞共刺激信号传导序列;和/或b)包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:50-52中的任一者的氨基酸序列的表位标签。在一些实施方案中,abTCR进一步包含在第一抗原结合域的氨基端的第一信号肽和/或在第二抗原结合域的氨基端的第二信号肽,其中第一和/或第二信号肽包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列。在一些实施方案中,TCRM能够招募至少一个选自CD3δε、CD3γε及ζζ的TCR相关信号传导模块。在一些实施方案中,TCRM促进abTCR-CD3复合体形成。在一些实施方案中,第一多肽链及第二多肽链经由以下连接:a)在第一TCRD的连接肽中的残基与第二TCRD的连接肽中的残基之间的二硫键;和/或b)在Fab样抗原结合模块中的C_H1及C_L抗体域中的残基之间的二硫键。在一些实施方案中,靶抗原为细胞表面抗原。在一些实施方案中,细胞表面抗原选自下组:蛋白质、糖及脂质。在一些实施方案中,细胞表面抗原为疾病相关抗原,例如肿瘤相关或病毒编码抗原。在一些实施方案中,细胞表面抗原为CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D或FCRL5。在一些实施方案中,靶抗原为表面递呈肽/MHC复合体。在一些实施方案中,肽/MHC复合体包含源自疾病相关抗原(例如肿瘤相关或病毒编码抗原)的肽及MHC蛋白质。在一些实施方案中,肽/MHC复合体包含肽及MHC蛋白质,其中该肽源自选自WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA的蛋白质。在一些实施方案中,MHC蛋白质为MHCI类蛋白质。在一些实施方案中,MHCI类蛋白质为HLA-A。在一些实施方案中,HLA-A为HLA-A02。在一些实施方案中,HLA-A02为HLA-A*02:01。在一些实施方案中,效应细胞为γδT细胞。在一些实施方案中,效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRα和/或β链的表达的αβT细胞。在一些实施方案中,效应细胞选自下组:细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞。

[0375] 在一些实施方案中,提供一种治疗有需要个体的靶抗原相关疾病(例如癌症或病毒感染)的方法,其包含向个体施用有效量的组合物,该组合物包含于表面上递呈特异性识别靶抗原的abTCR的效应细胞(例如T细胞或自然杀伤细胞),abTCR包含a)第一多肽链,其自氨基端至羧基端依次包含第一抗原结合域及包含SEQ ID NO:17的氨基酸序列的第一TCRD;

及b)第二多肽链,其自氨基端至羧基端依次包含第二抗原结合域及包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列的第二TCRD,其中第一抗原结合域与第二抗原结合域形成特异性结合靶抗原的Fab样抗原结合模块,其中第一TCRD与第二TCRD形成能够招募至少一个TCR相关信号传导模块的TCRM。在一些实施方案中,Fab样抗原结合模块为人类、人源化、嵌合、半合成或全合成的。在一些实施方案中,abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域,其包含a)至少一个包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:70或71的氨基酸序列的T细胞共刺激信号传导序列;和/或b)包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:50-52中的任一者的氨基酸序列的表位标签。在一些实施方案中,abTCR进一步包含在第一抗原结合域的氨基端的第一信号肽和/或在第二抗原结合域的氨基端的第二信号肽,其中第一和/或第二信号肽包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列。在一些实施方案中,TCRM能够招募至少一个选自CD3δε、CD3γε及ζζ的TCR相关信号传导模块。在一些实施方案中,TCRM促进abTCR-CD3复合体形成。在一些实施方案中,第一多肽链及第二多肽链经由以下连接:a)在第一TCRD的连接肽中的残基与第二TCRD的连接肽中的残基之间的二硫键;和/或b)在Fab样抗原结合模块中的C_H1及C_L抗体域中的残基之间的二硫键。在一些实施方案中,靶抗原为细胞表面抗原。在一些实施方案中,细胞表面抗原选自下组:蛋白质、糖及脂质。在一些实施方案中,细胞表面抗原为疾病相关抗原,例如肿瘤相关或病毒编码抗原。在一些实施方案中,细胞表面抗原为CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D或FCRL5。在一些实施方案中,靶抗原为表面递呈肽/MHC复合体。在一些实施方案中,肽/MHC复合体包含源自疾病相关抗原(例如肿瘤相关或病毒编码抗原)的肽及MHC蛋白质。在一些实施方案中,肽/MHC复合体包含肽及MHC蛋白质,其中该肽源自选自WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA的蛋白质。在一些实施方案中,MHC蛋白质为MHCI类蛋白质。在一些实施方案中,MHCI类蛋白质为HLA-A。在一些实施方案中,HLA-A为HLA-A02。在一些实施方案中,HLA-A02为HLA-A*02:01。在一些实施方案中,效应细胞为γδT细胞。在一些实施方案中,效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRα和/或β链的表达的αβT细胞。在一些实施方案中,效应细胞选自下组:细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞。

[0376] 在一些实施方案中,提供一种治疗有需要个体的靶抗原相关疾病(例如癌症或病毒感染)的方法,其包含向个体施用有效量的组合物,该组合物包含于表面上递呈特异性识别靶抗原的abTCR的效应细胞(例如T细胞或自然杀伤细胞),abTCR包含a)第一多肽链,其自氨基端至羧基端依次包含第一抗原结合域及包含SEQ ID NO:19的氨基酸序列的第一TCRD;及b)第二多肽链,其自氨基端至羧基端依次包含第二抗原结合域及包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的第二TCRD,其中第一抗原结合域与第二抗原结合域形成特异性结合靶抗原的Fab样抗原结合模块,其中第一TCRD与第二TCRD形成能够招募至少一个TCR相关信号传导模块的TCRM。在一些实施方案中,Fab样抗原结合模块为人类、人源化、嵌合、半合成或全合成的。在一些实施方案中,abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域,其包含a)至少一个包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:70或71的氨基酸序列的T细胞共刺激信号传导序列;和/或b)包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:50-52中的任一者的氨基酸序列的表位标签。在一些实施方案中,abTCR进一步包含在第一抗原结合域的氨基端的第一信号肽和/或在第二抗原结合域的氨基端的第二信号肽,其中第一和/或第二信号肽包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列。在一些实施方案中,TCRM能够招募至少一个选自CD3δε、CD3γε及ζζ的TCR相关信号传导模块。在一些实施方案中,TCRM促进abTCR-CD3复合体形成。在一些实施方案中,第一多肽链及

第二多肽链经由以下连接:a)在第一TCRD的连接肽中的残基与第二TCRD的连接肽中的残基之间的二硫键;和/或b)在Fab样抗原结合模块中的C_H1及C_L抗体域中的残基之间的二硫键。在一些实施方案中,靶抗原为细胞表面抗原。在一些实施方案中,细胞表面抗原选自下组:蛋白质、糖及脂质。在一些实施方案中,细胞表面抗原为疾病相关抗原,例如肿瘤相关或病毒编码抗原。在一些实施方案中,细胞表面抗原为CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D或FCRL5。在一些实施方案中,靶抗原为表面递呈肽/MHC复合体。在一些实施方案中,肽/MHC复合体包含源自疾病相关抗原(例如肿瘤相关或病毒编码抗原)的肽及MHC蛋白质。在一些实施方案中,肽/MHC复合体包含肽及MHC蛋白质,其中该肽源自选自WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA的蛋白质。在一些实施方案中,MHC蛋白质为MHCI类蛋白质。在一些实施方案中,MHCI类蛋白质为HLA-A。在一些实施方案中,HLA-A为HLA-A02。在一些实施方案中,HLA-A02为HLA-A*02:01。在一些实施方案中,效应细胞为αβT细胞。在一些实施方案中,效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRγ和/或δ链的表达的γδT细胞。在一些实施方案中,效应细胞选自下组:细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞。

[0377] 在一些实施方案中,提供一种治疗有需要个体的靶抗原相关疾病(例如癌症或病毒感染)的方法,其包含向个体施用有效量的组合物,该组合物包含于表面上递呈特异性识别靶抗原的abTCR的效应细胞(例如T细胞或自然杀伤细胞),abTCR包含a)第一多肽链,其自氨基端至羧基端依次包含第一抗原结合域及包含SEQ ID NO:21的氨基酸序列的第一TCRD;及b)第二多肽链,其自氨基端至羧基端依次包含第二抗原结合域及包含SEQ ID NO:22的氨基酸序列的第二TCRD,其中第一抗原结合域与第二抗原结合域形成特异性结合靶抗原的Fab样抗原结合模块,其中第一TCRD与第二TCRD形成能够招募至少一个TCR相关信号传导模块的TCRM。在一些实施方案中,Fab样抗原结合模块为人类、人源化、嵌合、半合成或全合成的。在一些实施方案中,abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域,其包含a)至少一个包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:70或71的氨基酸序列的T细胞共刺激信号传导序列;和/或b)包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:50-52中的任一者的氨基酸序列的表位标签。在一些实施方案中,abTCR进一步包含在第一抗原结合域的氨基端的第一信号肽和/或在第二抗原结合域的氨基端的第二信号肽,其中第一和/或第二信号肽包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列。在一些实施方案中,TCRM能够招募至少一个选自CD3δε、CD3γε及ζζ的TCR相关信号传导模块。在一些实施方案中,TCRM促进abTCR-CD3复合体形成。在一些实施方案中,第一多肽链及第二多肽链经由以下连接:a)在第一TCRD的连接肽中的残基与第二TCRD的连接肽中的残基之间的二硫键;和/或b)在Fab样抗原结合模块中的C_H1及C_L抗体域中的残基之间的二硫键。在一些实施方案中,靶抗原为细胞表面抗原。在一些实施方案中,细胞表面抗原选自下组:蛋白质、糖及脂质。在一些实施方案中,细胞表面抗原为疾病相关抗原,例如肿瘤相关或病毒编码抗原。在一些实施方案中,细胞表面抗原为CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D或FCRL5。在一些实施方案中,靶抗原为表面递呈肽/MHC复合体。在一些实施方案中,肽/MHC复合体包含源自疾病相关抗原(例如肿瘤相关或病毒编码抗原)的肽及MHC蛋白质。在一些实施方案中,肽/MHC复合体包含肽及MHC蛋白质,其中该肽源自选自WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA的蛋白质。在一些实施方案中,MHC蛋白质为MHCI类蛋白质。在一些实施方案中,MHCI类蛋白质为HLA-A。在一些实施方案中,HLA-A为HLA-A02。在一些实施方案中,HLA-A02为HLA-A*02:01。在一些实施方案中,效应细胞为αβT细胞。在一些实施方

案中，效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRγ和/或δ链的表达的γδT细胞。在一些实施方案中，效应细胞选自下组：细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞。在一些实施方案中，提供一种治疗有需要个体的AFP相关疾病的方法，其包含向个体施用有效量的组合物，该组合物包含于表面上递呈abTCR的效应细胞(例如T细胞或自然杀伤细胞)，abTCR包含a)第一多肽链，第一多肽链包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO:23的氨基酸序列；及b)第二多肽链，第二多肽链包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO:24的氨基酸序列，其中第一多肽链及第二多肽链经由一或多个二硫键连接。在一些实施方案中，abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域，其包含T细胞共刺激信号传导序列(例如来自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)和/或表位标签(例如HA、FLAG或myc)。在一些实施方案中，表位标签包含SEQ ID NO:50-52的氨基酸序列中的任一者。在一些实施方案中，第一多肽链进一步包含在第一abTCR域的氨基端的第一信号肽和/或第二多肽链进一步包含在第二abTCR域的氨基端的第二信号肽。在一些实施方案中，第一和/或第二信号肽包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:49的氨基酸序列。在一些实施方案中，效应细胞为γδT细胞。在一些实施方案中，效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRα和/或β链的表达的αβT细胞。在一些实施方案中，效应细胞选自下组：细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞。

[0378] 在一些实施方案中，提供一种治疗有需要个体的AFP相关疾病的方法，其包含向个体施用有效量的组合物，该组合物包含于表面上递呈abTCR的效应细胞(例如T细胞或自然杀伤细胞)，abTCR包含a)第一多肽链，第一多肽链包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO:25的氨基酸序列；及b)第二多肽链，第二多肽链包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列，其中第一多肽链及第二多肽链经由一或多个二硫键连接。在一些实施方案中，abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域，其包含T细胞共刺激信号传导序列(例如来自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)和/或表位标签(例如HA、FLAG或myc)。在一些实施方案中，表位标签包含SEQ ID NO:50-52的氨基酸序列中的任一者。在一些实施方案中，第一多肽链进一步包含在第一abTCR域的氨基端的第一信号肽和/或第二多肽链进一步包含在第二abTCR域的氨基端的第二信号肽。在一些实施方案中，第一和/或第二信号肽包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:49的氨基酸序列。在一些实施方案中，效应细胞为γδT细胞。在一些实施方案中，效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRα和/或β链的表达的αβT细胞。在一些实施方案中，效应细胞选自下组：细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞。在一些实施方案中，提供一种治疗有需要个体的AFP相关疾病的方法，其包含向个体施用有效量的组合物，该组合物包含于表面上递呈abTCR的效应细胞(例如T细胞或自然杀伤细胞)，abTCR包含a)第一多肽链，第一多肽链包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO:27的氨基酸序列；及b)第二多肽链，第二多肽链包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO:28的氨基酸序列，其中第一多肽链及第二多肽链经由一或多个二硫键连接。在一些实施方案中，abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域，其包含T细胞共刺激信号传导序列(例如来自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)和/或表位标签(例如HA、FLAG或myc)。在一些实施方案中，表位标签包含SEQ ID NO:50-52的氨基酸序列中的任一者。在一些实施方案中，第一多肽链进一步包含在第一abTCR域的氨基端的第一信号肽和/或第二多肽链进一步包含在第二abTCR域的氨基端的第二信号肽。在一些实施方案

中，第一和/或第二信号肽包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:49的氨基酸序列。在一些实施方案中，效应细胞为γδT细胞。在一些实施方案中，效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRα和/或β链的表达的αβT细胞。在一些实施方案中，效应细胞选自下组：细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞。

[0379] 在一些实施方案中，提供一种治疗有需要个体的AFP相关疾病的方法，其包含向个体施用有效量的组合物，该组合物包含于表面上递呈abTCR的效应细胞(例如T细胞或自然杀伤细胞)，abTCR包含a)第一多肽链，第一多肽链包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO:29的氨基酸序列；及b)第二多肽链，第二多肽链包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO:30的氨基酸序列，其中第一多肽链及第二多肽链经由一或多个二硫键连接。在一些实施方案中，abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域，其包含T细胞共刺激信号传导序列(例如来自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)和/或表位标签(例如HA、FLAG或myc)。在一些实施方案中，表位标签包含SEQ ID NO:50-52的氨基酸序列中的任一者。在一些实施方案中，第一多肽链进一步包含在第一abTCR域的氨基端的第一信号肽和/或第二多肽链进一步包含在第二abTCR域的氨基端的第二信号肽。在一些实施方案中，第一和/或第二信号肽包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:49的氨基酸序列。在一些实施方案中，效应细胞为αβT细胞。在一些实施方案中，效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRγ和/或δ链的表达的γδT细胞。在一些实施方案中，效应细胞选自下组：细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞。

[0380] 在一些实施方案中，提供一种治疗有需要个体的AFP相关疾病的方法，其包含向个体施用有效量的组合物，该组合物包含于表面上递呈abTCR的效应细胞(例如T细胞或自然杀伤细胞)，abTCR包含a)第一多肽链，第一多肽链包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO:31的氨基酸序列；及b)第二多肽链，第二多肽链包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO:32的氨基酸序列，其中第一多肽链及第二多肽链经由一或多个二硫键连接。在一些实施方案中，abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域，其包含T细胞共刺激信号传导序列(例如来自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)和/或表位标签(例如HA、FLAG或myc)。在一些实施方案中，表位标签包含SEQ ID NO:50-52的氨基酸序列中的任一者。在一些实施方案中，第一多肽链进一步包含在第一abTCR域的氨基端的第一信号肽和/或第二多肽链进一步包含在第二abTCR域的氨基端的第二信号肽。在一些实施方案中，第一和/或第二信号肽包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:49的氨基酸序列。在一些实施方案中，效应细胞为αβT细胞。在一些实施方案中，效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRγ和/或δ链的表达的γδT细胞。在一些实施方案中，效应细胞选自下组：细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞。

[0381] 在一些实施方案中，提供一种治疗有需要个体的AFP相关疾病的方法，其包含向个体施用有效量的组合物，该组合物包含于表面上递呈abTCR的效应细胞(例如T细胞或自然杀伤细胞)，abTCR包含a)第一多肽链，第一多肽链包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO:33的氨基酸序列；及b)第二多肽链，第二多肽链包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO:34的氨基酸序列，其中第一多肽链及第二多肽链经由一或多个二硫键连接。在一些实施方案中，abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域，其包含T细胞共刺激信号传导序列(例如来自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)和/或表位标签(例如HA、FLAG

或myc)。在一些实施方案中,表位标签包含SEQ ID NO:50-52的氨基酸序列中的任一者。在一些实施方案中,第一多肽链进一步包含在第一abTCR域的氨基端的第一信号肽和/或第二多肽链进一步包含在第二abTCR域的氨基端的第二信号肽。在一些实施方案中,第一和/或第二信号肽包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:49的氨基酸序列。在一些实施方案中,效应细胞为αβT细胞。在一些实施方案中,效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRγ和/或δ链的表达的γδT细胞。在一些实施方案中,效应细胞选自下组:细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞。

[0382] 在一些实施方案中,提供一种治疗有需要个体的AFP相关疾病的方法,其包含向个体施用有效量的组合物,该组合物包含于表面上递呈abTCR的效应细胞(例如T细胞或自然杀伤细胞),abTCR包含a)第一多肽链,第一多肽链包含第一abTCR域,第一abTCR域包含SEQ ID NO:35的氨基酸序列;及b)第二多肽链,第二多肽链包含第二abTCR域,第二abTCR域包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列,其中第一多肽链及第二多肽链经由一或多个二硫键连接。在一些实施方案中,abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域,其包含T细胞共刺激信号传导序列(例如来自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)和/或表位标签(例如HA、FLAG或myc)。在一些实施方案中,表位标签包含SEQ ID NO:50-52的氨基酸序列中的任一者。在一些实施方案中,第一多肽链进一步包含在第一abTCR域的氨基端的第一信号肽和/或第二多肽链进一步包含在第二abTCR域的氨基端的第二信号肽。在一些实施方案中,第一和/或第二信号肽包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:49的氨基酸序列。在一些实施方案中,效应细胞为αβT细胞。在一些实施方案中,效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRγ和/或δ链的表达的γδT细胞。在一些实施方案中,效应细胞选自下组:细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞。

[0383] 在一些实施方案中,提供一种治疗有需要个体的CD19相关疾病的方法,其包含向个体施用有效量的组合物,该组合物包含于表面上递呈abTCR的效应细胞(例如T细胞或自然杀伤细胞),abTCR包含a)第一多肽链,第一多肽链包含第一abTCR域,第一abTCR域包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列;及b)第二多肽链,第二多肽链包含第二abTCR域,第二abTCR域包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列,其中第一多肽链及第二多肽链经由一或多个二硫键连接。在一些实施方案中,abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域,其包含T细胞共刺激信号传导序列(例如来自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)和/或表位标签(例如HA、FLAG或myc)。在一些实施方案中,表位标签包含SEQ ID NO:50-52的氨基酸序列中的任一者。在一些实施方案中,第一多肽链进一步包含在第一abTCR域的氨基端的第一信号肽和/或第二多肽链进一步包含在第二abTCR域的氨基端的第二信号肽。在一些实施方案中,第一和/或第二信号肽包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:49的氨基酸序列。在一些实施方案中,效应细胞为αβT细胞。在一些实施方案中,效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRγ和/或δ链的表达的γδT细胞。在一些实施方案中,效应细胞选自下组:细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞。

[0384] 在一些实施方案中,提供一种治疗有需要个体的CD19相关疾病的方法,其包含向个体施用有效量的组合物,该组合物包含于表面上递呈abTCR的效应细胞(例如T细胞或自然杀伤细胞),abTCR包含a)第一多肽链,第一多肽链包含第一abTCR域,第一abTCR域包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列;及b)第二多肽链,第二多肽链包含第二abTCR域,第二abTCR域

包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列，其中第一多肽链及第二多肽链经由一或多个二硫键连接。在一些实施方案中，abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域，其包含T细胞共刺激信号传导序列(例如来自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)和/或表位标签(例如HA、FLAG或myc)。在一些实施方案中，表位标签包含SEQ ID NO:50-52的氨基酸序列中的任一者。在一些实施方案中，第一多肽链进一步包含在第一abTCR域的氨基端的第一信号肽和/或第二多肽链进一步包含在第二abTCR域的氨基端的第二信号肽。在一些实施方案中，第一和/或第二信号肽包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:49的氨基酸序列。在一些实施方案中，效应细胞为αβT细胞。在一些实施方案中，效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRγ和/或δ链的表达的γδT细胞。在一些实施方案中，效应细胞选自下组：细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞。

[0385] 在一些实施方案中，提供一种治疗有需要个体的CD19相关疾病的方法，其包含向个体施用有效量的组合物，该组合物包含于表面上递呈abTCR的效应细胞(例如T细胞或自然杀伤细胞)，abTCR包含a)第一多肽链，第一多肽链包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列；及b)第二多肽链，第二多肽链包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列，其中第一多肽链及第二多肽链经由一或多个二硫键连接。在一些实施方案中，abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域，其包含T细胞共刺激信号传导序列(例如来自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)和/或表位标签(例如HA、FLAG或myc)。在一些实施方案中，表位标签包含SEQ ID NO:50-52的氨基酸序列中的任一者。在一些实施方案中，第一多肽链进一步包含在第一abTCR域的氨基端的第一信号肽和/或第二多肽链进一步包含在第二abTCR域的氨基端的第二信号肽。在一些实施方案中，第一和/或第二信号肽包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:49的氨基酸序列。在一些实施方案中，效应细胞为αβT细胞。在一些实施方案中，效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRγ和/或δ链的表达的γδT细胞。在一些实施方案中，效应细胞选自下组：细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞。

[0386] 在一些实施方案中，提供一种治疗有需要个体的CD19相关疾病的方法，其包含向个体施用有效量的组合物，该组合物包含于表面上递呈abTCR的效应细胞(例如T细胞或自然杀伤细胞)，abTCR包含a)第一多肽链，第一多肽链包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列；及b)第二多肽链，第二多肽链包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列，其中第一多肽链及第二多肽链经由一或多个二硫键连接。在一些实施方案中，abTCR进一步包含至少一个附属细胞内域，其包含T细胞共刺激信号传导序列(例如来自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)和/或表位标签(例如HA、FLAG或myc)。在一些实施方案中，表位标签包含SEQ ID NO:50-52的氨基酸序列中的任一者。在一些实施方案中，第一多肽链进一步包含在第一abTCR域的氨基端的第一信号肽和/或第二多肽链进一步包含在第二abTCR域的氨基端的第二信号肽。在一些实施方案中，第一和/或第二信号肽包含(例如由以下组成)SEQ ID NO:49的氨基酸序列。在一些实施方案中，效应细胞为αβT细胞。在一些实施方案中，效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRγ和/或δ链的表达的γδT细胞。在一些实施方案中，效应细胞选自下组：细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞。

[0387] 也涵盖治疗有需要个体的靶抗原相关疾病的方法，其包含向个体施用一种组合

物，该组合物包含多个表达不同abTCR的效应细胞。因此，在一些实施方案中，根据本文所述的治疗个体的靶抗原相关疾病的方法中的任一者，组合物为如本文所述的异质性abTCR效应细胞组合物。

[0388] 举例而言，在一些实施方案中，提供一种治疗有需要个体的靶抗原相关疾病(例如癌症或病毒感染)的方法，其包含向个体施用有效量的异质性abTCR效应细胞组合物，该组合物包含多个根据本文所述实施方案中的任一者的abTCR效应细胞群体，其中组合物中的所有abTCR效应细胞都具有相同细胞类型(例如，所有abTCR效应细胞都为细胞毒性T细胞)，其中各abTCR效应细胞群体表达不同于其他abTCR效应细胞群体的abTCR，且其中至少一个abTCR效应细胞群体表达特异性结合至靶抗原的abTCR。在一些实施方案中，abTCR效应细胞为T细胞。在一些实施方案中，abTCR效应细胞选自下组：细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞。在一些实施方案中，各abTCR效应细胞群体表达特异性结合至靶抗原的abTCR。在一些实施方案中，至少一个abTCR效应细胞群体表达特异性结合至不同靶抗原的abTCR。在一些实施方案中，其中至少一个abTCR效应细胞群体表达特异性结合至不同靶抗原的abTCR，不同靶抗原中的每一者与靶抗原相关疾病相关。

[0389] 在一些实施方案中，提供一种治疗有需要个体的靶抗原相关疾病(例如癌症或病毒感染)的方法，其包含向个体施用有效量的异质性abTCR效应细胞组合物，该组合物包含多个根据本文所述实施方案中的任一者的abTCR效应细胞群体，其中至少一个abTCR效应细胞群体具有不同于其他abTCR效应细胞群体的细胞类型，且其中至少一个abTCR效应细胞群体表达特异性结合至靶抗原的abTCR。在一些实施方案中，所有abTCR效应细胞群体全具有不同细胞类型。在一些实施方案中，abTCR效应细胞为T细胞。在一些实施方案中，各abTCR效应细胞群体具有选自细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞的细胞类型。在一些实施方案中，各abTCR效应细胞群体表达相同abTCR。在一些实施方案中，至少一个abTCR效应细胞群体表达不同于其他abTCR效应细胞群体的abTCR。在一些实施方案中，各abTCR效应细胞群体表达不同于其他abTCR效应细胞群体的abTCR。在一些实施方案中，各abTCR效应细胞群体表达特异性结合至靶抗原的abTCR。在一些实施方案中，至少一个abTCR效应细胞群体表达特异性结合至不同靶抗原的abTCR。在一些实施方案中，其中至少一个abTCR效应细胞群体表达特异性结合至不同靶抗原的abTCR，不同靶抗原中的每一者与靶抗原相关疾病相关。

[0390] 在一些实施方案中，提供一种治疗有需要个体的与多个靶抗原相关的疾病的方法，其包含向个体施用有效量的异质性abTCR效应细胞组合物，该组合物包含多个根据本文所述实施方案中的任一者的abTCR效应细胞群体，其中组合物中的所有abTCR效应细胞都具有相同细胞类型(例如，所有abTCR效应细胞都为细胞毒性T细胞)，其中各abTCR效应细胞群体表达不同于其他abTCR效应细胞群体的abTCR，且其中对于多个靶抗原的各靶抗原而言，至少一个abTCR效应细胞群体表达特异性结合至靶抗原的abTCR。在一些实施方案中，abTCR效应细胞为T细胞。在一些实施方案中，abTCR效应细胞选自下组：细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞。

[0391] 在一些实施方案中，提供一种治疗有需要个体的与多个靶抗原相关的疾病的方法，其包含向个体施用有效量的异质性abTCR效应细胞组合物，该组合物包含多个根据本文所述实施方案中的任一者的abTCR效应细胞群体，其中至少一个abTCR效应细胞群体具有不

同于其他abTCR效应细胞群体的细胞类型，且其中对于多个靶抗原的各靶抗原而言，至少一个abTCR效应细胞群体表达特异性结合至靶抗原的abTCR。在一些实施方案中，所有abTCR效应细胞群体全具有不同细胞类型。在一些实施方案中，abTCR效应细胞为T细胞。在一些实施方案中，各abTCR效应细胞群体具有选自细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞的细胞类型。在一些实施方案中，各abTCR效应细胞群体表达不同于其他abTCR效应细胞群体的abTCR。

[0392] 在一些实施方案中，个体为哺乳动物(例如人类、非人类灵长类动物、大鼠、小鼠、母牛、马、猪、绵羊、山羊、狗、猫等)。在一些实施方案中，个体为人类。在一些实施方案中，个体为临床患者、临床试验志愿者、实验动物等。在一些实施方案中，个体年龄小于约60岁(包括例如年龄小于约50、40、30、25、20、15或10岁中的任一者)。。在一些实施方案中，个体年龄大于约60岁(包括例如年龄大于约70、80、90或100岁中的任一者)。在一些实施方案中，个体诊断患有或环境上或基因上易患本文所述的疾病或病症中的一或多者(例如癌症或病毒感染)。在一些实施方案中，个体具有与一或多种本文所述的疾病或病症相关的一或多种风险因素。

[0393] 在一些实施方案中，本发明的abTCR效应细胞组合物与第二、第三或第四药剂(包括例如抗赘生剂、生长抑制剂、细胞毒性剂或化学治疗剂)组合施用来治疗涉及靶抗原表达的疾病或病症。在一些实施方案中，abTCR效应细胞组合物与细胞因子(例如IL-2)组合施用。在一些实施方案中，abTCR与增加MHC蛋白质表达和/或增强MHC蛋白质对肽的表面递呈的药剂组合施用。在一些实施方案中，药剂包括例如IFN受体激动剂、Hsp90抑制剂、p53表达增强剂及化学治疗剂。在一些实施方案中，药剂为IFN受体激动剂，包括例如IFNγ、IFNβ及IFNα。在一些实施方案中，药剂为Hsp90抑制剂，包括例如坦螺旋霉素(tanespimycin;17-AAG)、阿螺旋霉素(alvespimycin;17-DMAG)、瑞他霉素(retaspimycin;IPI-504)、IPI-493、CNF2024/BIIB021、MPC-3100、Debio0932(CUDC-305)、PU-H71、加利特皮(Ganetespib;STA-9090)、NVP-AUY922(VER-52269)、HSP990、KW-2478、AT13387、SNX-5422、DS-2248及XL888。在一些实施方案中，药剂为p53表达增强剂，包括例如5-氟尿嘧啶及nutlin-3。在一些实施方案中，药剂为化学治疗剂，包括例如拓朴替康(topotecan)、依托泊苷(etoposide)、顺铂(cisplatin)、太平洋紫杉醇(paclitaxel)及长春碱(vinblastine)。

[0394] 在一些实施方案中，提供一种治疗有需要个体的靶抗原阳性疾病的方法，其包含向个体施用根据本文所述实施方案中的任一者的abTCR效应细胞组合物以及细胞因子(例如IL-2)。在一些实施方案中，abTCR效应细胞组合物及细胞因子是同时施用。在一些实施方案中，abTCR效应细胞组合物及细胞因子是依序施用。

[0395] 在一些实施方案中，提供一种治疗有需要个体的靶抗原阳性疾病的方法，其中表达靶抗原的细胞于其表面上通常不递呈或以相对较低含量递呈包含靶抗原及MHCI类蛋白质的复合体，该方法包含向个体施用根据本文所述实施方案中的任一者的abTCR效应细胞组合物以及提高MHCI类蛋白质的表达和/或增强MHCI类蛋白质对靶抗原的表面递呈的药剂。在一些实施方案中，药剂包括例如IFN受体激动剂、Hsp90抑制剂、p53表达增强剂及化学治疗剂。在一些实施方案中，药剂为IFN受体激动剂，包括例如IFNγ、IFNβ及IFNα。在一些实施方案中，药剂为Hsp90抑制剂，包括例如坦螺旋霉素(17-AAG)、阿螺旋霉素(17-DMAG)、瑞他霉素(IPI-504)、IPI-493、CNF2024/BIIB021、MPC-3100、Debio0932(CUDC-305)、PU-H71、

加利特皮(STA-9090)、NVP-AUY922(VER-52269)、HSP990、KW-2478、AT13387、SNX-5422、DS-2248及XL888。在一些实施方案中，药剂为p53表达增强剂，包括例如5-氟尿嘧啶及nutlin-3。在一些实施方案中，药剂为化学治疗剂，包括例如拓朴替康、依托泊苷、顺铂、太平洋紫杉醇及长春碱。在一些实施方案中，abTCR效应细胞组合物及药剂同时施用。在一些实施方案中，abTCR效应细胞组合物及药剂依序施用。

[0396] 在一些实施方案中，提供一种治疗有需要个体的靶抗原相关疾病(例如癌症或病毒感染)的方法，其包含向个体施用有效量的组合物，该组合物包含编码根据本文所述实施方案中的任一者的abTCR的核酸。基因递送方法为本领域中已知的。参见例如美国专利第5,399,346号、第5,580,859号、第5,589,466号，其以全文引用的方式并入本文中。

[0397] 癌症治疗可通过例如肿瘤消退、肿瘤重量或尺寸收缩、进展时间、存活持续时间、无进展存活期、总响应率、响应持续时间、生活品质、蛋白质表达和/或活性评估。可使用用于确定疗法功效的方法，包括例如经由放射成像测量响应。

[0398] 在一些实施方案中，治疗功效以肿瘤生长抑制百分比(TGI％)形式测量，其使用公式100-(T/C×100)计算，其中T为经治疗肿瘤的平均相对肿瘤体积，且C为未治疗肿瘤的平均相对肿瘤体积。在一些实施方案中，TGI％为约10％、约20％、约30％、约40％、约50％、约60％、约70％、约80％、约90％、约91％、约92％、约93％、约94％、约95％或大于95％。病毒感染治疗可例如通过病毒负荷、存活持续时间、生活品质、蛋白质表达和/或活性评估。

[0399] 疾病

[0400] 在一些实施方案中，abTCR效应细胞可适用于治疗与靶抗原相关的癌症。可使用本文所描述的方法中的任一者治疗的癌症包括非血管化，或尚未大体上血管化的肿瘤，以及血管化肿瘤。癌症可包含非实体肿瘤(例如血液肿瘤，例如白血病及淋巴瘤)或可包含实体肿瘤。待通过本发明的abTCR效应细胞治疗的癌症的类型包括(但不限于)癌瘤、母细胞瘤及肉瘤，及某些白血病或淋巴恶性肿瘤、良性及恶性肿瘤，及恶性病，例如，肉瘤、癌瘤及黑素瘤。成人肿瘤/癌症及小儿肿瘤/癌症也包括在内。

[0401] 血液癌为血液或骨髓的癌症。血液(或血性)癌的实施例包括白血病，包括急性白血病(例如急性淋巴球性白血病、急性骨髓细胞性白血病、急性骨髓性白血病及骨髓母细胞性、前髓细胞性、骨髓单核细胞性、单核细胞性及红白血病)、慢性白血病(例如慢性骨髓细胞性(粒细胞性)白血病、慢性骨髓性白血病及慢性淋巴球性白血病)、真性红细胞增多症、淋巴瘤、霍奇金氏病(Hodgkin's disease)、非霍奇金氏淋巴瘤(顽固性及高级形式)、多发性骨髓瘤、浆细胞瘤、瓦尔登斯特伦氏巨球蛋白血症(Waldenstrom's macroglobulinemia)、重链病、骨髓发育不良症候群、毛细胞白血病及骨髓发育不良。实体肿瘤为通常不含有囊肿或液体区域的异常组织块体。实体肿瘤可为良性或恶性的。不同类型的实体肿瘤以形成其的细胞类型命名(例如肉瘤、癌瘤及淋巴瘤)。实体肿瘤(例如肉瘤及癌瘤)的实施例包括肾上腺皮质癌、胆管癌、纤维肉瘤、粘液肉瘤、脂肉瘤、软骨肉瘤、骨肉瘤及其他肉瘤、滑膜瘤、间皮瘤、尤文氏肿瘤(Ewing'stumor)、平滑肌肉瘤、横纹肌肉瘤、结肠癌瘤、胃癌、淋巴恶性肿瘤、胰脏癌、乳腺癌、肺癌、卵巢癌、前列腺癌、肝细胞癌、鳞状细胞癌、基底细胞癌、腺癌、汗腺癌、甲状腺癌(例如甲状腺髓样癌及乳头状甲状腺癌)、嗜铬细胞瘤皮脂腺癌、乳头状癌、乳头状腺癌、髓性癌、支气管癌、肾细胞癌、肝癌、胆管癌、绒膜癌、威耳姆士肿瘤(Wilms'tumor)、子宫颈癌(例如，子宫颈癌及侵袭前子宫颈发育异常)、结肠直

肠癌、肛门癌、肛管癌或肛门直肠癌、阴道癌、外阴癌(例如,鳞状细胞癌、上皮内癌、腺癌及纤维肉瘤)、阴茎癌、口咽癌、食道癌、头癌(例如,鳞状细胞癌)、颈癌(例如,鳞状细胞癌)、睾丸癌(例如,精原细胞瘤、畸胎瘤、胚胎癌、畸胎上皮癌、绒膜癌、肉瘤、莱迪希细胞肿瘤(Leydigcell tumor)、纤维瘤、纤维腺瘤、腺瘤样肿瘤及脂肪瘤)、膀胱癌、肾癌、黑素瘤、子宫癌(例如,子宫内膜癌)、尿道上皮癌(例如,鳞状细胞癌、移行细胞癌、腺癌、输尿管癌及膀胱癌)、及CNS肿瘤(例如神经胶质瘤(例如脑干神经胶质瘤及混合神经胶质瘤)、神经胶母细胞瘤(也称为多态性胶质母细胞瘤)星形细胞瘤、CNS淋巴瘤、胚细胞瘤、神经管胚细胞瘤、神经鞘瘤颅咽管瘤、室管膜瘤、松果体瘤、血管母细胞瘤、听神经瘤、少突神经胶质瘤、脑膜瘤、神经母细胞瘤、视网膜母细胞瘤及脑转移瘤)。

[0402] 癌症治疗可例如通过肿瘤消退、肿瘤重量或尺寸收缩、进展时间、存活持续时间、无进展存活期、总响应率、响应持续时间、生活品质、蛋白质表达和/或活性评估。可使用用于确定疗法功效的方法,包括例如经由放射成像测量响应。

[0403] 在其他实施方案中,abTCR效应细胞可适用于通过靶向病原体相关(例如病毒编码)抗原治疗传染性疾病。待预防或治疗的感染例如可能是由病毒、细菌、原虫或寄生虫引起。靶抗原可为致病性蛋白质、多肽或肽,其造成由病原体引起的疾病,或能够在受到病原体感染的宿主中诱导免疫响应。可通过abTCR效应细胞靶向的致病性抗原包括(但不限于)源自以下的抗原:鲍氏不动杆菌(Acinetobacter baumannii)、边虫属(Anaplasma genus)、嗜吞噬细胞无形体(Anaplasma phagocytophilum)、巴西钩虫(Ancylostoma braziliense)、十二指肠钩虫(Ancylostoma duodenale)、溶血隐秘杆菌(Arcanobacterium haemolyticum)、似蚓蛔线虫(Ascaris lumbricoides)、曲菌属(Aspergillus genus)、星状病毒科(Astroviridae)、巴倍虫属(Babesia genus)、炭疽芽孢杆菌(Bacillus anthracis)、蜡样芽胞杆菌(Bacillus cereus)、汉氏巴尔通体(Bartonella henselae)、BK病毒、人芽囊原虫(Blastocystis hominis)、皮炎芽生菌(Blastomyces dermatitidis)、百日咳博特氏菌(Bordetella pertussis)、伯氏疏螺旋体(Borrelia burgdorferi)、疏螺旋体属(Borrelia genus)、疏螺旋体属物种(Borrelia spp)、布氏杆菌属(Brucella genus)、马来血丝虫(Brugia malayi)、布尼亚病毒科(Bunyaviridae family)、洋葱伯克霍尔德氏菌(Burkholderia cepacia)及其他伯克霍尔德氏菌物种、鼻疽伯克霍尔德氏菌(Burkholderia mallei)、类鼻疽伯克霍尔德氏菌(Burkholderia pseudomallei)、杯状病毒科(Caliciviridae family)、曲状杆菌属(Campylobacter genus)、白色念珠菌(Candida albicans)、假丝酵母属(Candida spp)、沙眼披衣菌(Chlamydia trachomatis)、肺炎嗜衣原体(Chlamydophila pneumoniae)、鹦鹉热嗜衣原体(Chlamydophila psittaci)、CJD朊病毒、华支睾吸虫(Clonorchis sinensis)、肉毒梭菌(Clostridium botulinum)、艰难梭菌(Clostridium difficile)、产气荚膜梭菌(Clostridium perfringens)、产气荚膜梭菌、梭菌属(Clostridium spp)、破伤风梭菌(Clostridium tetani)、粗球菌属(Coccidioides spp)、冠状病毒(corona viruses)、白喉棒状杆菌(Corynebacterium diphtheriae)、贝氏考克斯菌(Coxiella burnetii)、克里米亚-冈果出血热病毒(Crimean-Congo hemorrhagic fever virus)、新型隐球菌(Cryptococcus neoformans)、隐胞子虫属(Cryptosporidium genus)、巨细胞病毒(CMV)、登革病毒(Dengue virus)(DEN-1、DEN-2、DEN-3及DEN-4)、脆双核阿米巴(Dientamoeba fragilis)、埃博拉病毒(Ebolavirus;EBOV)、胞虫属

(Echinococcus genus)、查菲艾利希体(Ehrlichia Chaffeensis)、尤温艾利希体(Ehrlichia ewingii)、艾利希体属(Ehrlichia genus)、溶组织内阿米巴(Entamoeba histolytica)、肠球菌属(Enterococcus genus)、肠病毒属(Enterovirus genus)、肠病毒、主要为科沙奇A病毒(Coxsackie A virus)及肠病毒71(EV71)、表皮癣菌属(Epidermophyton spp)、埃-巴二氏病毒(EBV)、大肠杆菌(Escherichia coli)

[0404] O157:H7、O111及O104:H4、肝片吸虫(Fasciola hepatica)及巨大肝蛭(Fasciola gigantica)、FFI朊病毒、丝虫总科(Filarioidea superfamily)、黄病毒(Flavi virus)、土拉热弗朗西丝菌(Francisella tularensis)、梭菌属(Fusobacterium genus)、白地丝霉菌(Geotrichum candidum)、肠梨形鞭毛虫(Giardia intestinalis)、颚口虫属(Gnathostoma spp)、GSS朊病毒、瓜纳里托病毒(Guanarito virus)、杜氏嗜血杆菌(Haemophilus ducreyi)、流感嗜血杆菌(Haemophilus influenzae)、幽门螺旋杆菌(Helicobacter pylori)、亨尼帕病毒(Henipa virus)(亨德拉病毒尼帕病毒(Hendra virus Nipah virus))、A型肝炎病毒、B型肝炎病毒(HBV)、C型肝炎病毒(HCV)、D型肝炎病毒、E型肝炎病毒、单纯疱疹病毒1及2(HSV-1及HSV-2)、荚膜组织胞浆菌(Histoplasma capsulatum)、HIV(人类免疫缺乏病毒)、威尼克外瓶霉(Hortaea werneckii)、人类博卡病毒(Human bocavirus;HBoV)、人类疱疹病毒6(HHV-6)及人类疱疹病毒7(HHV-7)、人类间质肺炎病毒(hMPV)、人类乳头状瘤病毒(HPV)、人类副流行性感冒病毒(HPIV)、人类T细胞白血病病毒1(HTLV-1)、日本脑炎病毒(Japanese encephalitis virus)、JC病毒、胡宁病毒(Junin virus)、卡波西氏肉瘤相关疱疹病毒(KSHV)、金格杆菌(Kingella kingae)、肉芽肿克雷伯氏菌(Klebsiella granulomatis)、库鲁病朊病毒(Kuru prion)、拉沙病毒(Lassa virus)、嗜肺军团菌(Legionella pneumophila)、利什曼原虫属(Leishmania genus)、钩端螺旋体属(Leptospira genus)、单核球增多性李氏菌(Listeria monocytogenes)、淋巴球性脉络丛脑膜炎病毒(Lymphocytic choriomeningitisvirus;LCMV)、马丘波病毒(Machupo virus)、马拉色氏霉菌属(Malassezia spp)、马堡病毒(Marburg virus)、麻疹病毒(Measles virus)、横川后殖吸虫(Metagonimus yokagawai)、微孢子虫门(Microsporidia phylum)、传染性软疣病毒(MCV)、流行性腮腺炎病毒(Mumps virus)、麻风分枝杆菌(Mycobacterium leprae)及弥弥漫型瘫疯分枝杆菌(Mycobacterium lepromatosis)、结核分枝杆菌(Mycobacterium tuberculosis)、溃疡分枝杆菌(Mycobacterium ulcerans)、支原体肺炎(Mycoplasma pneumoniae)、变形纤毛虫(Naegleria fowleri)、美洲钩虫(Necator americanus)、淋病奈瑟氏菌(Neisseria gonorrhoeae)、脑膜炎奈瑟氏菌(Neisseri ameningitidis)、星形土壤丝菌(Nocardia asteroides)、土壤丝菌属、人蟠尾丝虫(Onchocerca volvulus)、恙虫病东方体(Orientia tsutsugamushi)、正黏病毒科(Orthomyxoviridae family)(流感)、巴西副球孢子菌(Paracoccidioides brasiliensis)、并殖吸虫属(Paragonimus spp)、卫氏并殖吸虫(Paragonimus westermani)、小病毒B19、巴氏杆菌属(Pasteurella genus)、疟原虫属(Plasmodium genus)、耶氏肺孢子虫(Pneumocystis jirovecii)、脊髓灰白质炎病毒(Polio virus)、狂犬病病毒(Rabies virus)、呼吸道融合病毒(RSV)、鼻病毒(Rhino virus)、鼻病毒(rhino viruses)、痘立克次体(Rickettsia akari)、立克次体属(Rickettsia genus)、普氏立克次体(Rickettsia prowazekii)、落矶山热立克次体(Rickettsia rickettsii)、伤寒立克次

体(Rickettsia typhi)、东非瑞夫特河谷羊热病病毒(Rift Valley fever virus)、轮状病毒(Rota virus)、风疹病毒(Rubella virus)、萨比亚病毒(Sabia virus)、沙门氏菌属(Salmonella genus)、疥螨(Sarcoptes scabiei)、SARS冠状病毒、住血吸虫属(Schistosoma genus)、志贺杆菌属(Shigella genus)、辛诺柏病毒(SinNombre virus)、汉坦病毒(Hanta virus)、申克孢子丝菌(Sporothrix schenckii)、葡萄球菌属(Staphylococcus genus)、葡萄球菌属(Staphylococcus genus)、无乳链球菌(Streptococcus agalactiae)、肺炎链球菌(Streptococcus pneumoniae)、化脓性链球菌(Streptococcus pyogenes)、肠类圆线虫(Strongyloides stercoralis)、条虫属(Taenia genus)、有钩条虫(Taenia solium)、蜱传脑炎病毒(Tick-borne encephalitis virus;TBEV)、犬蛔虫(Toxocara canis)或猫蛔虫(Toxocara cati)、弓虫(Toxoplasma gondii)、梅毒螺旋体(Treponema pallidum)、旋毛虫(Trichinella spiralis)、阴道毛滴虫(Trichomonas vaginalis)、发癣菌属(Trichophyton spp)、毛首鞭形线虫(Trichuris trichiura)、布氏锥虫(Trypanosoma brucei)、克氏锥虫(Trypanosoma cruzi)、解脲支原体(Ureaplasma urealyticum)、水痘带状疱状病毒(Varicella zoster virus;VZV)、水痘带状疱状病毒(VZV)、大天花(Variola major)或小天花(Variola minor)、vCJD朊病毒、委内瑞拉马脑炎病毒(Venezuelan equine encephalitis virus)、霍乱弧菌(Vibrio cholerae)、西尼罗河病毒(West Nile virus)、西部马脑炎病毒(Western equine encephalitis virus)、潘氏丝状虫(Wuchereria bancrofti)、黄热病病毒(Yellow fever virus)、小肠结肠炎耶尔森氏菌(Yersinia enterocolitica)、鼠疫耶尔森菌(Yersinia pestis)及假结核耶尔森菌(Yersinia pseudotuberculosis)。

[0405] 在一些实施方案中,使用abTCR效应细胞治疗致癌传染性疾病,例如受到致癌病毒感染。致癌病毒包括(但不限于)CMV、EBV、HBV、KSHV、HPV、MCV、HTLV-1、HIV-1及HCV。abTCR的靶抗原可为病毒癌蛋白,包括(但不限于)Tax、E7、E6/E7、E6、HBx、EBNA蛋白质(例如,EBNA3A、EBNA3C及EBNA2)、v-周期素、LANA1、LANA2、LMP-1、k-bZIP、RTA、KSHVK8及其片段。参见Ahuja,Richa等人,Curr.Sci.,2014。

[0406] 制品及试剂盒

[0407] 在本发明的一些实施方案中,提供一种制品,其含有适用于治疗靶抗原阳性疾病的材料,该靶抗原阳性疾病例如癌症(例如肾上腺皮质癌、膀胱癌、乳腺癌、子宫颈癌、胆管癌、结肠直肠癌、食道癌、神经胶母细胞瘤、神经胶质瘤、肝细胞癌、头颈癌、肾癌、肺癌、黑素瘤、间皮瘤、多发性骨髓瘤、胰脏癌、嗜铬细胞瘤、浆细胞瘤、神经母细胞瘤、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤、胃癌、子宫癌或甲状腺癌)或病毒感染(例如由CMV、EBV、HBV、KSHV、HPV、MCV、HTLV-1、HIV-1或HCV造成的感染)。该制品可包含容器及容器上或容器随附的标记或药品说明书。适合的容器包括例如瓶子、小瓶、注射器等。容器可由各种材料形成,例如玻璃或塑胶。一般来说,容器容纳可有效治疗本文所述的疾病或病症的组合物,且可具有无菌出入端口(例如容器可为静脉内溶液袋或具有可通过皮下注射针刺穿的塞子的小瓶)。组合物中的至少一种活性剂为在表面上递呈本发明abTCR的效应细胞。标记或药品说明书指示该组合物用于治疗特定病状。标记或药品说明书将进一步包含向患者施用abTCR效应细胞组合物的说明书。也涵盖包含本文中描述的组合疗法的制品及试剂盒。

[0408] 药品说明书是指市售治疗产品包装中通常所包括的含有关于适应症、用途、剂量、

施用、与此类治疗产品的使用有关的禁忌和/或警告的说明书。在一些实施方案中，药品说明书指示，该组合物用于治疗靶抗原阳性癌症(例如肾上腺皮质癌、膀胱癌、乳腺癌、子宫颈癌、胆管癌、结肠直肠癌、食道癌、神经胶母细胞瘤、神经胶质瘤、肝细胞癌、头颈癌、肾癌、肺癌、黑素瘤、间皮瘤、多发性骨髓瘤、胰脏癌、嗜铬细胞瘤、浆细胞瘤、神经母细胞瘤、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤、胃癌、子宫癌或甲状腺癌)。在其他实施方案中，药品说明书指示，该组合物用于治疗靶抗原阳性病毒感染(例如由CMV、EBV、HBV、KSHV、HPV、MCV、HTLV-1、HIV-1或HCV造成的感染)。

[0409] 另外，制品可进一步包含第二容器，其包含药物上可接受的缓冲液，例如抑菌性注射用水(BWFI)、磷酸盐缓冲盐水、林格氏溶液及右旋糖溶液。其可进一步包括就商业及使用者观点而言所需的其他物质，包括其他缓冲液、稀释剂、过滤器、针及注射器。

[0410] 也提供适用于各种目的的试剂盒，例如用于治疗本文所述的靶抗原阳性疾病或病症，视情况与制品组合。本发明的试剂盒包括一或多个容器，其包含abTCR效应细胞组合物(或单位剂型和/或制品)，且在一些实施方案中，进一步包含根据本文所描述的方法中的任一者的另一药剂(如本文所述的药剂)和/或使用说明书。试剂盒可进一步包含适合治疗的个体的选择的说明。本发明试剂盒中提供的说明书为通常在标记或药品说明书(例如，试剂盒中包括的纸片)上的书面说明书，但为机器可读说明书(例如，磁化或光学储存碟上载有的说明书)也为可接受的。

[0411] 举例而言，在一些实施方案中，试剂盒包含一种组合物，该组合物包含在表面上递呈abTCR的效应细胞。在一些实施方案中，试剂盒包含a)包含在表面上递呈abTCR的效应细胞的组合物，及b)有效量的至少一种其他药剂，其中其他药剂增加MHC蛋白质的表达和/或增强MHC蛋白质(例如IFNγ、IFNβ、IFNα或Hsp90抑制剂)对肽的表面递呈。在一些实施方案中，试剂盒包含a)包含在表面上递呈abTCR的效应细胞的组合物，及b)向个体施用abTCR效应细胞组合物以治疗靶细胞阳性疾病(例如癌症或病毒感染)的说明书。在一些实施方案中，试剂盒包含a)包含在表面上递呈abTCR的效应细胞的组合物，b)有效量的至少一种其他药剂，其中其他药剂增加MHC蛋白质的表达和/或增强MHC蛋白质(例如IFNγ、IFNβ、IFNα或Hsp90抑制剂)对肽的表面递呈，及c)向个体施用abTCR效应细胞组合物及其他药剂以治疗靶细胞阳性疾病(例如癌症或病毒感染)的说明书。abTCR效应细胞组合物及其他药剂可存在于独立容器或单一容器中。举例而言，试剂盒可包含一种独特的组合物或两种或更多种组合物，其中一种组合物包含abTCR效应细胞且另一组合物包含另一药剂。

[0412] 在一些实施方案中，试剂盒包含a)包含abTCR的组合物，及b)说明书，该说明书涉及abTCR与效应细胞(例如源自个体的效应细胞，例如T细胞或自然杀伤细胞)组合形成包含于表面上递呈abTCR的效应细胞的组合物及向个体施用abTCR效应细胞组合物以治疗靶抗原阳性疾病(例如癌症或病毒感染)。在一些实施方案中，试剂盒包含a)包含abTCR的组合物，及b)效应细胞(例如细胞毒性细胞)。在一些实施方案中，试剂盒包含a)包含abTCR的组合物，b)效应细胞(例如细胞毒性细胞)，及c)说明书，该说明书涉及abTCR与效应细胞组合形成包含于表面上递呈abTCR的效应细胞的组合物及向个体施用abTCR效应细胞组合物以治疗靶抗原阳性疾病(例如癌症或病毒感染)。

[0413] 在一些实施方案中，试剂盒包含编码abTCR的一种核酸(或一组核酸)。在一些实施方案中，试剂盒包含a)编码abTCR的一种核酸(或一组核酸)，及b)用于表达该核酸(或该组

核酸)的宿主细胞(例如效应细胞)。在一些实施方案中,试剂盒包含a)编码abTCR的一种核酸(或一组核酸),及b)说明书,该说明书涉及i)在宿主细胞(例如效应细胞,例如T细胞)中表达abTCR,ii)制备包含表达abTCR的宿主细胞的组合物,及iii)向个体施用包含表达abTCR的宿主细胞的组合物以治疗靶抗原阳性疾病(例如癌症或病毒感染)。在一些实施方案中,宿主细胞源自个体。在一些实施方案中,试剂盒包含a)编码abTCR的一种核酸(或一组核酸),b)用于表达该核酸(或该组核酸)的宿主细胞(例如效应细胞),及c)说明书,该说明书涉及i)在宿主细胞中表达abTCR,ii)制备包含表达abTCR的宿主细胞的组合物,及iii)向个体施用包含表达abTCR的宿主细胞的组合物以治疗靶抗原阳性疾病(例如癌症或病毒感染)。

[0414] 本发明的试剂盒是在适合的包装中。适合的包装包括(但不限于)小瓶、瓶子、罐、可塑性包装(例如密封Mylar或塑胶袋)及其类似物。试剂盒可视情况提供例如缓冲剂的额外组分及说明性信息。本申请因此也提供制品,其包括小瓶(例如密封小瓶)、瓶子、罐、可塑性包装等。

[0415] 与abTCR效应细胞组合物的使用相关的说明书大体上包括关于所期望治疗的剂量、给药时程及施用途径的信息。容器可为单位剂量、散装(例如多剂量包装)或次单位剂量。举例而言,可提供含有足够剂量的如本文中所揭示的abTCR效应细胞组合物的试剂盒,用于为个体提供较长时间的有效治疗,例如一周、8天、9天、10天、11天、12天、13天、2周、3周、4周、6周、8周、3个月、4个月、5个月、7个月、8个月、9个月或更久中的任一者。试剂盒也可包括多个单位剂量的abTCR及药物组合物及使用说明书且以对于在药房,例如医院药房及配药房中储存及使用而言足够的量包装。

[0416] 本领域的技术人员将认识到,在本发明的范畴及精神内,若干实施方案为可能的。现将参照以下非限制性实施例来更详细地描述本发明。以下实施方案进一步说明本发明,但当然不应解释为以任何方式限制其范畴。

[0417] 例示性实施方案

[0418] 实施方案1.

[0419] 一种特异性结合至靶抗原的抗体-T细胞受体(TCR)嵌合分子(abTCR),其包含:

[0420] a)第一多肽链,其包含第一抗原结合域及第一T细胞受体域(TCRD),该第一抗原结合域包含V_H及C_H1抗体域,该第一T细胞受体域(TCRD)包含第一TCR亚单元的第一跨膜域;及

[0421] b)第二多肽链,其包含第二抗原结合域及第二TCRD,该第二抗原结合域包含V_L及C_L抗体域,该第二TCRD包含第二TCR亚单元的第二跨膜域,

[0422] 其中该第一抗原结合域的该V_H及该C_H1域与该第二抗原结合域的该V_L及该C_L域形成特异性结合至该靶抗原的抗原结合模块,且其中该第一TCRD与该第二TCRD形成能够招募至少一个TCR相关信号传导模块的T细胞受体模块(TCRM)。

[0423] 实施方案2.

[0424] 如实施方案1的abTCR,其中该抗原结合模块包含在该C_H1域中的残基与该C_L域中的残基之间的二硫键。

[0425] 实施方案3.

[0426] 如实施方案1或2的abTCR,其中该第一多肽链进一步包含在该第一抗原结合域与该第一TCRD之间的第一肽接头。

[0427] 实施方案4.

[0428] 如实施方案1至3中任一者的abTCR,其中该第二多肽链进一步包含在该第二抗原结合域与该第二TCRD之间的第二肽接头。

[0429] 实施方案5.

[0430] 如实施方案3或4的abTCR,其中该第一肽接头和/或该第二肽接头的长度分别为约5至约50个氨基酸。

[0431] 实施方案6.

[0432] 如实施方案1至5中任一者的abTCR,其中该靶抗原为细胞表面抗原。

[0433] 实施方案7.

[0434] 如实施方案6的abTCR,其中该细胞表面抗原选自下组:蛋白质、糖及脂质。

[0435] 实施方案8.

[0436] 如实施方案7的abTCR,其中该细胞表面抗原为CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D或FCRL5。

[0437] 实施方案9.

[0438] 如实施方案1至5中任一者的abTCR,其中该靶抗原为包含肽及主要组织相容性复合体(MHC)蛋白质的复合体。

[0439] 实施方案10.

[0440] 一种特异性结合至靶抗原的abTCR,其包含:

[0441] a)第一多肽链,其包含第一抗原结合域及第一TCRD,该第一抗原结合域包含V_H抗体域,该第一TCRD包含第一TCR亚单元的第一跨膜域;及

[0442] b)第二多肽链,其包含第二抗原结合域及第二TCRD,该第二抗原结合域包含V_L抗体域,该第二TCRD包含第二TCR亚单元的第二跨膜域,

[0443] 其中该第一抗原结合域的该V_H域与该第二抗原结合域的该V_L域形成特异性结合至该靶抗原的抗原结合模块,

[0444] 其中该第一TCRD与该第二TCRD形成能够招募至少一个TCR相关信号传导模块的T细胞受体模块(TCRM),且其中该靶抗原为包含肽及MHC蛋白质的复合体。

[0445] 实施方案11.

[0446] 如实施方案10的abTCR,其中该第一多肽链进一步包含在该第一抗原结合域与该第一TCRD之间的第一肽接头且该第二多肽链进一步包含在该第二抗原结合域与该第二TCRD之间的第二肽接头。

[0447] 实施方案12.

[0448] 如实施方案11的abTCR,其中该第一和/或该第二肽接头分别包含来自免疫球蛋白或T细胞受体亚单元的恒定域或其片段。

[0449] 实施方案13.

[0450] 如实施方案12的abTCR,其中该第一和/或该第二肽接头分别包含C_H1、C_H2、C_H3、C_H4或C_L抗体域或其片段。

[0451] 实施方案14.

[0452] 如实施方案12的abTCR,其中该第一和/或该第二肽接头分别包含Cα、Cβ、Cγ或Cδ TCR域或其片段。

[0453] 实施方案15.

[0454] 如实施方案1至14中任一者的abTCR,其中该第一TCRD进一步包含TCR亚单元中在该第一跨膜域N端的第一连接肽或其片段。

[0455] 实施方案16.

[0456] 如实施方案1至15中任一者的abTCR,其中该第二TCRD进一步包含TCR亚单元中在该第二跨膜域N端的第二连接肽或其片段。

[0457] 实施方案17.

[0458] 如实施方案15或16的abTCR,其中该TCRM包含在该第一连接肽中的残基与该第二连接肽中的残基之间的二硫键。

[0459] 实施方案18.

[0460] 如实施方案1至17中任一者的abTCR,其中该第一TCRD进一步包含第一TCR细胞内域,其包含在该第一跨膜域C端的TCR细胞内序列。

[0461] 实施方案19.

[0462] 如实施方案1至18中任一者的abTCR,其中该第二TCRD进一步包含第二TCR细胞内域,其包含在该第二跨膜域C端的TCR细胞内序列。

[0463] 实施方案20.

[0464] 如实施方案1至19中任一者的abTCR,其中该第一多肽链进一步包含第一附属细胞内域,其包含在该第一跨膜域C端的共刺激细胞内信号传导序列。

[0465] 实施方案21.

[0466] 如实施方案1至20中任一者的abTCR,其中该第二多肽链进一步包含第二附属细胞内域,其包含在该第二跨膜域C端的共刺激细胞内信号传导序列。

[0467] 实施方案22.

[0468] 如实施方案1至21中任一者的abTCR,其中该第一多肽链进一步包含在该第一抗原结合域N端的第一信号传导肽。

[0469] 实施方案23.

[0470] 如实施方案1至22中任一者的abTCR,其中该第二多肽链进一步包含在该第二抗原结合域N端的第二信号传导肽。

[0471] 实施方案24.

[0472] 如实施方案9至23中任一者的abTCR,其中该靶抗原复合体中的该肽源自选自以下的蛋白质:WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA。

[0473] 实施方案25.

[0474] 如实施方案1至24中任一者的abTCR,其中该分子以约0.1pM至约500nM的平衡解离常数(Kd)结合至该靶抗原。

[0475] 实施方案26.

[0476] 如实施方案1至25中任一者的abTCR,其中该TCR相关信号传导模块选自下组:CD3δε、CD3γε及ζζ。

[0477] 实施方案27.

[0478] 如实施方案1至26中任一者的abTCR,其中该第一TCR亚单元为TCRα链,且该第二TCR亚单元为TCRβ链。

[0479] 实施方案28.

[0480] 如实施方案1至26中任一者的abTCR,其中该第一TCR亚单元为TCRβ链,且该第二TCR亚单元为TCRα链。

[0481] 实施方案29.

[0482] 如实施方案1至26中任一者的abTCR,其中该第一TCR亚单元为TCRγ链,且该第二TCR亚单元为TCRδ链。

[0483] 实施方案30.

[0484] 如实施方案1至26中任一者的abTCR,其中该第一TCR亚单元为TCRδ链,且该第二TCR亚单元为TCRγ链。

[0485] 实施方案31.

[0486] 一种核酸,其编码如实施方案1至30中任一者的abTCR的该第一及该第二多肽链。

[0487] 实施方案32.

[0488] 一种复合体,其包含如实施方案1至30中任一者的abTCR及至少一个选自CD3δε、CD3γε及ζζ的TCR相关信号传导模块。

[0489] 实施方案33.

[0490] 如实施方案32的复合体,其中该复合体为包含该abTCR及CD3δε、CD3γε及ζζ的八聚物。

[0491] 实施方案34.

[0492] 一种效应细胞,其递呈如实施方案1至30中任一者的abTCR或如实施方案32或33的复合体于其表面上。

[0493] 实施方案35.

[0494] 一种效应细胞,其包含如实施方案31的核酸。

[0495] 实施方案36.

[0496] 如实施方案34或35的效应细胞,其中该效应细胞不表达该第一TCR亚单元和/或该第二TCR亚单元。

[0497] 实施方案37.

[0498] 如实施方案36的效应细胞,其中

[0499] a)该第一TCR亚单元为TCRα且该第二TCR亚单元为TCRβ;或b)该第一TCR亚单元为TCRβ且该第二TCR亚单元为TCRα;且其中该效应细胞为γδT细胞。

[0500] 实施方案38.

[0501] 如实施方案36的效应细胞,其中

[0502] a)该第一TCR亚单元为TCRγ且该第二TCR亚单元为TCRδ;或b)该第一TCR亚单元为TCRδ且该第二TCR亚单元为TCRγ;且其中该效应细胞为αβT细胞。

[0503] 实施方案39.

[0504] 如实施方案34至36中任一者的效应细胞,其中该效应细胞经修饰以阻断或减少第一内源性TCR亚单元和/或第二内源性TCR亚单元的表达。

[0505] 实施方案40.

[0506] 如实施方案39的效应细胞,其中

[0507] a)该第一TCR亚单元为TCRα且第二TCR亚单元为TCRβ;或

[0508] b)该第一TCR亚单元为TCRβ且该第二TCR亚单元为TCRα;且

[0509] 其中该效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRα和/或TCRβ的表达的αβT细胞。

[0510] 实施方案41.

[0511] 如实施方案39的效应细胞,其中

[0512] a)该第一TCR亚单元为TCRγ且第二TCR亚单元为TCRδ;或

[0513] b)该第一TCR亚单元为TCRδ且该第二TCR亚单元为TCRγ;且

[0514] 其中该效应细胞为经修饰以阻断或减少TCRγ和/或TCRδ的表达的γδT细胞。

[0515] 实施方案42.

[0516] 如实施方案34至41中任一者的效应细胞,其中该效应细胞为$CD3^+$细胞。

[0517] 实施方案43.

[0518] 如实施方案42的效应细胞,其中该$CD3^+$细胞选自下组:细胞毒性T细胞、辅助T细胞、自然杀伤T细胞及抑制T细胞。

[0519] 实施方案44.

[0520] 如实施方案34至43中任一者的效应细胞,其包含a)第一载体,该第一载体包含第一核酸序列,该第一核酸序列在第一启动子的控制下编码该abTCR的该第一多肽链;及b)第二载体,该第二载体包含第二核酸序列,该第二核酸序列在第二启动子的控制下编码该abTCR的该第二多肽链。

[0521] 实施方案45.

[0522] 如实施方案34至43中任一者的效应细胞,其包含载体,该载体包含a)第一核酸序列,该第一核酸序列在第一启动子的控制下编码该abTCR的该第一多肽链;及b)第二核酸序列,该第二核酸序列在第二启动子的控制下编码该abTCR的该第二多肽链。

[0523] 实施方案46.

[0524] 如实施方案34至43中任一者的效应细胞,其包含载体,该载体包含a)编码该abTCR的该第一多肽链的第一核酸序列及编码该abTCR的该第二多肽链的第二核酸序列,其中该第一及该第二核酸序列是在单一启动子的控制下。

[0525] 实施方案47.

[0526] 如实施方案34至45中任一者的效应细胞,其中该abTCR的该第一多肽链的表达与该abTCR的该第二多肽链的表达相差超过两倍。

[0527] 实施方案48.

[0528] 一种杀伤递呈靶抗原的靶细胞的方法,其包含使该靶细胞与如实施方案34至47中任一者的效应细胞接触,其中该abTCR特异性结合至该靶抗原。

[0529] 实施方案49.

[0530] 一种杀伤递呈靶抗原的靶细胞的方法,其包含使该靶细胞与效应αβT细胞接触,该效应αβT细胞包含特异性结合至该靶抗原的abTCR,其包含:

[0531] a)第一多肽链,其包含第一抗原结合域及第一TCRD,该第一抗原结合域包含V_H抗体域,该第一TCRD包含第一TCR亚单元的第一跨膜域;及

[0532] b)第二多肽链,其包含第二抗原结合域及第二TCRD,该第二抗原结合域包含V_L抗体域,该第二TCRD包含第二TCR亚单元的第二跨膜域,

[0533] 其中该第一抗原结合域的该V_H域与该第二抗原结合域的该V_L域形成特异性结合至

该靶抗原的抗原结合模块，

[0534] 其中该第一TCRD与该第二TCRD形成能够招募至少一个TCR相关信号传导模块的T细胞受体模块(TCRM)，且

[0535] 其中该第一TCR亚单元为TCRγ且该第二TCR亚单元为TCRδ，或该第一TCR亚单元为TCRδ且该第二TCR亚单元为TCRγ。

[0536] 实施方案50.

[0537] 如实施方案49的方法，其中该第一多肽链进一步包含在该第一抗原结合域与该第一TCRD之间的第一肽接头且该第二多肽链进一步包含在该第二抗原结合域与该第二TCRD之间的第二肽接头。

[0538] 实施方案51.

[0539] 如实施方案50的方法，其中该第一和/或该第二肽接头分别包含来自免疫球蛋白或T细胞受体亚单元的恒定域或其片段。

[0540] 实施方案52.

[0541] 如实施方案51的方法，其中该第一和/或该第二肽接头分别包含C_H1、C_H2、C_H3、C_H4或C_L抗体域或其片段。

[0542] 实施方案53.

[0543] 如实施方案51的方法，其中该第一和/或该第二肽接头分别包含Cα、Cβ、Cγ或Cδ TCR域或其片段。

[0544] 实施方案54.

[0545] 如实施方案48至53中任一者的方法，其中该接触为体内的。

[0546] 实施方案55.

[0547] 如实施方案48至53中任一者的方法，其中该接触为体外的。

[0548] 实施方案56.

[0549] 一种药物组合物，其包含如实施方案1至30中任一者的abTCR、如实施方案31的核酸或如实施方案34至47中任一者的效应细胞，及药物上可接受的载剂。

[0550] 实施方案57.

[0551] 一种治疗有需要个体的靶抗原相关疾病的方法，其包含向该个体施用有效量的如实施方案51的药物组合物。

[0552] 实施方案58.

[0553] 一种治疗有需要个体的靶抗原相关疾病的方法，其包含向该个体施用有效量的包含效应αβT细胞的组合物，该效应αβT细胞包含特异性结合至该靶抗原的abTCR，其包含：

[0554] a)第一多肽链，其包含第一抗原结合域及第一TCRD，该第一抗原结合域包含V_H抗体域，该第一TCRD包含第一TCR亚单元的第一跨膜域；及

[0555] b)第二多肽链，其包含第二抗原结合域及第二TCRD，该第二抗原结合域包含V_L抗体域，该第二TCRD包含第二TCR亚单元的第二跨膜域，

[0556] 其中该第一抗原结合域的该V_H域与该第二抗原结合域的该V_L域形成特异性结合至该靶抗原的抗原结合模块，

[0557] 其中该第一TCRD与该第二TCRD形成能够招募至少一个TCR相关信号传导模块的T细胞受体模块(TCRM)，且

[0558] 其中该第一TCR亚单元为TCRγ且该第二TCR亚单元为TCRδ,或该第一TCR亚单元为TCRδ且该第二TCR亚单元为TCRγ。

[0559] 实施方案59.

[0560] 如实施方案58的方法,其中该第一多肽链进一步包含在该第一抗原结合域与该第一TCRD之间的第一肽接头且该第二多肽链进一步包含在该第二抗原结合域与该第二TCRD之间的第二肽接头。

[0561] 实施方案60.

[0562] 如实施方案59的方法,其中该第一和/或该第二肽接头分别包含来自免疫球蛋白或T细胞受体亚单元的恒定域或其片段。

[0563] 实施方案61.

[0564] 如实施方案60的方法,其中该第一和/或该第二肽接头分别包含C_H1、C_H2、C_H3、C_H4或C_L抗体域或其片段。

[0565] 实施方案62.

[0566] 如实施方案60的方法,其中该第一和/或该第二肽接头分别包含Cα、Cβ、Cγ或Cδ TCR域或其片段。

[0567] 实施方案63.

[0568] 如实施方案57至62中任一者的方法,其中该靶抗原相关疾病为癌症。

[0569] 实施方案64.

[0570] 如实施方案63的方法,其中该癌症选自下组:肾上腺皮质癌、膀胱癌、乳腺癌、子宫颈癌、胆管癌、结肠直肠癌、食道癌、神经胶母细胞瘤、神经胶质瘤、肝细胞癌、头颈癌、肾癌、白血病、淋巴瘤、肺癌、黑素瘤、间皮瘤、多发性骨髓瘤、胰脏癌、嗜铬细胞瘤、浆细胞瘤、神经母细胞瘤、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤、胃癌、子宫癌及甲状腺癌。

[0571] 实施方案65.

[0572] 如实施方案57至62中任一者的方法,其中该靶抗原相关疾病为病毒感染。

[0573] 实施方案66.

[0574] 如实施方案65的方法,其中该病毒感染是由选自以下的病毒引起:巨细胞病毒(CMV)、埃-巴二氏病毒(EBV)、B型肝炎病毒(HBV)、卡波西氏肉瘤相关疱疹病毒(KSHV)、人类乳头状瘤病毒(HPV)、传染性软疣病毒(MCV)、人类T细胞白血病病毒1(HTLV-1)、HIV(人类免疫缺乏病毒)及C型肝炎病毒(HCV)。

[0575] 实施方案67.

[0576] 一种富集异质性细胞群体中的如实施方案34至47中任一者的效应细胞的方法,其包含:

[0577] a)使该异质性细胞群体与固定至固体载体上的靶抗原接触以形成该效应细胞结合至该固体载体上的该靶抗原的复合体;及

[0578] b)自该异质性细胞群体中分离所述复合体,从而产生针对该效应细胞富集的细胞群体。

[0579] 实施方案68.

[0580] 一种核酸文库,其包含编码多个如实施方案1至30中任一者的abTCR的序列。

[0581] 实施方案69.

[0582] 一种筛选如实施方案68的核酸文库中编码对靶抗原具有特异性的abTCR的序列的方法,其包含:

[0583] a)将该核酸文库引入至多个$CD3^+$细胞中,使得所述abTCR于该多个$CD3^+$细胞的表面上表达;

[0584] b)将该多个$CD3^+$细胞与经标记的靶抗原一起温育;

[0585] c)收集与该经标记靶抗原结合的$CD3^+$细胞;及

[0586] d)自步骤c)中收集的细胞中分离编码所述abTCR的序列,从而鉴别对该靶抗原具有特异性的abTCR。

实施例

[0587] 材料及方法

[0588] 细胞样品、细胞系及抗体

[0589] 自美国菌种保存中心(American Type Culture Collection)获得细胞系HepG2(ATCC HB-8065;HLA-A2+,AFP+)、SK-HEP-1(ATCC HTB-52;HLA-A2+,AFP-)、Raji(ATCC CCL-86;CD19+)、CA46(ATCC CRL-1648;CD19+)、Jurkat(ATCC CRL-2899,CD19-)、J.RT3-T3.5(ATCC TIB-153)、Jeko-1(ATCC CRL-3006;CD19+)、THP-1(ATCC TIB-202,CD19-)、Daudi(ATCC CCL-213;CD19+)、HeLa(ATCC CCL-2)、MDA-MB-231(ATCC HTB-26)及MCF-7(ATCC HTB-22)。Jurkat为源自T细胞白血病的人类T淋巴细胞细胞系。J.RT3-T3.5为源自Jurkat细胞的缺乏T细胞受体β链的突变株。Raji为表达CD19的伯基特淋巴瘤(Burkitt lymphoma)细胞系。通过CRISPR技术产生Raji-CD19基因敲除(Raji-CD19KO)株。设计三个不同的指导序列用于靶向Raji细胞中的CD19。自Origene购得CRISPR-Cas9载体且将各指导序列单独地克隆至pCas-Guide载体中。在电穿孔三天后,通过流式细胞术评估通过各指导序列达成的基因敲除的效率且选择最佳CD19基因敲除合并物以通过限制稀释法进行克隆选择。所选择的克隆经测序确认为完全CD19基因敲除。通过用表达AFP肽AFP158(SEQ ID NO:53)的袖珍基因盒转导SK-HEP-1细胞系,该转导引起AFP158/HLA-A*02:01复合体的高水准的细胞表面表达,产生了另一对照细胞系SK-HEP-1-AFP-MG。所有细胞系是在补充有10%FBS及2mM谷氨酰胺的RPMI1640或DMEM中在37℃/5%CO_2下培养。

[0590] 购买以下:针对结合至FITC或APC的人类HLA-A02(克隆BB7.2)的单克隆Ab及其结合至FITC或APC的同型对照小鼠IgG2b;针对人类或小鼠CD3、人类T细胞受体各种亚单元、3×Flag标签、HA标签的抗体;与PE或FITC结合的山羊F(ab)2抗人类IgG;及荧光结合的山羊F(ab')2抗小鼠Ig(Invitrogen)。Eureka Therapeutics内部研发且生产了针对AFP158/HLA-A*02:01特异性抗体的抗个体基因型抗体。使用BD FACSCantoII收集流式细胞术资料且使用FlowJo套装软件分析。

[0591] 所有肽都为购买的且由Elim Biopharma合成。肽的纯度>90%。将肽溶解于DMSO中或以10mg/mL于盐水中稀释且在-80℃下冷冻。通过肽与重组HLA-A*02:01及β-2微球蛋白(β2M)再折叠,产生生物素标记单链AFP158/HLA-A*02:01及对照肽/HLA-A*02:01复合单体。经由连接至HLA-A*02:01细胞外域(ECD)的C端末端的BSP肽通过BirA酶生物素标记单体。将荧光标记抗生蛋白链菌素与生物素标记肽/HLA-A*02:01复合单体混合,形成荧光标记肽/HLA-A*02:01四聚物。

[0592] 例如通过用编码嵌合构建体的载体转染293T细胞，产生含有人类CD19特异性或AFP158/HLA-A*02:01特异性CAR或abTCR的慢病毒。在用CD3/CD28珠粒(Dynabeads®, Invitrogen)刺激一天之后，在100U/ml介白素-2(IL-2)存在下，使用初级人类T细胞进行转导。向涂有Retronectin(Takara)的6孔培养盘中的T细胞施加经浓缩的慢病毒，持续96小时。使用分别含有PE结合的抗生蛋白链菌素或抗myc抗体的生物素标记AFP158/HLA-A*02:01四聚物(“AFP158四聚物”)，通过流式细胞术评估抗AFP及抗CD19嵌合构建体的转导效率。在第5天及其后每3-4天重复流式细胞术分析。

[0593] 用一个或两个编码abTCR构建体的两个亚单元的载体转导细胞系。转导五天后，使用抗HA(抗HA标签抗体，ChIP级，Abcam)或抗Flag抗体(在兔中产生的抗Flag抗体，Sigma)，产生细胞裂解物用于蛋白免疫印迹法。

[0594] 通过Cytox96非放射性LDH细胞毒性分析(Promega)分析肿瘤细胞毒性。使用EasySep人类T细胞分离试剂盒(Stem Cell Technologies)，由富含PBMC的全血制备$CD3^+$T细胞，其不利地耗尽CD14、CD16、CD19、CD20、CD36、CD56、CD66b、CD123、血型糖蛋白A表达细胞。用例如CD3/CD28Dynabeads(Invitrogen)根据制造商的方案活化及扩增人类T细胞。经活化的T细胞(ATC)在具有10％FBS加上100U/mlIL-2的RPMI1640培养基中培养及维持，且在第7-14天使用。经活化的T细胞(效应细胞)与靶细胞以各种效靶比(effector-to-targetratio)(例如，2.5:1或5:1)共培养16小时且分析细胞毒性。

[0595] 实施例1.抗体-T细胞受体(abTCR)嵌合体设计

[0596] 图1A及图1B中显示四个不同的抗体-T细胞受体嵌合构建体(abTCR)设计(abTCR-3、abTCR-4、abTCR-5及abTCR-6)，包括所涵盖的变体。在这些设计中，抗体Fab片段的重链(IgV_H-IgC_H1)及轻链(IgV_L-IgC_L)域与缺乏可变域及恒定域且包括其所有或一部分连接肽(在恒定域之后的区域)的T细胞受体α/β链或γ/δ链片段的氨基端融合，形成可于T细胞表面上表达的嵌合抗体-TCR杂二聚体。abTCR设计中的每一者中的IgV_H及IgV_L域决定了抗原结合特异性，且与IgC_H1及IgC_L一起形成类似于Fab片段的结构。在天然TCR中，Vα/Vβ或Vδ/Vγ域形成TCR的抗原结合域。这些设计将Vα-Cα/Vβ-Cβ或Vδ-Cδ/Vγ-Cγ区域替换为IgV_H-IgC_H1或IgV_L-IgC_L，从而赋予构建体抗体的结合特异性，同时维持构建体与天然TCR复合体中的附属分子(例如CD3δε、CD3γε及CD3ζζ)相关联的能力。这些设计不同于Gross及Eshhar(Endowing T cells with antibody specificity using Chimeric T cell receptors, FASEBJ.1992(15):3370)所述的cTCR设计，其中抗体的可变域连接至TCR恒定区，仅将Vα/Vβ区替换为IgV_H/IgV_L。在其他abTCR设计中，对包含肽及MHC蛋白质(MHC限制的抗体部分)的复合体具有特异性的抗体Fv片段的重链(IgV_H)及轻链(IgV_L)域与缺乏可变域且包括其所有或一部分连接肽(在恒定域之后的区域)的T细胞受体α/β链或γ/δ链片段的氨基端融合。在这些abTCR设计中的一些中，T细胞受体α/β链或γ/δ链片段包括所有或一部分TCR恒定域。在一个此类设计(abTCR-7)中，IgV_H与包括恒定域的TCRδ片段融合且IgV_L与包括恒定域的TCRγ片段融合。这些设计不同于Gross及Eshhar(同前文献)所述的cTCR设计，其中抗体可变域是用于非MHC限制结合。

[0597] 在abTCR-3(IgV_H-IgC_H1-TCRα/IgV_L-IgC_L-TCRβ)设计中，抗体重链的可变域及第一恒定域(IgV_H-IgC_H1)替换TCRα链的氨基端部分直至与细胞外域中在Vα-Cα区后的连接肽毗邻的或在该连接肽内的位置。对应抗体轻链的可变域及恒定域(IgV_L-IgC_L)替换TCRβ链的氨

基端部分直至与细胞外域中在Vβ-Cβ区后的连接肽毗邻的或在该连接肽内的位置。在abTCR-4(IgV$_H$-IgC$_H$1-TCRβ/IgV$_L$-IgC$_L$-TCRα)设计中,抗体重链的可变域及第一恒定域(IgV$_H$-IgC$_H$1)替换TCRβ链的氨基端部分直至与细胞外域中在Vβ-Cβ区后的连接肽毗邻的或在该连接肽内的位置。对应抗体轻链的可变域及恒定域(IgV$_L$-IgC$_L$)替换TCRα链的氨基端部分直至与细胞外域中在Vα-Cα区后的连接肽毗邻的或在该连接肽内的位置。嵌合α及β链经由两个二硫键二聚,一个在IgC$_L$与IgC$_H$1域之间,且一个在TCRα与β链中的连接肽之间。3×-Flag标签视情况与TCRα链细胞质区的C端融合,且HA标签视情况与TCRβ链细胞质区的C端融合。

[0598] 在一个abTCR-3实施方案中,一条链包括SEQ ID NO:23(抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-3)的序列,其中抗AFP158/HLA-A*02:01抗体(SEQ ID NO:38)的IgV$_H$域与IgC$_H$1域(SEQ ID NO:39)融合,后者与SEQ ID NO:15融合,TCRα链的一部分包括TCRα链的细胞外域中在Vα-Cα区后的连接肽的一部分,且另一条链包括SEQ ID NO:24的序列,其中抗AFP158/HLA-A*02:01抗体(SEQ ID NO:40)的IgV$_L$域与IgC$_L$域(SEQ ID NO:41)融合,后者与SEQ ID NO:16融合,TCRβ链的羧基部分包括TCRβ链的细胞外域中在Vβ-Cβ区后的连接肽的一部分。在一个abTCR-4实施方案中,一条链包括SEQ ID NO:25(抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-4)的序列,其中抗AFP158/HLA-A*02:01抗体(SEQ ID NO:40)的IgV$_L$域与IgC$_L$域(SEQ ID NO:41)融合,后者与SEQ ID NO:15融合,TCRα链的一部分包括TCRα链的细胞外域中在Vα-Cα区后的连接肽的一部分,且另一条链包括SEQ ID NO:26的序列,其中抗AFP158/HLA-A*02:01抗体(SEQ ID NO:38)的IgV$_H$域与IgC$_H$1域(SEQ ID NO:39)融合,后者与SEQ ID NO:16融合,TCRβ链的羧基部分包括TCRβ链的细胞外域中在Vβ-Cβ区后的连接肽的一部分。

[0599] 在abTCR-5(IgV$_H$-IgC$_H$1-TCRγ/IgV$_L$-IgC$_L$-TCRδ)设计中,抗体重链的可变域及第一恒定域(IgV$_H$-IgC$_H$1)替换TCRγ链的氨基端部分直至与TCRγ链的细胞外域中在Vγ-Cγ区后的连接肽毗邻的或在该连接肽内的位置。对应抗体轻链的可变域及恒定域(IgV$_L$-IgC$_L$)替换TCRδ链的氨基端部分直至与TCRδ链的细胞外域中在Vδ-Cδ区后的连接肽毗邻的或在该连接肽内的位置。在abTCR-6(IgV$_H$-IgC$_H$1-TCRδ/IgV$_L$-IgC$_L$-TCRγ)设计中,抗体重链的可变域及第一恒定域(IgV$_H$-IgC$_H$1)替换TCRδ链的氨基端部分直至与TCRδ链的细胞外域中在Vδ-Cδ区后的连接肽毗邻的或在该连接肽内的位置。对应抗体轻链的可变域及恒定域(IgV$_L$-IgC$_L$)替换TCRγ链的氨基端部分直至与TCRγ链的细胞外域中在Vγ-Cγ区后的连接肽毗邻的或在该连接肽内的位置。嵌合γ及δ链经由两个二硫键二聚,一个在IgC$_L$与IgC$_H$1域之间,且一个在TCRγ与δ链中的连接肽之间。3×flag标签视情况与TCRγ链细胞质区的C端融合,且HA标签视情况与TCRδ链细胞质区的C端融合。

[0600] 在一个abTCR-5实施方案中,一条链包括SEQ ID NO:30(抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-5)的序列,其中抗AFP158/HLA-A*02:01抗体(SEQ ID NO:38)的IgV$_H$域与IgC$_H$1域(SEQ ID NO:39)融合,后者与SEQ ID NO:20融合,TCRγ链的一部分包括TCRγ链的细胞外域中在Vγ-Cγ区后的连接肽的一部分,且另一条链包括SEQ ID NO:29的序列,其中抗AFP158/HLA-A*02:01抗体(SEQ ID NO:40)的IgV$_L$域与IgC$_L$域(SEQ ID NO:41)融合,且随后与SEQ ID NO:19融合,TCRδ链的羧基部分包括TCRδ链的细胞外域中在Vδ-Cδ区后的连接肽的一部分。在一个abTCR-6实施方案中,一条链包括SEQ ID NO:34(抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-6)的序列,其中抗AFP158/HLA-A*02:01抗体(SEQ ID NO:40)的IgV$_L$域与IgC$_L$域(SEQ ID NO:

41)融合,后者与SEQ ID NO:20融合,TCRγ链的一部分包括TCRγ链的细胞外域中在Vγ-Cγ区后的连接肽的一部分,且另一条链包括SEQ ID NO:33的序列,其中抗AFP158/HLA-A*02:01抗体(SEQ ID NO:38)的IgV_H域与IgC_H1域(SEQ ID NO:39)融合,后者与SEQ ID NO:19融合,TCRδ链的羧基端部分包括TCRδ链的细胞外域中在Vδ-Cδ区后的连接肽的一部分。

[0601] 如图1B中所示,也涵盖四个abTCR设计中的每一者的变体。所述变体可包括改变细胞外域的长度,例如(i)通过在由IgC与TCR融合形成的接合点处添加残基进行延长或(ii)通过删除TCR连接肽N端的残基进行缩短。abTCR-6的此类变体的实施方案为abTCR-6MD,其中一条链包括SEQ ID NO:36(抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-6MD)的序列,其中抗AFP158/HLA-A*02:01抗体(SEQ ID NO:40)的IgV_L域与IgC_L域(SEQ ID NO:41)融合,后者与SEQ ID NO:22融合,TCRγ链的羧基端部分包括在TCRγ链中在Vγ-Cγ区后的连接肽的较长(相较于abTCR-6而言)部分,且另一条链包括SEQ ID NO:35的序列,其中抗AFP158/HLA-A*02:01抗体(SEQ ID NO:38)的IgV_H域与IgC_H1域(SEQ ID NO:39)融合,后者与SEQ ID NO:21融合,TCRδ链的羧基端部分包括TCRδ链的Vδ-Cδ区后的连接肽的较长(相较于abTCR-6而言)部分。abTCR-5的此类变体的实施方案为abTCR-5MD,其中一条链包括SEQ ID NO:31(抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-5MD)的序列,其中抗AFP158/HLA-A*02:01抗体(SEQ ID NO:40)的IgV_L域与IgC_L域(SEQ ID NO:41)融合,后者与SEQ ID NO:21融合,TCRδ链的羧基端部分包括TCRδ链的Vδ-Cδ区后的连接肽的较长(相较于abTCR-5而言)部分,且另一条链包括SEQ ID NO:32的序列,其中抗AFP158/HLA-A*02:01抗体(SEQ ID NO:38)的IgV_H域与IgC_H1域(SEQ ID NO:39)融合,后者与SEQ ID NO:22融合,TCRγ链的羧基端部分包括TCRγ链中在Vγ-Cγ区后的连接肽的较长(相较于abTCR-5而言)部分。abTCR-4的此类变体的实施方案为abTCR-4MD,其中一条链包括SEQ ID NO:27(抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-4MD)的序列,其中抗AFP158/HLA-A*02:01抗体(SEQ ID NO:40)的IgV_L域与IgC_L域(SEQ ID NO:41)融合,后者与SEQ ID NO:17融合,TCRα链的羧基端部分包括在Vα-Cα区后的连接肽的较长(相较于abTCR-4而言)部分,且另一条链包括SEQ ID NO:28的序列,其中抗AFP158/HLA-A*02:01抗体(SEQ ID NO:38)的IgV_H域与IgC_H1域(SEQ ID NO:39)融合,后者与SEQ ID NO:18融合,TCRβ链的羧基端部分包括在Vβ-Cβ区后的连接肽的较长(相较于abTCR-4而言)部分。

[0602] 其他变化可包括其他效应域(例如,CD28的细胞内域)与TCRα/β/δ/γ链中的任一者的C端末端融合。另一变化可包括改变IgV与IgC域之间的连接区域。

[0603] 实施例2:abTCR在T细胞系中的表达

[0604] 在成熟T细胞中,TCR-CD3复合体由四个二聚模块构成:TCRαβ(或TCRγδ)、CD3δε、CD3γε及CD3ζζ,其视为经由膜内及膜外接触结合以形成完整复合体,如图2中所示(根据Wucherpfennig KW等人,Structural biology of the T-cell receptor:insights into receptor assembly,ligand recognition,and initiation of signaling.Cold Spring Harb Perspect Biol.2010Apr;2(4):a005140)。复合体组装发生在内质网(ER)中。仅完整的TCR-CD3复合体转移至高基氏体(Golgiapparatus)中,所述完整的TCR-CD3复合体在高基氏体中经历糖基化过程且被输送至T细胞的质膜。不完整的TCR自高基氏体定向至溶酶体,且在溶酶体中降解。

[0605] 为了测试T细胞中的abTCR表达且检查abTCR是否可像内源性TCR一样起作用招募CD3分子及实现abTCR-CD3复合体于T细胞表面上的表达,将abTCR构建体引入突变型

JurkatT细胞系J.RT3-T3.5中。不同于Jurkat，αβTCR阳性白血病T细胞系J.RT3-T3.5为缺乏TCRβ亚单元表达的Jurkat突变株。因为在无TCRβ亚单元的情况下，TCR-CD3复合体的组装减弱，所以TCR及CD3均无法输送至J.RT3-T3.5细胞中的质膜。

[0606] 通过蛋白免疫印迹法检测abTCR表达

[0607] 用抗AFP158/HLA-A*02:01抗体的IgV_H及IgV_L区产生五组abTCR构建体(abTCR-3、-4、-5、-6、-6MD)。用abTCR-3(SEQ ID NO:23及24)、abTCR-4(SEQ ID NO:25及26)、abTCR-5(SEQ ID NO:29及30)、abTCR-6(SEQ ID NO:33及34)或abTCR-6MD(SEQ ID NO:35及36)构建体转导J.RT3-T3.5及Jurkat细胞，且在蛋白免疫印迹法中使用抗Flag或抗HA抗体检测abTCR的个别亚单元的表达(图3)。针对各构建体，将两个亚单元亚克隆至两个单独慢病毒载体中。为了表达完整的abTCR杂二聚体，用两种载体转导T细胞。TCRβ及TCRδ嵌合体用HA标记，而TCRα及TCRγ嵌合体则用连接在abTCR亚单元的C端的3×Flag标记。携带HA或3×Flag标签的TCR链在图3中用括弧指示，在各abTCR设计的标记下方。

[0608] 在J.RT3-T3.5及Jurkat中的HA标记嵌合体(图3，抗HA组)中，abTCR-3中的IgV_L-IgC_L-TCRβ亚单元展现最高表达，其次为abTCR-6及abTCR-6MD中的IgV_H-IgC_H1-TCRδ亚单元及abTCR-4中的IgV_H-IgC_H1-TCRβ亚单元。在3×Flag标记嵌合体(图3，抗flag组)中，观察到abTCR-6及abTCR-6MD中的IgV_L-IgC_L-TCRγ表达最高，其次为ab-TCR-4中的IgV_L-IgC_L-TCRα。在所测试的5组构建体中，abTCR-5的两条链(IgV_H-IgC_H1-TCRγ/IgV_L-IgC_L-TCRδ)均展现最低表达。abTCR-6MD的TCRδ链的表达水平类似于abTCR6，而abTCR-6MD的TCRγ链的表达水平则低于abTCR6所观察到的表达水平。经转导细胞的百分比及经转导细胞内的表达水平均会影响蛋白免疫印迹法中所检测到的信号。因此，接下来执行流式细胞术以测定abTCR于细胞表面上的表达水平。

[0609] 通过流式细胞术检测abTCR细胞表面表达及TCR-CD3复合体形成

[0610] 将以上所述的5对嵌合abTCR链(abTCR-3、-4、-5、-6、-6MD)分别转导至J.RT3-T3.5(图4A至图4C)及Jurkat(图5A至图5C)细胞中。通过以下评估经abTCR构建体转导的细胞：(i)用于评估J.RT3-T3.5细胞上CD3ε表达的拯救的抗CD3ε抗体(图4A)，(ii)用于评估abTCR构建体对TCRαβ在Jurkat细胞中的内源性表达的影响到抗TCRαβ抗体(图5A)，(iii)用于评估经转导abTCR构建体的抗原结合的PE标记的AFP158/HLA-A*02:01四聚物(图4B及图5B)及(iv)用于评估嵌合构建体的表面表达的针对abTCR嵌合体中所用的抗AFP158/HLA-A*02:01抗体的抗个体基因型抗体(图4C及图5C)。

[0611] 至于J.RT3-T3.5细胞，模拟转导不能达成与AFP158/HLA-A*02:01四聚物及抗个体基因型抗体结合且不会引起细胞表面上的CD3ε表达(图4A至图4C)。抗个体基因型抗体在经abTCR-3及abTCR-4转导的J.RT3-T3.5细胞中检测到自abTCR阴性峰延伸的肩峰。相比之下，经abTCR-5、-6及-6MD转导的细胞当用抗个体基因型抗体染色时呈现不同的高荧光强度峰(图4C)。abTCR构建体的功能为能够结合靶抗原AFP158四聚物(图4B)。相较于abTCR-6而言，更大的细胞群体表达abTCR-6MD构建体，如通过abTCR-6MD中较高的AFP158四聚物阳性峰显而易见。然而，经abTCR-6MD转导的细胞似乎每细胞表达与经abTCR-6转导的细胞类似的拷贝数，因为AFP158四聚物阳性峰具有类似的平均荧光强度(MFI)。另外，abTCR构建体的表达拯救了CD3ε在J.RT3-T3.5细胞中的细胞表面表达(图4A)。这是出人意料的，因为TCR的恒定域一直都归因于与CD3链的相互作用(由以下综述：Kuhns and Davis,TCR Signaling

Emerges from the Sum of Many Parts,Front Immunol.2012;3:159,Wang and Reinherz,The structural basis ofαβT-lineage immune recognition:TCR docking topologies,mechanotransduction,and co-receptor function,Immunol Rev.2012,250:102)。因为嵌合体将TCR恒定域替换为IgC,所以我们证实了TCR恒定域并非CD3与TCR复合体组装所必需的。当经abTCR-6及abTCR-6MD转导的细胞用抗CD3ε及AFP158/HLA-A*02:01四聚物共染色且通过流式细胞术分析时,我们证实CD3ε+J.RT3-T3.5细胞也为AFP158四聚物阳性的(图6)。这表明外源性abTCR嵌合体形成了可结合其同源抗原且拯救CD3复合体于J.RT3-T3.5细胞上的细胞表面表达的功能性受体。

[0612] 也在Jurkat细胞(αβTCR阳性T细胞系)中,使用含抗AFP158/HLA-A*02:01抗体的abTCR-3、-4、-5、-6及-6MD构建体执行同一组实验(图5A至图5C)。就AFP158四聚物染色(图5B)及抗个体基因型抗体结合(图5C)而言,结果与在J.RT3-T3.5细胞中观察到的一致。经转导细胞也用抗TCRα/β抗体染色以测定abTCR构建体对内源性TCRα/β链的表达的影响。虽然经模拟转导的Jurkat细胞表达高含量的TCRα/β,但在经abTCR转导的细胞中的每一者中检测到TCRα/β阴性群体,如TCRα/β峰左侧的肩峰(图5A)。这些资料表明,abTCR嵌合体的表达竞争CD3链,导致内源性TCRα/β的表面表达减少。

[0613] 合并蛋白免疫印迹法与流式细胞术实验的观察结果,我们假定在经abTCR-3及-4转导的细胞中,一些内源性TCRα亚单元可与abTCR嵌合体的外源性β链配对,形成可输送至细胞表面的TCR-CD3复合体。或者,abTCR-3及-4可具有不同构形,其限制了表位对抗个体基因型抗体的暴露。在经abTCR-3转导的J.RT3-T3.5及Jurkat细胞中,IgV_L-IgC_L-TCRβ链的高度表达(根据蛋白免疫印迹法,图3)导致较大百分比的J.RT3-T3.5细胞于细胞表面上表达CD3ε(图4A)且经abTCR-3转导的Jurkat细胞子组中内源性TCRα/β表达减少。在经abTCR-4转导的细胞中,IgV_H-IgC_H1-TCRβ链也导致J.RT3-T3.5细胞中的CD3ε表达且Jurkat细胞中的内源性TCRα/β表达减少,但减少程度低得多,因为abTCR-4中的嵌合abTCRβ链表达远低于abTCR-3(根据蛋白免疫印迹法,图3)。

[0614] 至于经abTCR-3及-4转导的细胞,预期外源性TCRβ嵌合体与TCRαβ+T细胞中的内源性TCRα链配对使得可用于与外源性TCRα嵌合体链正确配对的TCRβ嵌合体链库减少。当表达abTCR-5、-6或-6MD构建体时,这在TCRαβ+T细胞中将不成问题,其中嵌合体经产生含TCRδ及TCRγ链。abTCR阳性峰的高MFI与表达abTCR-5、-6或-6MD构建体的J.RT3-T3.5及Jurkat细胞中大量正确配对的嵌合体一致。反之,使用abTCR-3及-4构建体(其中嵌合体经产生含TCRα及TCRβ链)在TCRδγ+T细胞中进行表达可优选避免外源性嵌合链与内源性TCRδ及TCRγ链的配对。

[0615] 实施例3.abTCR在原代T细胞中的表达

[0616] 鉴于已证实abTCR构建体可成功转导至T细胞系中且于细胞表面上与CD3复合体一起表达为功能性抗原结合受体,我们接下来测试abTCR在原代T细胞中的表达。

[0617] abTCR在CD4+及CD8+原代T细胞中表达

[0618] 自健康供体分离外周血液淋巴细胞且用编码抗AFP158/HLA-A*02:01结合部分的abTCR-6MD构建体(SEQ ID NO:35及36)转导。将abTCRγ及δ亚单元亚克隆至相同慢病毒载体中以转导初级人类T细胞。转导5天后,abTCR-T细胞及经模拟转导的细胞用AFP158四聚物及CD4及CD8抗体共染色,且通过流式细胞术分析。图7A显示CD8对比抗原(AFP158四聚物)结

合的散布图，而图7B显示CD8对比CD4的散布图。在经模拟转导的T细胞中，CD4:CD8比为约2:1(图7B上图)。在经abTCR-6MD构建体转导的细胞中观察到相同的CD4:CD8比(图7B中图)。我们发现，在经abTCR-6MD转导的细胞中AFP158四聚物$^{+}$群体中CD4:CD8比也为约2:1(参见图7B下图及图7A中的闸控)。这表明abTCR嵌合体在CD4+及CD8+原代T细胞中均可表达。

[0619] 外源性abTCR链与CD3复合体物理结合

[0620] 鉴于T细胞系中的abTCR表达能够拯救CD3ε在J.RT3-T3.5细胞中的表面表达，我们通过共免疫沉淀(co-ip)测试在原代T细胞中表达的abTCR构建体是否与CD3复合体中的个别链物理结合。使用抗CD3及抗CD28刺激原代T细胞，且随后使其经模拟转导或用编码抗AFP158/HLA-A*02:01结合部分的abTCR-6MD构建体(SEQ ID NO:35及36)转导。转导十二天后，abTCR-T细胞与SK-HEP-1-AFP-MG再共培养12天以富集AFP158四聚物$^{+}$细胞。随后用毛地黄皂苷(0.1％)溶解缓冲液溶解细胞且使用抗Flag抗体，经由3×Flag标签免疫沉淀TCRγ链。如图8中所示，CD3δ、CD3ε、CD3γ及CD3ζ链与abTCRγ嵌合体共免疫沉淀，证明经转导的abTCR嵌合体与内源性CD3复合体物理结合。在与抗Flag免疫沉淀的经模拟转导的样品中观察到的MW高于CD3ε的条带为非特异性条带。

[0621] 在JRT3-T3.5及Jurkat细胞系中进行类似的共免疫沉淀实验。用编码抗AFP158/HLA-A*02:01结合部分的abTCR-6MD构建体(SEQ ID NO:35及36)转导JRT3-T3.5及Jurkat细胞系。转导5天后，使用CELLection生物素黏合剂试剂盒自JRT3-T3.5及Jurkat细胞系纯化AFP158四聚物$^{+}$群体。经abTCR-6MD转导且经AFP158四聚物纯化的Jurkat及JRT3-T3.5细胞分别命名为Jurkat-abTCR纯及JRT3-T3.5-abTCR纯。JRT3-T3.5、JRT3-T3.5-abTCR纯、Jurkat及Jurkat-abTCR纯细胞经扩增且在0.1％毛地黄皂苷溶解缓冲液中溶解。使用抗Flag抗体(Sigma)及用于免疫沉淀的Dynabeads蛋白质G(Life Technologies)，根据标准方案执行共免疫沉淀。

[0622] 实施例4.表征经含有相同的抗AFP158/HLA-A*02:01可变域的abTCR-6MD及CAR构建体转导的T细胞的生物活性

[0623] 经abTCR转导的T细胞可特异性杀伤抗原阳性癌细胞

[0624] 原代T细胞经模拟转导或经编码含有抗AFP158/HLA-A*02:01scFv的CAR(SEQ ID NO:37)或含有相同抗AFP158/HLA-A*02:01可变域的abTCR-6MD(SEQ ID NO:35及36)的慢病毒载体转导。通过用经PE标记的AFP158/HLA-A*02:01四聚物染色来测定转导效率(图9A)。使用具有类似转导速率的T细胞群体(CART为32％且abTCR为34％)来测试其杀伤癌细胞系的能力。使用三个细胞系：HepG2(AFP+/HLA-A2+)、SK-HEP-1(AFP-/HLA-A2+)及SK-HEP-1-AFP-MG(经AFP袖珍基因转导的SK-HEP-1)，效靶比为2.5:1。温育16小时后，使用Cytox96非放射性细胞毒性分析(Promega)测量比溶胞率。如图9B中所示，经携带抗AFP158/HLA-A*02:01结合部分的CAR及abTCR-6MD转导的T细胞定向杀伤抗原阳性细胞系HepG2及SK-HEP-1-AFP-MG，但不杀伤抗原阴性细胞系SK-HEP-1。在经abTCR转导的细胞中观察到的比溶胞率水准等效于CAR-T细胞的比溶胞率水准。

[0625] 经abTCR转导的T细胞在抗原刺激后脱粒

[0626] 为了进一步表征经abTCR转导对比经CAR转导的T细胞中的生物活性，我们使用流式细胞术分析来检测CD107a表面表达，作为脱粒活性的量度。如上所述产生含抗AFP158/HLA*02:01结合部分的经abTCR及经CAR转导的T细胞且在1:200稀释的抗CD107a抗体及蛋白

转运抑制剂

[0627] 混合物(eBioscience)存在下,将其与HepG2、SK-HEP-1及SK-HEP-1-AFP-MG细胞一起共温育4小时。在与靶细胞一起共温育之后,经转导T细胞用AFP158/HLA四聚物及抗CD8染色。图10右图显示四聚物阳性、CD8阳性T细胞中的脱粒。如通过CD107a表达所测量,在相继与SK-HEP-1-AFP-MG(实线,灰色填充)、HepG2(虚线,灰色填充)共温育后观察到最高程度的脱粒,而在亲本抗原阴性SK-HEP-1(实线,白色填充)的情况下,经abTCR及CAR转导的T细胞均未观察到脱粒。当使用相同靶细胞时,经abTCR转导的细胞与经CAR转导的细胞之间的脱粒程度类似。这一点与上文T细胞介导的细胞溶解资料一致。综合而言,我们证实,经abTCR转导的T细胞在脱粒(图10)及介导细胞杀伤(图9)方面对抗原阳性癌细胞的响应性与经CAR转导的细胞相等。

[0628] abTCR及CART细胞在肿瘤细胞杀伤中的细胞因子产生及分泌

[0629] 产生经abTCR或CAR转导且具有类似转导速率的T细胞且将其与如上所述的靶细胞一起共温育。在图9B中所示的体外杀伤分析之后,使用Magpix多重系统(Luminex)与Bio-plexPro人类细胞因子8重分析(BioRad)测量IL-2、IL-4、IL-6、IL-8、IL-10、GM-CSF、IFN-γ及TNF-α至培养基中的释放。为了达到分析的检测极限,将来自SK-HEP-1-AFP-MG靶响应的上清液稀释25倍,而所有其他样品则未经稀释。通过已知标准曲线,在减去自培养基释放的细胞因子、单独的标靶及单独的效应细胞之后,确定细胞因子浓度。

[0630] 我们使用高解析度显微镜(资料未示出)估算HepG2表面上的AFP158/HLA-A*02:01复合体的数目为约100个/细胞。在如此低拷贝数的肽/HLA复合体下,使用抗AFP158/HLA-A*02:01抗体进行流式细胞术无法检测显著的MFI位移。相比之下,通过流式细胞术,SK-HEP-1-AFP-MG细胞中的AFP袖珍基因的表达导致MFI发生一个对数位移,表明SK-HEP-1-AFP-MG细胞上的AFP158/HLA-A*02:01复合体的含量显著高于HepG2中。当使用HepG2作为靶细胞且在与经abTCR或CAR转导的T细胞一起共温育16小时之后测量一组八个人类细胞因子(IL-2、IL-4、IL-6、IL-8、IL-10、GM-CSF、IFN-γ、TNF-α)时,培养基中的IL-8、IL-10、GM-CSF、IFN-γ、TNF-α为可检测的(图11A)。经abTCR转导的样品中的细胞因子释放始终低于经CAR转导的样品。当对SK-HEP-1-AFP-MG进行相同分析时,在与经abTCR或CAR转导的原代T细胞一起共温育后检测到我们所测试的8种细胞因子中7种的分泌(图11B)。在所测试的各细胞因子的情况下,含有经abTCR转导的T细胞的样品与CAR-T样品相比,在培养基中检测到的细胞因子的含量为类似的或更低,一些相差超过两倍(例如,IL-2、IFN-γ、TNF-α)。在不存在T细胞的情况下,单独的SK-HEP-1细胞也展现可检测含量(超过背景约3000pg/ml)的IL-6及IL-8。为了测定经转导T细胞对培养基中检测到的细胞因子的来源的贡献,在用于防止细胞因子分泌的蛋白转运抑制剂混合物(eBioscience目录号00498003)的存在下,将具有类似转导效率(34%)的经abTCR及CAR转导的T细胞与靶细胞以2.5:1的比率共培养。处理4小时后,将T细胞用AFP158/HLA-A*02:01四聚物及抗CD4抗体以及抗TNF-α、抗IFN-γ、抗IL-2或抗IL-6抗体染色。使用流式细胞术,对AFP158四聚物$^{+}$细胞进行闸控(图12A至图12H),我们证实,细胞内TNF-α、IFN-γ及IL-2当其与抗原阳性靶细胞共培养时在经abTCR及CAR转导的T细胞中均可表达,但IL-6不行。关于所检查的各细胞因子,SK-HEP-1-AFP-MG中的细胞内细胞因子的含量始终高于HepG2中,从而与靶细胞上的抗原表达水平联是起来。关于各靶细胞群体,针对所测试的各细胞因子,在经abTCR转导的细胞对比经CAR转导的细胞之间,在细胞内细

胞因子方面无显著差异。这表明在细胞因子释放分析方面所见的差异可归因于细胞因子反馈。在经转导的T细胞中不存在细胞内IL-6表明，在图11B中的培养基中检测到的IL-6的来源为SK-HEP-1细胞而非T细胞。

[0631] 为了判定abTCR在CD4+T细胞中的活化是否会导致特异性生物响应，我们研究了细胞内细胞因子在用表达AFP的癌细胞系刺激之后在CD4+、抗AFP158的表达abTCR的T细胞中的表达。将$CD3^+$T细胞用如上所述的抗AFP158abTCR转导且与癌细胞系SK-HEP1-MG(AFP+)、SK-HEP1(AFP-)或HEPG2(AFP+)一起在蛋白转运抑制剂存在下温育4小时。作为阴性对照，在不存在任何癌细胞系的情况下温育经abTCR转导的T细胞。在温育后，将T细胞用抗IFNγ、抗IL2或抗TNFα抗体染色，且用AFP-四聚物-PE及抗CD4共染色。通过流式细胞术分析针对abTCR表达闸控的细胞的粒度及细胞因子表达(图13，Y轴为侧散射，X轴为细胞因子染色)。在经抗AFP158abTCR转导的T细胞与AFP+癌细胞系SK-HEP1-MG及HEPG2一起温育之后诱导出IFNγ、IL2及TNFα的表达，但当与AFP-细胞系SK-HEP1一起温育或在不存在任何癌细胞系的情况下温育时未诱导出，表明abTCR在CD4+T细胞中的抗原特异性活化。

[0632] abTCR及CART细胞中的T细胞耗尽标记物在与靶细胞共培养后的表达

[0633] 为了检查在抗原刺激后于经abTCR及CAR转导的细胞上表达的耗尽标记物的含量，使用EasySep人类T细胞分离试剂盒(Stem Cell Technologies)，由富含PBMC的全血制备$CD3^+$T细胞，且用如上所述的CD3/CD28Dynabeads活化。通过流式细胞术，经活化及扩增的细胞群体为>99％$CD3^+$。随后用编码含有抗AFP158/HLA-A*02:01scFv的CAR(SEQ ID NO:37)或含有相同抗AFP158/HLA-A*02:01可变域的abTCR-6MD(SEQ ID NO:35及36)的慢病毒载体转导这些细胞7-9天。将经转导细胞与靶细胞一起以2.5:1的效靶比共培养16小时且用AFP158四聚物及抗CD8抗体以及用于耗尽标记物PD-1、TIM-3或LAG-3的抗体共染色。通过对四聚物$^+$(也即，经转导)T细胞进行闸控，通过流式细胞术分析经转导T细胞上耗尽标记物的含量。在独立地流式细胞术实验中，我们测定CD8-四聚物$^+$T细胞为CD4+的(资料未示出)。

[0634] 在暴露于表达AFP的靶细胞(HepG2及SK-HEP-1-AFP-MG)之后，在CD8-四聚物$^+$T细胞中观察到PD-1上调，而在CD8+四聚物$^+$T细胞中观察到LAG-1及TIM-3上调(图14)。在所有情况下，在经CAR转导的T细胞上

[0635] 观察到的耗尽标记物的上调程度等于或高于在经abTCR转导的T细胞上观察到的。这表明，经abTCR转导的T细胞可导致较低程度的T细胞耗尽，促使T细胞在体内停留较久。测定在所测试条件下对耗尽标记物中的每一者呈阳性的细胞的百分比且示出于表2中。

[0636] 表2

[0637]

靶细胞系	T细胞子组	PD1 (%)		TIM3 (%)		LAG3 (%)	
		CAR	abTCR	CAR	abTCR	CAR	abTCR
HEPG2	CD8	11	5.0	33	15	21	7.7
	CD4	41	22	22	6.8	2.0	0.8
SK-HEP1	CD8	3.2	2.0	7.3	2.2	4.9	2.8
	CD4	27	14	8.1	2.0	1.0	0.5
SK-HEP1-AFP MG	CD8	42	35	45	34	88	81
	CD4	87	81	46	34	32	24
仅T细胞	CD8	1.7	1.1	1.1	0.5	1.4	1.0
	CD4	15	7.4	2.2	0.4	0.4	0.2

[0638] T细胞分化标记物在abTCR及CART细胞中的表达

[0639] 为了判定抗AFP158abTCR是否可以在体外扩增期间延迟T细胞分化，我们测量三种T细胞分化标记物的细胞表面表达，所述T细胞分化标记物为记忆T细胞标记物CCR7及CD28、及最后分化标记物颗粒酶B。T细胞用编码含有抗AFP158/HLA-A*02:01scFv的CAR(SEQ ID NO:37)或含有相同抗AFP158/HLA-A*02:01可变域的abTCR-6MD(SEQ ID NO:35及36)的慢病毒载体转导，用针对这些标记物的抗体染色，且在病毒转导之后第10-12天通过流式细胞术分析(图15)。结果显示，关于CD4+及CD8+T细胞，相对于CART细胞而言，abTCRT细胞表达较多CCR7及CD28，但表达较少颗粒酶B，表明在T细胞体外扩增之后，抗AFP158abTCRT细胞的分化程度低于抗AFP158CART细胞。

[0640] 比较抗AFPabTCR-6MD与abTCR-7构建体

[0641] 比较经转导以表达抗AFP158/HLA-A*02:01abTCR-6MD的原代T细胞的细胞生长与经具有相同抗体可变域的抗AFP158/HLA-A*02:01abTCR-7转导的T细胞的细胞生长。在第0天，在100U/mlIL-2存在下，通过αCD3/αCD28珠粒(比率1:1)活化6.7×10^5个T细胞。在第1天，用编码抗AFP158/HLA-A*02:01abTCR-6MD(具有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的TCRδ嵌合体亚单元及具有SEQ ID NO:36的氨基酸序列的TCRγ嵌合体亚单元)的慢病毒载体或编码抗AFP158/HLA-A*02:01abTCR-7(具有SEQ ID NO:81的氨基酸序列的TCRδ嵌合体亚单元及具有SEQ ID NO:82的氨基酸序列的TCRγ嵌合体亚单元)的慢病毒载体以MOI4转导经活化的T细胞。随后在IL-2存在下培养及扩增经转导T细胞9-10天。在第1天、第5天、第7天及第9天计数细胞数目。如图16A中所示，经abTCR-6-MD转导的T细胞的生长比经abTCR-7转导的T细胞快，截止第9天，前者的活细胞几乎为后者的两倍。在第9天，通过蛋白免疫印迹分析，针对经FLAG标记的构建体评估abTCR-6MD及abTCR-7构建体在经转导的T细胞中的表达。简言之，将5,000,000经转导T细胞溶解于100μl溶解缓冲液中且使用NuPage系统，在4-12％聚丙烯酰氨凝胶上分离出13μl裂解物。使用小鼠抗FLAG抗体(1μg/ml)检测abTCRγ链且使用小鼠抗CD3ζ(1μg/ml)检测内源性CD3。如图16B中所示，abTCR-7构建体的表达水平高于abTCR-6MD构建体。使用ImageJ软件定量抗FLAG条带的裂解物的强度，针对对应抗CD3ζ条带标准化，且显示abTCR-7的表达相较于abTCR-6MD而言相对增加20％。比较抗AFP158/HLA-A*02:01abTCR-6MDT细胞与抗AFP158/HLA-A*02:01abTCR-7T细胞的靶细胞杀伤活性。使原代T细

胞经模拟转导或用以上所述的编码抗AFP158/HLA-A*02:01abTCR-6MD或抗AFP158/HLA-A*02:01abTCR-7构建体的慢病毒载体转导。测试经abTCR-6MD或abTCR-7转导的T细胞在5:1的效靶比下杀伤SK-HEP-1(AFP-/HLA-A2+)及SK-HEP-1-AFP-MG(经AFP袖珍基因转导的SK-HEP-1)细胞的能力。在16小时时如上所述测量特异性杀伤量。如图16C中所示,含抗AFP158/HLA-A*02:01结合部分的abTCR-6MD构建体相比于含相同抗体可变域的abTCR-7,AFP阳性SK-HEP-1-AFP-MG细胞的比溶胞率类似。

[0642] 实施例5.表征经具有相同抗人类CD19可变域的abTCR-6MD及CAR构建体转导的T细胞的生物活性

[0643] 在实施例4中,所用抗体部分为TCR-模拟,其结合肽/MHC复合体作为抗原。为了证明abTCR设计也对传统抗体标靶(细胞表面抗原)有效,使用基于针对人类CD19的抗体的构建体进行一组类似的实验。

[0644] 经CD19abTCR转导的T细胞可杀伤CD19阳性癌细胞

[0645] 使原代T细胞经模拟转导或用编码含有抗CD19结合域的CAR(来自例示性抗CD19抗体的SEQ ID NO:44,其包含具有IgV_H域,SEQ ID NO:45及IgV_L域,SEQ ID NO:46的scFv)或含有相同抗CD19可变域的abTCR-6MD(SEQ ID NO:42及43)的慢病毒载体转导。使用经CAR或abTCR转导(转导率均为25%)的T细胞测试其在5:1的效靶比下杀伤B细胞系JeKo-1(CD19+)、IM9(CD19+)、Jurkat(CD19-)及THP-1(CD19-)的能力。在16小时时使用与关于图9B所述相同的方法测量特异性杀伤量。如图17中所示,含抗CD19结合部分的CAR及abTCR-6MD定向杀伤类似量的CD19阳性JeKo-1及IM9细胞,但不杀伤CD19阴性Jurkat及THP-1。

[0646] 在肿瘤细胞杀伤过程中abTCR及CART细胞的细胞因子分泌

[0647] 在细胞因子释放分析中使用与在上文癌症杀伤实验中所用相同的经转导T细胞群体,将其与作为靶细胞的JeKo-1、IM9、THP-1及Jurkat一起共温育。16小时后,测量一组八种人类细胞因子(IL-2、IL-4、IL-6、IL-8、IL-10、GM-CSF、IFN-γ、TNF-α)。在与CD19+靶细胞而非CD19-细胞一起共温育后,在经CAR转导的T细胞的培养基中检测到所有所测试的细胞因子(图18A及图18B)。在与经abTCR转导的T细胞一起共温育的样品中,在含CD19+细胞的abTCR样品中,除IL-10外的所有所测试细胞因子的释放量较低。抗CD19抗体构建体的这些发现类似于抗AFP158/HLA-A*02:01抗体构建体的那些发现:虽然所观察到的CAR-T细胞与经abTCR转导的细胞的癌细胞杀伤情况类似,但当使用经abTCR转导的T细胞时,细胞因子释放量较低。这可为一大优势:在大量细胞因子释放导致不当生理作用的情况下,可使用abTCR。

[0648] 为了判定abTCR在CD4+T细胞中的活化是否会导致特异性生物响应,我们研究了细胞内细胞因子在用表达CD19的癌细胞系刺激之后在CD4+、抗CD19的表达abTCR的T细胞中的表达。将$CD3^+$T细胞用克隆5-13abTCR-6MD(具有抗CD19克隆5-13结合部分的abTCR-6MD,其包含SEQ ID NO:56及54的氨基酸序列)转导且在蛋白转运抑制剂存在下,与癌细胞系Raji(CD19+)、Raji-CD19KO(CD19-)或Jeko-1(CD19+)一起温育4小时。作为阴性对照,在不存在任何癌细胞系的情况下温育经abTCR转导的T细胞。在温育之后,将T细胞用抗IFNγ、抗IL2或抗TNFα抗体染色,且用抗人类Fab(CD19)及抗CD4共染色。通过流式细胞术分析

[0649] 针对abTCR表达闸控的细胞的粒度及细胞因子表达(图19,Y轴为侧散射,X轴为细胞因子染色)。在经抗CD19abTCR转导的T细胞与CD19+癌细胞系Raji及Jeko-1一起温育之后

诱导出IFNγ、IL2及TNFα的表达，但当与CD19-细胞系Raji-CD19KO一起温育或在不存在任何癌细胞系的情况下温育时未诱导出，表明abTCR在CD4+T细胞中的抗原特异性活化。

[0650] abTCR及CART细胞中的T细胞耗尽标记物在与靶细胞共培养后的表达

[0651] 如上所述针对抗AFP158嵌合受体测定在抗原刺激后于经抗CD19abTCR及CAR转导的细胞上表达的耗尽标记物的水平。将所述细胞用克隆5-13abTCR-6MD或含有相同抗CD19可变域的CAR转导。靶细胞系包括Raji(CD19+)、Raji-CD19KO(CD19-)及Jeko-1(CD19+)。测定在所测试条件下对耗尽标记物中的每一者呈阳性的细胞的百分比且示出于表3中。

[0652] 表3

[0653]

靶细胞系	T细胞子组	PD1 (%)		TIM3 (%)		LAG3 (%)	
		CAR	abTCR	CAR	abTCR	CAR	abTCR
Raji	CD8	14	4.0	47	37	95	93
	CD4	74	41	29	24	65	47
Raji-CD19 KO	CD8	2.9	0.3	54	35	40	29
	CD4	27	7.0	12	13	5.3	4.1
Jeko-1	CD8	14	4.7	48	40	92	76
	CD4	70	33	36	30	58	31
仅T细胞	CD8	1.7	0.2	5.1	9.8	9.4	5.6
	CD4	15	2.2	0.3	1.0	1.1	1.0

[0654] T细胞分化标记物在abTCR及CART细胞中的表达

[0655] 为了判定抗CD19abTCR是否可以在体外扩增期间延迟T细胞分化，我们测量三种T细胞分化标记物的细胞表面表达，所述T细胞分化标记物为记忆T细胞标记物CCR7及CD28、及最后分化标记物颗粒酶B。将T细胞用克隆5-13abTCR-6MD或具有相同抗CD19可变域的CAR转导，用针对这些标记物的抗体染色，且在病毒转导之后第10-12天通过流式细胞术分析(图20)。结果显示，对于CD4+及CD8+T细胞，abTCRT细胞相比于CART细胞而言表达较多CCR7及CD28，但表达较少颗粒酶B，表明在T细胞体外扩增之后，克隆5-13abTCRT细胞的分化程度低于对应CART细胞，这与抗AFP158嵌合受体的观察结果一致。

[0656] abTCR及CART细胞的增殖

[0657] 为了进一步判定abTCRT细胞相比于CART细胞而言是否分化程度较低且增殖潜能较大，我们监测abTCR及CART细胞在其与抗原阳性癌细胞接合之后指示细胞分裂的CFSE荧光的变化。在用克隆5-13abTCR-6MD或具有相同抗CD19可变域的CAR进行病毒转导之后第10天，用CFSE染料标记T细胞，且通过流式细胞术记录基线荧光。将经标记的T细胞与Raji细胞(CD19+癌细胞系)一起在不含细胞因子的培养基中温育。在第2天及第3天，通过流式细胞术测量CD4+及CD8+T细胞的CFSE荧光(图21)。在第2天与第3天之间的CFSE荧光强度减弱量指示细胞增殖量，abTCRT细胞中的CFSE荧光强度减弱量显著高于CART细胞中，表明克隆5-13abTCRT细胞发生的细胞分裂比对应CART细胞多。

[0658] abTCR及CART细胞的嵌合受体内化

[0659] 为了比较T细胞表面abTCR与CAR的内化速率，将T细胞用克隆5-13abTCR-6MD或含

有相同抗CD19可变域的CAR转导，且用识别抗CD19结合部分的经CypHer5E标记的抗个体基因型抗体于冰上染色30分钟，CypHer5E为在酸性pH6.5下发出荧光的pH敏感性染料。随后将所述细胞在37℃下温育指定量的时间，固定，且通过流式细胞术分析粒度及嵌合受体表达(图22，Y轴为侧散射，X轴为CypHer5E染色)。结果显示，在染色90分钟后，几乎所有CAR都内化。相比之下，abTCR的内化速率小得多，且甚至在90分钟时，大部分abTCR仍停留在细胞表面上。

[0660] 比较抗CD19abTCR与cTCR构建体

[0661] 比较经转导以表达抗CD19abTCR-6MD的原代T细胞的细胞生长与经具有相同抗体可变域及跨膜域但含来自TCRδ及TCRγ多肽的恒定区的抗CD19嵌合构建体(cTCR)转导的T细胞的细胞生长。在第0天，在100U/mlIL-2存在下，通过αCD3/αCD28珠粒(比率1:1)活化6.7×10^5个T细胞。在第1天，用编码抗CD19abTCR-6MD(具有SEQ ID NO:56的氨基酸序列的TCRδ嵌合体亚单元及具有SEQ ID NO:54的氨基酸序列的TCRγ嵌合体亚单元)的慢病毒载体或编码抗CD19cTCR(具有SEQ ID NO:75的氨基酸序列的TCRδ嵌合体亚单元及具有SEQ ID NO:76的氨基酸序列的TCRγ嵌合体亚单元)的慢病毒载体以MOI4转导经活化的T细胞。随后在IL-2存在下培养及扩增经转导T细胞9-10天。在第1天、第5天、第7天及第9天计数细胞数目。如图23A中所示，经abTCR转导的T细胞的生长比经cTCR转导的T细胞快，在第9天计数的活细胞前者多达后者的1.7倍以上。

[0662] 比较抗CD19abTCRT细胞与抗CD19cTCRT细胞的靶细胞杀伤活性。使原代T细胞经模拟转导或用编码抗CD19abTCR-6MD或抗CD19cTCR的慢病毒载体转导。测试经abTCR或cTCR转导的T细胞在5:1的效靶比下杀伤CD19阳性靶细胞系Nalm-6的能力。在16小时时如上所述测量特异性杀伤量。如图23B中所示，含抗CD19结合部分的abTCR-6MD构建体引起的CD19阳性Nalm-6细胞的比溶胞率大于含相同抗CD19可变域的cTCR。

[0663] 实施例6.表征经具有相同抗NY-ESO-1/HLA-A*02:01可变域的abTCR-6MD及CAR构建体转导的T细胞的生物活性

[0664] 抗NY-ESO-1/HLA-A*02:01abTCR转导的T细胞可杀伤NY-ESO-1阳性癌细胞

[0665] 使原代T细胞经模拟转导或经用于表达含有抗NY-ESO-1/HLA-A*02:01结合部分的CAR或abTCR-6MD转导，该结合部分包含具有SEQ ID NO:73的氨基酸序列的IgV_L域及具有SEQ ID NO:72的氨基酸序列的IgV_H域。CAR所包含的scFv自N端至C端具有IgV_L域、接头(SEQ ID NO:74)及IgV_H域。如通过流式细胞术分析，经CAR或abTCR转导的T细胞对其各别嵌合受体的表达水平为类似的，且使用所述T细胞测试其在5:1的效靶比下杀伤细胞系IM9(HLA-A2+,NY-ESO-1+)、Colo205(HLA-A2+,NY-ESO-1-)、MDA-231(HLA-A2+,NY-ESO-1-)、MCF7(HLA-A2+,NY-ESO-1-)、JeKo-1(HLA-A2+,NY-ESO-1+)、Raji(HLA-A2+,NY-ESO-1-)、Hep1(HLA-A2+,NY-ESO-1-)及Jurkat(HLA-A2+,NY-ESO-1-)的能力。在16小时时使用与上文所述相同的方法测量特异性杀伤量。如图24中所示，含抗NY-ESO-1/HLA-A*02:01结合部分的CAR及abTCR-6MD定向杀伤类似含量的NY-ESO-1阳性JeKo-1及IM9细胞，但不杀伤其他NY-ESO-1阴性细胞。

[0666] 在肿瘤细胞杀伤过程中abTCR及CART细胞的细胞因子分泌

[0667] 在细胞因子释放分析中使用与在上文癌症杀伤实验中所用相同的经转导T细胞群体，将其与IM9、Colo205、MDA-231、MCF7、JeKo-1、Hep1及Jurkat细胞一起共温育。16小时后，

测量一组四种人类细胞因子(IL-2、GM-CSF、IFN-γ、TNF-α)。在与NY-ESO-1+靶细胞而非大部分NY-ESO-1-细胞一起共温育后,在经CAR及abTCR转导的T细胞的培养基中检测到所有所测试的细胞因子(资料未示出)。重要的是,通过经abTCR转导的T细胞共温育引起的自大部分所测试NY-ESO-1+靶细胞释放的细胞因子的含量显著低于通过经CAR转导的T细胞共温育所引起的(资料未示出)。

[0668] 实施例7.表征经abTCR-6MD构建体转导的自然杀伤T(NKT)细胞及调节T(Treg)细胞的生物活性

[0669] 经抗CD19abTCR转导的NKT细胞

[0670] 通过用生物素-抗体混合物及抗生物素微珠间接磁性标记非$CD3^+$/CD56+细胞(非NKT细胞)且耗尽非NKT细胞以富集$CD3^+$/CD56+NKT细胞,自人类PBMC分离NKT细胞。通过流式细胞术评估所富集的NKT细胞群体中CD3及CD56的表面表达,且示出在图25A中。通过抗CD3/抗CD28珠粒活化NKT细胞,用编码抗CD19abTCR的慢病毒转导,且在含有10%FBS及IL-2(100U/ml)的RPMI-1640中扩增。如通过流式细胞术所测量,对抗CD19结合部分具有特异性的抗个体基因型抗体的转导效率大于80%。将NKT细胞与表达CD19的Raji或RajiCD19基因敲除(CD19ko)癌细胞系一起以5:1的效靶比共温育16小时,随后测量培养基中的细胞因子释放(IL-2、GM-CSF、IFNγ、TNFα)(图25B)。当与CD19阳性Raji细胞而非CD19阴性RajiCD19ko细胞一起温育时,经抗CD19abTCR转导的NKT细胞而非经模拟转导的NKT细胞活化释放出所测试细胞因子中的每一者,表明NKT细胞可经由经转导abTCR与癌细胞上的CD19抗原的结合得到特异性活化。

[0671] 经抗CD19abTCR转导的Treg细胞

[0672] 通过直接磁性标记CD4+/CD25+Treg细胞,自人类PBMC分离Treg细胞。通过流式细胞术评估经分离Treg细胞群体中CD4及CD25的表面表达,且示出在图26A中。通过抗CD3/抗CD28珠粒活化Treg细胞,用编码抗CD19abTCR的慢病毒转导,且在含有10%FBS及IL-2(100U/ml)的RPMI-1640中扩增。如通过流式细胞术所测量,对抗CD19结合部分具有特异性的抗个体基因型抗体的转导效率为80%。将Treg细胞与表达CD19的Raji或RajiCD19基因敲除(CD19ko)癌细胞系一起在5:1的效靶比下共温育16小时,随后测量培养基中的IL-10细胞因子释放(图26B)。当与CD19阳性Raji细胞而非CD19阴性RajiCD19ko细胞一起温育时,经抗CD19abTCR转导的Treg细胞而非经模拟转导的Treg细胞活化释放出IL-10,表明Treg细胞可经由经转导abTCR与癌细胞上的CD19抗原的结合得到特异性活化。

[0673] 实施例8.表征经具有不同抗体重链恒定域的abTCR转导的T细胞的生物活性

[0674] 在前述实施例中,abTCR构建体中所用的抗体部分含有具有SEQ ID NO:39的氨基酸序列的IgG1C_H1域。为了证明abTCR设计也对来自其他免疫球蛋白重链的C_H1域有效,使用基于抗AFP158/HLA-A*02:01抗体的构建体如上所述进行靶细胞杀伤分析,该抗体具有来自IgG1(SEQ ID NO:39)、IgG2(SEQ ID NO:60、61或62)、IgG3(SEQ ID NO:63)或IgG4(SEQ ID NO:64)的C_H1域。分析经abTCR转导的T细胞的AFP158四聚物结合情况作为表面表达的指示(表4)且测试其杀伤HepG2(AFP+/HLA-A2+)、SK-HEP-1(AFP-/HLA-A2+)及SK-HEP-1-AFP-MG(经AFP袖珍基因转导的SK-HEP-1)细胞的能力。温育16小时后,使用Cytox96非放射性细胞毒性分析(Promega)测量比溶胞率。如图27中所示,经携带抗AFP158/HLA-A*02:01结合部分的abTCR中的任一者转导的T细胞定向杀伤抗原阳性细胞系HepG2及SK-HEP-1-AFP-MG,但不

杀伤抗原阴性细胞系SK-HEP-1。重要的是，即使含有非IgG1CH1域的abTCR的表面表达低于含有IgG1CH1的abTCR(参见表4)，但其靶细胞杀伤量类似，表明其可具有增强的功能特性。

[0675] 表4.abTCR表面表达

[0676]

abTCR	AFP158 四聚体+(百分比)
模拟	0.3
IgG1	64.5
IgG2-0C	9.58
IgG2-1C	18.2
IgG2-2C	7.36
IgG3	13.6
IgG4	22.2

[0677] 实施例9.表征经含有共刺激域的abTCR转导的T细胞的生物活性

[0678] 为了证明包括C端共刺激域的abTCR设计的可行性，使用源自CD28和/或4-1BB的共刺激片段设计各种抗AFP158/HLA-A*02:01abTCR构建体(图28)。abTCR由以下组成：含有SEQ ID NO:36的氨基酸序列的TCRγ嵌合亚单元及含有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的TCRδ嵌合亚单元。具有CD28共刺激域的abTCR亚单元具有与其C端融合的SEQ ID NO:70的氨基酸序列，且具有4-1BB共刺激域的亚单元具有与其C端融合的SEQ ID NO:71的氨基酸序列。将abTCR构建体转导至J.RT3-R3.5细胞中，且如上所述使用流式细胞术分析abTCR表达及CD3表面表达拯救。结果概述于表5中。abTCR的表达及其拯救CD3表达的能力在各种含或不含共刺激域的abTCR构建体之间为类似的。在另一实验中，用abTCR构建体转导原代T细胞且通过流式细胞术分析CD8表达及AFP158四聚物结合(表6)。将经abTCR转导的原代T细胞针对AFP158四聚物结合及CD4或CD8表达进行闸控，且通过流式细胞术分析CCR7、CD45RA、CD28及颗粒酶B的表达(表7)。这些结果显示，经转导的T细胞的病毒转导及分化在各种含或不含共刺激域的abTCR构建体之间为类似的。如上所述使用abTCR构建体进行靶细胞杀伤分析。分析经abTCR转导的T细胞杀伤HepG2(AFP+/HLA-A2+)、SK-HEP-1(AFP-/HLA-A2+)及SK-HEP-1-AFP-MG(经AFP袖珍基因转导的SK-HEP-1)细胞的能力。如图29中所示，经abTCR中的任一者转导的T细胞定向杀伤抗原阳性细胞系HepG2及SK-HEP-1-AFP-MG，但不杀伤抗原阴性细胞系SK-HEP-1。

[0679] 为了进一步表征含有共刺激域的abTCR构建体，将经各种abTCR转导的T细胞闸控分为4个不同群体(CD8+/abTCR+;CD8+/abTCR-;CD4+/abTCR+;CD4+/abTCR-)，且通过流式细胞术分析T细胞耗尽标记物PD-1、TIM-3及LAG-3在与HepG2、SK-HEP-1及SK-HEP-1-AFP-MG细胞一起温育后的表达。经各种含有C端共刺激域的abTCR转导的T细胞在通过标靶阳性细胞HepG2及SK-HEP-1-AFP-MG活化之后相比于经缺乏任何共刺激域的abTCR转导的T细胞而言，显示T细胞耗尽未显着增加(资料未示出)。在如上所述的细胞因子释放分析中使用经各种abTCR转导的T细胞，将其与SK-HEP-1及SK-HEP-1-AFP-MG细胞共温育。16小时后，测量一组

四种人类细胞因子(IL-2、GM-CSF、IFN-γ、TNF-α)。在与AFP+SK-HEP-1-AFP-MG细胞而非AFP-SK-HEP-1细胞一起共温育后,在经abTCR转导的T细胞的培养基中检测到所有所测试的细胞因子(图30)。经各种含有C端共刺激域的abTCR转导的T细胞在通过标靶阳性SK-HEP-1-AFP-MG细胞活化之后相比于经缺乏任何共刺激域的abTCR转导的T细胞而言,显示细胞因子释放未显著增加,且在一些情况下,显示细胞因子释放减少。

[0680] 使用抗CD19abTCR构建体重复靶细胞杀伤、T细胞耗尽及细胞因子释放实验,所述抗CD19abTCR构建体是使用源自CD28和/或4-1BB的共刺激片段设计的,如上文所述且图28中所描绘。abTCR由以下组成:含有SEQ ID NO:54的氨基酸序列的TCRγ嵌合亚单元及含有SEQ ID NO:56的氨基酸序列的TCRδ嵌合亚单元。如同抗AFP158/HLA-A*02:01abTCR构建体一样,经含有共刺激域的抗CD19abTCR转导的T细胞的表达类似于经不含任何共刺激域的抗CD19abTCR构建体转导的T细胞(图31及图32)。

[0681] 表5.abTCR及CD3表面表达

[0682]

abTCR	$abTCR^+/CD3^-$ (百分比)	$abTCR^-/CD3^+$ (百分比)	$abTCR^+/CD3^+$ (百分比)
模拟	0.02	2.49	0.03
abTCR-6M	1.11	0.217	93.8
abTCR-6M-1	1.11	0.217	93.8
abTCR-6M-2	1.31	0.259	93.5
abTCR-6M-3	2.8	0.418	83.5
abTCR-6M-4	4.43	0.682	77.6
abTCR-6M-5	3.51	0.685	81.3
abTCR-6M-6	2.91	0.738	77.3
abTCR-6M-7	2.8	1.17	66.4
abTCR-6M-8	3.68	0.892	75.5

[0683] 表6.CD8及abTCR表面表达

[0684]

abTCR	$CD8^+$/四聚体$^+$	$CD8^-$/四聚体$^+$
模拟	0.068	0.013
abTCR-6M	20.6	38.3

[0685]

abTCR-6M-1	28.0	44.7
abTCR-6M-2	23.1	39.2
abTCR-6M-3	24.9	40.0
abTCR-6M-4	18.2	37.1
abTCR-6M-5	14.3	33.3
abTCR-6M-6	16.1	32.6
abTCR-6M-7	19.6	38.8
abTCR-6M-8	7.79	19.6

[0686] 表7.CCR7、CD45RA、CD28及颗粒酶B于CD4+及CD8+abTCRT细胞上的表面表达

[0687]

abTCR	百分比表达 ($CD4^+$/四聚体$^+$-门闸)			百分比表达 ($CD8^+$/四聚体$^+$-门闸)		
	CD28	CCR7	颗粒酶 B	CD28	CCR7	颗粒酶 B
abTCR-6M	60	56	2.4	52	26.5	23.3
abTCR-6M-1	65.9	53.7	2.31	57.1	20.9	21.6
abTCR-6M-2	60.3	53.8	2.41	57.1	19.1	28.5
abTCR-6M-3	60.1	53.7	2.96	54.6	18.9	29.1
abTCR-6M-4	63	52.5	3.11	58.6	20.2	30.1
abTCR-6M-5	56.1	54	3.74	52.2	19.1	34.1
abTCR-6M-6	62.3	54.8	3.1	54.5	19	33.4
abTCR-6M-7	63	52.2	2.4	57.7	18.4	28.1
abTCR-6M-8	55.6	54.1	2.44	57.7	22.8	34.2

[0688] 实施例10.经abTCR转导的T细胞的体内功效研究

[0689] 抗AFP158/HLA-A*02:01抗体在人类肝细胞癌异种移植模型中的体内抗肿瘤活性

[0690] 使用SK-HEP-1-AFP-MG于SCID-beige小鼠中的皮下(s.c.)模型测试经含有抗AFP158/HLA-A*02:01结合部分的abTCR-6MD构建体(SEQ ID NO:35及36)转导的T细胞的体内抗肿瘤活性。将SK-HEP-1-AFP-MG细胞以5×10^6个细胞/小鼠皮下植入SCID-beige小鼠的右侧腹。当平均肿瘤体积达到100mm^3时,基于肿瘤体积将动物随机分成两组(每组8只小鼠),分别接受:(i)经模拟转导的T细胞及(ii)经abTCR转导的T细胞。在随机分组之后立即对动物进行处理,每只小鼠静脉内(i.v.)注射107个经模拟或abTCR转导的T细胞,每两周一次,三个剂量。密切监测小鼠的整体健康状况、可能的不良响应(若存在)及肿瘤体积的变化。在当前剂量及时程下,经模拟及abTCR转导的T细胞均良好耐受。在整个研究中未观察到给药相关的体重变化(图33)。虽然SK-HEP-1-AFP-MG肿瘤在静脉内施用经模拟或abTCR转导的T细胞之后仍继续生长,但经abTCR转导的T细胞处理的肿瘤的生长速率慢于经模拟T细胞处理的肿瘤。如图34A中所示,肿瘤生长曲线的分离始于起始给药后20天。在第31天,观察到

经abTCR转导的T细胞处理的肿瘤有23％生长抑制(t检定,p＝0.018)。

[0691] 进一步在更大的SK-HEP-1-AFP-MG皮下肿瘤中评估经abTCR转导的T细胞的抗肿瘤活性。在携带SK-HEP-1-AFP-MG肿瘤的小鼠的研究中,当平均肿瘤体积达到300mm^{3}时,将动物随机分成两组(每组n＝4只小鼠)。动物不进行处理或每只小鼠接受单一瘤内(i.t.)注射107个经abTCR转导的T细胞。如图34B中所示,瘤内传递经abTCR转导的T细胞减慢了大SK-HEP-1-AFP-MG肿瘤的生长,如通过肿瘤体积随时间推移的变化所测量。未经处理与经abTCR转导的T细胞处理的大SK-HEP-1-AFP-MG肿瘤之间的曲线下面积比较显示,两组之间存在统计学显著差异(双尾t检定,p＝0.04)。综合而言,静脉内及瘤内施用经abTCR转导的T细胞均显著抑制了SK-HEP-1-AFP-MG的已形成的皮下异种移植物的生长。

[0692] 抗CD19抗体在淋巴瘤异种移植模型中的体内抗肿瘤活性

[0693] 在CD19阳性人类淋巴瘤异种移植模型中,在NODSCIDγ(NSG)小鼠中测试经含有例示性抗hCD19抗体结合部分的CAR及abTCR转导的T细胞的体内抗肿瘤活性。自ComparativeBiosciences,Inc.(Sunnyville,California94085)购得Raji-luc-GFP细胞且在RPMI培养基+10％FBS及1％L-谷氨酰胺中在37℃下在含5％CO2的含湿气氛围中培养。Raji-luc-GFP细胞源自CD19阳性伯基特淋巴瘤细胞系Raji,在用编码萤火虫荧光素酶(luc)及绿色荧光蛋白的双重报告基因稳定转染之后,产生可使用生物发光成像体内追踪的细胞。自Jackson Laboratories(Bar Harbor,MEUSA04609)购得NSG小鼠且使其在实验前适应至少7天。将Raji-luc-GFP细胞再悬浮于PBS中且经由尾静脉以1×10^{6}个细胞/100μl/小鼠静脉内(i.v.)植入至NSG小鼠中。肿瘤植入后五天,使用XenogenIVIS成像系统使动物成像以便评估肿瘤负荷。在6.7×10^{5}个光子的平均光子发射下,基于光子发射将小鼠随机分成以下四组(每组n＝6只小鼠):(i)无处理,(ii)经模拟转导的人类T细胞,(iii)经抗CD19CAR-T处理及(iv)经抗hCD19abTCRT细胞处理。在随机分组之后立即以107个细胞/小鼠的剂量用模拟或抗CD19CAR-T细胞静脉内处理动物,每两周一次,3个剂量。

[0694] 在给药之后密切监测动物。使用XenogenIVIS系统进行生物发光成像,一周一次,直至8周。

[0695] 如上所述进行动物研究以评估经具有抗CD19结合部分的abTCR-6MD转导的T细胞的体内抗肿瘤能力。

[0696] 在此研究中使用6-8周龄雌性NSG小鼠。在RPMI培养基+10％FBS及1％L-谷氨酰胺中在37℃下在含5％CO2的含湿气氛围中培养Raji-luc-GFP细胞系。将Raji-luc-GFP细胞再悬浮于PBS中且以1×10^{6}个细胞/100μl/小鼠静脉内植入40只NSG小鼠中。

[0697] 肿瘤植入后四天,使用IvisSpectrum使小鼠成像以确认肿瘤生长。

[0698] 随后基于光子发射针对以下处理将小鼠随机分成六组(每组n＝6只小鼠):1)媒剂(PBS);2)模拟(8×10^{6}个经模拟转导的T细胞);3)克隆5abTCR(8×10^{6}个经具有抗CD19克隆5结合部分的abTCR-6MD转导的T细胞,其包含SEQ ID NO:42及54的氨基酸序列);4)克隆5-3abTCR(8×10^{6}个经具有抗CD19克隆5-3结合部分的abTCR-6MD转导的T细胞,其包含SEQ ID NO:42及43的氨基酸序列);5)克隆5-9abTCR(8×10^{6}个经具有抗CD19克隆5-9结合部分的abTCR-6MD转导的T细胞,其包含SEQ ID NO:55及54的氨基酸序列);及6)克隆5-13abTCR(8×10^{6}个经具有抗CD19克隆5-13结合部分的abTCR-6MD转导的T细胞,其包含SEQ ID NO:56及54的氨基酸序列)。

[0699] 在肿瘤植入及给予8,000,000个受体阳性T细胞之后密切监测动物。在研究期间，给动物称重且进行Xenogen成像，一周两次。使显示出以下状况的动物安乐死且记录为“条件性死亡(conditionaldeath)”:a)急性不良响应:呼吸困难、颤抖、被动行为(食欲不振及昏睡);b)体重减轻超过25％初始体重;及c)肢体麻痹,影响小鼠活动。

[0700] 此实验的结果描绘于图35中,其绘制了来自肿瘤的总发射通量对比给予abTCR细胞或对照后的天数。所有4种CD19-abTCRT细胞都体内靶向且溶解CD19阳性Raji肿瘤,展现出抗CD19抗体在abTCR平台中抑制肿瘤生长的功效。

[0701] 在另一实验中,用8×10^6个经含有相同结合序列的抗CD19abTCR-6MD或抗CD19CAR转导的T细胞处理未植入肿瘤的NSG小鼠,且比较这些经转导T细胞的体内作用。经抗CD19CART细胞处理的小鼠在24小时内死亡,而经抗CD19abTCRT细胞处理的小鼠在5周后仍存活。此结果指示,表达abTCR构建体的T细胞比表达CAR的那些T细胞安全。比较抗CD19abTCR与抗CD19CAR如上所述,将RajiB细胞淋巴瘤Raji-luc-GFP细胞植入NSG小鼠中。随后以每注射样品八只小鼠的分组给小鼠注射5×10^6个经克隆5-13abTCR-6MD(具有抗CD19克隆5-13结合部分的abTCR-6MD,其包含SEQ ID NO:56及54的氨基酸序列)转导的abTCR+T细胞、5×10^6个经克隆5-13CAR(具有抗CD19克隆5-13结合部分的CAR)转导的CAR+T细胞或5×10^6个模拟T细胞。在T细胞植入24小时后收集血清且使用如上所述的LuminexMagpix机器测量血清内人类细胞因子的浓度。细胞因子测量结果示出在图36中。如先前所述,通过荧光素酶活性测量肿瘤负荷,且结果示出在图37(定量)及图27(成像)中。

[0702] 在克隆5-13CAR与克隆5-13abTCRT细胞之间的头对头比较(headtoheadcomparison)中,在早期时间点,相较于CART细胞而言,注射至小鼠中的abTCRT细胞引起快速肿瘤消退,而注射CART细胞的小鼠则直至约五天后才显示出肿瘤消退。在此实验的整个过程中,克隆5-13abTCRT细胞显示出的体内肿瘤抑制功效高于克隆5-13CART细胞。在24小时时的细胞因子测量结果指示,经克隆5-13abTCRT细胞处理的小鼠的细胞因子分泌量也低于经CART细胞处理的小鼠。这些结果证明,抗肿瘤功效并不一定产生过量细胞因子,因为虽然abTCRT细胞的肿瘤抑制效能高于CART细胞,但其细胞因子分泌作用比CART细胞低。

[0703] 在肿瘤植入之后7周时,经克隆5-13abTCRT细胞处理的小鼠都不具有可检测的肿瘤。此时,通过静脉内植入5×10^5个Raji淋巴瘤细胞对3只来自模拟T细胞处理组的小鼠及3只来自克隆5-13abTCRT细胞处理组的小鼠进行再攻击。如先前所述,通过荧光素酶活性测量肿瘤负荷,且结果示出在图39中。在来自模拟T细胞处理组的小鼠中肿瘤迅速生长,但通过经克隆5-13abTCR转导的T细胞达成的先前处理则防止了在经Raji淋巴瘤细胞植入再挑战后的肿瘤生长,表明经abTCR转导的T细胞保留且维持其对抗原起响应的能力。

[0704] 在另一实验中,在注射5×10^6个克隆5-3abTCR-6MD(具有抗CD19克隆5-3结合部分的abTCR-6MD,其包含SEQ ID NO:42及43的氨基酸序列)T细胞或5×10^6个克隆5-3CAR(具有抗CD19克隆5-3结合部分的CAR,SEQ ID NO:44)T细胞之后24小时,自NSG小鼠收集血清。如上所述测量小鼠血清中的细胞因子的浓度。在经克隆5-3CART细胞处理的小鼠中发现高含量的源自T细胞的人类细胞因子及源自小鼠的IL-6。相比之下,经克隆5-3abTCR处理的小鼠展现显著较低的血清细胞因子含量(资料未示出),进一步证明abTCRT细胞对细胞因子过度产生的影响较小。

[0705] 抗CD19抗体在白血病异种移植模型中的体内抗肿瘤活性

[0706] 在CD19阳性人类白血病异种移植模型中，在NSG小鼠中测试经含有例示性抗hCD19抗体结合部分的CAR或abTCR转导的T细胞的体内抗肿瘤活性。NALM-6-luc-GFP细胞为来自纪念斯隆-凯特琳癌症中心(Memorial Sloan Kettering Cancer Center)的Eric Smith实验室的礼物且在RPMI培养基+10％FBS中在37℃下在含5％CO2的含湿气氛围中培养。NALM-6-luc-GFP细胞源自CD19阳性急性淋巴母细胞白血病细胞系NALM-6，在用编码萤火虫荧光素酶(luc)及绿色荧光蛋白的双重报告基因稳定转染之后，产生可使用生物发光成像体内追踪的细胞。自Jackson Laboratories(Bar Harbor,MEUSA04609)购得NSG小鼠且使其在实验前适应至少3天。将NALM-6-luc-GFP细胞再悬浮于PBS中且经由尾静脉以5×10^5个细胞/100μl/小鼠静脉内(i.v.)植入三十只6-8周龄雌性NSG小鼠中。肿瘤植入后四天，使用Xenogen IVIS成像系统使动物成像以便评估肿瘤负荷。基于光子发射将小鼠随机分成以下四组：(i)媒剂，仅PBS(n＝6只小鼠)；(ii)10×10^6个经模拟转导的人类T细胞(n＝6只小鼠)；(iii)5×10^6个克隆5-13CART细胞(经具有抗CD19克隆5-13结合部分的CAR转导的T细胞)(n＝8只小鼠)；及(iv)5×10^6个克隆5-13abTCR-6MDT细胞(经具有抗CD19克隆5-13结合部分的abTCR-6MD转导的T细胞，其包含SEQ ID NO:56及54的氨基酸序列)(n＝8只小鼠)。

[0707] 在肿瘤植入及给予受体阳性T细胞之后密切监测动物。在研究期间，给动物称重且进行Xenogen成像，一周两次。使显示出以下状况的动物安乐死且记录为“条件性死亡”：a)急性不良响应：呼吸困难、颤抖、被动行为(食欲不振及昏睡)；b)体重减轻超过25％初始体重；及c)肢体麻痹，影响小鼠活动。

[0708] 此实验的结果描绘于图40中，其绘制了各处理组的源自平均肿瘤的总通量发射对比处理后的天数。克隆5-13abTCRT细胞及克隆5-13CART细胞均体内靶向且溶解CD19阳性NALM-6肿瘤，展现出抗CD19抗体在多个癌症模型中在abTCR平台中抑制肿瘤生长的功效。在处理后24小时，自每组3只小鼠收集血液进行细胞因子测量，且结果示出在图41中。如同淋巴瘤异种移植模型一样，在此白血病异种移植模型中，用抗CD19abTCRT细胞处理产生的细胞因子分泌量低于用抗CD19CART细胞处理。

[0709] 在处理后7天及13天，自各组的代表性小鼠收集血液且使用Affymetrix eBioscience,Inc.的“123counte Beads”试剂盒，通过流式细胞术进行分析，测定每微升血液中$CD3^+$T细胞、表达CAR/abTCR的T细胞及肿瘤细胞的数目，及PD-1于T细胞上的表达水平。在处理后13天，使每组2只小鼠安乐死且通过流式细胞术分析骨髓提取物中的$CD3^+$/CAR/abTCRT细胞、肿瘤细胞的存在情况及PD-1于T细胞上的表达水平。

[0710] 在施用后第7天及第13天，施用abTCRT细胞的小鼠的血液中表达嵌合受体的T细胞的含量高于在施用CART细胞的小鼠中所观察到的(图42)，表明在此模型中，abTCRT细胞的活力和/或增殖水准高于其对应物CART细胞。如图43及图44中所示，虽然在处理后13天，经CART细胞或abTCRT细胞处理的小鼠均显示出外周血液及骨髓中的肿瘤细胞(通过FITC染色指示)相较于经媒剂及模拟处理的对照动物中减少，但经abTCRT细胞处理的动物的外周血液及骨髓中的肿瘤细胞的减少量更大。如图45及图46中所示，关于CD4+及CD8+T细胞两者，在经abTCRT细胞处理的小鼠中，T细胞耗尽标记物PD-1在来自外周血液及骨髓的T细胞表面上的表达水平比经CART细胞处理的那些小鼠中低，且与经模拟处理的小鼠中观察到的含量相当。这些结果表明，表达abTCR的T细胞的耗尽可能性小于表达CAR的T细胞。

[0711] 序列表

[0712]

SEQ ID NO	说明	序列
1	TCRα 跨膜域	ILLLKVAGFNLLMTLRLWSS
2	TCRβ 跨膜域	TILYEILLGKATLYAVLVSALVL
3	TCRδ 跨膜域	MLFAKTVAVNFLLTAKLFFL
4	TCRγ 跨膜域	YYMYLLLLLKSVVYFAIITCCLL
5	TCRα 连接肽	ESSCDVKLVEKSFETDTNLNFQNLSVIGFR
6	TCRβ 连接肽	ADCGFTSVSYQQGVLSA
7	TCRδ 连接肽	DHVKPKETENTKQPSKSCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLR
8	TCRγ 连接肽	MDPKDNCSKDANDTLLLQLTNTSA
9	TCRα 连接肽 MD	IPEDTFFPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLNFQNLSVIGFR
10	TCRβ 连接肽 MD	GRADCGFTSVSYQQGVLSA
11	TCRδ 连接肽 MD	EVKTDSTDHVKPKETENTKQPSKSCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLR
12	TCRγ 连接肽 MD	PIKTDVITMDPKDNCSKDANDTLLLQLTNTSA
13	TCRβ 胞内域	MAMVKRKDF
14	TCRγ 胞内域	RRTAFCCNGEKS
15	TCRDα	ESSCDVKLVEKSFETDTNLNFQNLSVIGFRILLLKVAGFNLLMTLRLWSS
16	TCRDβ	ADCGFTSVSYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSALVLMAMVKRKDF
17	TCRDα MD	IPEDTFFPSPESSCDVKLVEKSFETDTNLNFQNLSVIGFRILLLKVAGFNLLMTLRLWSS
18	TCRDβ MD	GRADCGFTSVSYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSALVLMAMVKRKDF
19	TCRDδ	DHVKPKETENTKQPSKSCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL
20	TCRDγ	MDPKDNCSKDANDTLLLQLTNTSAYYMYLLLLLKSVVYFAIITCCLLRRTAFCCNGEKS
21	TCRDδ MD	EVKTDSTDHVKPKETENTKQPSKSCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL
22	TCRDγ MD	PIKTDVITMDPKDNCSKDANDTLLLQLTNTSAYYMYLLLLLKSVVYFAIITCCLLRRTAFCCNGEKS
23	抗 AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-3α	EVQLVQSGAEVKKPGESLTISCKASGYSFPNYWITWVRQMSGGGLEWMGRIDPGDSYTTYNPSFQGHVTISIDKSTNTAYLHWNSLKASDTAMYYCARYYVSLVDIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV

[0713]

[0714]

		VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCESSCDVKLVEKS FETDTNLNFQNLSVIGFRILLLKVAGFNLLMTLRLWSS
24	抗 AFP158/HLA-A*02:01- abTCR-3β	QSVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPK LMIYDVNNRPSEVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYT TGSRAVFGGGTKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLIS DFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPE QWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSADCGFTSVSYQQGVLSA TILYEILLGKATLYAVLVSALVLMAMVKRKDF
25	抗 AFP158/HLA-A*02:01- abTCR-4α	QSVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPK LMIYDVNNRPSEVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYT TGSRAVFGGGTKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLIS DFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPE QWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSESSCDVKLVEKSFETDT NLNFQNLSVIGFRILLLKVAGFNLLMTLRLWSS
26	抗 AFP158/HLA-A*02:01- abTCR-4β	EVQLVQSGAEVKKPGESLTISCKASGYSFPNYWITWVRQMSGGGLE WMGRIDPGDSYTTYNPSFQGHVTISIDKSTNTAYLHWNSLKASDTA MYYCARYYVSLVDIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCADCGFTSVSYQQ GVLSATILYEILLGKATLYAVLVSALVLMAMVKRKDF
27	抗 AFP158/HLA-A*02:01- abTCR-4MDα	QSVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPK LMIYDVNNRPSEVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYT TGSRAVFGGGTKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLIS DFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPE QWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSIPEDTFFPSPESSCDVKLV EKSFETDTNLNFQNLSVIGFRILLLKVAGFNLLMTLRLWSS
28	抗 AFP158/HLA-A*02:01- abTCR-4MDβ	EVQLVQSGAEVKKPGESLTISCKASGYSFPNYWITWVRQMSGGGLE WMGRIDPGDSYTTYNPSFQGHVTISIDKSTNTAYLHWNSLKASDTA MYYCARYYVSLVDIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCGRADCGFTSVSY QQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSALVLMAMVKRKDF
29	抗 AFP158/HLA-A*02:01- abTCR-5δ	QSVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPK LMIYDVNNRPSEVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYT TGSRAVFGGGTKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLIS DFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPE QWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSDHVKPKETENTKQPSKS

[0715]

		CHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL
30	抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-5γ	EVQLVQSGAEVKKPGESLTISCKASGYSFPNYWITWVRQMSGGGLEWMGRIDPGDSYTTYNPSFQGHVTISIDKSTNTAYLHWNSLKASDTAMYYCARYYVSLVDIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCMDPKDNCSKDANDTLLLQLTNTSAYYMYLLLLLKSVVYFAIITCCLLRRTAFCCNGEKS
31	抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-5MDδ	QSVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYDVNNRPSEVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTTGSRAVFGGGTKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSEVKTDSTDHVKPKETENTKQPSKSCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL
32	抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-5MDγ	EVQLVQSGAEVKKPGESLTISCKASGYSFPNYWITWVRQMSGGGLEWMGRIDPGDSYTTYNPSFQGHVTISIDKSTNTAYLHWNSLKASDTAMYYCARYYVSLVDIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCPIKTDVITMDPKDNCSKDANDTLLLQLTNTSAYYMYLLLLLKSVVYFAIITCCLLRRTAFCCNGEKS
33	抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-6δ	EVQLVQSGAEVKKPGESLTISCKASGYSFPNYWITWVRQMSGGGLEWMGRIDPGDSYTTYNPSFQGHVTISIDKSTNTAYLHWNSLKASDTAMYYCARYYVSLVDIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDHVKPKETENTKQPSKSCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL
34	抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-6γ	QSVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYDVNNRPSEVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTTGSRAVFGGGTKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSMDPKDNCSKDANDTLLLQLTNTSAYYMYLLLLLKSVVYFAIITCCLLRRTAFCCNGEKS
35	抗AFP158/HLA-A*02:01-	EVQLVQSGAEVKKPGESLTISCKASGYSFPNYWITWVRQMSGGGLEWMGRIDPGDSYTTYNPSFQGHVTISIDKSTNTAYLHWNSLKASDTA

[0716]

	abTCR-6MDδ	MYYCARYYVSLVDIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCEVKTDSTDHVKP KETENTKQPSKSCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTVAV NFLLTAKLFFL
36	抗 AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-6MDγ	QSVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPK LMIYDVNNRPSEVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYT TGSRAVFGGGTKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLIS DFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPE QWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSPIKTDVITMDPKDNCSK DANDTLLLQLTNTSAYYMYLLLLLKSVVYFAIITCCLLRRTAFCCNG EKS
37	抗 AFP158/HLA-A*02:01-scFv CAR	QSVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPK LMIYDVNNRPSEVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYT TGSRAVFGGGTKLTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQS GAEVKKPGESLTISCKASGYSFPNYWITWVRQMSGGGLEWMGRIDP GDSYTTYNPSFQGHVTISIDKSTNTAYLHWNSLKASDTAMYYCARY YVSLVDIWGQGTLVTVSSAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKH LCPSPLFPGPSKPFWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLL HSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPA YQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEG LYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYD ALHMQALPPR
38	抗 AFP158/HLA-A*02:01 抗体的 IgVH 域	EVQLVQSGAEVKKPGESLTISCKASGYSFPNYWITWVRQMSGGGLE WMGRIDPGDSYTTYNPSFQGHVTISIDKSTNTAYLHWNSLKASDTA MYYCARYYVSLVDIWGQGTLVTVSS
39	IgG1 CH1 域	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSC
40	AFP158/HLA-A*02:01 抗体的 IgVL 域	QSVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPK LMIYDVNNRPSEVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYT TGSRAVFGGGTKLTVL
41	IgCL 域	GQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGS PVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEG STVEKTVAPTECS
42	抗 CD19-abTCR-6MDδ	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLE WMGIIYPGDSDTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAM

[0717]

		YYCARQVWGWQGGMYPRSNWWYNMDSWGQGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEP KSCEVKTDSTDHVKPKETENTKQPSKSCHKPKAIVHTEKVNMMSLT VLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL
43	抗 CD19-abTCR-6MDγ	LPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLV VYDDSNRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSS SEYVVFGGGTKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISD FYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQ WKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSPIKTDVITMDPKDNCSKD ANDTLLLQLTNTSAYYMYLLLLLKSVVYFAIITCCLLRRTAFCCNGE KS
44	抗 CD19-scFv CAR	LPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLV VYDDSNRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSS SEYVVFGGGTKLTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSG AEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPG DSDTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQV WGWQGGMYPRSNWWYNMDSWGQGTLVTVSSAAAIEVMYPPPYL DNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLFPGPSKPFWVLVVVGGVLACYSLLV TVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFA AYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGR DPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGH DGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
45	抗 CD19 抗体的 IgVH 域	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLE WMGIIYPGDSDTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAM YYCARQVWGWQGGMYPRSNWWYNMDSWGQGTLVTVSS
46	抗 CD19 抗体的 IgVL 域	LPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLV VYDDSNRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSS SEYVVFGGGTKLTVL
47	CD28 的片段	IEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLFPGPSKPFWVLVVVG GVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHY QPYAPPRDFAAYRS
48	CD3-ζ 的片段	RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEM GGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLY QGLSTATKDTYDALHMQALPPR
49	单肽	METDTLLLWVLLLWVPGSTG
50	HA 标签	YPYDVPDYA

51	3x Flag 标签	DYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDK
52	myc 标签	EQKLISEEDL
53	AFP158	FMNKFIYEI
54	抗 CD19 克隆 5 abTCR-6MDγ	LPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLV VYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSS SDYVVFGGGTKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISD FYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQ WKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSPIKTDVITMDPKDNCSKD ANDTLLLQLTNTSAYYMYLLLLLKSVVYFAIITCCLLRRTAFCCNGE KS
55	抗 CD19 克隆 5-9 abTCR-6MDδ	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLE WMGIIYPGDSDTRYSPFFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAM YYCARQVWGWQGGMYPRSNWWYNMDSWGQGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEP KSCEVKTDSTDHVKPKETENTKQPSKSCHKPKAIVHTEKVNMMSLT VLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL
56	抗 CD19 克隆 5-13 abTCR-6MDδ	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLE WMGIIYPGDSDTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAM YYCARQVWGWQGGMYPRSNWWYNLDSWGQGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEP KSCEVKTDSTDHVKPKETENTKQPSKSCHKPKAIVHTEKVNMMSLT VLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL
57	抗 CD19 抗体克隆 5 的 IgVL 域	LPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLV VYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSS SDYVVFGGGTKLTVL
58	抗 CD19 抗体克隆 5-9 的 IgVH 域	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLE WMGIIYPGDSDTRYSPFFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAM YYCARQVWGWQGGMYPRSNWWYNMDSWGQGTLVTVSS
59	抗 CD19 抗体克隆 5-13 的 IgVH 域	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLE WMGIIYPGDSDTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAM YYCARQVWGWQGGMYPRSNWWYNLDSWGQGTLVTVSS
60	IgG2-0C CH1	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKV DKTVERK
61	IgG2-1C CH1	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT

[0718]

[0719]

		SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKV DKTVERKC
62	IgG2-2C CH1	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKV DKTVERKCC
63	IgG3 CH1	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVNHKPSNTKV DKRVELKTP
64	IgG4 CH1	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKV DKRVESKYG
65	IgA1 CH1	ASPTSPKVFPLSLCSTQPDGNVVIACLVQGFFPQEPLSVTWSESGQGV TARNFPPSQDASGDLYTTSSQLTLPATQCLAGKSVTCHVKHYTNPSQ DVTVPCPVPSTPPTPSPSTPPTPSPS
66	IgA2 CH1	ASPTSPKVFPLSLDSTPQDGNVVVACLVQGFFPQEPLSVTWSESGQN VTARNFPPSQDASGDLYTTSSQLTLPATQCPDGKSVTCHVKHYTNPS QDVTVPCPVPPPPP
67	IgD CH1	APTKAPDVFPIISGCRHPKDNSPVVLACLITGYHPTSVTVTWYMGTQ SQPQRTFPEIQRRDSYYMTSSQLSTPLQQWRQGEYKCVVQHTASKS KKEIFRWPESPKAQASSVPTAQPQAEGSLAKATTAPATTRNTGRGGE EKKKEKEKEEQEERETKTP
68	IgE CH1	ASTQSPSVFPLTRCCKNIPSNATSVTLGCLATGYFPEPVMVTWDTGS LNGTTMTLPATTLTLSGHYATISLLTVSGAWAKQMFTCRVAHTPSST DWVDNKTFS
69	IgM CH1	GSASAPTLFPLVSCENSPSDTSSVAVGCLAQDFLPDSITLSWKYKNNS DISSTRGFPSVLRGGKYAATSQVLLPSKDVMQGTDEHVVCKVQHPN GNKEKNVPLP
70	CD28 共刺激片段	RSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS
71	4-1BB 共刺激片段	KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL
72	抗 NY-ESO-1/HLA-A*02: 01 抗体克隆 35 的 IgVH 域	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGDTFSSYSISWVRQAPGQGLE WMGRIIPILGIANYAQKYQGRVTLSADKSTSTSYMELNSLRSEDTAV YYCARDWSYSIDYWGQGTLVTVSS
73	抗 NY-ESO-1/HLA-A*02: 01 抗体克隆 35 的	QSVVTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKL LIYDNNKRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDS SLSAWVFGGGTKLTVLG

[0720]

	IgVL 域	
74	scFv 接头	SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA
75	抗 CD19-cTCRδ	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLE WMGIIYPGDSDTRYSPSFQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAM YYCARQVWGWQGGMYPRSNWWYNLDSWGQGTLVTVSSRSQPHT KPSVFVMKNGTNVACLVKEFYPKDIRINLVSSKKITEFDPAIVISPSG KYNAVKLGKYEDSNSVTCSVQHDNKTVHSTDFEVKTDSTDHVKPK ETENTKQPSKSCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTVAVNF LLTAKLFFL
76	抗 CD19-cTCRγ	LPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLV VYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSS SDYVVFGGGTKLTVLGDKQLDADVSPKPTIFLPSIAETKLQKAGTYL CLLEKFFPDVIKIHWQEKKSNTILGSQEGNTMKTNDTYMKFSWLTV PEKSLDKEHRCIVRHENNKNGVDQEIIFPPIKTDVITMDPKDNCSKDA NDTLLLQLTNTSAYYMYLLLLLKSVVYFAIITCCLLRRTAFCCNGEK S
77	TCRα 恒定域	PNIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYITD KTVLDMRSMDFKSNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPES SCDVKLVEKSFETDTNLNFQNLSVIGFRILLLKVAGFNLLMTLRLWS S
78	TCRβ 恒定域	EDLNKVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFFPDHVELSWWV NGKEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNH FRCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGFTSVSY QQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSALVLMAMVKRKDF
79	TCRδ 恒定域	SQPHTKPSVFVMKNGTNVACLVKEFYPKDIRINLVSSKKITEFDPAIV ISPSGKYNAVKLGKYEDSNSVTCSVQHDNKTVHSTDFEVKTDSTDH VKPKETENTKQPSKSCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTV AVNFLLTAKLFFL
80	TCRγ 恒定域	DKQLDADVSPKPTIFLPSIAETKLQKAGTYLCLLEKFFPDVIKIHWQE KKSNTILGSQEGNTMKTNDTYMKFSWLTVPEKSLDKEHRCIVRHEN NKNGVDQEIIFPPIKTDVITMDPKDNCSKDANDTLLLQLTNTSAYYM YLLLLLKSVVYFAIITCCLLRRTAFCCNGEKS
81	抗 AFP158/HLA-A*02:01 abTCR-7δ	EVQLVQSGAEVKKPGESLTISCKASGYSFPNYWITWVRQMSGGGLE WMGRIDPGDSYTTYNPSFQGHVTISIDKSTNTAYLHWNSLKASDTA MYYCARYYVSLVDIWGQGTLVTVSSRSQPHTKPSVFVMKNGTNVA CLVKEFYPKDIRINLVSSKKITEFDPAIVISPSGKYNAVKLGKYEDSNS VTCSVQHDNKTVHSTDFEVKTDSTDHVKPKETENTKQPSKSCHKPK

[0721]

		AIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL
82	抗 AFP158/HLA-A*02:01 abTCR-7γ	QSVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPK LMIYDVNNRPSEVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYT TGSRAVFGGGTKLTVLDKQLDADVSPKPTIFLPSIAETKLQKAGTYL CLLEKFFPDVIKIHWQEKKSNTILGSQEGNTMKTNDTYMKFSWLTV PEKSLDKEHRCIVRHENNKNGVDQEIIFPPIKTDVITMDPKDNCSKDA NDTLLLQLTNTSAYYMYLLLLLKSVVYFAIITCCLLRRTAFCCNGEK S

[0001] 序列表

[0002] <110> 优瑞科生物技术公司

[0003] <120> 抗体/T细胞受体嵌合构建体及其用途

[0004] <130> 750042000340

[0005] <140> Not Yet Assigned

[0006] <141> Concurrently Herewith

[0007] <150> US 62/245,944

[0008] <151> 2015-10-23

[0009] <150> US 62/304,918

[0010] <151> 2016-03-07

[0011] <150> US 62/345,649

[0012] <151> 2016-06-03

[0013] <150> US 62/369,694

[0014] <151> 2016-08-01

[0015] <160> 82

[0016] <170> FastSEQ for Windows Version 4.0

[0017] <210> 1

[0018] <211> 20

[0019] <212> PRT

[0020] <213> 智人(Homo sapiens)

[0021] <220>

[0022] <223> TCRα跨膜域

[0023] <400> 1

[0024] Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg

[0025] 1 5 10 15

[0026] Leu Trp Ser Ser

[0027] 20

[0028] <210> 2

[0029] <211> 23

[0030] <212> PRT

[0031] <213> 智人(Homo sapiens)

[0032] <220>

[0033] <223> TCRβ跨膜域

[0034] <400> 2

[0035] Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala Val

[0036] 1 5 10 15

[0037] Leu Val Ser Ala Leu Val Leu

[0038] 20

[0039] <210> 3

[0040] <211> 20

[0041] <212> PRT

[0042] <213> 智人(Homo sapiens)

[0043] <220>

[0044] <223> TCRδ跨膜域

[0045] <400> 3

[0046] Met Leu Phe Ala Lys Thr Val Ala Val Asn Phe Leu Leu Thr Ala Lys

[0047] 1 5 10 15

[0048] Leu Phe Phe Leu

[0049] 20

[0050] <210> 4

[0051] <211> 23

[0052] <212> PRT

[0053] <213> 智人(Homo sapiens)

[0054] <220>

[0055] <223> TCRγ跨膜域

[0056] <400> 4

[0057] Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu Leu Leu Leu Lys Ser Val Val Tyr Phe Ala

[0058] 1 5 10 15

[0059] Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu

[0060] 20

[0061] <210> 5

[0062] <211> 30

[0063] <212> PRT

[0064] <213> 智人(Homo sapiens)

[0065] <220>

[0066] <223> TCRα连接肽

[0067] <400> 5

[0068] Glu Ser Ser Cys Asp Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp

[0069] 1 5 10 15

[0070] Thr Asn Leu Asn Phe Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg

[0071] 20 25 30

[0072] <210> 6

[0073] <211> 17

[0074] <212> PRT

[0075] <213> 智人(Homo sapiens)

[0076] <220>

[0077] <223> TCRβ连接肽

[0078] <400> 6

[0079] Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Val Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser

[0080] 1 5 10 15

[0081] Ala

[0082] <210> 7

[0083] <211> 41

[0084] <212> PRT

[0085] <213> 智人(Homo sapiens)

[0086] <220>

[0087] <223> TCRδ连接肽

[0088] <400> 7

[0089] Asp His Val Lys Pro Lys Glu Thr Glu Asn Thr Lys Gln Pro Ser Lys

[0090] 1 5 10 15

[0091] Ser Cys His Lys Pro Lys Ala Ile Val His Thr Glu Lys Val Asn Met

[0092] 20 25 30

[0093] Met Ser Leu Thr Val Leu Gly Leu Arg

[0094] 35 40

[0095] <210> 8

[0096] <211> 24

[0097] <212> PRT

[0098] <213> 智人(Homo sapiens)

[0099] <220>

[0100] <223> TCRγ连接肽

[0101] <400> 8

[0102] Met Asp Pro Lys Asp Asn Cys Ser Lys Asp Ala Asn Asp Thr Leu Leu

[0103] 1 5 10 15

[0104] Leu Gln Leu Thr Asn Thr Ser Ala

[0105] 20

[0106] <210> 9

[0107] <211> 40

[0108] <212> PRT

[0109] <213> 智人(Homo sapiens)

[0110] <220>

[0111] <223> TCRα连接肽 MD

[0112] <400> 9

[0113] Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser Cys Asp Val

[0114] 1 5 10 15

[0115] Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn Phe Gln

[0116] 20 25 30

[0117] Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg
[0118] 35 40
[0119] <210> 10
[0120] <211> 19
[0121] <212> PRT
[0122] <213> 智人(Homo sapiens)
[0123] <220>
[0124] <223> TCRβ连接肽 MD
[0125] <400> 10
[0126] Gly Arg Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Val Ser Tyr Gln Gln Gly Val
[0127] 1 5 10 15
[0128] Leu Ser Ala
[0129] <210> 11
[0130] <211> 48
[0131] <212> PRT
[0132] <213> 智人(Homo sapiens)
[0133] <220>
[0134] <223> TCRδ连接肽 MD
[0135] <400> 11
[0136] Glu Val Lys Thr Asp Ser Thr Asp His Val Lys Pro Lys Glu Thr Glu
[0137] 1 5 10 15
[0138] Asn Thr Lys Gln Pro Ser Lys Ser Cys His Lys Pro Lys Ala Ile Val
[0139] 20 25 30
[0140] His Thr Glu Lys Val Asn Met Met Ser Leu Thr Val Leu Gly Leu Arg
[0141] 35 40 45
[0142] <210> 12
[0143] <211> 32
[0144] <212> PRT
[0145] <213> 智人(Homo sapiens)
[0146] <220>
[0147] <223> TCRγ连接肽 MD
[0148] <400> 12
[0149] Pro Ile Lys Thr Asp Val Ile Thr Met Asp Pro Lys Asp Asn Cys Ser
[0150] 1 5 10 15
[0151] Lys Asp Ala Asn Asp Thr Leu Leu Leu Gln Leu Thr Asn Thr Ser Ala
[0152] 20 25 30
[0153] <210> 13
[0154] <211> 9
[0155] <212> PRT

[0156] <213> 智人(Homo sapiens)

[0157] <220>

[0158] <223> TCRβ胞内域

[0159] <400> 13

[0160] Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp Phe

[0161] 1 5

[0162] <210> 14

[0163] <211> 12

[0164] <212> PRT

[0165] <213> 智人(Homo sapiens)

[0166] <220>

[0167] <223> TCRγ胞内域

[0168] <400> 14

[0169] Arg Arg Thr Ala Phe Cys Cys Asn Gly Glu Lys Ser

[0170] 1 5 10

[0171] <210> 15

[0172] <211> 50

[0173] <212> PRT

[0174] <213> 智人(Homo sapiens)

[0175] <220>

[0176] <223> TCRD α

[0177] <400> 15

[0178] Glu Ser Ser Cys Asp Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp

[0179] 1 5 10 15

[0180] Thr Asn Leu Asn Phe Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu

[0181] 20 25 30

[0182] Leu Leu Lys Val Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp

[0183] 35 40 45

[0184] Ser Ser

[0185] 50

[0186] <210> 16

[0187] <211> 49

[0188] <212> PRT

[0189] <213> 智人(Homo sapiens)

[0190] <220>

[0191] <223> TCRD β

[0192] <400> 16

[0193] Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Val Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser

[0194] 1 5 10 15

[0195] Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala
[0196] 20 25 30
[0197] Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp
[0198] 35 40 45
[0199] Phe
[0200] <210> 17
[0201] <211> 60
[0202] <212> PRT
[0203] <213> 智人(Homo sapiens)
[0204] <220>
[0205] <223> TCRD α MD
[0206] <400> 17
[0207] Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser Cys Asp Val
[0208] 1 5 10 15
[0209] Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn Phe Gln
[0210] 20 25 30
[0211] Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly
[0212] 35 40 45
[0213] Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser
[0214] 50 55 60
[0215] <210> 18
[0216] <211> 51
[0217] <212> PRT
[0218] <213> 智人(Homo sapiens)
[0219] <220>
[0220] <223> TCRD β MD
[0221] <400> 18
[0222] Gly Arg Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Val Ser Tyr Gln Gln Gly Val
[0223] 1 5 10 15
[0224] Leu Ser Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu
[0225] 20 25 30
[0226] Tyr Ala Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys Arg
[0227] 35 40 45
[0228] Lys Asp Phe
[0229] 50
[0230] <210> 19
[0231] <211> 61
[0232] <212> PRT
[0233] <213> 智人(Homo sapiens)

[0234] <220>

[0235] <223> TCRD δ

[0236] <400> 19

[0237] Asp His Val Lys Pro Lys Glu Thr Glu Asn Thr Lys Gln Pro Ser Lys

[0238] 1 5 10 15

[0239] Ser Cys His Lys Pro Lys Ala Ile Val His Thr Glu Lys Val Asn Met

[0240] 20 25 30

[0241] Met Ser Leu Thr Val Leu Gly Leu Arg Met Leu Phe Ala Lys Thr Val

[0242] 35 40 45

[0243] Ala Val Asn Phe Leu Leu Thr Ala Lys Leu Phe Phe Leu

[0244] 50 55 60

[0245] <210> 20

[0246] <211> 59

[0247] <212> PRT

[0248] <213> 智人(Homo sapiens)

[0249] <220>

[0250] <223> TCRD γ

[0251] <400> 20

[0252] Met Asp Pro Lys Asp Asn Cys Ser Lys Asp Ala Asn Asp Thr Leu Leu

[0253] 1 5 10 15

[0254] Leu Gln Leu Thr Asn Thr Ser Ala Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu Leu Leu

[0255] 20 25 30

[0256] Leu Lys Ser Val Val Tyr Phe Ala Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu Arg

[0257] 35 40 45

[0258] Arg Thr Ala Phe Cys Cys Asn Gly Glu Lys Ser

[0259] 50 55

[0260] <210> 21

[0261] <211> 68

[0262] <212> PRT

[0263] <213> 智人(Homo sapiens)

[0264] <220>

[0265] <223> TCRD δ MD

[0266] <400> 21

[0267] Glu Val Lys Thr Asp Ser Thr Asp His Val Lys Pro Lys Glu Thr Glu

[0268] 1 5 10 15

[0269] Asn Thr Lys Gln Pro Ser Lys Ser Cys His Lys Pro Lys Ala Ile Val

[0270] 20 25 30

[0271] His Thr Glu Lys Val Asn Met Met Ser Leu Thr Val Leu Gly Leu Arg

[0272] 35 40 45

[0273] Met Leu Phe Ala Lys Thr Val Ala Val Asn Phe Leu Leu Thr Ala Lys
[0274] 50 55 60
[0275] Leu Phe Phe Leu
[0276] 65
[0277] <210> 22
[0278] <211> 67
[0279] <212> PRT
[0280] <213> 智人(Homo sapiens)
[0281] <220>
[0282] <223> TCRD γ MD
[0283] <400> 22
[0284] Pro Ile Lys Thr Asp Val Ile Thr Met Asp Pro Lys Asp Asn Cys Ser
[0285] 1 5 10 15
[0286] Lys Asp Ala Asn Asp Thr Leu Leu Leu Gln Leu Thr Asn Thr Ser Ala
[0287] 20 25 30
[0288] Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu Leu Leu Leu Lys Ser Val Val Tyr Phe Ala
[0289] 35 40 45
[0290] Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu Arg Arg Thr Ala Phe Cys Cys Asn Gly
[0291] 50 55 60
[0292] Glu Lys Ser
[0293] 65
[0294] <210> 23
[0295] <211> 270
[0296] <212> PRT
[0297] <213> 人工序列
[0298] <220>
[0299] <223> 抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-3 α
[0300] <400> 23
[0301] Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
[0302] 1 5 10 15
[0303] Ser Leu Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Pro Asn Tyr
[0304] 20 25 30
[0305] Trp Ile Thr Trp Val Arg Gln Met Ser Gly Gly Gly Leu Glu Trp Met
[0306] 35 40 45
[0307] Gly Arg Ile Asp Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Phe
[0308] 50 55 60
[0309] Gln Gly His Val Thr Ile Ser Ile Asp Lys Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
[0310] 65 70 75 80
[0311] Leu His Trp Asn Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

[0312] 85 90 95

[0313] Ala Arg Tyr Tyr Val Ser Leu Val Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu

[0314] 100 105 110

[0315] Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu

[0316] 115 120 125

[0317] Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys

[0318] 130 135 140

[0319] Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser

[0320] 145 150 155 160

[0321] Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser

[0322] 165 170 175

[0323] Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser

[0324] 180 185 190

[0325] Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn

[0326] 195 200 205

[0327] Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Glu Ser Ser Cys

[0328] 210 215 220

[0329] Asp Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn

[0330] 225 230 235 240

[0331] Phe Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val

[0332] 245 250 255

[0333] Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser

[0334] 260 265 270

[0335] <210> 24

[0336] <211> 265

[0337] <212> PRT

[0338] <213> 人工序列

[0339] <220>

[0340] <223> 抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-3 β

[0341] <400> 24

[0342] Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln

[0343] 1 5 10 15

[0344] Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr

[0345] 20 25 30

[0346] Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu

[0347] 35 40 45

[0348] Met Ile Tyr Asp Val Asn Asn Arg Pro Ser Glu Val Ser Asn Arg Phe

[0349] 50 55 60

[0350] Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu

[0351] 65 70 75 80

[0352] Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Thr Gly

[0353] 85 90 95

[0354] Ser Arg Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln

[0355] 100 105 110

[0356] Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu

[0357] 115 120 125

[0358] Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr

[0359] 130 135 140

[0360] Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys

[0361] 145 150 155 160

[0362] Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr

[0363] 165 170 175

[0364] Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His

[0365] 180 185 190

[0366] Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys

[0367] 195 200 205

[0368] Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Val

[0369] 210 215 220

[0370] Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu

[0371] 225 230 235 240

[0372] Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu

[0373] 245 250 255

[0374] Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp Phe

[0375] 260 265

[0376] <210> 25

[0377] <211> 266

[0378] <212> PRT

[0379] <213> 人工序列

[0380] <220>

[0381] <223> 抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-4 α

[0382] <400> 25

[0383] Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln

[0384] 1 5 10 15

[0385] Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr

[0386] 20 25 30

[0387] Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu

[0388] 35 40 45

[0389] Met Ile Tyr Asp Val Asn Asn Arg Pro Ser Glu Val Ser Asn Arg Phe

[0390] 50 55 60

[0391] Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu

[0392] 65 70 75 80

[0393] Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Thr Gly

[0394] 85 90 95

[0395] Ser Arg Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln

[0396] 100 105 110

[0397] Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu

[0398] 115 120 125

[0399] Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr

[0400] 130 135 140

[0401] Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys

[0402] 145 150 155 160

[0403] Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr

[0404] 165 170 175

[0405] Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His

[0406] 180 185 190

[0407] Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys

[0408] 195 200 205

[0409] Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser Glu Ser Ser Cys Asp Val Lys Leu

[0410] 210 215 220

[0411] Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn Phe Gln Asn Leu

[0412] 225 230 235 240

[0413] Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly Phe Asn

[0414] 245 250 255

[0415] Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser

[0416] 260 265

[0417] <210> 26

[0418] <211> 269

[0419] <212> PRT

[0420] <213> 人工序列

[0421] <220>

[0422] <223> 抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-4 β

[0423] <400> 26

[0424] Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu

[0425] 1 5 10 15

[0426] Ser Leu Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Pro Asn Tyr

[0427] 20 25 30

[0428] Trp Ile Thr Trp Val Arg Gln Met Ser Gly Gly Gly Leu Glu Trp Met

[0429] 35 40 45

[0430] Gly Arg Ile Asp Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Phe

[0431] 50 55 60

[0432] Gln Gly His Val Thr Ile Ser Ile Asp Lys Ser Thr Asn Thr Ala Tyr

[0433] 65 70 75 80

[0434] Leu His Trp Asn Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

[0435] 85 90 95

[0436] Ala Arg Tyr Tyr Val Ser Leu Val Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu

[0437] 100 105 110

[0438] Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu

[0439] 115 120 125

[0440] Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys

[0441] 130 135 140

[0442] Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser

[0443] 145 150 155 160

[0444] Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser

[0445] 165 170 175

[0446] Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser

[0447] 180 185 190

[0448] Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn

[0449] 195 200 205

[0450] Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Ala Asp Cys Gly

[0451] 210 215 220

[0452] Phe Thr Ser Val Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser Ala Thr Ile Leu

[0453] 225 230 235 240

[0454] Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala Val Leu Val Ser

[0455] 245 250 255

[0456] Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp Phe

[0457] 260 265

[0458] <210> 27

[0459] <211> 276

[0460] <212> PRT

[0461] <213> 人工序列

[0462] <220>

[0463] <223> 抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-4MD α

[0464] <400> 27

[0465] Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln

[0466] 1 5 10 15

[0467] Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr

[0468] 20 25 30

[0469] Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu

[0470] 35 40 45

[0471] Met Ile Tyr Asp Val Asn Asn Arg Pro Ser Glu Val Ser Asn Arg Phe

[0472] 50 55 60

[0473] Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu

[0474] 65 70 75 80

[0475] Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Thr Gly

[0476] 85 90 95

[0477] Ser Arg Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln

[0478] 100 105 110

[0479] Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu

[0480] 115 120 125

[0481] Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr

[0482] 130 135 140

[0483] Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys

[0484] 145 150 155 160

[0485] Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr

[0486] 165 170 175

[0487] Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His

[0488] 180 185 190

[0489] Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys

[0490] 195 200 205

[0491] Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro

[0492] 210 215 220

[0493] Ser Pro Glu Ser Ser Cys Asp Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu

[0494] 225 230 235 240

[0495] Thr Asp Thr Asn Leu Asn Phe Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg

[0496] 245 250 255

[0497] Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg

[0498] 260 265 270

[0499] Leu Trp Ser Ser

[0500] 275

[0501] <210> 28

[0502] <211> 271

[0503] <212> PRT

[0504] <213> 人工序列

[0505] <220>

[0506] <223> 抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-4MD β

[0507] <400> 28

[0508] Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu

[0509] 1 5 10 15

[0510] Ser Leu Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Pro Asn Tyr

[0511] 20 25 30

[0512] Trp Ile Thr Trp Val Arg Gln Met Ser Gly Gly Gly Leu Glu Trp Met

[0513] 35 40 45

[0514] Gly Arg Ile Asp Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Phe

[0515] 50 55 60

[0516] Gln Gly His Val Thr Ile Ser Ile Asp Lys Ser Thr Asn Thr Ala Tyr

[0517] 65 70 75 80

[0518] Leu His Trp Asn Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

[0519] 85 90 95

[0520] Ala Arg Tyr Tyr Val Ser Leu Val Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu

[0521] 100 105 110

[0522] Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu

[0523] 115 120 125

[0524] Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys

[0525] 130 135 140

[0526] Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser

[0527] 145 150 155 160

[0528] Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser

[0529] 165 170 175

[0530] Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser

[0531] 180 185 190

[0532] Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn

[0533] 195 200 205

[0534] Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Gly Arg Ala Asp

[0535] 210 215 220

[0536] Cys Gly Phe Thr Ser Val Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser Ala Thr

[0537] 225 230 235 240

[0538] Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala Val Leu

[0539] 245 250 255

[0540] Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp Phe

[0541] 260 265 270

[0542] <210> 29

[0543] <211> 277

[0544] <212> PRT

[0545] <213> 人工序列

[0546] <220>

[0547] <223> 抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-5 δ

[0548] <400> 29

[0549] Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln

[0550] 1 5 10 15

[0551] Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr

[0552] 20 25 30

[0553] Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu

[0554] 35 40 45

[0555] Met Ile Tyr Asp Val Asn Asn Arg Pro Ser Glu Val Ser Asn Arg Phe

[0556] 50 55 60

[0557] Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu

[0558] 65 70 75 80

[0559] Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Thr Gly

[0560] 85 90 95

[0561] Ser Arg Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln

[0562] 100 105 110

[0563] Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu

[0564] 115 120 125

[0565] Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr

[0566] 130 135 140

[0567] Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys

[0568] 145 150 155 160

[0569] Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr

[0570] 165 170 175

[0571] Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His

[0572] 180 185 190

[0573] Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys

[0574] 195 200 205

[0575] Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser Asp His Val Lys Pro Lys Glu Thr

[0576] 210 215 220

[0577] Glu Asn Thr Lys Gln Pro Ser Lys Ser Cys His Lys Pro Lys Ala Ile

[0578] 225 230 235 240

[0579] Val His Thr Glu Lys Val Asn Met Met Ser Leu Thr Val Leu Gly Leu

[0580] 245 250 255

[0581] Arg Met Leu Phe Ala Lys Thr Val Ala Val Asn Phe Leu Leu Thr Ala

[0582] 260 265 270

[0583] Lys Leu Phe Phe Leu

[0584] 275

[0585] <210> 30

[0586] <211> 279

[0587] <212> PRT

[0588] <213> 人工序列

[0589] <220>

[0590] <223> 抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-5 γ

[0591] <400> 30

[0592] Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu

[0593] 1 5 10 15

[0594] Ser Leu Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Pro Asn Tyr

[0595] 20 25 30

[0596] Trp Ile Thr Trp Val Arg Gln Met Ser Gly Gly Gly Leu Glu Trp Met

[0597] 35 40 45

[0598] Gly Arg Ile Asp Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Phe

[0599] 50 55 60

[0600] Gln Gly His Val Thr Ile Ser Ile Asp Lys Ser Thr Asn Thr Ala Tyr

[0601] 65 70 75 80

[0602] Leu His Trp Asn Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

[0603] 85 90 95

[0604] Ala Arg Tyr Tyr Val Ser Leu Val Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu

[0605] 100 105 110

[0606] Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu

[0607] 115 120 125

[0608] Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys

[0609] 130 135 140

[0610] Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser

[0611] 145 150 155 160

[0612] Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser

[0613] 165 170 175

[0614] Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser

[0615] 180 185 190

[0616] Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn

[0617] 195 200 205

[0618] Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Met Asp Pro Lys

[0619] 210 215 220

[0620] Asp Asn Cys Ser Lys Asp Ala Asn Asp Thr Leu Leu Leu Gln Leu Thr

[0621] 225 230 235 240

[0622] Asn Thr Ser Ala Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu Leu Leu Leu Lys Ser Val

[0623] 245 250 255

[0624] Val Tyr Phe Ala Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu Arg Arg Thr Ala Phe
[0625] 260 265 270
[0626] Cys Cys Asn Gly Glu Lys Ser
[0627] 275
[0628] <210> 31
[0629] <211> 284
[0630] <212> PRT
[0631] <213> 人工序列
[0632] <220>
[0633] <223> 抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-5MD δ
[0634] <400> 31
[0635] Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
[0636] 1 5 10 15
[0637] Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
[0638] 20 25 30
[0639] Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
[0640] 35 40 45
[0641] Met Ile Tyr Asp Val Asn Asn Arg Pro Ser Glu Val Ser Asn Arg Phe
[0642] 50 55 60
[0643] Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
[0644] 65 70 75 80
[0645] Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Thr Gly
[0646] 85 90 95
[0647] Ser Arg Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln
[0648] 100 105 110
[0649] Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu
[0650] 115 120 125
[0651] Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr
[0652] 130 135 140
[0653] Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys
[0654] 145 150 155 160
[0655] Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
[0656] 165 170 175
[0657] Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
[0658] 180 185 190
[0659] Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
[0660] 195 200 205
[0661] Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser Glu Val Lys Thr Asp Ser Thr Asp
[0662] 210 215 220

[0663] His Val Lys Pro Lys Glu Thr Glu Asn Thr Lys Gln Pro Ser Lys Ser
[0664] 225 230 235 240
[0665] Cys His Lys Pro Lys Ala Ile Val His Thr Glu Lys Val Asn Met Met
[0666] 245 250 255
[0667] Ser Leu Thr Val Leu Gly Leu Arg Met Leu Phe Ala Lys Thr Val Ala
[0668] 260 265 270
[0669] Val Asn Phe Leu Leu Thr Ala Lys Leu Phe Phe Leu
[0670] 275 280
[0671] <210> 32
[0672] <211> 287
[0673] <212> PRT
[0674] <213> 人工序列
[0675] <220>
[0676] <223> 抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-5MD γ
[0677] <400> 32
[0678] Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
[0679] 1 5 10 15
[0680] Ser Leu Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Pro Asn Tyr
[0681] 20 25 30
[0682] Trp Ile Thr Trp Val Arg Gln Met Ser Gly Gly Gly Leu Glu Trp Met
[0683] 35 40 45
[0684] Gly Arg Ile Asp Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Phe
[0685] 50 55 60
[0686] Gln Gly His Val Thr Ile Ser Ile Asp Lys Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
[0687] 65 70 75 80
[0688] Leu His Trp Asn Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
[0689] 85 90 95
[0690] Ala Arg Tyr Tyr Val Ser Leu Val Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu
[0691] 100 105 110
[0692] Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
[0693] 115 120 125
[0694] Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
[0695] 130 135 140
[0696] Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
[0697] 145 150 155 160
[0698] Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
[0699] 165 170 175
[0700] Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
[0701] 180 185 190

[0702] Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
[0703] 195 200 205
[0704] Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Pro Ile Lys Thr
[0705] 210 215 220
[0706] Asp Val Ile Thr Met Asp Pro Lys Asp Asn Cys Ser Lys Asp Ala Asn
[0707] 225 230 235 240
[0708] Asp Thr Leu Leu Leu Gln Leu Thr Asn Thr Ser Ala Tyr Tyr Met Tyr
[0709] 245 250 255
[0710] Leu Leu Leu Leu Leu Lys Ser Val Val Tyr Phe Ala Ile Ile Thr Cys
[0711] 260 265 270
[0712] Cys Leu Leu Arg Arg Thr Ala Phe Cys Cys Asn Gly Glu Lys Ser
[0713] 275 280 285
[0714] <210> 33
[0715] <211> 281
[0716] <212> PRT
[0717] <213> 人工序列
[0718] <220>
[0719] <223> 抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-6 δ
[0720] <400> 33
[0721] Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
[0722] 1 5 10 15
[0723] Ser Leu Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Pro Asn Tyr
[0724] 20 25 30
[0725] Trp Ile Thr Trp Val Arg Gln Met Ser Gly Gly Gly Leu Glu Trp Met
[0726] 35 40 45
[0727] Gly Arg Ile Asp Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Phe
[0728] 50 55 60
[0729] Gln Gly His Val Thr Ile Ser Ile Asp Lys Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
[0730] 65 70 75 80
[0731] Leu His Trp Asn Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
[0732] 85 90 95
[0733] Ala Arg Tyr Tyr Val Ser Leu Val Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu
[0734] 100 105 110
[0735] Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
[0736] 115 120 125
[0737] Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
[0738] 130 135 140
[0739] Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
[0740] 145 150 155 160

[0741] Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
[0742] 165 170 175
[0743] Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
[0744] 180 185 190
[0745] Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
[0746] 195 200 205
[0747] Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp His Val Lys
[0748] 210 215 220
[0749] Pro Lys Glu Thr Glu Asn Thr Lys Gln Pro Ser Lys Ser Cys His Lys
[0750] 225 230 235 240
[0751] Pro Lys Ala Ile Val His Thr Glu Lys Val Asn Met Met Ser Leu Thr
[0752] 245 250 255
[0753] Val Leu Gly Leu Arg Met Leu Phe Ala Lys Thr Val Ala Val Asn Phe
[0754] 260 265 270
[0755] Leu Leu Thr Ala Lys Leu Phe Phe Leu
[0756] 275 280
[0757] <210> 34
[0758] <211> 275
[0759] <212> PRT
[0760] <213> 人工序列
[0761] <220>
[0762] <223> 抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-6 γ
[0763] <400> 34
[0764] Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
[0765] 1 5 10 15
[0766] Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
[0767] 20 25 30
[0768] Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
[0769] 35 40 45
[0770] Met Ile Tyr Asp Val Asn Asn Arg Pro Ser Glu Val Ser Asn Arg Phe
[0771] 50 55 60
[0772] Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
[0773] 65 70 75 80
[0774] Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Thr Gly
[0775] 85 90 95
[0776] Ser Arg Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln
[0777] 100 105 110
[0778] Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu
[0779] 115 120 125

[0780] Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr
[0781] 130 135 140
[0782] Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys
[0783] 145 150 155 160
[0784] Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
[0785] 165 170 175
[0786] Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
[0787] 180 185 190
[0788] Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
[0789] 195 200 205
[0790] Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser Met Asp Pro Lys Asp Asn Cys Ser
[0791] 210 215 220
[0792] Lys Asp Ala Asn Asp Thr Leu Leu Leu Gln Leu Thr Asn Thr Ser Ala
[0793] 225 230 235 240
[0794] Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu Leu Leu Leu Lys Ser Val Val Tyr Phe Ala
[0795] 245 250 255
[0796] Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu Arg Arg Thr Ala Phe Cys Cys Asn Gly
[0797] 260 265 270
[0798] Glu Lys Ser
[0799] 275
[0800] <210> 35
[0801] <211> 288
[0802] <212> PRT
[0803] <213> 人工序列
[0804] <220>
[0805] <223> 抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-6MD δ
[0806] <400> 35
[0807] Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
[0808] 1 5 10 15
[0809] Ser Leu Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Pro Asn Tyr
[0810] 20 25 30
[0811] Trp Ile Thr Trp Val Arg Gln Met Ser Gly Gly Gly Leu Glu Trp Met
[0812] 35 40 45
[0813] Gly Arg Ile Asp Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Phe
[0814] 50 55 60
[0815] Gln Gly His Val Thr Ile Ser Ile Asp Lys Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
[0816] 65 70 75 80
[0817] Leu His Trp Asn Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
[0818] 85 90 95

[0819] Ala Arg Tyr Tyr Val Ser Leu Val Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu
[0820] 100 105 110
[0821] Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
[0822] 115 120 125
[0823] Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
[0824] 130 135 140
[0825] Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
[0826] 145 150 155 160
[0827] Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
[0828] 165 170 175
[0829] Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
[0830] 180 185 190
[0831] Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
[0832] 195 200 205
[0833] Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Glu Val Lys Thr
[0834] 210 215 220
[0835] Asp Ser Thr Asp His Val Lys Pro Lys Glu Thr Glu Asn Thr Lys Gln
[0836] 225 230 235 240
[0837] Pro Ser Lys Ser Cys His Lys Pro Lys Ala Ile Val His Thr Glu Lys
[0838] 245 250 255
[0839] Val Asn Met Met Ser Leu Thr Val Leu Gly Leu Arg Met Leu Phe Ala
[0840] 260 265 270
[0841] Lys Thr Val Ala Val Asn Phe Leu Leu Thr Ala Lys Leu Phe Phe Leu
[0842] 275 280 285
[0843] <210> 36
[0844] <211> 283
[0845] <212> PRT
[0846] <213> 人工序列
[0847] <220>
[0848] <223> 抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-6MD γ
[0849] <400> 36
[0850] Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
[0851] 1 5 10 15
[0852] Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
[0853] 20 25 30
[0854] Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
[0855] 35 40 45
[0856] Met Ile Tyr Asp Val Asn Asn Arg Pro Ser Glu Val Ser Asn Arg Phe
[0857] 50 55 60

[0858] Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
[0859] 65 70 75 80
[0860] Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Thr Gly
[0861] 85 90 95
[0862] Ser Arg Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln
[0863] 100 105 110
[0864] Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu
[0865] 115 120 125
[0866] Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr
[0867] 130 135 140
[0868] Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys
[0869] 145 150 155 160
[0870] Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
[0871] 165 170 175
[0872] Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
[0873] 180 185 190
[0874] Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
[0875] 195 200 205
[0876] Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser Pro Ile Lys Thr Asp Val Ile Thr
[0877] 210 215 220
[0878] Met Asp Pro Lys Asp Asn Cys Ser Lys Asp Ala Asn Asp Thr Leu Leu
[0879] 225 230 235 240
[0880] Leu Gln Leu Thr Asn Thr Ser Ala Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu Leu Leu
[0881] 245 250 255
[0882] Leu Lys Ser Val Val Tyr Phe Ala Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu Arg
[0883] 260 265 270
[0884] Arg Thr Ala Phe Cys Cys Asn Gly Glu Lys Ser
[0885] 275 280
[0886] <210> 37
[0887] <211> 471
[0888] <212> PRT
[0889] <213> 人工序列
[0890] <220>
[0891] <223> 抗AFP158/HLA-A*02:01-scFv CAR
[0892] <400> 37
[0893] Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
[0894] 1 5 10 15
[0895] Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
[0896] 20 25 30

[0897] Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
[0898] 35 40 45
[0899] Met Ile Tyr Asp Val Asn Asn Arg Pro Ser Glu Val Ser Asn Arg Phe
[0900] 50 55 60
[0901] Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
[0902] 65 70 75 80
[0903] Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Thr Gly
[0904] 85 90 95
[0905] Ser Arg Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
[0906] 100 105 110
[0907] Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
[0908] 115 120 125
[0909] Leu Glu Met Ala Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
[0910] 130 135 140
[0911] Lys Pro Gly Glu Ser Leu Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser
[0912] 145 150 155 160
[0913] Phe Pro Asn Tyr Trp Ile Thr Trp Val Arg Gln Met Ser Gly Gly Gly
[0914] 165 170 175
[0915] Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Thr Tyr
[0916] 180 185 190
[0917] Asn Pro Ser Phe Gln Gly His Val Thr Ile Ser Ile Asp Lys Ser Thr
[0918] 195 200 205
[0919] Asn Thr Ala Tyr Leu His Trp Asn Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala
[0920] 210 215 220
[0921] Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Tyr Tyr Val Ser Leu Val Asp Ile Trp Gly
[0922] 225 230 235 240
[0923] Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ala Ala Ile Glu Val Met
[0924] 245 250 255
[0925] Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly Thr Ile Ile
[0926] 260 265 270
[0927] His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro
[0928] 275 280 285
[0929] Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys
[0930] 290 295 300
[0931] Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser
[0932] 305 310 315 320
[0933] Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg
[0934] 325 330 335
[0935] Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg

[0936] 340 345 350

[0937] Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp

[0938] 355 360 365

[0939] Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn

[0940] 370 375 380

[0941] Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg

[0942] 385 390 395 400

[0943] Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly

[0944] 405 410 415

[0945] Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu

[0946] 420 425 430

[0947] Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu

[0948] 435 440 445

[0949] Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His

[0950] 450 455 460

[0951] Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

[0952] 465 470

[0953] <210> 38

[0954] <211> 117

[0955] <212> PRT

[0956] <213> 人工序列

[0957] <220>

[0958] <223>抗AFP158/HLA-A*02:01抗体的IgVH域

[0959] <400> 38

[0960] Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu

[0961] 1 5 10 15

[0962] Ser Leu Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Pro Asn Tyr

[0963] 20 25 30

[0964] Trp Ile Thr Trp Val Arg Gln Met Ser Gly Gly Gly Leu Glu Trp Met

[0965] 35 40 45

[0966] Gly Arg Ile Asp Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Phe

[0967] 50 55 60

[0968] Gln Gly His Val Thr Ile Ser Ile Asp Lys Ser Thr Asn Thr Ala Tyr

[0969] 65 70 75 80

[0970] Leu His Trp Asn Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

[0971] 85 90 95

[0972] Ala Arg Tyr Tyr Val Ser Leu Val Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu

[0973] 100 105 110

[0974] Val Thr Val Ser Ser

[0975] 115

[0976] <210> 39

[0977] <211> 103

[0978] <212> PRT

[0979] <213> 智人(Homo sapiens)

[0980] <220>

[0981] <223> IgG1 CH1域

[0982] <400> 39

[0983] Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys

[0984] 1 5 10 15

[0985] Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

[0986] 20 25 30

[0987] Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

[0988] 35 40 45

[0989] Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

[0990] 50 55 60

[0991] Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

[0992] 65 70 75 80

[0993] Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

[0994] 85 90 95

[0995] Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys

[0996] 100

[0997] <210> 40

[0998] <211> 110

[0999] <212> PRT

[1000] <213> 人工序列

[1001] <220>

[1002] <223> AFP158/HLA-A*02:01抗体的IgVL域

[1003] <400> 40

[1004] Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln

[1005] 1 5 10 15

[1006] Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr

[1007] 20 25 30

[1008] Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu

[1009] 35 40 45

[1010] Met Ile Tyr Asp Val Asn Asn Arg Pro Ser Glu Val Ser Asn Arg Phe

[1011] 50 55 60

[1012] Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu

[1013] 65 70 75 80

[1014] Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Thr Gly
[1015] 85 90 95
[1016] Ser Arg Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
[1017] 100 105 110
[1018] <210> 41
[1019] <211> 106
[1020] <212> PRT
[1021] <213> 智人(Homo sapiens)
[1022] <220>
[1023] <223> IgCL域
[1024] <400> 41
[1025] Gly Gln Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
[1026] 1 5 10 15
[1027] Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
[1028] 20 25 30
[1029] Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro
[1030] 35 40 45
[1031] Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
[1032] 50 55 60
[1033] Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
[1034] 65 70 75 80
[1035] Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
[1036] 85 90 95
[1037] Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
[1038] 100 105
[1039] <210> 42
[1040] <211> 301
[1041] <212> PRT
[1042] <213> 人工序列
[1043] <220>
[1044] <223> 抗CD19-abTCR-6MD δ
[1045] <400> 42
[1046] Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
[1047] 1 5 10 15
[1048] Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
[1049] 20 25 30
[1050] Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
[1051] 35 40 45
[1052] Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe

[1053] 50 55 60

[1054] Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

[1055] 65 70 75 80

[1056] Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

[1057] 85 90 95

[1058] Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg Ser Asn

[1059] 100 105 110

[1060] Trp Trp Tyr Asn Met Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val

[1061] 115 120 125

[1062] Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser

[1063] 130 135 140

[1064] Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys

[1065] 145 150 155 160

[1066] Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu

[1067] 165 170 175

[1068] Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu

[1069] 180 185 190

[1070] Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr

[1071] 195 200 205

[1072] Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val

[1073] 210 215 220

[1074] Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Glu Val Lys Thr Asp Ser Thr

[1075] 225 230 235 240

[1076] Asp His Val Lys Pro Lys Glu Thr Glu Asn Thr Lys Gln Pro Ser Lys

[1077] 245 250 255

[1078] Ser Cys His Lys Pro Lys Ala Ile Val His Thr Glu Lys Val Asn Met

[1079] 260 265 270

[1080] Met Ser Leu Thr Val Leu Gly Leu Arg Met Leu Phe Ala Lys Thr Val

[1081] 275 280 285

[1082] Ala Val Asn Phe Leu Leu Thr Ala Lys Leu Phe Phe Leu

[1083] 290 295 300

[1084] <210> 43

[1085] <211> 281

[1086] <212> PRT

[1087] <213> 人工序列

[1088] <220>

[1089] <223> 抗CD19-abTCR-6MD γ

[1090] <400> 43

[1091] Leu Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys

[1092] 1 5 10 15
[1093] Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
[1094] 20 25 30
[1095] His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
[1096] 35 40 45
[1097] Asp Asp Ser Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
[1098] 50 55 60
[1099] Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
[1100] 65 70 75 80
[1101] Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Glu Tyr
[1102] 85 90 95
[1103] Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys
[1104] 100 105 110
[1105] Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln
[1106] 115 120 125
[1107] Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly
[1108] 130 135 140
[1109] Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys Ala Gly
[1110] 145 150 155 160
[1111] Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala
[1112] 165 170 175
[1113] Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser
[1114] 180 185 190
[1115] Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val
[1116] 195 200 205
[1117] Ala Pro Thr Glu Cys Ser Pro Ile Lys Thr Asp Val Ile Thr Met Asp
[1118] 210 215 220
[1119] Pro Lys Asp Asn Cys Ser Lys Asp Ala Asn Asp Thr Leu Leu Leu Gln
[1120] 225 230 235 240
[1121] Leu Thr Asn Thr Ser Ala Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu Leu Leu Leu Lys
[1122] 245 250 255
[1123] Ser Val Val Tyr Phe Ala Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu Arg Arg Thr
[1124] 260 265 270
[1125] Ala Phe Cys Cys Asn Gly Glu Lys Ser
[1126] 275 280
[1127] <210> 44
[1128] <211> 482
[1129] <212> PRT
[1130] <213> 人工序列

[1131] <220>

[1132] <223> 抗CD19-scFv CAR

[1133] <400> 44

[1134] Leu Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys
[1135] 1 5 10 15
[1136] Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
[1137] 20 25 30
[1138] His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
[1139] 35 40 45
[1140] Asp Asp Ser Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
[1141] 50 55 60
[1142] Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
[1143] 65 70 75 80
[1144] Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Glu Tyr
[1145] 85 90 95
[1146] Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser Arg Gly
[1147] 100 105 110
[1148] Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu
[1149] 115 120 125
[1150] Met Ala Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro
[1151] 130 135 140
[1152] Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr
[1153] 145 150 155 160
[1154] Ser Tyr Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu
[1155] 165 170 175
[1156] Trp Met Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro
[1157] 180 185 190
[1158] Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr
[1159] 195 200 205
[1160] Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr
[1161] 210 215 220
[1162] Tyr Cys Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg
[1163] 225 230 235 240
[1164] Ser Asn Trp Trp Tyr Asn Met Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
[1165] 245 250 255
[1166] Thr Val Ser Ser Ala Ala Ala Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr
[1167] 260 265 270
[1168] Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys
[1169] 275 280 285

[1170] His Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp
[1171] 290 295 300
[1172] Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val
[1173] 305 310 315 320
[1174] Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu
[1175] 325 330 335
[1176] Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr
[1177] 340 345 350
[1178] Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr
[1179] 355 360 365
[1180] Arg Ser Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln
[1181] 370 375 380
[1182] Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu
[1183] 385 390 395 400
[1184] Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly
[1185] 405 410 415
[1186] Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu
[1187] 420 425 430
[1188] Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly
[1189] 435 440 445
[1190] Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser
[1191] 450 455 460
[1192] Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro
[1193] 465 470 475 480
[1194] Pro Arg
[1195] <210> 45
[1196] <211> 130
[1197] <212> PRT
[1198] <213> 人工序列
[1199] <220>
[1200] <223>抗CD19抗体的IgVH域
[1201] <400> 45
[1202] Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
[1203] 1 5 10 15
[1204] Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
[1205] 20 25 30
[1206] Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
[1207] 35 40 45
[1208] Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe

[1209] 50 55 60

[1210] Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

[1211] 65 70 75 80

[1212] Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

[1213] 85 90 95

[1214] Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg Ser Asn

[1215] 100 105 110

[1216] Trp Trp Tyr Asn Met Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val

[1217] 115 120 125

[1218] Ser Ser

[1219] 130

[1220] <210> 46

[1221] <211> 108

[1222] <212> PRT

[1223] <213> 人工序列

[1224] <220>

[1225] <223>抗CD19抗体的IgVL域

[1226] <400> 46

[1227] Leu Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys

[1228] 1 5 10 15

[1229] Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val

[1230] 20 25 30

[1231] His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr

[1232] 35 40 45

[1233] Asp Asp Ser Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser

[1234] 50 55 60

[1235] Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly

[1236] 65 70 75 80

[1237] Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Glu Tyr

[1238] 85 90 95

[1239] Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

[1240] 100 105

[1241] <210> 47

[1242] <211> 107

[1243] <212> PRT

[1244] <213> 智人(Homo sapiens)

[1245] <220>

[1246] <223> CD28的片段

[1247] <400> 47

[1248] Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn
[1249] 1 5 10 15
[1250] Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu
[1251] 20 25 30
[1252] Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly
[1253] 35 40 45
[1254] Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe
[1255] 50 55 60
[1256] Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn
[1257] 65 70 75 80
[1258] Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr
[1259] 85 90 95
[1260] Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser
[1261] 100 105
[1262] <210> 48
[1263] <211> 112
[1264] <212> PRT
[1265] <213> 智人(Homo sapiens)
[1266] <220>
[1267] <223> CD3-ζ的片段
[1268] <400> 48
[1269] Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly
[1270] 1 5 10 15
[1271] Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
[1272] 20 25 30
[1273] Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
[1274] 35 40 45
[1275] Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys
[1276] 50 55 60
[1277] Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
[1278] 65 70 75 80
[1279] Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala
[1280] 85 90 95
[1281] Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
[1282] 100 105 110
[1283] <210> 49
[1284] <211> 20
[1285] <212> PRT
[1286] <213> 智人(Homo sapiens)

[1287] <220>
[1288] <223> 单肽
[1289] <400> 49
[1290] Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
[1291] 1 5 10 15
[1292] Gly Ser Thr Gly
[1293] 20
[1294] <210> 50
[1295] <211> 9
[1296] <212> PRT
[1297] <213> 人工序列
[1298] <220>
[1299] <223> HA标签
[1300] <400> 50
[1301] Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala
[1302] 1 5
[1303] <210> 51
[1304] <211> 22
[1305] <212> PRT
[1306] <213> 人工序列
[1307] <220>
[1308] <223> 3x Flag标签
[1309] <400> 51
[1310] Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp Ile Asp Tyr
[1311] 1 5 10 15
[1312] Lys Asp Asp Asp Asp Lys
[1313] 20
[1314] <210> 52
[1315] <211> 10
[1316] <212> PRT
[1317] <213> 人工序列
[1318] <220>
[1319] <223> myc标签
[1320] <400> 52
[1321] Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu
[1322] 1 5 10
[1323] <210> 53
[1324] <211> 9
[1325] <212> PRT

[1326] <213> 智人(Homo sapiens)

[1327] <220>

[1328] <223> AFP158

[1329] <400> 53

[1330] Phe Met Asn Lys Phe Ile Tyr Glu Ile

[1331] 1 5

[1332] <210> 54

[1333] <211> 281

[1334] <212> PRT

[1335] <213> 人工序列

[1336] <220>

[1337] <223> 抗CD19克隆5 abTCR-6MD γ

[1338] <400> 54

[1339] Leu Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys

[1340] 1 5 10 15

[1341] Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val

[1342] 20 25 30

[1343] His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr

[1344] 35 40 45

[1345] Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser

[1346] 50 55 60

[1347] Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly

[1348] 65 70 75 80

[1349] Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp Tyr

[1350] 85 90 95

[1351] Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys

[1352] 100 105 110

[1353] Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln

[1354] 115 120 125

[1355] Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly

[1356] 130 135 140

[1357] Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys Ala Gly

[1358] 145 150 155 160

[1359] Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala

[1360] 165 170 175

[1361] Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser

[1362] 180 185 190

[1363] Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val

[1364] 195 200 205

[1365] Ala Pro Thr Glu Cys Ser Pro Ile Lys Thr Asp Val Ile Thr Met Asp
[1366] 210 215 220
[1367] Pro Lys Asp Asn Cys Ser Lys Asp Ala Asn Asp Thr Leu Leu Leu Gln
[1368] 225 230 235 240
[1369] Leu Thr Asn Thr Ser Ala Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu Leu Leu Leu Lys
[1370] 245 250 255
[1371] Ser Val Val Tyr Phe Ala Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu Arg Arg Thr
[1372] 260 265 270
[1373] Ala Phe Cys Cys Asn Gly Glu Lys Ser
[1374] 275 280
[1375] <210> 55
[1376] <211> 301
[1377] <212> PRT
[1378] <213> 人工序列
[1379] <220>
[1380] <223> 抗CD19克隆5-9 abTCR-6MD δ
[1381] <400> 55
[1382] Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
[1383] 1 5 10 15
[1384] Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
[1385] 20 25 30
[1386] Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
[1387] 35 40 45
[1388] Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Phe Phe
[1389] 50 55 60
[1390] Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
[1391] 65 70 75 80
[1392] Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
[1393] 85 90 95
[1394] Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg Ser Asn
[1395] 100 105 110
[1396] Trp Trp Tyr Asn Met Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
[1397] 115 120 125
[1398] Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser
[1399] 130 135 140
[1400] Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys
[1401] 145 150 155 160
[1402] Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
[1403] 165 170 175

[1404] Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu
[1405] 180 185 190
[1406] Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
[1407] 195 200 205
[1408] Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val
[1409] 210 215 220
[1410] Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Glu Val Lys Thr Asp Ser Thr
[1411] 225 230 235 240
[1412] Asp His Val Lys Pro Lys Glu Thr Glu Asn Thr Lys Gln Pro Ser Lys
[1413] 245 250 255
[1414] Ser Cys His Lys Pro Lys Ala Ile Val His Thr Glu Lys Val Asn Met
[1415] 260 265 270
[1416] Met Ser Leu Thr Val Leu Gly Leu Arg Met Leu Phe Ala Lys Thr Val
[1417] 275 280 285
[1418] Ala Val Asn Phe Leu Leu Thr Ala Lys Leu Phe Phe Leu
[1419] 290 295 300
[1420] <210> 56
[1421] <211> 301
[1422] <212> PRT
[1423] <213> 人工序列
[1424] <220>
[1425] <223> 抗CD19克隆5-13 abTCR-6MD δ
[1426] <400> 56
[1427] Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
[1428] 1 5 10 15
[1429] Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
[1430] 20 25 30
[1431] Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
[1432] 35 40 45
[1433] Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
[1434] 50 55 60
[1435] Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
[1436] 65 70 75 80
[1437] Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
[1438] 85 90 95
[1439] Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg Ser Asn
[1440] 100 105 110
[1441] Trp Trp Tyr Asn Leu Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
[1442] 115 120 125

[1443] Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser
[1444] 130 135 140
[1445] Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys
[1446] 145 150 155 160
[1447] Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
[1448] 165 170 175
[1449] Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu
[1450] 180 185 190
[1451] Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
[1452] 195 200 205
[1453] Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val
[1454] 210 215 220
[1455] Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Glu Val Lys Thr Asp Ser Thr
[1456] 225 230 235 240
[1457] Asp His Val Lys Pro Lys Glu Thr Glu Asn Thr Lys Gln Pro Ser Lys
[1458] 245 250 255
[1459] Ser Cys His Lys Pro Lys Ala Ile Val His Thr Glu Lys Val Asn Met
[1460] 260 265 270
[1461] Met Ser Leu Thr Val Leu Gly Leu Arg Met Leu Phe Ala Lys Thr Val
[1462] 275 280 285
[1463] Ala Val Asn Phe Leu Leu Thr Ala Lys Leu Phe Phe Leu
[1464] 290 295 300
[1465] <210> 57
[1466] <211> 108
[1467] <212> PRT
[1468] <213> 人工序列
[1469] <220>
[1470] <223>抗CD19抗体克隆5的IgVL域
[1471] <400> 57
[1472] Leu Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys
[1473] 1 5 10 15
[1474] Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
[1475] 20 25 30
[1476] His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
[1477] 35 40 45
[1478] Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
[1479] 50 55 60
[1480] Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
[1481] 65 70 75 80

[1482] Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp Tyr
[1483] 85 90 95
[1484] Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
[1485] 100 105
[1486] <210> 58
[1487] <211> 130
[1488] <212> PRT
[1489] <213> 人工序列
[1490] <220>
[1491] <223>抗CD19抗体克隆5-9的IgVH域
[1492] <400> 58
[1493] Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
[1494] 1 5 10 15
[1495] Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
[1496] 20 25 30
[1497] Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
[1498] 35 40 45
[1499] Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Phe Phe
[1500] 50 55 60
[1501] Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
[1502] 65 70 75 80
[1503] Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
[1504] 85 90 95
[1505] Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg Ser Asn
[1506] 100 105 110
[1507] Trp Trp Tyr Asn Met Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
[1508] 115 120 125
[1509] Ser Ser
[1510] 130
[1511] <210> 59
[1512] <211> 130
[1513] <212> PRT
[1514] <213> 人工序列
[1515] <220>
[1516] <223>抗CD19抗体克隆5-13的IgVH域
[1517] <400> 59
[1518] Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
[1519] 1 5 10 15
[1520] Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr

[1521] 20 25 30
[1522] Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
[1523] 35 40 45
[1524] Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
[1525] 50 55 60
[1526] Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
[1527] 65 70 75 80
[1528] Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
[1529] 85 90 95
[1530] Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg Ser Asn
[1531] 100 105 110
[1532] Trp Trp Tyr Asn Leu Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
[1533] 115 120 125
[1534] Ser Ser
[1535] 130
[1536] <210> 60
[1537] <211> 101
[1538] <212> PRT
[1539] <213> 智人(Homo sapiens)
[1540] <220>
[1541] <223> IgG2-0C CH1
[1542] <400> 60
[1543] Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
[1544] 1 5 10 15
[1545] Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
[1546] 20 25 30
[1547] Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
[1548] 35 40 45
[1549] Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
[1550] 50 55 60
[1551] Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
[1552] 65 70 75 80
[1553] Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
[1554] 85 90 95
[1555] Thr Val Glu Arg Lys
[1556] 100
[1557] <210> 61
[1558] <211> 102
[1559] <212> PRT

[1560] <213> 智人(Homo sapiens)
[1561] <220>
[1562] <223> IgG2-1C CH1
[1563] <400> 61
[1564] Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
[1565] 1 5 10 15
[1566] Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
[1567] 20 25 30
[1568] Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
[1569] 35 40 45
[1570] Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
[1571] 50 55 60
[1572] Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
[1573] 65 70 75 80
[1574] Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
[1575] 85 90 95
[1576] Thr Val Glu Arg Lys Cys
[1577] 100
[1578] <210> 62
[1579] <211> 103
[1580] <212> PRT
[1581] <213> 智人(Homo sapiens)
[1582] <220>
[1583] <223> IgG2-2C CH1
[1584] <400> 62
[1585] Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
[1586] 1 5 10 15
[1587] Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
[1588] 20 25 30
[1589] Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
[1590] 35 40 45
[1591] Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
[1592] 50 55 60
[1593] Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
[1594] 65 70 75 80
[1595] Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
[1596] 85 90 95
[1597] Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys
[1598] 100

[1599] <210> 63
[1600] <211> 103
[1601] <212> PRT
[1602] <213> 智人(Homo sapiens)
[1603] <220>
[1604] <223> IgG3 CH1
[1605] <400> 63
[1606] Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
[1607] 1 5 10 15
[1608] Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
[1609] 20 25 30
[1610] Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
[1611] 35 40 45
[1612] Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
[1613] 50 55 60
[1614] Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
[1615] 65 70 75 80
[1616] Tyr Thr Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
[1617] 85 90 95
[1618] Arg Val Glu Leu Lys Thr Pro
[1619] 100
[1620] <210> 64
[1621] <211> 103
[1622] <212> PRT
[1623] <213> 智人(Homo sapiens)
[1624] <220>
[1625] <223> IgG4 CH1
[1626] <400> 64
[1627] Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
[1628] 1 5 10 15
[1629] Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
[1630] 20 25 30
[1631] Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
[1632] 35 40 45
[1633] Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
[1634] 50 55 60
[1635] Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
[1636] 65 70 75 80
[1637] Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

[1638] 85 90 95

[1639] Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly

[1640] 100

[1641] <210> 65

[1642] <211> 121

[1643] <212> PRT

[1644] <213> 智人(Homo sapiens)

[1645] <220>

[1646] <223> IgA1 CH1

[1647] <400> 65

[1648] Ala Ser Pro Thr Ser Pro Lys Val Phe Pro Leu Ser Leu Cys Ser Thr

[1649] 1 5 10 15

[1650] Gln Pro Asp Gly Asn Val Val Ile Ala Cys Leu Val Gln Gly Phe Phe

[1651] 20 25 30

[1652] Pro Gln Glu Pro Leu Ser Val Thr Trp Ser Glu Ser Gly Gln Gly Val

[1653] 35 40 45

[1654] Thr Ala Arg Asn Phe Pro Pro Ser Gln Asp Ala Ser Gly Asp Leu Tyr

[1655] 50 55 60

[1656] Thr Thr Ser Ser Gln Leu Thr Leu Pro Ala Thr Gln Cys Leu Ala Gly

[1657] 65 70 75 80

[1658] Lys Ser Val Thr Cys His Val Lys His Tyr Thr Asn Pro Ser Gln Asp

[1659] 85 90 95

[1660] Val Thr Val Pro Cys Pro Val Pro Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser Pro

[1661] 100 105 110

[1662] Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser Pro Ser

[1663] 115 120

[1664] <210> 66

[1665] <211> 108

[1666] <212> PRT

[1667] <213> 智人(Homo sapiens)

[1668] <220>

[1669] <223> IgA2 CH1

[1670] <400> 66

[1671] Ala Ser Pro Thr Ser Pro Lys Val Phe Pro Leu Ser Leu Asp Ser Thr

[1672] 1 5 10 15

[1673] Pro Gln Asp Gly Asn Val Val Val Ala Cys Leu Val Gln Gly Phe Phe

[1674] 20 25 30

[1675] Pro Gln Glu Pro Leu Ser Val Thr Trp Ser Glu Ser Gly Gln Asn Val

[1676] 35 40 45

[1677] Thr Ala Arg Asn Phe Pro Pro Ser Gln Asp Ala Ser Gly Asp Leu Tyr
[1678] 50 55 60
[1679] Thr Thr Ser Ser Gln Leu Thr Leu Pro Ala Thr Gln Cys Pro Asp Gly
[1680] 65 70 75 80
[1681] Lys Ser Val Thr Cys His Val Lys His Tyr Thr Asn Pro Ser Gln Asp
[1682] 85 90 95
[1683] Val Thr Val Pro Cys Pro Val Pro Pro Pro Pro Pro
[1684] 100 105
[1685] <210> 67
[1686] <211> 159
[1687] <212> PRT
[1688] <213> 智人(Homo sapiens)
[1689] <220>
[1690] <223> IgD CH1
[1691] <400> 67
[1692] Ala Pro Thr Lys Ala Pro Asp Val Phe Pro Ile Ile Ser Gly Cys Arg
[1693] 1 5 10 15
[1694] His Pro Lys Asp Asn Ser Pro Val Val Leu Ala Cys Leu Ile Thr Gly
[1695] 20 25 30
[1696] Tyr His Pro Thr Ser Val Thr Val Thr Trp Tyr Met Gly Thr Gln Ser
[1697] 35 40 45
[1698] Gln Pro Gln Arg Thr Phe Pro Glu Ile Gln Arg Arg Asp Ser Tyr Tyr
[1699] 50 55 60
[1700] Met Thr Ser Ser Gln Leu Ser Thr Pro Leu Gln Gln Trp Arg Gln Gly
[1701] 65 70 75 80
[1702] Glu Tyr Lys Cys Val Val Gln His Thr Ala Ser Lys Ser Lys Lys Glu
[1703] 85 90 95
[1704] Ile Phe Arg Trp Pro Glu Ser Pro Lys Ala Gln Ala Ser Ser Val Pro
[1705] 100 105 110
[1706] Thr Ala Gln Pro Gln Ala Glu Gly Ser Leu Ala Lys Ala Thr Thr Ala
[1707] 115 120 125
[1708] Pro Ala Thr Thr Arg Asn Thr Gly Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Lys
[1709] 130 135 140
[1710] Glu Lys Glu Lys Glu Glu Gln Glu Glu Arg Glu Thr Lys Thr Pro
[1711] 145 150 155
[1712] <210> 68
[1713] <211> 103
[1714] <212> PRT
[1715] <213> 智人(Homo sapiens)

[1716] <220>
[1717] <223> IgE CH1
[1718] <400> 68
[1719] Ala Ser Thr Gln Ser Pro Ser Val Phe Pro Leu Thr Arg Cys Cys Lys
[1720] 1 5 10 15
[1721] Asn Ile Pro Ser Asn Ala Thr Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu Ala Thr
[1722] 20 25 30
[1723] Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Met Val Thr Trp Asp Thr Gly Ser Leu
[1724] 35 40 45
[1725] Asn Gly Thr Thr Met Thr Leu Pro Ala Thr Thr Leu Thr Leu Ser Gly
[1726] 50 55 60
[1727] His Tyr Ala Thr Ile Ser Leu Leu Thr Val Ser Gly Ala Trp Ala Lys
[1728] 65 70 75 80
[1729] Gln Met Phe Thr Cys Arg Val Ala His Thr Pro Ser Ser Thr Asp Trp
[1730] 85 90 95
[1731] Val Asp Asn Lys Thr Phe Ser
[1732] 100
[1733] <210> 69
[1734] <211> 104
[1735] <212> PRT
[1736] <213> 智人(Homo sapiens)
[1737] <220>
[1738] <223> IgM CH1
[1739] <400> 69
[1740] Gly Ser Ala Ser Ala Pro Thr Leu Phe Pro Leu Val Ser Cys Glu Asn
[1741] 1 5 10 15
[1742] Ser Pro Ser Asp Thr Ser Ser Val Ala Val Gly Cys Leu Ala Gln Asp
[1743] 20 25 30
[1744] Phe Leu Pro Asp Ser Ile Thr Leu Ser Trp Lys Tyr Lys Asn Asn Ser
[1745] 35 40 45
[1746] Asp Ile Ser Ser Thr Arg Gly Phe Pro Ser Val Leu Arg Gly Gly Lys
[1747] 50 55 60
[1748] Tyr Ala Ala Thr Ser Gln Val Leu Leu Pro Ser Lys Asp Val Met Gln
[1749] 65 70 75 80
[1750] Gly Thr Asp Glu His Val Val Cys Lys Val Gln His Pro Asn Gly Asn
[1751] 85 90 95
[1752] Lys Glu Lys Asn Val Pro Leu Pro
[1753] 100
[1754] <210> 70

[1755] <211> 41
[1756] <212> PRT
[1757] <213> 智人(Homo sapiens)
[1758] <220>
[1759] <223> CD28共刺激片段
[1760] <400> 70
[1761] Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr
[1762] 1 5 10 15
[1763] Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro
[1764] 20 25 30
[1765] Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser
[1766] 35 40
[1767] <210> 71
[1768] <211> 42
[1769] <212> PRT
[1770] <213> 智人(Homo sapiens)
[1771] <220>
[1772] <223> 4-1BB共刺激片段
[1773] <400> 71
[1774] Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met
[1775] 1 5 10 15
[1776] Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe
[1777] 20 25 30
[1778] Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
[1779] 35 40
[1780] <210> 72
[1781] <211> 117
[1782] <212> PRT
[1783] <213> 人工序列
[1784] <220>
[1785] <223> 抗NY-ESO-1/HLA-A*02:01抗体克隆35的IgVH域
[1786] <400> 72
[1787] Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
[1788] 1 5 10 15
[1789] Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Asp Thr Phe Ser Ser Tyr
[1790] 20 25 30
[1791] Ser Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
[1792] 35 40 45
[1793] Gly Arg Ile Ile Pro Ile Leu Gly Ile Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Tyr

[1794] 50 55 60
[1795] Gln Gly Arg Val Thr Leu Ser Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ser Tyr
[1796] 65 70 75 80
[1797] Met Glu Leu Asn Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
[1798] 85 90 95
[1799] Ala Arg Asp Trp Ser Tyr Ser Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
[1800] 100 105 110
[1801] Val Thr Val Ser Ser
[1802] 115
[1803] <210> 73
[1804] <211> 111
[1805] <212> PRT
[1806] <213> 人工序列
[1807] <220>
[1808] <223>抗NY-ESO-1/HLA-A*02:01抗体克隆35的IgVL域
[1809] <400> 73
[1810] Gln Ser Val Val Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
[1811] 1 5 10 15
[1812] Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn
[1813] 20 25 30
[1814] Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
[1815] 35 40 45
[1816] Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
[1817] 50 55 60
[1818] Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln
[1819] 65 70 75 80
[1820] Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu
[1821] 85 90 95
[1822] Ser Ala Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
[1823] 100 105 110
[1824] <210> 74
[1825] <211> 21
[1826] <212> PRT
[1827] <213> 人工序列
[1828] <220>
[1829] <223> scFv接头
[1830] <400> 74
[1831] Ser Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
[1832] 1 5 10 15

[1833] Ser Leu Glu Met Ala
[1834] 20
[1835] <210> 75
[1836] <211> 284
[1837] <212> PRT
[1838] <213> 人工序列
[1839] <220>
[1840] <223> 抗CD19-cTCR δ
[1841] <400> 75
[1842] Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
[1843] 1 5 10 15
[1844] Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
[1845] 20 25 30
[1846] Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
[1847] 35 40 45
[1848] Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
[1849] 50 55 60
[1850] Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
[1851] 65 70 75 80
[1852] Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
[1853] 85 90 95
[1854] Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg Ser Asn
[1855] 100 105 110
[1856] Trp Trp Tyr Asn Leu Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
[1857] 115 120 125
[1858] Ser Ser Arg Ser Gln Pro His Thr Lys Pro Ser Val Phe Val Met Lys
[1859] 130 135 140
[1860] Asn Gly Thr Asn Val Ala Cys Leu Val Lys Glu Phe Tyr Pro Lys Asp
[1861] 145 150 155 160
[1862] Ile Arg Ile Asn Leu Val Ser Ser Lys Lys Ile Thr Glu Phe Asp Pro
[1863] 165 170 175
[1864] Ala Ile Val Ile Ser Pro Ser Gly Lys Tyr Asn Ala Val Lys Leu Gly
[1865] 180 185 190
[1866] Lys Tyr Glu Asp Ser Asn Ser Val Thr Cys Ser Val Gln His Asp Asn
[1867] 195 200 205
[1868] Lys Thr Val His Ser Thr Asp Phe Glu Val Lys Thr Asp Ser Thr Asp
[1869] 210 215 220
[1870] His Val Lys Pro Lys Glu Thr Glu Asn Thr Lys Gln Pro Ser Lys Ser
[1871] 225 230 235 240

[1872] Cys His Lys Pro Lys Ala Ile Val His Thr Glu Lys Val Asn Met Met
[1873] 245 250 255
[1874] Ser Leu Thr Val Leu Gly Leu Arg Met Leu Phe Ala Lys Thr Val Ala
[1875] 260 265 270
[1876] Val Asn Phe Leu Leu Thr Ala Lys Leu Phe Phe Leu
[1877] 275 280
[1878] <210> 76
[1879] <211> 282
[1880] <212> PRT
[1881] <213> 人工序列
[1882] <220>
[1883] <223> 抗CD19-cTCR γ
[1884] <400> 76
[1885] Leu Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys
[1886] 1 5 10 15
[1887] Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
[1888] 20 25 30
[1889] His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
[1890] 35 40 45
[1891] Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
[1892] 50 55 60
[1893] Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
[1894] 65 70 75 80
[1895] Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp Tyr
[1896] 85 90 95
[1897] Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Asp Lys Gln
[1898] 100 105 110
[1899] Leu Asp Ala Asp Val Ser Pro Lys Pro Thr Ile Phe Leu Pro Ser Ile
[1900] 115 120 125
[1901] Ala Glu Thr Lys Leu Gln Lys Ala Gly Thr Tyr Leu Cys Leu Leu Glu
[1902] 130 135 140
[1903] Lys Phe Phe Pro Asp Val Ile Lys Ile His Trp Gln Glu Lys Lys Ser
[1904] 145 150 155 160
[1905] Asn Thr Ile Leu Gly Ser Gln Glu Gly Asn Thr Met Lys Thr Asn Asp
[1906] 165 170 175
[1907] Thr Tyr Met Lys Phe Ser Trp Leu Thr Val Pro Glu Lys Ser Leu Asp
[1908] 180 185 190
[1909] Lys Glu His Arg Cys Ile Val Arg His Glu Asn Asn Lys Asn Gly Val
[1910] 195 200 205

[1911] Asp Gln Glu Ile Ile Phe Pro Pro Ile Lys Thr Asp Val Ile Thr Met
[1912] 210 215 220
[1913] Asp Pro Lys Asp Asn Cys Ser Lys Asp Ala Asn Asp Thr Leu Leu Leu
[1914] 225 230 235 240
[1915] Gln Leu Thr Asn Thr Ser Ala Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu Leu Leu Leu
[1916] 245 250 255
[1917] Lys Ser Val Val Tyr Phe Ala Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu Arg Arg
[1918] 260 265 270
[1919] Thr Ala Phe Cys Cys Asn Gly Glu Lys Ser
[1920] 275 280
[1921] <210> 77
[1922] <211> 142
[1923] <212> PRT
[1924] <213> 智人(Homo sapiens)
[1925] <220>
[1926] <223> TCRα恒定域
[1927] <400> 77
[1928] Pro Asn Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg Asp Ser
[1929] 1 5 10 15
[1930] Lys Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln
[1931] 20 25 30
[1932] Thr Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr Asp Lys
[1933] 35 40 45
[1934] Thr Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys Ser Asn Ser Ala Val
[1935] 50 55 60
[1936] Ala Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe Asn Asn
[1937] 65 70 75 80
[1938] Ser Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser Cys
[1939] 85 90 95
[1940] Asp Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn
[1941] 100 105 110
[1942] Phe Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val
[1943] 115 120 125
[1944] Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser
[1945] 130 135 140
[1946] <210> 78
[1947] <211> 177
[1948] <212> PRT
[1949] <213> 智人(Homo sapiens)

[1950] <220>

[1951] <223> TCRβ恒定域

[1952] <400> 78

[1953] Glu Asp Leu Asn Lys Val Phe Pro Pro Glu Val Ala Val Phe Glu Pro

[1954] 1 5 10 15

[1955] Ser Glu Ala Glu Ile Ser His Thr Gln Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu

[1956] 20 25 30

[1957] Ala Thr Gly Phe Phe Pro Asp His Val Glu Leu Ser Trp Trp Val Asn

[1958] 35 40 45

[1959] Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val Ser Thr Asp Pro Gln Pro Leu Lys

[1960] 50 55 60

[1961] Glu Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser Arg Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu

[1962] 65 70 75 80

[1963] Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys

[1964] 85 90 95

[1965] Gln Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asn Asp Glu Trp Thr Gln Asp

[1966] 100 105 110

[1967] Arg Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile Val Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg

[1968] 115 120 125

[1969] Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Val Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser

[1970] 130 135 140

[1971] Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala

[1972] 145 150 155 160

[1973] Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp

[1974] 165 170 175

[1975] Phe

[1976] <210> 79

[1977] <211> 153

[1978] <212> PRT

[1979] <213> 智人(Homo sapiens)

[1980] <220>

[1981] <223> TCRδ恒定域

[1982] <400> 79

[1983] Ser Gln Pro His Thr Lys Pro Ser Val Phe Val Met Lys Asn Gly Thr

[1984] 1 5 10 15

[1985] Asn Val Ala Cys Leu Val Lys Glu Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Arg Ile

[1986] 20 25 30

[1987] Asn Leu Val Ser Ser Lys Lys Ile Thr Glu Phe Asp Pro Ala Ile Val

[1988] 35 40 45

[1989] Ile Ser Pro Ser Gly Lys Tyr Asn Ala Val Lys Leu Gly Lys Tyr Glu
[1990] 50 55 60
[1991] Asp Ser Asn Ser Val Thr Cys Ser Val Gln His Asp Asn Lys Thr Val
[1992] 65 70 75 80
[1993] His Ser Thr Asp Phe Glu Val Lys Thr Asp Ser Thr Asp His Val Lys
[1994] 85 90 95
[1995] Pro Lys Glu Thr Glu Asn Thr Lys Gln Pro Ser Lys Ser Cys His Lys
[1996] 100 105 110
[1997] Pro Lys Ala Ile Val His Thr Glu Lys Val Asn Met Met Ser Leu Thr
[1998] 115 120 125
[1999] Val Leu Gly Leu Arg Met Leu Phe Ala Lys Thr Val Ala Val Asn Phe
[2000] 130 135 140
[2001] Leu Leu Thr Ala Lys Leu Phe Phe Leu
[2002] 145 150
[2003] <210> 80
[2004] <211> 173
[2005] <212> PRT
[2006] <213> 智人(Homo sapiens)
[2007] <220>
[2008] <223> TCRγ恒定域
[2009] <400> 80
[2010] Asp Lys Gln Leu Asp Ala Asp Val Ser Pro Lys Pro Thr Ile Phe Leu
[2011] 1 5 10 15
[2012] Pro Ser Ile Ala Glu Thr Lys Leu Gln Lys Ala Gly Thr Tyr Leu Cys
[2013] 20 25 30
[2014] Leu Leu Glu Lys Phe Phe Pro Asp Val Ile Lys Ile His Trp Gln Glu
[2015] 35 40 45
[2016] Lys Lys Ser Asn Thr Ile Leu Gly Ser Gln Glu Gly Asn Thr Met Lys
[2017] 50 55 60
[2018] Thr Asn Asp Thr Tyr Met Lys Phe Ser Trp Leu Thr Val Pro Glu Lys
[2019] 65 70 75 80
[2020] Ser Leu Asp Lys Glu His Arg Cys Ile Val Arg His Glu Asn Asn Lys
[2021] 85 90 95
[2022] Asn Gly Val Asp Gln Glu Ile Ile Phe Pro Pro Ile Lys Thr Asp Val
[2023] 100 105 110
[2024] Ile Thr Met Asp Pro Lys Asp Asn Cys Ser Lys Asp Ala Asn Asp Thr
[2025] 115 120 125
[2026] Leu Leu Leu Gln Leu Thr Asn Thr Ser Ala Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu
[2027] 130 135 140

[2028] Leu Leu Leu Lys Ser Val Val Tyr Phe Ala Ile Ile Thr Cys Cys Leu
[2029] 145 150 155 160
[2030] Leu Arg Arg Thr Ala Phe Cys Cys Asn Gly Glu Lys Ser
[2031] 165 170
[2032] <210> 81
[2033] <211> 271
[2034] <212> PRT
[2035] <213> 人工序列
[2036] <220>
[2037] <223> 抗AFP158/HLA-A*02:01 abTCR-7 δ
[2038] <400> 81
[2039] Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
[2040] 1 5 10 15
[2041] Ser Leu Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Pro Asn Tyr
[2042] 20 25 30
[2043] Trp Ile Thr Trp Val Arg Gln Met Ser Gly Gly Gly Leu Glu Trp Met
[2044] 35 40 45
[2045] Gly Arg Ile Asp Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Phe
[2046] 50 55 60
[2047] Gln Gly His Val Thr Ile Ser Ile Asp Lys Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
[2048] 65 70 75 80
[2049] Leu His Trp Asn Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
[2050] 85 90 95
[2051] Ala Arg Tyr Tyr Val Ser Leu Val Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu
[2052] 100 105 110
[2053] Val Thr Val Ser Ser Arg Ser Gln Pro His Thr Lys Pro Ser Val Phe
[2054] 115 120 125
[2055] Val Met Lys Asn Gly Thr Asn Val Ala Cys Leu Val Lys Glu Phe Tyr
[2056] 130 135 140
[2057] Pro Lys Asp Ile Arg Ile Asn Leu Val Ser Ser Lys Lys Ile Thr Glu
[2058] 145 150 155 160
[2059] Phe Asp Pro Ala Ile Val Ile Ser Pro Ser Gly Lys Tyr Asn Ala Val
[2060] 165 170 175
[2061] Lys Leu Gly Lys Tyr Glu Asp Ser Asn Ser Val Thr Cys Ser Val Gln
[2062] 180 185 190
[2063] His Asp Asn Lys Thr Val His Ser Thr Asp Phe Glu Val Lys Thr Asp
[2064] 195 200 205
[2065] Ser Thr Asp His Val Lys Pro Lys Glu Thr Glu Asn Thr Lys Gln Pro
[2066] 210 215 220

[2067] Ser Lys Ser Cys His Lys Pro Lys Ala Ile Val His Thr Glu Lys Val
[2068] 225 230 235 240
[2069] Asn Met Met Ser Leu Thr Val Leu Gly Leu Arg Met Leu Phe Ala Lys
[2070] 245 250 255
[2071] Thr Val Ala Val Asn Phe Leu Leu Thr Ala Lys Leu Phe Phe Leu
[2072] 260 265 270
[2073] <210> 82
[2074] <211> 283
[2075] <212> PRT
[2076] <213> 人工序列
[2077] <220>
[2078] <223> 抗AFP158/HLA-A*02:01 abTCR-7 γ
[2079] <400> 82
[2080] Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
[2081] 1 5 10 15
[2082] Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
[2083] 20 25 30
[2084] Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
[2085] 35 40 45
[2086] Met Ile Tyr Asp Val Asn Asn Arg Pro Ser Glu Val Ser Asn Arg Phe
[2087] 50 55 60
[2088] Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
[2089] 65 70 75 80
[2090] Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Thr Gly
[2091] 85 90 95
[2092] Ser Arg Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Asp Lys
[2093] 100 105 110
[2094] Gln Leu Asp Ala Asp Val Ser Pro Lys Pro Thr Ile Phe Leu Pro Ser
[2095] 115 120 125
[2096] Ile Ala Glu Thr Lys Leu Gln Lys Ala Gly Thr Tyr Leu Cys Leu Leu
[2097] 130 135 140
[2098] Glu Lys Phe Phe Pro Asp Val Ile Lys Ile His Trp Gln Glu Lys Lys
[2099] 145 150 155 160
[2100] Ser Asn Thr Ile Leu Gly Ser Gln Glu Gly Asn Thr Met Lys Thr Asn
[2101] 165 170 175
[2102] Asp Thr Tyr Met Lys Phe Ser Trp Leu Thr Val Pro Glu Lys Ser Leu
[2103] 180 185 190
[2104] Asp Lys Glu His Arg Cys Ile Val Arg His Glu Asn Asn Lys Asn Gly
[2105] 195 200 205

[2106] Val Asp Gln Glu Ile Ile Phe Pro Pro Ile Lys Thr Asp Val Ile Thr
[2107] 210 215 220
[2108] Met Asp Pro Lys Asp Asn Cys Ser Lys Asp Ala Asn Asp Thr Leu Leu
[2109] 225 230 235 240
[2110] Leu Gln Leu Thr Asn Thr Ser Ala Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu Leu Leu
[2111] 245 250 255
[2112] Leu Lys Ser Val Val Tyr Phe Ala Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu Arg
[2113] 260 265 270
[2114] Arg Thr Ala Phe Cys Cys Asn Gly Glu Lys Ser
[2115] 275 280

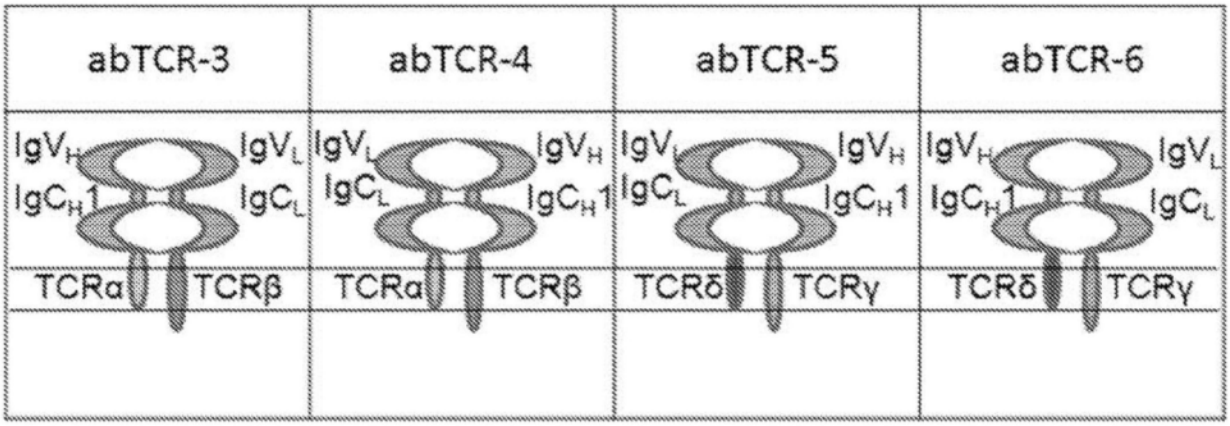

abTCR-3
abTCR-4
abTCR-5
abTCR-6
IgV_H
IgV_L
IgC_H1
IgC_L
TCRα
TCRβ
TCRδ
TCRγ

图1A

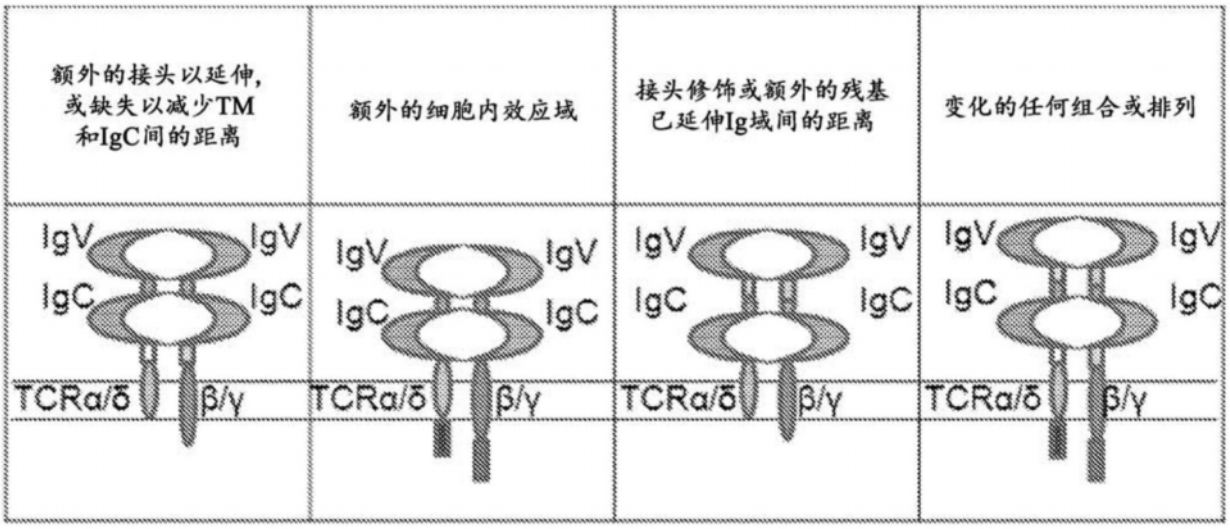

额外的接头以延伸，或缺失以减少TM和IgC间的距离
额外的细胞内效应域
接头修饰或额外的残基已延伸Ig域间的距离
变化的任何组合或排列
IgV
IgC
TCRα/δ
β/γ

图1B

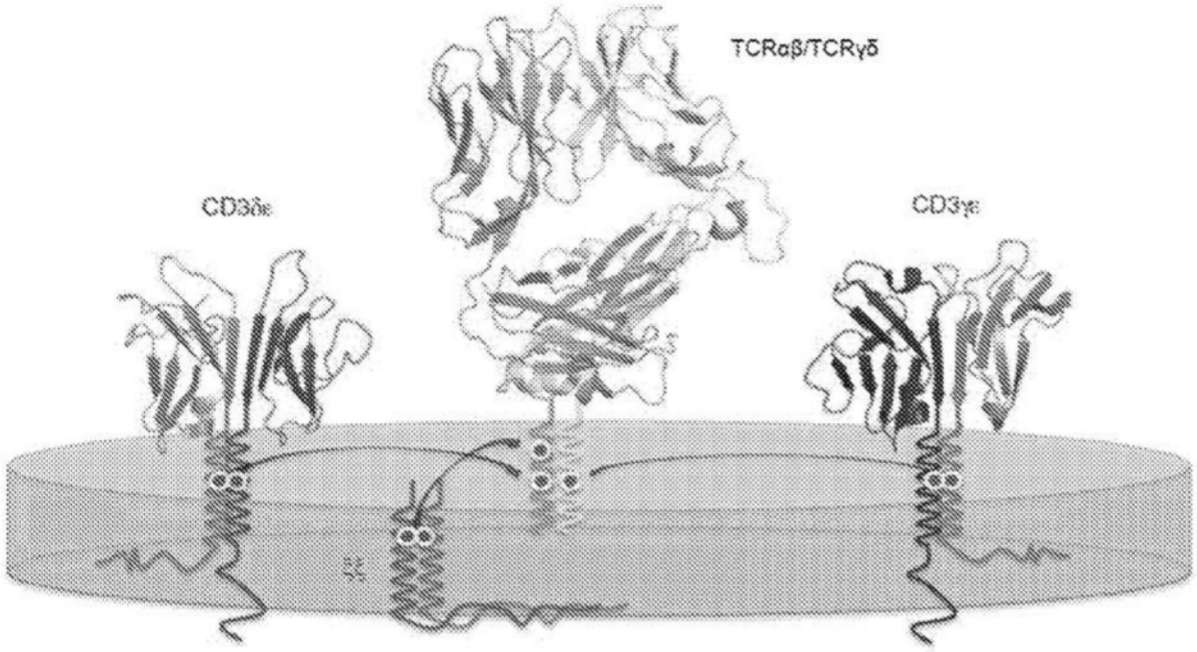


图2

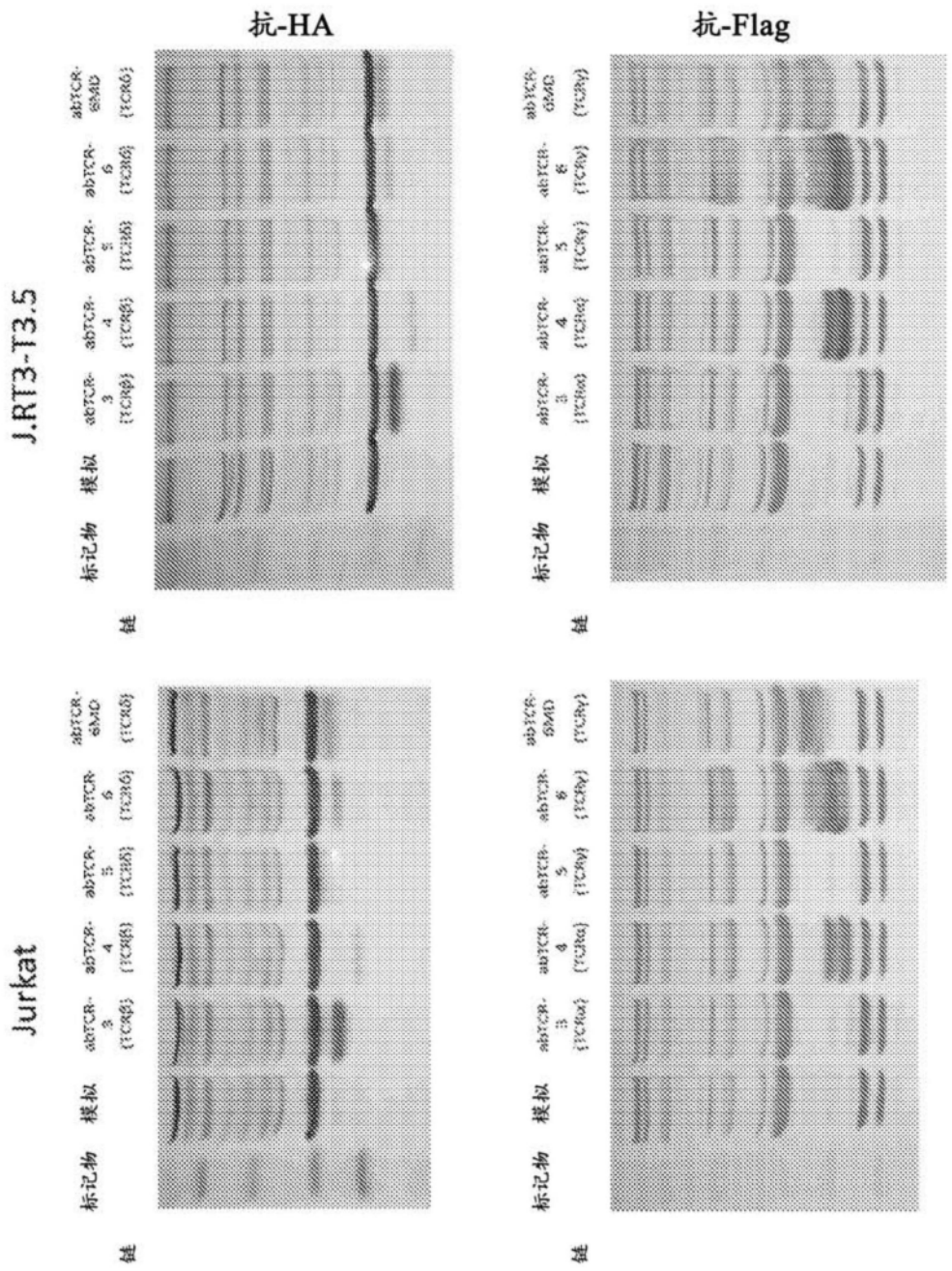

抗-HA
抗-Flag
J.RT3-T3.5
Jurkat
链
标记物
模拟
abTCR-3 {TCRβ}
abTCR-4 {TCRβ}
abTCR-5 {TCRβ}
abTCR-6 {TCRβ}
abTCR-6MD {TCRβ}
abTCR-3 {TCRα}
abTCR-4 {TCRα}
abTCR-5 {TCRγ}
abTCR-6 {TCRγ}
abTCR-6MD {TCRγ}

图3

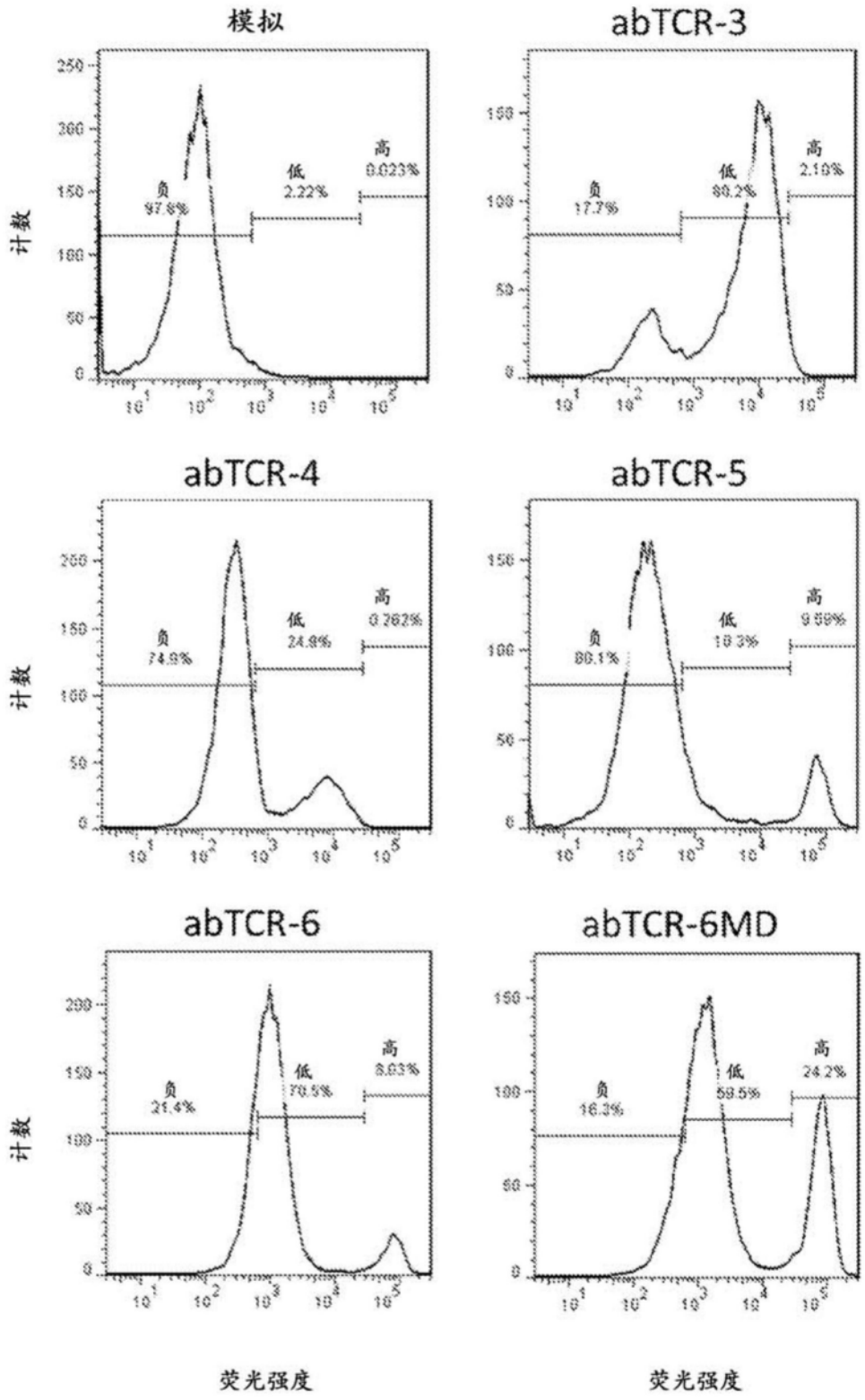

CD3ε 表达
模拟
负
97.6%
低
2.22%
高
0.023%
abTCR-3
负
17.7%
低
80.2%
高
2.10%
abTCR-4
负
74.9%
低
24.9%
高
0.262%
abTCR-5
负
80.1%
低
10.3%
高
9.59%
abTCR-6
负
21.4%
低
70.5%
高
8.03%
abTCR-6MD
负
16.3%
低
59.5%
高
24.2%
计数
计数
荧光强度
荧光强度

图4A

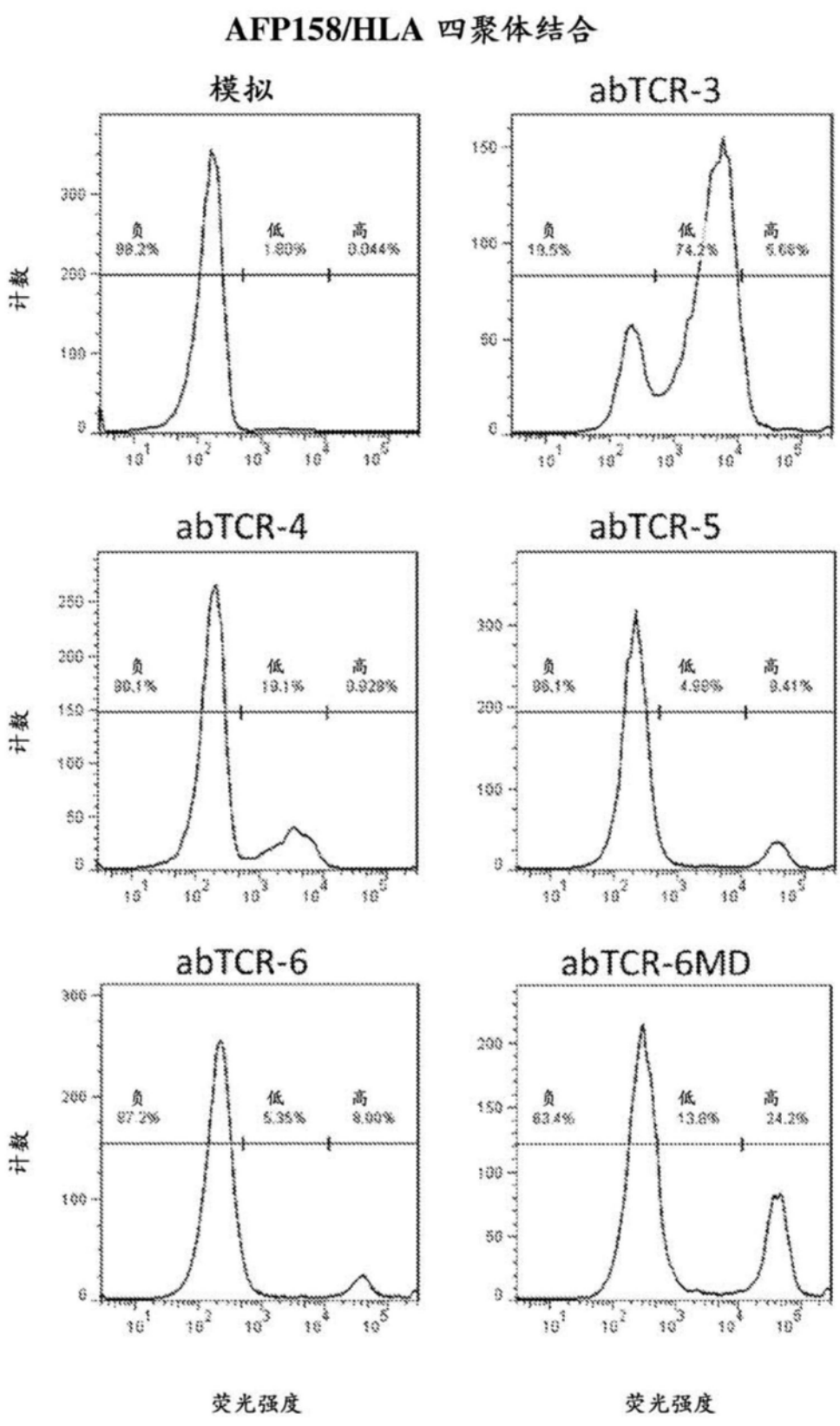

AFP158/HLA 四聚体结合
模拟
负 88.2%
低 1.80%
高 0.044%
abTCR-3
负 19.5%
低 74.2%
高 5.68%
abTCR-4
负 80.1%
低 19.1%
高 0.928%
abTCR-5
负 86.1%
低 4.99%
高 8.41%
abTCR-6
负 87.2%
低 5.35%
高 8.90%
abTCR-6MD
负 63.4%
低 13.8%
高 24.2%
计数
荧光强度

图4B

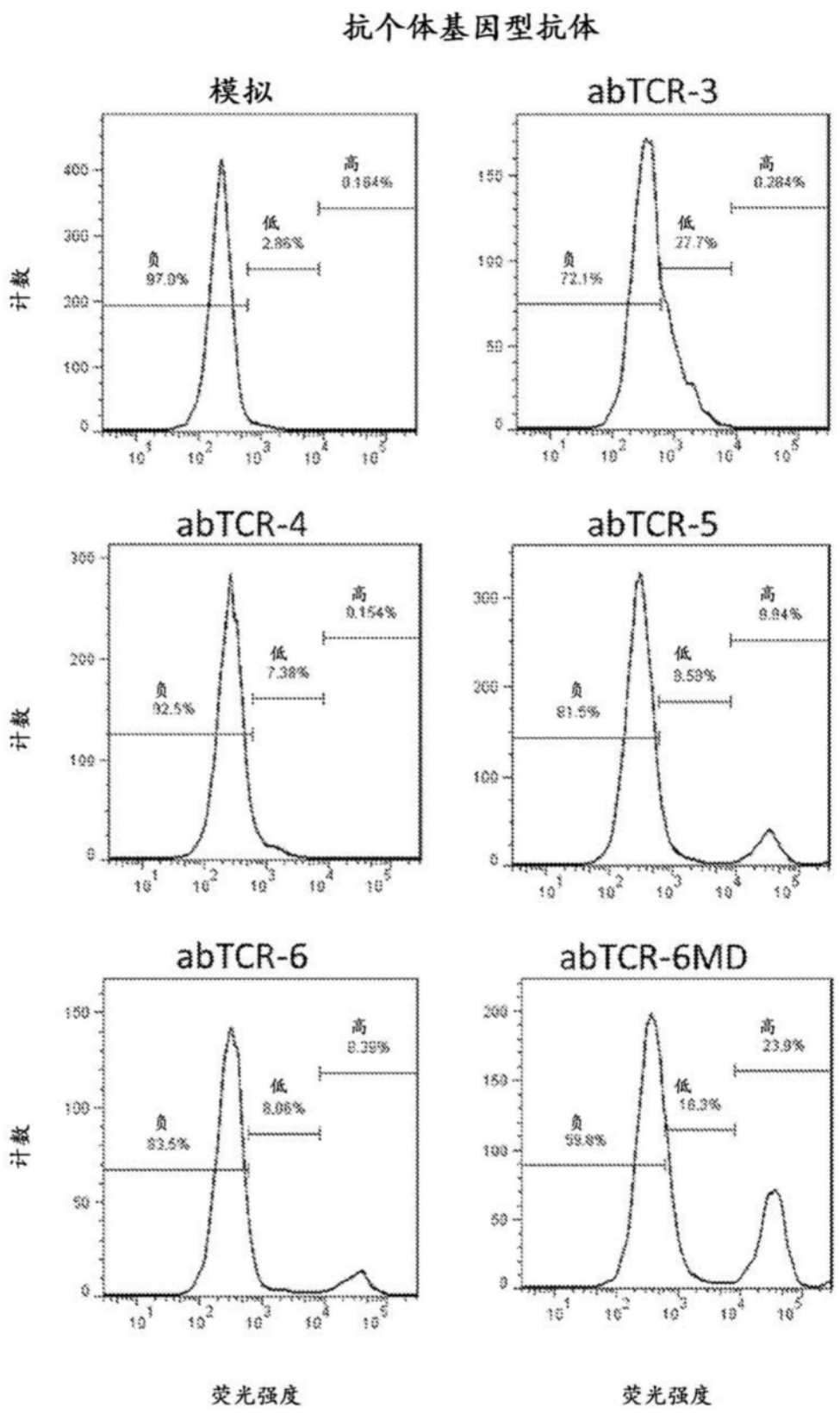

抗个体基因型抗体
模拟
负
97.0%
低
2.86%
高
0.164%
abTCR-3
负
72.1%
低
27.7%
高
0.284%
abTCR-4
负
92.5%
低
7.38%
高
0.154%
abTCR-5
负
91.5%
低
8.59%
高
0.84%
abTCR-6
负
83.5%
低
8.06%
高
8.39%
abTCR-6MD
负
59.8%
低
16.3%
高
23.9%
计数
荧光强度

图4C

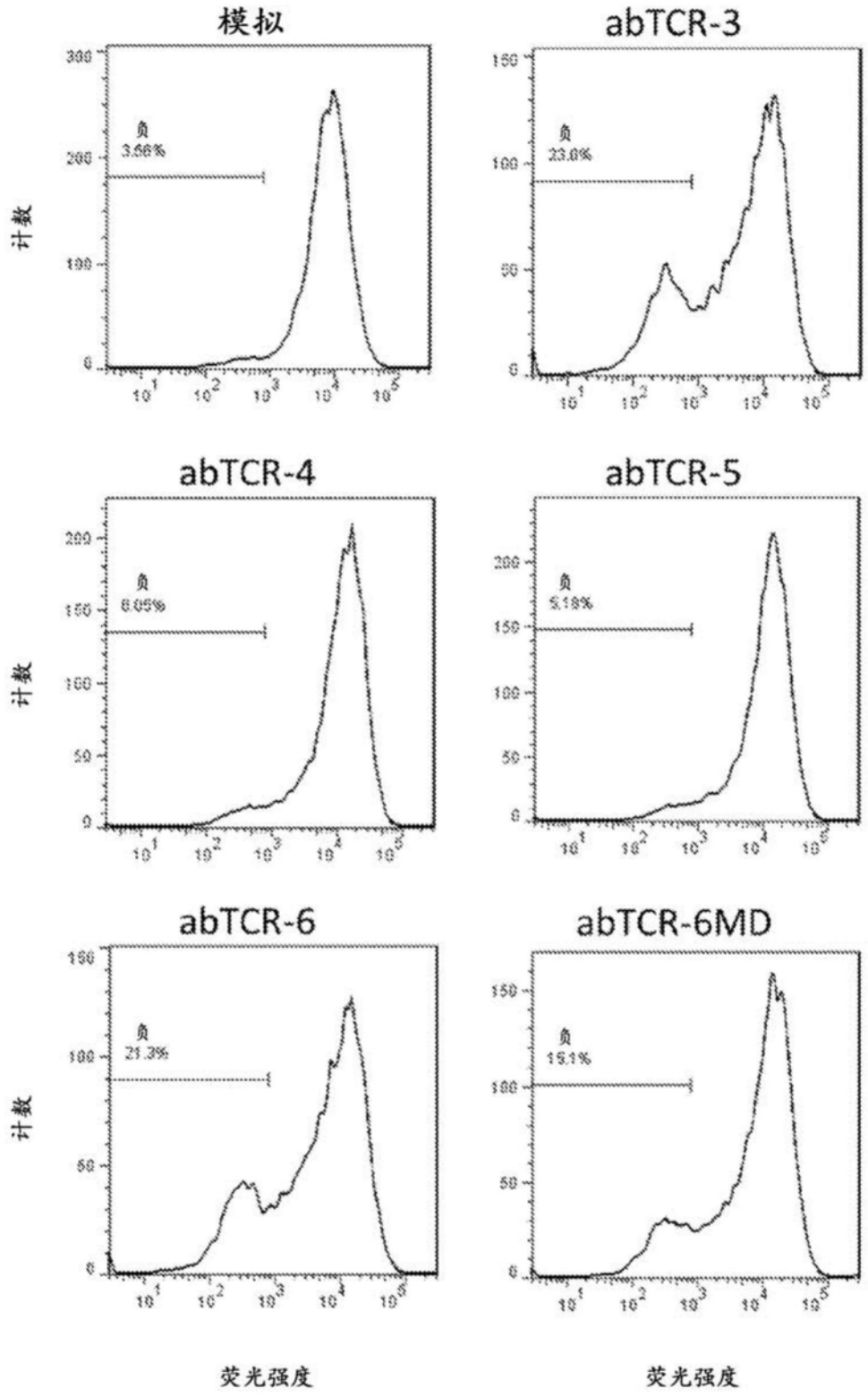


图5A

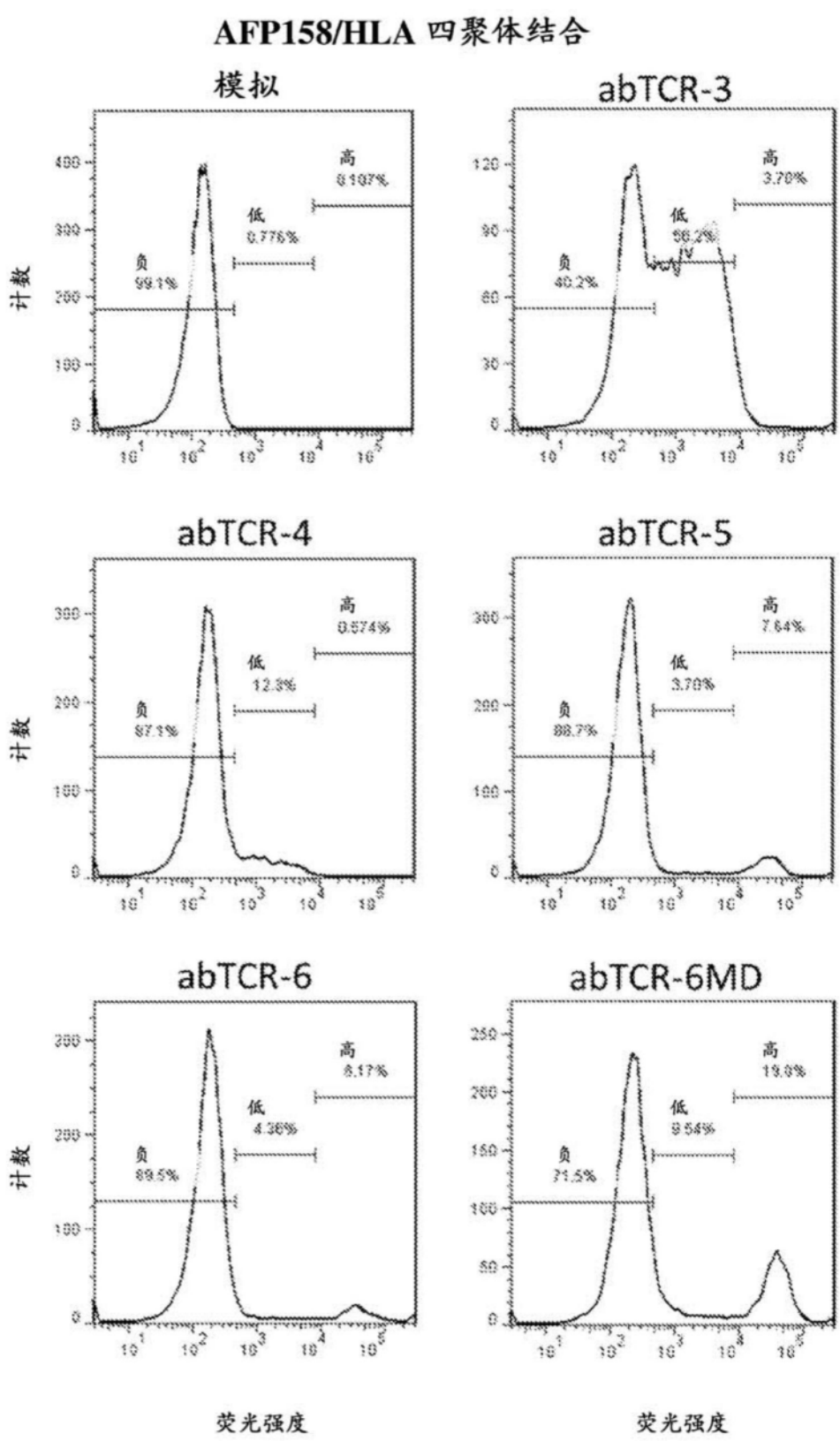

AFP158/HLA 四聚体结合
模拟
abTCR-3
abTCR-4
abTCR-5
abTCR-6
abTCR-6MD
计数
荧光强度
负
低
高

图5B

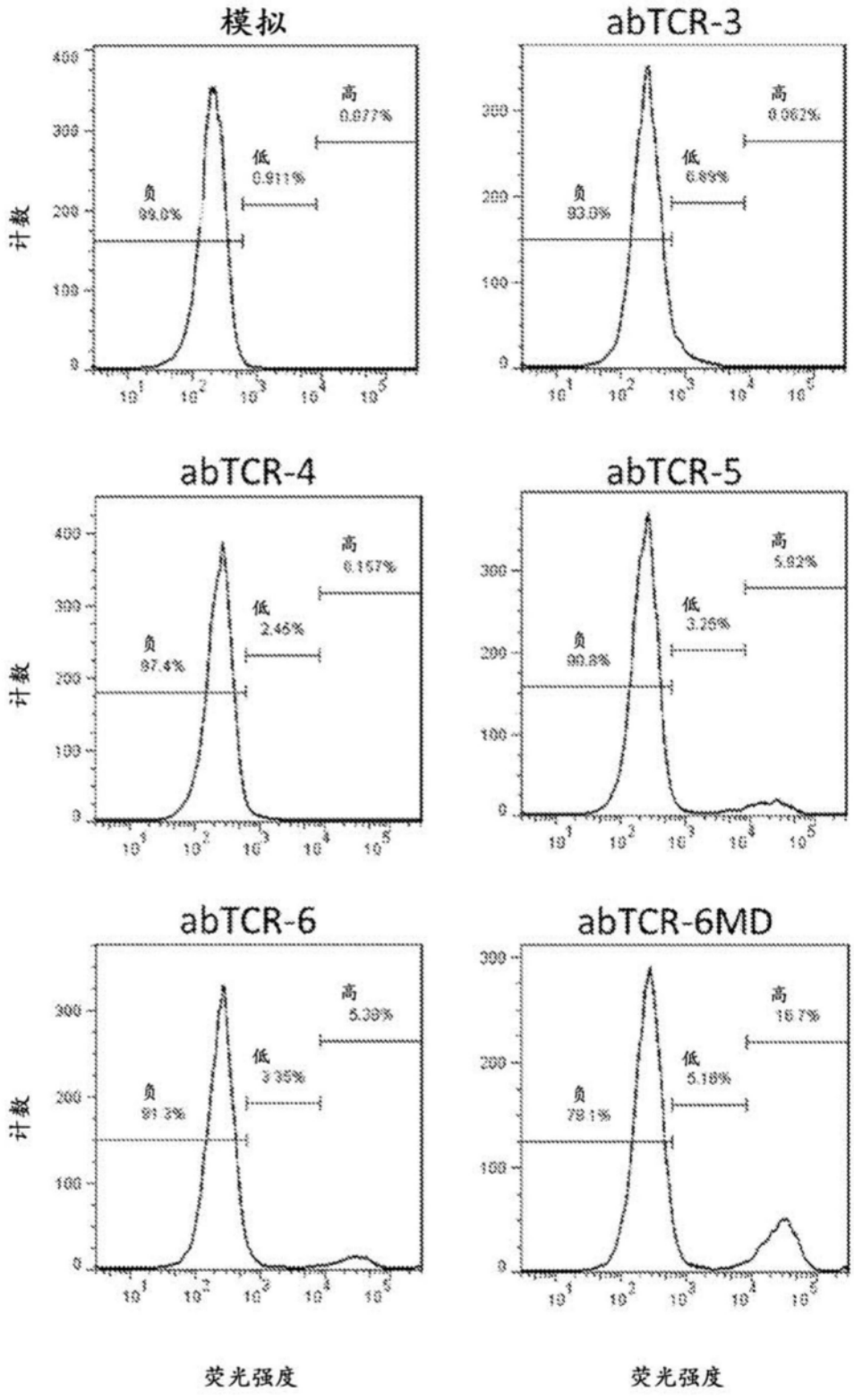

抗个体基因型抗体
模拟
abTCR-3
abTCR-4
abTCR-5
abTCR-6
abTCR-6MD
计数
荧光强度
负
低
高

图5C

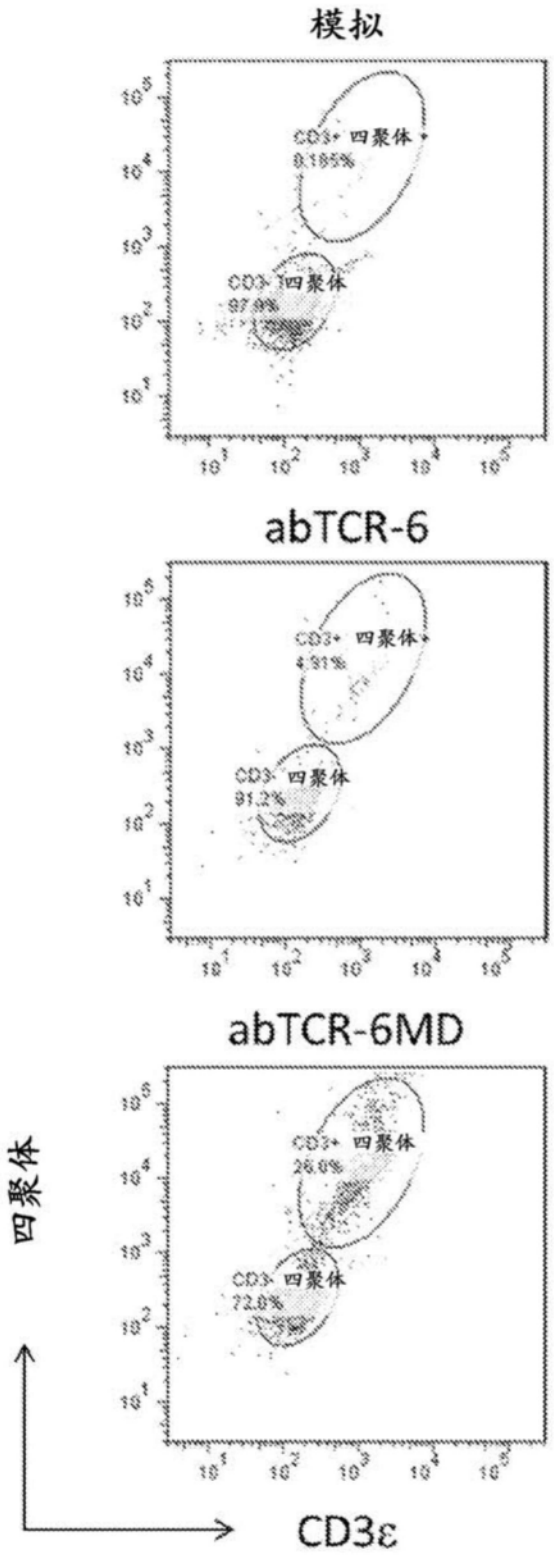

模拟
CD3+ 四聚体
CD3- 四聚体
abTCR-6
CD3+ 四聚体
4.31%
CD3- 四聚体
91.2%
abTCR-6MD
CD3+ 四聚体
26.0%
CD3- 四聚体
72.0%
四聚体
CD3ε

图6

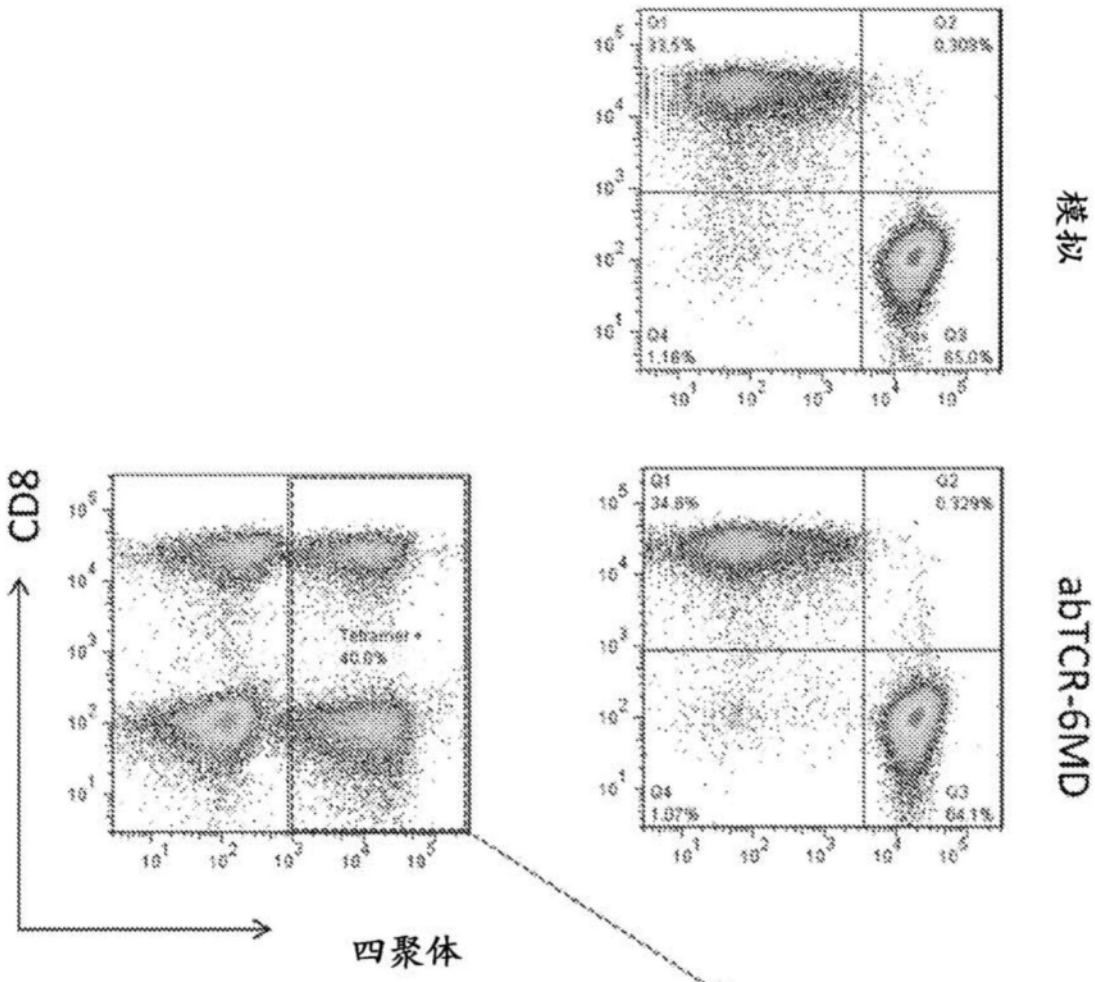

模拟
abTCR-6MD
CD8
四聚体
Tetramer +
40.0%
Q1
33.5%
Q2
0.309%
Q4
1.16%
Q3
65.0%
Q1
34.8%
Q2
0.329%
Q4
1.07%
Q3
64.1%

图7A

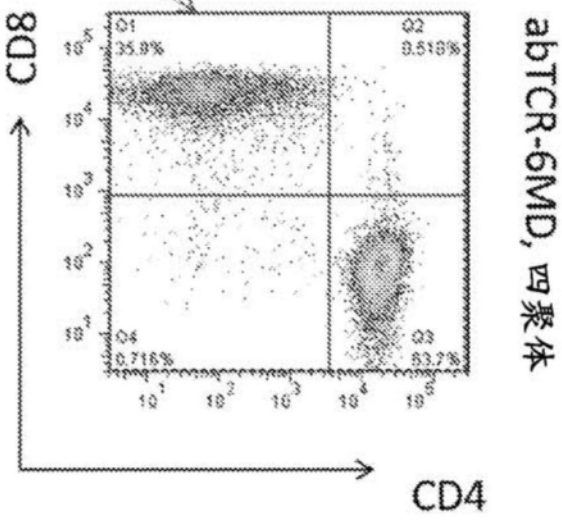

abTCR-6MD, 四聚体
CD8
CD4
Q1
35.9%
Q2
0.518%
Q4
0.716%
Q3
63.7%

图7B

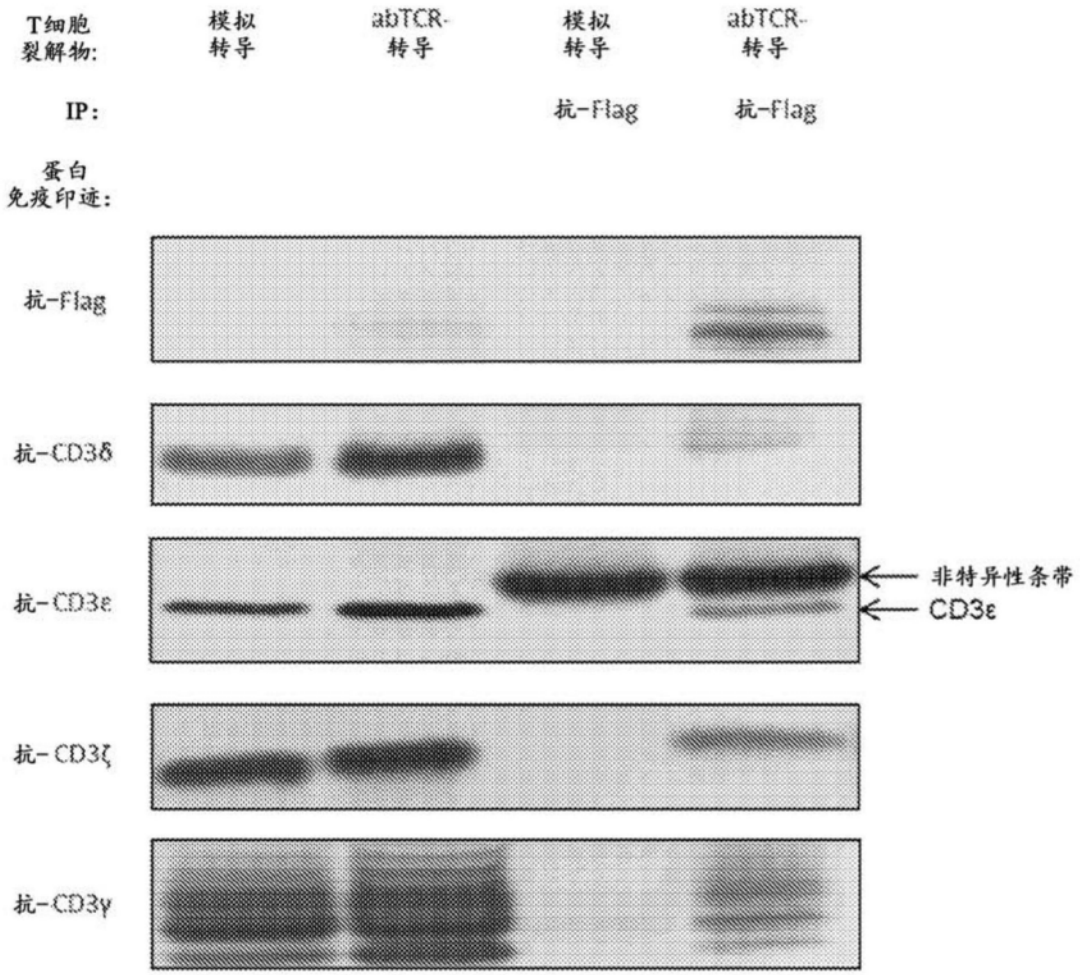

T细胞裂解物:
模拟转导
abTCR-转导
模拟转导
abTCR-转导
IP:
抗-Flag
抗-Flag
蛋白免疫印迹:
抗-Flag
抗-CD3δ
抗-CD3ε
非特异性条带
CD3ε
抗-CD3ζ
抗-CD3γ

图8

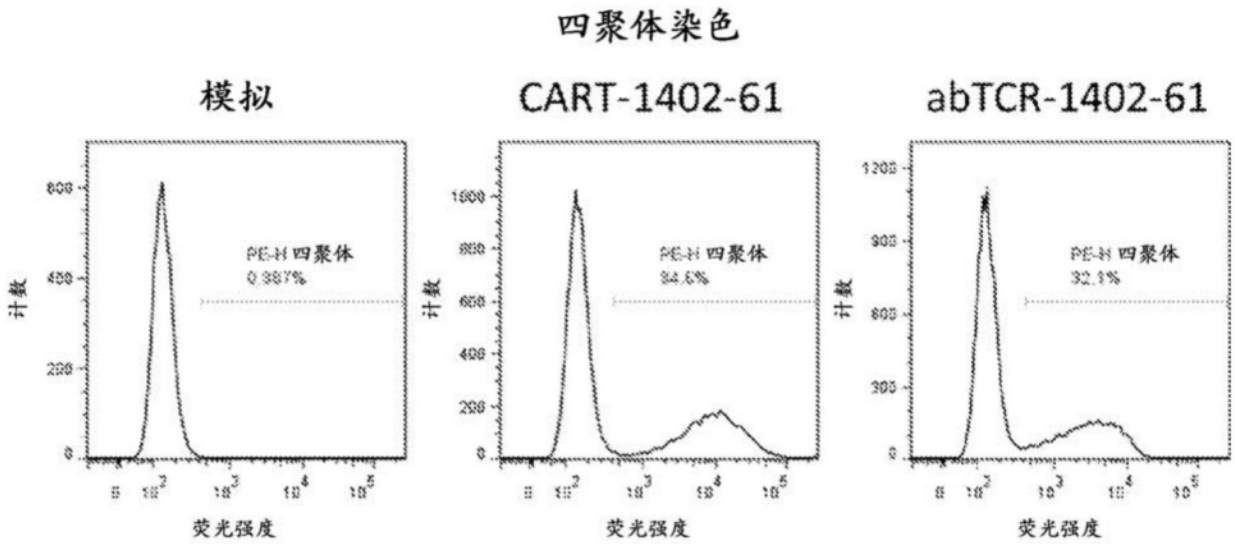

四聚体染色
模拟
CART-1402-61
abTCR-1402-61
PE-H 四聚体
0.387%
84.6%
32.1%
计数
荧光强度

图9A

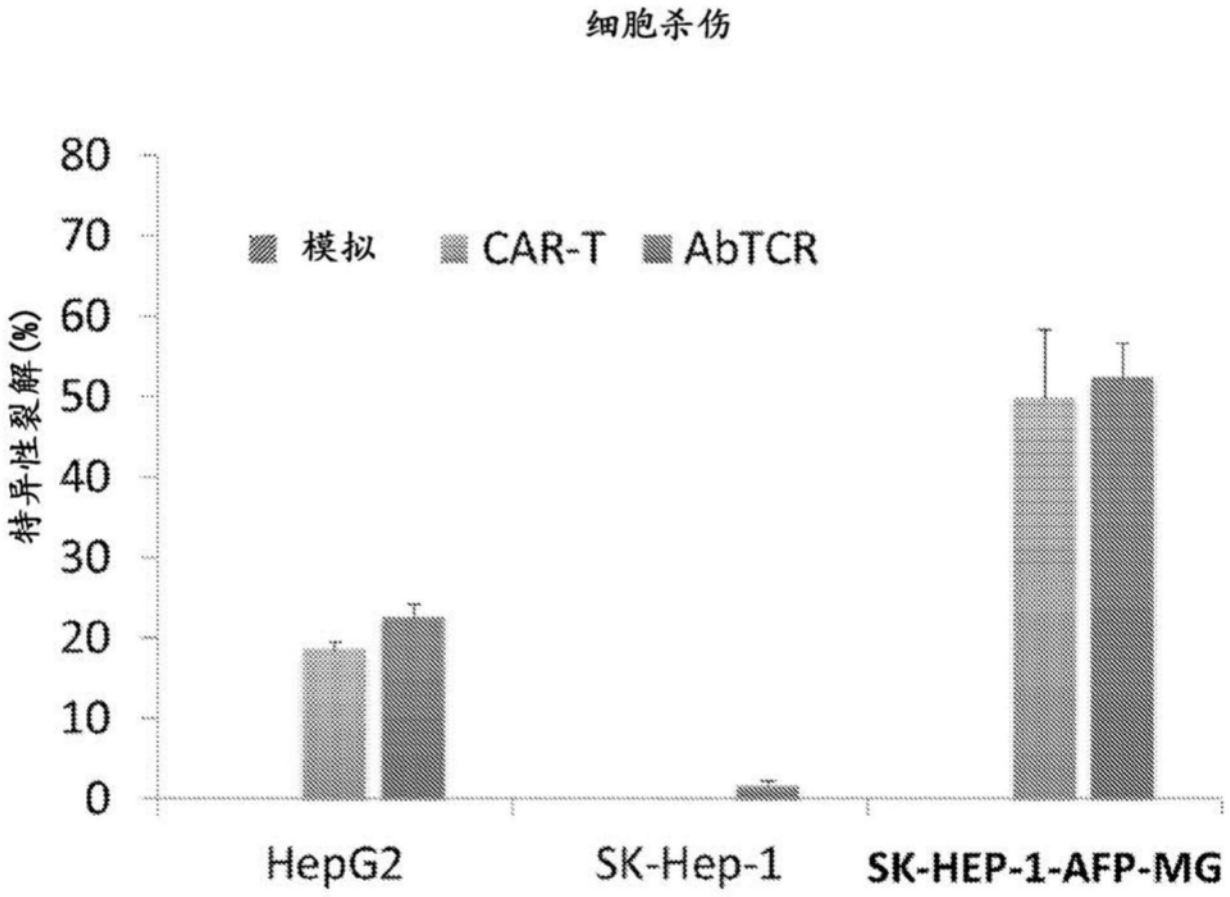
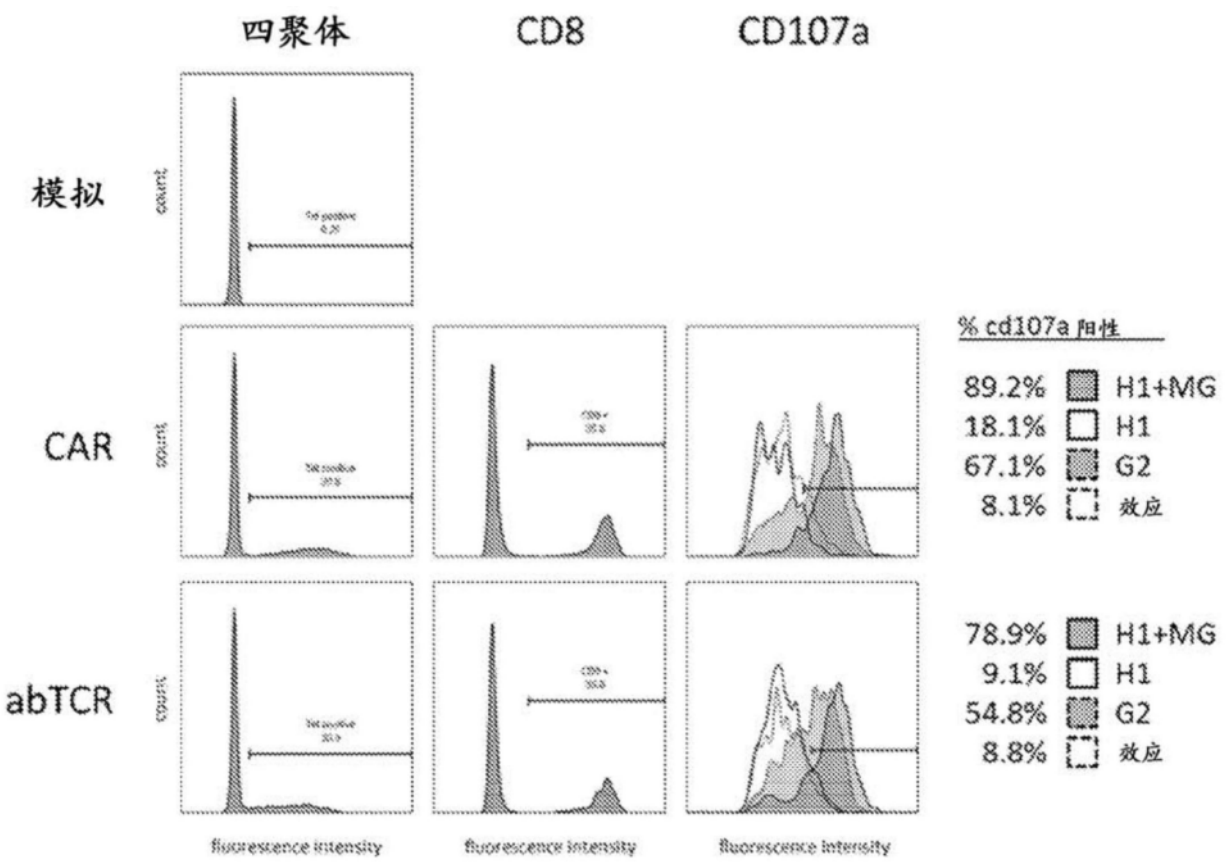

细胞杀伤
特异性裂解(%)
80
70
60
50
40
30
20
10
0
模拟
CAR-T
AbTCR
HepG2
SK-Hep-1
SK-HEP-1-AFP-MG

图9B



说明	靶细胞
H1+MG	SK-HEP-1-AFP-MG
H1	SK-HEP-1
G2	HepG2
效应	-

图10

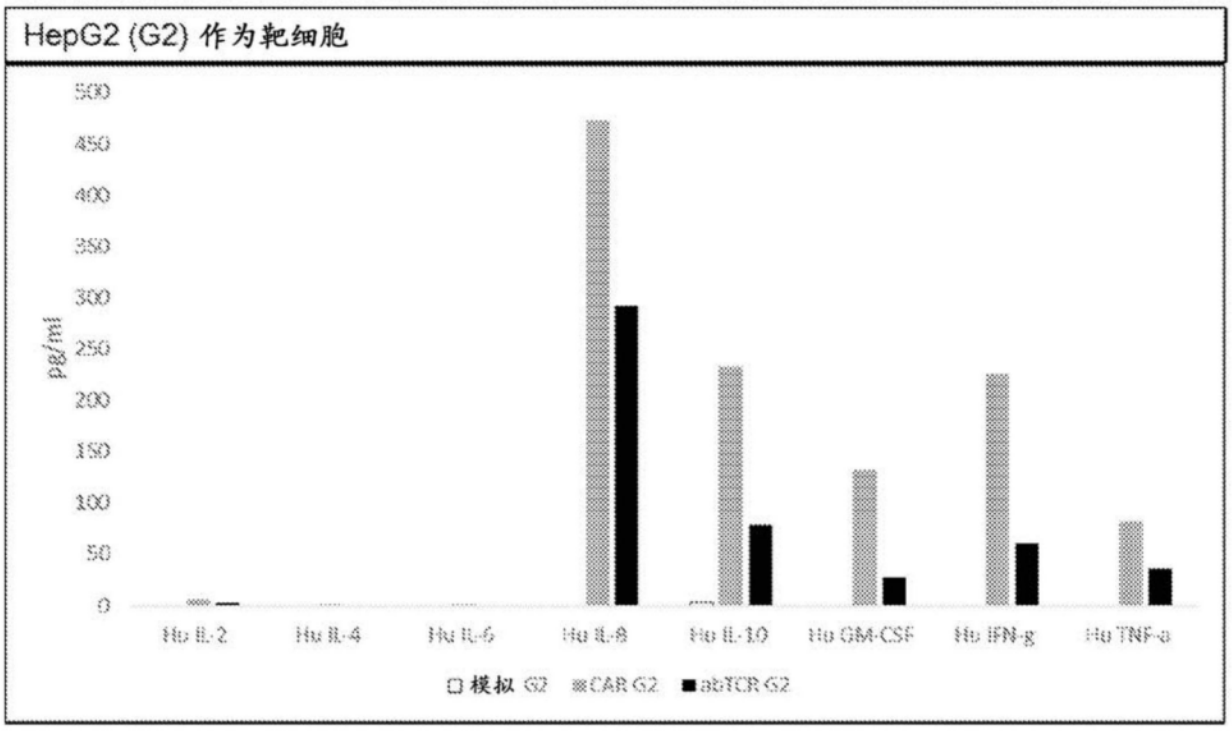

HepG2 (G2) 作为靶细胞
pg/ml
500
450
400
350
300
250
200
150
100
50
0
Hu IL-2
Hu IL-4
Hu IL-6
Hu IL-8
Hu IL-10
Hu GM-CSF
Hu IFN-g
Hu TNF-a
模拟 G2
CAR G2
abTCR G2

图11A

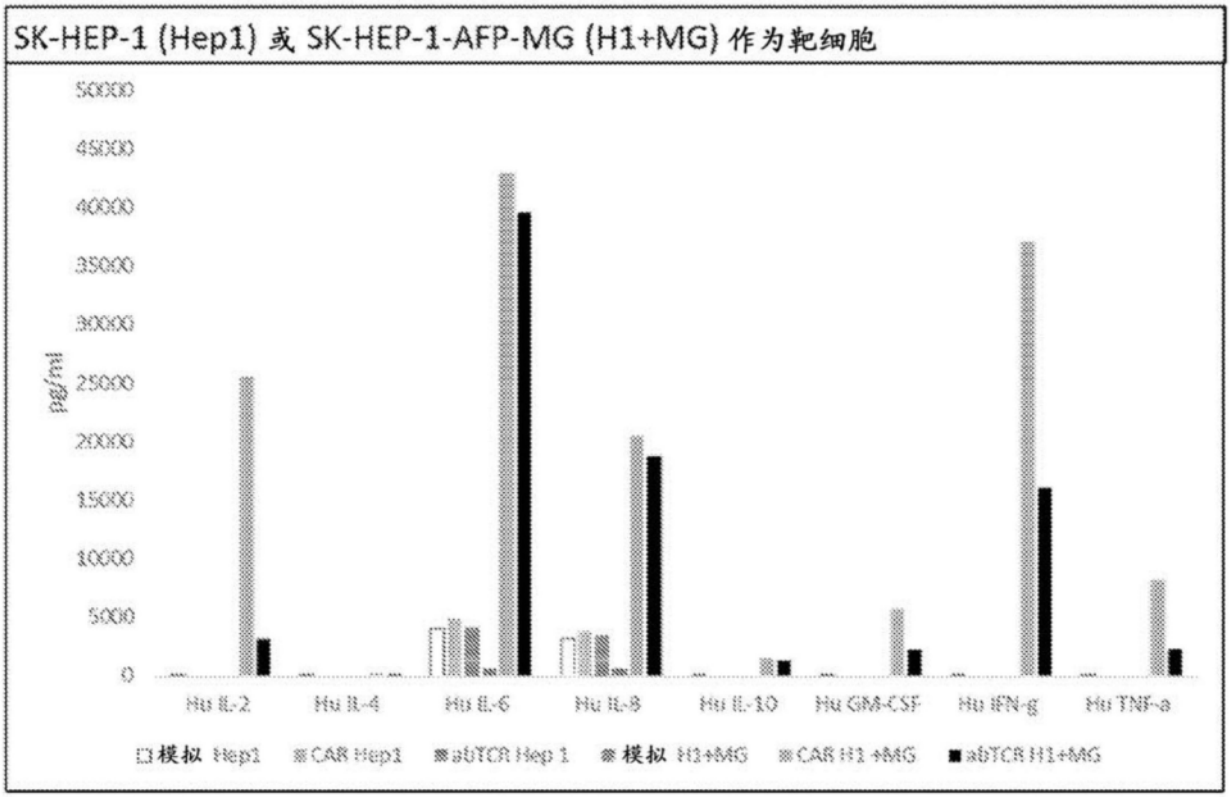

SK-HEP-1 (Hep1) 或 SK-HEP-1-AFP-MG (H1+MG) 作为靶细胞
pg/ml
50000
45000
40000
35000
30000
25000
20000
15000
10000
5000
0
Hu IL-2
Hu IL-4
Hu IL-6
Hu IL-8
Hu IL-10
Hu GM-CSF
Hu IFN-g
Hu TNF-a
模拟 Hep1
CAR Hep1
abTCR Hep 1
模拟 H1+MG
CAR H1+MG
abTCR H1+MG

图11B

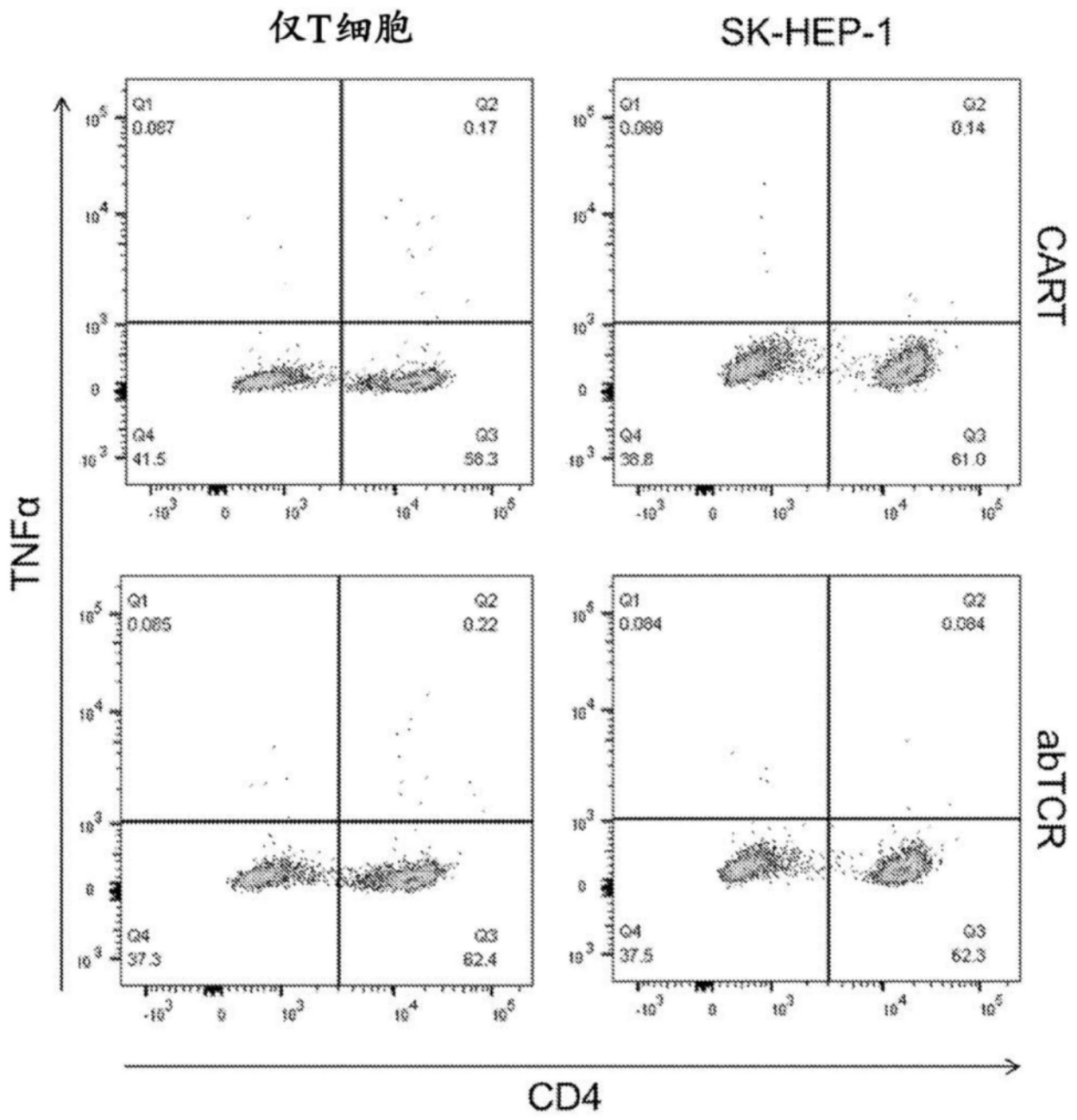

仅T细胞
SK-HEP-1
CART
abTCR
TNFα
CD4
Q1
0.087
Q2
0.17
Q4
41.5
Q3
58.3
Q1
0.069
Q2
0.14
Q4
38.8
Q3
61.0
Q1
0.085
Q2
0.22
Q4
37.3
Q3
62.4
Q1
0.084
Q2
0.084
Q4
37.5
Q3
62.3

图12A

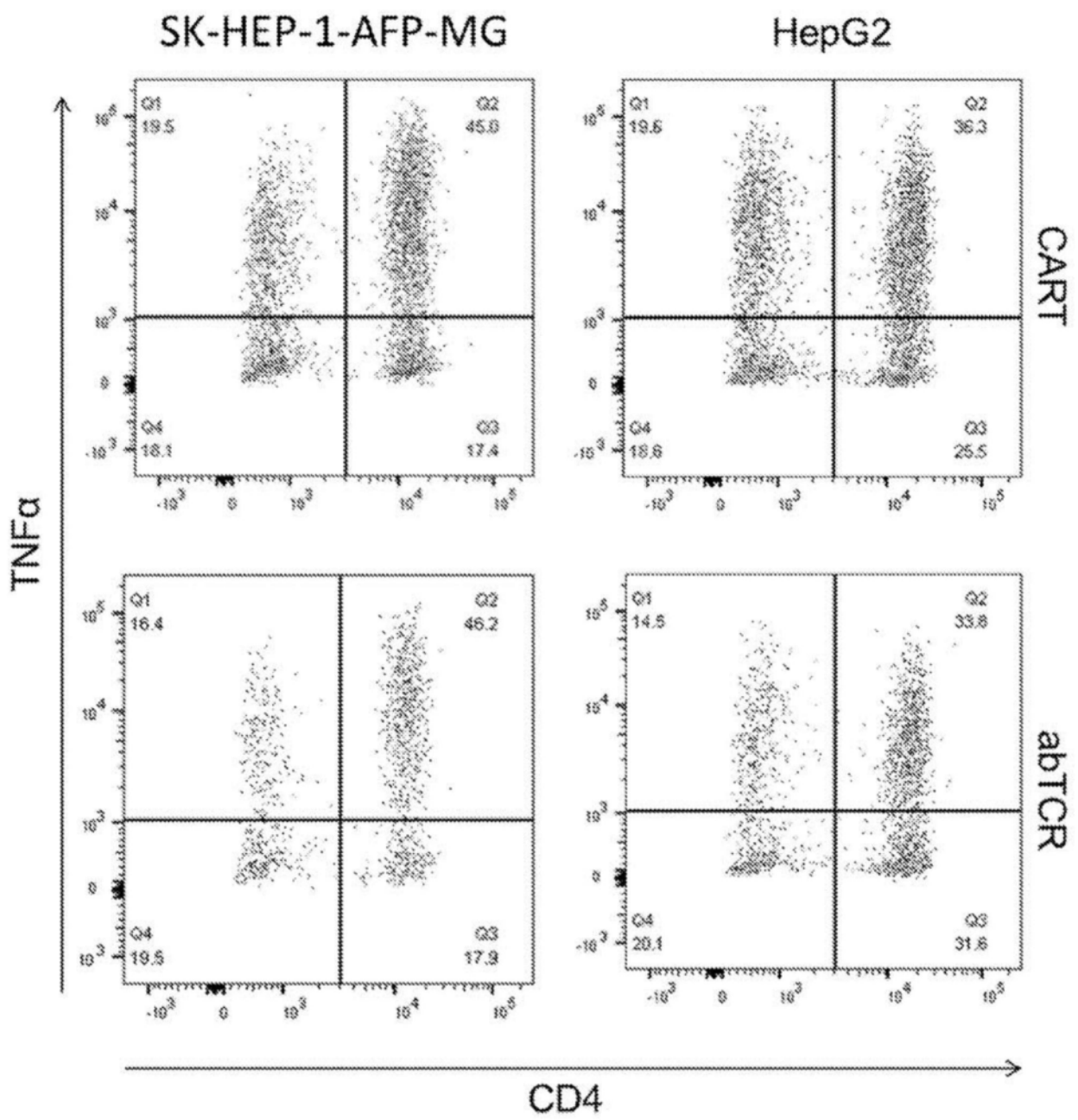

SK-HEP-1-AFP-MG
HepG2
CART
abTCR
TNFα
CD4
Q1
19.5
Q2
45.0
Q4
18.1
Q3
17.4
Q1
19.6
Q2
36.3
Q4
18.6
Q3
25.5
Q1
16.4
Q2
46.2
Q4
19.5
Q3
17.9
Q1
14.5
Q2
33.8
Q4
20.1
Q3
31.6

图12B

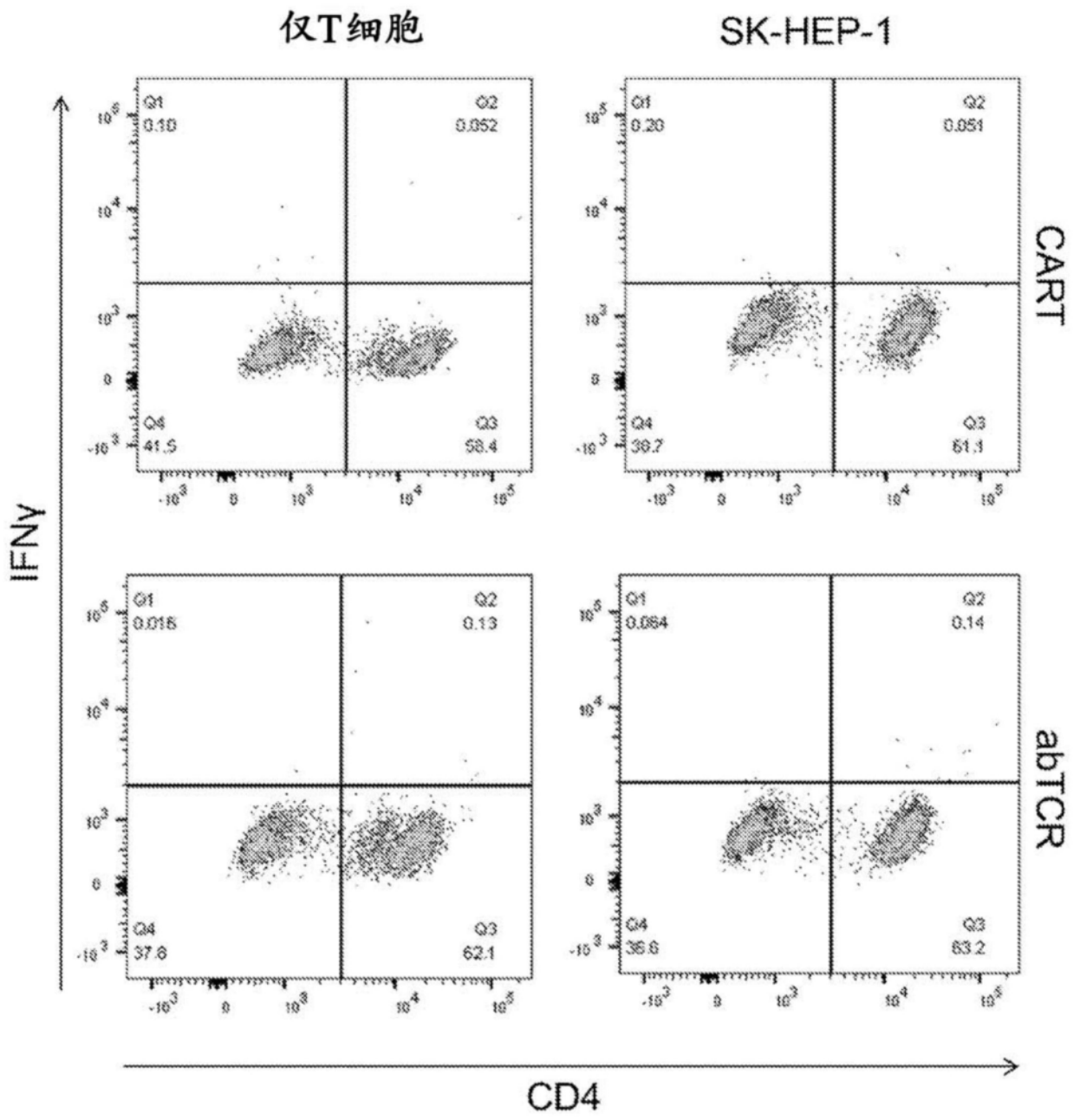

仅T细胞
SK-HEP-1
CART
abTCR
IFNγ
CD4
Q1
0.10
Q2
0.052
Q4
41.5
Q3
58.4
Q1
0.20
Q2
0.051
Q4
38.7
Q3
61.1
Q1
0.016
Q2
0.13
Q4
37.6
Q3
62.1
Q1
0.064
Q2
0.14
Q4
36.6
Q3
63.2

图12C

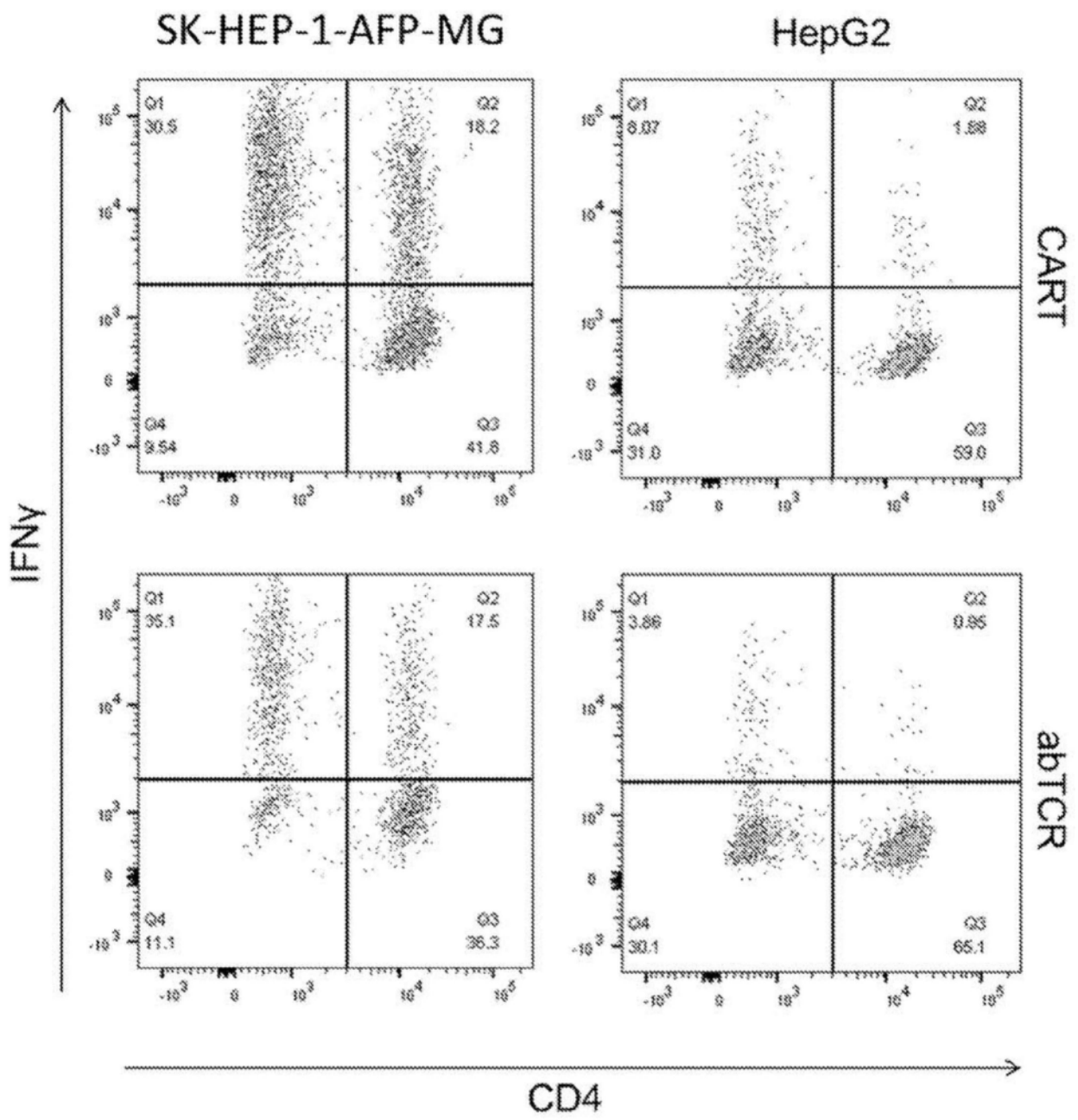

SK-HEP-1-AFP-MG
HepG2
CART
abTCR
IFNγ
CD4
Q1
30.5
Q2
18.2
Q4
9.54
Q3
41.8
Q1
8.07
Q2
1.88
Q4
31.0
Q3
59.0
Q1
35.1
Q2
17.5
Q4
11.1
Q3
36.3
Q1
3.86
Q2
0.95
Q4
30.1
Q3
65.1

图12D

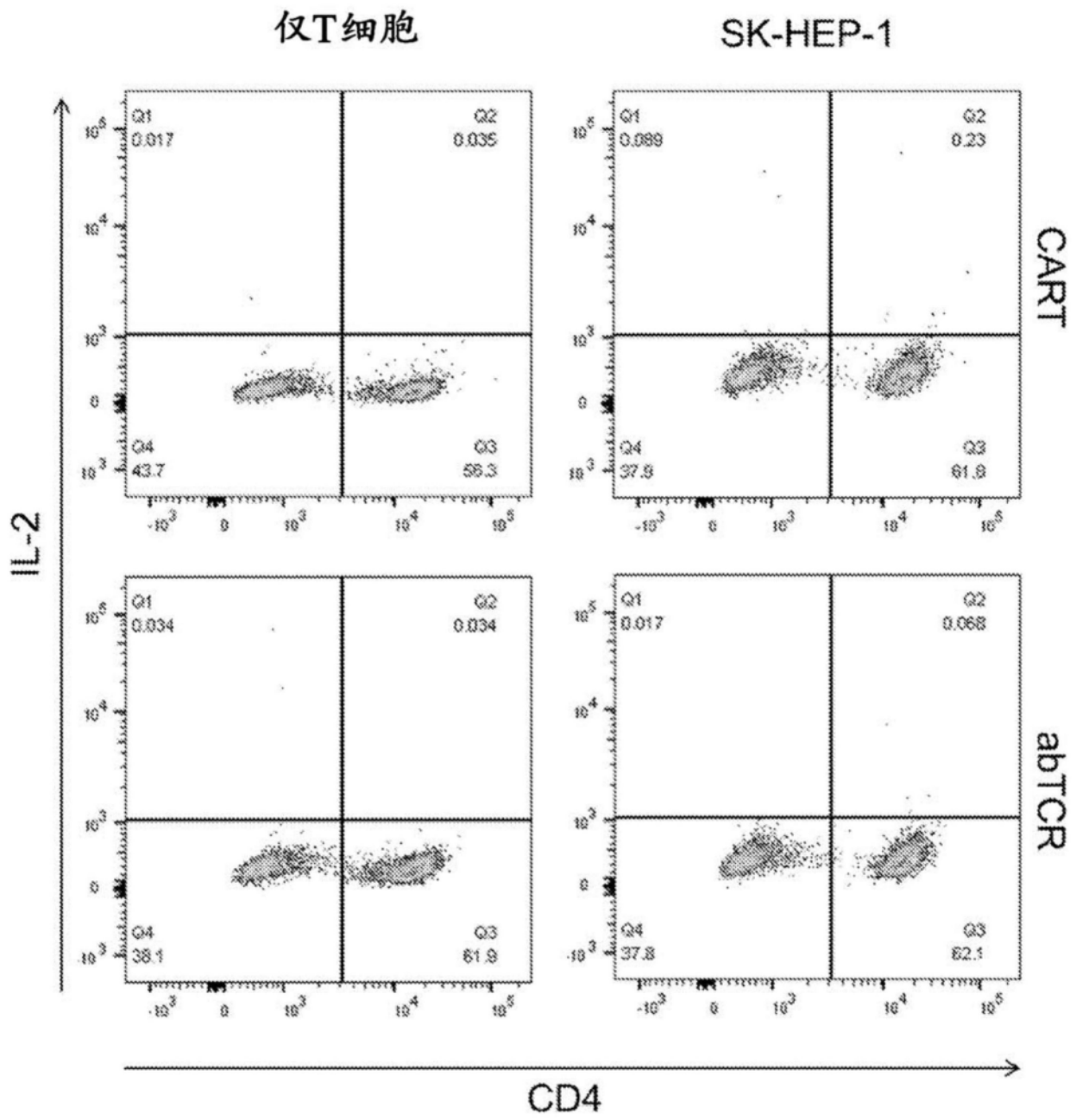

仅T细胞
SK-HEP-1
CART
abTCR
IL-2
CD4
Q1
0.017
Q2
0.035
Q4
43.7
Q3
56.3
Q1
0.089
Q2
0.23
Q4
37.9
Q3
61.9
Q1
0.034
Q2
0.034
Q4
38.1
Q3
61.9
Q1
0.017
Q2
0.068
Q4
37.8
Q3
62.1

图12E

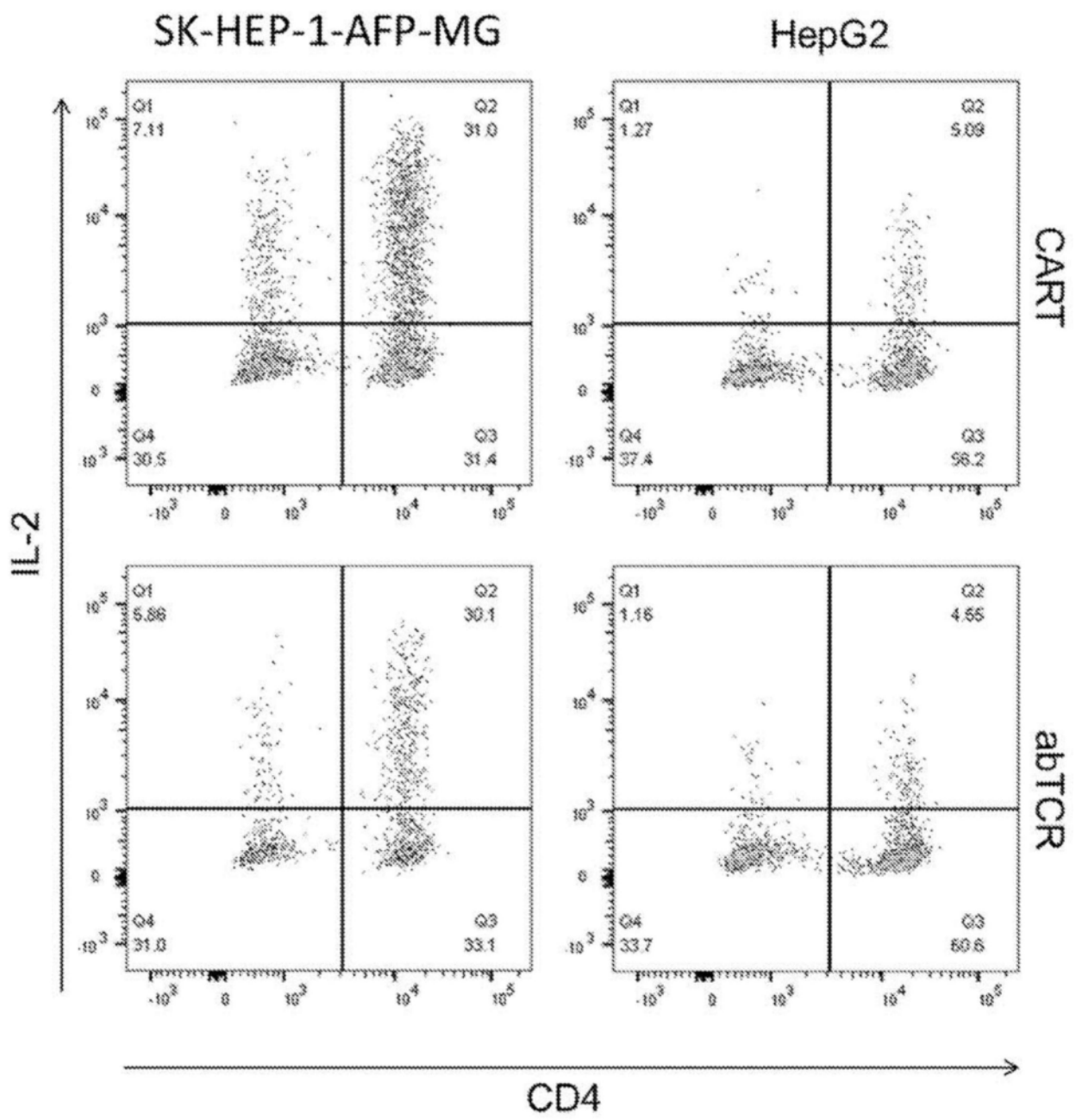

SK-HEP-1-AFP-MG
HepG2
CART
abTCR
IL-2
CD4
Q1
7.11
Q2
31.0
Q4
30.5
Q3
31.4
Q1
1.27
Q2
5.09
Q4
37.4
Q3
56.2
Q1
5.86
Q2
30.1
Q4
31.0
Q3
33.1
Q1
1.16
Q2
4.55
Q4
33.7
Q3
60.6

图12F

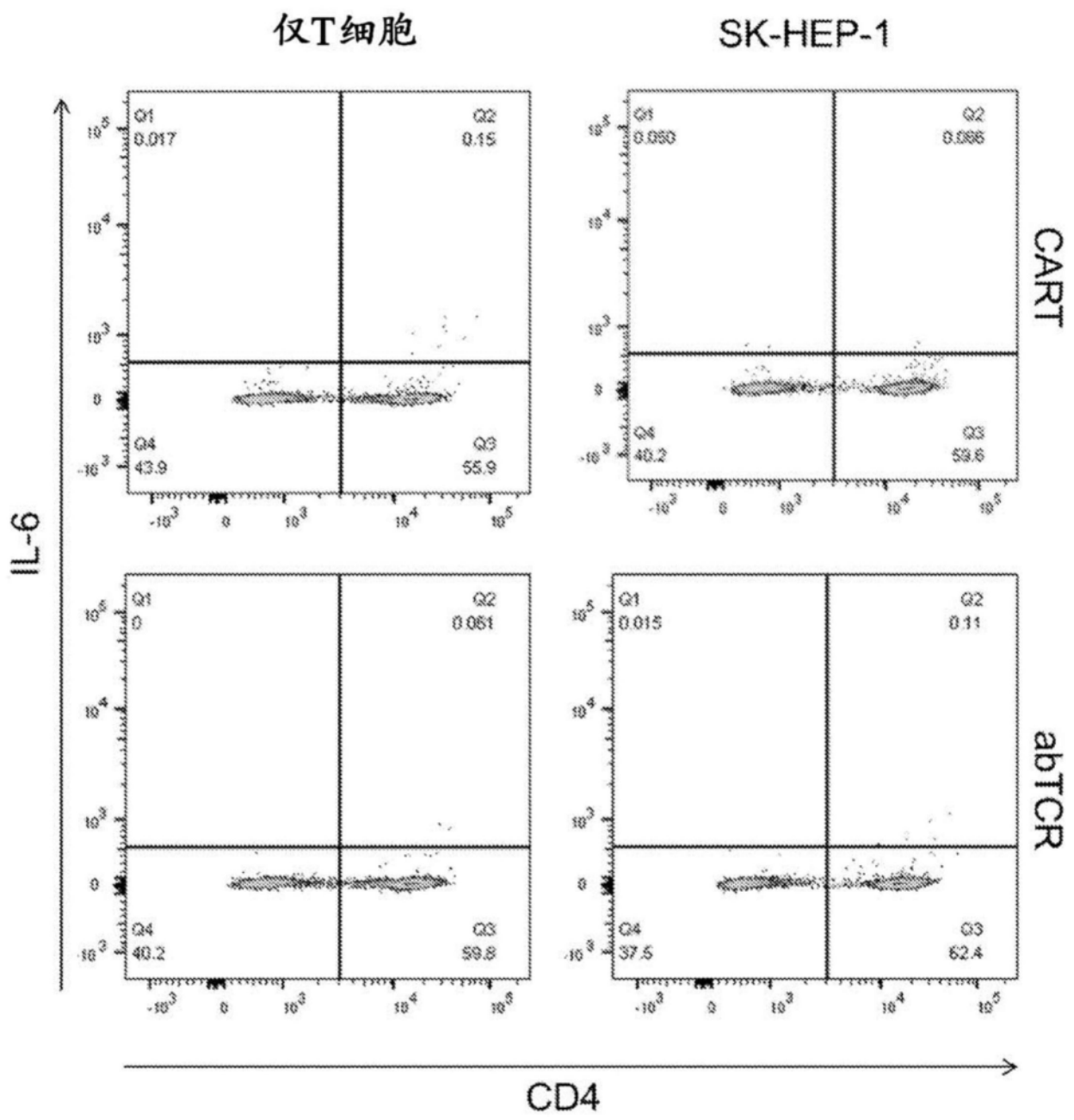

仅T细胞
SK-HEP-1
CART
abTCR
IL-6
CD4
Q1
0.017
Q2
0.15
Q4
43.9
Q3
55.9
Q1
0.050
Q2
0.066
Q4
40.2
Q3
59.6
Q1
0
Q2
0.061
Q4
40.2
Q3
59.8
Q1
0.015
Q2
0.11
Q4
37.5
Q3
62.4

图12G

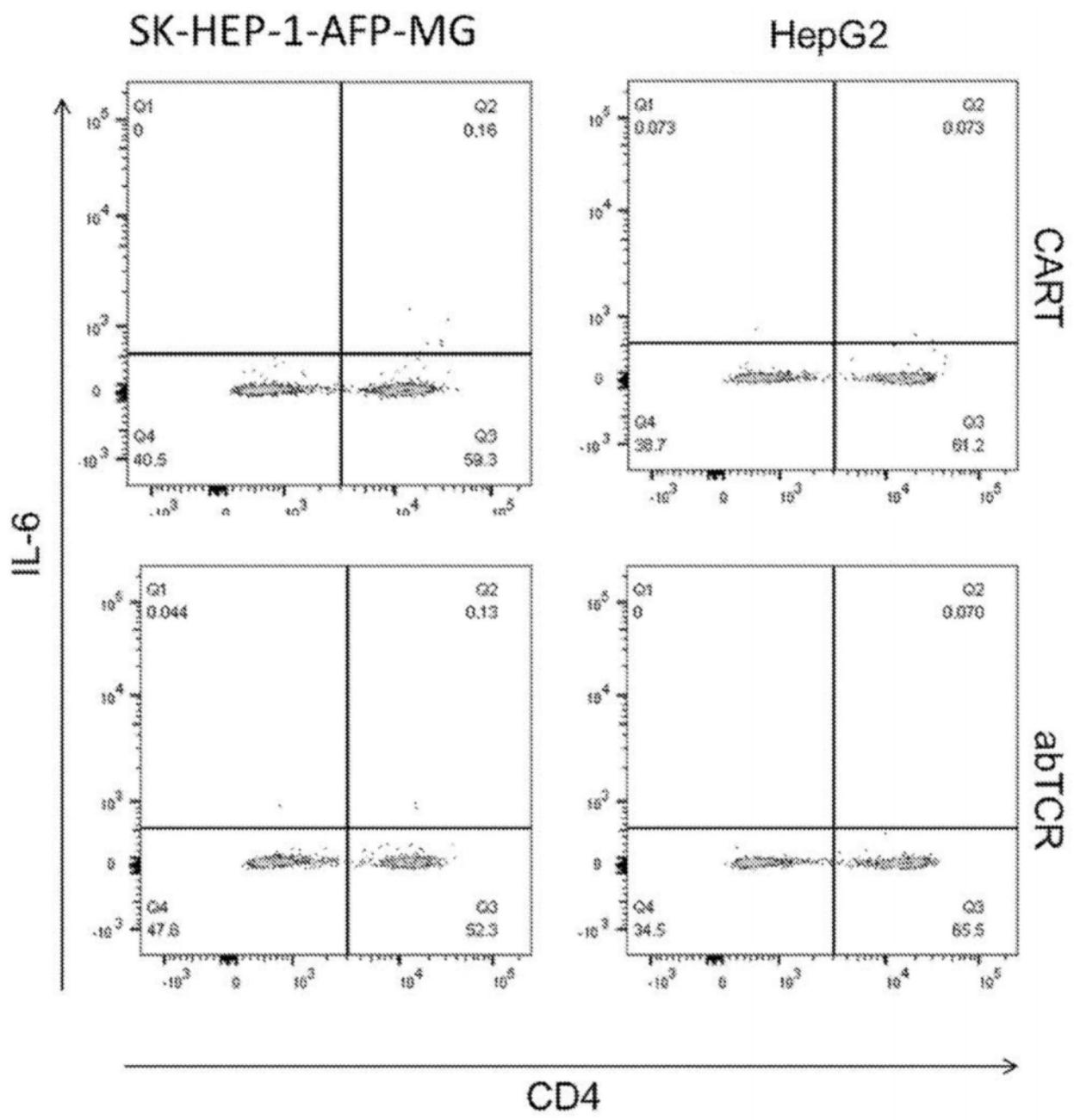

SK-HEP-1-AFP-MG
HepG2
CART
abTCR
IL-6
CD4
Q1
0
Q2
0.16
Q4
40.5
Q3
59.3
Q1
0.073
Q2
0.073
Q4
38.7
Q3
61.2
Q1
0.044
Q2
0.13
Q4
47.6
Q3
52.3
Q1
0
Q2
0.070
Q4
34.5
Q3
65.5

图12H

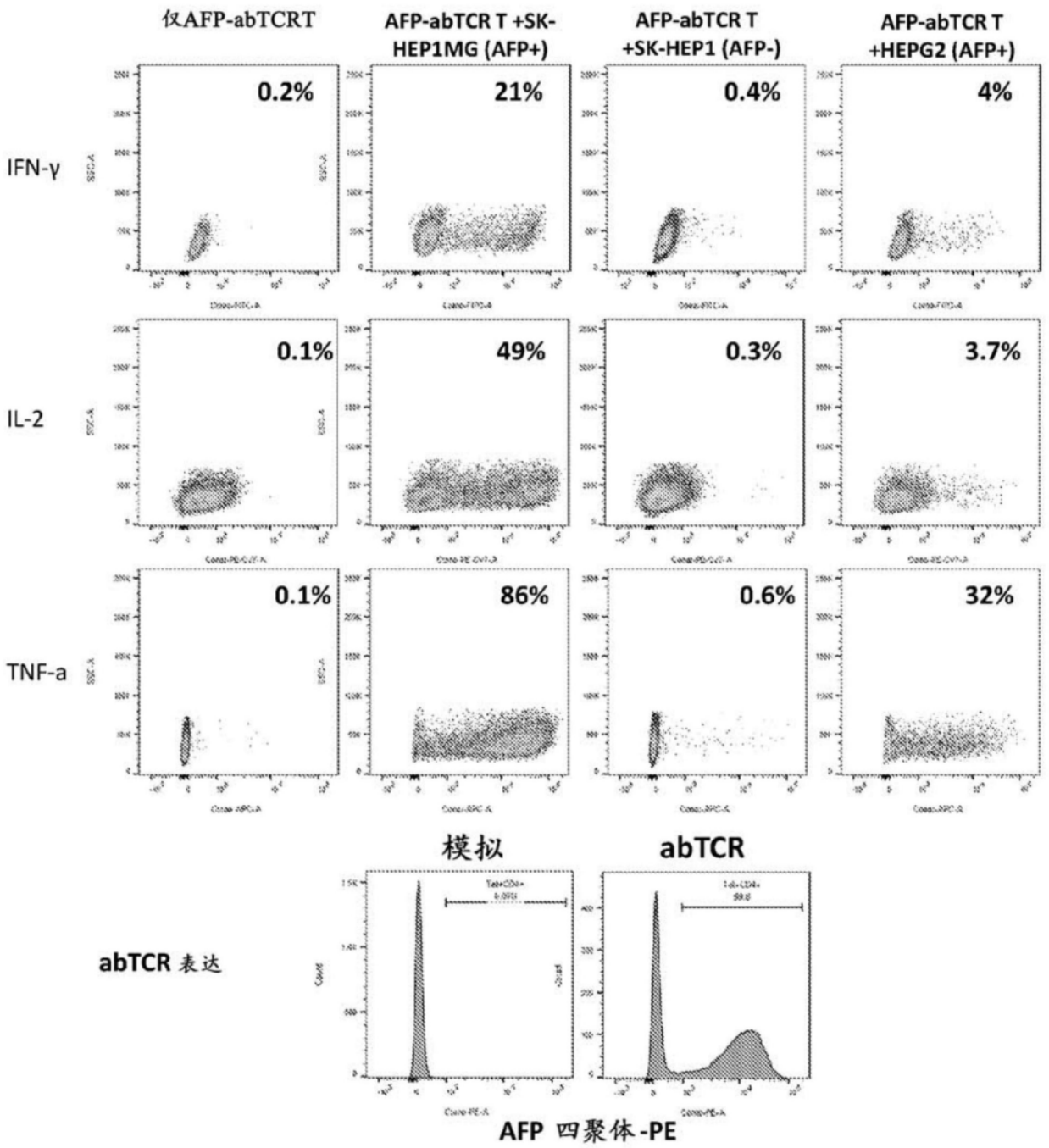

仅AFP-abTCRT
AFP-abTCR T +SK-HEP1MG (AFP+)
AFP-abTCR T +SK-HEP1 (AFP-)
AFP-abTCR T +HEPG2 (AFP+)
IFN-γ
0.2%
21%
0.4%
4%
IL-2
0.1%
49%
0.3%
3.7%
TNF-a
0.1%
86%
0.6%
32%
模拟
abTCR
abTCR 表达
AFP 四聚体-PE

图13

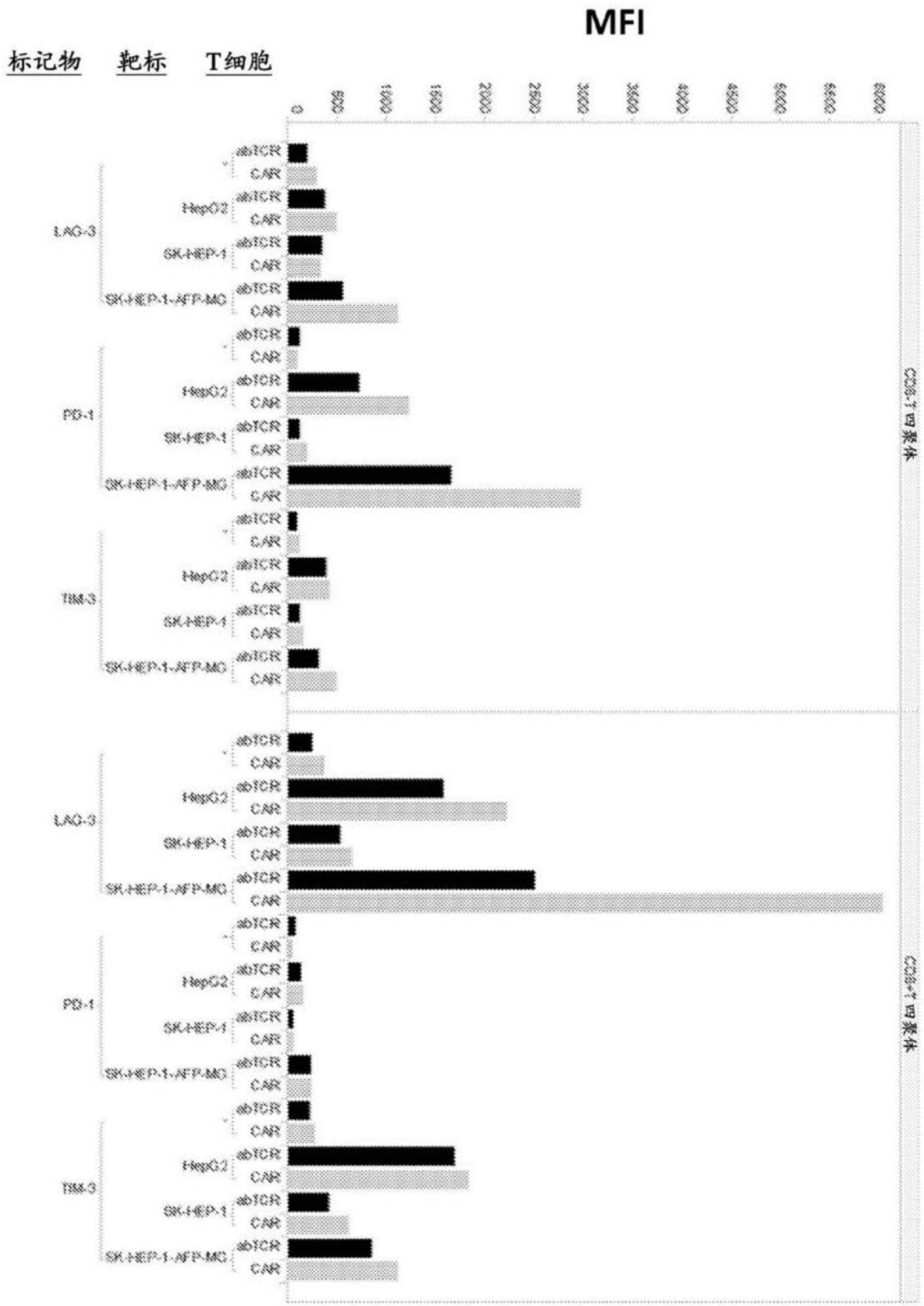

MFI
标记物
靶标
T细胞
0
500
1000
1500
2000
2500
3000
3500
4000
4500
5000
5500
6000
LAG-3
PD-1
TIM-3
HepG2
SK-HEP-1
SK-HEP-1-AFP-MG
abTCR
CAR
CCR6+四聚体
CCR6-四聚体

图14

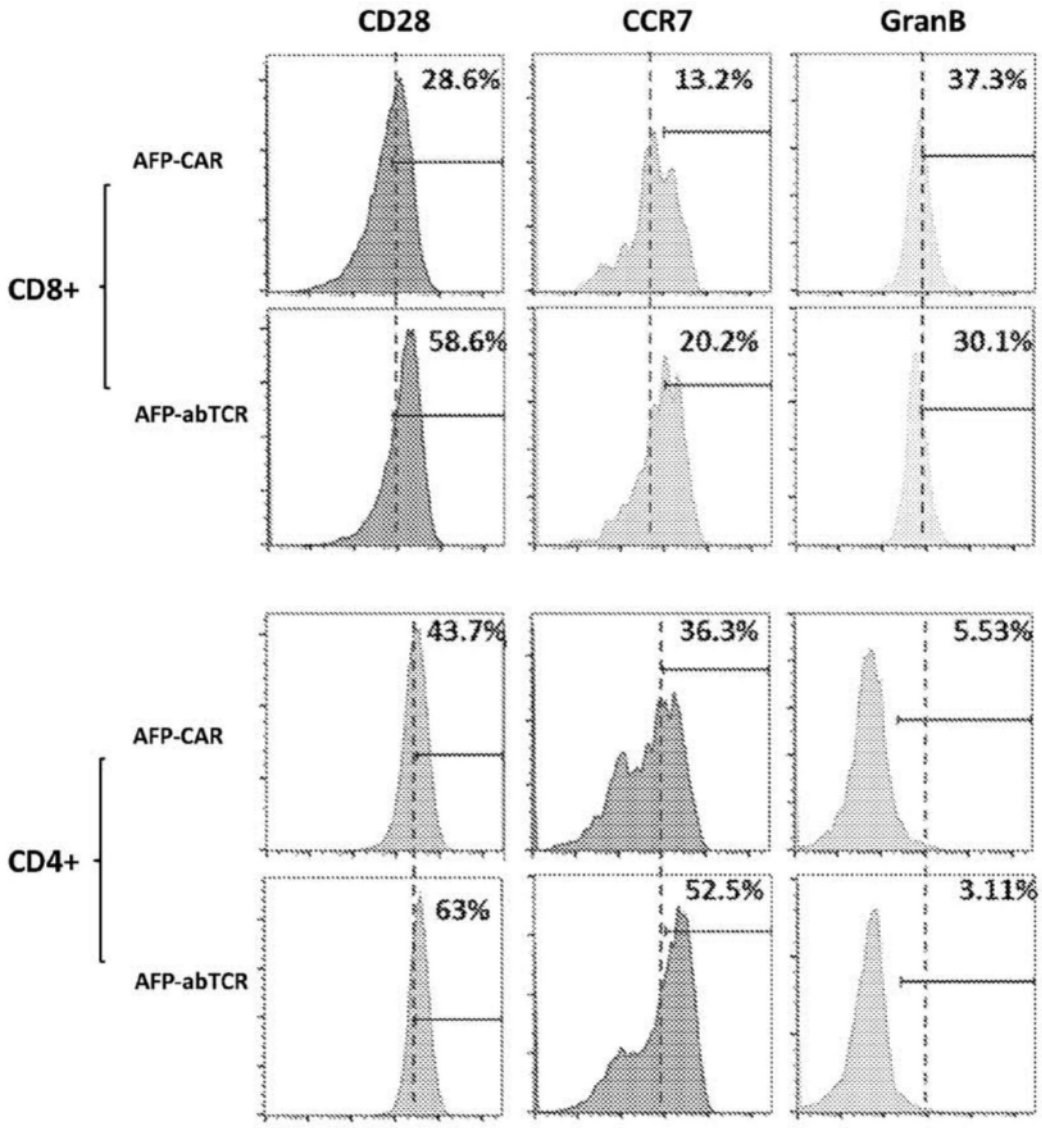

CD28
CCR7
GranB
28.6%
13.2%
37.3%
AFP-CAR
CD8+
58.6%
20.2%
30.1%
AFP-abTCR
43.7%
36.3%
5.53%
AFP-CAR
CD4+
63%
52.5%
3.11%
AFP-abTCR

图15

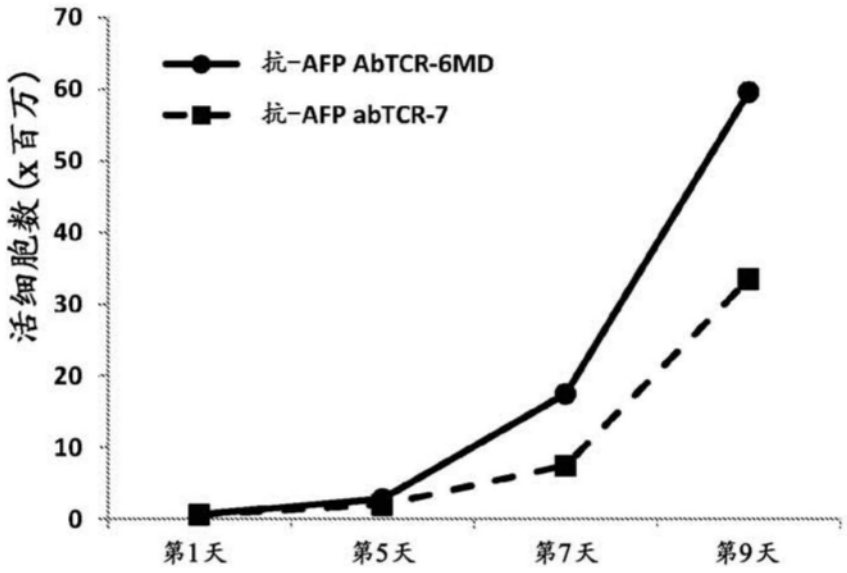

70
60
50
40
30
20
10
0
活细胞数(x百万)
抗-AFP AbTCR-6MD
抗-AFP abTCR-7
第1天
第5天
第7天
第9天

图16A

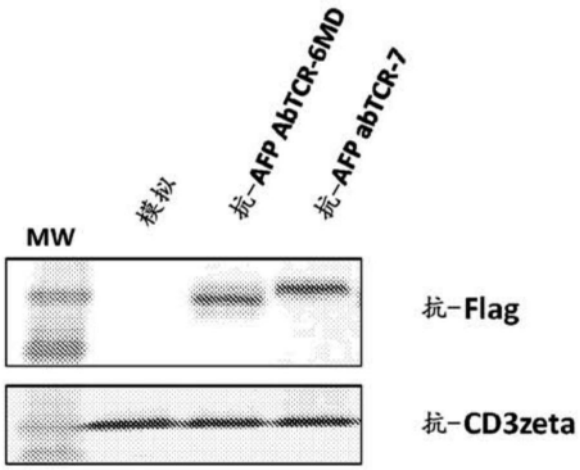

MW
模拟
抗-AFP AbTCR-6MD
抗-AFP abTCR-7
抗-Flag
抗-CD3zeta

图16B

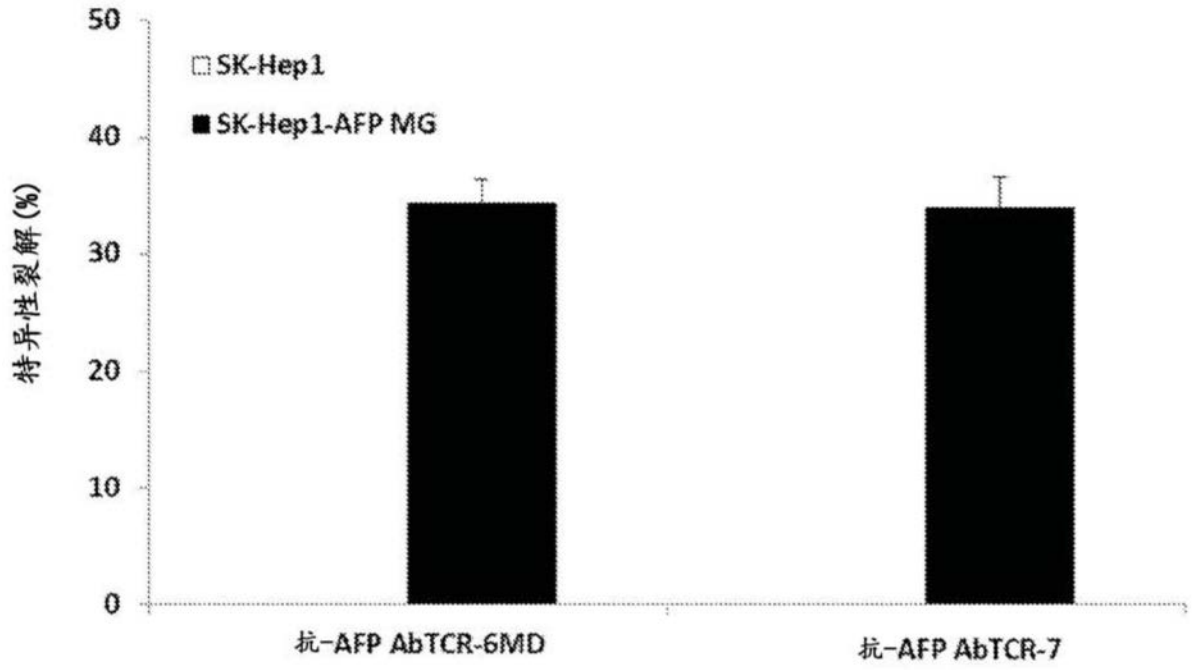

50
40
30
20
10
0
特异性裂解(%)
SK-Hep1
SK-Hep1-AFP MG
抗-AFP AbTCR-6MD
抗-AFP AbTCR-7

图16C

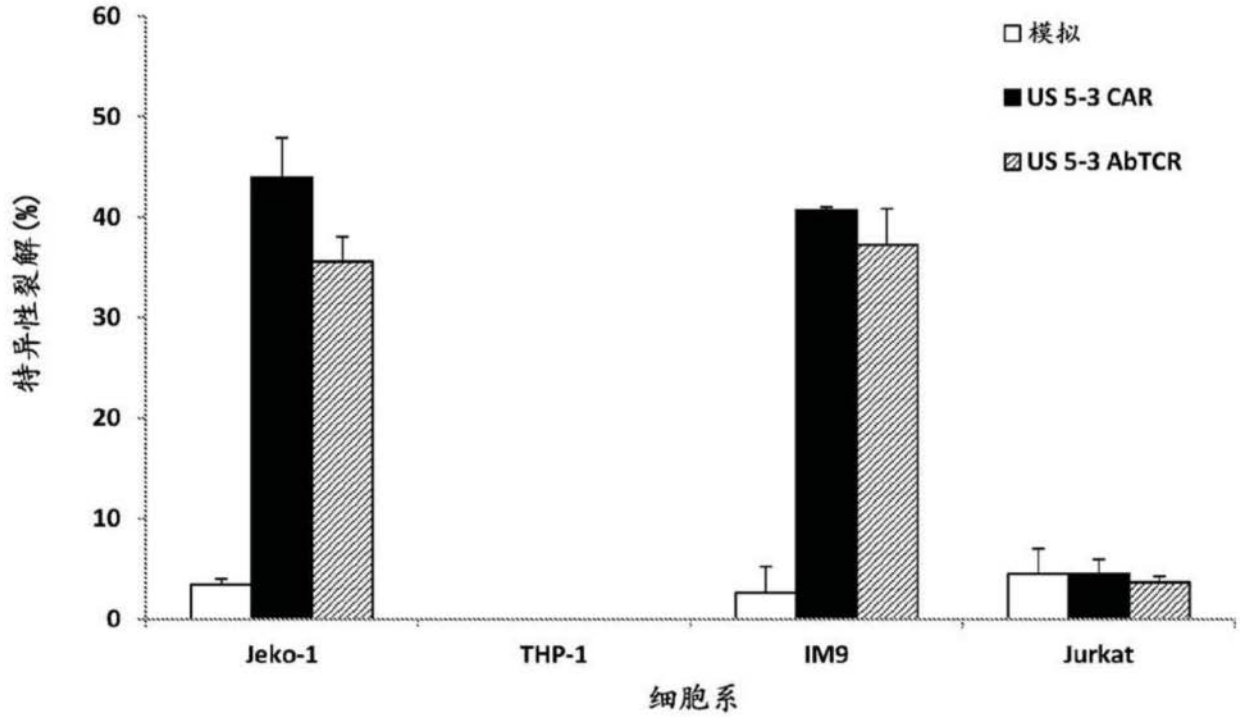

60
50
40
30
20
10
0
特异性裂解(%)
模拟
US 5-3 CAR
US 5-3 AbTCR
Jeko-1
THP-1
IM9
Jurkat
细胞系

图17

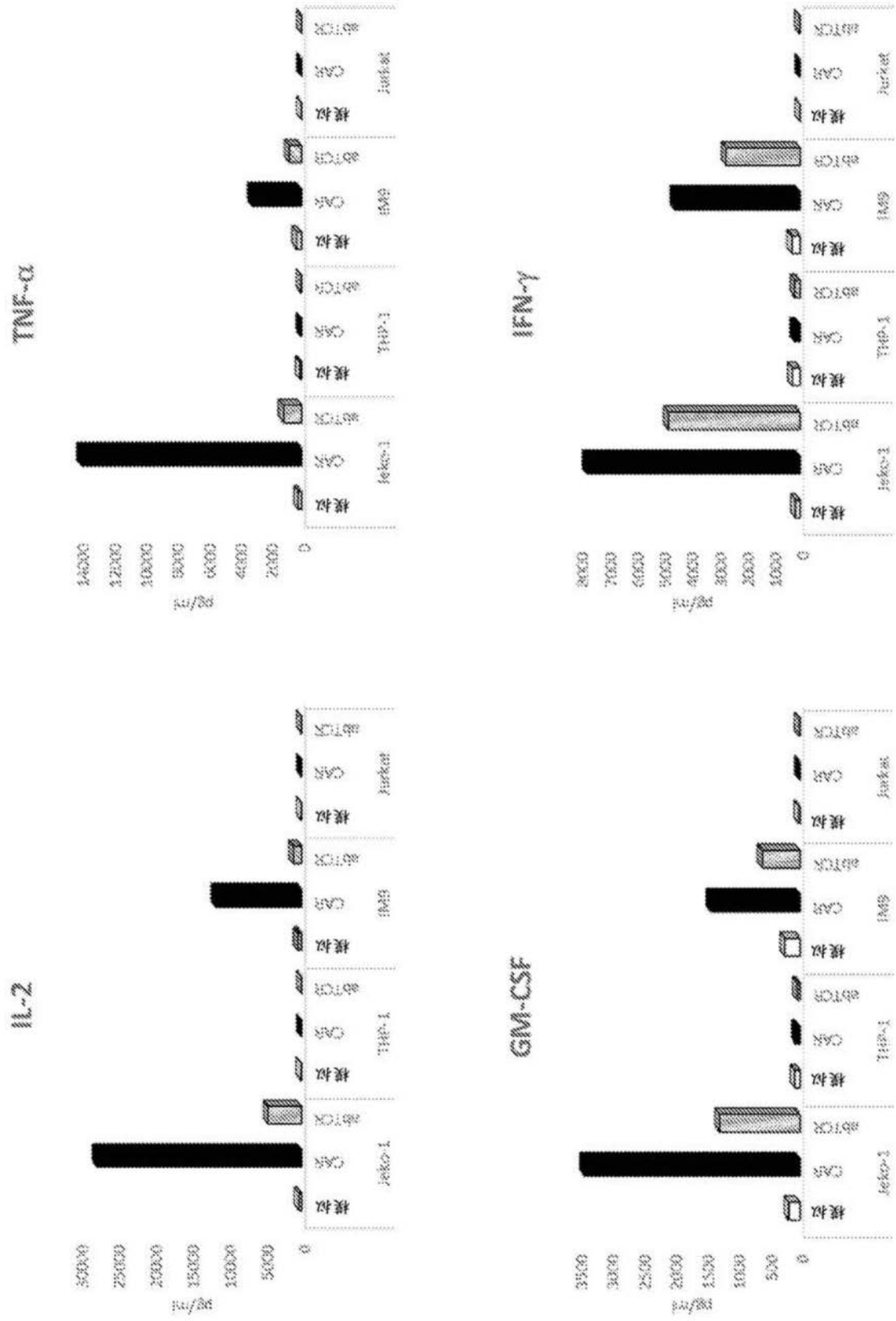


图18A

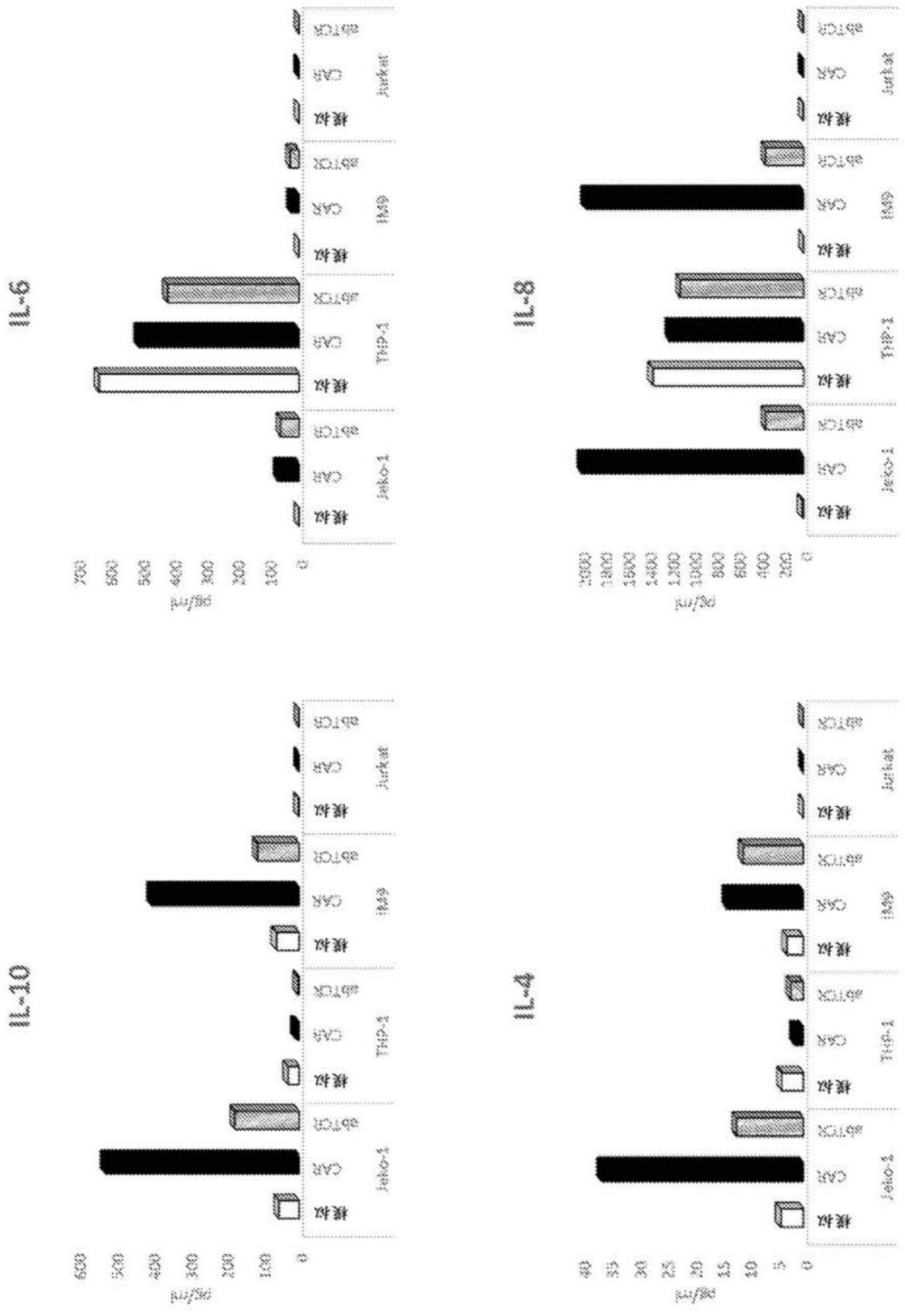


图18B

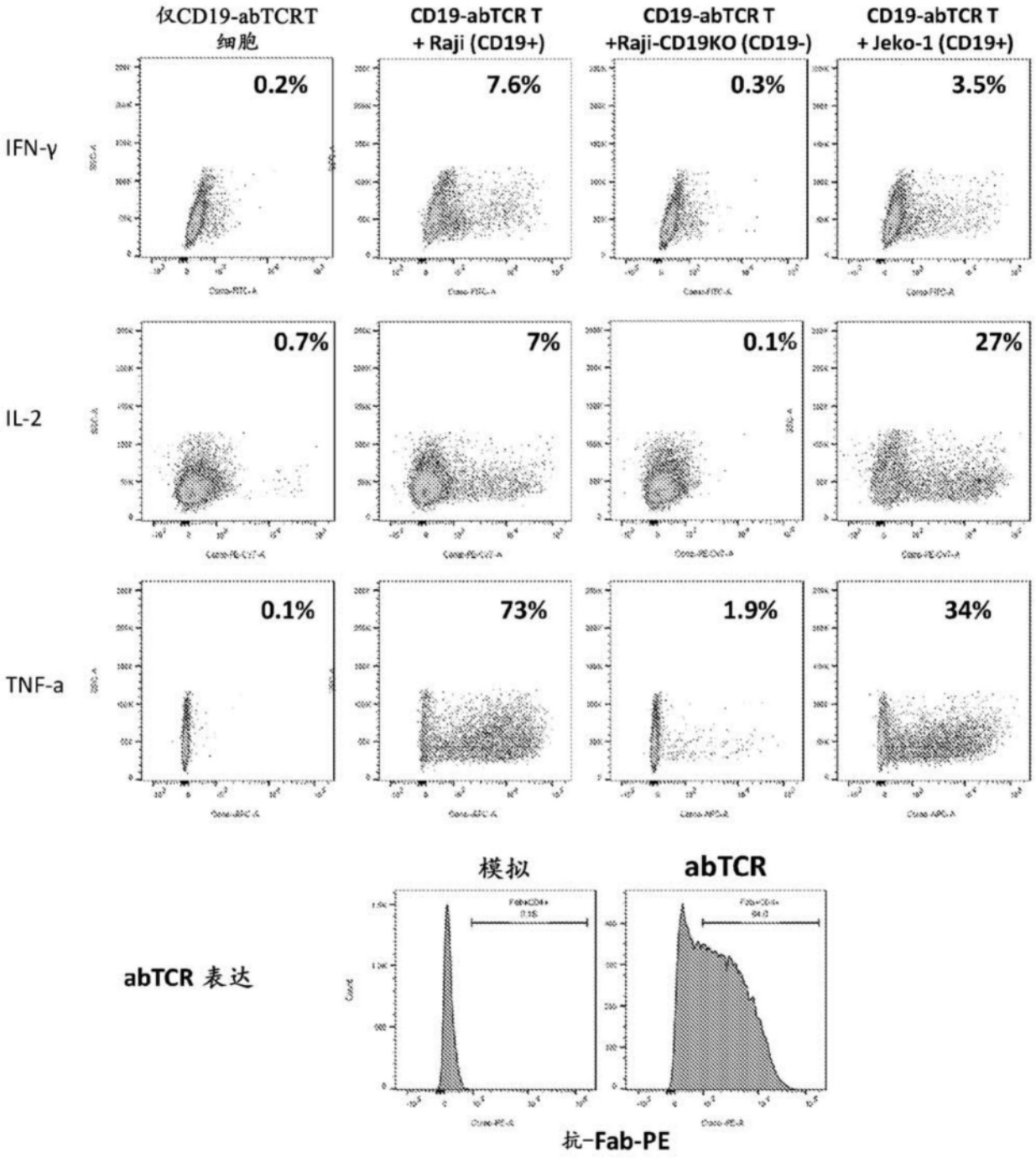

仅CD19-abTCRT
细胞
CD19-abTCR T
+ Raji (CD19+)
CD19-abTCR T
+Raji-CD19KO (CD19-)
CD19-abTCR T
+ Jeko-1 (CD19+)
IFN-γ
0.2%
7.6%
0.3%
3.5%
IL-2
0.7%
7%
0.1%
27%
TNF-a
0.1%
73%
1.9%
34%
abTCR 表达
模拟
abTCR
抗-Fab-PE

图19

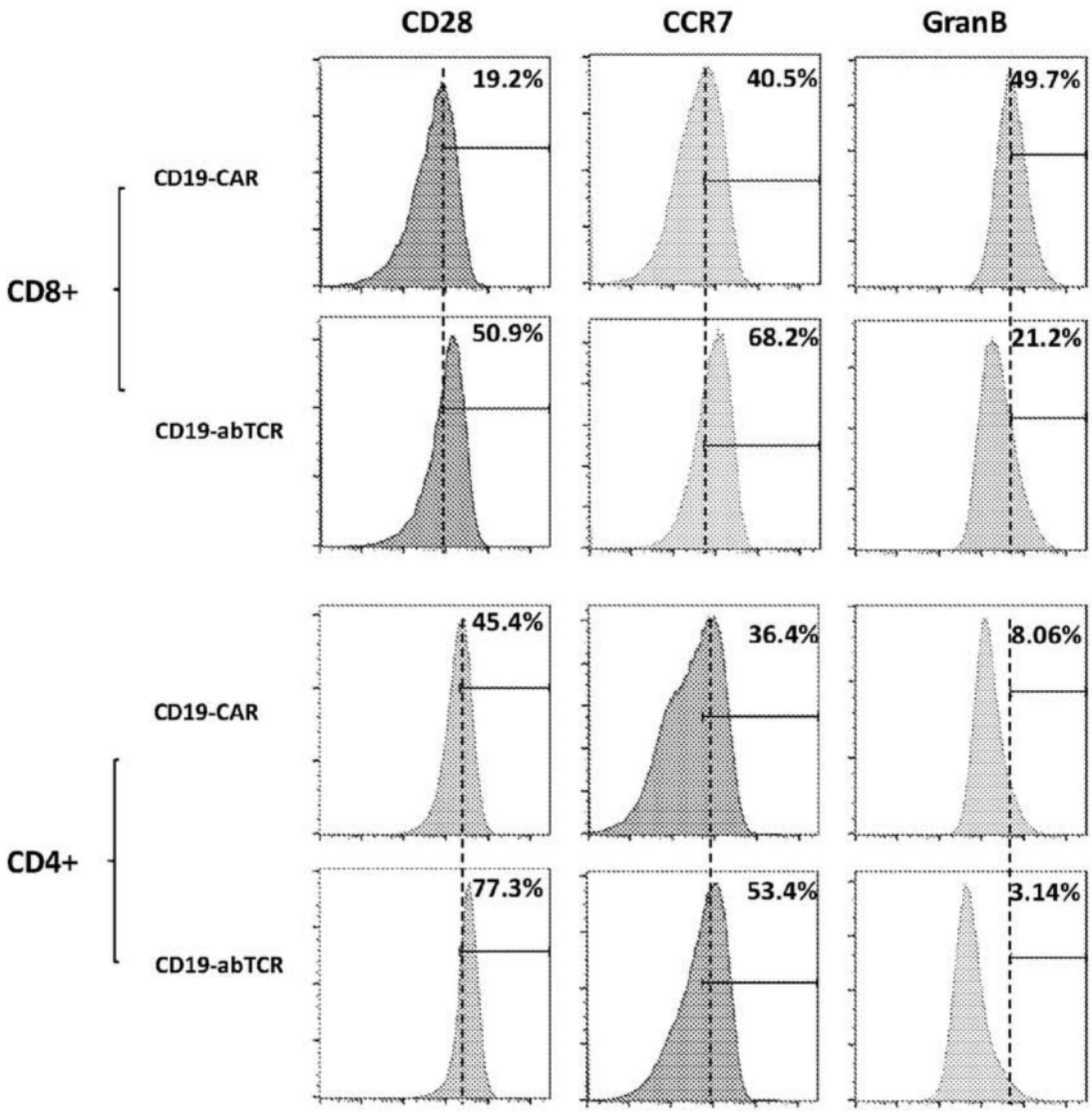

CD28
CCR7
GranB
19.2%
40.5%
49.7%
CD19-CAR
CD8+
50.9%
68.2%
21.2%
CD19-abTCR
45.4%
36.4%
8.06%
CD19-CAR
CD4+
77.3%
53.4%
3.14%
CD19-abTCR

图20

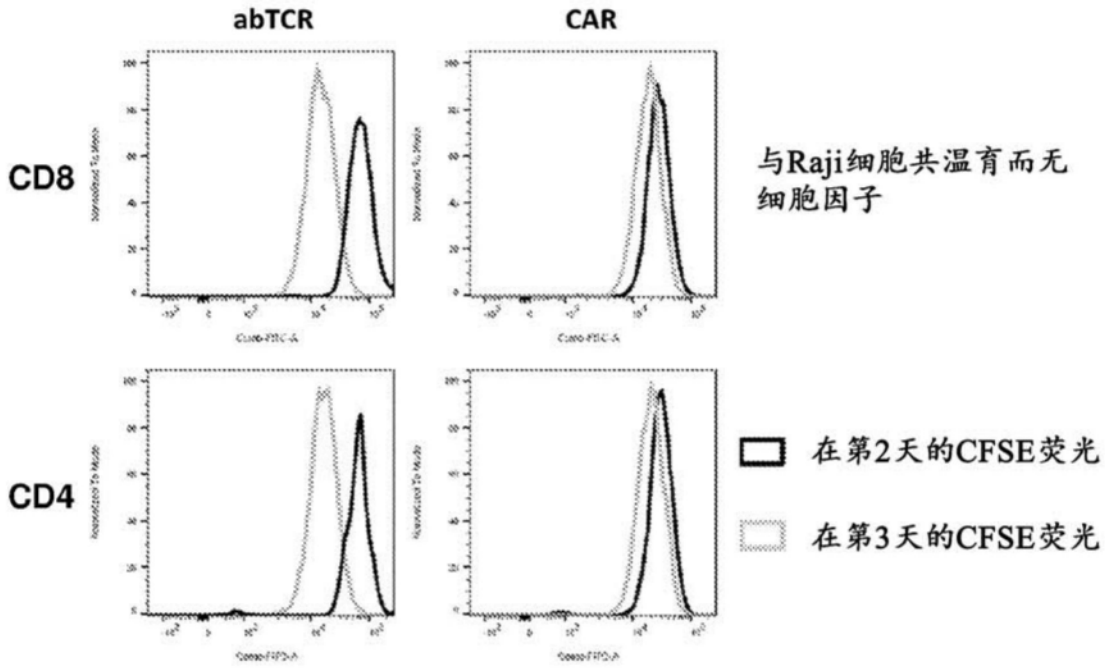

abTCR
CAR
CD8
CD4
与Raji细胞共温育而无细胞因子
在第2天的CFSE荧光
在第3天的CFSE荧光

图21

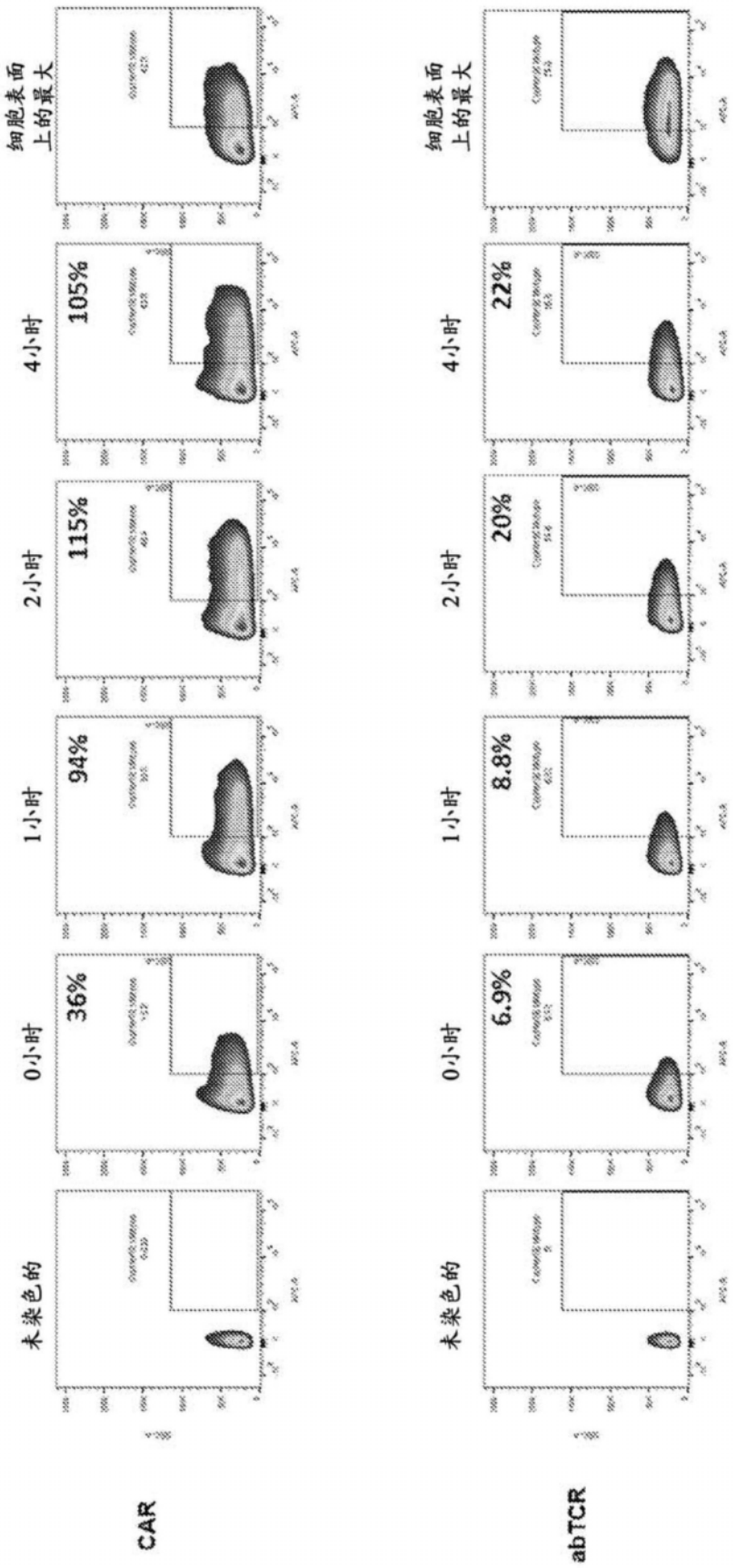

未染色的
0小时
1小时
2小时
4小时
细胞表面上的最大
CAR
abTCR
36%
94%
115%
105%
6.9%
8.8%
20%
22%

图22

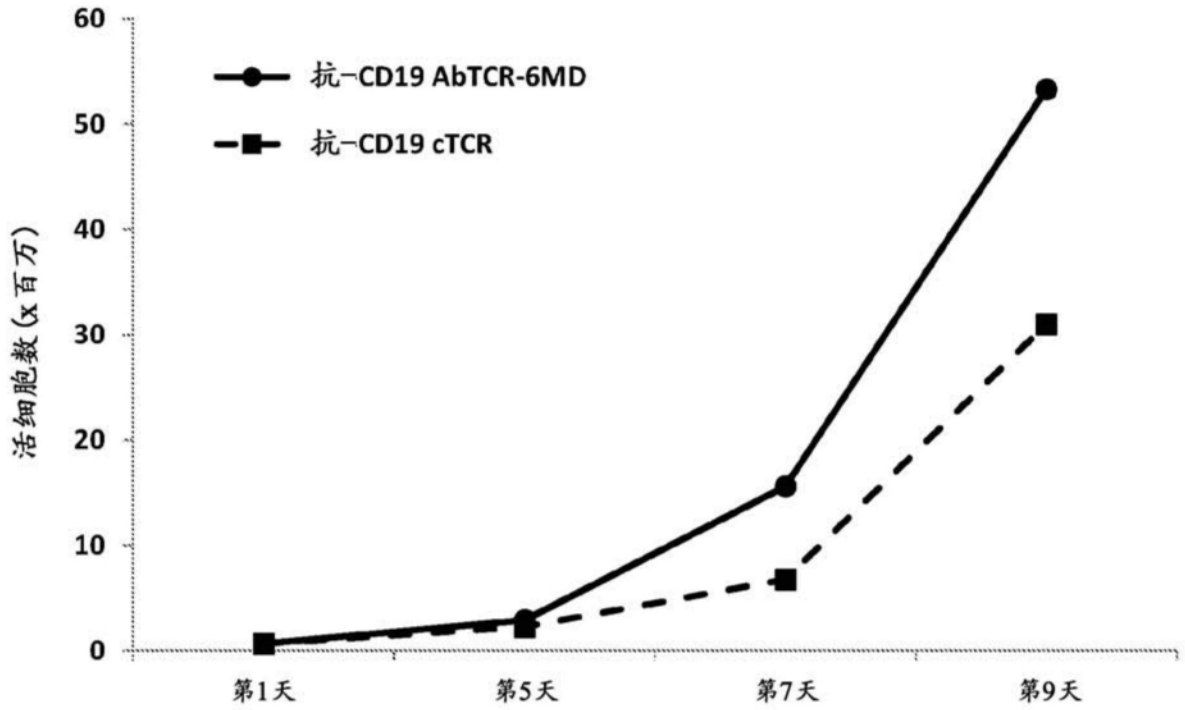

60
50
40
30
20
10
0
活细胞数(x百万)
抗-CD19 AbTCR-6MD
抗-CD19 cTCR
第1天
第5天
第7天
第9天

图23A

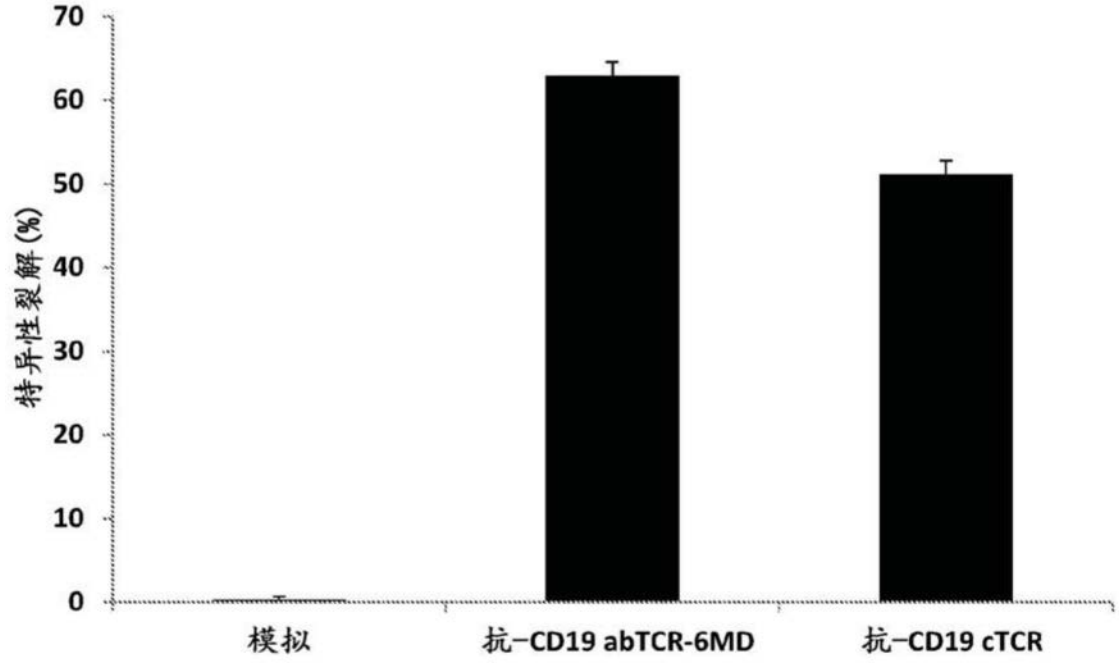

70
60
50
40
30
20
10
0
特异性裂解(%)
模拟
抗-CD19 abTCR-6MD
抗-CD19 cTCR

图23B

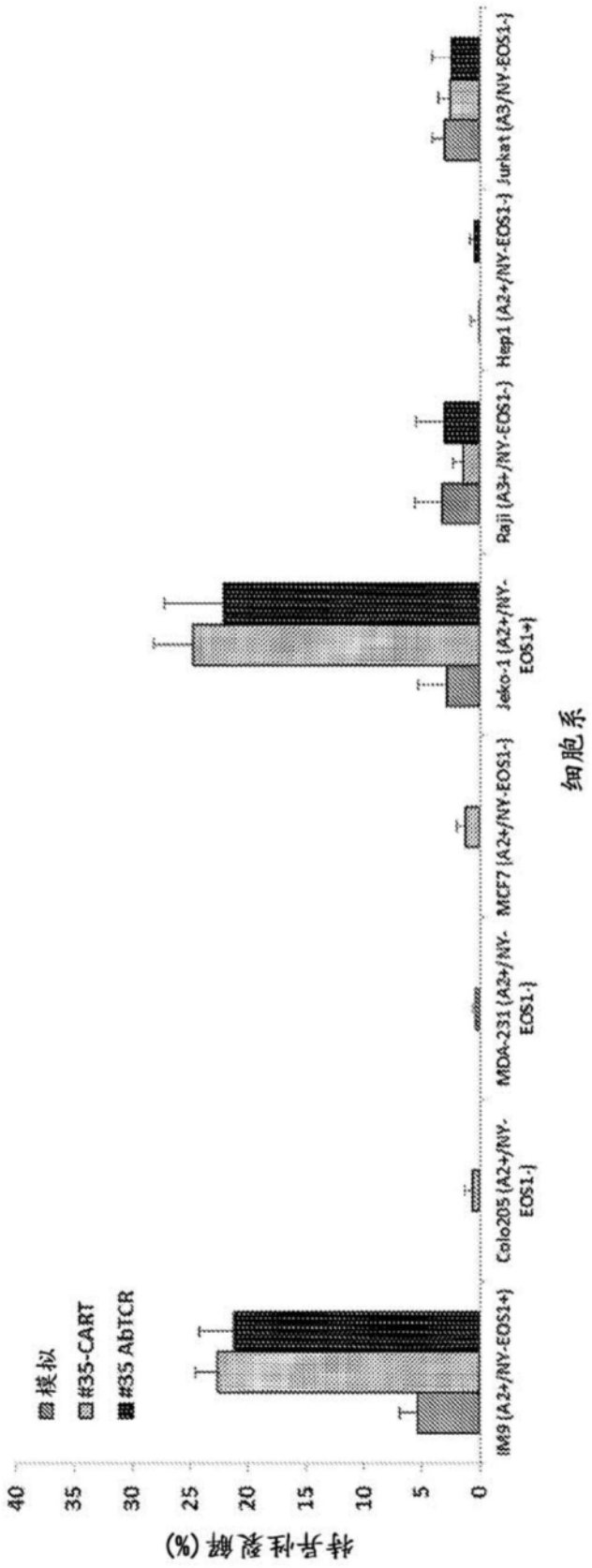

模拟
#35-CART
#35 AbTCR
特异性裂解(%)
0
5
10
15
20
25
30
35
40
M9 (A2+/NY-EOS1+)
Colo205 (A2+/NY-EOS1-)
MDA-231 (A2+/NY-EOS1-)
MCF7 (A2+/NY-EOS1-)
Jeko-1 (A2+/NY-EOS1+)
Raji (A3+/NY-EOS1-)
Hep1 (A2+/NY-EOS1-)
Jurkat (A3/NY-EOS1-)
细胞系

图24

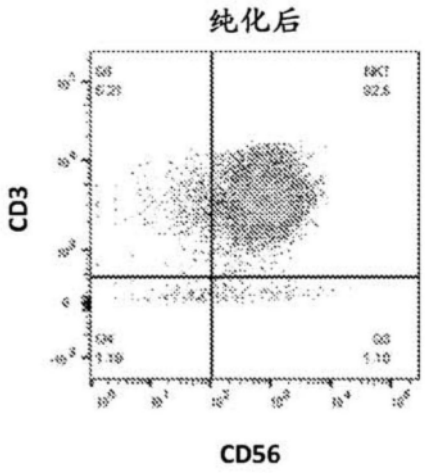


图25A

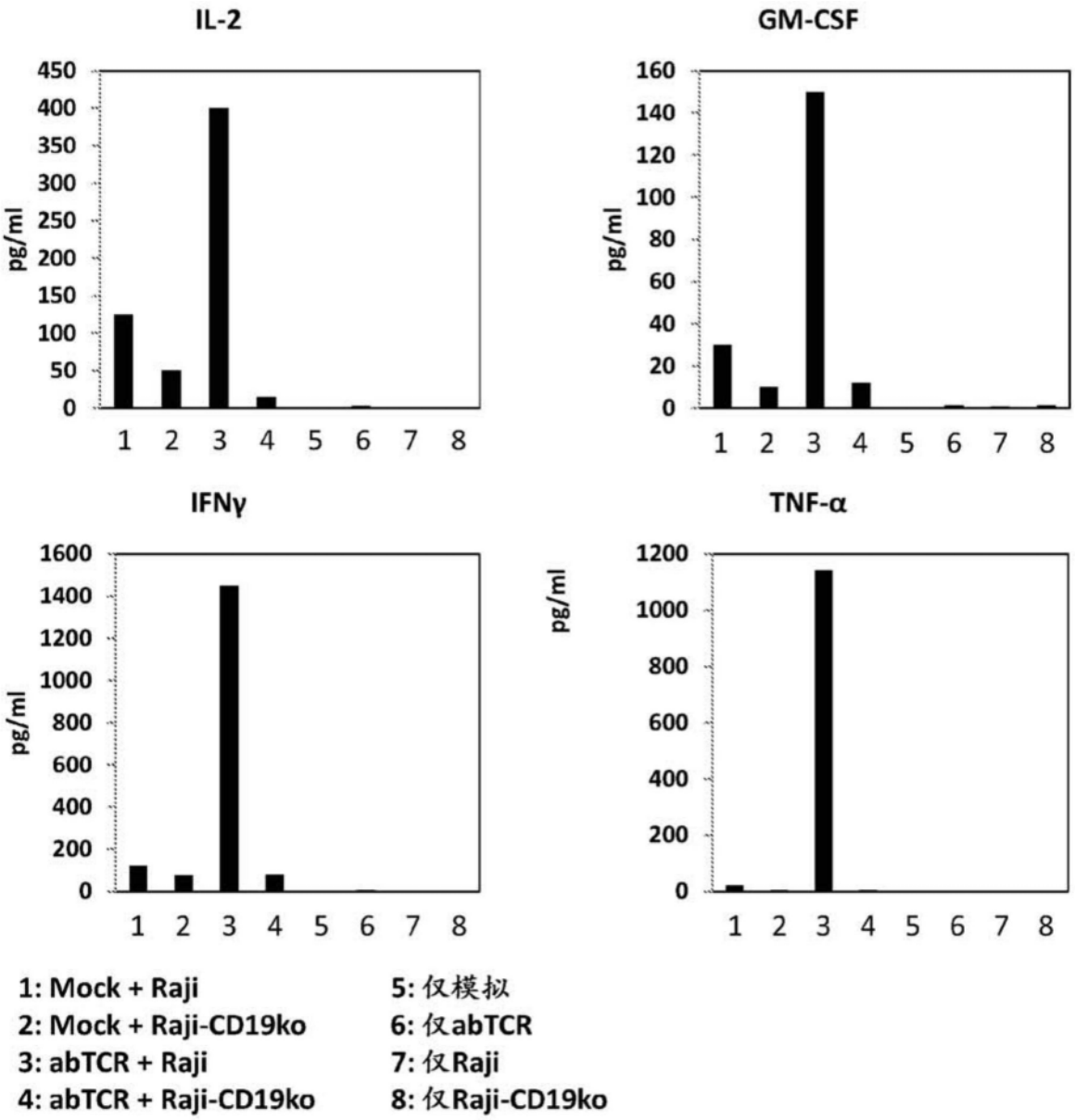

IL-2
pg/ml
450
400
350
300
250
200
150
100
50
0
1 2 3 4 5 6 7 8
GM-CSF
pg/ml
160
140
120
100
80
60
40
20
0
1 2 3 4 5 6 7 8
IFNγ
pg/ml
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
1 2 3 4 5 6 7 8
TNF-α
pg/ml
1200
1000
800
600
400
200
0
1 2 3 4 5 6 7 8
1: Mock + Raji
2: Mock + Raji-CD19ko
3: abTCR + Raji
4: abTCR + Raji-CD19ko
5: 仅模拟
6: 仅abTCR
7: 仅Raji
8: 仅Raji-CD19ko

图25B

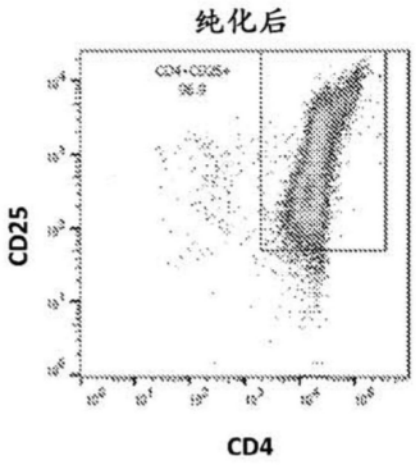

纯化后
CD4+CD25+
96.9
CD25
CD4

图26A

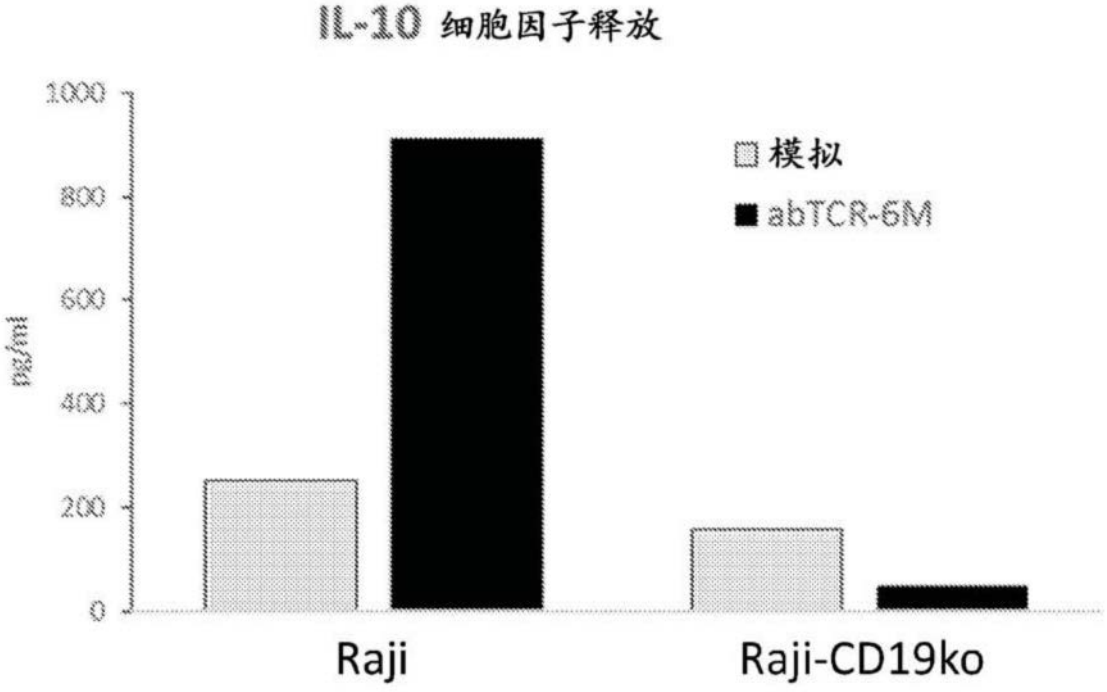

IL-10 细胞因子释放
1000
800
600
400
200
0
pg/ml
模拟
abTCR-6M
Raji
Raji-CD19ko

图26B

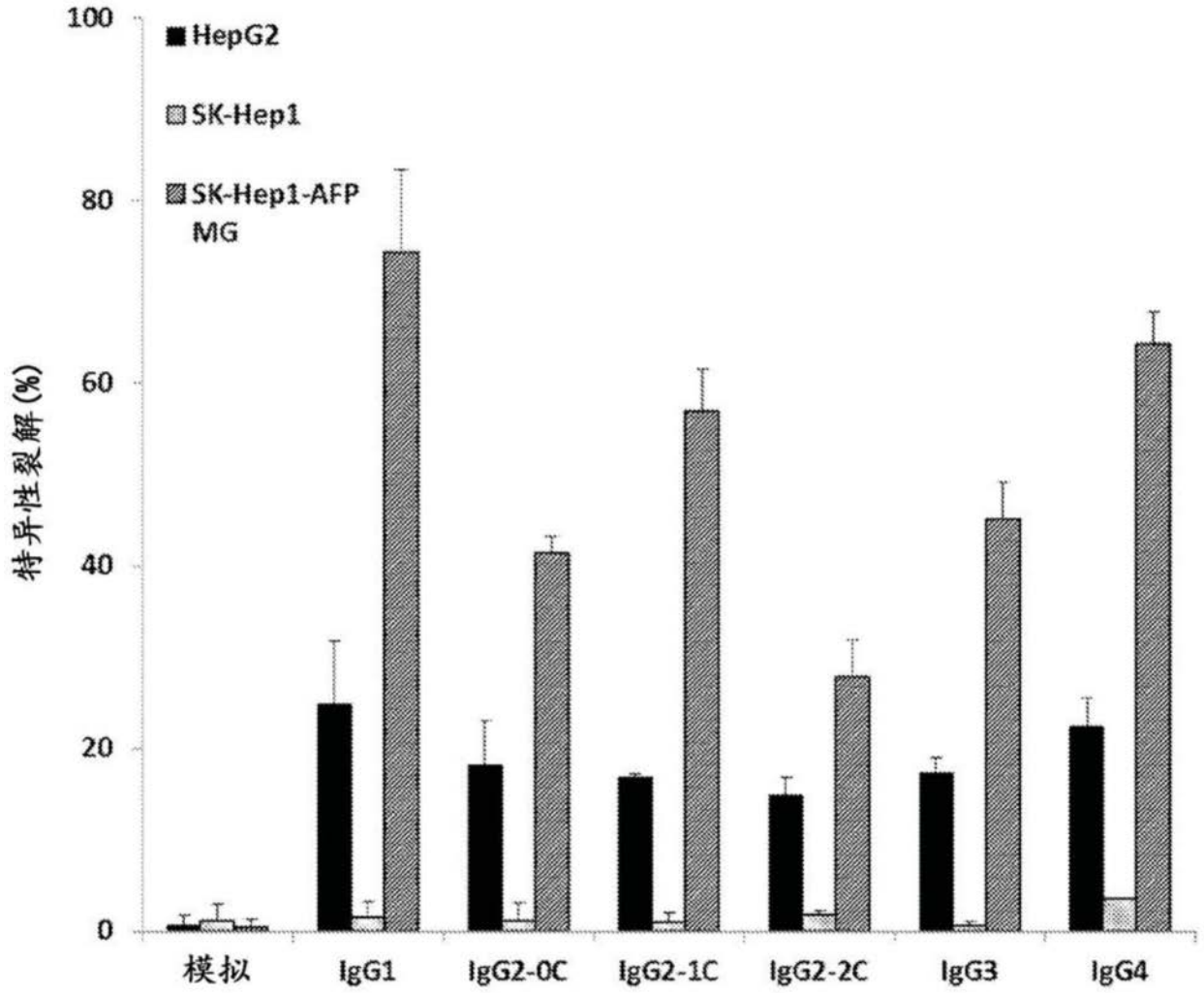

100
80
60
40
20
0
特异性裂解(%)
HepG2
SK-Hep1
SK-Hep1-AFP
MG
模拟
IgG1
IgG2-0C
IgG2-1C
IgG2-2C
IgG3
IgG4

图27

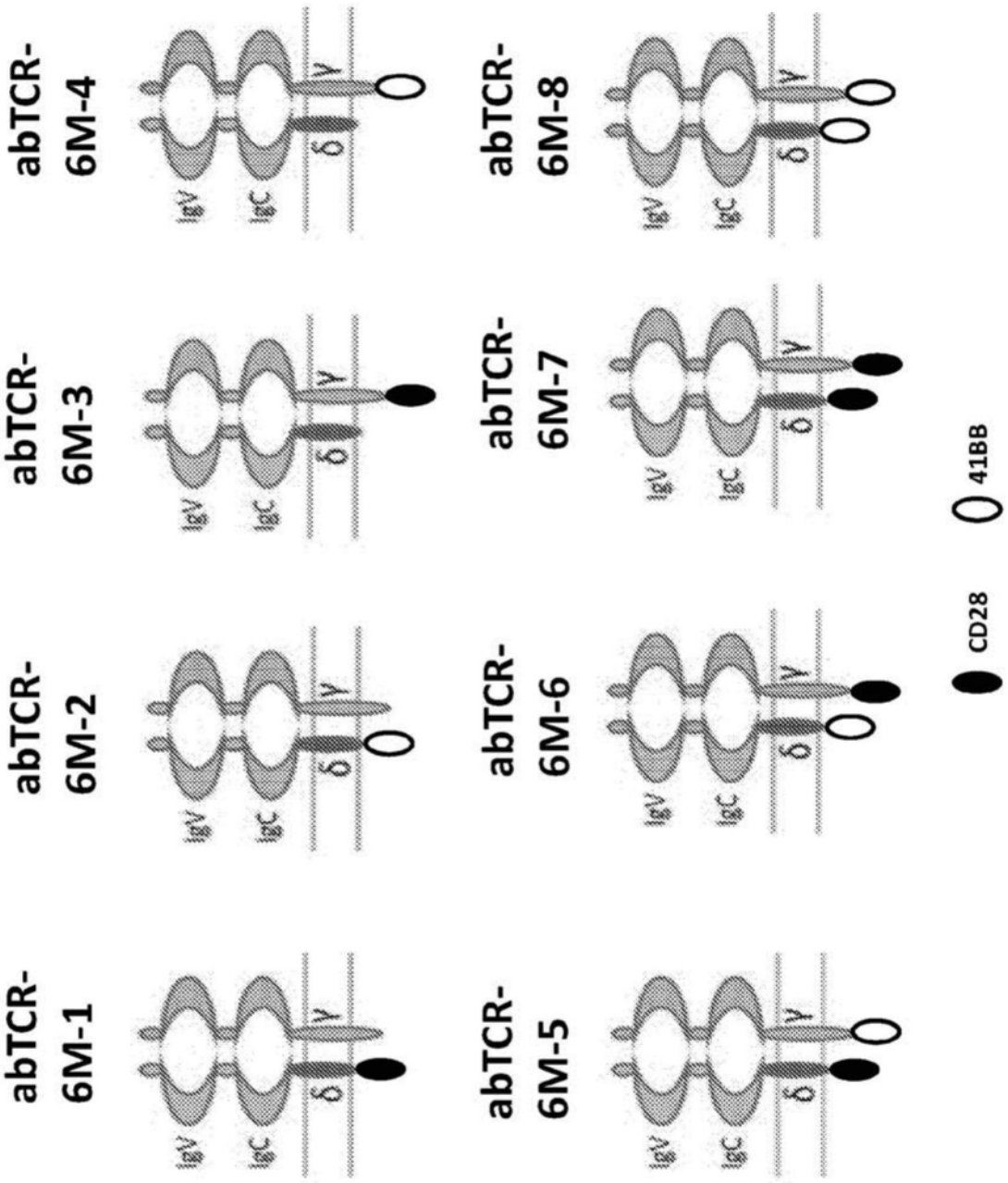

abTCR-6M-4
abTCR-6M-8
abTCR-6M-3
abTCR-6M-7
abTCR-6M-2
abTCR-6M-6
abTCR-6M-1
abTCR-6M-5
IgV
IgC
γ
δ
41BB
CD28

图28

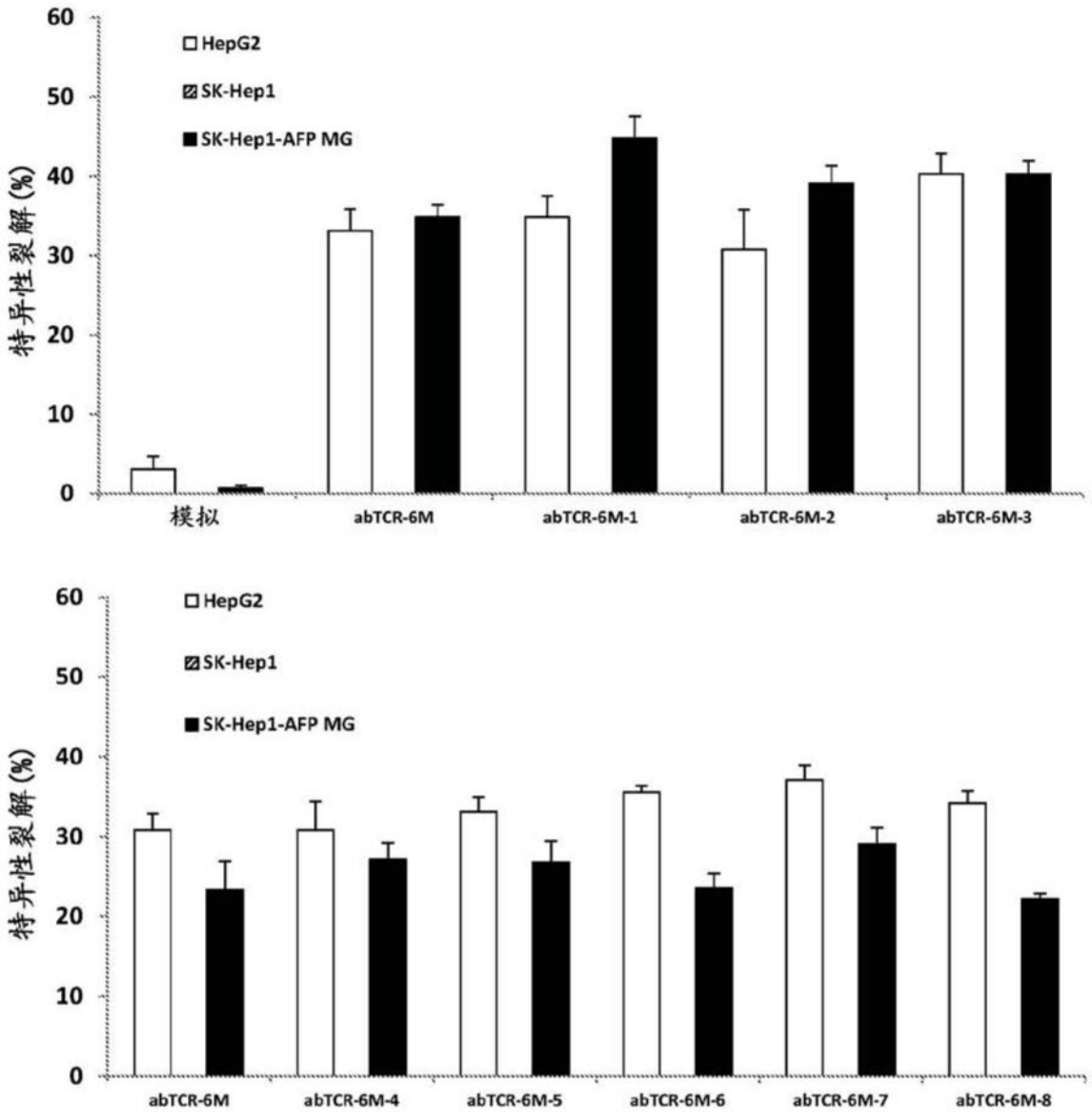

60
50
40
30
20
10
0
特异性裂解(%)
HepG2
SK-Hep1
SK-Hep1-AFP MG
模拟
abTCR-6M
abTCR-6M-1
abTCR-6M-2
abTCR-6M-3
60
50
40
30
20
10
0
特异性裂解(%)
HepG2
SK-Hep1
SK-Hep1-AFP MG
abTCR-6M
abTCR-6M-4
abTCR-6M-5
abTCR-6M-6
abTCR-6M-7
abTCR-6M-8

图29

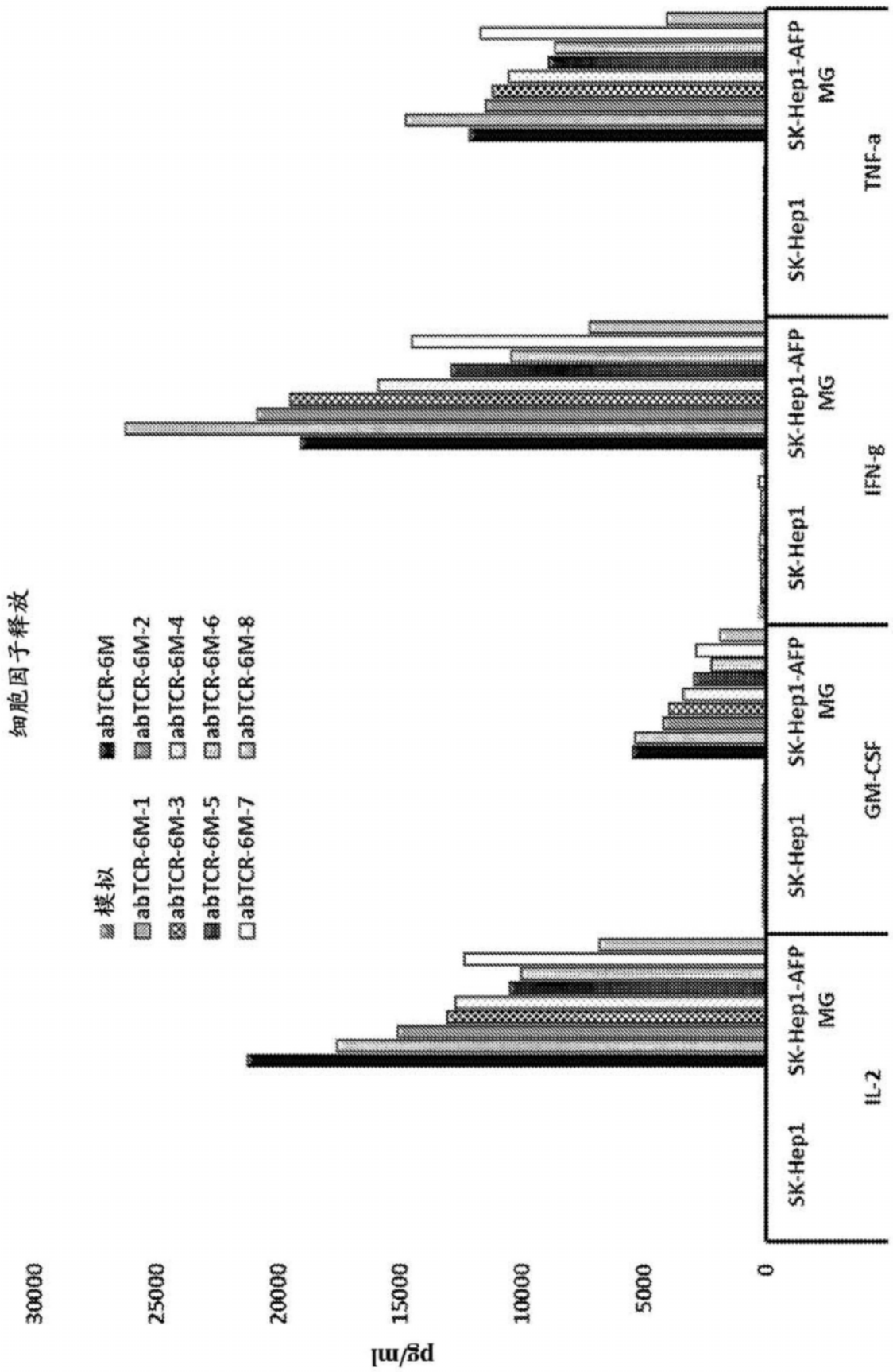

细胞因子释放
模拟
abTCR-6M
abTCR-6M-1
abTCR-6M-2
abTCR-6M-3
abTCR-6M-4
abTCR-6M-5
abTCR-6M-6
abTCR-6M-7
abTCR-6M-8
pg/ml
30000
25000
20000
15000
10000
5000
0
SK-Hep1
SK-Hep1-AFP MG
IL-2
GM-CSF
IFN-g
TNF-a

图30

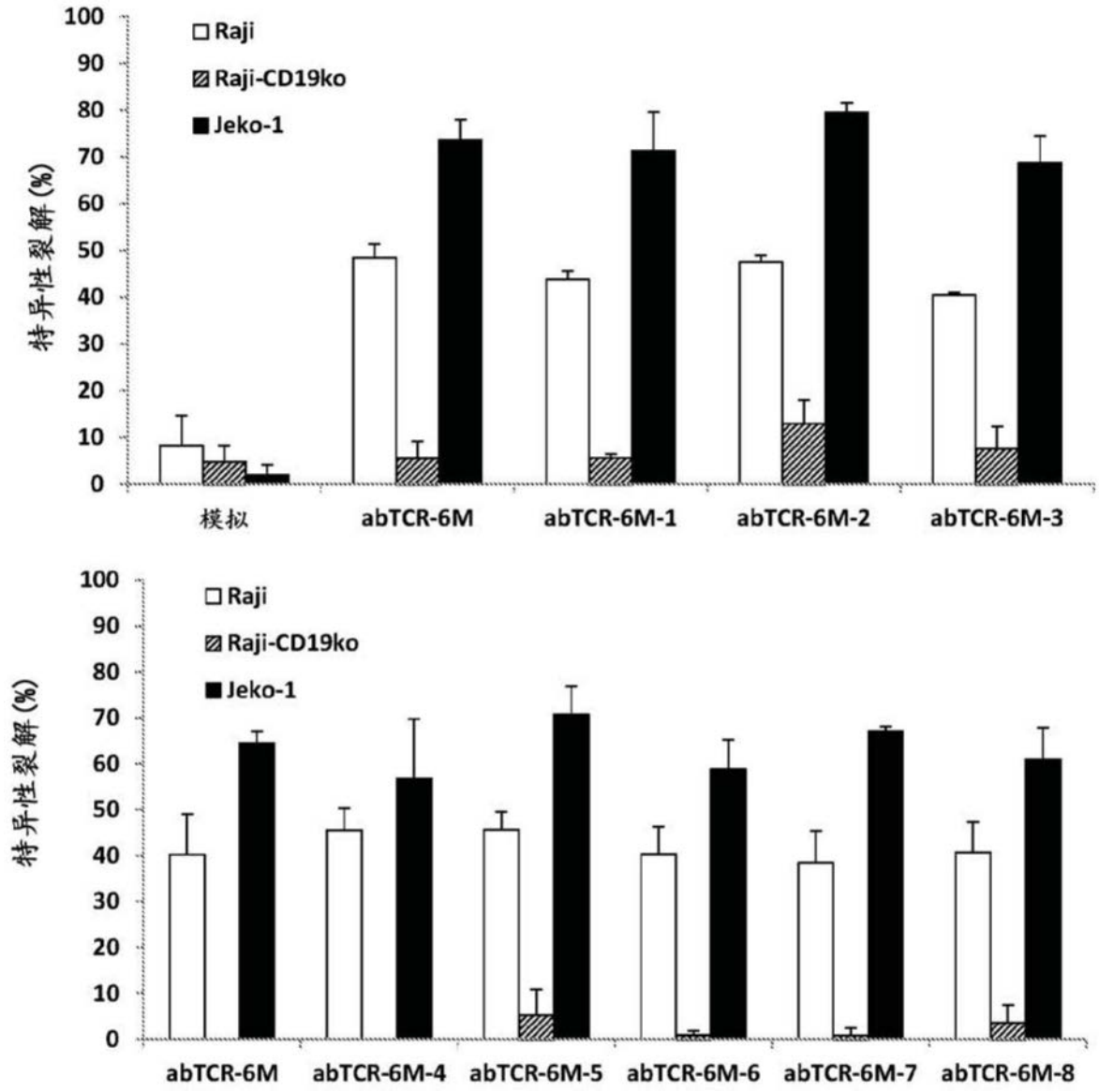

100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
特异性裂解(%)
Raji
Raji-CD19ko
Jeko-1
模拟
abTCR-6M
abTCR-6M-1
abTCR-6M-2
abTCR-6M-3
Raji
Raji-CD19ko
Jeko-1
特异性裂解(%)
abTCR-6M
abTCR-6M-4
abTCR-6M-5
abTCR-6M-6
abTCR-6M-7
abTCR-6M-8

图31

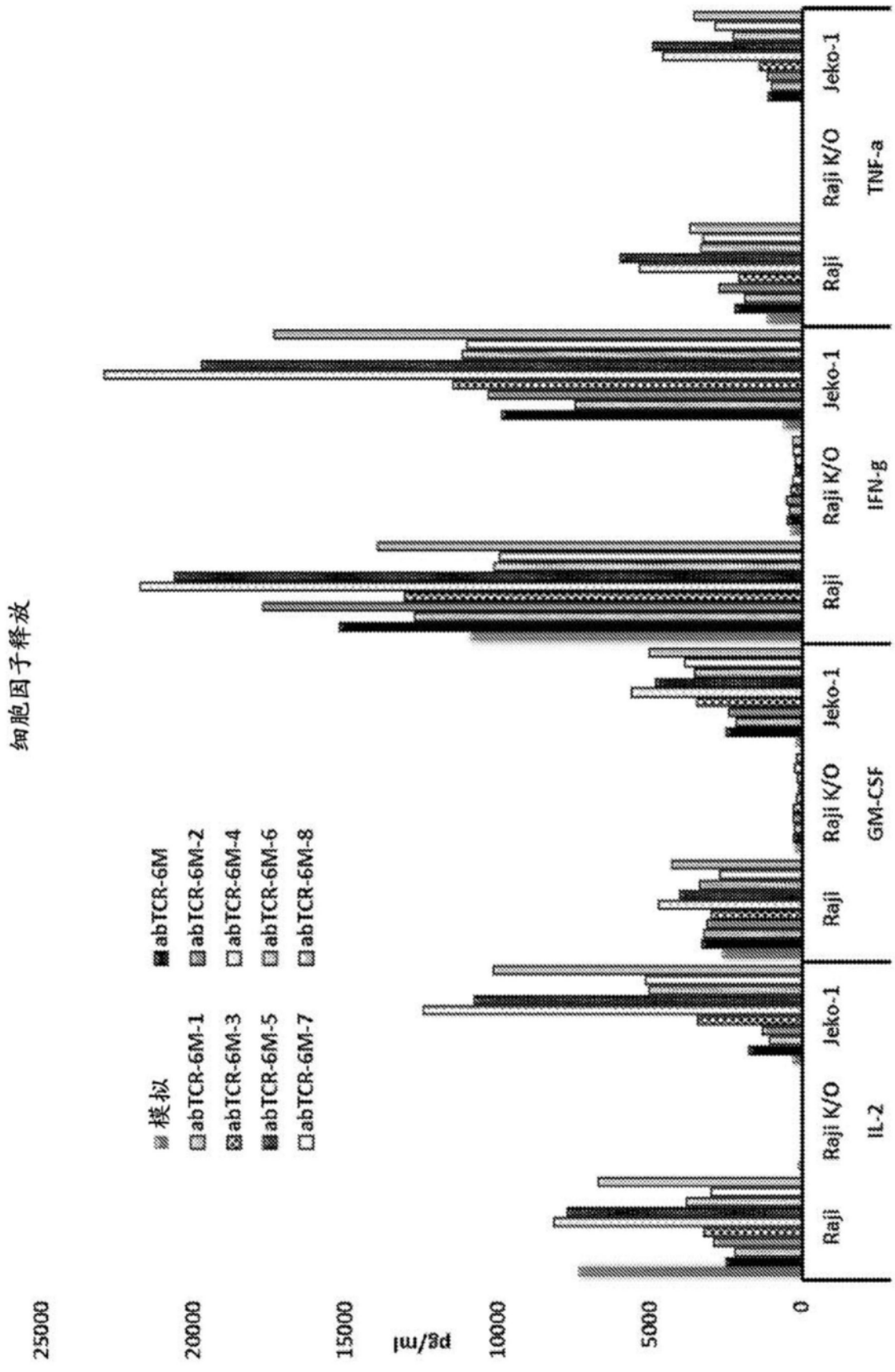

细胞因子释放
pg/ml
25000
20000
15000
10000
5000
0
模拟
abTCR-6M-1
abTCR-6M-3
abTCR-6M-5
abTCR-6M-7
abTCR-6M
abTCR-6M-2
abTCR-6M-4
abTCR-6M-6
abTCR-6M-8
Raji
Raji K/O
Jeko-1
IL-2
GM-CSF
IFN-g
TNF-a

图32

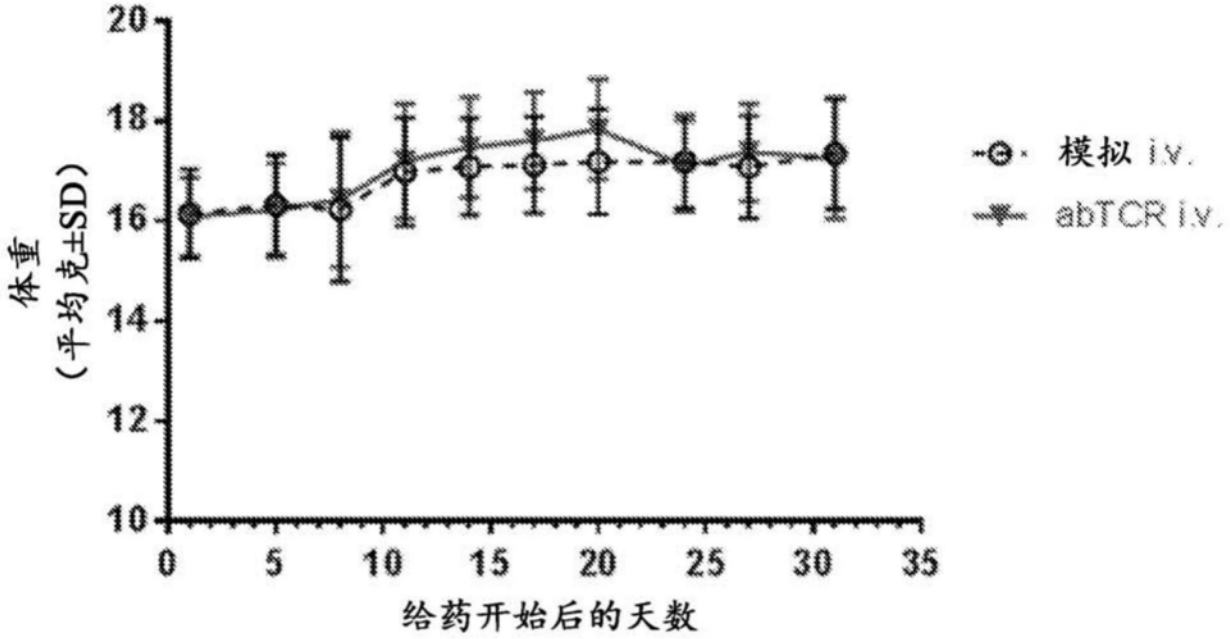

体重
（平均克±SD）
20
18
16
14
12
10
0
5
10
15
20
25
30
35
给药开始后的天数
模拟 i.v.
abTCR i.v.

图33

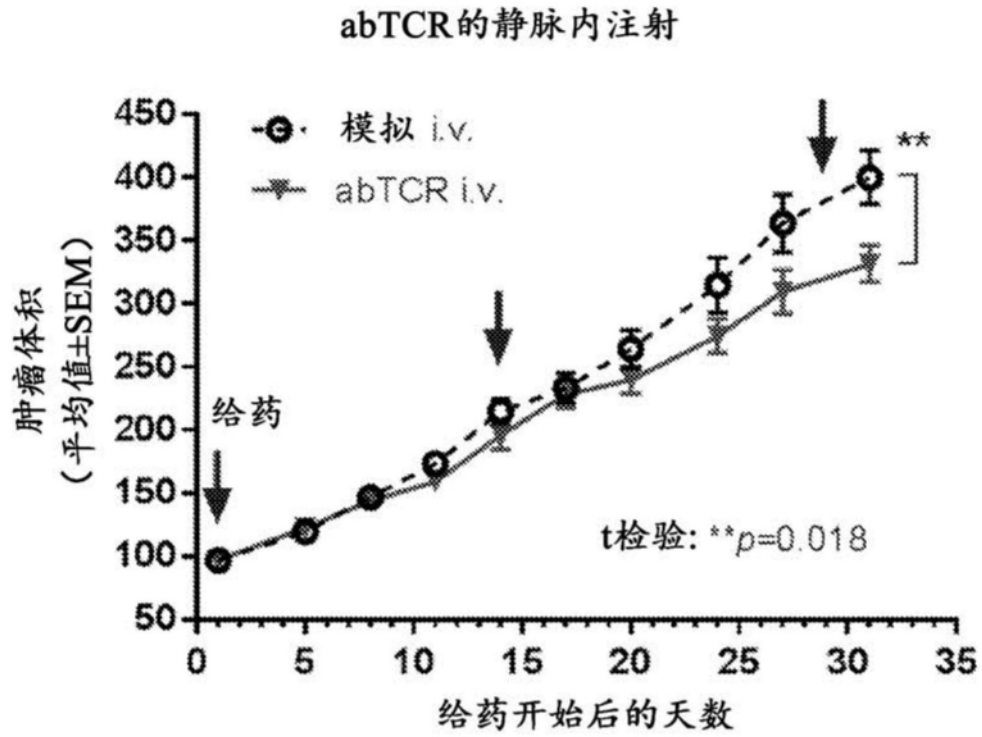

abTCR的静脉内注射
肿瘤体积
（平均值±SEM）
450
400
350
300
250
200
150
100
50
0
5
10
15
20
25
30
35
给药开始后的天数
模拟 i.v.
abTCR i.v.
给药
**
t检验: **p=0.018

图34A

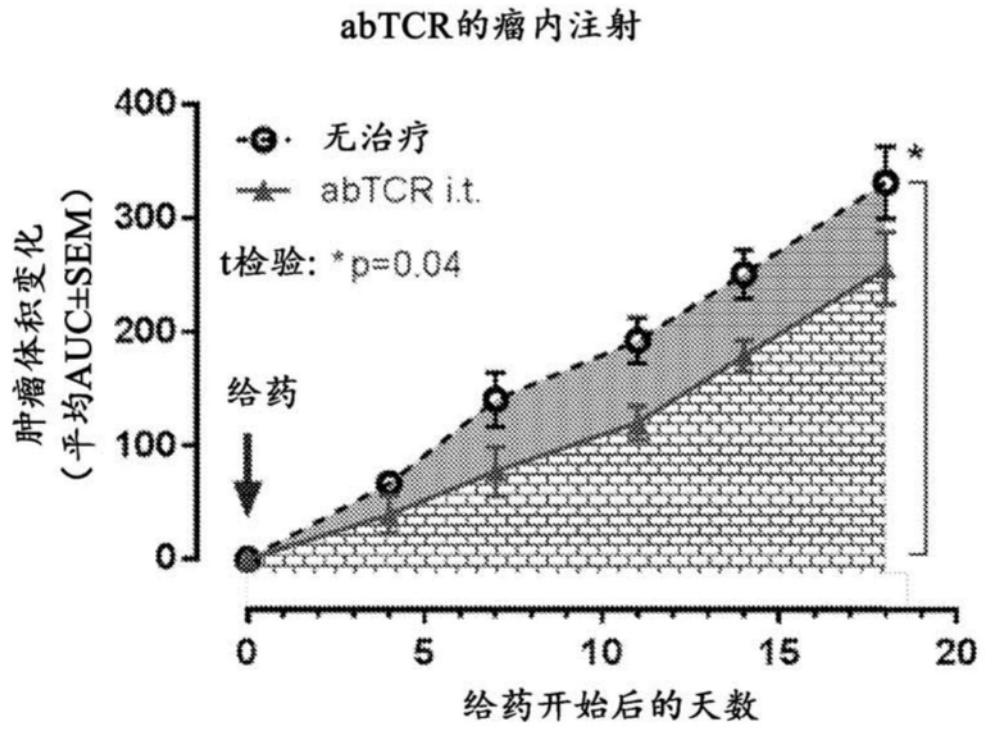

abTCR的瘤内注射
肿瘤体积变化
（平均AUC±SEM）
400
300
200
100
0
无治疗
abTCR i.t.
t检验: *p=0.04
*
给药
0
5
10
15
20
给药开始后的天数

图34B

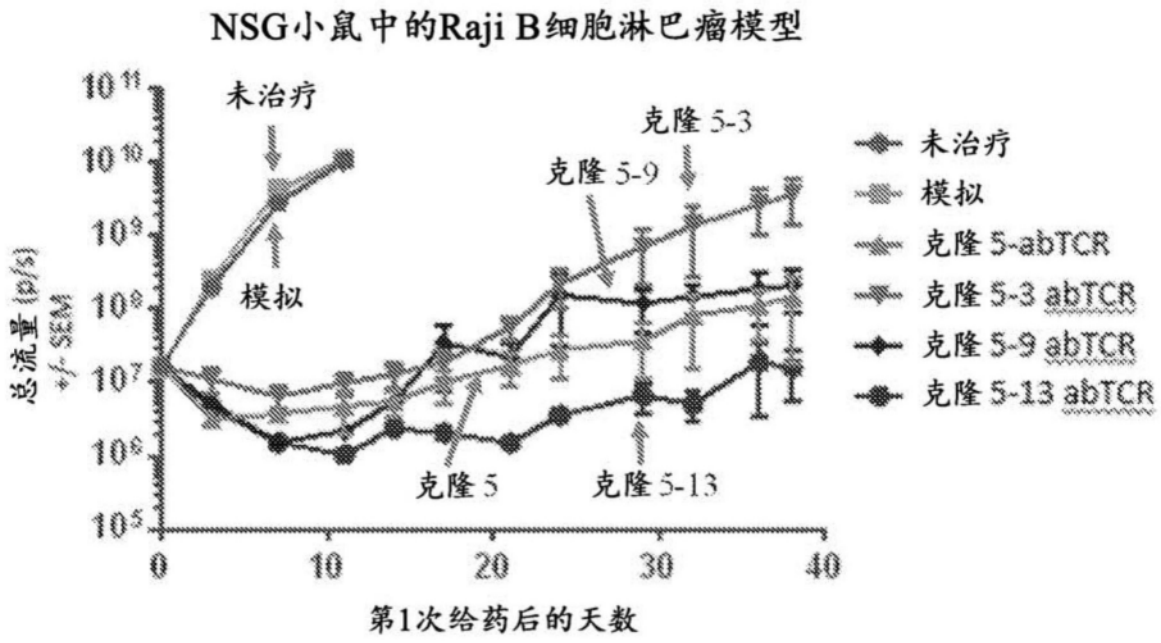

NSG小鼠中的Raji B细胞淋巴瘤模型
总流量 (p/s)
+/- SEM
未治疗
模拟
克隆 5-3
克隆 5-9
克隆 5
克隆 5-13
未治疗
模拟
克隆 5-abTCR
克隆 5-3 abTCR
克隆 5-9 abTCR
克隆 5-13 abTCR
0
10
20
30
40
第1次给药后的天数

图35

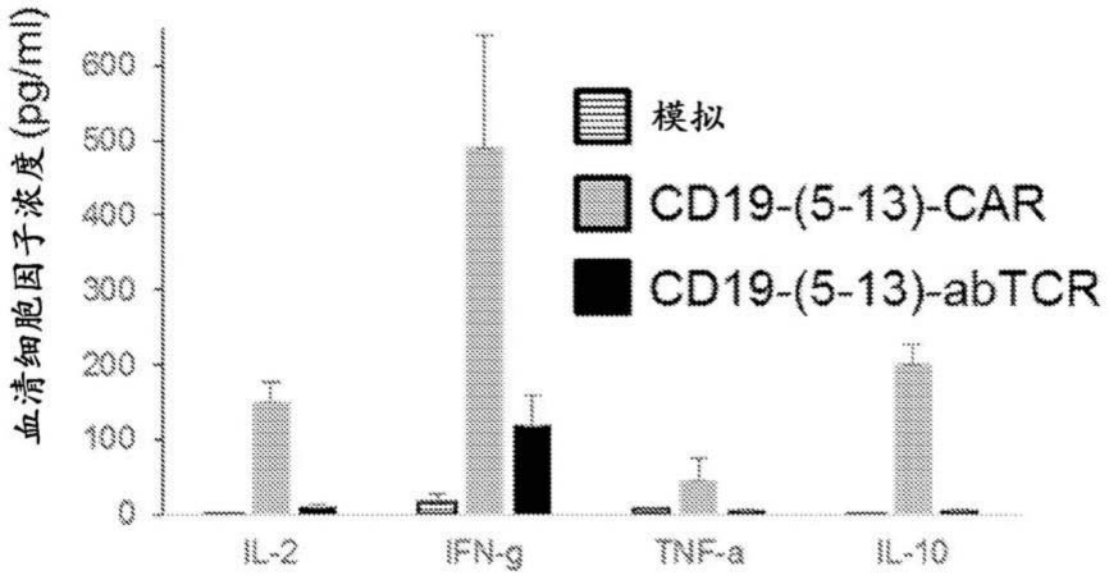

血清细胞因子浓度(pg/ml)
600
500
400
300
200
100
0
模拟
CD19-(5-13)-CAR
CD19-(5-13)-abTCR
IL-2
IFN-g
TNF-a
IL-10

图36

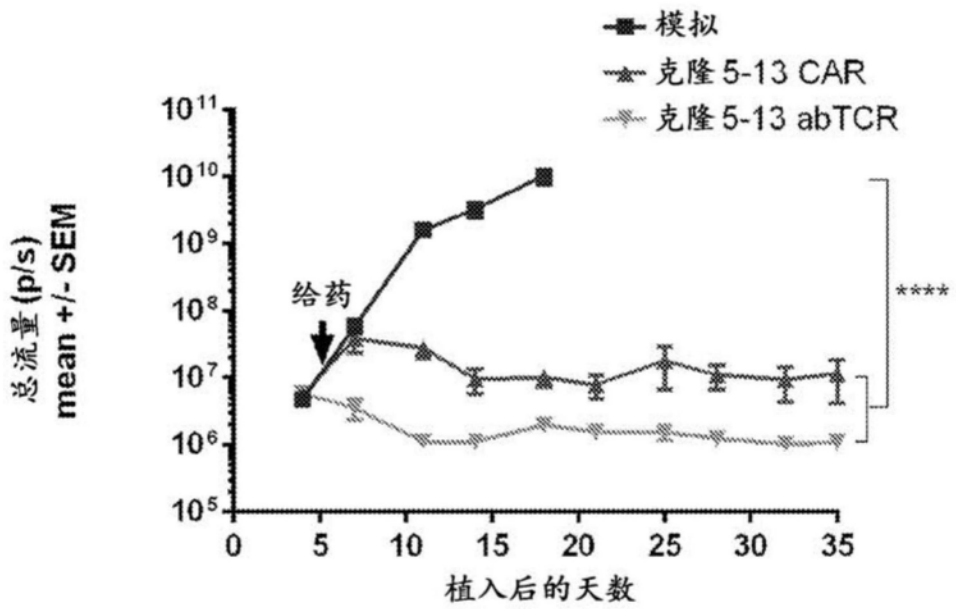

模拟
克隆 5-13 CAR
克隆 5-13 abTCR
总流量(p/s)
mean +/- SEM
给药
****
植入后的天数

图37

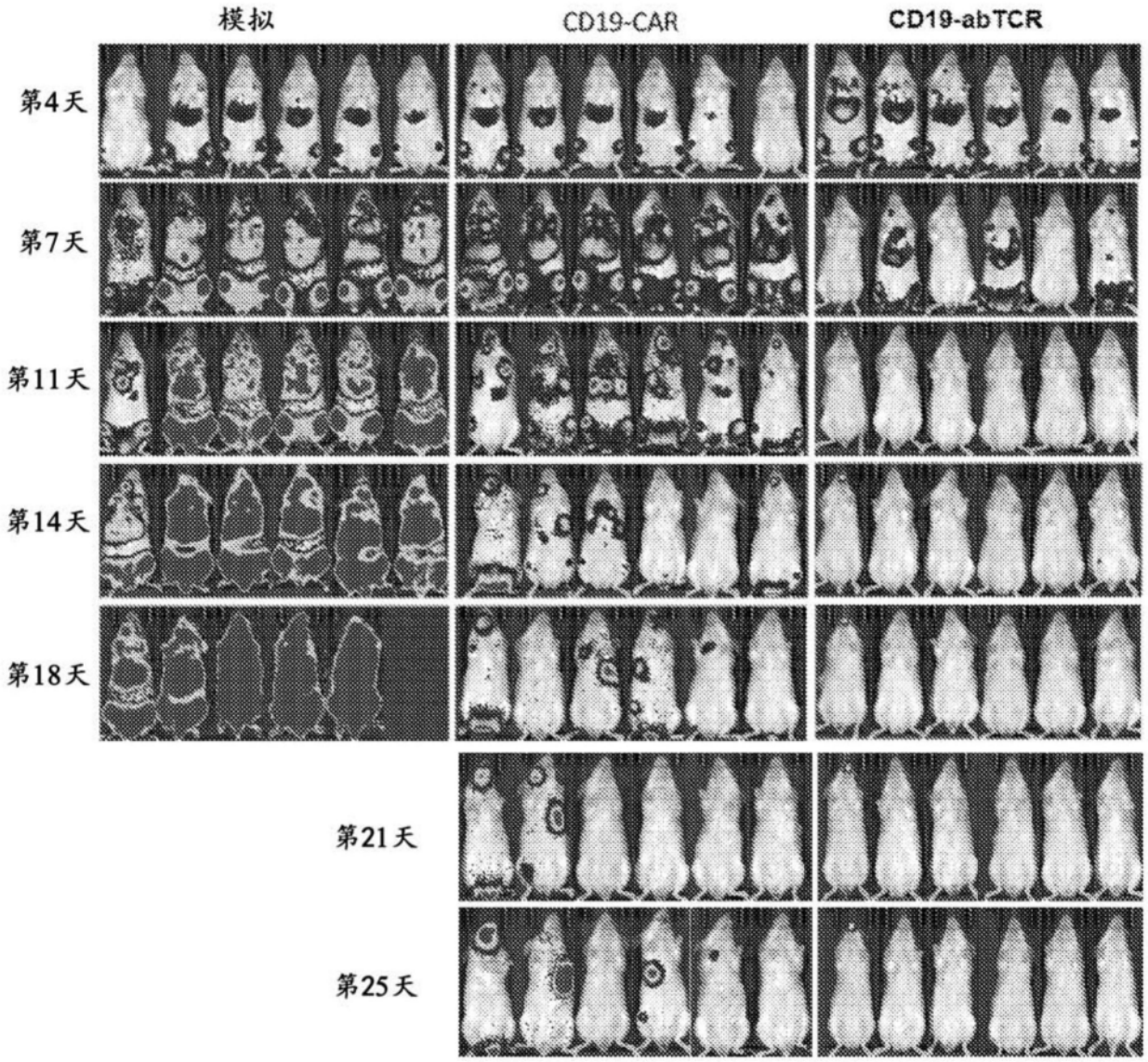


图38

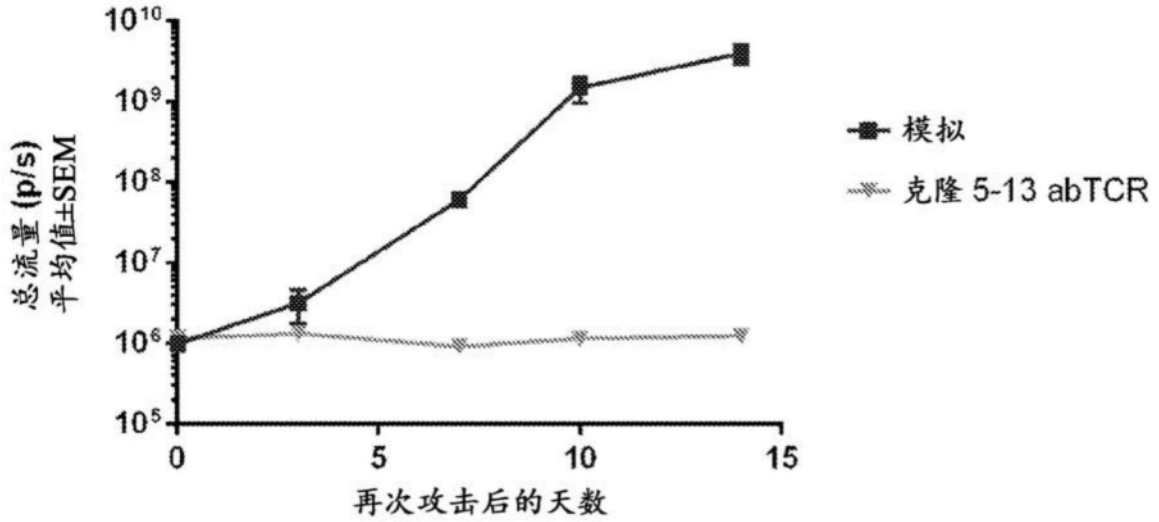

总流量(p/s)
平均值±SEM
再次攻击后的天数
模拟
克隆 5-13 abTCR

图39

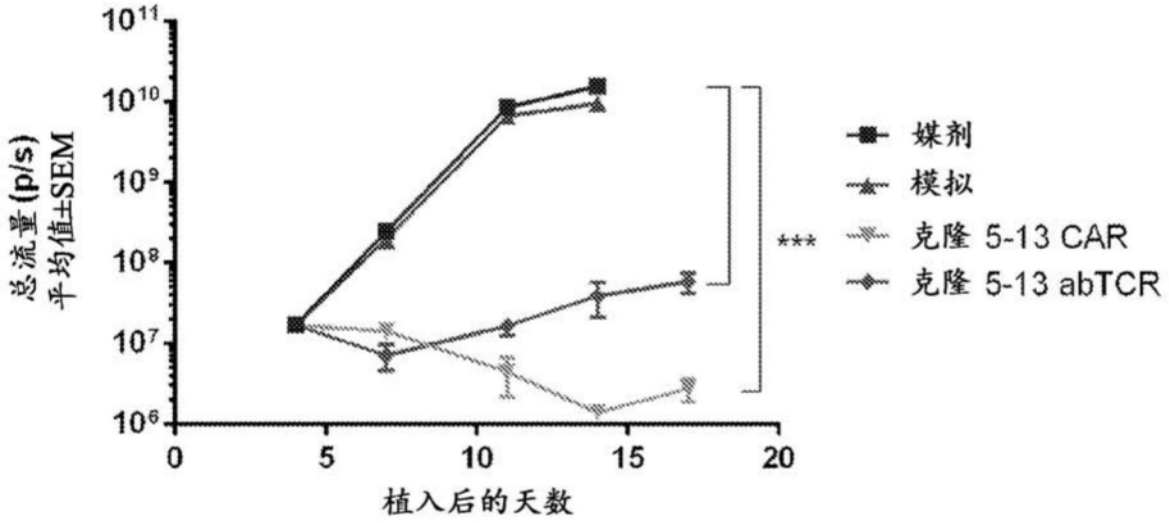

总流量(p/s)
平均值±SEM
植入后的天数
媒剂
模拟
克隆 5-13 CAR
克隆 5-13 abTCR
***

图40

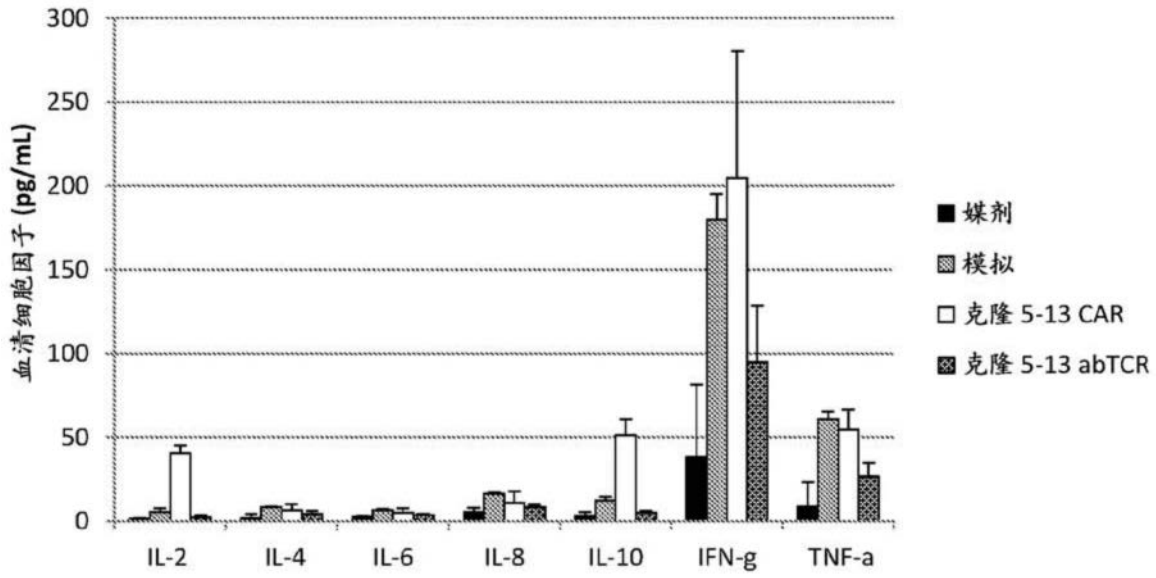

血清细胞因子 (pg/mL)
300
250
200
150
100
50
0
IL-2
IL-4
IL-6
IL-8
IL-10
IFN-g
TNF-a
媒剂
模拟
克隆 5-13 CAR
克隆 5-13 abTCR

图41

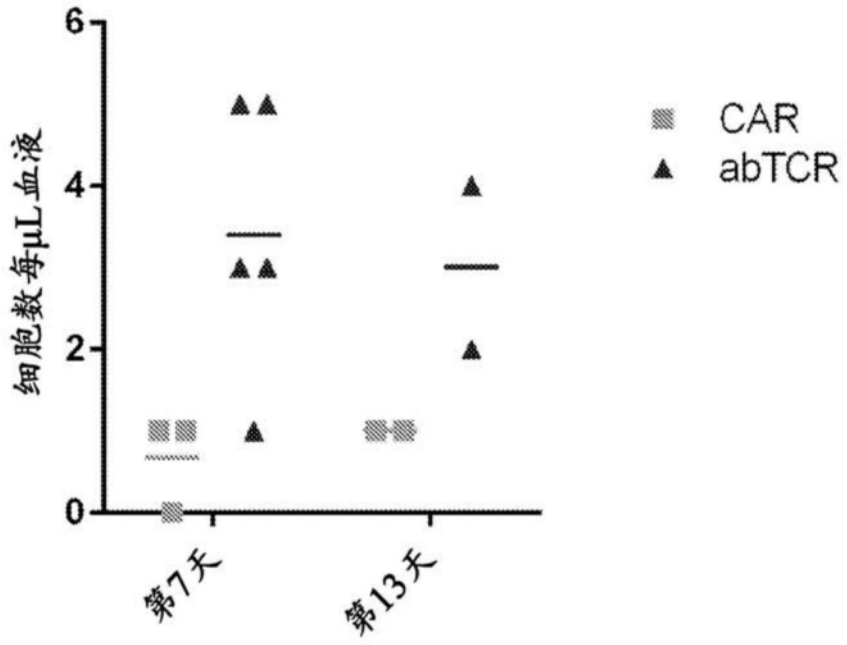

细胞数每μL血液
6
4
2
0
第7天
第13天
CAR
abTCR

图42

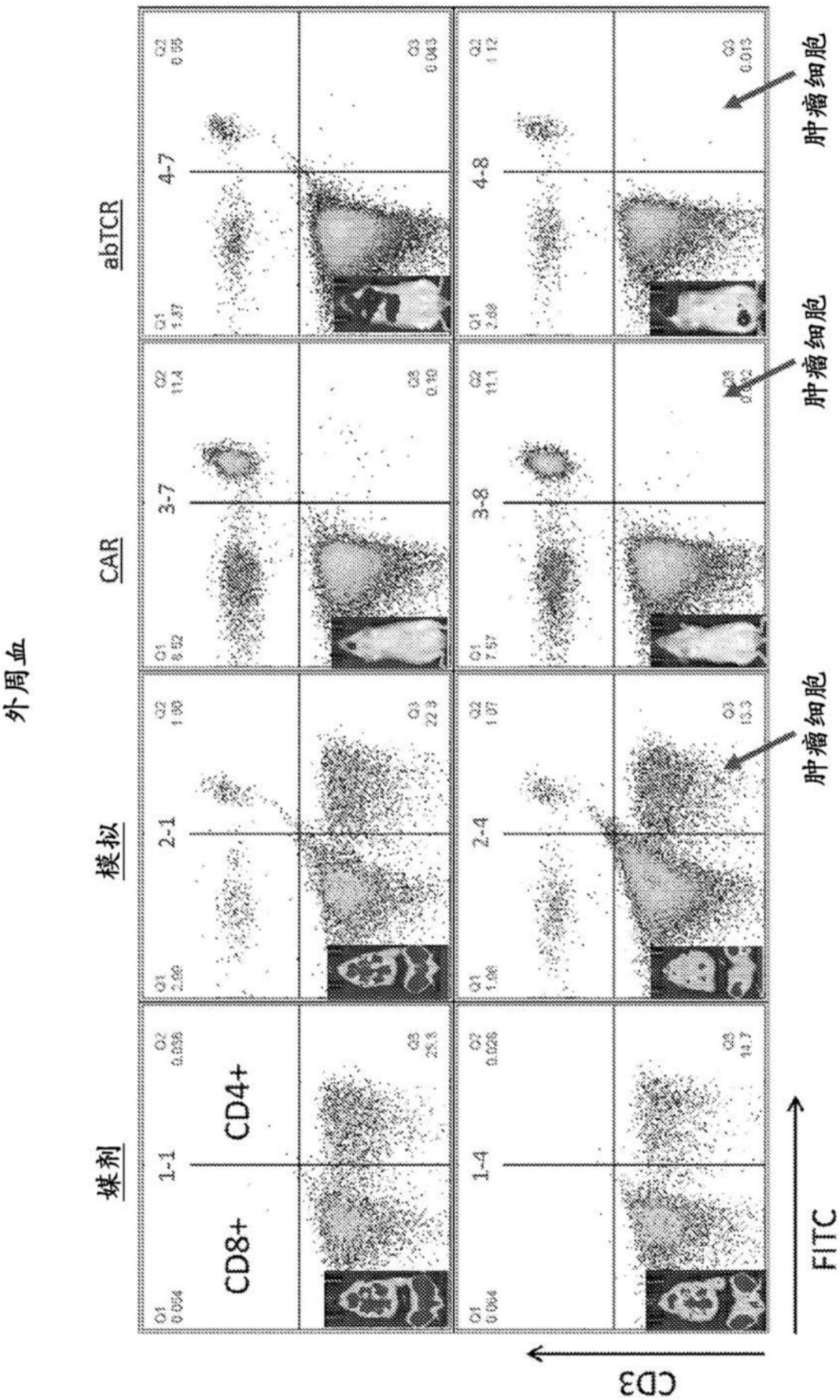

外周血
媒剂
模拟
CAR
abTCR
CD8+
CD4+
1-1
2-1
3-7
4-7
1-4
2-4
3-8
4-8
肿瘤细胞
肿瘤细胞
肿瘤细胞
CD3
FITC

图43

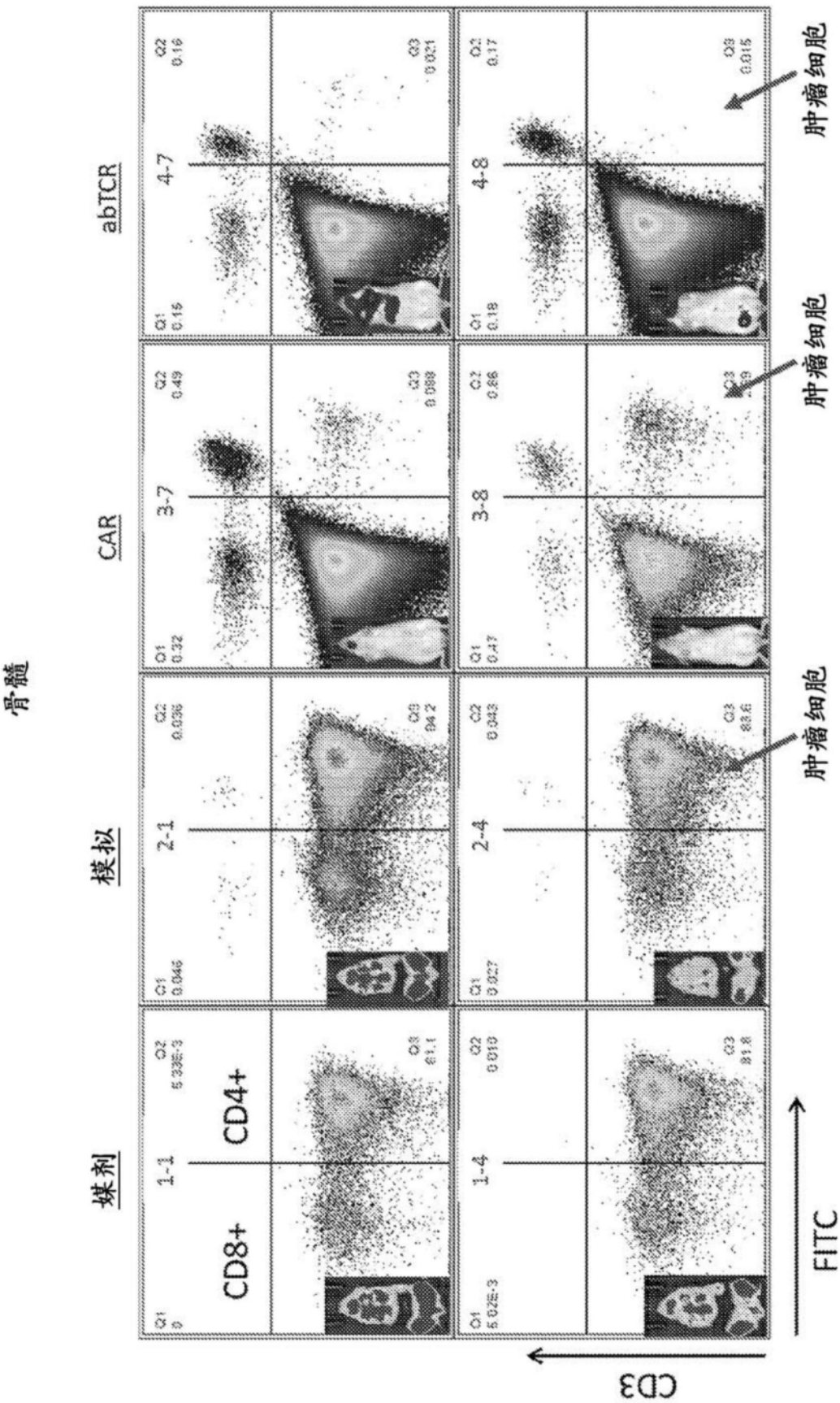

骨髓
媒剂
模拟
CAR
abTCR
CD8+
CD4+
1-1
1-4
2-1
2-4
3-7
3-8
4-7
4-8
肿瘤细胞
肿瘤细胞
肿瘤细胞
CD3
FITC

图44

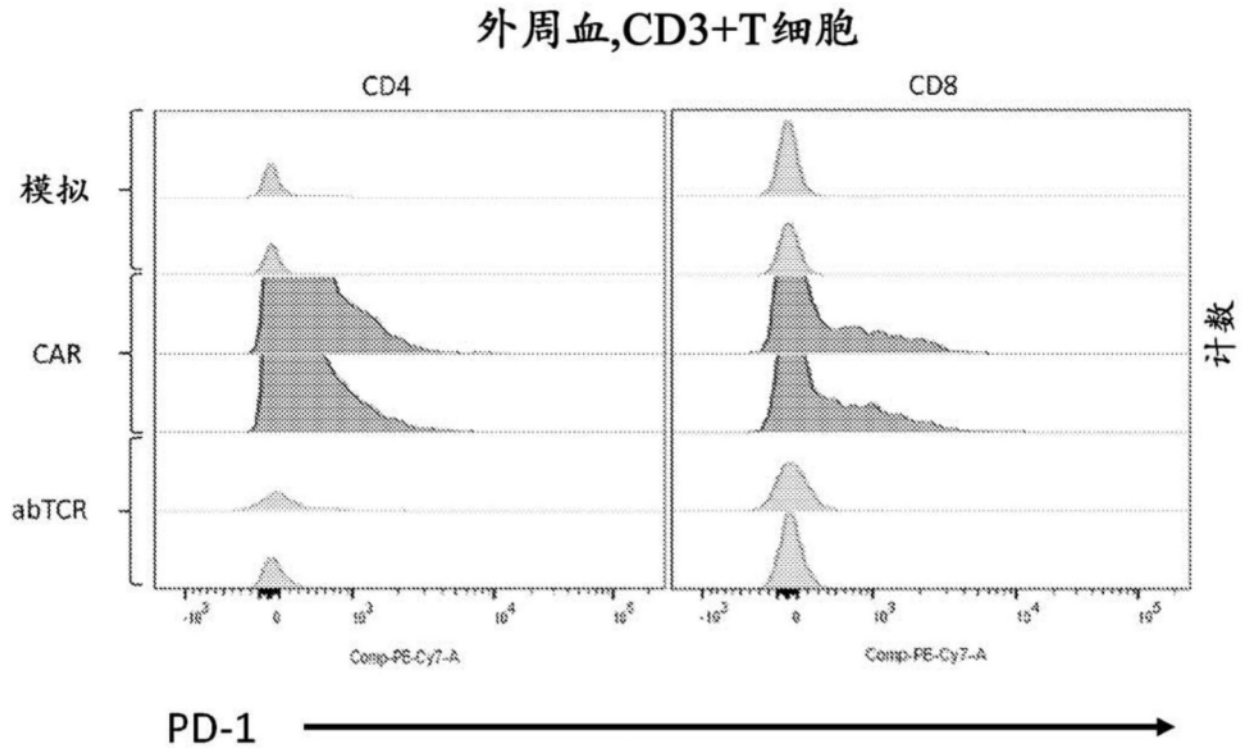

外周血,CD3+T细胞
CD4
CD8
模拟
CAR
abTCR
计数
Comp-PE-Cy7-A
Comp-PE-Cy7-A
PD-1

图45

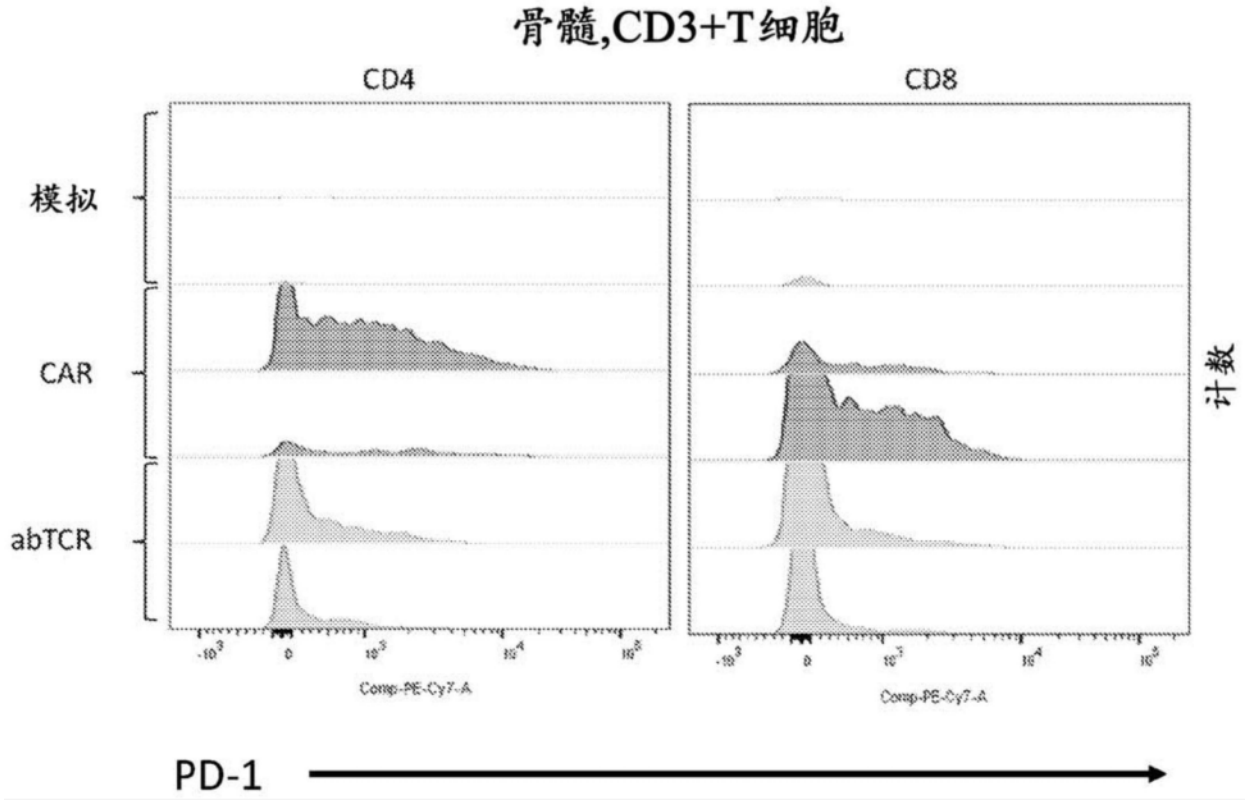

骨髓,CD3+T细胞
CD4
CD8
模拟
CAR
abTCR
计数
Comp-PE-Cy7-A
Comp-PE-Cy7-A
PD-1

图46