202406935

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 202406935 A

(43)公開日： 中華民國 113 (2024) 年 02 月 16 日

(21)申請案號：112124028 (22)申請日： 中華民國 105 (2016) 年 08 月 16 日

(51)Int. Cl.： *C07K16/28 (2006.01)* *C07K16/30 (2006.01)*
A61K39/395 (2006.01) *A61P35/00 (2006.01)*

(30)優先權：2015/08/17 美國 62/206,246

(71)申請人：美商健生生物科技公司 (美國) JANSSEN BIOTECH, INC. (US)
美國

(72)發明人：皮拉瑞斯提 庫丹達拉姆 PILLARISETTI, KODANDARAM (US)；鮑德溫 艾瑞克 BALDWIN, ERIC THOMAS (US)；包爾斯 戈登 POWERS, GORDON D. (US)；卡多索 羅沙 CARDOSO, ROSA MARIA FERNANDES (US)；阿塔爾 里卡多 ATTAR, RICARDO (US)；高德特 弗朗索瓦 GAUDET, FRANCOIS (US)

(74)代理人：陳彥希；何愛文

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：30 項 圖式數：22 共 223 頁

(54)名稱

抗 BCMA 抗體，結合 BCMA 及 CD3 之雙特異性抗原結合分子及其用途

(57)摘要

本文中提供免疫特異性結合至 BCMA 之抗體。亦描述能夠編碼所提供之 BCMA 特異性抗體或抗原結合片段的相關多核苷酸、表現所提供之抗體或抗原結合片段的細胞、以及相關聯之載體和經可偵測標示之抗體或抗原結合片段。此外，描述使用所提供抗體之方法。舉例而言，所提供抗體可用來診斷、治療或監測 BCMA 表現性癌症之進展、消退、或穩定；用來判定病患是否應該進行癌症治療；或者用來判定對象是否患有 BCMA 表現性癌症並因而可用 BCMA 特異性抗癌症治療劑諸如本文中所述之針對 BCMA 及 CD3 的多特異性抗體來進行治療。

Provided herein are antibodies that immunospecifically bind to BCMA. Also described are related polynucleotides capable of encoding the provided BCMA-specific antibodies or antigen-binding fragments, cells expressing the provided antibodies or antigen-binding fragments, as well as associated vectors and detectably labeled antibodies or antigen-binding fragments. In addition, methods of using the provided antibodies are described. For example, the provided antibodies may be used to diagnose, treat, or monitor BCMA-expressing cancer progression, regression, or stability; to determine whether or not a patient should be treated for cancer; or to determine whether or not a subject is afflicted with BCMA-expressing cancer and thus may be amenable to treatment with a BCMA-specific anti-cancer therapeutic, such as the multispecific antibodies against BCMA and CD3 described herein.

指定代表圖：

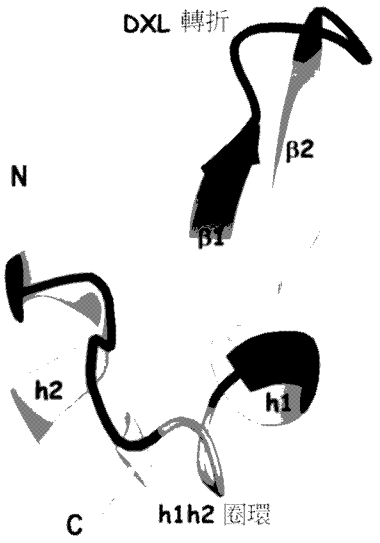

DXL 轉折
β2
N
β1
h2
h1
C
h1h2 圈環

圖2A

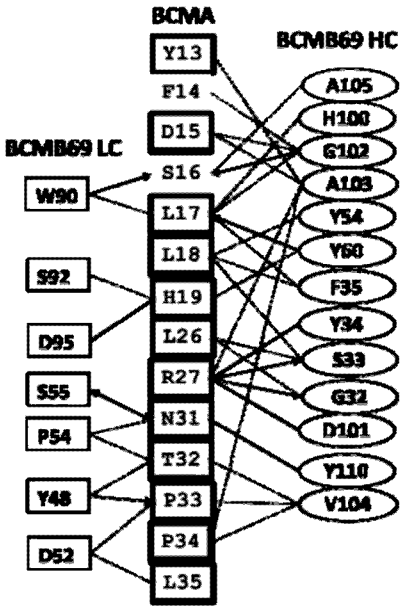

BCMA
BCMB69 HC
Y13
F14
D15
BCMB69 LC
S16
W90
L17
L18
S92
H19
D95
L26
R27
S55
N31
P54
T32
Y48
P33
D52
P34
L35
A105
H100
G102
A103
Y54
Y60
F35
Y34
S33
G32
D101
Y110
V104

圖2B

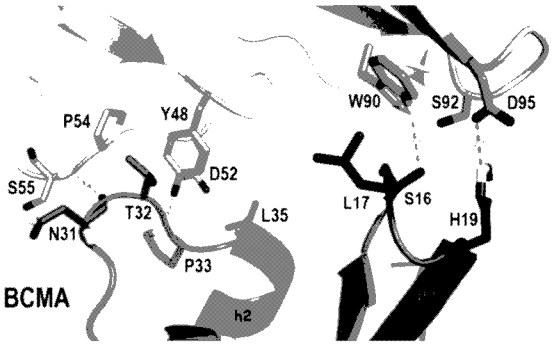

P54
Y48
W90
S92
D95
S55
D52
T32
L35
L17
S16
H19
N31
P33
BCMA
h2

圖2C

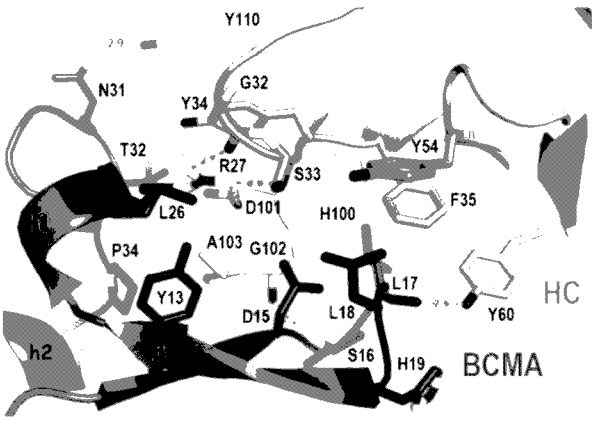

Y110
N31
G32
Y34
T32
R27
S33
Y54
L26
D101
H100
F35
P34
A103
G102
Y13
D15
L18
L17
HC
Y60
h2
S16
H19
BCMA

圖2D

【發明摘要】

【中文發明名稱】抗BCMA抗體，結合BCMA及CD3之雙特異性抗原結合分子及其用途

【英文發明名稱】ANTI-BCMA ANTIBODIES, BISPECIFIC ANTIGEN BINDING MOLECULES THAT BIND BCMA AND CD3, AND USES THEREOF

【中文】

本文中提供免疫特異性結合至BCMA之抗體。亦描述能夠編碼所提供之BCMA特異性抗體或抗原結合片段的相關多核苷酸、表現所提供之抗體或抗原結合片段的細胞、以及相關聯之載體和經可偵測標示之抗體或抗原結合片段。此外，描述使用所提供抗體之方法。舉例而言，所提供抗體可用來診斷、治療或監測BCMA表現性癌症之進展、消退、或穩定；用來判定病患是否應該進行癌症治療;或者用來判定對象是否患有BCMA表現性癌症並因而可用BCMA特異性抗癌症治療劑諸如本文中所述之針對BCMA及CD3的多特異性抗體來進行治療。

【英文】

Provided herein are antibodies that immunospecifically bind to BCMA. Also described are related polynucleotides capable of encoding the provided BCMA-specific antibodies or antigen-binding fragments, cells expressing the provided antibodies or antigen-binding fragments, as well as associated vectors and detectably labeled antibodies or antigen-binding fragments. In addition, methods of using the provided antibodies are described. For example, the provided antibodies may be used to

diagnose, treat, or monitor BCMA-expressing cancer progression, regression, or stability; to determine whether or not a patient should be treated for cancer; or to determine whether or not a subject is afflicted with BCMA-expressing cancer and thus may be amenable to treatment with a BCMA-specific anti-cancer therapeutic, such as the multispecific antibodies against BCMA and CD3 described herein.

【指定代表圖】圖2

【代表圖之符號簡單說明】無

【特徵化學式】無

【發明說明書】

【中文發明名稱】抗BCMA抗體，結合BCMA及CD3之雙特異性抗原結合分子及其用途

【英文發明名稱】ANTI-BCMA ANTIBODIES, BISPECIFIC ANTIGEN BINDING MOLECULES THAT BIND BCMA AND CD3, AND USES THEREOF

【技術領域】

【0001】 本申請案主張2015年8月17日申請之美國專利臨時申請案第62/206,246號之權利，該案全文以引用方式併入本文中。

【0002】 本文中提供的本揭露係關於免疫特異性結合B細胞成熟抗原(BCMA)的單株抗體、免疫特異性結合BCMA與决定簇3 (cluster determinant 3, CD3)的多特異性抗體、及生產和使用所述抗體的方法。

【先前技術】

【0003】 B細胞成熟抗原（亦稱為BCMA、CD269、TNFRSF17 (UniProt Q02223)）係腫瘤壞死受體超家族(tumor necrosis receptor superfamily)的一員，其在分化的漿細胞中優先表現[Laabi et al. (1992) EMBO J 11(11):3897-3904; Madry et al. (1998) Int Immunol 10(11):1693-1702]。BCMA係一種非糖基化I型跨膜蛋白，其參與了B細胞的成熟、生長和存活。BCMA係TNF超家族中下列兩個配體的受體：APRIL（一種增生誘導配體，又名CD256、TNFSF13），其係BCMA的高親和性配體；及B細胞活化因子BAFF（又名THANK、BlyS、B淋巴球刺激因子、TALL-1、及zTNF4），其係BCMA的低親和性配體。APRIL及BAFF顯示結

構相似性及重疊性，但具有不同的受體結合特異性。負調節因子TACI亦結合至BAFF及APRIL兩者。APRIL及BAFF與BCMA及/或TACI的配位結合，活化轉錄因子NF-κB並增加促存活(pro-survival) Bcl-2家族成員（例如Bcl-2、Bcl-xL、Bcl-w、Mcl-1、A1）的表現，及下調促凋亡(pro-apoptotic)因子（例如Bid、Bad、Bik、Bim等等）的表現，從而抑制細胞凋亡並促進存活。這種聯合作用促進B細胞分化、增生、存活、及抗體產生（如在Rickert RC et al., Immunol Rev (2011) 244 (1): 115-133中所回顧）。與該發現一致的是，BCMA亦支持惡性人類B細胞（包括多發性骨髓瘤(MM)細胞）的生長及存活。Novak等人發現MM細胞系及新鮮單離的MM細胞在彼等之細胞表面上表現BCMA及TACI蛋白，且在彼等之細胞表面上具有可變的BAFF-R蛋白表現(Novak et al., (2004) Blood 103(2):689-694)。

【0004】 多發性骨髓瘤(MM)係第二常見的血液惡性疾病(hematological malignancy)，且構成所有癌症死亡的2%。MM係一種異質性疾病且大部分由染色體易位尤其是t(11; 14)、t(4; 14)、t(8;14)、del(13)、del(17)所引起(Drach et al., (1998) Blood 92(3):802-809; Gertz et al., (2005) Blood 106(8):2837-2840; Facon et al., (2001) Blood 97(6): 1566-1571)。受MM影響的患者可能經歷各種起因於骨髓浸潤、骨破壞、腎衰竭、免疫不全、及癌症診斷之心理負擔的疾病相關症狀。截至2006年，MM的5年相對存活率約為34%，這突顯MM係一種難以治療的疾病，而其目前還沒有治癒選項。

【0005】 抗BCMA抗體用來治療淋巴瘤及多發性骨髓瘤的用途係在WO2002066516及WO2010104949中提及。針對BCMA的抗體係在例如Gras M-P.

et al. Int Immunol. 7 (1995) 1093-1106、WO200124811、及WO200124812中描述。然而，儘管事實上BCMA、BAFF-R及TACI（亦即屬於TNF受體超家族之B細胞受體）及彼等之配體BAFF及APRIL係對抗癌症的療法之主題，仍有需要提供可用的更多選項來治療這樣的病況。

【發明內容】

【0006】本文中提供免疫特異性結合至BCMA之抗體及其抗原結合片段。亦描述能夠編碼所提供之BCMA特異性抗體及抗原結合片段的相關多核苷酸、表現所提供之抗體及抗原結合片段的細胞、以及相關聯之載體和經可偵測標示之抗體及抗原結合片段。此外，描述使用所提供抗體及抗原結合片段之方法。舉例而言，該等BCMA特異性抗體及抗原結合片段可用來診斷或監測BCMA表現性癌症(BCMA-expressing cancer)之進展、消退、或穩定；用來判定病患是否應該進行癌症治療；或者用來判定對象是否患有BCMA表現性癌症並因而可用BCMA特異性抗癌症治療劑諸如本文中所述之針對BCMA及CD3的多特異性抗體來進行治療。

【0007】本文中進一步提供免疫特異性結合至BCMA及CD3之多特異性抗體及其多特異性抗原結合片段。亦描述能夠編碼所提供之BCMA × CD3多特異性抗體的相關多核苷酸、表現所提供之抗體的細胞、以及相關聯之載體和經可偵測標示之多特異性抗體。此外，描述使用所提供多特異性抗體之方法。舉例而言，該等BCMA × CD3多特異性抗體可用來診斷或監測BCMA表現性癌症之進展、消退、或穩定；用來判定病患是否應該進行癌症治療；或者用來判定對象

是否患有BCMA表現性癌症並因而可用BCMA特異性抗癌症治療劑諸如本文中所述之BCMA × CD3多特異性抗體來進行治療。

BCMA特異性抗體

【0008】本文中描述對於BCMA具有特異性之重組抗體及抗原結合片段。在一些實施例中，該等BCMA特異性抗體及抗原結合片段結合人類BCMA。在一些實施例中，該等BCMA特異性抗體及抗原結合片段結合人類BCMA及食蟹獼猴(cynomolgus monkey) BCMA。在一些實施例中，該等BCMA特異性抗體及抗原結合片段結合至一表位，該表位包括一或多個來自BCMA胞外域(ECD)的殘基。如由ELISA所測，此種BCMA特異性抗體或抗原結合片段可以至少5.9 nM的IC_{50}阻斷APRIL結合者。

【0009】表1提供本文中所述之一些BCMA特異性抗體實例的總覽：

表1：針對人類BCMA所產生之mAb的CDR序列

（各列示序列之SEQ ID NO係在括號中提供）

ID	HC-CDR1	HC-CDR2	HC-CDR3	LC-CDR1	LC-CDR2	LC-CDR3
BCMB 69	SGSYFWG (4)	SIYYSGITYYNPSLKS (5)	HDGAVAGLFDY (6)	GGNNIGSKSVH (24)	DDSDRPS (25)	QVWDSSSDHVV (26)
BCMB 117	SGSYFWG (4)	SIYYSGITYYNPSLKS (5)	HDGAVAGLFDY (6)	GGNNIGSKSVH (24)	DDSDRPS (25)	QVWDSSSDHVV (26)
BCMB 123	SSSYYWG (7)	SIYYSGITYYNPSLKS (5)	HDGAVAGLFDY (6)	GGNNIGSKSVH (24)	DDSDRPS (25)	QVWDSSSDHVV (26)
BCMB 128	SGSYFWG (4)	SIYYSGITYYNPSLKS (5)	HDGATAGLFDY (19)	GGNNIGSKSVH (24)	DDSDRPS (25)	QVWDSSSDHVV (26)
BCMB 129	SGSYFWG (4)	SIYYSGSTYYNPSLKS (8)	HDGAVAGLFDY (6)	GGNNIGSKSVH (24)	DDSDRPS (25)	QVWDSSSDHVV (26)
BCMB 176	SSSYFWG (13)	SIYYSGITYYNPSLKS (5)	HDGATAGLFDY (19)	GGNNIGSKSVH (24)	DDSDRPS (25)	QVWDSSSDHVV (26)

ID	HC-CDR1	HC-CDR2	HC-CDR3	LC-CDR1	LC-CDR2	LC-CDR3
BCMB 177	SSSYFWG (13)	SIYYSGSTYYNPSLKS (8)	HDGATAGLFDY (19)	GGNNIGSKSVH (24)	DDSDRPS (25)	QVWDSSSDHVV (26)

【0010】在一些實施例中提供包含重鏈之BCMA特異性抗體、或其抗原結合片段，該重鏈包含表1中所述抗體之任一者的CDR1、CDR2、及CDR3。在一些實施例中提供包含重鏈及輕鏈之BCMA特異性抗體、或其抗原結合片段，該重鏈包含表1中所述抗體之任一者的CDR1、CDR2、及CDR3，該輕鏈包含表1中所述抗體之任一者的CDR1、CDR2、及CDR3。

【0011】IgG類別在人類中係分成四種同型(isotype)：IgG1、IgG2、IgG3及IgG4。它們的Fc區之胺基酸序列具有超過95%的同源性，但鉸鏈區的胺基酸組成及結構顯示主要差異。Fc區媒介效應功能，諸如抗體依賴性細胞性細胞毒性(ADCC)及補體依賴性細胞毒性(CDC)。在ADCC中，抗體之Fc區結合至免疫效應細胞（諸如自然殺手細胞或巨噬細胞）表面上之Fc受體(FcgR)，導致吞噬或溶解標靶細胞。在CDC中，抗體藉由在細胞表面引發補體級聯反應(complement cascade)來殺滅標靶細胞。本文中所述之抗體包括具有所述可變域特性與任何IgG同型組合的抗體，包括其中Fc序列已經修飾以致使不同效應功能之經修飾版本。

【0012】 在許多治療性抗體之應用中，Fc媒介之效應功能並非作用機制之一部分。這些Fc媒介之效應功能可能有害並且由於造成偏離機制毒性(off-mechanism toxicity)而可能造成安全風險。修改效應功能可藉由工程改造Fc區以降低其對FcgR或補體因子之結合來達成。IgG對於活化性（FcgRI、FcgRIIa、

FcgRIIIa及FcgRIIIb）和抑制性(FcgRIIb) FcgR或補體之第一成分(C1q)的結合取決於位在鉸鏈區和CH2域中之殘基。已將突變引入IgG1、IgG2及IgG4中以降低或靜默Fc功能性。本文中所述之抗體可包括這些修飾。

【0013】在一個實施例中，抗體包含具有一或多個下列特性之Fc區：(a)在與親系Fc比較時效應功能有所降低；(b)對於Fcg RI、Fcg RIIa、Fcg RIIb、Fcg RIIIb及/或Fcg RIIIa之親和力降低、(c)對於FcgRI之親和力降低、(d)對於FcgRIIa之親和力降低、(e)對於FcgRIIb之親和力降低、(f)對於Fcg RIIIb之親和力降低、或(g)對於FcgRIIIa之親和力降低。

【0014】【0001】在一些實施例中，該等抗體或抗原結合片段係IgG、或其衍生物，例如IgG1、IgG2、IgG3、及IgG4同型。在抗體具有IgG4同型之一些實施例中，該抗體之Fc區中含有K409R、S228P、L234A、及L235A取代。本文中所述之抗體可包括這些修飾。

【0015】 在一些實施例中，如由ELISA所測，所述抗體能夠以5.9 nM之IC50抑制APRIL結合。

【0016】在一些實施例中，所述抗體結合至BCMA陽性多發性骨髓瘤細胞系。

【0017】除了所述之BCMA特異性抗體及抗原結合片段外，亦提供能夠編碼所述抗體及抗原結合片段之多核苷酸序列。亦提供包含所述多核苷酸之載體，如表現本文中所提供之BCMA特異性抗體或抗原結合片段的細胞。亦描述能夠表現所揭示載體之細胞。這些細胞可為哺乳動物細胞（諸如293F細胞、CHO

細胞）、昆蟲細胞（諸如Sf7細胞）、酵母菌細胞、植物細胞、或細菌細胞（諸如E. coli）。所述抗體亦可藉由融合瘤細胞來生產。

使用BCMA特異性抗體之方法

【0018】亦揭示使用所述BCMA特異性抗體或抗原結合片段之方法。此節中討論之方法所使用的特定抗體包括具有如表1所述之抗體的CDR組之抗體。舉例而言，這些抗體或抗原結合片段可用於治療癌症，例如藉由干擾BCMA-受體交互作用，或者其中該抗體係與毒素共軛，從而使該毒素靶向該BCMA表現性癌症。此外，這些抗體或抗原結合片段可用於偵測生物樣本（諸如血液或血清）中之BCMA之存在；用於定量生物樣本（諸如血液或血清）中之BCMA之量；用於診斷BCMA表現性癌症；決定治療患有癌症之對象的方法；或者監測對象中之BCMA表現性癌症的進展。在一些實施例中，BCMA表現性癌症可為淋巴瘤，諸如多發性骨髓瘤(MM)。所述方法可在該對象接受BCMA表現性癌症之治療前進行，諸如用針對BCMA及CD3之多特異性抗體進行治療。此外，所述方法可在該對象接受BCMA表現性癌症之治療後進行，諸如用本文中所述之針對BCMA及CD3之多特異性抗體進行治療。

【0019】所述之偵測生物樣本中之BCMA的方法包括使該生物樣本暴露於本文中所述之BCMA特異性抗體或抗原結合片段之一或多者。

【0020】所述之診斷對象中之BCMA表現性癌症的方法亦涉及使該生物樣本暴露於本文中所述之BCMA特異性抗體或抗原結合片段之一或多者；然而，該等方法亦包括定量該樣本中所存在之BCMA之量；將該樣本中所存在之

BCMA之量與已知標準品或參考樣本比較；以及判定該對象之BCMA水準是否落入與癌症相關聯之BCMA水準。

【0021】 本文中亦描述監測對象中之BCMA表現性癌症的方法。所述方法包括使該生物樣本暴露於本文中所述之BCMA特異性抗體或抗原結合片段之一或多者；定量該樣本中所存在且由該抗體、或其抗原結合片段所結合的BCMA之量；將該樣本中所存在之BCMA之量與已知標準品或參考樣本比較，或者與先前得自該對象之類似樣本中的BCMA之量比較；以及根據所比較樣本中之BCMA之量的差異來判定對象之BCMA水準是否表示癌症進展、消退或穩定疾病。

【0022】 得自或衍生自對象的樣本為生物樣本，諸如尿液、血液、血清、血漿、唾液、腹水、循環細胞、循環腫瘤細胞、非為組織相關聯之細胞(cells that are not tissue associated)、組織、手術切除之腫瘤組織、活體組織切片、細針穿刺樣本、或組織標本(histological preparation)。

【0023】 所述BCMA特異性抗體或抗原結合片段可經標示以用於所述方法或所屬領域中具有通常知識者所習知之其他方法中。舉例而言，本文中所述之抗體、或其抗原結合片段可用放射性標記、螢光標記、表位標籤、生物素、發色基(chromophore)標記、ECL標記、酶、釕、^{111}In-DOTA、^{111}In-二伸乙基三胺五乙酸(DTPA)、山葵過氧化酶(horseradish peroxidase)、鹼性磷酸酶及β-半乳糖苷酶、或多-組胺酸或所屬領域中所習知之類似此等標記來加以標示。

BCMA特異性抗體套組

【0024】本文中所述者為包括所揭示之BCMA特異性抗體或其抗原結合片段之套組。所述套組可用來進行該等使用本文中所提供之BCMA特異性抗體或抗原結合片段之方法，或者所屬領域中具有通常知識者所習知之其他方法。在一些實施例中，所述套組可包括本文中所述之抗體或抗原結合片段及用於偵測生物樣本中之BCMA之存在的試劑。因此，所述套組可包括本文中所述之抗體（或其抗原結合片段）之一或多者及用於容納未使用時之該抗體或片段之容器、該抗體或片段之使用說明、固定至固相撐體(solid support)之抗體或片段、及/或該抗體或片段之可偵測標示形式，如本文中所述。

BCMA × CD3多特異性抗體

【0025】透過TCR/CD3複合體將T淋巴球重新導向至表現BCMA的MM細胞代表一種有吸引力的替代方法。T淋巴球的TCR/CD3複合體係由TCR阿法(α)/貝他(β)或TCR伽馬(γ)/德他(δ)異二聚體、以及共表現於細胞表面之不變CD3次單元（稱為伽馬(γ)、德他(δ)、艾普西龍(ε)、澤塔(ζ)、及艾塔(η)）所組成。人類CD3ε係被描述於UniProt P07766 (CD3E_HUMAN)。在現有技術中所描述的一種抗CD3ε抗體係SP34 (Yang SJ, The Journal of Immunology (1986) 137; 1097-1100)。SP34與靈長動物CD3及人類CD3反應。SP34可購自Pharmingen。在現有技術中所描述的進一步抗CD3抗體係UCHT-1（見WO2000041474）。在現有技術中所描述的進一步抗CD3抗體係BC-3（福瑞德哈金森癌症研究中心(Fred Hutchinson Cancer Research Institute)；用於GvHD的I/II期試驗，Anasetti et al., Transplantation 54: 844 (1992)）。SP34與UCHT-1及BC-3的不同點在於SP-34辨識只存在CD3的ε鏈上的表位（見Salmeron et al., (1991) J. Immunol. 147: 3047），然而UCHT-1及

BC-3則辨識由ε鏈及γ鏈兩者形成之表位。與抗體SP34具有相同序列的抗體之序列係在WO2008119565、WO2008119566、WO2008119567、WO2010037836、WO2010037837、及WO2010037838中提及。與抗體SP34的重鏈可變域(VH)具有96%同一性的序列係在US8236308 (WO2007042261)中提及。

【0026】 各種針對CD3及BCMA的雙特異性抗體係在WO2007117600、WO2009132058、WO2012066058、WO2012143498、WO2013072406、WO2013072415、及WO2014122144中提及。然而，當前並沒有描述進展到臨床的數據。

【0027】 本文中所述者為結合BCMA及CD3之重組多特異性抗體(「BCMA × CD3多特異性抗體(BCMA × CD3 multispecific antibody)」）及其多特異性抗原結合片段。在一些實施例中，提供免疫特異性結合至BCMA的重組抗體、或其抗原結合片段。

【0028】 在一些實施例中，該多特異性抗體之BCMA特異性臂(BCMA-specific arm)結合人類BCMA及食蟹獼猴BCMA。在一些實施例中，該等BCMA × CD3多特異性抗體或抗原結合片段之BCMA特異性臂結合人類BCMA之胞外域。在較佳實施例中，該BCMA × CD3多特異性抗體或抗原結合片段係雙特異性抗體或抗原結合片段。在一些實施例中，提供重組BCMA × CD3雙特異性抗體，其包含：a)一第一重鏈(HC1)；b)一第二重鏈(HC2)；c)一第一輕鏈(LC1)；及d)一第二輕鏈(LC2)，其中該HC1及該LC1成對形成免疫特異性結合BCMA之一第一抗原結合部位，且該HC2及該LC2成對形成免疫特異性結合CD3之一第二抗原結合部位，或其一BCMA × CD3雙特異性結合片段。在另一實施例中，提供表

現該抗體或雙特異性結合片段之重組細胞。在一些實施例中，該BCMA × CD3多特異性抗體之BCMA結合臂（或「BCMA特異性臂(BCMA-specific arm)」）係衍生自本文中所述之BCMA抗體（例如，衍生自具有表1中所列示之CDR序列之抗體）。

【0029】在一些實施例中，該等BCMA × CD3多特異性抗體或抗原結合片段之BCMA特異性臂係IgG、或其衍生物。在一些實施例中，所述BCMA × CD3多特異性抗體能夠以至少0.18 nM之解離常數結合至BCMA，如由表面電漿共振(surface plasmon resonance)所測得者。在一些實施例中，所述BCMA × CD3多特異性抗體不是促效劑。在一些實施例中，所述BCMA × CD3多特異性抗體在低於10 nM的濃度不改變NF-κB之活化。

【0030】在一些實施例中，該BCMA × CD3多特異性抗體之CD3結合臂（或「CD3特異性臂(CD3-specific arm)」）係衍生自小鼠單株抗體SP34，其係小鼠IgG3/λ同型。(K.R.Abhinandan and A. C. Martin, 2008.Mol. Immunol. 45, 3832-3839)。在一些實施例中，該BCMA × CD3多特異性抗體之CD3結合臂包含選自表2的一個重鏈及一個輕鏈。

表2：CD3特異性抗體及抗原結合片段之重鏈及輕鏈。

重鏈	輕鏈
CD3B219 (SEQ ID NO:55): EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGF TFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRS KYNNYATYYAASVKGRFTISRDDSKN SLYLQMNSLKTEDTAVYYCARHGNFG NSYVSWFAYWGQGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHK PSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV	**CD3B219 (SEQ ID NO:56):** QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTG AVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGT NKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGV QPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKL TVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKA TLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVK AGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPE QWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPT ECS

VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQEGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK	
CDR 1: TYAMN (SEQ ID NO: 59)	CDR 1: RSSTGAVTTSNYAN (SEQ ID NO: 62)
CDR 2: RIRSKYNNYATYYAASVKG (SEQ ID NO: 60)	CDR 2: GTNKRAP (SEQ ID NO: 63)
CDR 3: HGNFGNSYVSWFAY (SEQ ID NO: 61)	CDR 3: ALWYSNLWV (SEQ ID NO: 64)

【0031】 IgG類別在人類中係分成四種同型(isotype)：IgG1、IgG2、IgG3及IgG4。它們的Fc區之胺基酸序列具有超過95%的同源性，但鉸鏈區的胺基酸組成及結構顯示主要差異。Fc區媒介效應功能，諸如抗體依賴性細胞性細胞毒性(ADCC)及補體依賴性細胞毒性(CDC)。在ADCC中，抗體之Fc區結合至免疫效應細胞（諸如自然殺手細胞或巨噬細胞）表面上之Fc受體(FcgR)，導致吞噬或溶解標靶細胞。在CDC中，抗體藉由在細胞表面引發補體級聯反應(complement cascade)來殺滅標靶細胞。

【0032】 在許多治療性抗體之應用中，Fc媒介之效應功能並非作用機制之一部分。這些Fc媒介之效應功能可能有害並且由於造成偏離機制毒性(off-mechanism toxicity)而可能造成安全風險。修改效應功能可藉由工程改造Fc區以降低其對FcgR或補體因子之結合來達成。IgG對於活化性（FcgRI、FcgRIIa、FcgRIIIa及FcgRIIIb）和抑制性(FcgRIIb) FcgR或補體之第一成分(C1q)的結合取決於位在鉸鏈區和CH2域中之殘基。已將突變引入IgG1、IgG2及IgG4中以降低或靜默Fc功能性。

【0033】 在一個實施例中，抗體包含具有一或多個下列特性之Fc區：(a)在與親系Fc比較時效應功能有所降低；(b)對於Fcg RI、Fcg RIIa、Fcg RIIb、Fcg

RIIIb及/或Fcg RIIIa之親和力降低、(c)對於FcgRI之親和力降低、(d)對於FcgRIIa之親和力降低、(e)對於FcgRIIb之親和力降低、(f)對於Fcg RIIIb之親和力降低、或(g)對於FcgRIIIa之親和力降低。

【0034】在一些實施例中，該多特異性抗體之CD3特異性臂係自其衍生之該CD3特異性抗體或抗原結合片段係IgG、或其衍生物。在一些實施例中，該多特異性抗體之CD3特異性臂係自其衍生之該CD3特異性抗體或抗原結合片段係IgG1、或其衍生物。在一些實施例中，舉例來說，該CD3結合臂係自其衍生之該CD3特異性IgG1抗體的Fc區包含在該Fc區中之L234A、L235A、及F405L取代。在一些實施例中，該多特異性抗體之CD3特異性臂係自其衍生之該CD3特異性抗體或抗原結合片段係IgG4、或其衍生物。在一些實施例中，舉例來說，該CD3結合臂係自其衍生之該CD3特異性IgG4抗體的Fc區包含在該Fc區中之S228P、L234A、L235A、F405L、及R409K取代。在一些實施例中，該多特異性抗體之CD3特異性臂係自其衍生之該CD3特異性抗體或抗原結合片段結合初級人類T細胞及/或初級食蟹獼猴T細胞上之CD3ε。在一些實施例中，該多特異性抗體之CD3特異性臂係自其衍生之該CD3特異性抗體或抗原結合片段活化初級人類CD4+ T細胞及/或初級食蟹獼猴CD4+ T細胞。

【0035】除了所述BCMA × CD3多特異性抗體外，亦提供能夠編碼所述BCMA × CD3多特異性抗體之多核苷酸序列。在一些實施例中，提供編碼該BCMA × CD3雙特異性抗體或雙特異性結合片段之該HC1、該HC2、該LC1或該LC2的單離合成性多核苷酸。亦提供包含所述多核苷酸之載體，如表現本文中所提供之BCMA × CD3多特異性抗體的細胞。亦描述能夠表現所揭示載體之細胞。

這些細胞可為哺乳動物細胞（諸如293F細胞、CHO細胞）、昆蟲細胞（諸如Sf7細胞）、酵母菌細胞、植物細胞、或細菌細胞（諸如E. coli）。所述抗體亦可藉由融合瘤細胞來生產。在一些實施例中，提供用於藉由培養細胞來產生該BCMA × CD3雙特異性抗體或雙特異性結合片段的方法。

【0036】本文中進一步提供包含該等BCMA × CD3多特異性抗體或抗原結合片段及醫藥上可接受之載劑之醫藥組成物。

使用BCMA × CD3多特異性抗體之方法

【0037】亦揭示使用所述BCMA × CD3多特異性抗體及其多特異性抗原結合片段之方法。舉例而言，該等BCMA × CD3多特異性抗體及其多特異性抗原結合片段可用於治療有需要之對象中的BCMA表現性癌症。在一些實施例中，該BCMA表現性癌症係淋巴瘤，諸如多發性骨髓瘤。

【0038】所述之治療有需要之對象中之BCMA表現性癌症的方法包括向該對象投予治療有效量之所述BCMA × CD3多特異性抗體或其多特異性抗原結合片段。在一些實施例中，該對象為哺乳動物，較佳為人類。在較佳實施例中，提供用於治療具有癌症之對象之方法，其係藉由向有需要之病患投予治療有效量的該BCMA × CD3雙特異性抗體或雙特異性抗原結合片段一段足以治療該癌症的時間。

【0039】本文中進一步提供用於抑制癌細胞生長或增生之方法，其係藉由投予治療有效量的該BCMA × CD3雙特異性抗體或雙特異性結合片段來抑制癌細胞之生長或增生。

【0040】本文中亦提供將T細胞重新導向BCMA表現性癌細胞之方法，其係藉由投予治療有效量的該BCMA × CD3雙特異性抗體或雙特異性結合片段以將T細胞重新導向至癌症。

BCMA × CD3特異性抗體套組

【0041】本文中描述包括所揭示BCMA × CD3多特異性抗體之套組。所述套組可用來進行該等使用本文中所提供之BCMA × CD3多特異性抗體之方法，或者所屬領域中具有通常知識者所習知之其他方法。在一些實施例中，所述套組可包括本文中所述之抗體及用於治療BCMA表現性癌症之試劑。因此，所述套組可包括本文中所述之多特異性抗體（或其多特異性抗原結合片段）之一或多者及用於容納未使用時之該抗體或片段之容器、及/或該抗體或片段之使用說明、固定至固相撐體(solid support)之抗體或片段、及/或該抗體或片段之可偵測標示形式，如本文中所述。

【圖式簡單說明】

【0042】**圖1A及圖1B**。用來選殖人類BCMA（圖1A）及食蟹獼猴BCMA（圖1B）之載體。

【0043】**圖2A至圖2D**。BCMB69表位位置及人類BCMA與BCMB69之間的交互作用。（圖2A）表位位置概觀。BCMB69結合至BCMA的凹面（黑色區域）。（圖2B）交互作用地圖(Interaction map)，顯示BCMA與BCMB69之間的直接接觸。除了CDR-L1以外的所有CDR殘基均接觸BCMA。凡得瓦(Van der Waals)交互作用顯示為虛線，H鍵係帶有箭頭的實線，表示主鏈H鍵並指向主鏈原子。與

BCMB69及APRIL兩者均接觸的BCMA殘基具有黑色邊框。使用4 Å的距離截值(distance cut-off)來識別接觸殘基（H鍵的距離閾值為3.5 Å）。（圖2C及圖2D）BCMA與BCMB69之輕鏈（圖2C）及重鏈（圖2D）的主要交互作用特寫圖。H鍵顯示為虛線，距離單位為埃(Angstroms)。

【0044】**圖3**。BCMB69的表位及互補位(paratope)殘基。表位及互補位殘基以陰影表示，CDR區以下劃線表示（Kabat定義），而不同於人類的BCMA殘基係以粗斜體表示。只顯示BCMB69 Fab及胞外BCMA序列。

【0045】**圖4A及圖4B**。BCMB69 Fab與APRIL之間的衝突(clash)區（圖4A），及BCMB69 Fab與BAFF之間的衝突區（圖4B）。將BCMA/BCMB69複合體結構覆蓋至BCMA/APRIL複合體及BCMA/BAFF複合體上，顯示Fab與配體之間的衝突區。展示BCMA的溶劑可接觸表面(solvent accessible surface)。Fab分子及配體分子分別以灰色和黑色草圖顯示。覆蓋係藉由將兩個複合體中相等的BCMA Cα原子重疊來實現（APRIL複合體的RMSD為0.9 Å，而BAFF複合體的RMSD為1.2 Å）。

【0046】**圖5**。BCMB72的SPR數據證實該分子會結合至人類、食蟹獼猴、及小鼠BCMA。其對食蟹獼猴及小鼠BCMA的平均K_D分別係對人類BCMA的約36倍及402倍。

【0047】**圖6**。BCMB72結合$BCMA^+$細胞系之EC_{50}判定。使用BCMB72將細胞系的BCMA染色。所顯示者為BCMB72結合至細胞的幾何平均螢光強度。EC_{50}係指示於圖例中。在約100 nM的濃度達到飽和。考慮平均螢光強度以導出下列細胞之EC_{50}值：U2932 (EC_{50}= 7.92 nM)、MM1R (EC_{50}= 8.74 nM)、H929 (EC_{50}=

14.7 nM)、EJM (EC_{50}= 17.5 nM)、及LP1 (EC_{50}= 22.3 nM)。在GraphPad Prism 6中使用具有可變斜率（四個參數）函數的非線性回歸來完成數據繪圖及擬合。

【0048】 **圖7。**全血中的BCMB72結合特性。將來自三個正常人類供體的全血以針對BCMA的單株或多株抗體或BCMB72進行染色。進行閘控分析(Gating analysis)以在白血球族群中使用標準細胞特異性標記來識別淋巴球。各圖顯示一個代表性供體的染色強度，其中實心黑線係所關注之抗體且填滿灰色的虛線係對應同型。在三個正常供體中的淋巴球、單核球、顆粒球或漿細胞樣(plasmacytoid) DC上沒有觀察到BMCA表現。在所有三個供體中BCMB72均顯示結合至CD3+ T細胞，強度在不同供體之間不同。BCMB72不與此測定中測試的任何其他細胞類型結合。

【0049】 **圖8A至圖8E。**在各種MM細胞系存在下之BCMB72依賴性T細胞活化。將H929（圖9A）、MM.1R（圖9B）、RPMI 8226（圖9C）、U266（圖9D）、及Mv4-11（圖9E）細胞在來自六個正常供體的T細胞（顯示供體平均值±SEM）及Fc阻斷劑(2 mg/mL)存在下，以所示抗體處理48小時。圖上指示EC_{50}值。統計分析：除了模型會聚的簡單事實，考慮相對於$LogEC_{50}$的95%信賴區間寬度以評估擬合充分性。（使用相對於$LogEC_{50}$的信賴區間是因為其係對稱；相對於EC_{50}本身的信賴區間則否）。區間小於+/- 2（或95%信賴區間總寬度小於4）被認為是充分的。

【0050】 **圖9**。由使用來自多個正常供體的T細胞之兩個獨立實驗所得之EC_{50}及最大T細胞活化值的總覽。顯示每個細胞系及每個實驗之個別供體值及供

體平均值。無數據=未測試；無擬合=軟體無法生成曲線；~值=基於模型外插法的近似值。

【0051】**圖10A至圖10E**。各種多發性骨髓瘤細胞系的T細胞媒介之BCMB72依賴性細胞毒性。將H929（圖11A）、MM.1R（圖11B）、RPMI 8226（圖11C）、U266（圖11D）、及Mv4-11（圖11E）細胞在來自六個正常供體的T細胞（顯示供體平均值±SEM）及Fc阻斷劑(2 mg/mL)存在下，以所示抗體濃度處理48小時。圖上指示EC_{50}值。統計分析：除了模型會聚的簡單事實，考慮相對於$LogEC_{50}$的95%信賴區間寬度以評估擬合充分性。（使用相對於$LogEC_{50}$的信賴區間是因為其係對稱；相對於EC_{50}本身的信賴區間則否）。區間小於+/- 2（或95%信賴區間總寬度小於4）被認為是充分的。

【0052】**圖11**。由使用來自多個正常供體的T細胞之兩個獨立實驗所得之EC_{50}及最大溶解值的總覽。顯示每個細胞系及每個實驗之個別供體值及供體平均值。無數據=未測試；無擬合=軟體無法生成曲線；~值=基於模型外插法的近似值。

【0053】**圖12**。H929細胞中的細胞毒性及T細胞活化。在T細胞媒介之細胞毒性測定中測試BCMAxCD3雙特異性抗體（BCMB72的突變分子）。將BCMA陽性細胞系(H929)在來自正常供體的外源性人類T細胞存在下（供體ID：M5763及M6576），以各種濃度的抗體培養48小時。在培養48小時後，以基於流動式細胞測量術的方法(FACS)測得細胞殺滅並在圖12A中報告為%細胞毒性。圖12B顯示T細胞活化，如由T細胞表面上的CD25上調所評估者。一般而言，數據點沿著所產生的擬合曲線緊密適配，且在T細胞供體及重複研究之間幾乎沒有變化。

【0054】 **圖13**。BCMB72媒介之細胞介素(cytokine)釋放的EC_{50}值的總覽。收集來自細胞毒性實驗（見實例12，圖8）的RPMI 8226細胞上清液，並使用基於MSD的多重測定來分析六種不同的細胞介素水準。使用各種濃度的BCMB72 (BCMA × CD3)及對照抗體（BCMA ×無效(null)及無效× CD3）。

【0055】 **圖14A及圖14B**。使用BCMA陽性H929細胞系進行T細胞媒介之BCMB72依賴性細胞毒性測定。將細胞在來自多個正常供體（顯示三個供體M7197、M5137及M6457的總覽作為代表）的T細胞及Fc阻斷劑(2 mg/mL)存在下，以各種濃度的BCMB72處理48小時。效應/目標(E/T)比係5:1。圖14A表示細胞毒性潛力，且右側的圖14B顯示T細胞活化曲線，其在各種不同批次的BCMB72之間相似。

【0056】 **圖15**。將H929細胞以BCMB72 (BCMA × CD3)及對照抗體（BCMA ×無效及無效× CD3）處理30分鐘，劑量表示在上述圖表的X軸上，並根據ProteinSimple使用者手冊的標準方案將總蛋白質用Simple Western分析方法分析。使用肌動蛋白作為管家基因(housekeeping gene)將數據正規化，並將比值繪製在Y軸上。APRIL及BAFF如預期地誘導P38的磷酸化，而該些抗體在所測試的任何濃度均無刺激效應。

【0057】 **圖16A至圖16F**。表現BCMA的HEK-NFκB細胞（圖16A、圖16C、及圖16E）或親系細胞(parent cell)（圖16B、圖16D、及圖16F）係以TNFα及各種濃度的APRIL或BCMB72刺激。分析三個時間點：16小時（圖16A及圖16B）、24小時（圖16C及圖16D）、及48小時（圖16E及圖16F）。在HEK-Nf-kB親系細胞及HEK-NF-kB-BCMA細胞兩者中，TNFα均誘導NF-kB活化，然而APRIL誘導

只見於BCMA特異性細胞類型。BCMB72對親代細胞系無影響，在BCMA表現細胞中僅在高濃度才顯示出活化。

【0058】**圖17A及圖17B**。T細胞不展現sBCMA媒介之BCMB72依賴性活化。BCMB72（圖17A）及無效× CD3對照抗體（圖17B）係經滴定，且在各種劑量的可溶性BCMA ECD存在下，含有來自兩個正常供體的T細胞（M7077及M5137）。數據：平均值±SEM。

【0059】**圖18A至圖18F**。H929細胞中可溶性因子sBCMA、APRIL、及BAFF對T細胞活化及BCMB72之T細胞媒介之細胞毒性潛力的作用。將細胞使用供體T細胞（M7077 & M6521）及BCMB72進行殺滅測定48小時。目標細胞毒性描繪於左側圖，且T細胞活化顯示在右側圖(n=2)。圖例中指示各處理的EC_{50}值。所顯示者為在sBCMA（圖18A）、APRIL（圖18B）、及BAFF（圖18C）存在下的細胞毒性。所顯示者為在sBCMA（圖18D）、APRIL（圖18E）、及BAFF（圖18F）存在下的T細胞活化。數據：平均值±SEM。

【0060】**圖19A及圖19B**。使用在無競爭性抗體存在下BCMA-Fc與APRIl及BAFF結合的最大信號，將來自兩個獨立實驗的信號正規化。將BCMA與APRIL（圖19A）及BAFF（圖19B）的結合隨著BCMB72及對照抗體（無效× CD3）濃度之變動而繪製。

【0061】**圖20A至圖20E**。BCMB72對人類初級MM漿細胞的細胞毒性潛力。使用來自五個不同患者的冷凍骨髓衍生性單核細胞（MM240BM（圖20A）、MM259BM（圖20B）、MM270BM（圖20C）、MM276BM（圖20D）、及MM277BM（圖20E）），以評估相較於IgG4同型對照（CNTO 9412，左圖）之BCMB72結

合、漿細胞細胞毒性（中圖）、及T細胞活化（右圖）。關於細胞毒性測定，將來自M7077正常健康供體的T細胞外源性添加至患者BMMC樣本，並與BCMB72 (BCMA × CD3)、BC3B4（BCMA ×無效）或CNTO 7008（無效× CD3）一起培養48小時。在所有供體樣本中，BCMB72以劑量依賴性方式結合至漿細胞，平均螢光強度係記錄在Y軸上。請注意回應於BCMB72處理的活漿細胞($CD138^+$)損失、及伴隨之T細胞CD25上調。圖上指示T細胞活化的EC_{50}值。

【0062】 **圖21**。在H929預防模型中的BCMB72活體內(*in vivo*)功效。

【0063】 **圖22**。H929異種移植小鼠中的血清可溶性BCMA水準。使用人類BCMA ELISA套組(R&D Systems)，偵測血清可溶性BCMA濃度。以每小鼠1 μg及0.5 μg的BCMB72處理的小鼠中，可溶性BCMA水準相較於PBS對照組顯著較低，此與這些動物的腫瘤負荷有良好的相關性。較低劑量的BCMB72（每小鼠0.1 μg）對於sBCMA水準或腫瘤大小沒有影響。

【實施方式】

定義

【0064】 各種關於實施方式之態樣的用語係用於說明書與申請專利範圍的各個部分中。這些用語係以其在該項技術領域中之原始意義來使用，除非另有指明。其他經特別定義之用語的解讀係與本說明書中所提供之定義一致。

【0065】 於本說明書及隨附的申請專利範圍中，除非內文另有明確說明，否則單數形式的「一(a/an)」及「該(the)」皆包括複數指稱。因此，例如對於「一細胞(a cell)」之指稱包括兩或更多個細胞之組合與類似者。

【0066】本文中所使用之用語「約(about)」在指稱一可測量的值（例如數量、持續時間及類似者）時，意欲涵蓋在指定值之± 10%內的變異，若此類變異為適合執行所揭示之方法者。除非另有指示，所有用於說明書及申請專利範圍中以表達成分量、特性（諸如分子量、反應條件等）之數目應理解為在所有情況中皆經用語「約(about)」所修飾。因此，除非另有相反指示，以下說明書及隨附申請專利範圍中所提出之數值參數為近似值，其可視本發明所尋求獲得之所欲特性而有所變化。無論如何，且並非意圖限制申請專利範圍的範疇之等效原則的應用，每一個數值參數應至少鑑於所報告的有效位數之數目並藉由應用一般捨入計數來加以詮釋。

【0067】儘管闡明本發明內容之廣域範圍的數值範圍及參數為近似值，仍盡可能精確地報告特定實例中所提出的數值。然而，任何數值固有地包含由在它們的個別測試測量值中發現之標準偏差所必然產生的某些誤差。

【0068】「單離(Isolated)」意指生物組分（諸如核酸、肽或蛋白質）已經與該組分所天然出現於內之生物體中的其他生物組分（即其他染色體及染色體外DNA及RNA、和蛋白質）實質上分開、與該等其他生物組分分開生產、或經純化而遠離該等其他生物組分。已「單離(isolated)」之核酸、肽及蛋白質因而包括藉由標準純化方法所純化之核酸及蛋白質。「單離(isolated)」核酸、肽及蛋白質可為組成物之一部分且仍為單離，只要該組成物並非該核酸、肽及蛋白質之原生環境的一部分。該用語亦包含藉由在宿主細胞中重組表現所製備之核酸、肽及蛋白質以及化學合成之核酸。本文中所使用之「單離(isolated)」抗體或抗原結合片段意指實質上不含其他具有不同抗原特異性之抗體或抗原結合片段的抗

體或抗原結合片段（例如，特異性結合至BCMA之單離抗體係實質上不含特異性結合BCMA以外之抗原的抗體）。然而，特異性結合至BCMA之表位、異構體或變異體的單離抗體可對於其他相關抗原例如來自其他物種之相關抗原（諸如BCMA物種同源物）具有交叉反應性。

【0069】「多核苷酸(polynucleotide)」同義地稱為「核酸分子(nucleic acid molecule)」、「核苷酸(nucleotide)」或「核酸(nucleic acid)」，係指任何多核糖核苷酸或多去氧核糖核苷酸，其可為未經修飾之RNA或DNA或經修飾之RNA或DNA。「多核苷酸(Polynucleotide)」包括但不限於單股及雙股DNA、為單股及雙股區之混合物的DNA、單股及雙股RNA、及為單股及雙股區之混合物的RNA、包含可為單股或（更典型地）雙股或單股及雙股區之混合物的DNA及RNA之混雜分子。此外，「多核苷酸(polynucleotide)」係指包含RNA或DNA或RNA及DNA兩者的三股區。用語多核苷酸亦包括含有一或多個經修飾鹼基之DNA或RNA及具有為了穩定性或其他理由經修飾之主鏈的DNA或RNA。「經修飾(Modified)」鹼基包括例如三苯甲基化(tritylated)鹼基及不常見鹼基如肌苷(inosine)。可對於DNA及RNA進行各種修飾；因此，「多核苷酸(polynucleotide)」包含典型在自然界所發現之經化學、酶、或代謝修飾之多核苷酸形式，以及病毒和細胞所特有之DNA及RNA的化學形式。「多核苷酸(Polynucleotide)」亦包含相對短之核酸鏈，其通常稱為寡核苷酸。

【0070】「實質上相同(substantially the same)」之意義可隨著使用該用語處之上下文而有所不同。由於在重鏈及輕鏈及編碼彼等之基因中可能存在有天然序列變異，可預期在胺基酸序列或編碼本文所述之抗體或抗原結合片段之基

因中發現某種程度的變異，此變異對於彼等之獨特結合特性（例如，特異性及親和力）僅有輕微影響或沒有影響。此預期一部分是由於基因密碼的簡併性(degeneracy of the genetic code)，以及由於保守性胺基酸序列變異（不會明顯改變所編碼之蛋白質的本質）之演化成功所致。因此，在提及核酸序列時，「實質上相同(substantially the same)」意指在兩或更多個序列之間有至少65%同一性(identity)。較佳的是，該用語係指在兩或更多個序列間有至少70%同一性，更佳為至少80%同一性，更佳為至少85%同一性，更佳為至少90%同一性，更佳為至少91%同一性，更佳為至少92%同一性，更佳為至少93%同一性，更佳為至少94%同一性，更佳為至少95%同一性，更佳為至少96%同一性，更佳為至少97%同一性，更佳為至少98%同一性，而更佳為至少99%或更高之同一性。兩個序列間之同一性百分比為該等序列所共有之同一性位置數目的函數（即同源性% =同一性位置# /總位置# × 100），並且將需要被導入以最佳排比這兩個序列之缺口(gap)數目及各缺口長度納入考慮。兩個核苷酸或胺基酸序列間的同一性百分比可使用例如E. Meyers and W. Miller, Comput.Appl. Biosci 4, 11-17 (1988)之演算法來決定，該演算法已納入ALIGN程式（版本2.0）中，其採用PAM120加權殘基表、缺口長度罰分為12及缺口罰分為4。此外，兩個胺基酸序列間的同一性百分比可使用Needleman and Wunsch, J. Mol. Biol. 48, 444-453 (1970)演算法來判定。

【0071】在蛋白質之胺基酸序列內發生不會實質影響蛋白質功能之變異的程度遠低於核酸序列，因為相同的簡併性理論不適用於胺基酸序列。因此，在提及抗體或抗原結合片段時，「實質上相同(substantially the same)」意指抗體或抗原結合片段與所述抗體或抗原結合片段具有90%、91%、92%、93%、94%、

95%、96%、97%、98%、或99%同一性。其他實施例所包括的BCMA特異性抗體、或抗原結合片段具有不與本文中所述之抗體及抗原結合片段共有顯著同一性之架構、支架、或其他非結合區，但的確包含一或多個CDR或其他賦予結合所需且與本文中所述之此等序列具有90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%同一性的序列。

【0072】「載體(vector)」是一種複製子(replicon)，諸如質體、噬菌體、黏質體(cosmid)、或病毒，可將另一個核酸區段可操作地插入其中，從而使該區段複製或表現。

【0073】「殖株(clone)」係自單一細胞或共同源始細胞(ancestor)藉由有絲分裂所衍生之細胞群。「細胞系(cell line)」係能夠在活體外穩定生長許多代之初級細胞殖株。在本文中所提供之一些實例中，細胞係藉由DNA轉染細胞加以轉形。

【0074】用語「表現(express)」及「生產(produce)」在本文中係同義地使用，並且係指基因產物之生物合成。這些用語涵蓋將基因轉錄成RNA。這些用語亦涵蓋將RNA轉譯成一或多種多肽，並且進一步涵蓋所有天然發生之轉錄後及轉譯後修飾。抗體或其抗原結合片段之表現或生產可在細胞之細胞質內，或者進到細胞外環境中，諸如細胞培養之生長介質。

【0075】用語「治療（treating或treatment）」係指任何成功地或有成功跡象地減輕或改善傷害、病理變化或病況，包括任何客觀或主觀參數，諸如症狀之減少、緩解或消退或者使病況對於病患而言更可忍受、減慢退化或衰退速率、使退化終點較不耗弱、改善對象之身體或心理健康、或延長存活時間。治療可

藉由客觀或主觀參數來加以評估；包括身體檢查、神經檢查或精神狀況評估的結果。

【0076】「有效量(effective amount)」或「治療有效量(therapeutically effective amount)」係指達到所欲治療成果所需之有效劑量量及時間量。BCMA×CD3抗體之治療有效量可依不同因素而異，諸如個體之疾病狀態、年齡、性別及體重、及抗體在個體中引發所欲回應之能力。治療有效量亦為抗體或抗體部分之治療有益效果超過其任何毒性或有害效果之量。

【0077】「抗體(Antibody)」係指免疫球蛋白之所有同型（IgG、IgA、IgE、IgM、IgD、及IgY），包括各種單體、聚合及嵌合形式，除非另有指定。用語「抗體(antibody)」所具體涵蓋者為多株抗體、單株抗體(mAb)、及類抗體多肽，諸如嵌合抗體及人化抗體。

【0078】「抗原結合片段(Antigen-binding fragment)」為可對特定抗原展現結合親和力之任何蛋白質結構。抗原結合片段包括藉由任何習知技術所提供者，諸如酶切割、肽合成、及重組技術。一些抗原結合片段係由保有親系抗體分子之抗原結合特異性的完整抗體之部分組成。舉例而言，抗原結合片段可包含已知結合特定抗原之抗體的至少一個可變區（重鏈或輕鏈可變區）或一或多個CDR。合適抗原結合片段之實例包括但不限於雙價抗體(diabody)及單鏈分子以及Fab、F(ab’)2、Fc、Fabc、及Fv分子、單鏈(Sc)抗體、個別抗體輕鏈、個別抗體重鏈、抗體鏈或CDR及其他蛋白質、蛋白質支架間之嵌合融合物、重鏈單體或二聚體、輕鏈單體或二聚體、由一個重鏈及一個輕鏈所組成之二聚體、由VL、VH、CL及CH1域所組成之單價片段、或如WO2007059782中所述之單價抗

體、包含兩個由鉸鏈區之雙硫橋所連接之Fab片段之雙價片段、主要由V.sub.H及C.sub.H1域所組成之Fd片段；主要由抗體單臂之VL及VH域所組成的Fv片段、dAb片段(Ward et al., Nature 341, 544-546 (1989))（其主要由VH域組成且亦稱為域抗體(domain antibody) (Holt et al;Trends Biotechnol.2003 Nov.;21(11):484-90)；駱駝或奈米抗體(Revets et al; Expert Opin Biol Ther.2005 Jan.; 5(1):111-24)；單離互補決定區(CDR)、及類似者。所有抗體同型皆可用來生產抗原結合片段。此外，抗原結合片段可包括非抗體蛋白質架構諸如蛋白質支架，以成功地將多肽區段納入可賦予對所關注之指定抗原的親和力之位向。抗原結合片段可經重組生產，或藉由酶或化學切割完整抗體來生產。用語「抗體或其抗原結合片段(an antibody or antigen-binding fragment thereof)」可用來代表指定抗原結合片段納入該用語中所指涉之抗體的一或多個胺基酸區段。

【0079】用語「表位(epitope)」意指能夠特異性結合至抗體之蛋白質決定位(determinant)。表位通常由分子（諸如胺基酸或糖側鏈）之表面分群所組成，且通常具有特定三維結構特性以及特定電荷特性。構形及非構形表位的差別在於與前者的結合在變性溶劑存在下即失去，但後者並不會。表位可包含直接涉及結合之胺基酸殘基及其他非直接涉及結合之胺基酸殘基，諸如被特異性抗原結合肽有效阻斷或覆蓋之胺基酸殘基（換言之，該胺基酸殘基位在該該特異性抗原結合肽之足跡內）。

【0080】當「特異性結合(Specific binding)」或「免疫特異性結合(immunospecific binding)」或其衍生用語在提及抗體、或抗體片段時使用，代表經由免疫球蛋白基因或免疫球蛋白基因片段所編碼之域結合至所關注蛋白質之

一或多個表位，並且在含有混合分子群體之樣本中不會優先結合其他分子。典型而言，抗體以小於約1×10^{-8} M之K_d結合至同源(cognate)抗原，如由表面電漿共振測定或細胞結合測定所測得者。諸如「[抗原]特異性([antigen]-specific)」抗體之用語（例如BCMA特異性抗體）係意欲表達該引述之抗體特異性結合該引述之抗原。

【0081】本文中所用之用語「K_D」係指特定抗體-抗原交互作用之解離平衡常數。

【0082】用語「對象(subject)」係指人類及非人類動物，包括所有脊椎動物，例如哺乳動物及非哺乳動物，諸如非人類靈長動物、小鼠、兔、綿羊、狗、貓、馬、牛、雞、兩棲動物、及爬蟲動物。在所述方法之許多實施例中，該對象為人類。

【0083】本文中所用之「樣本(sample)」係指單離自對象之類似流體、細胞、或組織（例如，手術切下之腫瘤組織、活體組織切片，包括細針穿刺）、以及存在於對象內之流體、細胞、或組織的總稱。在一些實施例中，樣本係生物流體。生物流體在生理溫度下典型為液體並且可包括存在於、抽取自、表現自或以其他方式擷取自對象或生物來源之天然出現流體。某些生物流體衍生自特定組織、器官或局部區域而某些其他生物流體可能更全域性或全身性位於對象或生物來源中。生物流體之實例包括血液、血清及漿膜液、血漿、淋巴液、尿液、唾液、囊液、淚液、糞便、痰、分泌組織及器官之黏膜分泌物、陰道分泌物、腹水（諸如與非實質腫瘤有關之腹水）、胸膜液、心包膜液、腹膜液、腹腔液及其他體腔液、支氣管灌洗收集液及類似者。生物流體亦可包括與對象

或生物來源接觸之液體溶液，例如細胞及器官培養基（包括細胞或器官條件培養基）、灌洗液及類似者。本文中所用之用語「樣本(sample)」涵括自對象取出之材料或存在於對象中之材料。

【0084】「已知標準品(known standard)」可為具有已知量或濃度之BCMA之溶液，其中該溶液可為天然出現溶液，諸如來自已知具有早期、中期、晚期、進行性或穩定性癌之病患的樣本，或者該溶液可為合成溶液，諸如具有已知量之BCMA稀釋於其中之緩衝水。本文中所述之已知標準品可包括單離自對象之BCMA、重組或純化之BCMA蛋白質、或與病況相關聯之BCMA濃度值。

【0085】本文中所用之用語「BCMA」係關於人類B細胞成熟抗原，亦稱為BCMA、CD269、及TNFRSF17 (UniProt Q02223)，其係腫瘤壞死受體超家族的一員，在分化的漿細胞中優先表現。人類BCMA的胞外域係由根據UniProt之胺基酸1至54（或5至51）所組成。本文中所用之用語「針對BCMA之抗體(antibody against BCMA)、抗BCMA抗體(anti BCMA antibody)」係關於免疫特異性結合至BCMA的抗體。

【0086】用語「CD3」係指人類CD3蛋白質之多重次單元複合體(multi-subunit complex)。CD3蛋白質多重次單元複合體由6個不同之多肽鏈組成。這些多肽鏈包括CD3γ鏈(SwissProt P09693)、CD3δ鏈(SwissProt P04234)、兩個CD3ε鏈(SwissProt P07766)、及一個與T細胞受體α及β鏈相關聯之CD3 ζ鏈同二聚體(homodimer) (SwissProt 20963)。用語「CD3」包括任何CD3變異體、異構體及物種同源物，其係由細胞（包括T細胞）所天然表現，或者可表現在經編碼這些多肽之基因或cDNA轉染的細胞上，除非另有註明。

【0087】「BCMA × CD3抗體(BCMA × CD3 antibody)」為多特異性抗體，可選地為雙特異性抗體，其包含兩個不同之抗原結合區，其中一個特異性結合至抗原BCMA而另一個特異性結合至CD3。多特異性抗體可為雙特異性抗體、雙價抗體、或類似分子（例如請參見*PNAS USA* 90(14), 6444-8 (1993)以獲得雙價抗體之說明）。本文中所提供之雙特異性抗體、雙價抗體、及類似者除了結合BCMA之一部分外，可結合任何合適目標。用語「雙特異性抗體(bispecific antibody)」係理解為具有兩個由不同抗體序列所定義之不同抗原結合區的抗體。此可理解為不同之目標結合但亦包括對於一個目標中之不同表位的結合。

【0088】「參考樣本(reference sample)」係可與另一個樣本（諸如測試樣本）比較之樣本，以允許用於表徵所比較之樣本。參考樣本將具有一些經表徵之性質，該等性質可作為與測試樣本比較之基礎。舉例而言，參考樣本可用來作為BCMA水準的指標，以用於指示對象具有癌症。參考樣本不必然需要與測試樣本一起分析，因此在一些情況中，參考樣本可為已預先判定以表徵給定病況之一數值或數值範圍，諸如指示對象中之癌症的BCMA水準。該用語亦包括用於比較目的之樣本，該樣本已知與生理狀態或疾病狀況（諸如BCMA表現性癌症）相關聯，但具有未知量的BCMA。

【0089】如在提及BCMA表現性癌症之進展時所使用之用語「進展(progression)」，包括癌症從較不嚴重狀態到較嚴重狀態之改變。此可包括腫瘤數目或嚴重性增加、轉移程度增加、癌症生長或擴散之速度增加、及類似者。舉例而言，「結腸癌進展(the progression of colon cancer)」包括該癌症從較不嚴重狀態進展到較嚴重狀態，諸如從第I期進展到第II期、從第II期進展到第III期等。

【0090】如在提及BCMA表現性癌症之消退時所使用之用語「消退(regression)」，包括癌症從較嚴重狀態到較不嚴重狀態之改變。此可包括腫瘤數目或嚴重性減少、轉移程度減少、癌症生長或擴散速度減少、及類似者。舉例而言，「結腸癌消退(the regression of colon cancer)」包括該癌症從較嚴重狀態消退到較不嚴重狀態，諸如從第III期消退到第II期、從第II期消退到第I期等。

【0091】如在提及穩定性BCMA表現性癌症時所用之用語「穩定性(stable)」，係意欲描述疾病狀況在臨床相關之時期內並未（或尚未）明顯變化到足以被認為癌症正在進展或癌症正在消退。

【0092】本文中所述之實施例不限於特定方法、試劑、化合物、組成物或生物系統，其當然可能有所變化。

BCMA特異性抗體及抗原結合片段

【0093】本文中描述特異性結合BCMA之重組單株抗體或抗原結合片段。抗體分子之一般結構包含抗原結合域，其包括重鏈及輕鏈；及Fc域，其具有各式功能，包括補體固定(complement fixation)及結合抗體受體。

【0094】所述BCMA特異性抗體或抗原結合片段包括所有同型（IgA、IgD、IgE、IgG及IgM）、及四鏈免疫球蛋白結構之合成性多聚體。所述抗體或抗原結合片段亦包括通常在母雞或火雞血清及母雞或火雞蛋黃中所發現之IgY同型。

【0095】BCMA特異性抗體及抗原結合片段可藉由重組手段而衍生自任何物種。舉例而言，該等抗體或抗原結合片段可為小鼠、大鼠、山羊、馬、豬、牛、雞、兔、駱駝、驢、人、或其等之嵌合版本。針對投予至人類之用途，非

人類衍生性抗體或抗原結合片段可經基因或結構改造以在投予至人類病患時較不具抗原性。

【0096】在一些實施例中，該等抗體或抗原結合片段係嵌合者。本文中所用之用語「嵌合(chimeric)」係指抗體、或其抗原結合片段具有衍生自非人類哺乳動物、囓齒動物、或爬蟲動物之抗體胺基酸序列的至少一個可變域之至少一些部分，並且該抗體、或其抗原結合片段之剩餘部分係衍生自人類。

【0097】在一些實施例中，該等抗體為人化(humanized)抗體。人化抗體可為含有衍生自非人類免疫球蛋白之最小序列的嵌合免疫球蛋白、免疫球蛋白鏈或其片段（諸如Fv、Fab、Fab’、F(ab’)2或抗體之其他抗原結合子序列）。大體上，人化抗體為人類免疫球蛋白（接受者抗體(recipient antibody)），其中來自該接受者之互補決定區(CDR)的殘基係經來自具有所欲特異性、親和力、及能力之非人類物種（供體抗體）諸如小鼠、大鼠或兔之CDR的殘基置換。一般而言，該人化抗體將包含實質上所有至少一個及典型地兩個可變域，其中所有或實質上所有CDR區對應非人類免疫球蛋白之CDR區，並且所有或實質上所有架構區係人類免疫球蛋白序列之架構區。人化抗體可包括免疫球蛋白恆定區(Fc)之至少一部分，典型為人類免疫球蛋白之恆定區。

【0098】本文中所述之抗體或抗原結合片段可以各種形式出現，但將包括表1中所示之抗體CDR的一或多者。

【0099】本文中描述免疫特異性結合至BCMA之重組抗體及抗原結合片段。在一些實施例中，該等BCMA特異性抗體或抗原結合片段係人類IgG、或其

衍生物。雖然本文中所例示之BCMA特異性抗體或抗原結合片段係人類抗體或抗原結合片段，所例示之抗體或抗原結合片段可經嵌合化。

【0100】在一些實施例中提供包含重鏈之BCMA特異性抗體、或其抗原結合片段，該重鏈包含表1中所述抗體之任一者的CDR1、CDR2、及CDR3。在一些實施例中提供包含重鏈及輕鏈之BCMA特異性抗體、或其抗原結合片段，該重鏈包含表1中所述抗體之任一者的CDR1、CDR2、及CDR3，該輕鏈包含表1中所述抗體之任一者的CDR1、CDR2、及CDR3。

【0101】在一些實施例中，該等BCMA特異性抗體及抗原結合片段包含：含有SEQ ID NO: 4之重鏈CDR1、含有SEQ ID NO: 5之重鏈CDR2、及含有SEQ ID NO: 6之重鏈CDR3。在一些實施例中，該等BCMA特異性抗體及抗原結合片段包含：含有SEQ ID NO: 4之重鏈CDR1、含有SEQ ID NO: 5之重鏈CDR2、含有SEQ ID NO: 6之重鏈CDR3、含有SEQ ID NO: 7之輕鏈CDR1、含有SEQ ID NO: 8之輕鏈CDR2、及含有SEQ ID NO: 9之輕鏈CDR3。此BCMA特異性抗體或抗原結合片段可包含人類架構序列。此種BCMA特異性抗體或抗原結合片段可以至少5.9 nM的IC_{50}阻斷APRIL結合。在一些實施例中，該等BCMA特異性抗體及抗原結合片段包含與SEQ ID NO: 10實質上相同或與其同一(identical)之重鏈可變域。在一些實施例中，該等BCMA特異性抗體及抗原結合片段包含與SEQ ID NO: 10實質上相同或與其同一之重鏈可變域及與SEQ ID NO: 11實質上相同或與其同一之輕鏈可變域。此段中所討論之抗體重鏈可變域及輕鏈可變域係適合納入雙特異性建構體中，該建構體中有一個臂係抗BCMA臂。

【0102】在一些實施例中，該等BCMA特異性抗體及抗原結合片段包含：含有SEQ ID NO: 4之重鏈CDR1、含有SEQ ID NO: 5之重鏈CDR2、及含有SEQ ID NO: 6之重鏈CDR3。在一些實施例中，該等BCMA特異性抗體及抗原結合片段包含：含有SEQ ID NO: 7之重鏈CDR1、含有SEQ ID NO: 5之重鏈CDR2、含有SEQ ID NO: 6之重鏈CDR3、含有SEQ ID NO: 24之輕鏈CDR1、含有SEQ ID NO: 25之輕鏈CDR2、及含有SEQ ID NO: 26之輕鏈CDR3。此BCMA特異性抗體或抗原結合片段可包含人類架構序列。在一些實施例中，該等BCMA特異性抗體及抗原結合片段包含與SEQ ID NO: 57實質上相同或與其同一之重鏈可變域。在一些實施例中，該等BCMA特異性抗體及抗原結合片段包含與SEQ ID NO: 57實質上相同或與其同一之重鏈可變域及與SEQ ID NO: 28實質上相同或與其同一之輕鏈可變域。此段中所討論之抗體重鏈可變域及輕鏈可變域係適合納入雙特異性建構體中，該建構體中有一個臂係抗BCMA臂。

【0103】在一些實施例中，該等BCMA特異性抗體及抗原結合片段包含：含有SEQ ID NO: 7之重鏈CDR1、含有SEQ ID NO: 5之重鏈CDR2、及含有SEQ ID NO: 6之重鏈CDR3。在一些實施例中，該等BCMA特異性抗體及抗原結合片段包含：含有SEQ ID NO: 7之重鏈CDR1、含有SEQ ID NO: 5之重鏈CDR2、含有SEQ ID NO: 6之重鏈CDR3、含有SEQ ID NO: 24之輕鏈CDR1、含有SEQ ID NO: 25之輕鏈CDR2、及含有SEQ ID NO: 26之輕鏈CDR3。此BCMA特異性抗體或抗原結合片段可包含人類架構序列。在一些實施例中，該等BCMA特異性抗體及抗原結合片段包含與SEQ ID NO: 34實質上相同或與其同一之重鏈可變域。在一些實施例中，該等BCMA特異性抗體及抗原結合片段包含與SEQ ID NO: 34實質

上相同或與其同一之重鏈可變域及與SEQ ID NO: 28實質上相同或與其同一之輕鏈可變域。此段中所討論之抗體重鏈可變域及輕鏈可變域係適合納入雙特異性建構體中，該建構體中有一個臂係抗BCMA臂。

【0104】在一些實施例中，該等BCMA特異性抗體及抗原結合片段包含：含有SEQ ID NO: 4之重鏈CDR1、含有SEQ ID NO: 5之重鏈CDR2、及含有SEQ ID NO: 19之重鏈CDR3。在一些實施例中，該等BCMA特異性抗體及抗原結合片段包含：含有SEQ ID NO: 4之重鏈CDR1、含有SEQ ID NO: 5之重鏈CDR2、含有SEQ ID NO: 19之重鏈CDR3、含有SEQ ID NO: 24之輕鏈CDR1、含有SEQ ID NO: 25之輕鏈CDR2、及含有SEQ ID NO: 26之輕鏈CDR3。此BCMA特異性抗體或抗原結合片段可包含人類架構序列。在一些實施例中，該等BCMA特異性抗體及抗原結合片段包含與SEQ ID NO: 39實質上相同或與其同一之重鏈可變域。在一些實施例中，該等BCMA特異性抗體及抗原結合片段包含與SEQ ID NO: 39實質上相同或與其同一之重鏈可變域及與SEQ ID NO: 28實質上相同或與其同一之輕鏈可變域。此段中所討論之抗體重鏈可變域及輕鏈可變域係適合納入雙特異性建構體中，該建構體中有一個臂係抗BCMA臂。

【0105】在一些實施例中，該等BCMA特異性抗體及抗原結合片段包含：含有SEQ ID NO: 4之重鏈CDR1、含有SEQ ID NO: 8之重鏈CDR2、及含有SEQ ID NO: 6之重鏈CDR3。在一些實施例中，該等BCMA特異性抗體及抗原結合片段包含：含有SEQ ID NO: 4之重鏈CDR1、含有SEQ ID NO: 8之重鏈CDR2、含有SEQ ID NO: 6之重鏈CDR3、含有SEQ ID NO: 24之輕鏈CDR1、含有SEQ ID NO: 25之輕鏈CDR2、及含有SEQ ID NO: 26之輕鏈CDR3。此BCMA特異性抗體或抗

原結合片段可包含人類架構序列。在一些實施例中，該等BCMA特異性抗體及抗原結合片段包含與SEQ ID NO: 40實質上相同或與其同一之重鏈可變域。在一些實施例中，該等BCMA特異性抗體及抗原結合片段包含與SEQ ID NO: 40實質上相同或與其同一之重鏈可變域及與SEQ ID NO: 28實質上相同或與其同一之輕鏈可變域。此段中所討論之抗體重鏈可變域及輕鏈可變域係適合納入雙特異性建構體中，該建構體中有一個臂係抗BCMA臂。

【0106】在一些實施例中，該等BCMA特異性抗體及抗原結合片段包含：含有SEQ ID NO: 13之重鏈CDR1、含有SEQ ID NO: 5之重鏈CDR2、及含有SEQ ID NO: 19之重鏈CDR3。在一些實施例中，該等BCMA特異性抗體及抗原結合片段包含：含有SEQ ID NO: 13之重鏈CDR1、含有SEQ ID NO: 5之重鏈CDR2、含有SEQ ID NO: 19之重鏈CDR3、含有SEQ ID NO: 24之輕鏈CDR1、含有SEQ ID NO: 25之輕鏈CDR2、及含有SEQ ID NO: 26之輕鏈CDR3。此BCMA特異性抗體或抗原結合片段可包含人類架構序列。在一些實施例中，該等BCMA特異性抗體及抗原結合片段包含與SEQ ID NO: 58實質上相同或與其同一之重鏈可變域。在一些實施例中，該等BCMA特異性抗體及抗原結合片段包含與SEQ ID NO: 58實質上相同或與其同一之重鏈可變域及與SEQ ID NO: 28實質上相同或與其同一之輕鏈可變域。此段中所討論之抗體重鏈可變域及輕鏈可變域係適合納入雙特異性建構體中，該建構體中有一個臂係抗BCMA臂。

【0107】在一些實施例中，該等BCMA特異性抗體及抗原結合片段包含：含有SEQ ID NO: 13之重鏈CDR1、含有SEQ ID NO: 8之重鏈CDR2、及含有SEQ ID NO: 19之重鏈CDR3。在一些實施例中，該等BCMA特異性抗體及抗原結合片段

包含：含有SEQ ID NO: 13之重鏈CDR1、含有SEQ ID NO: 8之重鏈CDR2、含有SEQ ID NO: 19之重鏈CDR3、含有SEQ ID NO: 24之輕鏈CDR1、含有SEQ ID NO: 25之輕鏈CDR2、及含有SEQ ID NO: 26之輕鏈CDR3。此BCMA特異性抗體或抗原結合片段可包含人類架構序列。在一些實施例中，該等BCMA特異性抗體及抗原結合片段包含與SEQ ID NO: 43實質上相同或與其同一之重鏈可變域。在一些實施例中，該等BCMA特異性抗體及抗原結合片段包含與SEQ ID NO: 43實質上相同或與其同一之重鏈可變域及與SEQ ID NO: 28實質上相同或與其同一之輕鏈可變域。此段中所討論之抗體重鏈可變域及輕鏈可變域係適合納入雙特異性建構體中，該建構體中有一個臂係抗BCMA臂。

【0108】在一些實施例中，該等抗體或抗原結合片段係IgG、或其衍生物，例如IgG1、IgG2、IgG3、及IgG4同型。在抗體係IgG1同型之一些實施例中，該抗體包含IgG1 Fc區(SEQ ID NO. 74)。

SEQ ID NO.74

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT
HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA
VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH
EALHNHYTQKSLSLSPGK

【0109】在抗體係IgG4同型之一些實施例中，該抗體之Fc區中含有S228P、L234A、及L235A取代(SEQ ID NO. 73)。

SEQ ID NO.73

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPP
CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGL
PSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW
ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALH
NHYTQKSLSLSLGK

【0110】以上段落中所討論之由CDR及/或可變域序列所定義的特定抗體可包括這些IgG Fc區。

【0111】亦揭示編碼該等免疫特異性結合至BCMA之抗體或抗原結合片段的單離合成性多核苷酸。該等能夠編碼本文中所提供之可變域區段的單離多核苷酸可被包括於相同（或不同）之載體上以生產抗體或抗原結合片段。

【0112】編碼重組抗原結合蛋白質之多核苷酸亦在本揭露之範疇內。在一些實施例中，所述多核苷酸（及彼等所編碼之肽）包括前導序列(leader sequence)。可採用所屬技術領域中所習知的任何前導序列。前導序列可包括但不限於限制部位(restriction site)或轉譯起始部位(translation start site)。

【0113】本文中所述之BCMA特異性抗體或抗原結合片段包括具有單一或多個胺基酸取代、刪除、或添加之變異體，並且該等變異體保留了所述BCMA特異性抗體或抗原結合片段之生物特性（例如，結合親和力或免疫效應活性）。在本發明之上下文中，下列符號係用來描述突變，除非另有指明；i)取代指定位置中之胺基酸係寫成例如K409R，其代表用精胺酸取代位置409中之離胺酸；並

且ii)在特定變異體中，使用特定三個或一個字母之代碼（包括代碼Xaa及X）來表示任何胺基酸殘基。因此，用精胺酸取代位置409中之離胺酸係表示成：K409R，或者用任何胺基酸殘基取代位置409中之離胺酸係表示成K409X。刪除位置409中之離胺酸的情況係以K409*來表示。具有通常知識者可生產具有單一或多個胺基酸取代、刪除、或添加之變異體。

【0114】這些變異體可包括：(a)其中一或多個胺基酸殘基係經保留性或非保留性胺基酸取代之變異體、(b)其中一或多個胺基酸係經添加至該多肽或自該多肽刪除之變異體、(c)其中一或多個胺基酸包括取代基之變異體、及(d)其中該多肽係與另一肽或多肽（諸如融合夥伴、蛋白質標籤或其他化學部分，其可將有用特性賦予該多肽，諸如例如針對抗體之表位、多組胺酸序列、生物素部分及類似者）融合之變異體。本文中所述之抗體或抗原結合片段可包括其中來自一個物種之保留性或非保留性位置之胺基酸殘基係經另一物種之對應殘基所取代的變異體。在其他實施例中，非保守性位置之胺基酸殘基係經保守性或非保守性殘基取代。獲得這些變異體之技術（包括基因（刪除、突變等）、化學、及酶技術）皆為所屬技術領域中具有通常知識者所習知。

【0115】本文中所述之BCMA特異性抗體或抗原結合片段可體現數種抗體同型，諸如IgM、IgD、IgG、IgA及IgE。在一些實施例中，該抗體同型係IgG1、IgG2、IgG3、或IgG4同型，較佳為IgG1或IgG4同型。抗體或其抗原結合片段之特異性大部分是由CDR之胺基酸序列及排列來決定。因此，一種同型之CDR可轉移到另一種同型而不會改變抗原特異性。或者，已經建立使融合瘤從生產一

種抗體同型轉換到生產另一種（同型轉換）而不會改變抗原特異性之技術。因此，此等抗體同型係在所述抗體或抗原結合片段之範疇內。

【0116】本文中所述之BCMA特異性抗體或抗原結合片段用於APRIL結合具有至少5.9 nM的IC_{50}值。所述之BCMA特異性抗體或抗原結合片段的IC_{50}可藉由所屬技術領域中習知之各種方法來判定，諸如基於ELISA的方法或流動式細胞測量術(FACS)。藉由ELISA來測量IC_{50}的測定具有盤結合(plate-bound)之BCMA與存在及不存在之BCMA特異性抗體，並使用各種不同濃度的APRIL。阻斷APRIL與BCMA結合之BCMA抗體即會「如由ELISA所測，阻斷APRIL」。

【0117】亦提供包含本文中所述之多核苷酸的載體。該等載體可為表現載體(expression vector)。含有編碼所關注之多肽的序列之重組表現載體因而被考慮為在本揭露之範疇內。該表現載體可含有一或多個額外序列，諸如但不限於調節序列（例如，啟動子、增強子）、選擇標記、及多腺核苷酸化信號。用於轉形廣泛各種宿主細胞之載體係廣為周知，並且包括但不限於質體、噬菌體質體(phagemid)、黏質體(cosmid)、桿狀病毒、桿粒(bacmid)、人造細菌染色體(BAC)、人造酵母菌染色體(YAC)、以及其他細菌、酵母及病毒載體。

【0118】本實施方式之範疇內的重組表現載體包括編碼至少一種與合適調節元件可操作地連接之重組蛋白質的合成性、基因體性、或cDNA衍生性核酸片段。此等調節元件可包括轉錄啟動子、編碼合適mRNA核糖體結合部位之序列、及控制轉錄和轉譯之終止的序列。表現載體（尤其是哺乳動物表現載體）亦可包括一或多種非轉錄元件，諸如複製起源、連接至所欲表現基因之合適啟動子及增強子、其他5'或3'側翼(flanking)非轉錄序列、5'或3'非轉譯序列（諸如必

要的核糖體結合部位）、多腺核苷酸化部位、剪接供體及受體部位、或轉錄終止序列。亦可納入賦予在宿主中複製之能力的複製起源。

【0119】在用來轉形脊椎動物細胞之表現載體中的轉錄及轉譯控制序列可由病毒來源提供。例示性載體可如Okayama and Berg, 3 *Mol. Cell. Biol*. 280 (1983)所述建構。

【0120】在一些實施例中，抗體編碼序列或抗原結合片段編碼序列係置於強大組成性啟動子的控制之下，諸如下列基因的啟動子：次黃嘌呤磷酸核糖轉移酶(HPRT)、腺苷去胺酶、丙酮酸激酶、β肌動蛋白、人類肌凝蛋白、人類血紅素、人類肌肉肌酸、及其他。此外，許多病毒啟動子在真核細胞中組成性地發揮作用，並且適合搭配所述實施例使用。此等病毒啟動子包括但不限於巨細胞病毒(CMV)立即早期啟動子、SV40之早期及晚期啟動子、小鼠乳房腫瘤病毒(MMTV)啟動子、莫洛尼白血病病毒(Maloney leukemia virus)之長末端重複(LTR)、人類免疫不全病毒(HIV)、艾巴二氏病毒(EBV)、勞斯肉瘤病毒(RSV)、及其他反轉錄病毒、和單純皰疹病毒(Herpes Simplex Virus)之胸苷激酶啟動子。在一個實施例中，BCMA特異性抗體或其抗原結合片段編碼序列係置於誘導性啟動子的控制之下，諸如金屬硫蛋白啟動子、四環素誘導性啟動子、多西環素(doxycycline)誘導性啟動子、含有一或多種干擾素刺激回應元件(ISRE)之啟動子，諸如蛋白質激酶R 2',5'-寡腺苷酸合成酶、Mx基因、ADAR1、及類似者。

【0121】本文中所述之載體可含有一或多個內部核糖體進入部位(IRES)。將IRES序列納入融合載體中可有利於增強一些蛋白質之表現。在一些實施例中，載體系統將包括一或多個多腺核苷酸化部位（例如SV40），其可在任一前

述核酸序列之上游或下游。載體組分可相鄰地連接，或者以提供用於表現基因產物之最佳間隔的方式來排列（即藉由在ORF之間引入「間隔子(spacer)」核苷酸），或者以其他方式放置。調節元件（諸如IRES模體）亦可經排列以提供用於表現之最佳間隔。

【0122】該等載體可包含選擇標記，其為所屬技術領域中所廣為周知。選擇標記包括正向及負向選擇標記，例如抗生素抗藥性基因（例如新黴素抗藥性基因、溼球菌素(hygromycin)抗藥性基因、康黴素(kanamycin)抗藥性基因、四環素抗藥性基因、青黴素抗藥性基因、嘌呤黴素(puromycin)抗藥性基因、殺稻瘟菌素抗藥性基因）、麩胺酸鹽合成酶基因、HSV-TK、用於更昔洛威(ganciclovir)選擇之HSV-TK衍生物、或用於6-甲基嘌呤選擇之細菌性嘌呤核苷磷酸化酶基因(Gadi et al., 7 *Gene Ther*. 1738-1743 (2000))。編碼選擇標記或選殖部位之核酸序列可在編碼所關注多肽或選殖部位之核酸序列的上游或下游。

【0123】本文中所述之載體可用來以編碼所述抗體或抗原結合片段之基因轉形各種細胞。舉例而言，該等載體可用來產製生產BCMA特異性抗體或抗原結合片段的細胞。因此，另一個態樣的特點在於經載體轉形的宿主細胞，該載體包含編碼特異性結合BCMA之抗體或其抗原結合片段（諸如本文中所描述及例示之抗體或抗原結合片段）的核酸序列。

【0124】許多用於將外來基因引入細胞之技術皆為所屬技術領域所習知，並且可用來建構重組細胞以依據本文中所描述及例示之各式實施例來實施所述之方法。所使用之技術應提供異源基因序列之穩定轉移至宿主細胞，以使該異源基因序列可由細胞後代所繼承及表現，並且使接受者細胞之必要發育及

生理功能不受干擾。可使用之技術包括但不限於染色體轉移（例如，細胞融合、染色體媒介之基因轉移、微細胞媒介之基因轉移）、物理方法（例如，轉染、球形質體(spheroplast)融合、微注射、電穿孔、脂質體載劑）、病毒載體轉移（例如，重組DNA病毒、重組RNA病毒）及類似者（描述於Cline, 29 *Pharmac.Ther*.69-92 (1985)）。磷酸鈣沉澱及聚乙二醇(PEG)誘導之細菌原生質體與哺乳動物細胞融合亦可用來轉形細胞。

【0125】 適用於表現本文中所述之BCMA特異性抗體或抗原結合片段的細胞，較佳為真核細胞，更佳為源自植物、囓齒動物、或人類之細胞，例如但不限於NSO、CHO、CHOK1、perC.6、Tk-ts13、BHK、HEK293細胞、COS-7、T98G、CV-1/EBNA、L細胞、C127、3T3、HeLa、NS1、Sp2/0骨髓瘤細胞、及BHK細胞系、和其他者。此外，抗體之表現可使用融合瘤細胞來達成。用於生產融合瘤之方法在所屬技術領域中已充分建立。

【0126】 經本文中所述之表現載體轉形的細胞可針對本文中所述之抗體或抗原結合片段的重組表現來選擇或篩選。重組陽性細胞係經擴增並針對展現所欲表型之次殖株(subclone)進行篩選，所欲表型諸如高表現水準、增強之生長特性、或產出例如由於蛋白質修飾或經修改之轉譯後修飾而具有所欲生化特徵之蛋白質的能力。這些表型可能是因給定次殖株之固有特性或因突變而來。突變可透過使用化學品、UV波長光、放射線、病毒、插入型致突變原、抑制DNA不匹配修復、或此等方法之組合來實現。

使用BCMA特異性抗體之治療方法

【0127】本文中提供用於治療之BCMA特異性抗體或其抗原結合片段。特定而言，這些抗體或抗原結合片段可用來治療癌症，諸如BCMA表現性癌症。因此，本發明提供一種治療癌症之方法，該方法包含投予如本文中所述之抗體，諸如BCMA特異性抗體或抗原結合片段。舉例而言，該用法可為藉由干擾BCMA-受體交互作用，或者其中該抗體係與毒素共軛，從而使該毒素靶向該BCMA表現性癌症。在一些實施例中，BCMA表現性癌症包括淋巴瘤，諸如多發性骨髓瘤(MM)。用於這些方法中之抗體包括那些上文所述的抗體，例如具有表1所述特徵（例如CDR或可變域序列）及在這些抗體的進一步討論中之特徵之BCMA特異性抗體或抗原結合片段。

【0128】在本文中所述之一些實施例中，BCMA特異性抗體之免疫效應(effector)性質可透過以所屬技術領域中具有通常知識者習知之技術所進行之Fc修飾來強化或靜默。舉例而言，Fc效應功能（諸如C1q結合、補體依賴性細胞毒性(CDC)、抗體依賴性細胞媒介細胞毒性(ADCC)、抗體依賴性細胞媒介吞噬作用(ADCP)、向下調控細胞表面受體（例如B細胞受體；BCR）等）可藉由修飾Fc中負責這些活性之殘基來提供及/或控制。

【0129】「抗體依賴性細胞媒介細胞毒性(Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity)」或「ADCC」係指一種細胞媒介反應，其中表現Fc受體(FcR)之非特異性細胞毒性細胞（例如自然殺手(NK)細胞、嗜中性球、及巨噬細胞）辨識目標細胞上的已結合抗體，然後造成目標細胞溶解。

【0130】單株抗體誘導ADCC之能力可藉由工程改造其寡醣組分來增強。人類IgG1或IgG3係在Asn297處經N-醣基化並且大部分聚醣係呈廣為周知之雙觸

角(biantennary) G0、G0F、G1、G1F、G2或G2F形式。由未經工程改造之CHO細胞所生產之抗體典型具有約至少85%之聚醣海藻糖(glycan fucose)含量。自附接至Fc區之雙觸角複合型寡醣移除核心海藻糖經由改善Fc.gamma.RIIIa結合且不改變抗原結合或CDC活性來增強抗體之ADCC。此等mAb可使用已報導會導致成功表現相對高量去海藻糖基化(defucosylated)抗體（帶有雙觸角複合型之Fc寡醣）的不同方法來達成，諸如控制培養滲透壓(Konno et al., Cytotechnology 64:249-65, 2012)、應用變異體CHO系Lec13作為宿主細胞系(Shields et al., J Biol Chem 277:26733-26740, 2002)、應用變異體CHO系EB66作為宿主細胞系(Olivier et al., MAbs;2(4), 2010；紙本發行前之電子發行版本；PMID:20562582)、應用大鼠融合瘤細胞系YB2/0作為宿主細胞系(Shinkawa et al., J Biol Chem 278:3466-3473, 2003)、引入特異性針對α1,6-海藻糖基轉移酶(FUT8)基因之小型干擾RNA (Mori et al., Biotechnol Bioeng 88:901-908, 2004)、或共表現β-1,4-N-乙醯葡萄糖胺基轉移酶III及高基氏體α-甘露糖苷酶II或強效α-甘露糖苷酶I抑制劑kifunensine (Ferrara et al., J Biol Chem 281:5032-5036, 2006, Ferrara et al., Biotechnol Bioeng 93:851-861, 2006; Xhou et al., Biotechnol Bioeng 99:652-65, 2008)。

【0131】在本文中所述之一些實施例中，由BCMA抗體所誘發之ADCC亦可藉由抗體Fc中之某些取代而增強。例示性取代例如為在胺基酸位置256、290、298、312、356、330、333、334、360、378或430處之取代（殘基編號依據EU索引），如美國專利第6,737,056號中所述。

偵測BCMA之方法

【0132】本文中提供用於偵測生物樣本中之BCMA的方法，其藉由使該樣本接觸本文中所述之抗體、或其抗原結合片段。如本文中所述，該樣本可衍生自尿液、血液、血清、血漿、唾液、腹水、循環細胞、循環腫瘤細胞、非為組織相關聯之細胞（即游離細胞）、組織（例如手術切除之腫瘤組織、活體組織切片包括細針穿刺）、組織標本、及類似者。在一些實施例中，所述方法包括藉由使生物樣本接觸任何本文中所述之BCMA特異性抗體、或其抗原結合片段來偵測該樣本中之BCMA。

【0133】在一些實施例中，該樣本可與超過一種本文中所述之BCMA特異性抗體或抗原結合片段接觸。舉例而言，樣本可與第一BCMA特異性抗體、或其抗原結合片段接觸，接著與第二BCMA特異性抗體、或其抗原結合片段接觸，其中該第一抗體或抗原結合片段與該第二抗體或抗原結合片段並非相同抗體或抗原結合片段。在一些實施例中，在接觸樣本之前，該第一抗體、或其抗原結合片段可固定至表面（諸如多孔盤、晶片、或類似基材）。在其他實施例中，在接觸樣本之前，該第一抗體、或其抗原結合片段可完全未經固定（或貼附）至任何東西。

【0134】所述BCMA特異性抗體及抗原結合片段可經可偵測地標示。在一些實施例中，標示抗體及抗原結合片段有助於經由本文中所述之方法偵測BCMA。許多此等標記係所屬領域中具有通常知識者所熟知者。舉例而言，合適標記包括（但不應將之視為限制於）放射性標記、螢光標記、表位標籤、生物素、發色團(chromophore)標記、ECL標記、或酶。更具體而言，所述標記包括釔、^{111}In-DOTA、^{111}In-二乙烯三胺五乙酸(DTPA)、山葵過氧化酶、鹼性磷酸酶

及β-半乳糖苷酶、多組胺酸（HIS標籤）、吖啶染料、花青(cyanine)染料、螢光酮(fluorone)染料、噁呯(oxazin)染料、啡啶染料、玫瑰紅染料、Alexafluor®染料、及類似者。

【0135】所述BCMA特異性抗體及抗原結合片段可用於各式測定中以偵測生物樣本中之BCMA。一些合適測定包括（但不應將之視為限制於）西方墨點分析、放射免疫測定、表面電漿共振、免疫螢光法、免疫沉澱法、平衡透析、免疫擴散法、電致化學發光(ECL)免疫測定、免疫組織化學法、螢光活化細胞分選(FACS)或ELISA測定。

【0136】在本文所述之一些實施例中，偵測對象中之BCMA表現性癌細胞可用來判定該對象可用針對BCMA之治療劑來治療。

【0137】BCMA係以可偵測水準存在於血液及血清樣本中。因此，本文中提供用於偵測衍生自血液之樣本諸如血清樣本中之BCMA之方法，其係藉由使該樣本與特異性結合BCMA之抗體或其抗原結合片段接觸。該血液樣本或其衍生物可經稀釋、份化、或以其他方式處理以產出可對其執行所述方法的樣本。在一些實施例中，BCMA可藉由所屬技術領域中所習知之許多測定來在血液樣本或其衍生物中偵測，諸如（但不限於）西方墨點分析、放射免疫測定、表面電漿共振、免疫螢光法、免疫沉澱法、平衡透析、免疫擴散法、電致化學發光(ECL)免疫測定、免疫組織化學法、螢光活化細胞分選(FACS)或ELISA測定。

用於診斷癌症之方法

【0138】本文中提供用於診斷對象中之BCMA表現性癌症的方法。在一些實施例中，BCMA表現性癌症包括淋巴瘤，諸如多發性骨髓瘤(MM)。在一些實

施例中，如上所述，偵測生物樣本（諸如血液樣本或血清樣本）中之BCMA提供診斷對象（該樣本自其獲得）中之癌症的能力。或者，在一些實施例中，其他樣本（諸如組織樣本、細針穿刺樣本、切除腫瘤組織、循環細胞、循環腫瘤細胞、及類似者）亦可用來評估該對象（該樣本自其獲得）是否患有癌症。在一些實施例中，可能已經知道該對象（該樣本自其獲得）患有癌症，但該對象所患癌症之類型可能尚未診斷出來或者初步診斷結果可能尚未明朗，因此偵測獲自該對象之生物樣本中之BCMA可讓該癌症之診斷得以作出或明朗化。舉例而言，可能已經知道對象患有癌症，但可能不知道或不清楚該對象之癌症是否為BCMA表現性。

【0139】在一些實施例中，所述方法涉及評估對象是否患有BCMA表現性癌症，其係藉由判定衍生自該對象之生物樣本中所存在之BCMA量；以及比較所觀察到之BCMA量與對照（或參考）樣本中之BCMA量，其中衍生自該對象之樣本中的BCMA量與對照（或參考）樣本中之BCMA量的差異為該對象患有BCMA表現性癌症之指示。在另一個實施例中，得自對象之生物樣本中所觀察到之BCMA量可與已知和某些癌症形式或期別相關聯之BCMA水準比較，以判定該對象之癌症的形式或期別。在一些實施例中，衍生自該對象之樣本中的BCMA量係藉由使該樣本與免疫特異性結合BCMA之抗體、或其抗原結合片段（諸如本文中所述之BCMA特異性抗體）接觸來評估。用於評估BCMA之存在的樣本可衍生自尿液、血液、血清、血漿、唾液、腹水、循環細胞、循環腫瘤細胞、非為組織相關聯之細胞（即游離細胞）、組織（例如手術切除之腫瘤組織、活體組織切片包括細針穿刺）、組織標本、及類似者。在一些實施例中，BCMA表

現性癌症包括血液性癌症，諸如多發性骨髓瘤(MM)。在一些實施例中，該對象為人類。

【0140】在一些實施例中，診斷BCMA表現性癌症之方法將涉及：使對象之生物樣本與BCMA特異性抗體、或其抗原結合片段（諸如可衍生自表1所提供之抗體及片段者）接觸；定量該樣本中所存在且被該抗體或其抗原結合片段結合的BCMA量；比較該樣本中所存在之BCMA量與已知標準品或參考樣本；以及判定該對象之BCMA水準是否落入與癌症相關聯之BCMA水準。在額外實施例中，在該診斷方法之後可接著進行投予或處方癌症特異性治療之額外步驟。在另一實施例中，在該診斷方法之後可接著進行傳送判定結果以利於癌症治療之額外步驟。在一些實施例中，該癌症特異性治療可針對BCMA表現性癌症，諸如本文中所述之BCMA × CD3多特異性抗體。

【0141】在一些實施例中，所述方法涉及評估對象是否患有BCMA表現性癌症，其係藉由判定得自該對象之血液或血清樣本中所存在之BCMA量；以及比較所觀察到之BCMA量與對照（或參考）樣本中之BCMA量，其中衍生自該對象之樣本中的BCMA量與對照（或參考）樣本中之BCMA量的差異為該對象患有BCMA表現性癌症之指示。

【0142】在一些實施例中，該對照（或參考）樣本可衍生自未患有BCMA表現性癌症之對象。在一些實施例中，該對照（或參考）樣本可衍生自患有BCMA表現性癌症之對象。在該對照（或參考）樣本係衍生自未患有BCMA表現性癌症之對象的一些實施例中，觀察到測試樣本中所存在之BCMA量相對於該對照或參考樣本中所觀察到之量增加，係該評估對象患有BCMA表現性癌症之指

示。在該對照樣本係衍生自未患有BCMA表現性癌症之對象的一些實施例中，觀察到測試樣本中所存在之BCMA量相對於該對照或參考樣本中所觀察到之量減少或相似，係該評估對象未患有BCMA表現性癌症之指示。在該對照或參考樣本係衍生自患有BCMA表現性癌症之對象的一些實施例中，觀察到測試樣本中所存在之BCMA量相對於該對照或參考樣本中所觀察到之量類似，係該評估對象患有BCMA表現性癌症之指示。在該對照或參考樣本係衍生自患有BCMA表現性癌症之對象的一些實施例中，觀察到測試樣本中所存在之BCMA量相對於該對照或參考樣本中所觀察到之量減少，係該評估對象未患有BCMA表現性癌症之指示。

【0143】在一些實施例中，衍生自該對象之樣本中的BCMA量係藉由使該樣本與特異性結合BCMA之抗體、或其抗原結合片段（諸如本文中所述之抗體）接觸來評估。用於評估BCMA之存在的樣本可衍生自血液樣本、血清樣本、循環細胞、循環腫瘤細胞、非為組織相關聯之細胞（即游離細胞）、組織（例如手術切除之腫瘤組織、活體組織切片包括細針穿刺）、組織標本、及類似者。

【0144】在各種態樣中，BCMA量係藉由使樣本與特異性結合BCMA之抗體、或其抗原結合片段接觸來判定。在一些實施例中，樣本可由超過一種類型之特異性結合BCMA的抗體、或其抗原結合片段接觸。在一些實施例中，樣本可由特異性結合BCMA之第一抗體、或其抗原結合片段接觸，接著由特異性結合BCMA之第二抗體、或其抗原結合片段接觸。諸如本文中所述之BCMA特異性抗體或抗原結合片段可用於此方法。

【0145】BCMA特異性抗體及抗原結合片段之各式組合可用來提供「第一」及「第二」抗體或抗原結合片段以實施所述之診斷方法。在一些實施例中，BCMA表現性癌症包括淋巴瘤，諸如多發性骨髓瘤(MM)。

【0146】在某些實施例中，BCMA量係藉由下列方法判定：西方墨點分析、放射免疫測定、免疫螢光法、免疫沉澱法、平衡透析、免疫擴散法、電致化學發光(ECL)免疫測定、免疫組織化學法、螢光活化細胞分選(FACS)或ELISA測定。

【0147】在所述診斷方法之各式實施例中，使用對照或參考樣本。此樣本可作為陽性或陰性測定對照組以確保所使用之測定的正確運作；舉例而言，具有此性質之測定對照組可能常用於免疫組織化學測定。或者，該樣本可為來自健康對象之用於生物樣本中之BCMA量的標準參考品。在一些實施例中，所觀察到之受測對象的BCMA水準可與來自已知患有BCMA表現性癌症之對象的樣本中所觀察到之BCMA水準比較。在一些實施例中，該對照對象可能患有所關注之特定癌症。在一些實施例中，已知該對照對象患有早期癌症，該癌症可為或非為BCMA表現性癌症。在一些實施例中，已知該對照對象患有中期癌症，該癌症可為或非為BCMA表現性癌症。在一些實施例中，已知該對照對象患有晚期癌症，該癌症可為或非為BCMA表現性癌症。

用於監測癌症之方法

【0148】本文中提供用於監測對象中之BCMA表現性癌症的方法。在一些實施例中，BCMA表現性癌症包括淋巴瘤，諸如多發性骨髓瘤(MM)。在一些實施例中，所述方法涉及評估BCMA表現性癌症是否正在進展、消退、或維持穩

定，其係藉由判定衍生自該對象之測試樣本中所存在之BCMA量；以及比較所觀察到之BCMA量與在較早時間點以相同方式得自該對象之生物樣本中之BCMA量，其中測試樣本與較早樣本中之BCMA量的差異提供該癌症是否正在進展、消退、或維持穩定之指示。在此方面，測試樣本之BCMA量相對於較早樣本所觀察到之量增加，可能指示BCMA表現性癌症之進展。反之，測試樣本之BCMA量相對於較早樣本所觀察到之量減少，可能指示BCMA表現性癌症之消退。

【0149】因此，測試樣本之BCMA量相對於較早樣本所觀察到之量的差異不顯著，可能指示BCMA表現性癌症的穩定疾病狀態。在一些實施例中，衍生自該對象之生物樣本中的BCMA量係藉由使該樣本與特異性結合BCMA之抗體、或其抗體片段（諸如本文中所述之抗體）接觸來評估。用於評估BCMA之存在的樣本可衍生自尿液、血液、血清、血漿、唾液、腹水、循環細胞、循環腫瘤細胞、非為組織相關聯之細胞（即游離細胞）、組織（例如手術切除之腫瘤組織、活體組織切片包括細針穿刺）、組織標本、及類似者。在一些實施例中，該對象為人類。

【0150】在一些實施例中，監測BCMA表現性癌症之方法將涉及：使對象之生物樣本與BCMA特異性抗體、或其抗原結合片段（諸如可衍生自表1所提供之抗體及片段者）接觸；定量該樣本中所存在的BCMA量；比較該樣本中所存在之BCMA量與在較早時間點以相同方式得自相同對象之生物樣本中所判定的BCMA量；以及判定該對象之BCMA水準是否隨時間改變。測試樣本之BCMA量相對於較早樣本所觀察到之量增加，可能指示癌症之進展。反之，測試樣本

之BCMA量相對於較早樣本所觀察到之量減少，可能指示BCMA表現性癌症之消退。因此，測試樣本之BCMA量相對於較早樣本所觀察到之量的差異不顯著，可能指示BCMA表現性癌症的穩定疾病狀態。在一些實施例中，樣本之BCMA水準可與已知標準品或參考樣本單獨比較，或另外與在較早時間點評估之樣本所觀察到的BCMA水準比較。在額外實施例中，在該診斷方法之後可接著進行投予癌症特異性治療之額外步驟。在一些實施例中，該癌症特異性治療可針對BCMA表現性癌症，諸如本文中所述之BCMA × CD3多特異性抗體。

【0151】在各種態樣中，BCMA量係藉由使樣本與特異性結合BCMA之抗體、或其抗原結合片段接觸來判定。在一些實施例中，樣本可由超過一種類型之特異性結合BCMA的抗體、或其抗原結合片段接觸。在一些實施例中，樣本可由特異性結合BCMA之第一抗體、或其抗原結合片段接觸，接著由特異性結合BCMA之第二抗體、或其抗原結合片段接觸。諸如本文中所述之抗體可用於此方法。

【0152】表1所述之抗體及抗原結合片段之各式組合可用來提供「第一」及「第二」抗體或抗原結合片段以實施所述之監測方法。在一些實施例中，BCMA表現性癌症包括血液性癌症，諸如急性骨髓性白血病(AML)。

【0153】在某些實施例中，BCMA量係藉由下列方法判定：西方墨點分析、放射免疫測定、免疫螢光法、免疫沉澱法、平衡透析、免疫擴散法、電致化學發光(ECL)免疫測定、免疫組織化學法、螢光活化細胞分選(FACS)或ELISA測定。

用於偵測BCMA之套組

【0154】本文中提供用於偵測生物樣本中之BCMA的套組。這些套組包括本文中所述之一或多種BCMA特異性抗體、或其抗原結合片段，以及套組之使用說明。

【0155】所提供之BCMA特異性抗體、或抗原結合片段可為在溶液中；經凍乾；經固定至基材、載劑、或盤；或經可偵測地標示。

【0156】所述套組亦可包括可用於執行本文中所述之方法的額外組分。舉例來說，該等套組可包含用於自對象獲得樣本之手段、對照或參考樣本（例如來自患有緩慢進展癌症之對象及/或未患有癌症之對象的樣本）、一或多個樣本隔間、及/或描述本發明方法之執行及組織特定對照組或標準品的說明資料。

【0157】用於判定BCMA水準之手段可進一步包括例如緩衝液或其他用於判定BCMA水準之測定中的試劑。該等說明可為例如用於執行該測定之印刷說明及/或用於評估BCMA表現水準之說明。

【0158】所述套組亦可包括用於自對象單離樣本之手段。這些手段可包含可用來自對象獲得流體或組織之一或多個設備項目或試劑。用於自對象獲得樣本之手段亦可包含用於自血液樣本單離血液組分（諸如血清）之手段。較佳的是，該套組係針對人類對象使用而設計。

多特異性抗體

【0159】本文中所述之抗BCMA抗體的結合域辨識在表面上表現BCMA之細胞。如上所述，BCMA表現可為癌性細胞之指示。更特異性靶向細胞之特定子集可藉由製造雙特異性分子（諸如結合至BCMA及另一目標（諸如CD3）的抗體或抗體片段）來達成。此係藉由製造包含結合至BCMA之第一區及結合至其

他目標抗原之第二結合區之分子來達成。該等抗原結合區可採取任何能夠特異性辨識目標之形式，例如該結合區可為或可包括重鏈可變域、Fv（重鏈可變域與輕鏈可變域之組合）、基於纖連蛋白素III型域(fibronectin type III domain)的結合域（諸如來自纖連蛋白素、或基於來自纖連蛋白素的III型域的一致序列、或來自固生蛋白(tenascin)、或基於來自固生蛋白的III型域的一致序列，諸如來自Janssen Biotech, Inc.的Centyrin分子，見例如WO2010/051274及WO2010/093627）。因此，提供包含兩個分別結合BCMA及另一抗原之不同抗原結合區的雙特異性分子。

【0160】一些本文中所述之多特異性抗體包含兩個分別結合BCMA及CD3的不同抗原結合區。在較佳實施例中，提供結合BCMA及CD3之多特異性抗體（BCMA × CD3多特異性抗體）及其多特異性抗原結合片段。在一些實施例中，該BCMA × CD3多特異性抗體包含第一重鏈(HC1)及第一輕鏈(LC1)（配對形成免疫特異性結合BCMA之第一抗原結合部位）和第二重鏈(HC2)及第二輕鏈(LC2)（配對形成免疫特異性結合CD3之第二抗原結合部位）。在較佳實施例中，該BCMA × CD3多特異性抗體係包含BCMA特異性臂及CD3特異性臂之雙特異性抗體，該BCMA特異性臂包含第一重鏈(HC1)及第一輕鏈(LC1)（配對形成免疫特異性結合CD3之第一抗原結合部位），該CD3特異性臂包含第二重鏈(HC2)及第二輕鏈(LC2)（配對形成免疫特異性結合BCMA之第二抗原結合部位）。在一些實施例中，本發明之雙特異性抗體包括具有全長抗體結構之抗體。本文中所用之「全長抗體(Full length antibody)」係指具有兩個全長抗體重鏈及兩個全長抗體輕鏈之抗體。全長抗體重鏈(HC)包括重鏈可變域及恆定域VH、CH1、CH2、

及CH3。全長抗體輕鏈(LC)包括輕鏈可變域及恆定域VL及CL。全長抗體可在任一或兩個重鏈中缺乏C端離胺酸(K)。用語「Fab臂(Fab-arm)」或「半分子(half molecule)」係指特異性結合抗原之一個重鏈-輕鏈對。在一些實施例中，該等抗原結合域中之一者係非基於抗體的結合域，例如基於纖連蛋白素III型域(fibronectin type 3 domain)的結合域，例如Centyrin。

【0161】本文中所提供之多特異性抗體的BCMA結合臂可衍生自上述BCMA特異性抗體之任一者。在此等BCMA結合臂之一些例示性實施例中，結合BCMA之第一抗原結合區包含衍生自如表1所述之抗體殖株的重鏈CDR1、CDR2、及CDR3。在此等BCMA結合臂之一些例示性實施例中，結合BCMA之第一抗原結合區包含衍生自如表1所述之抗體殖株的重鏈CDR1、CDR2、及CDR3和輕鏈CDR1、CDR2、及CDR3。在此等BCMA結合臂之一些例示性實施例中，結合BCMA之第一抗原結合區包含殖株BCMB69、BCMB117、BCMB123、BCMB128、BCMB129、BCMB176、或BCMB177的重鏈CDR1、CDR2、及CDR3。在此等BCMA結合臂之一些例示性實施例中，結合BCMA之第一抗原結合區包含殖株BCMB69、BCMB117、BCMB123、BCMB128、BCMB129、BCMB176、或BCMB177的重鏈CDR1、CDR2、及CDR3和輕鏈CDR1、CDR2、及CDR3。在此等BCMA結合臂之一些例示性實施例中，結合BCMA之第一抗原結合區包含衍生自如表1所述之抗體殖株的重鏈可變域。在此等BCMA結合臂之一些例示性實施例中，結合BCMA之第一抗原結合區包含衍生自如表1所述之抗體殖株的重鏈可變域及輕鏈可變域。在此等BCMA結合臂之一些例示性實施例中，結合BCMA之第一抗原結合區包含殖株BCMB69、BCMB117、BCMB123、BCMB128、

BCMB129、BCMB176、或BCMB177的重鏈可變域。在此等BCMA結合臂之一些例示性實施例中，結合BCMA之第一抗原結合區包含殖株BCMB69、BCMB117、BCMB123、BCMB128、BCMB129、BCMB176、或BCMB177的重鏈可變域及輕鏈可變域。

【0162】表3提供BCMA×CD3雙特異性抗體之列表，該些抗體具有一個對BCMA有特異性的重鏈和輕鏈對及另一個對CD3有特異性的重鏈和輕鏈對，在該表中列出特定抗體ID以描述用來產生所述實施例的抗原特異性抗體臂。

表3：

BCMA 特異性臂= Ab ID	**CD3 特異性臂= Ab ID**
BCMB69	CD3B219
BCMB117	CD3B219
BCMB123	CD3B219
BCMB128	CD3B219
BCMB129	CD3B219
BCMB176	CD3B219
BCMB177	CD3B219

【0163】在該等雙特異性抗體之一些實施例中，該BCMA結合臂亦結合食蟹獼猴BCMA，較佳地結合其胞外域。

【0164】在一些實施例中，該多特異性抗體之BCMA結合臂係IgG、或其衍生物，例如IgG1、IgG2、IgG3、及IgG4同型。在BCMA結合臂具有IgG4同型之一些實施例中，該BCMA結合臂之Fc區中含有S228P、L234A、及L235A取代。

【0165】在該等雙特異性抗體之一些實施例中，該第二抗原結合臂結合人類CD3。在一些較佳實施例中，該BCMA×CD3雙特異性抗體之CD3特異性臂係衍生自結合及活化人類初級T細胞及/或食蟹獼猴初級T細胞之CD3特異性抗體。

在一些實施例中，該CD3結合臂結合在CD3ε之N端的表位。在一些實施例中，該CD3結合臂接觸包括CD3ε之六個N端胺基酸的表位。在一些實施例中，該雙特異性抗體之CD3特異性結合臂係衍生自小鼠單株抗體SP34，其係小鼠IgG3/λ同型。在一些實施例中，該CD3結合臂包含抗體SP34之CDR。此等CD3結合臂可以5×10^{-7}M或更低（諸如1×10^{-7}M或更低、5×10^{-8}M或更低、1×10^{-8}M或更低、5×10^{-9}M或更低、或者1×10^{-9}M或更低）之親和力結合至CD3。該CD3特異性結合臂可為小鼠單株抗體SP34之臂的人化版本。人類架構適應(HFA)可用來人化CD3特異性臂係自其衍生之抗CD3抗體。在該等雙特異性抗體之一些實施例中，該CD3結合臂包含選自表2之重鏈及輕鏈對。在該等雙特異性抗體之其他實施例中，該CD3結合臂包含表2中所列之重鏈CDR1、CDR2、及CDR3及輕鏈CDR1、CDR2、及CDR3序列。例如，本文中所述之雙特異性抗體之CD3結合臂之一些實施例中的重鏈及輕鏈CDR序列可包括下列胺基酸序列：Hc CDR1，SEQ ID NO: 59；Hc CDR2，SEQ ID NO: 60；Hc CDR3，SEQ ID NO: 61；Lc CDR1，SEQ ID NO: 62；Lc CDR2，SEQ ID NO: 63；及Lc CDR3，SEQ ID NO: 64。

【0166】在一些實施例中，該CD3結合臂係IgG，或其衍生物。在一些實施例中，該CD3結合臂係IgG1、IgG2、IgG3、或IgG4。在CD3結合臂具有IgG4同型之一些實施例中，該CD3結合臂之Fc區中含有S228P、L234A、L235A、F405L、及R409K取代。在一些實施例中，該等抗體或抗原結合片段結合初級人類T細胞上之CD3ε。在一些實施例中，該等抗體或抗原結合片段結合初級食蟹獼猴T細胞上之CD3ε。在一些實施例中，該等抗體或抗原結合片段結合初級人類及食蟹獼猴T細胞上之CD3ε。在一些實施例中，該等抗體或抗原結合片段活化初級

人類CD4+ T細胞。在一些實施例中，該等抗體或抗原結合片段活化初級食蟹獼猴CD4+ T細胞。

【0167】在一些實施例中提供具有BCMA結合臂之BCMA × CD3雙特異性抗體，該BCMA結合臂包含抗體殖株BCMB69、BCMB117、BCMB123、BCMB128、BCMB129、BCMB176、或BCMB177之重鏈。在一些實施例中提供具有BCMA結合臂之BCMA × CD3雙特異性抗體，該BCMA結合臂包含抗體殖株BCMB69、BCMB117、BCMB123、BCMB128、BCMB129、BCMB176、或BCMB177之重鏈及輕鏈。在一些實施例中提供具有CD3結合臂之BCMA × CD3雙特異性抗體，該CD3結合臂包含抗體殖株CD3B219之重鏈。在一些實施例中提供具有CD3結合臂之BCMA × CD3雙特異性抗體，該CD3結合臂包含抗體殖株CD3B219之重鏈及輕鏈。在一些實施例中提供具有BCMA結合臂及CD3結合臂之BCMA × CD3雙特異性抗體，該BCMA結合臂包含抗體殖株BCMB69、BCMB117、BCMB123、BCMB128、BCMB129、BCMB176、或BCMB177之重鏈，該CD3結合臂包含抗體殖株CD3B219之重鏈。在一些實施例中提供具有BCMA結合臂及CD3結合臂之BCMA × CD3雙特異性抗體，該BCMA結合臂包含抗體殖株BCMB69、BCMB117、BCMB123、BCMB128、BCMB129、BCMB176、或BCMB177之重鏈及輕鏈，該CD3結合臂包含抗體殖株CD3B219之重鏈及輕鏈。

【0168】例示性BCMA × CD3雙特異性抗體係提供於表9中。

【0169】已經描述雙特異性抗體之不同格式並且近來已由下列文獻所回顧：Chames and Baty (2009) Curr Opin Drug Disc Dev 12: 276。

【0170】在一些實施例中，本發明之雙特異性抗體係雙價抗體、交叉抗體(cross-body)、或經由如本發明中所述之受控Fab臂交換所獲得之雙特異性抗體。

【0171】在一些實施例中，雙特異性抗體包括具有互補CH3域以迫使異二聚化的類IgG分子；重組類IgG雙靶向分子，其中該分子之兩側各包含至少兩種不同抗體之Fab片段或該Fab片段的一部分；IgG融合分子，其中全長IgG抗體係融合至額外Fab片段或Fab片段之部分；Fc融合分子，其中單鏈Fv分子或穩定化雙價抗體係融合至重鏈恆定域、Fc區或其部分；Fab融合分子，其中不同之Fab片段係融合在一起；基於ScFv之抗體及基於雙價抗體之抗體及重鏈抗體（例如，域抗體、奈米抗體），其中不同單鏈Fv分子或不同雙價抗體或不同重鏈抗體（例如，域抗體、奈米抗體）係融合至彼此或融合至另一個蛋白質或載劑分子。

【0172】在一些實施例中，具有互補CH3域分子之類IgG分子包括Triomab/Quadroma (Trion Pharma/Fresenius Biotech)、Knobs-into-Holes (Genentech)、CrossMAbs (Roche)及靜電匹配者(electrostatically-matched) (Amgen)、LUZ-Y (Genentech)、股交換工程改造域抗體(Strand Exchange Engineered Domain body, SEEDbody) (EMD Serono)、Biclonic (Merus)及DuoBody® (Genmab A/S)。

【0173】在一些實施例中，重組類IgG雙靶向分子包括Dual Targeting (DT)-Ig (GSK/Domantis)、二合一抗體(Two-in-one Antibody) (Genentech)、交聯單株抗體(Cross-linked Mabs) (Karmanos Cancer Center)、mAb2 (F-Star)及CovX-body (CovX/Pfizer)。

【0174】在一些實施例中，IgG融合分子包括雙可變域(Dual Variable Domain, DVD)-Ig (Abbott)、類IgG雙特異性抗體(IgG-like Bispecific) (InnClone/Eli Lilly)、Ts2Ab (MedImmune/AZ)及BsAb (Zymogenetics)、HERCULES (Biogen Idec)和TvAb (Roche)。

【0175】在一些實施例中，Fc融合分子包括ScFv/Fc Fusions (Academic Institution)、SCORPION (Emergent BioSolutions/Trubion, Zymogenetics/BMS)、Dual Affinity Retargeting Technology (Fc-DART) (MacroGenics)及Dual(ScFv).sub.2-Fab (National Research Center for Antibody Medicine--China)。

【0176】在一些實施例中，Fab融合雙特異性抗體包括F(ab)2 (Medarex/AMGEN)、Dual-Action或Bis-Fab (Genentech)、Dock-and-Lock (DNL) (ImmunoMedics)、Bivalent Bispecific (Biotecnol)及Fab-Fv (UCB-Celltech)。基於ScFv之抗體、基於雙價抗體之抗體及域抗體包括但不限於Bispecific T Cell Engager (BITE) (Micromet)、Tandem Diabody (Tandab) (Affimed)、Dual Affinity Retargeting Technology (DART) (MacroGenics)、Single-chain Diabody (Academic)、TCR-like Antibodies (AIT, ReceptorLogics)、Human Serum Albumin ScFv Fusion (Merrimack)及COMBODY (Epigen Biotech)、雙靶向奈米抗體(Ablynx)、僅雙靶向重鏈域抗體(dual targeting heavy chain only domain antibody)。

【0177】本發明之全長雙特異性抗體可使用例如兩個單特異性雙價抗體之間的Fab臂交換（或半分子交換）來產製，其於各半分子中之重鏈CH3介面引入取代以利於兩個具有不同特異性之抗體半分子的異二聚體在活體外無細胞環境中或者使用共表現形成。該Fab臂交換反應係雙硫鍵異構化反應及CH3域之解

離-締合的結果。親系單特異性抗體之鉸鏈區中的重鏈雙硫鍵係經還原。其中一個親系單特異性抗體所生成的游離半胱胺酸與第二親系單特異性抗體分子之半胱胺酸殘基形成重鏈間雙硫鍵，同時該等親系抗體之CH3域藉由解離-締合而釋出及重新形成。該等Fab臂之CH3域可經工程改造以利於異二聚化而非同二聚化。所生成之產物係具有兩個Fab臂或半分子之雙特異性抗體，這兩個Fab臂或半分子各自結合不同表位，即BCMA上的表位及CD3上的表位。

【0178】本文中所用之「同二聚化(Homodimerization)」係指具有相同CH3胺基酸序列之兩個重鏈的交互作用。本文中所用之「同二聚體(Homodimer)」係指具有兩個有相同CH3胺基酸序列之重鏈的抗體。

【0179】本文中所用之「異二聚化(Heterodimerization)」係指具有不同CH3胺基酸序列之兩個重鏈的交互作用。本文中所用之「異二聚體(Heterodimer)」係指具有兩個有不同CH3胺基酸序列之重鏈的抗體。

【0180】「孔中鈕(knob-in-hole)」策略（請參見例如PCT Inti.Publ. No. WO 2006/028936）可用來產製全長雙特異性抗體。簡言之，在人類IgG中形成CH3域介面之選定胺基酸可在影響CH3域交互作用的位置處突變以促進異二聚體形成。將具有小側鏈之胺基酸（孔）引入特異性結合第一抗原之抗體的重鏈中，並將具有大側鏈之胺基酸（鈕）引入特異性結合第二抗原之抗體的重鏈中。在共表現這兩個抗體之後，具有「孔」之重鏈與具有「鈕」之重鏈優先交互作用而導致異二聚體形成。形成鈕和孔之例示性CH3取代對係（表現為第一重鏈之第一CH3域中的經修飾位置/第二重鏈之第二CH3域中的經修飾位置）：

T366Y/F405A、T366W/ F405W、F405W/Y407A、T394W/Y407T、T394S/Y407A、T366W/T394S、F405W/T394S及T366W/T366S_L368A_Y407V。

【0181】可使用其他策略，諸如使用靜電交互作用促進重鏈異二聚化，其取代一個CH3表面之帶正電荷殘基及第二CH3表面之帶負電荷殘基，如在US Pat. Publ. No. US2010/0015133；美國專利公開號US2009/0182127；US Pat. Publ. No. US2010/028637或US Pat. Publ. No. US2011/0123532中所述。在其他策略中，異二聚化可藉由下列取代來促進（表現為第一重鏈之第一CH3域中的經修飾位置/第二重鏈之第二CH3域中的經修飾位置）：L351Y_F405AY407V/T394W、T366I_K392M_T394W/F405A_Y407V、T366L_K392M_T394W/F405A_Y407V、L351Y_Y407A/T366A_K409F、L351Y_Y407A/T366V K409F Y407A/T366A_K409F、或T350V_L351Y_F405A Y407V/T350V_T366L_K392L_T394W，如在U.S. Pat. Publ. No. US2012/0149876或U.S. Pat. Publ. No. US2013/0195849中所述。

【0182】除了上述方法外，本發明之雙特異性抗體可在無細胞環境中活體外產生，此藉由在兩個單特異性同二聚體抗體之CH3區中引入非對稱突變，且在還原條件中（以讓雙硫鍵異構化）以兩個親體單特異性同二聚體抗體形成該雙特異性異二聚體抗體，其係根據描述於Inti.專利公開號W02011/131746之方法。在該等方法中，第一單特異性雙價抗體（例如，抗BCMA抗體）及第二單特異性雙價抗體（例如，抗CD3抗體）係經工程改造以在CH3域具有某些促進異二聚體穩定性之取代；該等抗體係在足以讓絞鏈區中之半胱胺酸進行雙硫鍵異構化的還原條件下一起培養；從而藉由Fab臂交換來產生該雙特異性抗體。培養條件

可最佳地被回復為非還原性條件。可使用之例示性還原劑係2-巯基乙胺(2-MEA)、二硫蘇糖醇(dithiothreitol, DTT)、二硫赤藓醇(dithioerythritol, DTE)、麩胱甘肽、參(2-羧乙基)膦(TCEP)、L-半胱胺酸及β-巯基乙醇，還原劑較佳係選自由下列所組成之群組：2-巯基乙胺、二硫蘇糖醇及參(2-羧乙基)膦。舉例而言，可使用在至少20℃之溫度且有至少25 mM之2-MEA存在下或於至少0.5 mM之二硫蘇糖醇存在且在5至8之pH下（例如在7.0之pH下或在7.4之pH下）培養至少90 min。

【0183】除了所述BCMA × CD3多特異性抗體外，亦提供能夠編碼所述BCMA × CD3多特異性抗體之多核苷酸序列。亦提供包含所述多核苷酸之載體，如表現本文中所提供之BCMA × CD3多特異性抗體的細胞。亦描述能夠表現所揭示載體之細胞。這些細胞可為哺乳動物細胞（諸如293F細胞、CHO細胞）、昆蟲細胞（諸如Sf7細胞）、酵母菌細胞、植物細胞、或細菌細胞（諸如*E. coli*）。所述抗體亦可藉由融合瘤細胞來生產。

使用多特異性抗體及其多特異性抗原結合片段之治療組成物及治療方法

【0184】以上討論之BCMA雙特異性抗體（例如以上討論之BCMA × CD3雙特異性抗體）可用於治療中。特定而言，BCMA雙特異性抗體可用於治療癌症。本文中亦提供用於治療哺乳動物中之過度增生性病症的治療組成物，其包含治療有效量之本文中所述之多特異性抗體或多特異性抗原結合片段及醫藥上可接受之載劑。在較佳實施例中，該多特異性抗體係如本文中所述之BCMA × CD3多特異性抗體、或其多特異性抗原結合片段，並且更佳係如本文中所述之BCMA × CD3雙特異性抗體、或其BCMA × CD3雙特異性抗原結合片段。在一個

實施例中，該醫藥組成物係用於治療BCMA表現性癌症，包括（但不限於）以下：BCMA表現性B細胞癌，諸如多發性骨髓瘤(MM)；及其他表現有BCMA但尚未被判定之癌症。可用來治療癌症（諸如血液性癌症，包括以上討論之特定癌症）之特定雙特異性抗體包括抗體BCMB69、BCMB117、BCMB123、BCMB128、BCMB129、BCMB176、或BCMB177或CD3B219。可用於治療癌症（諸如血液性癌症，包括這些特定癌症）之雙特異性抗體的一個實例為抗體BCMB72。

【0185】本文中所提供之醫藥組成物包含：a)有效量之本發明之多特異性抗體或抗體片段、及b)醫藥上可接受之載劑，其可為惰性或生理活性。在較佳實施例中，該多特異性抗體係如本文中所述之BCMA×CD3多特異性抗體、或其多特異性抗原結合片段，並且更佳係如本文中所述之BCMA×CD3雙特異性抗體、或其BCMA×CD3雙特異性抗原結合片段。本文中所用之用語「醫藥上可接受之載劑(pharmaceutically acceptable carrier)」包括生理相容之任何及所有溶劑、分散介質、塗層、抗菌和抗真菌劑、及類似者。合適載劑、稀釋劑及/或賦形劑之實例包括水、鹽水、磷酸鹽緩衝鹽水、葡萄糖、甘油、乙醇、及類似物之一或多者，以及上述者之任何組合。在許多情況中，較佳的是將等張劑（諸如糖、多元醇、或氯化鈉）納入該組成物中。特定而言，合適載劑之相關實例包括：(1)達爾伯克氏(Dulbecco)磷酸鹽緩衝鹽水，pH約7.4，含有或未含有約1 mg/mL至25 mg/mL人類血清白蛋白、(2) 0.9%鹽水（0.9% w/v氯化鈉(NaCl)）、及(3) 5% (w/v)葡萄糖；並且亦可含有抗氧化劑如色胺(tryptamine)及穩定劑如Tween 20 ®。

【0186】本文中之組成物亦可包含視需要用於治療特定病症之額外治療劑。較佳的是，多特異性抗體或抗體片段與補充性活性化合物將具有不會互相不利影響之互補活性。在較佳實施例中，該額外治療劑係阿糖胞苷(cytarabine)、蒽環素(anthracycline)、組織胺二鹽酸鹽、或介白素2。在較佳實施例中，該額外治療劑係化學治療劑。

【0187】本發明之組成物可呈各種形式。這些包括例如液體、半固體、及固體劑量形式，但較佳形式取決於預期投予模式及治療應用。典型較佳組成物係呈可注射或可輸注溶液之形式。較佳投予模式係非經腸（例如，靜脈內、肌肉內、腹膜內、皮下）。在較佳實施例中，本發明之組成物係以推注(bolus)靜脈內投予或藉由在一段時間內連續輸注投予。在另一較佳實施例中，彼等係藉由肌肉內、皮下、關節內、滑膜內、腫瘤內、腫瘤周圍、病灶內、或病灶周圍途徑來注射，以產生局部以及全身性治療效果。

【0188】用於非經腸投予之無菌組成物可藉由將本發明之抗體、抗體片段或抗體共軛物(conjugate)以所需量納入適當溶劑中，接著藉由微過濾進行滅菌來製備。在溶劑或媒劑方面，可使用水、鹽水、磷酸鹽緩衝鹽水、葡萄糖、甘油、乙醇、及類似者，以及上述者之任何組合。在許多情況中，較佳的是將等張劑（諸如糖、多元醇、或氯化鈉）納入該組成物中。這些組成物亦可含有佐劑，尤其是潤濕、等張、乳化、分散及穩定劑。用於非經腸投予之無菌組成物亦可製備為無菌固體組成物之形式，其可在使用時溶於無菌水或任何其他注射用無菌介質中。

【0189】多特異性抗體或抗體片段亦可經口投予。在經口投予之固體組成物方面，可使用錠劑、丸劑、粉劑（明膠膠囊、囊劑(sachet)）或粒劑。在這些組成物中，依據本發明之活性成分係於氬氣流下與一或多種惰性稀釋劑（諸如澱粉、纖維素、蔗糖、乳糖、或二氧化矽）混合。這些組成物亦可包含非為稀釋劑之物質，例如一或多種潤滑劑（諸如硬脂酸鎂或滑石）、著色劑、塗層（糖衣錠）或糖釉(glaze)。

【0190】在經口投予之液體組成物方面，可使用含有惰性稀釋劑（諸如水、乙醇、甘油、植物油或石蠟油）之醫藥上可接受之溶液、懸浮液、乳液、糖漿及酏劑。這些組成物可包含非為稀釋劑之物質，例如潤濕、增甜、增稠、調味或穩定用產品。

【0191】劑量取決於所欲之效果、治療持續期間及所使用之投予途徑；成人口服劑量通常介於每天5 mg到1000 mg，並且單位劑量含有範圍在1 mg到250 mg的活性物質。一般而言，醫師將會視待治療對象之年齡、體重及任何其他特定因素來決定適當劑量。

【0192】本文中亦提供用於殺滅BCMA+細胞之方法，其係向有需要之病患投予結合該BCMA並且能夠徵集T細胞以殺滅該BCMA+細胞（即T細胞重新導向(T cell redirection)）之多特異性抗體。任何本發明之多特異性抗體或抗體片段皆可使用在治療上。例如，在一個實施例中，該BCMA × CD3多特異性抗體BCMB72可使用在治療上以治療對象中的癌症。

【0193】在較佳實施例中，本發明之多特異性抗體或抗體片段係用於治療哺乳動物中之過度增生性病症。在更佳實施例中，以上所揭露並且含有本發明

之多特異性抗體或抗體片段的醫藥組成物之一者係用於治療哺乳動物中之過度增生性病症。在一實施例中，該病症係癌症。特定而言，該癌症係BCMA表現性癌症，包括（但不限於）以下：BCMA表現性B細胞癌，諸如多發性骨髓瘤(MM)；及其他表現有BCMA但尚未被判定之癌症。在較佳實施例中，該多特異性抗體係如本文中所述之BCMA×CD3多特異性抗體、或其多特異性抗原結合片段，並且更佳係如本文中所述之BCMA×CD3雙特異性抗體、或其BCMA×CD3雙特異性抗原結合片段。

【0194】因此，本發明之醫藥組成物可用於治療或預防各種癌症，包括（但不限於）以下：BCMA表現性癌症，包括（但不限於）以下：BCMA表現性B細胞癌，諸如急性多發性骨髓瘤(MM)；及其他表現有BCMA但尚未被判定之癌症。

【0195】同樣地，本文中進一步提供一種用於抑制所選細胞群體生長之方法，其包含於周邊血液單核細胞(PBMC)存在下，使BCMA表現性目標細胞、或含有此等目標細胞之組織與有效量之本發明之多特異性抗體或抗體片段（單獨或組合其他細胞毒性劑或治療劑）接觸。在較佳實施例中，該多特異性抗體係如本文中所述之BCMA×CD3多特異性抗體、或其多特異性抗原結合片段，並且更佳係如本文中所述之BCMA×CD3雙特異性抗體、或其BCMA×CD3雙特異性抗原結合片段。在較佳實施例中，該額外治療劑係阿糖胞苷(cytarabine)、蒽環素(anthracycline)、組織胺二鹽酸鹽、或介白素2。在較佳實施例中，該額外治療劑係化學治療劑。用於抑制所選細胞群體生長之方法可在活體外、活體內、或離體(*ex vivo*)實施。

【0196】活體外用途之實例包括在將自體骨髓移植到同一病患之前先對其處理以殺滅染病或惡性細胞；在移植骨髓之前先對其處理，以殺滅勝任T細胞並預防移植物抗宿主病(GVHD)；處理細胞培養，以殺滅除了未表現目標抗原之所欲變異體以外的所有細胞；或殺滅表現非所欲抗原之變異體。非臨床活體外用途之條件可由所屬技術領域中具有通常知識者所輕易決定。

【0197】臨床離體使用之實例係於自體骨髓移植治療癌症之前從骨髓移除腫瘤細胞。治療可實施如下。自病患或其他個體獲取骨髓，接著將骨髓在加入本發明之細胞毒性劑的含血清培養基中進行培養。濃度範圍係約10 uM至1 uM，在約37ºC進行約30分鐘至約48小時。精確濃度及培養時間條件（即劑量）可由所屬技術領域中具有通常知識者所輕易決定。在培養之後，將骨髓細胞用含血清之培養基洗滌，然後依據習知方法藉由靜脈輸液送回病患體內。在病患於收獲骨髓到重新輸回經處理細胞之間的時間內接受其他治療如根除性化學療法(ablative chemotherapy)或全身放射線照射的情況下，該等經處理之骨髓細胞係使用標準醫療設備冷凍儲存於液態氮中。

【0198】在臨床活體內用途中，向有需要之對象投予治療有效量之多特異性抗體或抗原結合片段。舉例而言，該等BCMA × CD3多特異性抗體及其多特異性抗原結合片段可用於治療有需要之對象中的BCMA表現性癌症。在一些實施例中，該BCMA表現性癌症係B細胞癌，諸如多發性骨髓瘤(MM)。在較佳實施例中，該多特異性抗體係如本文中所述之BCMA × CD3多特異性抗體、或其多特異性抗原結合片段，並且更佳係如本文中所述之BCMA × CD3雙特異性抗體、或其BCMA × CD3雙特異性抗原結合片段。在一些實施例中，該對象為哺乳動物，

較佳為人類。在一些實施例中，該多特異性抗體或抗原結合片段將以已測試過無菌性之溶液形式投予。

【0199】以上治療方法及用途中之劑量方案係經調整以提供最佳之所欲反應（例如，治療回應）。舉例而言，可投予單次推注、可在一段時間內投予數次分開之劑量、或者可依治療情況之急迫性所示來按比例提高或降低劑量。非經腸組成物可配製為劑量單元形式以增進投予便利性及劑量一致性。

【0200】多特異性抗體及片段之有效劑量及劑量方案取決於待治療之疾病及病況並且可由所屬領域中具有通常知識者決定。本發明化合物之治療有效量的例示性、非限定範圍係約0.001至10 mg/kg，諸如約0.001至5 mg/kg，例如約0.001至2 mg/kg，諸如約0.001至1 mg/kg，例如約0.001、約0.01、約0.1、約1或約10 mg/kg。

【0201】所屬技術領域中具有通常知識之醫師或獸醫師可輕易決定並處方所需之醫藥組成物的有效量。舉例而言，醫師或獸醫師可從低於欲達所欲治療效果所需的該醫藥組成物中所採用之多特異性抗體或片段的劑量水準開始，然後逐漸提高劑量直到達到所欲效果。一般而言，本發明之雙特異性抗體之合適每日劑量將為該化合物有效產生治療效果之最低劑量的量。投予可為例如非經腸，諸如靜脈內、肌肉內或皮下。在一個實施例中，多特異性抗體或片段可依mg/m^{2}計算之每周劑量來輸液投予。此等劑量可基於例如以上提供之mg/kg劑量，並且依據下式：劑量(mg/kg) ×70: 1.8提供。此投予可重複例如1至8次，諸如3至5次。該投予可藉由在2至24小時（諸如2至12小時）期間內連續輸注來執行。

在一個實施例中，多特異性抗體或片段可藉由在長期間（諸如超過24小時）內緩慢連續輸注來投予，以降低毒性副作用。

【0202】在一個實施例中，多特異性抗體或片段可以每周劑量投予，該每周劑量經計算為至多給予八次之固定劑量，諸如當每周給予一次時給予四至六次。此方案可視需要例如在六個月或十二個月之後重複一或多次。此等固定劑量可基於例如以上所提供之mg/kg劑量，並且體重估計為70 kg。劑量可藉由測量本發明之雙特異性抗體經投予後在血液中之量來判定或調整，其係例如藉由採集生物樣本並使用靶向本發明之多特異性抗體之BCMA抗原結合區的抗遺傳型抗體(anti-idiotypic antibody)來測量。

【0203】在一個實施例中，多特異性抗體或片段可藉由維持療法來投予，諸如例如一周一次進行六個月或更長的期間。

【0204】多特異性抗體或片段亦可預防性投予以降低發展癌症之風險、延緩癌症進展事件之開始發生、及/或當癌症處於緩解時降低復發之風險。

【0205】如本文中所述之多特異性抗體及其片段亦可以組合療法來投予，即與所欲治療之疾病或病況的其他相關治療劑組合。因此，在一個實施例中，含抗體之藥劑係與一或多種額外治療劑（諸如化學治療劑）組合。在一些實施例中，該其他治療劑係阿糖胞苷(cytarabine)、蒽環素(anthracycline)、組織胺二鹽酸鹽、或介白素2。此組合式投予可為同時、分開或連續（以任何順序）進行。針對同時投予，該等劑可作為一個組成物或作為分開之組成物（視情況而定）投予。

【0206】在一個實施例中，提供一種用於治療涉及對象中表現BCMA之細胞的病症之方法，該方法包含向有需要之對象投予治療有效量的多特異性抗體或片段（諸如本文中所述之BCMA × CD3雙特異性抗體）及進行放射性療法。在一個實施例中，提供一種用於治療或預防癌症之方法，該方法包含向有需要之對象投予治療有效量的多特異性抗體或片段（諸如本文中所述之BCMA × CD3抗體），以及進行放射性療法。放射性療法可包含放射線照射或者提供給病患相關聯之放射性藥品投予。放射線源可位於受治療病患外部或內部（放射線治療例如可為體外放射治療(external beam radiation therapy, EBRT)或近程放射治療(brachytherapy, BT)之形式）。可用於實施此等方法之放射性元素包括例如鐳、銫-137、銥-192、鋂-241、金-198、鈷-57、銅-67、鎝-99、碘-123、碘-131、及銦-111。

套組

【0207】本文中亦提供者包括套組，其例如包含所述多特異性抗體或其抗原結合片段及該抗體或片段用於殺滅特定細胞類型之使用說明。在較佳實施例中，該多特異性抗體係如本文中所述之BCMA × CD3多特異性抗體、或其多特異性抗原結合片段，並且更佳係如本文中所述之BCMA × CD3雙特異性抗體、或其BCMA × CD3雙特異性抗原結合片段。該等說明可包括對於在活體外、活體內或離體使用該多特異性抗體或其抗原結合片段之指示。

【0208】典型而言，套組將具有內含多特異性抗體或其抗原結合片段之隔間。該多特異性抗體或其抗原結合片段可呈凍乾形式、液體形式、或其他可經修改以被包括在套組中之形式。套組亦可含有實施該套組中之說明上描述之方

法所需的額外元件，諸如用於重組凍乾粉劑之滅菌溶液、在向病患投予前用於與該多特異性抗體或其抗原結合片段組合之額外劑、及協助向病患投予該多特異性抗體或其抗原結合片段之工具。

診斷用途

【0209】本文中所述之多特異性抗體及片段亦可用於診斷目的。因此，亦提供包含如本文中所界定之多特異性抗體或片段的診斷組成物、及其用途。在較佳實施例中，該多特異性抗體係如本文中所述之BCMA×CD3多特異性抗體、或其多特異性抗原結合片段，並且更佳係如本文中所述之BCMA×CD3雙特異性抗體、或其BCMA×CD3雙特異性抗原結合片段。在一個實施例中，本發明提供一種用於診斷癌症之套組，其包含含有雙特異性BCMA×CD3抗體之容器、及一或多種用於偵測該抗體對於BCMA之結合的試劑。試劑可包括例如螢光標籤、酶標籤、或其他可偵測標籤。該等試劑亦可包括用於酶反應之二級或三級抗體或試劑，其中該等酶反應產生可視覺化之產物。舉例而言，本文中所述之多特異性抗體、或其抗原結合片段可用放射性標記、螢光標記、表位標籤、生物素、發色基(chromophore)標記、ECL標記、酶、釕、^{111}In-DOTA、^{111}In-二伸乙基三胺五乙酸(DTPA)、山葵過氧化酶(horseradish peroxidase)、鹼性磷酸酶及β-半乳糖苷酶、或多-組胺酸或所屬領域中所習知之類似此等標記來加以標示。

所述申請標的之例示性實施例

【0210】為了更佳且更完全地描述本文中之申請標的，本節提供所呈現之申請標的之列舉例示性實施例。

【0211】列舉實施例：

1. 一種免疫特異性結合至 BCMA 的重組抗體、或其抗原結合片段，其中該抗體具有一重鏈及一輕鏈，該重鏈包含：

a. 具有 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列的一重鏈互補決定區 1 (CDR1)、具有 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列的一重鏈 CDR2、及具有 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列的一重鏈 CDR3；

b. 具有 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列的一重鏈 CDR1、具有 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列的一重鏈 CDR2、及具有 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列的一重鏈 CDR3；

c. 具有 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列的一重鏈 CDR1、具有 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列的一重鏈 CDR2、及具有 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列的一重鏈 CDR3；

d. 具有 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列的一重鏈 CDR1、具有 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列的一重鏈 CDR2、及具有 SEQ ID NO: 19 之胺基酸序列的一重鏈 CDR3；

e. 具有 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列的一重鏈 CDR1、具有 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列的一重鏈 CDR2、及具有 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列的一重鏈 CDR3；

f. 具有 SEQ ID NO: 13 之胺基酸序列的一重鏈 CDR1、具有 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列的一重鏈 CDR2、及具有 SEQ ID NO: 19 之胺基酸序列的一重鏈 CDR3；

g. 具有 SEQ ID NO: 13 之胺基酸序列的一重鏈 CDR1、具有 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列的一重鏈 CDR2、及具有 SEQ ID NO: 19 之胺基酸序列的一重鏈 CDR3。

2. 如實施例 1 之抗體、或其抗原結合片段，其中該抗體進一步包含具有 SEQ ID NO: 24 之胺基酸序列的一輕鏈 CDR1、具有 SEQ ID NO: 25 之胺基酸序列的一輕鏈 CDR2、及具有 SEQ ID NO: 26 之胺基酸序列的一輕鏈 CDR3。

3. 如實施例 1 之抗體或抗原結合片段，其中(a)之該抗體的該重鏈包含 SEQ ID NO: 27 之胺基酸序列；(b)之該抗體的該重鏈包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列；(f)之該抗體的該重鏈包含 SEQ ID NO: 34 之胺基酸序列；(k)之該抗體的該重鏈包含 SEQ ID NO: 39 之胺基酸序列；(l)之該抗體的該重鏈包含 SEQ ID NO: 40 之胺基酸序列；(m)之該抗體的該重鏈包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列或(n)之該抗體的該重鏈包含 SEQ ID NO: 43 之胺基酸序列。

4. 如實施例 2 或實施例 3 之抗體或抗原結合片段，其中該抗體之輕鏈包含 SEQ ID NO: 28 之胺基酸序列。

5. 如實施例 1 至 4 中任一者之抗體或抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合至人類 BCMA 之胞外域。

6. 如實施例 1 至 5 中任一者之抗體或抗原結合片段，其中該抗體或抗原結合片段係一人類抗體或抗原結合片段。

7. 如實施例 1 至 6 中任一者之抗原結合片段，其中該抗原結合片段係一 Fab 片段、一 Fab2 片段、或一單鏈抗體。

8. 如實施例 1 至 7 中任一者之抗體或抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段抑制 BCMA 與 APRIL 的交互作用。

9. 如實施例 8 之抗體或抗原結合片段，其中由 ELISA 所測，該抗體或抗原結合片段對 BCMA 與 APRIL 的交互作用展現約 5.9 nM 的 IC_{50}。

10. 如實施例 1 至 9 中任一者之抗體或抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段係 IgG。

11. 如實施例 1 至 10 中任一者之抗體或抗原結合片段，其係 IgG4 同型。

12. 如實施例 11 之抗體，其中該 IgG4 在其 Fc 區具有一 S228P 取代、一 L234A 取代、及一 L235A 取代。

13. 如實施例 1 至 12 中任一者之抗體或抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段免疫特異性結合人類 BCMA 並與食蟹獼猴(cynomolgus monkey) BCMA 交叉反應。

14. 如實施例 1 至 13 中任一者之抗體或抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合人類骨髓瘤細胞表面上的 BCMA。

15. 如實施例 1 至 14 中任一者之抗體或抗原結合片段，其中該抗體或其抗原結合片段結合人類多發性骨髓瘤細胞表面上的 BCMA。

16. 一種重組細胞，其表現如實施例 1 至 15 中任一者之抗體或抗原結合片段。

17. 如實施例 16 之細胞，其中該細胞係一融合瘤。

18. 如實施例 16 之細胞，其中該抗體係經重組生產。

19. 一種重組 BCMA × CD3 雙特異性抗體或其 BCMA × CD3 雙特異性結合片段，其包含：

a) 一第一重鏈(HC1)；

b) 一第二重鏈(HC2)；

c) 一第一輕鏈(LC1)；及

d) 一第二輕鏈(LC2)，

其中 HC1 係與 LC1 相關聯且 HC2 係與 LC2 相關聯，且其中 HC1 包含 SEQ ID NO: 59、SEQ ID NO: 60、及 SEQ ID NO: 61，且 LC1 包含 SEQ ID NO: 62、SEQ ID NO: 63、及 SEQ ID NO: 64，以形成免疫特異性結合 CD3 的一第一抗原結合部位，且其中 HC2 包含 SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 5、及 SEQ ID NO: 6，且 LC2 包含 SEQ ID NO: 24、SEQ ID NO: 25、及 SEQ ID NO: 26，以形成免疫特異性結合 BCMA 的一第二抗原結合部位。

20. 如實施例 19 之重組 BCMA × CD3 雙特異性抗體或其片段，其包含：包含 SEQ ID NO: 55 的一 HC1、包含 SEQ ID NO: 56 的一 LC1、包含 SEQ ID NO: 65 的一 HC2、及包含 a) SEQ ID NO: 66 或 b) SEQ ID NO: 76 的一 LC2。

21. 如實施例 20 之 BCMA × CD3 雙特異性抗體或雙特異性結合片段，其中該抗體或雙特異性結合片段係 IgG。

22. 如實施例 19、實施例 20、或實施例 21 中任一者之 BCMA × CD3 雙特異性抗體或雙特異性結合片段，其中該抗體或雙特異性結合片段係 IgG4 同型。

23. 如實施例 19 至 22 之 BCMA × CD3 雙特異性抗體或雙特異性結合片段，其中該抗體或雙特異性結合片段以至少 0.22 nM 之親和力來免疫特異性結合人類 BCMA，如由表面電漿共振所測得者。

24. 如實施例 19 至 23 之 BCMA × CD3 雙特異性抗體或雙特異性結合片段，其中該抗體或其雙特異性結合片段結合人類骨髓瘤細胞表面上的 BCMA。

25. 如實施例 19 至 24 之 BCMA × CD3 雙特異性抗體或雙特異性結合片段，其中該抗體或其雙特異性結合片段結合人類多發性骨髓瘤細胞表面上的 BCMA。

26. 如實施例 19 至 25 之 BCMA × CD3 雙特異性抗體或雙特異性結合片段，其中該抗體或雙特異性結合片段在活體外以小於約 0.37 nM 的 EC_{50} 誘導人類 T 細胞活化。

27. 如實施例 19 至 26 之 BCMA × CD3 雙特異性抗體或雙特異性結合片段，其中該抗體或雙特異性結合片段在活體外以小於約 0.45 nM 的 EC_{50} 誘導 BCMA 表現細胞的 T 細胞依賴性細胞毒性。

28. 如實施例 19 至 27 之 BCMA × CD3 雙特異性抗體或雙特異性結合片段，其中該抗體或雙特異性結合片段不是 BCMA 促效劑。

29. 如實施例 19 至 28 之 BCMA × CD3 雙特異性抗體或雙特異性結合片段，其中該抗體或雙特異性結合片段在低於 10 nM 的濃度不改變 NF-κB 之活化。

30. 一種重組細胞，其表現如實施例 19 至 29 中任一者之抗體或雙特異性結合片段。

31. 如實施例 30 之細胞，其中該細胞係一融合瘤。

32. 一種用於治療具有癌症之對象之方法，該方法包含向有需要之對象投予治療有效量的如實施例 19 至 29 中任一者之 BCMA × CD3 雙特異性抗體或雙特異性結合片段一段足以治療該癌症的時間。

33. 一種用於抑制癌細胞生長或增生之方法，該方法包含投予治療有效量的如實施例 19 至 29 中任一者之 BCMA CD3 雙特異性抗體或雙特異性結合片段以抑制癌細胞之生長或增生。

34. 一種將 T 細胞重新導向 BCMA 表現性癌細胞之方法，該方法包含投予治療有效量的如實施例 19 至 29 中任一者之 BCMA × CD3 雙特異性抗體或雙特異性結合片段以將 T 細胞重新導向至癌症。

35. 如實施例 32、33、或 34 之方法，其中該癌症係血液性癌症。

36. 如實施例 35 之方法，其中該血液性癌症係 BCMA 表現性 B 細胞癌。

37. 如實施例 36 之方法，其中該 BCMA 表現性 B 細胞癌係多發性骨髓瘤。

38. 如實施例 32 之方法，其進一步包含投予一第二治療劑。

39. 如實施例 38 之方法，其中該第二治療劑係一化學治療劑或一靶向抗癌療法。

40. 如實施例 39 之方法，其中該化學治療劑係阿糖胞苷(cytarabine)、蒽環素(anthracycline)、組織胺二鹽酸鹽、或介白素 2。

41. 一種醫藥組成物，其包含如實施例 19 至 29 中任一者之 BCMA × CD3 雙特異性抗體或雙特異性結合片段及一醫藥上可接受之載劑。

42. 一種用於藉由培養如實施例 30 至 31 中任一者之細胞來產生如實施例 19 至 29 中任一者之 BCMA × CD3 雙特異性抗體或雙特異性結合片段的方法。

43. 一種單離合成性多核苷酸，其編碼如實施例 19 至 29 中任一者之 BCMA × CD3 雙特異性抗體或雙特異性結合片段的該 HC1、該 HC2、該 LC1、或該 LC2。

44. 一種套組，其包含如實施例 19 至 29 中任一者之 BCMA × CD3 雙特異性抗體或雙特異性結合片段及/或如請求項 44 所述之多核苷酸及用於上述者之包裝。

實例

【0212】下列實例係提供用來增補前述揭露及提供對於本文中所述之申請標的之更佳理解。不應將這些實例視為限制所述之申請標的。應瞭解本文中所述之實例及實施例僅用於說明性之目的，並且根據該等實例及實施例之各式修飾或變化將為所屬領域中具有通常知識者所顯而易知且應被納入本發明之真實範疇內，而且在不偏離本發明之真實範疇下可作出這些修飾或變化。

實例1：材料

BCMA ECD分子

【0213】重組人類(h) BCMA-Fc融合蛋白（目錄編號193-BC-050，對應於hBCMA (SEQ ID NO:1)的胺基酸1至54）及重組小鼠(m) BCMA-Fc融合蛋白（目錄編號593-BC-050，對應於mBCMA (SEQ ID NO:2)的胺基酸1至49）係獲自R&D

Systems。重組食蟹獼猴BCMA蛋白係製備自cDNA，該cDNA係由基因合成技術獲得（美國專利第6,670,127號；美國專利第6,521,427號）。所有蛋白質在使用之前先針對內毒素進行測試，並且經生物素化(biotinylated)以供噬菌體淘選研究。亦將這些材料用於結合及親和力測量。

【0214】 可溶性人類BCMA係得自AB Biosciences（目錄編號P011Xp，批次編號033-013）並用於表徵研究。

APRIL、BAFF、BAFF-R、及TACI分子

【0215】 可溶性hAPRIL（目錄編號DY884）、hBAFF（目錄編號2149-BF）、hBAFF-R（目錄編號1162-BR，對應於hBAFF-R的胺基酸7至71）、及hTAC1（對應於TACI的胺基酸2至166）係獲自R&D Systems。BAFF-R及TAC1經生物素化(biotinylated)以供SPR研究。

產生BCMA細胞系

【0216】 使用標準方法將呈現人類BCMA（圖1A）及食蟹獼猴BCMA（圖1B）的載體過渡性轉染進HEK293 expi細胞。選擇有穩定質體整合之經轉染293F貼附細胞(adherent cell)，接著分選單一細胞，及藉由FACS使用經抗人類BCMA-PE標記之抗體(R&D Systems FAB193P)來定量BCMA表面受體表現。

實例2：單離人類BCMA單株抗體表現融合瘤

【0217】 使用人類免疫球蛋白基因轉殖大鼠品系(OmniRat ®; OMT, Inc.)以發展人類BCMA單株抗體表現融合瘤細胞。OmniRat®含有一嵌合人類/大鼠IgH基因座（包含22個人類V_H、所有呈天然構型的人類D及J_H區段，該等區段係連接至大鼠C_H基因座）再加上完整的人類IgL基因座（12個Vκ連接到Jκ-Cκ及16

個Vλ連接到Jλ-Cλ)。（見例如Osborn, et al. (2013) J Immunol 190(4): 1481-1490）。因此，該等大鼠展現減少表現之大鼠IgM或κ，且所引入的人類重鏈及輕鏈轉殖基因回應於免疫會經歷類別轉換(class switching)及體細胞突變，以產生高親和力人類IgG單株抗體。OmniRat®的製備及使用，以及這些大鼠所攜帶的基因體修飾係由Bruggemann等人敘述於PCT公開號WO 14/093908中。

【0218】當用重組人類BCMA (rhBCMA)免疫時，這些基因轉殖大鼠產生對人類BCMA有特異性之人類IgG抗體。

【0219】免疫方案進行如下：以hBCMA-Fc融合物免疫六隻大鼠。在21天的免疫方案之後，從該些經免疫的大鼠取下脾臟和淋巴結並用於產生四個全融合瘤庫。將該些庫滴定並藉由ELISA測定以識別展現結合至經生物素化hBCMA的mAb。mAb係於MSD鏈黴親和素(Streptavidin)盤上捕獲。在進一步的確認篩選後，將展現特異性結合至人類BCMA及食蟹獼猴BCMA之融合瘤上清液定序、選殖、及表現、及轉換成人類IgG1及IgG4兩者。

實例3：純化BCMA抗體

【0220】在澄清培養上清液中的BCMA抗體係以MabSelect SuRe蛋白A樹脂(Protein A resin)捕獲並以100 mM乙酸鈉(pH 3.5)洗提。將含有該些抗體的部分(fraction)合併並立即以2.5 M Tris HCl (pH 7.2)中和，接著將緩衝液置換為1xD-PBS或其他所欲緩衝液（若經指定）。蛋白濃度係藉由在NanoDrop分光光度計上測量OD280來判定，並用其吸光係數計算。抗體的純度及同質性係以SDS-PAGE及SE-HPLC進行評估。如果依照SE-HPLC測得之單體低於95%，則使用Superdex 200進行SEC精製步驟(polishing step)。

實例4：BCMA抗體細胞結合至BCMA之表徵

【0221】 BCMA抗體與經工程改造之BCMA表現細胞及癌細胞系U2392、EJM、MMIR、U266、OPM2、及RPMI-18226之結合，係使用MSD (Mesoscale)細胞結合測定及流動式細胞測量術來評估。該篩選測定之目的在於識別出結合至表現BCMA之細胞之抗體，以及與表現食蟹獼猴BCMA之細胞有交叉反應性之抗體。

【0222】 關於MSD細胞結合測定，細胞經固定且BCMA抗體樣本以一式三份進行測定。簡言之，將經純化BCMA抗體表現上清液正規化至10 μg/mL。將每孔5000個細胞接種至384孔盤(MA6000, cat. L21XB, MSD)中，讓其貼附2小時。接著將細胞用20% FBS於PBS中(Gibco)阻斷15分鐘。接著將抗體上清液加入，留置在室溫下1小時。將細胞用PBS洗滌三次，接著將1 μg/mL之經釘標示之二級抗體(Jackson Immuno Research)加入，然後在室溫下培養1小時。接著再次洗滌，然後將每孔35 μL的MSD讀取緩衝液T（無界面活性劑）加入，接著培養30分鐘以供偵測。接著使用MSD Sector 6000讀取孔盤。將數據相對於對照組正規化，並使用GraphPad Prism Version 5繪圖。信號大於背景3倍之陽性結合判定為命中。重複該測定以確認數據一致性，並且選出前幾名結合體以進行進一步發展。

【0223】 關於流動式細胞測量術，將細胞以存活染色劑(viability stain)培養，然後將100,000個細胞加至U底盤並將細胞離心而成團塊。將經滴定之BCMA抗體加至該些細胞。經過一段培養期後，使細胞成團塊並洗滌。將經AlexaFluor 647標記之物種特異性二級抗體加至該些細胞並讓其培養。使該些細胞成團塊並

洗滌數次。將該些細胞再懸浮於適量的運行緩衝液中並使用FACS CantoII分析。藉由FSC-A對SSC-A針對細胞大小、SSC-A對SSC-H針對單峰、及針對存活染色進行框選。將活細胞群的geoMFI值作圖，且如果可以的話（亦即如果曲線為完全S形(fully sigmoidal)的話），將其用來計算EC_{50}值。

抑制APRIL配體結合

【0224】 BCMA抗體組(antibody panel)係在APRIL結合競爭ELISA中進行篩選。可溶性人類April係購自R&D systems（目錄編號為DY884）。評估抗BCMA抗體阻斷April與經固定之BCMA結合之能力。

【0225】 簡言之，將96孔透明Maxisorb盤以100 μL在PBS中製成的0.5 μg/mL的BCMA-ECD處理，並在室溫下培養整夜。接著將該些盤以含0.05% Tween-20於PBS中之ELISA洗滌緩衝液（R&D Systems目錄編號WA126）洗滌三次，然後以每孔300 μL的含1% BSA5於PBS中之試劑稀釋劑（R&D Systems目錄編號DY995）阻斷。關於競爭性結合，將100 μL體積的BCMA抗體加入該盤中並在加入APRIL前先培養30分鐘。30分鐘後，在每孔中加入1 ng的APRIL並將該些盤在4ºC整夜。將未結合的APRIL用ELISA洗滌緩衝液洗滌，使用SA-HRP共軛物在光學密度450 nm下偵測已結合的生物素化APRIL。

實例5：命中評估及選擇

【0226】 完成該些表徵實驗後，衍生自M2融合瘤的抗體（命名為BCMB69）被判定為具有以下特點：

- 結合至重組人類 BCMA
- 結合至重組食蟹獼猴 BCMA

- 展現微弱結合至小鼠 BCMA
- 結合至表現人類 BCMA 的 HEK 及表現食蟹獼猴 BCMA 的 HEK 兩者，如由流動式細胞測量術所測得者。
- 結合至表現 BCMA 的人類癌細胞系（U2392、EJM、MMIR、U266、OPM2、及 RPMI-18226）
- 以 IC_{50} = 5.9 nM 阻斷 APRIL 結合

【0227】因此，表現並純化BCMB69（表4及表5），以達製造BCMA × CD3雙特異性抗體的目的。

表 4：BCMB69 的 CDR 序列（括號中提供相關的 SEQ ID NO）

ID	HC-CDR1	HC-CDR2	HC-CDR3	LC-CDR1	LC-CDR2	LC-CDR3
BCMB69	SGSYFWG (4)	SIYYSGITYYNPSLKS (5)	HDGAVAGLFDY (6)	GGNNIGSKSVH (24)	DDSDRPS (25)	QVWDSSSDHVV (26)

表 5：BCMB69 的 V_H 及 V_L 序列

mAb AA ID	VH 胺基酸序列	SEQ ID NO:	VL 胺基酸序列	SEQ ID NO
BCMB 69	QLQLQESGPGLVKPSETL SLTCTVSGGSISSGSYFWG WIRQPPGKGLEWIGSIYY SGITYYNPSLKSRVTISVD TSKNQFSLKLSSVTAADT AVYYCARHDGAVAGLFD YWGQGTLVTVSSA	27	SYVLTQPPSVSVAP GQTARITCGGNNIG SKSVHWYQQPPGQ APVVVVYDDSDRP SGIPERFSGSNSGN TATLTISRVEAGDE AVYYCQVWDSSSD HVVFGGGTKLTVL	28

實例6：抗BCMA Fab之晶體結構

【0228】一種抗BCMA抗體(BCMB69)之晶體結構係以游離Fab形式以及當結合至人類BCMA時判定，以表徵抗體/抗原交互作用的原子細節、增加我們對抗體作用機制的認識、及支持任何所需的抗體工程努力。

材料

【0229】經His標記的BCMA Fab（SEQ ID NO: 75及76；以下簡稱BCMB69 Fab）係表現於HEK293細胞中並使用親和力及粒徑排阻層析法純化。將Fab接收於130 mM NaCl、20 mM MES (pH 7.4)中。

【0230】帶有C端His標籤的人類BCMA胞外區（SEQ ID NO:1的殘基5至51；以下簡稱為BCMA）係使用桿狀病毒系統表現並藉由親和力及粒徑排阻層析法純化。將蛋白接收於50 mM NaCl、20 mM Tris (pH 8)中。

結晶

BCMA/BCMB69 Fab複合體

【0231】該Fab/抗原複合體係藉由將BCMA與BCMB69 Fab以3.8：1的莫耳比（過量的BCMA）在4℃混合約16小時來製備，同時將緩衝液置換為20 mM Hepes (pH 7.5)。接著將該複合體自monoS 5/50管柱以51至63 mM NaCl（於20 mM Hepes pH 7.5中）的梯度洗提，並濃縮至17 mg/mL。適用於X射線繞射的晶體係在20ºC使用坐滴蒸氣擴散法(sitting drop vapor-diffusion method)，並利用微晶胞接種(micro-seeding)，自25% PEG 3kDa、0.2M $MgCl_2$、0.1M Mes (pH 6.5)獲得。

BCMB69 Fab

【0232】將BCMB69 Fab濃縮至9 mg/mL且不再進一步純化。適用於X射線繞射的晶體係在20ºC使用坐滴蒸氣擴散法，自2M $(NH_4)_2SO_4$、5% MPD、0.1M Mes (pH 6.5)獲得。

X射線數據收集及結構判定

【0233】關於X射線數據收集，將晶體在含有對應母液並用20%甘油增補的冷凍保護液中浸泡幾秒鐘，然後在液態氮中急速冷凍。以Rayonix 300HS CCD偵檢器在Canadian Light Source (CLS)的光束線CMCF-08ID下收集BCMA/BCMB69複合體的X射線繞射數據，而游離BCMB69 Fab的X射線數據係在阿貢國家實驗室(Argonne National Laboratory)以Dectris Pilatus 6M Pixel Array偵檢器在Advanced Photon Source (APS)的光束線17-ID下收集。以HKL程式處理繞射數據(Otwinowski, Z. & Minor, W. (1997). Processing of X-ray diffraction data collected in oscillation mode. *Methods in Enzymology* 276: 307-326.)。

【0234】藉由用Phaser進行分子置換(MR)來解出結構(Read, R. J. (2001). Pushing the boundaries of molecular replacement with maximum likelihood. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 57: 1373-82)。就游離Fab結構而言，MR的搜尋模型(search model)係抗流感血球凝集素5j8 Fab（PDB碼：4M5Y）。就BCMA/Fab複合體而言，MR的搜尋模型係BCMA的晶體結構（PDB碼：1XU2）及BCMB69游離Fab結構。以PHENIX細化(refine)該些結構(Adams, P. D., Gopal, K., Grosse-Kunstleve, R. W., Hung, L. W., Ioerger, T. R., McCoy, A. J., Moriarty, N. W., Pai, R. K., Read, R. J., Romo, T. D., Sacchettini, J. C., Sauter, N. K., Storoni, L. C. & Terwilliger, T. C. (2004). Recent developments in the PHENIX software for automated crystallographic structure determination. *J Synchrotron Radiat* 11: 53-5.)，並利用

COOT進行模型調整(Emsley P. & Cowtan, K. (2004). Coot: Model building tools for molecular graphics.*Acta Crystallogr.*D60: 2126-2132)。所有其他結晶學計算皆用CCP4程式套組(Collaborative Computational Project Number 4, 1994)來執行。所有分子圖形皆用PyMol來產生(DeLano, W. (2002). The PyMOL molecular graphics system. *Palo Alto, CA, USA; Delano Scientific*)。

【0235】 BCMB69游離Fab結構及複合體兩者的統計數據係顯示於表6中。

表6：BCMA/BCMB69 Fab複合體及游離BCMB69 Fab的結晶學數據

	複合體	**游離 Fab**
CBIS 中的結構 *ID*	PS41	PS40
晶體數據		
結晶溶液		
0.1M 緩衝液	Mes pH 6.5	Mes pH 6.5
沉澱劑	25% PEG 3 kDa	2 M $(NH_4)_2SO_4$
添加劑	0.2 M $MgCl_2$	5% MPD
空間群	$P2_1$	$P2_12_12_1$
分子/不對稱單元	2	1
單位晶胞		
a, b, c (Å)	62.9, 87.1, 88.7	64.3, 71.1, 123.0
α, β, γ (°)	90.0, 94.8, 90.0	90.0, 90.0, 90.0
溶劑含量(%)	47	56
X 射線數據*		
解析度(Å)	50.00 至 2.00	50.00 至 2.70
最高解析度外殼(Highest Resolution Shell) (Å)	(2.07 至 2.00)	(2.75 至 2.70)
所測得之反射	235,905	91,256
完整度(Completeness) (%)	99.9 (99.8)	99.9 (99.9)
冗餘度(Redundancy)	3.7 (3.6)	5.7 (4.8)
R_{sym} (%)	10.0 (52.7)	14.8 (51.9)
$\langle I/\sigma \rangle$	13.3 (2.9)	13.5 (3.1)
細化		
解析度(Å)	45.4 至 2.0	34.2 至 2.7
反射次數	64,157	15,890
所有原子數目	7,001	3,149
水分子數目	89	10
R_{work} / R_{free} (%)	19.0 / 23.7	18.5 / 24.0
鍵長 RMSD (Å)	0.009	0.004
鍵角 RMSD (°)	1.190	0.869

平均 B 因子(Å^2)	31.0	51.1
MolProbity		
偏好的 Ramachandran(%)	97.32	96.86
允許的 Ramachandran(%)	2.68	2.90
Ramachandran 離群值(%)	0.00	0.24
旋轉異構體離群值(%)	0.39	0.59
衝突評分(Clash score)	3.20	1.96

表位、互補位、及交互作用

【0236】BCMB69辨識由BCMA的β髮夾(β–hairpin)區域中的殘基（殘基Y13至H19）及螺旋-圈環-螺旋區域中的殘基（殘基L26、R27、及N31至L35）所構成的構形表位（圖3及圖4）。BCMB69表位包含在BCMA上約830 Å^{2}的面積且含有配體結合DXL模體（β髮夾的I型轉折(type I turn)中的殘基D15至L18），其突出至由抗體互補決定區(CDR)內襯的淺凹槽。白胺酸17（在DXL轉折的尖端）被完全埋入抗體凹槽內，並與BCMB69有廣泛交互作用。另一個普遍的表位殘基係Arg27，其係位於3_{10}-螺旋h1上，並與重鏈CDR形成數個氫鍵接觸。

【0237】BCMB69互補位由除了CDR-L1以外的所有CDR殘基構成（圖2及圖3）。與輕鏈相比，重鏈與BCMA具有兩倍數量之接觸。在CDR-H3圈環尖端的小側鏈(102-GAVAG-106)促進CDR-H3插入BCMA，並建立廣泛的抗體/抗原接觸（總接觸的40%是由CDR-H3形成）。BCMB69 CDR以CDR-L2（殘基Y48、D52、P54、S55）、CDR-H1（殘基G32至Y34）、及CDR-H3 (D101、A103、V104、Y110)緊密結合(pack)至BCMA椅子狀結構的凹面上，並接觸由h1螺旋及h1h2圈環形成的「椅座(seat)」，同時CDR-L3（殘基W90、S92、D95）、CDR-H1 (F35)、CDR-H2 (Y54、Y60)、及CDR-H3 (H100、G102、A103、A105)與BCMA β髮夾

形成的「椅背(back)」交互作用。「椅腿(chair leg)」（h2螺旋）中唯一的表位殘基Leu35與CDR-L2殘基D52具有凡得瓦(van der Waals)接觸。

【0238】BCMA具有一小（約50個殘基）且密實的胞外域。可供非競爭性抗體或配體與BCMA結合的表面有限。大部分的BCMB69表位殘基亦為APRIL（14個表位殘基中的12個）及BAFF（14個殘基中的9個）的結合殘基。就BCMA最高親和力配體APRIL而言，不共享的表位殘基僅有F14及S16（圖2B），而就BAFF而言不共享的殘基係F14、L26、T32、P33、及L35。兩種配體及BCMB69皆包埋DXL圈環。

提出的BCMB69作用機制

【0239】BCMB69係用於將T細胞重新導向至MM癌細胞的候選者。預期由BCMB69 ×抗CD3雙特異性抗體媒介之癌細胞殺滅，不會因BCMB69表位的結構和位置而受損。表位的可接觸位置允許BCMB69 Fab臂與膜結合BCMA結合，同時另一個Fab臂仍與T細胞膜中的CD3結合。

【0240】BCMB69亦可透過對BCMA結合位點的立體阻障及直接競爭來破壞漿細胞中的APRIL及BAFF傳訊路徑。將BCMA/BCMB69結構覆蓋至BCMA/APRIL結構及BCMA/BAFF結構上(Liu, Y., Hong, X., Kappler, J., Jiang, L., Zhang, R., Xu, L., Pan, C.H., Martin, W.E., Murphy, R.C., Shu, H.B., Dai, S. & Zhang, G. (2003). *Nature* 423: 49-56; Hymowitz, S.G., Patel, D.R., Wallweber, H.J.A., Runyon, S., Yan, M., Yin, J., Shriver, S.K., Gordon, N.C., Pan, B., Skelton, N.J., Kelley, R.F. & Starovasnik, M.A. (2005). *J. Biol. Chem.* 280: 7218-7227.)，顯示BCMB69與APRIL、BAFF之間的衝突區（圖2B與圖4A及圖4B），這使得BCMA不可能同時與抗體及天然配體結合。APRIL及BAFF可利用其他受體諸如TACI

及BAFF-R傳訊，因此BCMA剔除小鼠仍可存活。因此，透過BCMA阻障來阻斷APRIL及BAFF活性，可能不會對MM患者造成嚴重毒性。

實例7：基於結構的BCMB69突變設計

【0241】未經結合之BCMB69可變域的轉譯後修飾模體及聚集風險之計算評估，顯露D101至G102殘基(CDR-H3)異構化之中度風險，及可能構成聚集風險之CDR區中之486 $Å^2$疏水性區塊(hydrophobic patch)。區塊中最暴露的疏水性殘基係I58 (CDR-H2)、F35 (CDR-H1)、及V104（CDR-H3；V104在Fv同源模型中係有關，但在Fab晶體結構中則否）。為了除去BCMB69可變域中的異構化及聚集風險，合理設計各種突變（表7）。

表7：BCMB69突變組

組	殖株 ID	突變	目標
1	BCMB117	$G152A^L$	新的親代背景
1	BCMB118	$G102A^H$, $F35Y^H$, $V104T^H$, $G152A^L$	除去異構化並降低疏水性
1	BCMB119	$D101E^H$, $F35Y^H$, $V104T^H$, $G152A^L$	除去異構化並降低疏水性
1	BCMB120	$D101S^H$, $F35Y^H$, $V104T^H$, $G152A^L$	除去異構化並降低疏水性
1	BCMB121	$G32S^H$, $F35Y^H$, $I58S^H$, $P37K^L$, $V44L^L$, $V83D^L$, $G152A^L$	VH 及 VL 生殖系突變(germline mutation)以降低疏水性
1	BCMB122	$G32S^H$, $F35Y^H$, $I58S^H$, $G152A^L$	VH 生殖系突變(germline mutation)以降低疏水性
1	BCMB123	$G32S^H$, $G152A^L$	獲取單一突變的效果，降低疏水性
1	BCMB124	$F35Y^H$, $G152A^L$	獲取單一突變的效果，降低疏水性
1	BCMB125	$D101E^H$, $G152A^L$	獲取單一突變的效果，除去異構化
1	BCMB126	$D101S^H$, $G152A^L$	獲取單一突變的效果，除去異構化
1	BCMB127	$G102A^H$, $G152A^L$	獲取單一突變的效果，除去異構化
1	BCMB128	$V104T^H$, $G152A^L$	獲取單一突變的效果，降低疏水性
1	BCMB129	$I58S^H$, $G152A^L$	獲取單一突變的效果，降低疏水性
1	BCMB130	$G102A^H$, $F35Y^H$, $I58S^H$, $G152A^L$	除去異構化並降低疏水性
1	BCMB131	$D101E^H$, $F35Y^H$, $I58S^H$, $G152A^L$	除去異構化並降低疏水性
2	BCMB176	$G32S^H$, $V104T^H$, $G152A^L$	VH 及 VL 生殖系突變(germline

			mutation)以降低疏水性
2	BCMB177	**I58R^{H},** G32S^{H}, V104T^{H}, G152A^{L}	VH 及 VL 生殖系突變(germline mutation)以降低疏水性
2	BCMB178	**I58W^{H},** G32S^{H}, V104T^{H}, G152A^{L}	VH 及 VL 生殖系突變(germline mutation)以降低疏水性
2	BCMB179	**D101Q^{H},** G32S^{H}, V104T^{H}, G152A^{L}	破壞異構化及疏水性
2	BCMB180	**D101H^{H},** G32S^{H}, V104T^{H}, G152A^{L}	破壞異構化及疏水性
2	BCMB181	**D101W^{H},** G32S^{H}, V104T^{H}, G152A^{L}	VH 及 VL 生殖系突變(germline mutation)以降低疏水性及除去異構化
2	BCMB182	**D101Y^{H},** G32S^{H}, V104T^{H}, G152A^{L}	VH 及 VL 生殖系突變(germline mutation)以降低疏水性及除去異構化
2	BCMB183	**I58R^{H}, D101Q^{H},** G32S^{H}, V104T^{H}, G152A^{L}	VH 及 VL 生殖系突變(germline mutation)以降低疏水性及除去異構化
2	BCMB184	**I58R^{H}, D101H^{H},** G32S^{H}, V104T^{H}, G152A^{L}	VH 及 VL 生殖系突變(germline mutation)以降低疏水性及除去異構化
2	BCMB185	**I58R^{H}, D101Y^{H},** G32S^{H}, V104T^{H}, G152A^{L}	VH 及 VL 生殖系突變(germline mutation)以降低疏水性及除去異構化
2	BCMB186	**I58W^{H}, D101Q^{H},** G32S^{H}, V104T^{H}, G152A^{L}	VH 及 VL 生殖系突變(germline mutation)以降低疏水性及除去異構化
2	BCMB187	**I58W^{H}, D101H^{H},** G32S^{H}, V104T^{H}, G152A^{L}	VH 及 VL 生殖系突變(germline mutation)以降低疏水性及除去異構化
2	BCMB188	**I58W^{H}, D101Y^{H},** G32S^{H}, V104T^{H}, G152A^{L}	VH 及 VL 生殖系突變(germline mutation)以降低疏水性及除去異構化

【0242】基於結構的BCMB69突變的CDR序列及VH與VL序列係分別說明於表8及表9中。

表8：BCMB69突變的CDR序列（括號中提供相關的SEQ ID NO）

ID	HC-CDR1	HC-CDR2	HC-CDR3	LC-CDR1	LC-CDR2	LC-CDR3
BCMB117	SGSYFWG (4)	SIYYSGITYYNPSLKS (5)	H**DG**AVAGLFDY (6)	GGNNIGSKSVH (24)	DDSDRPS (25)	QVWDSSSDHVV (26)
BCMB118	SGSYFWG (4)	SIYYSGITYYNPSLKS (5)	HDAATAGLFDY (9)	GGNNIGSKSVH (24)	DDSDRPS (25)	QVWDSSSDHVV (26)
BCMB119	SGSYFWG (4)	SIYYSGITYYNPSLKS (5)	HEGATAGLFDY (12)	GGNNIGSKSVH (24)	DDSDRPS (25)	QVWDSSSDHVV (26)
BCMB120	SGSYFWG (4)	SIYYSGITYYNPSLKS (5)	HSGATAGLFDY (15)	GGNNIGSKSVH (24)	DDSDRPS (25)	QVWDSSSDHVV (26)
BCMB121	SSSYYWG (7)	SIYYSGSTYYNPSLKS (8)	H**DG**AVAGLFDY (6)	GGNNIGSKSVH (24)	DDSDRPS (25)	QVWDSSSDHVV (26)
BCMB122	SSSYYWG (7)	SIYYSGSTYYNPSLKS (8)	H**DG**AVAGLFDY (6)	GGNNIGSKSVH (24)	DDSDRPS (25)	QVWDSSSDHVV (26)
BCMB123	SSSYYWG (7)	SIYYSGITYYNPSLKS (5)	H**DG**AVAGLFDY (6)	GGNNIGSKSVH (24)	DDSDRPS (25)	QVWDSSSDHVV (26)
BCMB124	SGSYYWG (10)	SIYYSGITYYNPSLKS (5)	H**DG**AVAGLFDY (6)	GGNNIGSKSVH (24)	DDSDRPS (25)	QVWDSSSDHVV (26)
BCMB125	SGSYFWG (4)	SIYYSGITYYNPSLKS (5)	HEGAVAGLFDY (16)	GGNNIGSKSVH (24)	DDSDRPS (25)	QVWDSSSDHVV (26)
BCMB126	SGSYFWG (4)	SIYYSGITYYNPSLKS (5)	HSGAVAGLFDY (17)	GGNNIGSKSVH (24)	DDSDRPS (25)	QVWDSSSDHVV (26)
BCMB127	SGSYFWG (4)	SIYYSGITYYNPSLKS (5)	HDAAVAGLFDY (18)	GGNNIGSKSVH (24)	DDSDRPS (25)	QVWDSSSDHVV (26)
BCMB128	SGSYFWG (4)	SIYYSGITYYNPSLKS (5)	HDGATAGLFDY (19)	GGNNIGSKSVH (24)	DDSDRPS (25)	QVWDSSSDHVV (26)
BCMB129	SGSYFWG (4)	SIYYSGSTYYNPSLKS (8)	H**DG**AVAGLFDY (6)	GGNNIGSKSVH (24)	DDSDRPS (25)	QVWDSSSDHVV (26)
BCMB130	SGSYYWG (10)	SIYYSGSTYYNPSLKS (8)	HDAAVAGLFDY (18)	GGNNIGSKSVH (24)	DDSDRPS (25)	QVWDSSSDHVV (26)
BCMB131	SGSYYWG	SIYYSGSTYYNPSLKS	HEGAVAGLFDY	GGNNIGSKSVH	DDSDRPS	QVWDSSSDHVV

ID	HC-CDR1	HC-CDR2	HC-CDR3	LC-CDR1	LC-CDR2	LC-CDR3
	(10)	(8)	(16)	(24)	(25)	(26)
BCMB176	SSSYFWG (13)	SIYYSGITYYNPSLKS (5)	HDGATAGLFDY (19)	GGNNIGSKSVH (24)	DDSDRPS (25)	QVWDSSSDHVV (26)
BCMB177	SSSYFWG (13)	SIYYSGSTYYNPSLKS (8)	HDGATAGLFDY (19)	GGNNIGSKSVH (24)	DDSDRPS (25)	QVWDSSSDHVV (26)
BCMB178	SSSYFWG (13)	SIYYSGWTYYNPSLKS (11)	HDGATAGLFDY (19)	GGNNIGSKSVH (24)	DDSDRPS (25)	QVWDSSSDHVV (26)
BCMB179	SSSYFWG (13)	SIYYSGITYYNPSLKS (5)	HQGATAGLFDY (20)	GGNNIGSKSVH (24)	DDSDRPS (25)	QVWDSSSDHVV (26)
BCMB180	SSSYFWG (13)	SIYYSGITYYNPSLKS (5)	HHGATAGLFDY (21)	GGNNIGSKSVH (24)	DDSDRPS (25)	QVWDSSSDHVV (26)
BCMB181	SSSYFWG (13)	SIYYSGITYYNPSLKS (5)	HWGATAGLFDY (22)	GGNNIGSKSVH (24)	DDSDRPS (25)	QVWDSSSDHVV (26)
BCMB182	SSSYFWG (13)	SIYYSGITYYNPSLKS (5)	HYGATAGLFDY (23)	GGNNIGSKSVH (24)	DDSDRPS (25)	QVWDSSSDHVV (26)
BCMB183	SSSYFWG (13)	SIYYSGRTYYNPSLKS (14)	HQGATAGLFDY (20)	GGNNIGSKSVH (24)	DDSDRPS (25)	QVWDSSSDHVV (26)
BCMB184	SSSYFWG (13)	SIYYSGRTYYNPSLKS (14)	HHGATAGLFDY (21)	GGNNIGSKSVH (24)	DDSDRPS (25)	QVWDSSSDHVV (26)
BCMB185	SSSYFWG (13)	SIYYSGRTYYNPSLKS (14)	HYGATAGLFDY (23)	GGNNIGSKSVH (24)	DDSDRPS (25)	QVWDSSSDHVV (26)
BCMB186	SSSYFWG (13)	SIYYSGWTYYNPSLKS (11)	HQGATAGLFDY (20)	GGNNIGSKSVH (24)	DDSDRPS (25)	QVWDSSSDHVV (26)
BCMB187	SSSYFWG (13)	SIYYSGWTYYNPSLKS (11)	HHGATAGLFDY (21)	GGNNIGSKSVH (24)	DDSDRPS (25)	QVWDSSSDHVV (26)
BCMB188	SSSYFWG (13)	SIYYSGWTYYNPSLKS (11)	HYGATAGLFDY (23)	GGNNIGSKSVH (24)	DDSDRPS (25)	QVWDSSSDHVV (26)

表9：BCMB69突變的Vh及Vl序列

mAb AA ID	VH 胺基酸序列	SEQ ID NO:	VL 胺基酸序列	SEQ ID NO
BCMB117	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSGSYFWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGITYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARHDGAVAGLFDYWGQGTLVTVSSA	57	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQPPGQAPVVVVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEAVYYCQVWDSSSDHVVFGGGTKLTVL	28
BCMB118	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSGSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGITYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARHDAATAGLFDYWGQGTLVTVSSA	29	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQPPGQAPVVVVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEAVYYCQVWDSSSDHVVFGGGTKLTVL	28
BCMB119	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSGSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGITYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARHEGATAGLFDYWGQGTLVTVSSA	31	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQPPGQAPVVVVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEAVYYCQVWDSSSDHVVFGGGTKLTVL	28
BCMB120	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSGSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGITYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARHSGATAGLFDYWGQGTLVTVSSA	32	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQPPGQAPVVVVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEAVYYCQVWDSSSDHVVFGGGTKLTVL	28
BCMB121	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARHDGAVAGLFDYWGQGTLVTVSSA	33	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHVVFGGGTKLTVL	30
BCMB122	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARHDGAVAGLFDYWGQGTLVTVSSA	33	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQPPGQAPVVVVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEAVYYCQVWDSSSDHVVFGGGTKLTVL	28
BCMB123	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYFWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGITYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARHDGAVAGLFDYWGQGTLVTVSSA	34	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQPPGQAPVVVVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEAVYYCQVWDSSSDHVVFGGGTKLTVL	28
BCMB124	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSGSYYWGWIRQP	35	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQP	28

	PGKGLEWIGSIYYSGITYYNP SLKSRVTISVDTSKNQFSLKL SSVTAADTAVYYCARHDGA VAGLFDYWGQGTLVTVSSA		PGQAPVVVVYDDSDRPSGI PERFSGSNSGNTATLTISRV EAGDEAVYYCQVWDSSSD HVVFGGGTKLTVL	
BCM B125	QLQLQESGPGLVKPSETLSLT CTVSGGSISSGSYFWGWIRQP PGKGLEWIGSIYYSGITYYNP SLKSRVTISVDTSKNQFSLKL SSVTAADTAVYYCARHEGAV AGLFDYWGQGTLVTVSSA	36	SYVLTQPPSVSVAPGQTAR ITCGGNNIGSKSVHWYQQP PGQAPVVVVYDDSDRPSGI PERFSGSNSGNTATLTISRV EAGDEAVYYCQVWDSSSD HVVFGGGTKLTVL	28
BCM B126	QLQLQESGPGLVKPSETLSLT CTVSGGSISSGSYFWGWIRQP PGKGLEWIGSIYYSGITYYNP SLKSRVTISVDTSKNQFSLKL SSVTAADTAVYYCARHSGAV AGLFDYWGQGTLVTVSSA	37	SYVLTQPPSVSVAPGQTAR ITCGGNNIGSKSVHWYQQP PGQAPVVVVYDDSDRPSGI PERFSGSNSGNTATLTISRV EAGDEAVYYCQVWDSSSD HVVFGGGTKLTVL	28
BCM B127	QLQLQESGPGLVKPSETLSLT CTVSGGSISSGSYFWGWIRQP PGKGLEWIGSIYYSGITYYNP SLKSRVTISVDTSKNQFSLKL SSVTAADTAVYYCARHDAA VAGLFDYWGQGTLVTVSSA	38	SYVLTQPPSVSVAPGQTAR ITCGGNNIGSKSVHWYQQP PGQAPVVVVYDDSDRPSGI PERFSGSNSGNTATLTISRV EAGDEAVYYCQVWDSSSD HVVFGGGTKLTVL	28
BCM B128	QLQLQESGPGLVKPSETLSLT CTVSGGSISSGSYFWGWIRQP PGKGLEWIGSIYYSGITYYNP SLKSRVTISVDTSKNQFSLKL SSVTAADTAVYYCARHDGAT AGLFDYWGQGTLVTVSSA	39	SYVLTQPPSVSVAPGQTAR ITCGGNNIGSKSVHWYQQP PGQAPVVVVYDDSDRPSGI PERFSGSNSGNTATLTISRV EAGDEAVYYCQVWDSSSD HVVFGGGTKLTVL	28
BCM B129	QLQLQESGPGLVKPSETLSLT CTVSGGSISSGSYFWGWIRQP PGKGLEWIGSIYYSGSTYYNP SLKSRVTISVDTSKNQFSLKL SSVTAADTAVYYCARHDGA VAGLFDYWGQGTLVTVSSA	40	SYVLTQPPSVSVAPGQTAR ITCGGNNIGSKSVHWYQQP PGQAPVVVVYDDSDRPSGI PERFSGSNSGNTATLTISRV EAGDEAVYYCQVWDSSSD HVVFGGGTKLTVL	28
BCM B130	QLQLQESGPGLVKPSETLSLT CTVSGGSISSGSYYWGWIRQP PGKGLEWIGSIYYSGSTYYNP SLKSRVTISVDTSKNQFSLKL SSVTAADTAVYYCARHDAA VAGLFDYWGQGTLVTVSSA	41	SYVLTQPPSVSVAPGQTAR ITCGGNNIGSKSVHWYQQP PGQAPVVVVYDDSDRPSGI PERFSGSNSGNTATLTISRV EAGDEAVYYCQVWDSSSD HVVFGGGTKLTVL	28
BCM B131	QLQLQESGPGLVKPSETLSLT CTVSGGSISSGSYYWGWIRQP PGKGLEWIGSIYYSGSTYYNP SLKSRVTISVDTSKNQFSLKL SSVTAADTAVYYCARHEGAV AGLFDYWGQGTLVTVSSA	42	SYVLTQPPSVSVAPGQTAR ITCGGNNIGSKSVHWYQQP PGQAPVVVVYDDSDRPSGI PERFSGSNSGNTATLTISRV EAGDEAVYYCQVWDSSSD HVVFGGGTKLTVL	28
BCM B176	QLQLQESGPGLVKPSETLSLT CTVSGGSISSSSYFWGWIRQP PGKGLEWIGSIYYSGITYYNP SLKSRVTISVDTSKNQFSLKL SSVTAADTAVYYCARH	58	SYVLTQPPSVSVAPGQTAR ITCGGNNIGSKSVHWYQQP PGQAPVVVVYDDSDRPSGI PERFSGSNSGNTATLTISRV EAGDEAVYYCQVWDSSSD	28

	DGATAGLFDYWGQGTLVTVSSA		HVVFGGGTKLTVL	
BCMB177	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYFWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGRTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARHDGATAGLFDYWGQGTLVTVSSA	43	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQPPGQAPVVVVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEAVYYCQVWDSSSDHVVFGGGTKLTVL	28
BCMB178	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYFWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGWTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARHDGATAGLFDYWGQGTLVTVSSA	44	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQPPGQAPVVVVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEAVYYCQVWDSSSDHVVFGGGTKLTVL	28
BCMB179	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYFWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGITYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARHQGATAGLFDYWGQGTLVTVSSA	45	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQPPGQAPVVVVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEAVYYCQVWDSSSDHVVFGGGTKLTVL	28
BCMB180	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYFWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGITYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARHHGATAGLFDYWGQGTLVTVSSA	46	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQPPGQAPVVVVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEAVYYCQVWDSSSDHVVFGGGTKLTVL	28
BCMB181	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYFWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGITYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARHWGATAGLFDYWGQGTLVTVSSA	47	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQPPGQAPVVVVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEAVYYCQVWDSSSDHVVFGGGTKLTVL	28
BCMB182	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYFWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGITYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARHYGATAGLFDYWGQGTLVTVSSA	48	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQPPGQAPVVVVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEAVYYCQVWDSSSDHVVFGGGTKLTVL	28
BCMB183	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYFWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGRTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARHQGATAGLFDYWGQGTLVTVSSA	49	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQPPGQAPVVVVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEAVYYCQVWDSSSDHVVFGGGTKLTVL	28
BCMB184	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYFWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGRTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARHHGATAGLFDYWGQGTLVTVSSA	50	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQPPGQAPVVVVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEAVYYCQVWDSSSDHVVFGGGTKLTVL	28

BCMB185	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYFWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGRTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARHYGATAGLFDYWGQGTLVTVSSA	51	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQPPGQAPVVVVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEAVYYCQVWDSSSDHVVFGGGTKLTVL	28
BCMB186	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYFWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGWTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARHQGATAGLFDYWGQGTLVTVSSA	52	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQPPGQAPVVVVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEAVYYCQVWDSSSDHVVFGGGTKLTVL	28
BCMB187	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYFWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGWTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARHHGATAGLFDYWGQGTLVTVSSA	53	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQPPGQAPVVVVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEAVYYCQVWDSSSDHVVFGGGTKLTVL	28
BCMB188	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYFWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGWTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARHYGATAGLFDYWGQGTLVTVSSA	54	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQPPGQAPVVVVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEAVYYCQVWDSSSDHVVFGGGTKLTVL	28

【0243】因此，除了BCMB69以外，如實例3中所述表現及純化28個突變體，並如實例4中所述藉由流動式細胞測量術表徵彼等與BCMA表現細胞之結合。28個突變體中有七個結合至表現BCMA的細胞，將彼等繼續使用以達製造BCMA × CD3雙特異性組的目的。

實例8：製備BCMA及CD3抗體為IgG4 S228P、L234A、L235A雙特異性格式

【0244】BCMA抗體係表現為IgG4，其具有Fc取代S228P、L234A、及L235A（編號依據EU索引）。亦產生單特異性抗CD3抗體CD3B19，其包含分別具有序列SEQ ID NO: 55及SEQ ID NO: 56的重鏈及輕鏈。

【0245】該等單特異性抗體係使用標準方法利用Protein A管柱（HiTrap MabSelect SuRe管柱）純化。在沖提之後，將儲集物透析至D-PBS, pH 7.2。

【0246】雙特異性BCMA × CD3抗體係藉由在活體外Fab臂交換中組合單特異性CD3 mAb及單特異性BCMA mAb而產生（如WO2011/131746中所述）。簡言之，將約1至20 mg/mL之1:1莫耳比的抗BCMA/抗CD3抗體（或在某些情況下，以額外6%之一個親代抗體有來耗盡另一個親代抗體）在PBS、pH 7至7.4及75 mM 2-巯乙醇胺(2-MEA)中混合在一起，並在31ºC下培養5小時，接著使用標準方法經由透析、滲濾(diafiltration)、切向流過濾及/或旋轉細胞過濾來移除2-MEA。藉由陽離子交換(CEX) HPLC或疏水性交互作用層析(HIC) HPLC來分析雙特異性BCMA × CD3抗體的形成。如果希望的話，藉由製備型CEX或HIC精製雙特異性BCMA × CD3抗體以移除殘餘的親代。

【0247】代表性BCMA × CD3雙特異性抗體之重鏈及輕鏈係示於下表10。BCMB178當與CD3臂組合時表現不佳，因此沒有被進一步表徵。

表10：雙特異性抗體之重鏈及輕鏈序列

Ab		**胺基酸序列**
BCMB72	重鏈 1 CD3B219 (SEQ ID NO:55)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYA MNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYAAS VKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYC ARHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPP CPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP SSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL DSDGSFLLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSLGK
	輕鏈 1 CD3B219 (SEQ	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNY ANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGS

	ID NO:56)	LLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVF GGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKAT LVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPS KQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHE GSTVEKTVAPTECS
	重鏈 2 BCMB69 (SEQ ID NO:65)	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSGSYF WGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGITYYNPSLKSRV TISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARHDGA VAGLFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSR STSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS RLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSLGK
	輕鏈 2 BCMB69 (SEQ ID NO:76)	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHW YQQPPGQAPVVVVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGN TATLTISRVEAGDEAVYYCQVWDSSSDHVVFGG GTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLV CLISDFYPGAVTVAWKGDSSPVKAGVETTTPSKQ SNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGST VEKTVAPTECS
BC3B7	重鏈 1 CD3B219 (SEQ ID NO:55)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYA MNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYAAS VKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYC ARHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPP CPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP SSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL DSDGSFLLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSLGK
	輕鏈 1 CD3B219 (SEQ ID NO:56)	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNY ANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGS LLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVF GGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKAT LVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPS KQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHE GSTVEKTVAPTECS
	重鏈 2 BCMB117 (SEQ ID	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSGSYF WGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGITYYNPSLKSRV TISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARHDGA VAGLFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSR

	NO:67)	STSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS RLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSLGK
	輕鏈 2 BCMB117 (SEQ ID NO:66)	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHW YQQPPGQAPVVVVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGN TATLTISRVEAGDEAVYYCQVWDSSSDHVVFGG GTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLV CLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQ SNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGST VEKTVAPTECS
BC3B8	重鏈 1 CD3B219 (SEQ ID NO:55)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYA MNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYAAS VKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYC ARHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPP CPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP SSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL DSDGSFLLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSLGK
	輕鏈 1 CD3B219 (SEQ ID NO:56)	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNY ANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGS LLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVF GGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKAT LVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPS KQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHE GSTVEKTVAPTECS
	重鏈 2 BCMB123 (SEQ ID NO:68)	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYF WGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGITYYNPSLKSRV TISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARHDGA VAGLFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSR STSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYP

		SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS RLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSLGK
	輕鏈 2 BCMB123 (SEQ ID NO:66)	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHW YQQPPGQAPVVVVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGN TATLTISRVEAGDEAVYYCQVWDSSSDHVVFGG GTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLV CLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQ SNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGST VEKTVAPTECS
BC3B9	重鏈 1 CD3B219 (SEQ ID NO:55)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYA MNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYAAS VKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYC ARHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPP CPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP SSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL DSDGSFLLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSLGK
	輕鏈 1 CD3B219 (SEQ ID NO:56)	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNY ANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGS LLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVF GGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKAT LVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPS KQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHE GSTVEKTVAPTECS
	重鏈 2 BCMB128 (SEQ ID NO:69)	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSGSYF WGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGITYYNPSLKSRV TISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARHDGA TAGLFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSR STSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS RLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSLGK
	輕鏈 2 BCMB128	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHW YQQPPGQAPVVVVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGN TATLTISRVEAGDEAVYYCQVWDSSSDHVVFGG

	(SEQ ID NO:66)	GTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLV CLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQ SNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGST VEKTVAPTECS
BC3B10	重鏈 1 CD3B219 (SEQ ID NO:55)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYA MNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYAAS VKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYC ARHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPP CPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP SSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL DSDGSFLLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSLGK
	輕鏈 1 CD3B219 (SEQ ID NO:56)	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNY ANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGS LLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVF GGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKAT LVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPS KQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHE GSTVEKTVAPTECS
	重鏈 2 BCMB129 (SEQ ID NO:70)	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSGSYF WGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRV TISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARHDGA VAGLFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSR STSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS RLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSLGK
	輕鏈 2 BCMB129 (SEQ ID NO:66)	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHW YQQPPGQAPVVVVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGN TATLTISRVEAGDEAVYYCQVWDSSSDHVVFGG GTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLV CLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQ SNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGST VEKTVAPTECS
BC3B11	重鏈 1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYA MNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYAAS

	CD3B219 (SEQ ID NO:55)	VKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYC ARHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPP CPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP SSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL DSDGSFLLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSLGK
	輕鏈 1 CD3B219 (SEQ ID NO:56)	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNY ANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGS LLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVF GGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKAT LVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPS KQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHE GSTVEKTVAPTECS
	重鏈 2 BCMB176 (SEQ ID NO:71)	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYF WGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGITYYNPSLKSRV TISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARHDGA TAGLFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSR STSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS RLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSLGK
	輕鏈 2 BCMB176 (SEQ ID NO:66)	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHW YQQPPGQAPVVVVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGN TATLTISRVEAGDEAVYYCQVWDSSSDHVVFGG GTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLV CLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQ SNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGST VEKTVAPTECS
BC3B12	重鏈 1 CD3B219 (SEQ ID NO:55)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYA MNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYAAS VKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYC ARHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPP CPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF

		NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
	輕鏈 1 CD3B219 (SEQ ID NO:56)	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
	重鏈 2 BCMB177 (SEQ ID NO:72)	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYFWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGRTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARHDGATAGLFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
	輕鏈 2 BCMB177 (SEQ ID NO:66)	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQPPGQAPVVVVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEAVYYCQVWDSSSDHVVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

實例9：BCMA抗體及BCMA X CD3雙特異性分子的BCMA親和力判定

【0248】使用表面電漿共振(SPR)測量用來產生CD3雙特異性分子之BCMA抗體對人類BCMA的親和力值。SPR所遵循的方案與實例4中所述者類似。表11中所示結果指示所有樣本以不同的親和力結合至單體BCMA抗原。親代mAb (BCMB69)具有約1.4 nM的結合親和力。BCMB117及BCMB128具有在BCMB69範圍內的親和力，而BCMB123、BCMB129、BCMB176、及BCMB177

則由於更快的解離速率而具有相對較弱的親和力（3至15倍）。為了評估數據再現性，所有樣本以至少一式三份運行並報告標準偏差。

表 11：由 SPR 測得之抗 BCMA mAb 對單體人類 BCMA 的結合親和力

mAb	k_{on} (× 10^6 1/Ms)	k_{off} (× 10^{-3} 1/s)	K_D (nM)
BCMB69	2.74 ± 0.02	3.95 ± 0.19	1.44 ± 0.05
BCMB117	2.57 ± 0.21	3.42 ± 0.25	1.34 ± 0.20
BCMB123	2.14 ± 0.04	11.0 ± 1.33	5.12 ± 0.69
BCMB128	4.20 ± 0.13	8.70 ± 0.61	2.07 ± 0.21
BCMB129	1.54 ± 0.06	8.43 ± 0.44	5.47 ± 0.13
BCMB176	4.00 ± 0.05	28.8 ± 1.25	7.18 ± 0.22
BCMB177	2.80 ± 0.22	56.6 ± 5.54	20.2 ± 1.57

【0249】亦使用SPR測量BCMA × CD3雙特異性抗體對人類及食蟹獼猴BCMA的親和力值。表12中之結果指示所有樣本以不同的親和力結合至Fc-BCMA抗原。BC3B7及BC3B9對人類BCMA的親和力在BCMB72的範圍內，而其餘雙特異性分子當與BCMB72相比時則具有弱上2至3倍的親和力。對食蟹獼猴(Cy) Fc-BCMA而言，BC3B7及BC3B9的親和力比BCMB72強2至3倍（K_D分別為0.65與0.37 nM），而其餘mAb則保留了與BCMB72相似的結合(K_D約為0.8至1.2 nM)。為了評估數據再現性，所有樣本以至少一式三份運行並報告標準偏差。

表 12：由 SPR 測得之 BCMA × CD3 抗體對 Fc-BCMA 的結合親和力

BCMA × CD3	Fc-BCMA	k_{on1} (× 10^6 1/Ms)	k_{off1} (× 10^{-3} 1/s)	**K_{D1} (nM)**	k_{on2} (× 10^{-3} 1/s)	k_{off2} (× 10^{-4} 1/s)	**最終 K_D (nM)**
BCMB72 (B69 x B219)	Hu	1.35±0.11	2.08±0.80	**1.51±0.45**	6.56±1.27	2.79±0.55	**0.06±0.01**
	Cy	1.26±0.12	4.83±0.28	**3.87±0.57**	1.06±0.10	7.85±1.04	**1.65±0.26**
BC3B7 (B117 x B219)	Hu	1.48±0.09	1.58±0.30	**1.07±0.20**	4.97±0.67	2.94±0.54	**0.06±0.01**
	Cy	1.38±0.07	4.17±0.19	**3.04±0.25**	1.50±0.06	4.15±0.53	**0.65±0.04**
BC3B8 (B123 x	Hu	1.35±0.08	1.23±0.24	**0.91±0.16**	3.13±0.48	5.94±0.82	**0.14±0.01**
	Cy	1.09±0.05	7.34±0.21	**6.77±0.48**	1.94±0.08	3.26±0.43	**0.97±0.09**

B219)							
BC3B9 (B128 x B219)	Hu	2.58±0.14	2.05±0.75	**0.79±0.25**	5.06±1.12	3.64±0.36	**0.05±0.01**
	Cy	2.18±0.06	4.23±0.23	**1.94±0.14**	1.60±0.09	3.76±0.52	**0.37±0.04**
BC3B10 (B129 x B219)	Hu	1.02±0.07	1.55±0.31	**1.50±0.22**	4.53±0.64	5.31±1.20	**0.16±0.03**
	Cy	0.93±0.04	6.36±0.28	**6.84±0.48**	1.65±0.07	3.59±0.50	**1.22±0.17**
BC3B11 (B176 x B219)	Hu	2.26±0.16	1.32±0.15	**0.58±0.07**	2.52±0.32	6.89±1.17	**0.12±0.02**
	Cy	1.93±0.10	6.83±0.11	**3.56±0.23**	1.47±0.04	3.95±0.76	**0.75±0.11**
BC3B12 (B177 x B219)	Hu	1.78±0.09	1.29±0.05	**0.72±0.05**	1.29±0.15	5.57±0.38	**0.22±0.03**
	Cy	1.48±0.10	8.31±0.30	**5.65±0.46**	1.46±0.07	3.37±0.43	**1.06±0.15**

【0250】抗BCMA×CD3雙特異性抗體(BCMB72)對Fc融合BCMA蛋白（人類、食蟹獼猴、及小鼠）的結合親和力係使用Biacore T200系統(GE Healthcare, NJ)，藉由表面電漿共振(SPR)測量。

【0251】將鏈黴親和素衍生的感測晶片(GE Healthcare, Prod# BR-1005-31)的流動室(flow-cell) 2、3及4分別固定經生物素化的Fc融合人類、食蟹獼猴或小鼠BCMA（BCMA固定水準在12至16個回應單元(RU)之間；Fc-BCMA蛋白：人類（R&D Systems；產品編號193-FC）、食蟹獼猴（自行開發(in-house)；目錄編號BCMW6.001）及小鼠（R&D Systems；產品編號593-BC）係在內部(in-house)經生物素化）。流動室1上不固定任何蛋白且係用作為參考表面。結合動力學實驗係在25ºC下於運行緩衝液(PBS pH 7.4, 0.005% P20, 3 mM EDTA)中執行。在運行緩衝液中製備BCMB72，從100 nM起始然後5倍稀釋至0.16 nM。將該些溶液以每分鐘50 μL注射5分鐘（結合期）並藉由流動運行緩衝液15分鐘來監測解離。以每分鐘100 μL短暫注射甘胺酸(pH 1.5)及運行緩衝液來再生(regenerate)晶片表面。BCMB72與Fc-BCMA交互作用的結合動力學分析係藉由雙重參考數據來進行，即從分析物注射之已扣除參考之曲線減去由緩衝液注射所產生的曲線。使

用Biacore T200評估軟體(GE Healthcare, NJ)利用雙態結合模型進行感測圖譜(sensorgram)的全面動力學擬合。由不同BCMA物種的雙態結合模型所產生之結合親和力結果，係報告為第一複合體(K_{D1})及最終複合體(K_D)（圖5）。

實例10：在具多發性骨髓瘤背景之永生化細胞系存在下之BCMA × CD3抗體的目標特異性T細胞活化及細胞毒性潛力

【0252】評估由BCMA × CD3抗體媒介之T細胞活化。簡言之，將BCMB72 (BCMA × CD3)及對照抗體（BCMA x無效及無效x CD3）在PBS中稀釋至800 μg/ml。滴定係在96孔U底盤中以PBS製備為4倍連續稀釋液。最後一行只放入PBS（媒劑對照組）。

【0253】將目標細胞培養在添加GlutaMAX、10% FBS、及25 mM HEPES的無抗生素RPMI 1640介質（培養基）中。在設定(set-up)天（第1天），計數目標細胞，並將1000萬個細胞以1350 rpm離心3分鐘，之後將上清液丟棄。CellTrace FCSE增生染色劑係以18 μl的無菌DMSO重構，並取1 μl溶液稀釋於10 ml的無菌PBS中。將細胞團塊再懸浮於1 ml的CFSE稀釋液中，並在室溫下、避免光線直射下培養8分鐘。培養後，將1 ml的HI FBS加至細胞懸浮液，以淬熄剩餘的CFSE。將細胞以含有10% FBS的RPMI-1640洗滌兩次。將細胞重構於10 ml的RPMI中，然後計數細胞，並在表格中記錄細胞存活率(cell viability)。將細胞稀釋成每毫升2.2 ×10^5個，並在37ºC下培養直到使用。

【0254】將來自正常供體的泛T細胞於37ºC水浴中解凍，其後將冷凍小瓶的內容物轉移到50-ml錐形瓶中，並重構於15 ml的冷培養基中。接著將細胞於4ºC

以1350 rpm離心3分鐘。將上清液丟棄，並將細胞團塊重構於5至10 ml的培養基中。計數T細胞並記錄存活率。接著將細胞於培養基中重構成每毫升1.1×10^6個。

【0255】將2×10^5個目標細胞加至96孔U底盤的孔中，然後加入Fc阻斷劑（至最終濃度2 mg/ml）。將所有細胞系於室溫下培養10分鐘以阻斷Fc受體活性。將1×10^5個T細胞加至孔中（效應：目標比為5:1）。混合目標細胞及T細胞後，在每孔中加入20 μl的BCMA × CD3抗體稀釋液。將盤在37ºC、5% CO_2中培養48小時。

【0256】兩天後，將盤於4ºC以1350 rpm離心3分鐘，並將100 μl的上清液轉移至一獨立盤並儲存在-80ºC以用於細胞介素釋放測定。將細胞於200 μl的PBS中洗滌，並在室溫下於50 μl的近紅外線活/死染色劑（1:200稀釋）及抗CD25 PE抗體（1:50稀釋）中培養20分鐘。接著將細胞於200 μl的FACS緩衝液中洗滌一次，且最後重構於150 μl的FACS緩衝液中。使用FACSCanto II及FlowJo 7.6分析細胞，以得出目標細胞毒性（%目標）及T細胞活化CD25+（%活T細胞）。在GraphPad Prism 6中使用具有可變斜率（四個參數）函數的非線性回歸，利用最小平方法來完成數據繪圖及擬合。

【0257】圖8顯示BCMB72促進一致的目標特異性T細胞活化，如由T細胞表面上的CD25上調所評估者。使用Fc阻斷劑以防止抗體與目標細胞之Fc受體依賴性結合。一般而言，數據點沿著所產生的擬合曲線緊密適配，且在T細胞供體之間幾乎沒有變化。$BCMA^+$細胞達到45至85%的最大活化，而$BCMA^-$細胞則為4至10%（相當於背景水準）。由使用來自多個正常供體的T細胞之兩個獨立實驗所得之EC_{50}及最大T細胞活化值的總覽係顯示於圖9中。

【0258】圖10顯示BCMB72對$BCMA^+$細胞系具有一致強烈的細胞毒性。使用Fc阻斷劑以防止BCMB72與目標細胞之Fc受體依賴性結合。一般而言，數據點沿著所產生的擬合曲線緊密適配，且在T細胞供體之間幾乎沒有變化。$BCMA^+$細胞達到62至97%的最大溶解，而$BCMA^-$細胞則為4至18%。由使用來自多個正常供體的T細胞之兩個獨立實驗所得之EC_{50}及最大溶解值的總覽係顯示於圖11中。

【0259】在使用兩個不同供體的T細胞下，其他六個BCMA X CD3抗體對$BCMA^+$ H929細胞顯示出83至93%的最大細胞毒性（圖12A）及74至83%範圍內的T細胞活化（圖12B）。這六個BCMA × CD3抗體分子係以0.04至0.09 nM範圍的EC_{50}值有效殺滅BCMA+目標細胞。

實例11：BCMB72對BCMA+細胞系的結合效率

【0260】評估BCMB72結合至具惡性背景之各種BCMA+細胞系的EC_{50}值。簡言之，將雙特異性抗體BCMB72 (BCMA × CD3)在PBS中稀釋至750 μg/ml。滴定係在96孔U底盤中以PBS製備為3倍連續稀釋液。最後一行只放入PBS（媒劑對照組）。

【0261】將H929目標細胞培養在添加GlutaMAX、10% FBS、及25 mM HEPES的無抗生素RPMI 1640介質（培養基）中。在該測定中，測量目標細胞密度及存活率，並接著將細胞於4ºC以1000 rpm離心5分鐘。接著將細胞團塊於10 ml的PBS中洗滌，並再次以1000 rpm離心5分鐘。將細胞再懸浮於PBS中成每毫升5.5×10^5個細胞，並將90 μl的細胞懸浮液等分加入96孔U底盤的每個孔中，接著每孔再加入10 μl的BCMB72稀釋液。將盤於4ºC黑暗中培養1小時，接著以1000

rpm離心5分鐘並丟棄上清液。將細胞團塊於200 μl的FACS緩衝液中洗滌兩次。將針對人類IgG4 Fc之經PE標示之二級抗體以1:25溶解於FACS緩衝液中，並將50 μl的混合物加至相對應的孔中。將樣本於4ºC培養20分鐘，於如上所述之FACS緩衝液中洗滌，並重構於150 μl的FACS緩衝液中以用於FACSCanto II分析。使用FlowJo 7.6分析數據以得出BCMB72結合，並在GraphPad Prism 6中使用具有可變斜率函數的非線性回歸，利用最小平方法來完成數據繪圖及擬合。

【0262】如圖6中所見，BCMB72能結合至所有檢驗的BCMA+細胞系。結合至下列細胞的EC_{50}係：H929細胞14.7 nM、MM.1R細胞9.74 nM、EJM細胞17.5 nM、LP1細胞22.3 nM、及U-2932細胞7.92 nM。

實例12：在來自正常人類供體的離體全血中分析BCMA表現及BCMB72結合

【0263】在來自三個正常人類供體的離體全血中，評估白血球上的BCMA表現及BCMB72結合。簡言之，於實驗前將來自正常人類供體的新鮮周邊血液儲存在肝素塗佈試管中。將血液以100 μl等分吸移到96孔U底盤中。在主混合物(master mix)中製備染色抗體，如實驗表格中所指示。將主混合物與針對BCMA的抗體或BCMB72一起直接加至血液中。在室溫下培養30分鐘後，將含有血液的盤於4ºC以1350 rpm離心3分鐘。丟棄上清液血漿，並使團塊經過連續四輪RBC溶解，在每次洗滌之間培養5分鐘。完成溶解後，將團塊用PBS洗滌一次，接著於PBS中以1:200活/死近紅外線染色劑及1:50抗IgG4 PE（只用於含有BCMB72的孔中）染色。將盤進一步在室溫下培養15分鐘。之後將樣本以200 μl的FACS緩

衝液洗滌，且最後重構於150 μl的FACS緩衝液中以用於LSRFortessa分析。每孔約收集100,000個事件(event)。在FlowJo 7.6中完成分析。

【0264】如圖7所示，在三個正常供體中的淋巴球、單核球、顆粒球或漿細胞樣(plasmacytoid) DC上沒有觀察到BMCA表現。在所有三個供體中BCMB72均顯示結合至CD3+ T細胞，強度在不同供體之間不同。BCMB72不與此測定中測試的任何其他細胞類型結合。

實例13：BCMB72對細胞介素概況的影響

【0265】使用BCMB72及對照抗體評估T細胞媒介之殺滅測定之上清液中之細胞介素概況。如T-細胞媒介之細胞毒性測定（見實例10）所述，將T細胞及抗體加入盤中。經過48小時培養後，收集細胞上清液，並使用基於MSD的ELISA測量不同的(10/30 Plex)細胞介素。細胞介素水準係表示為pg/mL，在GraphPad Prism 6中使用具有可變斜率（四個參數）函數的非線性回歸來完成數據繪圖及擬合。來自使用六個T細胞供體之RPMI8226細胞系的六種細胞介素的EC_{50}值係顯示於圖13中。數據顯示因T細胞活化造成顯著細胞介素釋放。使用對照抗體時則觀察到低/無細胞介素釋放（數據未顯示）。

實例14：HEK及CHO生產的（過渡及穩定細胞系）BCMB72在T細胞活化及T細胞媒介之目標細胞殺滅的功能性比較

【0266】在不同細胞中且在不同的表現模式下生產的雙特異性抗體可能有不同活性。因此，評估在HEK（過渡表現）或CHO細胞（過渡或穩定表現）中生產的BCMB72之活體外(*in vitro*)功效。

【0267】將BCMB72在PBS中稀釋成800 μg/ml。如各實驗中所指示，滴定係在96孔U底盤中以PBS製備為3倍或4倍連續稀釋液。最後一行只放入PBS（媒劑對照組）。

【0268】將H929目標細胞培養在添加GlutaMAX、10% FBS、及25 mM HEPES的無抗生素RPMI 1640介質（培養基）中。在設定(set-up)天（第1天），計數細胞，並將1000萬個細胞以1350 rpm離心3分鐘，並將上清液丟棄。CellTrace FCSE增生染色劑係以18 μl的無菌DMSO重構，並取1 μl溶液稀釋於10 ml的無菌PBS中。將H929細胞團塊再懸浮於1 ml的CFSE稀釋液中，並在室溫下、避免光線直射下培養8分鐘。培養後，將1 ml的HI FBS加至細胞懸浮液，以淬熄剩餘的CFSE。將細胞以含有10% FBS的1640 RPMI洗滌兩次。將細胞重構於10 ml的RPMI中，然後計數細胞，並在表格中記錄細胞存活率(cell viability)。將細胞稀釋成指示濃度，並在37ºC下培養直到使用。

【0269】將來自正常供體的T細胞於37ºC水浴中解凍，其後將小瓶的內容物轉移到50-ml錐形瓶中，並重構於15 ml的冷培養基中。接著將細胞於4ºC以1350 rpm離心3分鐘。將上清液丟棄，並將細胞團塊重構於5至10 ml的培養基中。將T細胞計數，並於培養基中重構成適當濃度（見每個實驗的表格）。

【0270】將H929細胞加至孔中，接著再加入T細胞（效應：目標比為5:1）。在這組研究中，不使用Fc阻斷劑。混合目標細胞及T細胞後，在每孔中加入20 μl的BCMB72稀釋液。將盤在37ºC、5% CO_2中培養48小時。

【0271】2天後，將含有細胞的盤離心，並將上清液丟棄或儲存以用於細胞介素釋放測定。將細胞於200 μl的PBS中洗滌，並在室溫下於50 μl的近紅外線

活/死染色劑（1:200稀釋）及抗CD25 PE抗體（1:50稀釋）中培養20分鐘。接著將細胞於200 μl的FACS緩衝液中洗滌一次，且最後重構於150 μl的FACS緩衝液中。在同一天使用FACSCanto II以流動式細胞測量術運行細胞，並在FlowJo 7.6中分析，以得出目標細胞毒性（%目標）及T細胞活化CD25+（%活T細胞）。在GraphPad Prism 6中使用具有可變斜率（四個參數）函數的非線性回歸及最小平方法來完成數據繪圖及擬合。

【0272】如圖14中所見，HEK細胞及CHO細胞所生產的BCMB72在T細胞重新導向測定中，就對目標細胞的細胞毒性及對T細胞的刺激而言表現幾乎相同。大致上達到85%的最大殺滅及80%的T細胞活化。HEK細胞所生產的BCMB72之細胞毒性平均EC_{50}值係0.29 nM，且CHO細胞所生產的BCMB72係0.42至0.47 nM。HEK細胞所生產的BCMB72之T細胞活化平均EC_{50}值係0.28 nM，且CHO細胞所生產的BCMB72係0.37至0.41 nM。使用學生t檢定的比較分析顯示，EC_{50}值之間無統計顯著性。

實例15：BCMB72之P38傳訊活化

【0273】BAFF及APRIL兩者均結合至兩種受體BCMA（B細胞成熟抗原，TNFRSF 17）及TACI（跨膜活化蛋白和CAML交互作用蛋白，TNFRSF 13b）。BCMA之結合活化JNK及P38 MAPK傳訊路徑。BCMA X CD3雙特異性抗體BCMB72有可能對BCMA展現促效作用。此研究包括兩部分。1.開發一種Simple Western分析測定，以監測在APRIL或BAFF處理後，H929或MM1.R細胞中的P38a MAPK改變。2.使用該新開發的測定，檢查BCMB72是否具有對BCMA之任何促效作用。

細胞處理

【0274】處理前，先將H929或MM1.R細胞以每毫升1.5e6個接種於不含血清的RPMI培養基中於37ºC在5% CO_2存在下持續24小時。在處理當天，將細胞離心並以每毫升1.5e6個再懸浮於不含血清的RPMI中。關於時程測定(time course assay)，將細胞以每試管5毫升等分加入10個試管中。將每試管細胞以1000 ng/ml的APRIL（R&D Systems目錄編號5860-AP-010）或1000 ng/ml的BAFF（R&D Systems目錄編號2149-BF-010）於37ºC在5% CO_2存在下分別處理0、5、15、30、及60分鐘。培養後，立即使細胞成團塊，並在-80ºC冷凍以製造細胞溶解物。關於BCMB72促效劑作用測定，H929細胞處理組係列於表13中。進行兩次BCMB72促效劑作用測定。

表13：用於BCMB72促效劑作用測定之處理組

樣本	處理（15 分鐘）
1	APRIL 0 ng/ml
2	APRIL 1000 ng/ml
3	BAFF 0 ng/ml
4	BAFF 1000 ng/ml
5	BCMB72 0 ng/ml
6	BCMB72 10 ng/ml
7	BCMB72 100 ng/ml
8	BCMB72 1000 ng/ml
9	BCMB72 10000 ng/ml

用於Simple Western分析之細胞溶解物製備

【0275】將細胞以含有磷酸酶和蛋白酶抑制劑的RIPA緩衝液溶解。蛋白濃度係在SpectraMax Plus 384微盤分析儀(Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)上，利用BioRad DC蛋白測定(BioRad # 500-0112)及牛血清白蛋白標準品測量。

Simple Western分析

【0276】使用Wes-Rabbit (12-230 KDa) Master套組(ProteinSimple # PS-MK01)，根據ProteinSimple使用者手冊進行Simple Western分析。簡言之，將細胞溶解物樣本與主混合物(master mix)混合，使最終濃度為1x樣本緩衝液、1x螢光分子量標記、及40 mM二硫蘇糖醇(DTT)，接著在95ºC加熱5分鐘。亦將樣本、阻斷試劑、初級抗體磷酸化p38 MAPK (ThermoFisher: VWR# MA5-15182)或肌動蛋白-β (Cell Signaling, # 8457S)、與HRP共軛的二級抗體、化學發光受質、及分離和堆疊基質分配至Simple Wes微盤的指定孔中。完成盤裝載後，在毛細管系統中進行全自動的分離電泳和免疫檢測步驟。在電泳期間，透過堆疊和分離基質根據分子量分離蛋白質，並利用專有的光活化捕獲化學作用將蛋白質固定在毛細管壁上。將初級抗體用抗體稀釋劑II (ProteinSimple #042-203)以1:50稀釋。以初級抗體免疫探測目標蛋白60分鐘，接著再用與HRP共軛的二級抗體免疫探測。在室溫下進行Simon-simple Western分析，並使用儀器的默認設置。用Compass軟體(ProteinSimple)分析數位影像，並將所檢測的蛋白質的量化數據報告為分子量、信號/峰強度、及峰面積。

【0277】結果

【0278】基於從時程研究獲得的資訊，使用H929細胞進行BCMB72促效劑測定並使用15分鐘的培養終點。將p38 MAPK信號以人類β肌動蛋白信號正規化。兩次測定的正規化p38 MAPK信號平均值係顯示於圖15中。BCMB72促效劑測定證實，BCMB72在H929細胞中對BCMA無促效作用。

實例16：BCMB72之NFκB傳訊

【0279】BCMA係一表面受體，其可回應於內源性配體而引起NF-κB傳訊。使用在NFκB促進劑存在下表現鹼性磷酸酶(SEAP)的BCMA表現報告細胞系，來評估BCMB72結合至BCMA對NF-κB路徑活化的影響。

【0280】將細胞培養在添加GlutaMAX及10% FBS的DMEM介質（培養基）中。在實驗前一晚，藉由胰蛋白酶消化(trypsinization)收集細胞（置於以37ºC預熱的0.25%胰蛋白酶中5分鐘），並於30 ml的培養基中洗滌。接著將細胞於4ºC以1,000 rpm離心5分鐘，並以每毫升2.5×10^5個細胞重構於無血清的DMEM（含有GlutaMax）中。將5×10^4個細胞加至96孔平底盤的孔中，並於37ºC培養16小時。

【0281】隔天早上，將各種刺激試劑(TNFα、APRIL、BCMB72)添加至相對應的孔中（見實驗盤地圖），並將盤於37ºC額外培養16小時、24小時、或48小時，其分別代表早、中、及晚的傳訊時間點。每個時間點後，從孔中收集10 μl的條件培養基、轉移到SEAP套組(Cayman, 600272)提供的96孔實心盤(solid plate)中、並蓋上蓋子。SEAP標準品係藉由將原液標準品(5 U/ml)以1:10稀釋於無血清DMEM（含有GlutaMax）中製備，並接著製備1:2連續稀釋液；稀釋範圍係50至0.78 mU/ml。將含有樣本的盤於65ºC培養30分鐘，以使內源性鹼性磷酸酶失活(inactivate)；於此測定中表現的SEAP在這些培養條件下係穩定的。在室溫下培養該些盤後，在適當的孔中加入10 μl的標準品稀釋液。在所有的孔中加入50 μl的受質溶液，並短暫地攪動樣本以使溶液分布在孔中。將樣本培養20至30分鐘，並使用PerkinElmer EnVision 2104多標記分析儀(Multilabel Reader)評估化學發

光。將所有發光讀數基於標準曲線轉換為活性單位濃度，在Microsoft Excel 2010中分析該些數值，並匯入Graph Prism 6進行圖形分析。

【0282】圖16顯示雖然APRIL在濃度低至0.46 nM時能刺激BCMA，但一般而言，BCMB72在濃度低於10 nM時不活化BCMA轉導細胞中的NF-κB路徑。在高（44至133 nM）BCMB72濃度下，觀察到適度的BCMB72依賴性活化。

實例17：外源性添加BCMA胞外域對於目標細胞不存在下之T細胞活化的影響

【0283】BCMA胞外域(ECD)可在溶液中形成三聚體。因此，多個雙特異性抗體有可能在目標細胞不存在下，結合至BCMA ECD三聚體並交聯TCR複合體。其可能轉而以目標非依賴(target-independent)方式活化T細胞。此研究檢驗外源性添加BCMA的ECD是否可在不與目標細胞交互作用下，引起T細胞之CD25表現水準的活化。

【0284】將BCMB72 (BCMA × CD3)及對照組（無效x CD3）在PBS中稀釋至800 μg/ml。滴定係在96孔U底盤中以PBS製備為3倍連續稀釋液。最後一行只放入PBS（媒劑對照組）。

【0285】將可溶性BCMA ECD (sBCMA)在PBS中稀釋至36 μg/ml (6.67 μM)。滴定係在96孔U底盤中以PBS製備為3倍連續稀釋液。上排孔只放入PBS（媒劑對照組）。

【0286】將來自正常供體的泛T細胞於37ºC水浴中解凍，其後將冷凍小瓶的內容物轉移到50-ml錐形瓶中，並重構於30 ml的冷培養基中。接著將細胞於4ºC

以1350 rpm離心3分鐘。將上清液丟棄，並將細胞團塊重構於10 ml的培養基中。計數T細胞並記錄存活率。接著將細胞於培養基中重構成每毫升0.525×10^6個。

【0287】將1×10^5個T細胞(190 μl)加至孔中，接著再加入5 μl的sBCMA稀釋液及5 μl的BCMB72稀釋液。將盤在37ºC、5% CO_2中培養48小時。

【0288】兩天後，將盤於4ºC以1500 rpm離心3分鐘，並丟棄上清液。將細胞團塊於200 μl的PBS中洗滌，並在室溫下於50 μl的近紅外線活/死染色劑（1:200稀釋）及抗CD25 PE抗體（1:50稀釋）中培養20分鐘。接著將細胞於200 μl的FACS緩衝液中洗滌一次，且最後重構於150 μl的FACS緩衝液中。使用FACSCanto II及FlowJo 7.6分析細胞，以得出T細胞活化CD25+（%活T細胞）。在GraphPad Prism 6中使用非線性回歸，利用最小平方擬合法來完成數據繪圖及擬合。

【0289】在BCMB72存在下，來自正常供體的T細胞不展現sBCMA ECD媒介之活化。在高濃度(>40 nM)的BCMB72下，觀察到以sBCMA非依賴性方式弱活化一小部分T細胞（10至15%）（圖17）。

實例18：BCMA的可溶性ECD、APRIL、及BAFF對T細胞活化及BCMB72依賴性細胞毒性的影響

【0290】可溶性BCMA ECD可作為BCMA × CD3抗體之接收體(sink)，而APRIL及BAFF可為表面受體與BCMA × CD3抗體間之交互作用的競爭性抑制劑。可溶性BCMA ECD與內源性配體APRIL及BAFF對BCMB72依賴性細胞殺滅的活體外(*in vitro*)細胞毒性潛力的影響，係在T細胞重新導向測定中使用永生化細胞系H929及來自正常供體M7077的泛T細胞評估。

【0291】將BCMB72在PBS中稀釋成800 μg/ml。滴定係在96孔U底盤中以PBS製備為3倍連續稀釋液。最後一行只放入PBS（媒劑對照組）。將可溶性BCMA ECD稀釋成9 μg/ml，並將APRIL及BAFF稀釋成10 μg/ml。兩個試劑的滴定係在96孔U底盤中以PBS製備為3倍連續稀釋液。

【0292】將H929細胞培養在添加GlutaMAX、10% FBS、及25 mM HEPES的無抗生素RPMI 1640介質（培養基）中。在設定(set-up)天（第1天），計數目標細胞，並將1000萬個細胞以1350 rpm離心3分鐘，之後將上清液丟棄。CellTrace FCSE增生染色劑係以18 μl的無菌DMSO重構，並取1 μl溶液稀釋於10 ml的無菌PBS中。將細胞團塊再懸浮於1 ml的CFSE稀釋液中，並在室溫下、避免光線直射下培養8分鐘。培養後，將1 ml的HI FBS加至細胞懸浮液，以淬熄剩餘的CFSE。將細胞以含有10% FBS的RPMI-1640洗滌兩次。將細胞重構於10 ml的RPMI中，然後計數細胞，並在表格中記錄細胞存活率(cell viability)。將細胞稀釋成每毫升2.2 ×10^5個，並在37ºC下培養直到使用。

【0293】將來自正常供體的泛T細胞於37ºC水浴中解凍，其後將冷凍小瓶的內容物轉移到50-ml錐形瓶中，並重構於30 ml的冷培養基中。接著將細胞於4ºC以1350 rpm離心3分鐘。將上清液丟棄，並將細胞團塊重構於10 ml的培養基中。計數T細胞並記錄存活率。接著將細胞於培養基中重構成每毫升1.1×10^6個。

【0294】將2×10^5個H929細胞加至96孔U底盤的孔中；此研究中不需要以Fc阻斷劑培養。將1×10^5個T細胞加至孔中（效應：目標比為5:1）。在目標細胞與T細胞混合後，將20 μl的sBCMA、APRIL、或BAFF加至孔中，然後再加入5 μl的抗體稀釋液。將盤在37ºC、5% CO_2中培養48小時。

【0295】 2天後，將盤於4ºC以1500 rpm離心3分鐘，並丟棄上清液。將細胞於200 µl的PBS中洗滌，並在室溫下於50 µl的近紅外線活/死染色劑（1:200稀釋）及抗CD25 PE抗體（1:50稀釋）中培養20分鐘。接著將細胞於200 µl的FACS緩衝液中洗滌一次，且最後重構於150 µl的FACS緩衝液中。使用FACSCanto II及FlowJo 7.6分析細胞，以得出目標細胞毒性（%目標）及T細胞活化CD25+（%活T細胞）。在GraphPad Prism 6中使用具有可變斜率（四個參數）函數的非線性回歸，利用最小平方法來完成數據繪圖及擬合。

【0296】 在可溶性BCMA ECD的存在下，BCMB72能夠對H929細胞展現細胞毒性，高劑量(>160 nM)的sBCMA ECD對EC_{50}只有微小作用（增加2倍）；對T細胞活化的作用是類似的（見圖18A及圖18D）。高劑量(46 nM)的APRIL使細胞毒性及T細胞活化的EC_{50}值增加六倍，而較低劑量僅最低限度地影響此測定（見圖18B及圖18E）。最大殺滅不受sBCMA或APRIL影響。相比之下，濃度高達51 nM的外源性BAFF對BCMB72媒介之細胞毒性沒有影響（見圖18C）。一如預期，所有情況下的T細胞活化潛力均與殺滅數據有良好相關性（見圖18F）。

實例19：BCMB72、APRIL、及BAFF於活體外(*in vitro*)競爭與BCMA之結合

【0297】 兩種TNF配體（APRIL及BAFF）可結合至BCMA並誘導傳訊級聯反應，導致細胞存活和增生。BCMA的胞外域係54個胺基酸的短片段，其結合至該兩種配體以及針對此模體所產生的抗體。此處評估這些配體與BCMB72的競爭性。

【0298】測定係以基於ELISA的格式設定。在競爭測定的製備中，BCMA-Fc係以MSD SulfoTag標記。將50ug小瓶的BCMA-Fc重構於500uL PBS中，以產生0.1 mg/mL（3.125uM單體）。將150 nmol NHS-sulfoTag溶解於50uL水中，以產生3 mM溶液。將5.2uL 3 mM NHS-SulfoTag (15.6 nmol)加至500uL BCMA-Fc（1.56 nmol單體），以進行10x過量標記反應。反應係在室溫下黑暗中進行2小時。加入50uL 1M Tris，以淬熄未反應的NHS。在經PBS平衡的2 mL 7k MWCO Zeba離心管柱上，藉由更換緩衝液除去過量的Sulfotag及Tris。最終體積約為630uL，因此，最終使用的SulfoTag-BCMA-Fc係2.5uM。

【0299】關於競爭測定，將抗BAFF (100ug)及抗APRIL (100ug)重構於200uL PBS中，以產生0.5 mg/mL儲備溶液。將30uL (6ug)的抗APRIL及抗BAFF各稀釋於2.97 mL PBS中，以產生2ug/mL溶液。在96孔MSD高結合盤的每個孔中，加入25uL 2ug/mL抗APRIL。在第二個96孔MSD高結合盤的每個孔中，加入25uL 2ug/mL抗BAFF。將盤保持在4ºC整夜，以固定抗體。將經抗APRIL及抗BAFF塗佈的盤傾析，並在每孔中加入300uL SuperBlock。在室溫下阻斷1小時後，將盤以PBS-T洗滌3次。將10ug的各重組APRIL及BAFF再懸浮於100uL PBS中，以產生0.1 mg/mL溶液。藉由將60uL新鮮重構的蛋白於2.94 mL SuperBlock中稀釋，以製成各APRIL及BAFF的3 mL 2ug/mL溶液。將25uL 2ug/mL APRIL加至抗APRIL塗佈盤的各孔，並將25uL 2ug/mL BAFF加至抗BAFF塗佈盤的各孔。在室溫下捕捉1小時後，將盤用PBS-T洗滌3次。將500ug抗BCMA (R&D Sys Mab193)於1 mL PBS中重構，以產生0.5 mg/mL的儲備溶液(3.3uM)。將抗BCMA Mab193、BCMB72.004、及對照抗體（無效× CD3）在SuperBlock中稀釋至1uM。藉由在

200uL SuperBlock中混合100uL抗體，來製備11pt三倍連續稀釋系列。6 mL 30nM SulfoTag-BCMA-FC係藉由在5.928 mL SuperBlock中稀釋上述72uL蛋白質來製備。根據下面圖1中的盤地圖，將來自步驟11的25uL的各抗體加至APRIL/BAFF捕捉盤的各孔中。將25uL 30nM Sulfotag-BCMA-Fc加至兩盤的各孔中。在室溫下1小時後，將盤以PBS-T洗滌3次。將150uL 1x MSD讀取緩衝液T加至每個孔中，並將盤在SECTOR 6000成像器中掃描。完全如上所述地重複該實驗，以得到第二組獨立結果。

【0300】如圖19中可見，當與增加量的BCMB72而非對照抗體（無效×CD3）一起培養時，BCMA-Fc蛋白無法與盤結合的APRIL及BAFF結合。此觀察結果在兩個獨立實驗（各為三重複）之間是一致的。

實例20：多發性骨髓瘤患者骨髓的BCMB72結合及細胞毒性

CD138陽性細胞

【0301】為了評估BCMB72在來自多發性骨髓瘤患者之原始樣本中的效力，我們在細胞毒性殺滅測定中測試此抗體，其中使用來自5個病患的冷凍骨髓多發性骨髓瘤樣本及來自健康供體的T細胞。亦測量抗體結合及T細胞活化潛力。

BCMB72結合測定

【0302】將100 μl的細胞懸浮液等分加入96孔U底盤的每個孔中，接著再加入95 μl的培養基。然後將5 μl的BCMB72或對照組連續稀釋液加至孔中，並將盤於4ºC培養1小時。染色後，將細胞以1,200 rpm離心3分鐘，並在200 μl的PBS中洗滌一次。將細胞再離心一次；其後丟棄上清液，將團塊重構於50 μl的近紅外線活/死染色劑（1:200稀釋）、抗人類IgG4 Fc PE抗體（1:50稀釋）、抗CD138

（MI15 1:50及DL-101 1:50稀釋）中，並在室溫下黑暗中培養20分鐘。接著將細胞離心，並於200 μl的FACS緩衝液中洗滌，且最後重構於150 μl的FACS緩衝液中。使用FACSCanto II及FlowJo 7.6分析樣本，以得出BCMB72對CD138+ MNC的結合強度。在GraphPad Prism 6中使用具有可變斜率（四個參數）函數的非線性回歸，利用最小平方法來完成數據擬合。

T細胞重新導向測定

【0303】將1×10^5個目標細胞加至96孔U底盤的孔中，接著再加入1×10^5個T細胞（效應：目標大致比例為5:1，若在骨髓衍生性肥大細胞中有平均20%的漿細胞計數）。混合目標細胞及T細胞後，在每孔中加入5 μl的BCMB72稀釋液。將盤在37ºC、5% CO_2中培養48小時。

【0304】兩天後，將盤離心，並丟棄上清液。將細胞於200 μl的PBS中洗滌，並在室溫下於含有近紅外線活/死染色劑（1:200稀釋）、抗CD138（MI15 1:50及DL-101 1:50稀釋）、抗TCR α/β（1:50稀釋）、及抗CD25 PE（1:50稀釋）的50 μl PBS中培養20分鐘。接著將細胞於200 μl的FACS緩衝液中洗滌一次，且最後重構於150 μl的FACS緩衝液中。使用FACSCanto II及FlowJo 7.6分析細胞，以得出漿細胞細胞毒性（%死CD138+細胞）及T細胞活化CD25+（%活T細胞）。在GraphPad Prism 6中使用具有可變斜率（四個參數）函數的非線性回歸，利用最小平方法來完成數據繪圖及擬合。

結果

【0305】圖20顯示在48小時後，BCMB72以劑量依賴性方式結合並誘導所有患者樣本的殺滅，如由$CD138^+$漿細胞的損失所證實。一如預期，T細胞活化數

據與殺滅數據有良好相關性。T細胞活化的平均EC_{50}係在1 nM範圍內。這些數據證實BCMB72可在活體外(*in vitro*)殺滅初級多發性骨髓瘤骨髓細胞。

實例21：BCMB72在PBMC人化NSG小鼠中對於防止H929人類多發性骨髓瘤異種移植之腫瘤形成的抗腫瘤功效

【0306】此研究評估BCMB72在PBMC（周邊血液單核細胞）-人化NSG (NOD SCID Gamma)小鼠中，防止H929人類多發性骨髓瘤(MM)異種移植之腫瘤形成的功效。NSG小鼠係一種免疫不全品系，其缺乏成熟的功能性T細胞、B細胞、及自然殺手(NK)細胞。在第-7研究天，將年齡符合的NSG母小鼠靜脈注射1 × 10^7個人類PBMC。在PBMC接種後第1天，在每隻小鼠右後背側脇部皮下(sc)植入H929人類MM細胞（5 × 10^6個細胞於200 μL PBS中），接著每隻動物靜脈(IV)投予PBS及BCMB72 0.1 μg (0.005 mg/kg)、0.5 μg (0.025 mg/kg)、及1 μg (0.05 mg/kg)。每隔一天或每三天投予PBS對照及BCMB72，總共處理五次。早在腫瘤細胞植入後第8天，便可在PBS及0.1 μg BCMB72處理組中偵測到H929 sc腫瘤。來自這兩組的腫瘤持續生長，直到第22天平均腫瘤體積>500 mm^3。到第24天，PBS對照組的平均腫瘤體積已超過1000 mm^3。有趣的是，以0.5 μg及1 μg BCMB72處理的小鼠中無sc H929腫瘤生長（圖21）。因此，在所有以每動物0.5及1 μg處理的動物中，BCMB72抑制H929人類MM異種移植之腫瘤形成。

實例22：經BCMB72處理之PBMC人化NSG小鼠H929（人類多發性骨髓瘤細胞）異種移植之小鼠血清中之可溶性BCMA定量

【0307】此研究係設計來定量來自H929異種移植小鼠之血清中的可溶性BMCA水準，並將可溶性BCMA水準與這些動物中的腫瘤負荷相關聯。

【0308】簡言之，來自異種移植研究樣本的血清係藉由得自R&D Systems的BCMA酶聯免疫吸附法(ELISA)進行分析。將血清解凍、以試劑稀釋劑稀釋1:50、並於4ºC培養整夜。BCMA ELISA係根據製造商的方案進行。使用設定至450 nm之MD SpectraMax盤分析儀M5 (Molecular Devices, Sunnyvale CA)來分析ELISA盤。ELISA中之各孔對應於來自原始異種移植研究中之一隻小鼠的血清。

【0309】當與單獨PBS處理或每隻小鼠0.1 μg的BCMB72處理比較時，以1 μg及0.5 μg的BCMB72處理之小鼠的小鼠血清中，可溶性BCMA濃度有顯著的減少（圖22）。這些數據支持該異種移植研究，其中以1 μg及0.5 μg的BCMB72處理之小鼠沒有腫瘤生長或腫瘤生長極少。這些數據表示，血清樣本中的可溶性BCMA可作為具洞察力的潛在生物標記，用以評估多發性骨髓瘤之跡象；調查可溶性BCMA可能有助於監測疾病負荷。

序列表簡單說明

SEQ ID NO:	類型	物種	說明	序列
1	PRT	人類	BCMA	MLQMAGQCSQNEYFDSLLHACIPCQLRCSSNTPPLTCQRYCNASVTNSVKGTNAILWTCLGLSLIISLAVFVLMFLLRKINSEPLKDEFKNTGSGLLGMANIDLEKSRTGDEIILPRGLEYTVEECTCEDCIKSKPKVDS DHCFPLPAMEEGATILVTTKTNDYCKSLPAALSATEIEKSISAR
2	PRT	小鼠	BCMA	MAQQCFHSEYFDSLLHACKPCHLRCSNPPATCQPYCDPSVTSSVKGTYTVLWIFLGLTLVLSLALFTISFLLRKMNPEALKDEPQSPGQLDGSAQLDKADTELTRIRAGDDRIFPRSLEYTVEECTCEDCVKSKPKGDSDHFFPLPAMEEGATILVTTKTGDYGKSSVPTALQSVMGMEKPTHTR

3	PRT	食蟹獼猴(Cyno)	BCMA	MLQMARQCSQNEYFDSLLHDCKPCQLRCSSTPPLTCQRYCNASMTNSVKGMNAILWTCLGLSLIISLAVFVLTFLLRKMSSEPLKDEFKNTGSGLLGMANIDLEKGRTGDEIVLPRGLEYTVEECTCEDCIKNKPKVDSDHCFPLPAMEEGATILVTTKTNDYCNSLSAALSVTEIEKSISAR
4	PRT	人類	BCMB69、BCMB117、BCMB118、BCMB119、BCMB120、BCMB125、BCMB126、BCMB127、BCMB128、及BCMB129-HCDR1	SGSYFWG
5	PRT	人類	BCMB69、BCMB117、BCMB118、BCMB119、BCMB120、BCMB123、BCMB124、BCMB125、BCMB126、BCMB127、BCMB128、BCMB176、BCMB179、BCMB180、BCMB181、及BCMB182-HCDR2	SIYYSGITYYNPSLKS
6	PRT	人類	BCMB69、BCMB117、BCMB121、BCMB122、BCMB123、BCMB124、及BCMB129-HCDR3	HDGAVAGLFDY
7	PRT	人類	BCMB121、BCMB122、及	SSSYYWG

			BCMB123 HCDR1	
8	PRT	人類	BCMB121、BCMB122、BCMB129、BCMB130、BCMB131、及BCMB177-HCDR2	SIYYSGSTYYNPSLKS
9	PRT	人類	BCMB118-HCDR3	HDAATAGLFDY
10	PRT	人類	BCMB124、BCMB130、及BCMB131-HCDR1	SGSYYWG
11	PRT	人類	BCMB178、BCMB186、BCMB187、及BCMB188-HCDR2	SIYYSGWTYYNPSLKS
12	PRT	人類	BCMB119-HCDR3	HEGATAGLFDY
13	PRT	人類	BCMB176、BCMB177、BCMB178、BCMB179、BCMB180、BCMB181、BCMB182、BCMB183、BCMB184、BCMB185、BCMB186、BCMB187、及BCMB188-HCDR1	SSSYFWG
14	PRT	人類	BCMB183、BCMB184、及BCMB185-HCDR2	SIYYSGRTYYNPSLKS
15	PRT	人類	BCMB120-HCDR3	HSGATAGLFDY
16	PRT	人類	BCMB125 及BCMB131-HCDR3	HEGAVAGLFDY
17	PRT	人類	BCMB126-HCDR3	HSGAVAGLFDY

18	PRT	人類	BCMB127 及 BCMB130-HC DR3	HDAAVAGLFDY
19	PRT	人類	BCMB128、BCMB176、BCMB177、及 BCMB178-HC DR3	HDGATAGLFDY
20	PRT	人類	BCMB179、BCMB183、及 BCMB186-HC DR3	HQGATAGLFDY
21	PRT	人類	BCMB180、BCMB184、及 BCMB187-HC DR3	HHGATAGLFDY
22	PRT	人類	BCMB181-HC DR3	HWGATAGLFDY
23	PRT	人類	BCMB182、BCMB185、及 BCMB188-HC DR3	HYGATAGLFDY
24	PRT	人類	BCMB69、BCMB117、BCMB118、BCMB119、BCMB120、BCMB121、BCMB122、BCMB123、BCMB124、BCMB125、BCMB126、BCMB127、BCMB128、BCMB129、BCMB130、BCMB131、BCMB176、BCMB177、BCMB178、BCMB179、BCMB180、BCMB181、BCMB182、BCMB183、	GGNNIGSKSVH

			BCMB184、 BCMB185、 BCMB186、 BCMB187、及 BCMB188 -LCDR1	
25	PRT	人類	BCMB69、 BCMB117、 BCMB118、 BCMB119、 BCMB120、 BCMB121、 BCMB122、 BCMB123、 BCMB124、 BCMB125、 BCMB126、 BCMB127、 BCMB128、 BCMB129、 BCMB130、 BCMB131、 BCMB176、 BCMB177、 BCMB178、 BCMB179、 BCMB180、 BCMB181、 BCMB182、 BCMB183、 BCMB184、 BCMB185、 BCMB186、 BCMB187、及 BCMB188 -LCDR2	DDSDRPS
26	PRT	人類	BCMB69、 BCMB117、 BCMB118、 BCMB119、 BCMB120、 BCMB121、 BCMB122、 BCMB123、 BCMB124、	QVWDSSSDHVV

			BCMB125、 BCMB126、 BCMB127、 BCMB128、 BCMB129、 BCMB130、 BCMB131、 BCMB176、 BCMB177、 BCMB178、 BCMB179、 BCMB180、 BCMB181、 BCMB182、 BCMB183、 BCMB184、 BCMB185、 BCMB186、 BCMB187、及 BCMB188 -LCDR3	
27	PRT	人類	BCMB69-VH	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCT VSGGSISSGSYFWGWIRQPPGKG LEWIGSIYYSGITYYNPSLKSRVT ISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA VYYCARHDGAVAGLFDYWGQG TLVTVSSA
28	PRT	人類	BCMB69、 BCMB118、 BCMB119、 BCMB120、 BCMB122、 BCMB123、 BCMB124、 BCMB125、 BCMB126、 BCMB127、 BCMB128、 BCMB129、 BCMB130、 BCMB131、 BCMB177、 BCMB178、 BCMB179、 BCMB180、 BCMB181、	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCG GNNIGSKSVHWYQQPPGQAPVV VVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGN TATLTISRVEAGDEAVYYCQVW DSSSDHVVFGGGTKLTVL

			BCMB182、 BCMB183、 BCMB184、 BCMB185、 BCMB186、 BCMB187、及 BCMB188 -VL	
29	PRT	人類	BCMB118-VH	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCT VSGGSISSGSYYWGWIRQPPGKG LEWIGSIYYSGITYYNPSLKSRVT ISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA VYYCARHDAATAGLFDYWGQG TLVTVSSA
30	PRT	人類	BCMB121-VL	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCG GNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVL VVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGN TATLTISRVEAGDEADYYCQVW DSSSDHVVFGGGTKLTVL
31	PRT	人類	BCMB119-VH	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCT VSGGSISSGSYYWGWIRQPPGKG LEWIGSIYYSGITYYNPSLKSRVT ISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA VYYCARHEGATAGLFDYWGQG TLVTVSSA
32	PRT	人類	BCMB120-VH	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCT VSGGSISSGSYYWGWIRQPPGKG LEWIGSIYYSGITYYNPSLKSRVT ISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA VYYCARHSGATAGLFDYWGQG TLVTVSSA
33	PRT	人類	BCMB121 及 BCMB122-VH	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCT VSGGSISSSSYYWGWIRQPPGKG LEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRV TISVDTSKNQFSLKLSSVTAADT AVYYCARHDGAVAGLFDYWGQ GTLVTVSSA
34	PRT	人類	BCMB123-VH	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCT VSGGSISSSSYFWGWIRQPPGKG LEWIGSIYYSGITYYNPSLKSRVT ISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA VYYCARHDGAVAGLFDYWGQG TLVTVSSA
35	PRT	人類	BCMB124-VH	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCT VSGGSISSGSYYWGWIRQPPGKG LEWIGSIYYSGITYYNPSLKSRVT ISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA VYYCARHDGAVAGLFDYWGQG TLVTVSSA
36	PRT	人類	BCMB125-VH	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCT VSGGSISSGSYFWGWIRQPPGKG

				LEWIGSIYYSGITYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARHEGAVAGLFDYWGQGTLVTVSSA
37	PRT	人類	BCMB126-VH	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSGSYFWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGITYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARHSGAVAGLFDYWGQGTLVTVSSA
38	PRT	人類	BCMB127-VH	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSGSYFWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGITYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARHDAAVAGLFDYWGQGTLVTVSSA
39	PRT	人類	BCMB128-VH	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSGSYFWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGITYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARHDGATAGLFDYWGQGTLVTVSSA
40	PRT	人類	BCMB129-VH	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSGSYFWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARHDGAVAGLFDYWGQGTLVTVSSA
41	PRT	人類	BCMB130-VH	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSGSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARHDAAVAGLFDYWGQGTLVTVSSA
42	PRT	人類	BCMB131-VH	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSGSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARHEGAVAGLFDYWGQGTLVTVSSA
43	PRT	人類	BCMB177-VH	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYFWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGRTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARHDGATAGLFDYWGQGTLVTVSSA
44	PRT	人類	BCMB178-VH	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYFWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGWTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARHDGATAGLFDYWGQ

				GTLVTVSSA
45	PRT	人類	BCMB179-VH	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCT VSGGSISSSSYFWGWIRQPPGKG LEWIGSIYYSGITYYNPSLKSRVT ISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA VYYCARHQGATAGLFDYWGQG TLVTVSSA
46	PRT	人類	BCMB180-VH	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCT VSGGSISSSSYFWGWIRQPPGKG LEWIGSIYYSGITYYNPSLKSRVT ISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA VYYCARHHGATAGLFDYWGQG TLVTVSSA
47	PRT	人類	BCMB181-VH	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCT VSGGSISSSSYFWGWIRQPPGKG LEWIGSIYYSGITYYNPSLKSRVT ISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA VYYCARHWGATAGLFDYWGQG TLVTVSSA
48	PRT	人類	BCMB182-VH	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCT VSGGSISSSSYFWGWIRQPPGKG LEWIGSIYYSGITYYNPSLKSRVT ISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA VYYCARHYGATAGLFDYWGQG TLVTVSSA
49	PRT	人類	BCMB183-VH	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCT VSGGSISSSSYFWGWIRQPPGKG LEWIGSIYYSGRTYYNPSLKSRV TISVDTSKNQFSLKLSSVTAADT AVYYCARHQGATAGLFDYWGQ GTLVTVSSA
50	PRT	人類	BCMB184-VH	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCT VSGGSISSSSYFWGWIRQPPGKG LEWIGSIYYSGRTYYNPSLKSRV TISVDTSKNQFSLKLSSVTAADT AVYYCARHHGATAGLFDYWGQ GTLVTVSSA
51	PRT	人類	BCMB185-VH	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCT VSGGSISSSSYFWGWIRQPPGKG LEWIGSIYYSGRTYYNPSLKSRV TISVDTSKNQFSLKLSSVTAADT AVYYCARHYGATAGLFDYWGQ GTLVTVSSA
52	PRT	人類	BCMB186-VH	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCT VSGGSISSSSYFWGWIRQPPGKG LEWIGSIYYSGWTYYNPSLKSRV TISVDTSKNQFSLKLSSVTAADT AVYYCARHQGATAGLFDYWGQ GTLVTVSSA

53	PRT	人類	BCMB187-VH	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCT VSGGSISSSSYFWGWIRQPPGKG LEWIGSIYYSGWTYYNPSLKSRV TISVDTSKNQFSLKLSSVTAADT AVYYCARHHGATAGLFDYWGQ GTLVTVSSA
54	PRT	人類	BCMB188-VH	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCT VSGGSISSSSYFWGWIRQPPGKG LEWIGSIYYSGWTYYNPSLKSRV TISVDTSKNQFSLKLSSVTAADT AVYYCARHYGATAGLFDYWGQ GTLVTVSSA
55	PRT	人類	CD3B219-重鏈	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSC AASGFTFNTYAMNWVRQAPGK GLEWVARIRSKYNNYATYYAAS VKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSL KTEDTAVYYCARHGNFGNSYVS WFAYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPCSRSTSESTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRV ESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSQEDPEVQFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQFNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKGL PSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLP PSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL DSDGSFLLYSKLTVDKSRWQEG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSLGK
56	PRT	人類	CD3B219-輕鏈	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCR SSTGAVTTSNYANWVQQKPGQA PRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSL LGGKAALTLSGVQPEDEAEYYC ALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQP KAAPSVTLFPPSSEELQANKATL VCLISDFYPGAVTVAWKADSSP VKAGVETTTPSKQSNNKYAASS YLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHE GSTVEKTVAPTECS
57	PRT	人類	BCMB117-VH	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCT VSGGSISSGSYFWGWIRQPPGKG LEWIGSIYYSGITYYNPSLKSRVT ISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA VYYCARHDGAVAGLFDYWGQG TLVTVSSA
58	PRT	人類	BCMB176-VH	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCT VSGGSISSSSYFWGWIRQPPGKG

				LEWIGSIYYSGITYYNPSLKSRVT ISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA VYYCARH DGATAGLFDYWGQGTLVTVSSA
59	PRT	人類	CD3B219-VH	TYAMN
60	PRT	人類	CD3B219-VH	RIRSKYNNYATYYAASVKG
61	PRT	人類	CD3B219-VH	HGNFGNSYVSWFAY
62	PRT	人類	CD3B219-VL	RSSTGAVTTSNYAN
63	PRT	人類	CD3B219-VL	GTNKRAP
64	PRT	人類	CD3B219-VL	ALWYSNLWV
65	PRT	人類	BCMB69-重鏈	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCT VSGGSISSGSYFWGWIRQPPGKG LEWIGSIYYSGITYYNPSLKSRVT ISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA VYYCARHDGAVAGLFDYWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRS TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPP CPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRL TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSLGK
66	PRT	人類	BCMB118、 BCMB119、 BCMB120、 BCMB122、 BCMB123、 BCMB124、 BCMB125、 BCMB126、 BCMB127、 BCMB128、 BCMB129、 BCMB130、 BCMB131、 BCMB176、 BCMB177、 BCMB178、 BCMB179、	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCG GNNIGSKSVHWYQQPPGQAPVV VVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGN TATLTISRVEAGDEAVYYCQVW DSSSDHVVFGGGTKLTVLGQPK AAPSVTLFPPSSEELQANKATLV CLISDFYPGAVTVAWKADSSPV KAGVETTTPSKQSNNKYAASSY LSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGS TVEKTVAPTECS

			BCMB180、BCMB181、BCMB182、BCMB183、BCMB184、BCMB185、BCMB186、BCMB187、及BCMB188 –輕鏈	
67	PRT	人類	BCMB117-重鏈	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSGSYFWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGITYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARHDGAVAGLFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
68	PRT	人類	BCMB123-重鏈	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYFWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGITYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARHDGAVAGLFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEAL

				HNHYTQKSLSLSLGK
69	PRT	人類	BCMB128-重鏈	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCT VSGGSISSGSYFWGWIRQPPGKG LEWIGSIYYSGITYYNPSLKSRVT ISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA VYYCARHDGATAGLFDYWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRS TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPP CPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRL TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSLGK
70	PRT	人類	BCMB129-重鏈	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCT VSGGSISSGSYFWGWIRQPPGKG LEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRV TISVDTSKNQFSLKLSSVTAADT AVYYCARHDGAVAGLFDYWGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTC NVDHKPSNTKVDKRVESKYGPP CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSQEEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
71	PRT	人類	BCMB176-重鏈	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCT VSGGSISSSSYFWGWIRQPPGKG LEWIGSIYYSGITYYNPSLKSRVT ISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA VYYCARHDGATAGLFDYWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRS TSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPP

				CPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRL TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSLGK
72	PRT	人類	BCMB177-重鏈	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCT VSGGSISSSSYFWGWIRQPPGKG LEWIGSIYYSGRTYYNPSLKSRV TISVDTSKNQFSLKLSSVTAADT AVYYCARHDGATAGLFDYWGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTC NVDHKPSNTKVDKRVESKYGPP CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSQEEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
73	PRT	人工	IgG4PAA	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNT KVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSQEDPEVQFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQFNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDK SRWQEGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSLGK
74	PRT	人類	IgG1	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS

				RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK
75	PRT	人類	Fab	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCT VSGGSISSGSYFWGWIRQPPGKG LEWIGSIYYSGITYYNPSLKSRVT ISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTA VYYCARHDGAVAGLFDYWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCHHHH HH
76	PRT	人類	BCMB69 –輕鏈	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCG GNNIGSKSVHWYQQPPGQAPVV VVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGN TATLTISRVEAGDEAVYYCQVW DSSSDHVVFGGGTKLTVLGQPK AAPSVTLFPPSSEELQANKATLV CLISDFYPGAVTVAWKGDSSPV KAGVETTTPSKQSNNKYAASSY LSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGS TVEKTVAPTECS

序列表

<110> 美商健生生物科技公司 (JANSSEN BIOTECH, INC.)

<120> 抗BCMA抗體，結合BCMA及CD3之雙特異性抗原結合分子及其用途
ANTI-BCMA ANTIBODIES, BISPECIFIC ANTIGEN BINDING MOLECULES THAT BIND BCMA AND CD3, AND USES THEREOF

<130> PRD3383USNP

<140> 112124028
<141> 2016-08-16

<150> US 62/206,246
<151> 2015-08-17

<160> 77

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 184
<212> PRT
<213> 智人

<400> 1
Met Leu Gln Met Ala Gly Gln Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe Asp Ser
1 5 10 15

Leu Leu His Ala Cys Ile Pro Cys Gln Leu Arg Cys Ser Ser Asn Thr
20 25 30

Pro Pro Leu Thr Cys Gln Arg Tyr Cys Asn Ala Ser Val Thr Asn Ser
35 40 45

Val Lys Gly Thr Asn Ala Ile Leu Trp Thr Cys Leu Gly Leu Ser Leu
50 55 60

Ile Ile Ser Leu Ala Val Phe Val Leu Met Phe Leu Leu Arg Lys Ile
65 70 75 80

Asn Ser Glu Pro Leu Lys Asp Glu Phe Lys Asn Thr Gly Ser Gly Leu
85 90 95

Leu Gly Met Ala Asn Ile Asp Leu Glu Lys Ser Arg Thr Gly Asp Glu
100 105 110

Ile Ile Leu Pro Arg Gly Leu Glu Tyr Thr Val Glu Glu Cys Thr Cys
115 120 125

Glu Asp Cys Ile Lys Ser Lys Pro Lys Val Asp Ser Asp His Cys Phe
130 135 140

Pro Leu Pro Ala Met Glu Glu Gly Ala Thr Ile Leu Val Thr Thr Lys
145 150 155 160

Thr Asn Asp Tyr Cys Lys Ser Leu Pro Ala Ala Leu Ser Ala Thr Glu
165 170 175

Ile Glu Lys Ser Ile Ser Ala Arg
180

<210> 2
<211> 185
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 2
Met Ala Gln Gln Cys Phe His Ser Glu Tyr Phe Asp Ser Leu Leu His
1 5 10 15

Ala Cys Lys Pro Cys His Leu Arg Cys Ser Asn Pro Pro Ala Thr Cys
20 25 30

Gln Pro Tyr Cys Asp Pro Ser Val Thr Ser Ser Val Lys Gly Thr Tyr
35 40 45

Thr Val Leu Trp Ile Phe Leu Gly Leu Thr Leu Val Leu Ser Leu Ala
50 55 60

Leu Phe Thr Ile Ser Phe Leu Leu Arg Lys Met Asn Pro Glu Ala Leu
65 70 75 80

Lys Asp Glu Pro Gln Ser Pro Gly Gln Leu Asp Gly Ser Ala Gln Leu
85 90 95

Asp Lys Ala Asp Thr Glu Leu Thr Arg Ile Arg Ala Gly Asp Asp Arg
100 105 110

Ile Phe Pro Arg Ser Leu Glu Tyr Thr Val Glu Glu Cys Thr Cys Glu

115 120 125

Asp Cys Val Lys Ser Lys Pro Lys Gly Asp Ser Asp His Phe Phe Pro
130 135 140

Leu Pro Ala Met Glu Glu Gly Ala Thr Ile Leu Val Thr Thr Lys Thr
145 150 155 160

Gly Asp Tyr Gly Lys Ser Ser Val Pro Thr Ala Leu Gln Ser Val Met
165 170 175

Gly Met Glu Lys Pro Thr His Thr Arg
180 185

<210> 3
<211> 183
<212> PRT
<213> 食蟹獼猴

<400> 3
Met Leu Gln Met Ala Arg Gln Cys Ser Gln Asn Glu Tyr Phe Asp Ser
1 5 10 15

Leu Leu His Asp Cys Lys Pro Cys Gln Leu Arg Cys Ser Ser Thr Pro
20 25 30

Pro Leu Thr Cys Gln Arg Tyr Cys Asn Ala Ser Met Thr Asn Ser Val
35 40 45

Lys Gly Met Asn Ala Ile Leu Trp Thr Cys Leu Gly Leu Ser Leu Ile
50 55 60

Ile Ser Leu Ala Val Phe Val Leu Thr Phe Leu Leu Arg Lys Met Ser
65 70 75 80

Ser Glu Pro Leu Lys Asp Glu Phe Lys Asn Thr Gly Ser Gly Leu Leu
85 90 95

Gly Met Ala Asn Ile Asp Leu Glu Lys Gly Arg Thr Gly Asp Glu Ile
100 105 110

Val Leu Pro Arg Gly Leu Glu Tyr Thr Val Glu Glu Cys Thr Cys Glu
115 120 125

Asp Cys Ile Lys Asn Lys Pro Lys Val Asp Ser Asp His Cys Phe Pro
130 135 140

Leu Pro Ala Met Glu Glu Gly Ala Thr Ile Leu Val Thr Thr Lys Thr
145 150 155 160

Asn Asp Tyr Cys Asn Ser Leu Ser Ala Ala Leu Ser Val Thr Glu Ile
165 170 175

Glu Lys Ser Ile Ser Ala Arg
180

<210> 4
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<400> 4
Ser Gly Ser Tyr Phe Trp Gly
1 5

<210> 5
<211> 16
<212> PRT
<213> 智人

<400> 5
Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ile Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 6
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 6
His Asp Gly Ala Val Ala Gly Leu Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 7
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<400> 7
Ser Ser Ser Tyr Tyr Trp Gly

1 5

<210> 8
<211> 16
<212> PRT
<213> 智人

<400> 8
Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 9
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 9
His Asp Ala Ala Thr Ala Gly Leu Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 10
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<400> 10
Ser Gly Ser Tyr Tyr Trp Gly
1 5

<210> 11
<211> 16
<212> PRT
<213> 智人

<400> 11
Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Trp Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 12
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 12
His Glu Gly Ala Thr Ala Gly Leu Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 13
<211> 7

<212> PRT
<213> 智人

<400> 13
Ser Ser Ser Tyr Phe Trp Gly
1 5

<210> 14
<211> 16
<212> PRT
<213> 智人

<400> 14
Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Arg Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 15
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 15
His Ser Gly Ala Thr Ala Gly Leu Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 16
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 16
His Glu Gly Ala Val Ala Gly Leu Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 17
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 17
His Ser Gly Ala Val Ala Gly Leu Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 18
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 18
His Asp Ala Ala Val Ala Gly Leu Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 19
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 19
His Asp Gly Ala Thr Ala Gly Leu Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 20
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 20
His Gln Gly Ala Thr Ala Gly Leu Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 21
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 21
His His Gly Ala Thr Ala Gly Leu Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 22
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 22
His Trp Gly Ala Thr Ala Gly Leu Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 23
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 23
His Tyr Gly Ala Thr Ala Gly Leu Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 24
<211> 11

<212> PRT
<213> 智人

<400> 24
Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val His
1 5 10

<210> 25
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<400> 25
Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser
1 5

<210> 26
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 26
Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His Val Val
1 5 10

<210> 27
<211> 122
<212> PRT
<213> 智人

<400> 27
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30

Ser Tyr Phe Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ile Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

85 90 95

Cys Ala Arg His Asp Gly Ala Val Ala Gly Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
115 120

<210> 28
<211> 108
<212> PRT
<213> 智人

<400> 28
Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Pro Pro Gly Gln Ala Pro Val Val Val Val Tyr
35 40 45

Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
65 70 75 80

Asp Glu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His
85 90 95

Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 29
<211> 122
<212> PRT
<213> 智人

<400> 29
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30

Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ile Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg His Asp Ala Ala Thr Ala Gly Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
115 120

<210> 30
<211> 108
<212> PRT
<213> 智人

<400> 30
Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
35 40 45

Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His

85 90 95

Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 31
<211> 122
<212> PRT
<213> 智人

<400> 31
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30

Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ile Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg His Glu Gly Ala Thr Ala Gly Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
115 120

<210> 32
<211> 122
<212> PRT
<213> 智人

<400> 32
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30

Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ile Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg His Ser Gly Ala Thr Ala Gly Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
115 120

<210> 33
<211> 122
<212> PRT
<213> 智人

<400> 33
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

85 90 95

Cys Ala Arg His Asp Gly Ala Val Ala Gly Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
115 120

<210> 34
<211> 122
<212> PRT
<213> 智人

<400> 34
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

Ser Tyr Phe Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ile Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg His Asp Gly Ala Val Ala Gly Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
115 120

<210> 35
<211> 122
<212> PRT
<213> 智人

<400> 35

Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30

Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ile Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg His Asp Gly Ala Val Ala Gly Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
115 120

<210> 36
<211> 122
<212> PRT
<213> 智人

<400> 36
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30

Ser Tyr Phe Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ile Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe

65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg His Glu Gly Ala Val Ala Gly Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
115 120

<210> 37
<211> 122
<212> PRT
<213> 智人

<400> 37
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30

Ser Tyr Phe Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ile Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg His Ser Gly Ala Val Ala Gly Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
115 120

<210> 38
<211> 122

<212> PRT
<213> 智人

<400> 38
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30

Ser Tyr Phe Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ile Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg His Asp Ala Ala Val Ala Gly Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
115 120

<210> 39
<211> 122
<212> PRT
<213> 智人

<400> 39
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30

Ser Tyr Phe Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ile Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg His Asp Gly Ala Thr Ala Gly Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
115 120

<210> 40
<211> 122
<212> PRT
<213> 智人

<400> 40
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30

Ser Tyr Phe Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg His Asp Gly Ala Val Ala Gly Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
115 120

<210> 41
<211> 122
<212> PRT
<213> 智人

<400> 41
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30

Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg His Asp Ala Ala Val Ala Gly Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
115 120

<210> 42
<211> 122
<212> PRT
<213> 智人

<400> 42
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30

Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg His Glu Gly Ala Val Ala Gly Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
115 120

<210> 43
<211> 122
<212> PRT
<213> 智人

<400> 43
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

Ser Tyr Phe Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Arg Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg His Asp Gly Ala Thr Ala Gly Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
115 120

<210> 44
<211> 122
<212> PRT
<213> 智人

<400> 44
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

Ser Tyr Phe Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Trp Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg His Asp Gly Ala Thr Ala Gly Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
115 120

<210> 45
<211> 122
<212> PRT
<213> 智人

<400> 45
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser

20 25 30

Ser Tyr Phe Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ile Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg His Gln Gly Ala Thr Ala Gly Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
115 120

<210> 46
<211> 122
<212> PRT
<213> 智人

<400> 46
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

Ser Tyr Phe Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ile Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg His His Gly Ala Thr Ala Gly Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
115 120

<210> 47
<211> 122
<212> PRT
<213> 智人

<400> 47
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

Ser Tyr Phe Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ile Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg His Trp Gly Ala Thr Ala Gly Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
115 120

<210> 48
<211> 122
<212> PRT
<213> 智人

<400> 48
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

Ser Tyr Phe Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ile Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg His Tyr Gly Ala Thr Ala Gly Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
115 120

<210> 49
<211> 122
<212> PRT
<213> 智人

<400> 49
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

Ser Tyr Phe Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Arg Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg His Gln Gly Ala Thr Ala Gly Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
115 120

<210> 50
<211> 122
<212> PRT
<213> 智人

<400> 50
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

Ser Tyr Phe Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Arg Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg His His Gly Ala Thr Ala Gly Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
115 120

<210> 51
<211> 122
<212> PRT

<213> 智人

<400> 51
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

Ser Tyr Phe Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Arg Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg His Tyr Gly Ala Thr Ala Gly Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
115 120

<210> 52
<211> 122
<212> PRT
<213> 智人

<400> 52
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

Ser Tyr Phe Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Trp Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg His Gln Gly Ala Thr Ala Gly Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
115 120

<210> 53
<211> 122
<212> PRT
<213> 智人

<400> 53
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

Ser Tyr Phe Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Trp Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg His His Gly Ala Thr Ala Gly Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
115 120

<210> 54
<211> 122
<212> PRT
<213> 智人

<400> 54
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

Ser Tyr Phe Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Trp Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg His Tyr Gly Ala Thr Ala Gly Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
115 120

<210> 55
<211> 452
<212> PRT
<213> 智人

<400> 55
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr
20 25 30

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Ala Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
115 120 125

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser
130 135 140

Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
145 150 155 160

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
165 170 175

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
180 185 190

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys
195 200 205

Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu
210 215 220

Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala
225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser

260 265 270

Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser
325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Leu Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Leu Gly Lys
450

<210> 56
<211> 215
<212> PRT
<213> 智人

<400> 56
Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
1 5 10 15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val
65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro
100 105 110

Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu
115 120 125

Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro
130 135 140

Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala
145 150 155 160

Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala
165 170 175

Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg
180 185 190

Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr
195 200 205

Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser

210 215

<210> 57
<211> 122
<212> PRT
<213> 智人

<400> 57
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30

Ser Tyr Phe Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ile Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg His Asp Gly Ala Val Ala Gly Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
115 120

<210> 58
<211> 122
<212> PRT
<213> 智人

<400> 58
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

Ser Tyr Phe Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ile Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg His Asp Gly Ala Thr Ala Gly Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
115 120

<210> 59
<211> 5
<212> PRT
<213> 智人

<400> 59
Thr Tyr Ala Met Asn
1 5

<210> 60
<211> 19
<212> PRT
<213> 智人

<400> 60
Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 61
<211> 14
<212> PRT
<213> 智人

<400> 61
His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr

1 5 10

<210> 62
<211> 14
<212> PRT
<213> 智人

<400> 62
Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn
1 5 10

<210> 63
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<400> 63
Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro
1 5

<210> 64
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<400> 64
Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val
1 5

<210> 65
<211> 448
<212> PRT
<213> 智人

<400> 65
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30

Ser Tyr Phe Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ile Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg His Asp Gly Ala Val Ala Gly Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly
210 215 220

Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro
260 265 270

Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr
325 330 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340 345 350

Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415

Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 66
<211> 214
<212> PRT
<213> 智人

<400> 66
Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Pro Pro Gly Gln Ala Pro Val Val Val Val Tyr
35 40 45

Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
65 70 75 80

Asp Glu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His
85 90 95

Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys
100 105 110

Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln
115 120 125

Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly
130 135 140

Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly
145 150 155 160

Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala
165 170 175

Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser
180 185 190

Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val
195 200 205

Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210

<210> 67
<211> 448
<212> PRT
<213> 智人

<400> 67
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30

Ser Tyr Phe Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ile Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg His Asp Gly Ala Val Ala Gly Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly
210 215 220

Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro
260 265 270

Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr
325 330 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340 345 350

Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415

Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 68
<211> 448
<212> PRT
<213> 智人

<400> 68
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

Ser Tyr Phe Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ile Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg His Asp Gly Ala Val Ala Gly Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly
210 215 220

Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro
260 265 270

Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr
325 330 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340 345 350

Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415

Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 69
<211> 448
<212> PRT
<213> 智人

<400> 69
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30

Ser Tyr Phe Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ile Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg His Asp Gly Ala Thr Ala Gly Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly
210 215 220

Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro
260 265 270

Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr
325 330 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340 345 350

Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415

Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 70
<211> 448
<212> PRT
<213> 智人

<400> 70
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30

Ser Tyr Phe Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg His Asp Gly Ala Val Ala Gly Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly
210 215 220

Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro
260 265 270

Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr
325 330 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340 345 350

Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415

Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 71
<211> 448
<212> PRT
<213> 智人

<400> 71
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

Ser Tyr Phe Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ile Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg His Asp Gly Ala Thr Ala Gly Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly
210 215 220

Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro
260 265 270

Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr
325 330 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340 345 350

Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415

Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 72
<211> 448
<212> PRT
<213> 智人

<400> 72
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser
20 25 30

Ser Tyr Phe Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Arg Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg His Asp Gly Ala Thr Ala Gly Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly
210 215 220

Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro
260 265 270

Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr
325 330 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340 345 350

Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415

Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 73
<211> 327
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列描述: 合成多肽

<400> 73
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
325

<210> 74
<211> 330
<212> PRT
<213> 智人

<400> 74
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 75
<211> 230
<212> PRT
<213> 智人

<400> 75
Gln Leu Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30

Ser Tyr Phe Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ile Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg His Asp Gly Ala Val Ala Gly Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val

180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

His His His His His His
225 230

<210> 76
<211> 214
<212> PRT
<213> 智人

<400> 76
Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Pro Pro Gly Gln Ala Pro Val Val Val Val Tyr
35 40 45

Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
65 70 75 80

Asp Glu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His
85 90 95

Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys
100 105 110

Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln
115 120 125

Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly
130 135 140

Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Gly Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly
145 150 155 160

Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala
165 170 175

Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser
180 185 190

Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val
195 200 205

Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210

<210> 77
<211> 5
<212> PRT
<213> 智人

<400> 77
Gly Ala Val Ala Gly
1 5

【發明申請專利範圍】

【請求項1】一種免疫特異性結合至BCMA之重組抗體，其包括含有SEQ ID NO: 65胺基酸序列之重鏈以及含有SEQ ID NO: 76胺基酸序列之輕鏈。

【請求項2】如請求項1之重組抗體，其中：

i) 該重組抗體結合至人類BCMA之胞外域；

ii) 該重組抗體係一人類抗體；

iii) 該重組抗體抑制BCMA與APRIL的交互作用；

iv) 該重組抗體係IgG4同型；

v) 該重組抗體免疫特異性結合人類BCMA並與食蟹獼猴BCMA交叉反應；

vi) 該重組抗體結合人類骨髓瘤細胞表面上的BCMA；及/或

vii) 該重組抗體結合人類多發性骨髓瘤細胞表面上的BCMA。

【請求項3】一種醫藥組成物，其包括如請求項1或2之重組抗體、及一醫藥上可接受之載劑。

【請求項4】一種細胞，其表現如請求項1或2之重組抗體，可選地其中該細胞係融合瘤。

【請求項5】一種藉由培養如請求項4之細胞產生如請求項1或2之重組抗體之方法。

【請求項6】一種單離合成性多核苷酸，其編碼如請求項1或2之重組抗體。

【請求項7】一種套組，其包含如請求項1或2所定義之重組抗體、及/或如請求項6所定義之單離合成性多核苷酸、及用於上述者之包裝。

【請求項8】一種如請求項1或2之重組抗體或如請求項3之醫藥組成物用於製備治療癌症之藥物之用途。

【請求項9】 如請求項8之用途，其中該癌症係BCMA表現性B細胞癌。

【請求項10】 如請求項8之用途，其中該癌症係淋巴瘤。

【請求項11】 如請求項8之用途，其中該癌症係多發性骨髓瘤。

【請求項12】 如請求項8之用途，其中該重組抗體係與另一治療劑組合使用。

【請求項13】 如請求項12之用途，其中該另一治療劑係選自阿糖胞苷、蒽環素、組織胺二鹽酸鹽、和介白素2所構成之群組之化學治療劑。

【請求項14】 如請求項8之用途，其中該藥物係用於在將自體骨髓移植到病患之前先對其處理。

【請求項15】 如請求項14之用途，其中該藥物係用於殺滅勝任T細胞和/或預防移植物抗宿主病(GVHD)。

【請求項16】 一種重組BCMA × CD3雙特異性抗體，其包括：

第一重鏈(HC1)，其包括SEQ ID NO: 55之胺基酸序列，

第一輕鏈(LC1)，其包括SEQ ID NO: 56之胺基酸序列，

第二重鏈(HC2)，其包括SEQ ID NO: 65之胺基酸序列，以及

第二輕鏈(LC2)，其包括SEQ ID NO: 76之胺基酸序列，

其中HC1係與LC1相關聯以及形成免疫特異性結合至CD3之第一抗原結合部位；以及

其中HC2係與LC2相關聯以及形成免疫特異性結合至BCMA之第二抗原結合部位。

【請求項17】 如請求項16之重組BCMA × CD3雙特異性抗體，其：

i) 係IgG4同型；

ii) 如表面電漿共振所測以至少0.22 nM之親和力免疫特異性結合人類BCMA；

iii) 結合人類骨髓瘤細胞表面上的BCMA；

iv) 結合人類多發性骨髓瘤細胞表面上的BCMA；

v) 以小於約0.37 nM的EC_{50}誘導人類T細胞活化；

vi) 以小於約0.45 nM的EC_{50}誘導BCMA表現細胞的T細胞依賴性細胞毒性；

vii) 不是BCMA促效劑；及/或

viii) 在低於10 nM的濃度不改變NF-κB之活化。

【請求項18】一種醫藥組成物，其包括如請求項16或17之重組BCMA × CD3雙特異性抗體、及一醫藥上可接受之載劑。

【請求項19】一種細胞，其表現如請求項16或17之重組BCMA × CD3雙特異性抗體，可選地其中該細胞係融合瘤。

【請求項20】一種藉由培養如請求項19之細胞產生如請求項16或17之重組BCMA × CD3雙特異性抗體之方法。

【請求項21】一或多個單離合成性多核苷酸，其編碼如請求項16或17之重組BCMA × CD3雙特異性抗體。

【請求項22】一種套組，其包含如請求項16或17之重組BCMA × CD3雙特異性抗體、及/或如請求項6所定義之一或多單離合成性多核苷酸、及用於上述者之包裝。

【請求項23】一種如請求項16或17之重組BCMA × CD3雙特異性抗體或如請求項18之醫藥組成物用於製備治療癌症之藥物之用途。

【請求項24】如請求項23之用途，其中該癌症係BCMA表現性B細胞癌。

【請求項25】 如請求項23之用途，其中該癌症係淋巴瘤。

【請求項26】 如請求項23之用途，其中該癌症係多發性骨髓瘤。

【請求項27】 如請求項23之用途，其中該重組BCMA × CD3雙特異性抗體係與另一治療劑組合使用。

【請求項28】 如請求項27之用途，其中該另一治療劑係選自阿糖胞苷、蒽環素、組織胺二鹽酸鹽、和介白素2所組成之群組之化學治療劑。

【請求項29】 如請求項23之用途，其中該藥物係用於在將自體骨髓移植到病患之前先對其處理。

【請求項30】 如請求項29之用途，其中該藥物係用於殺滅勝任T細胞和/或預防移植物抗宿主病(GVHD)。

【發明圖式】

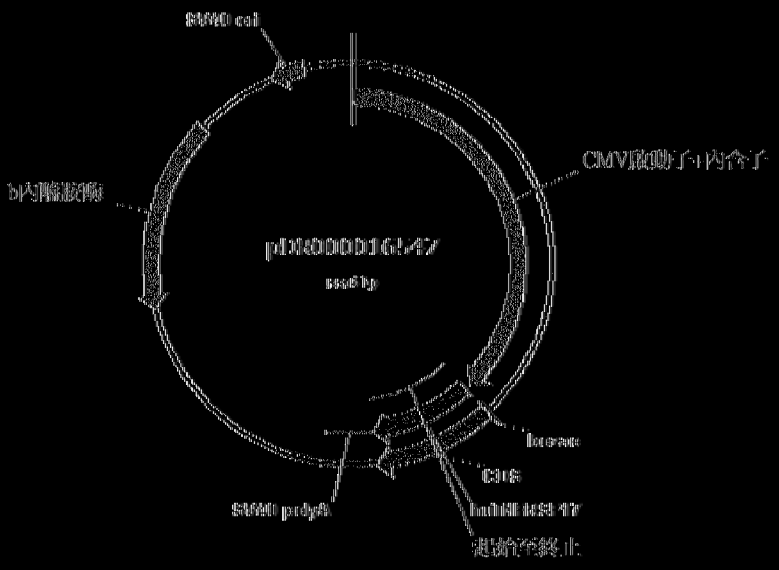

SV40 ori
b內隱啟動
CMV啟動子+內含子
pDR00001641-47
5556bp
bGH
cDS
SV40 polyA
hBMP BSE 17
選殖位點

圖1A

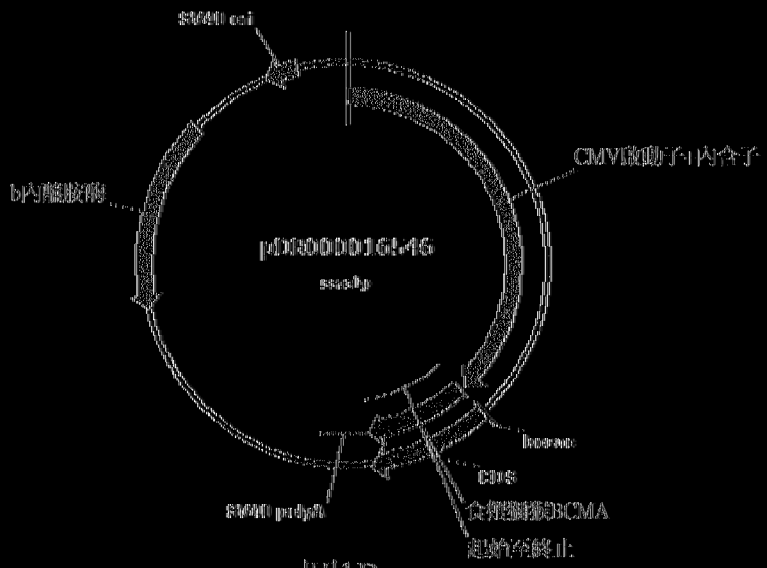

SV40 ori
b內隱啟動
CMV啟動子+內含子
pDR00001641-46
5556bp
bGH
cDS
SV40 polyA
全胜蛋白BCMA
選殖位點

圖1B

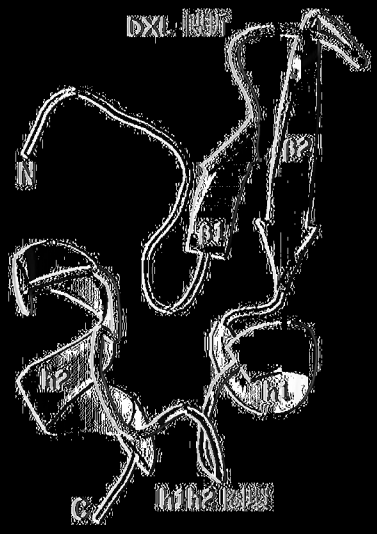


圖2A

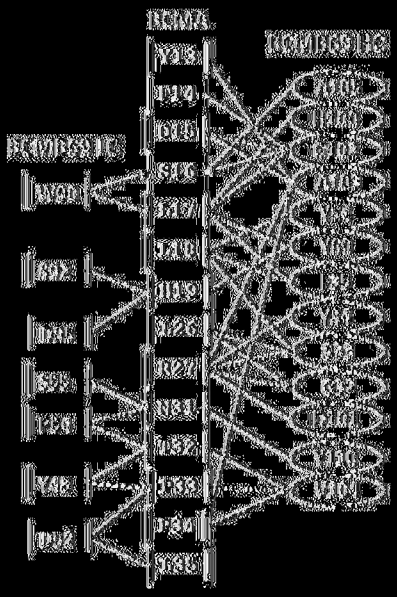


圖2B

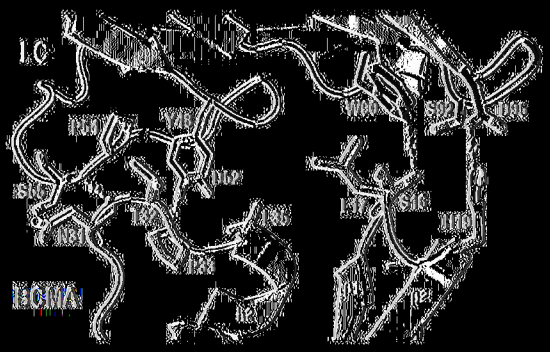


圖2C

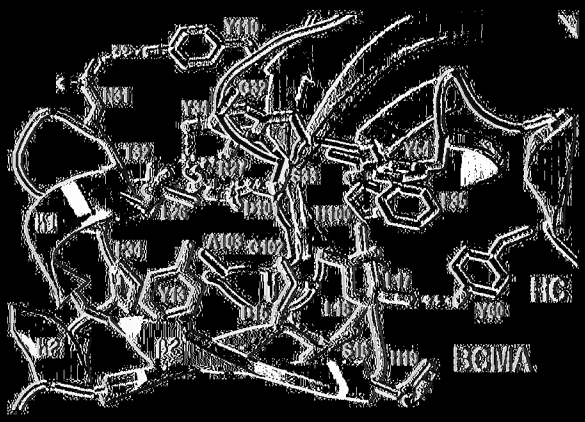


圖2D

表位

1 … 54

人類 BCMA MLQMAGQCSQNEYFDSLLHACIPCQLRCSSNTPPLTCQRYCNASVTNSVKGTNA （SEQ ID NO: 1之1至54）

食蟹獼猴 BCMA MLQMARQCSQNEYFDSLLHDCKPCQLRCSSTPPLTCQRYCNASMTNSVKGMNA （SEQ ID NO: 3之1至53）

小鼠 BCMA ---MAQQCFHSEYFDSLLHACKPCHLRCSNPPATCQPYCDPSVTSSVKGTYT （SEQ ID NO: 2之1至49）

互補位

SEQ ID NO: 75

1 … CDR-H1 … CDR-H2 … 77

BCMB69_HC QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGITYYNPSLKSRVTISVDTSK

78 … CDR-H3 … 154

BCMB69_HC NQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDGSYAGCLFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY

155 … 231

BCMB69_HC FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCHHHHHH

SEQ ID NO: 76

1 … CDR-L1 … CDR-L2 … 72

BCMB69_LC SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATL

73 … CDR-L3 … 144

BCMB69_LC TISRVEAGDEAVYYCQVWDSSSDHVVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPG

145 … 214

BCMB69_LC AVTVAWKGDSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

圖3

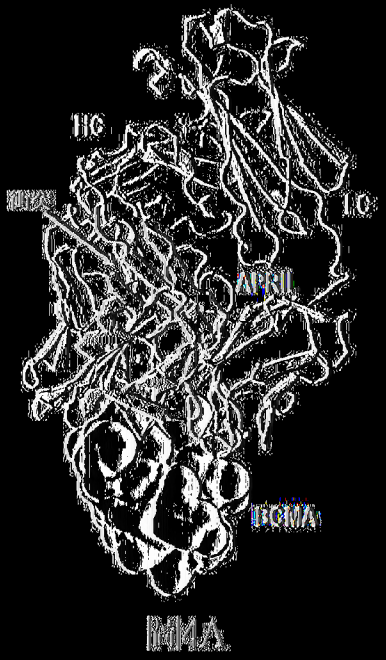


圖4A

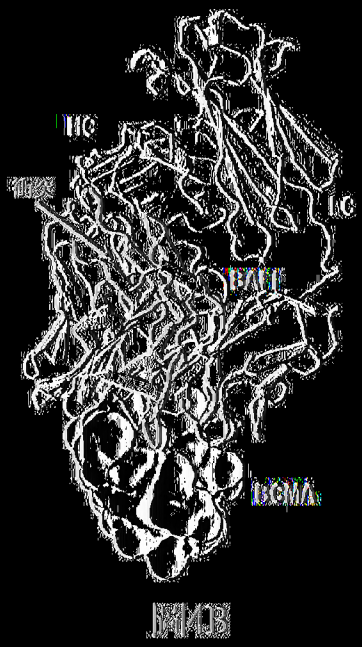


圖4B

mAb	Fc-BCMA	第一複合體 (K_{D1}, nM)	最終複合體 (K_D, nM)	範圍
BCMB72	人類	1.59	0.18	0.15至0.20
	食蟹獼猴(Cyno)	17.8	6.50	5.36至7.27
	小鼠	283	72.4	62.0至82.9

BCMB72親和力：人類>食蟹獼猴>>小鼠

圖5

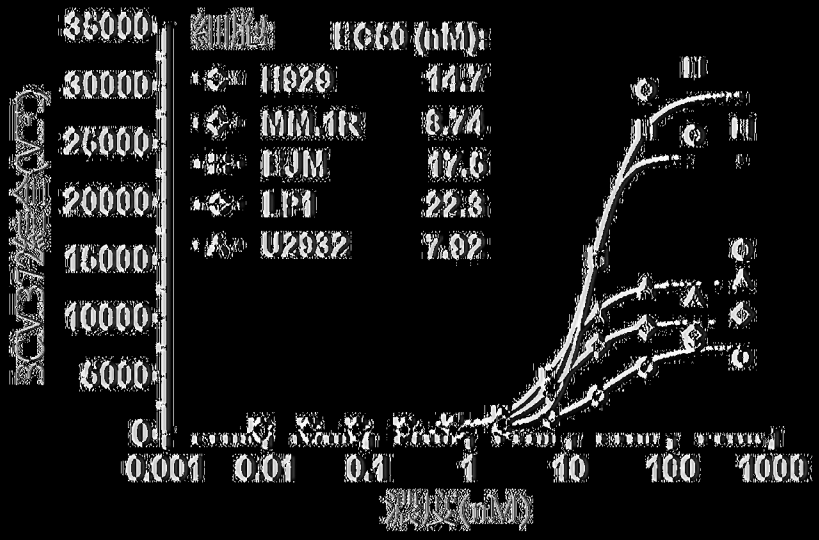
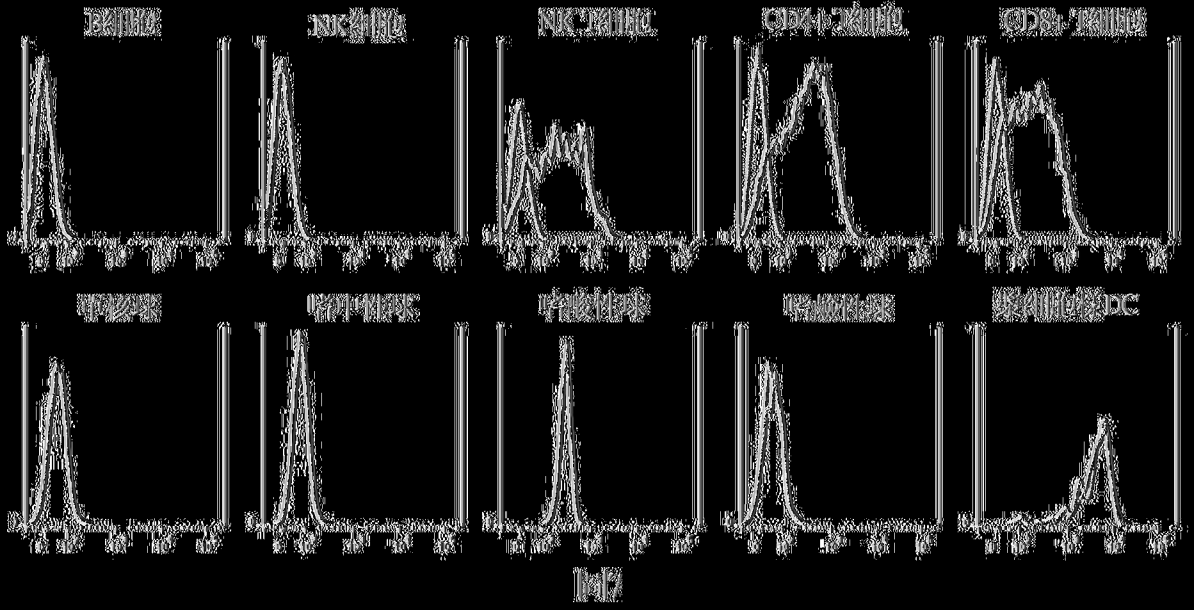

細胞株
IC50 (nM)
H929 14.7
MM.1R 8.74
DJM 17.6
LP1 22.3
U2932 7.92
CCK-8 (OD450)
35000
30000
25000
20000
15000
10000
5000
0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
濃度(nM)

圖16


脂肪酸
NK細胞
NK細胞
CD4+T細胞
CD8+T細胞
骨髄芽球
骨髄単球
骨髄性球
骨髄性球
顆粒球系DC
時間

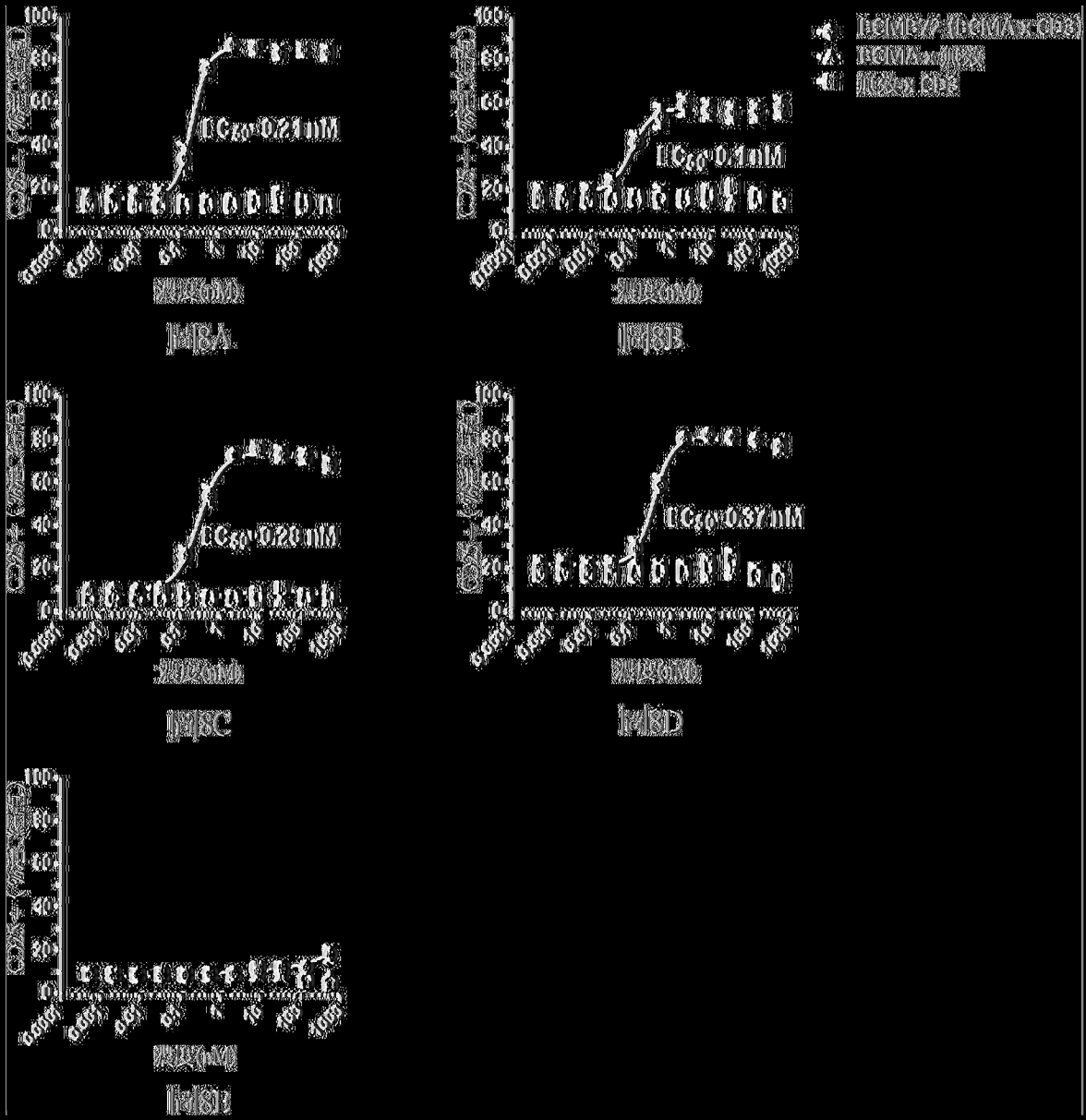


圖8A

圖8B

圖8C

圖8D

圖8E

組織學	0.929 (0.0170, 0.0727)		3.929 (1.000, 8.023)	
地區	1050 mM	多個入學機	1050 mM	多個入學機
M5137	0.1683	89.74	−0.5477	68.70
M7197	0.3000	80.73	1.0860	81.11
M6576	0.3178	85.08	0.5134	87.66
M6457	0.2436	74.57	0.7859	81.07
M2550	0.1572	92.34	0.4325	85.24
M6521	0.1313	85.01	無數據	無數據
M7077	無數據	無數據	1.3240	72.96
平均	0.2116	84.64	0.7070	78.13

組織學	0.0431 (0.000, 0.0771)		0.110 (0.000, 0.223)	
地區	1050 mM	多個入學機	1050 mM	多個入學機
M5137	0.0968	64.71	0.1296	79.62
M7197	0.1159	45.60	0.1323	70.25
M6576	0.1179	50.93	0.1646	78.08
M6457	0.0776	49.27	0.1042	80.51
M2550	0.1206	60.05	0.3514	83.80
M6521	0.0964	73.62	無數據	無數據
M7077	無數據	無數據	0.2470	66.68
平均	0.0892	57.17	0.1675	76.25

組織學	0.0411 (0.000, 0.0771)		0.0976 (0.000, 0.223)	
地區	1050 mM	多個入學機	1050 mM	多個入學機
M5137	0.2448	71.81	0.4787	50.33
M7197	0.2260	67.98	0.3357	64.15
M6576	0.2482	77.69	0.3094	70.58
M6457	0.3011	65.83	0.4631	57.15
M2550	0.6072	84.07	0.5163	70.42
M6521	0.1409	67.74	無數據	無數據
M7077	無數據	無數據	0.4055	54.73
平均	0.2777	72.76	0.4024	61.19

組織學	0.756 (0.000, 0.771)		0.956 (0.000, 0.223)	
地區	1050 mM	多個入學機	1050 mM	多個入學機
M5137	0.7068	85.39	0.4073	73.02
M7197	0.3833	71.98	0.5545	65.98
M6576	0.4521	80.52	0.6042	76.95
M6457	0.3646	74.82	0.4772	61.85
M2550	0.5756	85.30	0.6823	76.24
M6521	0.4068	84.71	無數據	無數據
M7077	無數據	無數據	0.6679	68.31
平均	0.5745	80.45	0.5711	70.34

組織學	0.0431 (0.000, 0.0771)		0.0911 (0.000, 0.223)	
地區	1050 mM	多個入學機	1050 mM	多個入學機
M5137	−2.940e+006	−1522	−1.357	4.702
M7197	6.214	7.572	144	6.156
M6576	−1.855e+010	−104868	31.41	10.7
M6457	−2.294e+007	−4196	無斷代	無斷代
M2550	−4.075e+008	−68789	16.85	5.676
M6521	−59722	−1105	無數據	無數據
M7077	無數據	無數據	2.79	8.427
平均	1.591e+012	22946	30.58	6.954

圖9

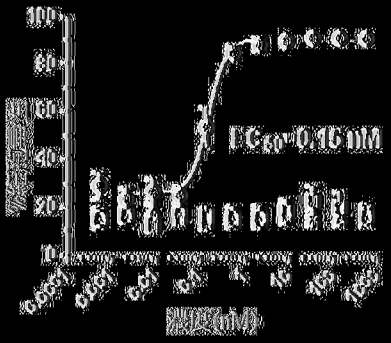


圖10A

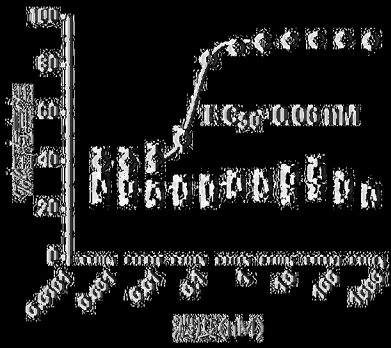


圖10B

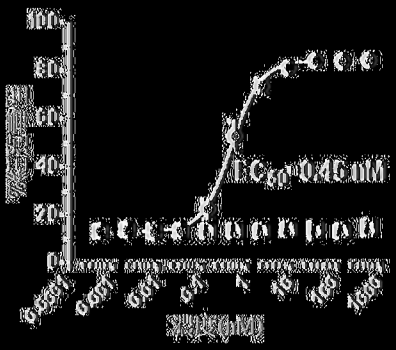


圖10C

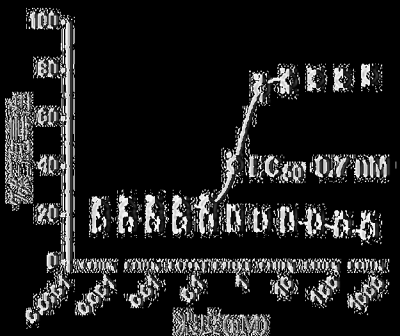


圖10D

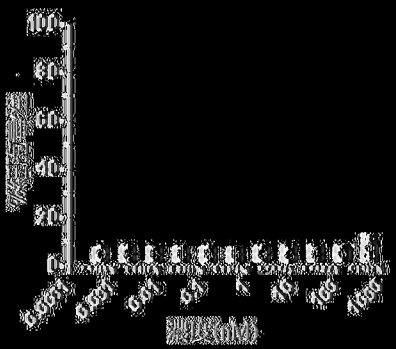


圖10E

EGMB72 (EGMAX-CD3)
EGMAx-(CX)
(EGMAx-CD3)

自由度	UBM 1[CMA 00/23]		1029 [CMA 00/23]	
自由度	1.50 (mm)	欠陥入荷率	1.50 (mm)	欠陥入荷率
M5137	0.2376	90.48	1.1630	75.61
M7197	0.1631	92.07	1.3480	82.56
M6576	−0.1405	91.75	0.4301	87.14
M6457	0.2294	79.98	0.8720	82.29
M2550	−0.1130	92.48	0.3575	89.63
M6521	0.0973	92.27	無欠陥	無欠陥
M7077	無欠陥	無欠陥	1.7690	80.05
平均	0.1495	89.72	0.8139	83.18

自由度	MM 1k [CMA 00/23]		MM 1k [CMA 00/23]	
自由度	1.50 (mm)	欠陥入荷率	1.50 (mm)	欠陥入荷率
M5137	0.0654	92.97	0.0569	97.23
M7197	0.0824	92.60	0.0945	96.75
M6576	0.0480	90.47	0.0617	95.29
M6457	0.0548	81.00	0.0432	87.92
M2550	0.0595	92.95	0.1212	96.97
M6521	0.0511	87.76	無欠陥	無欠陥
M7077	無欠陥	無欠陥	0.1008	94.98
平均	0.0617	89.62	0.0766	94.87

自由度	BM 8275 [CMA 00/23]		BM 8275 [CMA 00/23]	
自由度	1.50 (mm)	欠陥入荷率	1.50 (mm)	欠陥入荷率
M5137	0.5044	82.02	1.0670	81.12
M7197	0.7262	82.47	0.8636	78.55
M6576	0.3366	86.65	0.4842	79.81
M6457	0.6967	76.10	1.0700	69.25
M2550	0.5379	89.73	0.6956	84.73
M6521	0.1625	81.03	無欠陥	無欠陥
M7077	無欠陥	無欠陥	1.2050	73.50
平均	0.4531	83.55	0.8543	77.99

自由度	U295 [CMA 00/23]		U295 [CMA 00/23]	
自由度	1.50 (mm)	欠陥入荷率	1.50 (mm)	欠陥入荷率
M5137	0.7610	72.59	1.0180	76.19
M7197	0.7355	76.36	1.1610	77.29
M6576	0.7298	83.86	0.9710	82.34
M6457	0.7734	62.05	1.4320	56.77
M2550	0.6516	83.21	0.9347	85.93
M6521	0.5621	83.09	無欠陥	無欠陥
M7077	無欠陥	無欠陥	1.1580	74.21
平均	0.7046	76.82	1.0800	75.31

自由度	MM 10 [CMA 00/23]		MM 10 [CMA 00/23]	
自由度	1.50 (mm)	欠陥入荷率	1.50 (mm)	欠陥入荷率
M5137	2.038	8.25	−0.06555	18.31
M7197	−157.1	4.79	無限大	無限大
M6576	−391461	−23049	18.61	9.836
M6457	無限大	無限大	0	-9.780
M2550	−147.7	8.21	−14.70	8.366
M6521	無限大	無限大	無欠陥	無欠陥
M7077	無欠陥	無欠陥	−1.247e+022	18.68
平均	−1572	7.558	無限大	無限大

図11

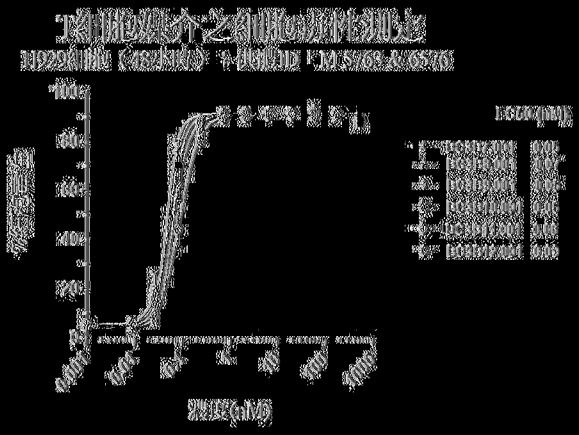

不同濃度抗生素組合的存活率
HP229(無質粒) HP230(質粒) HP1576,2,6576
存活率(%)
100
80
60
40
20
0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
抗生素(μM)
HP229
HP230
HP1576
HP2
HP6
HP576

圖12A

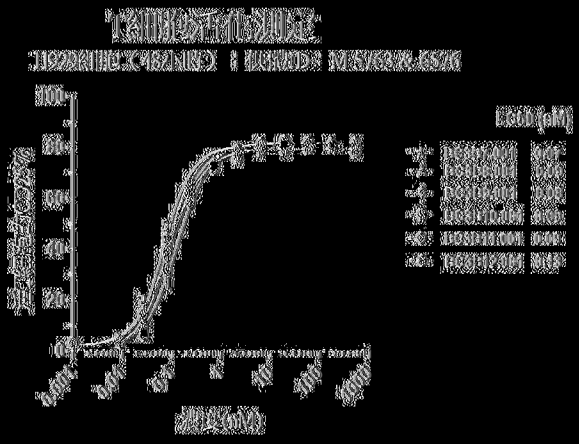

不同濃度抗生素
HP229(無質粒) HP230(質粒) HP1576,2,6576
存活率(%)
100
80
60
40
20
0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
抗生素(μM)
HP229
HP230
HP1576
HP2
HP6
HP576

圖12B

BCMAxCD3 HC$_{50}$ 分析(nM)						
	M2550	M5137	M6457	M6541	M6576	M7197
IL-Ng	2.049	~ 2.079	~ 2.112	~ 0.9252	1.366	1.126
TNFa	2.909	2.377	3.717	2.863	1.991	95.15
IL-2	3.262	1.645	2.500	1.297	1.501	1.767
IL-6	2.305	~ 2.064	1.65	~ 0.5650	0.7961	~ 0.5003
IL-8	1.031	0.3267	0.7208	~ 0.1117	0.328	~ 0.4640
IL-10	1.158	~ 0.7865	0.7296	~ 0.5154	~ 0.5217	0.9593

圖13

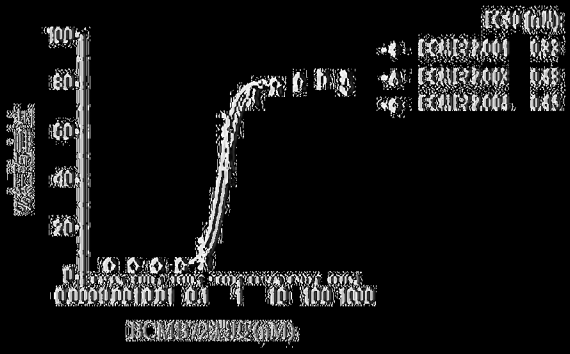

IC50 (nM)
EC/IF22001 0.88
EC/IF22002 0.48
EC/IF22003 0.45
100
80
60
40
20
0
0.0001 0.001 0.01 0.1 1 10 100 1000
EC/MS72[illegible] (nM)

圖14A.

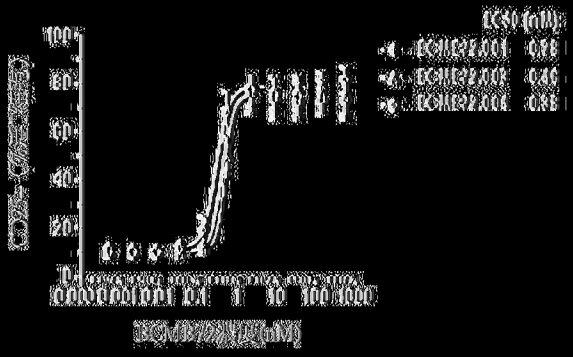

IC50 (nM)
EC/IF22001 0.88
EC/IF22002 0.46
EC/IF22003 0.88
100
80
60
40
20
0
0.0001 0.001 0.01 0.1 1 10 100 1000
EC/MS72[illegible] (nM)

圖14B

H929對照組中，出現了38%的凋亡。
凋亡率 (%)
0
1
2
3
4
5
6
APE-1000
APE-1000
3AE-1000
3AE-1000
BCMB72
BC8134
CNTO7008
濃度(ng/ml)

圖15

圖16A

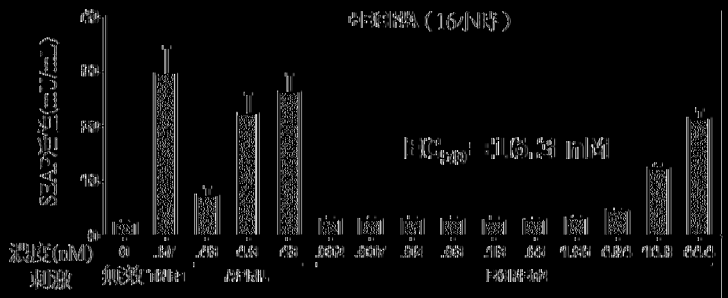


圖16B

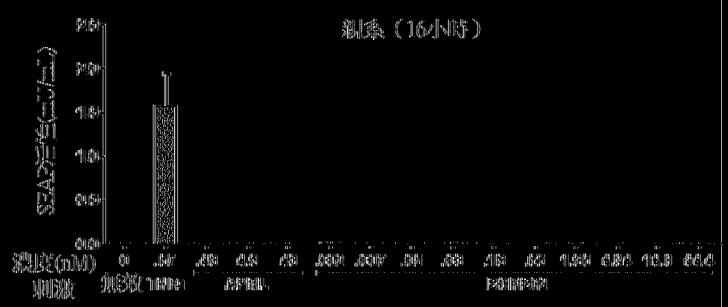


圖16C

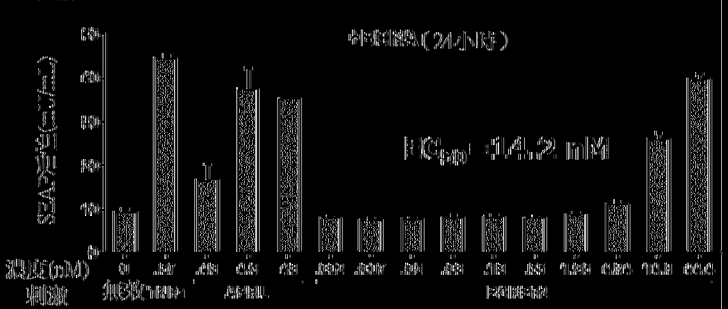


圖16D

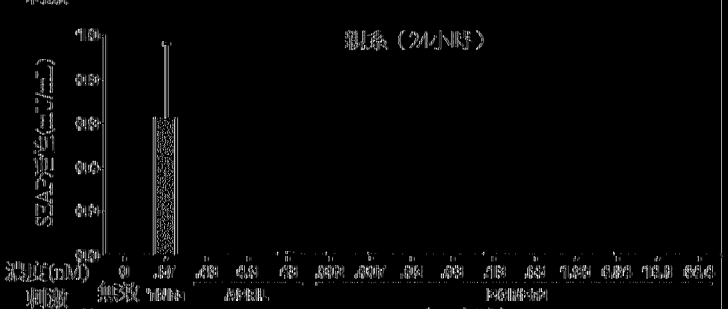


圖16E

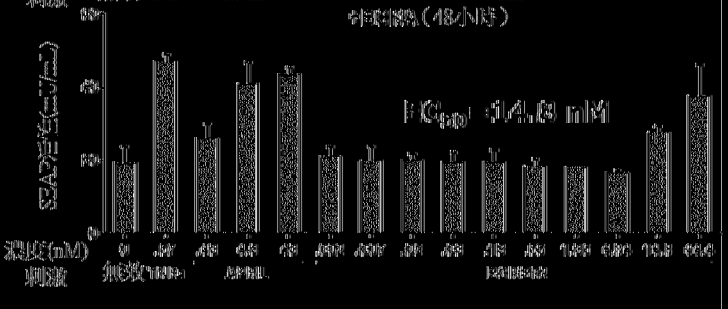
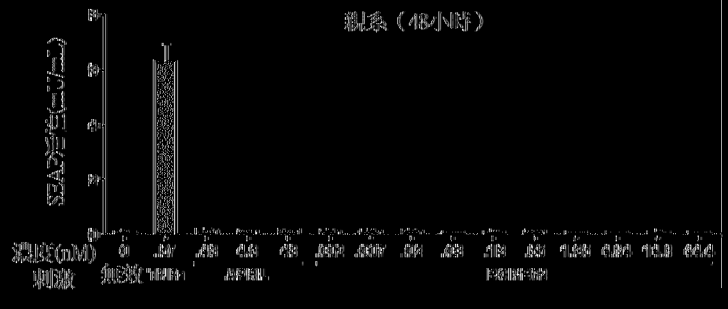


圖16F



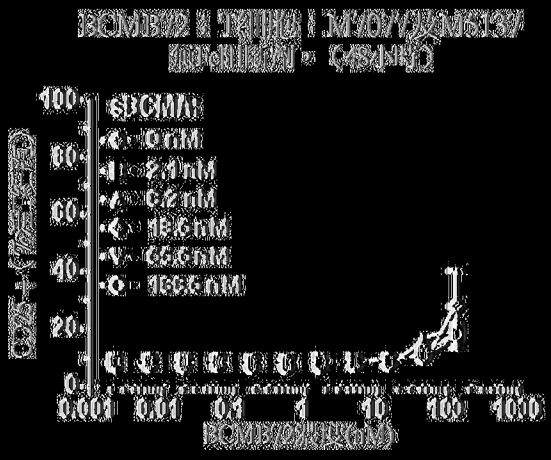

BCMB72 & TAUB & MYOV/ZZM613
抗CD3抗体 + 结合物
sBCMA:
0 nM
2.1 nM
6.2 nM
18.6 nM
55.6 nM
166.6 nM
CD3+细胞杀伤(%)
100
80
60
40
20
0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
BCMB72浓度(nM)

图17A

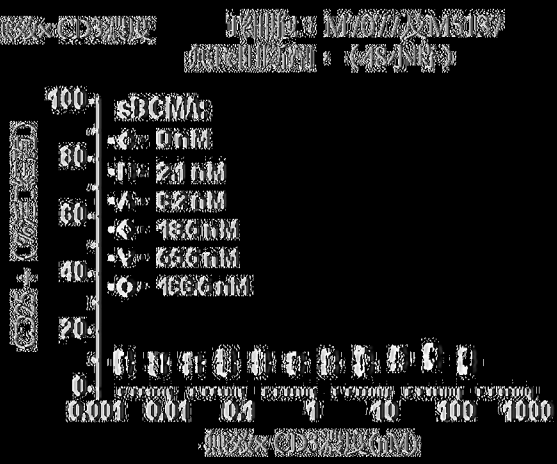

抗CD3抗体
TAUB & MYOV/ZZM613
抗CD3抗体 + 结合物
sBCMA:
0 nM
2.1 nM
6.2 nM
18.6 nM
55.6 nM
166.6 nM
CD3+细胞杀伤(%)
100
80
60
40
20
0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
抗CD3抗体(nM)

图17B

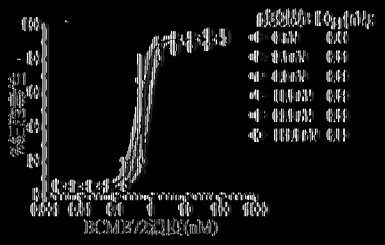


圖18A

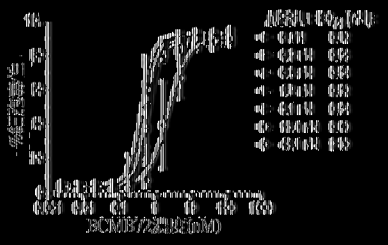


圖18B

圖18C

圖18D

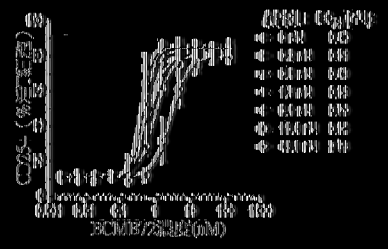


圖18E

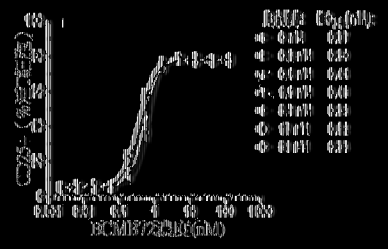


圖18F


BCMA結合APRIL (n = 2)
120
100
80
60
40
20
0
0.01
0.1
1
10
100
1000
BCMP72
(mIgG1-CD3)

圖19A.


BCMA結合BAFF (n = 2)
120
100
80
60
40
20
0
0.01
0.1
1
10
100
1000
BCMP72
(mIgG1-CD3)

圖19B.

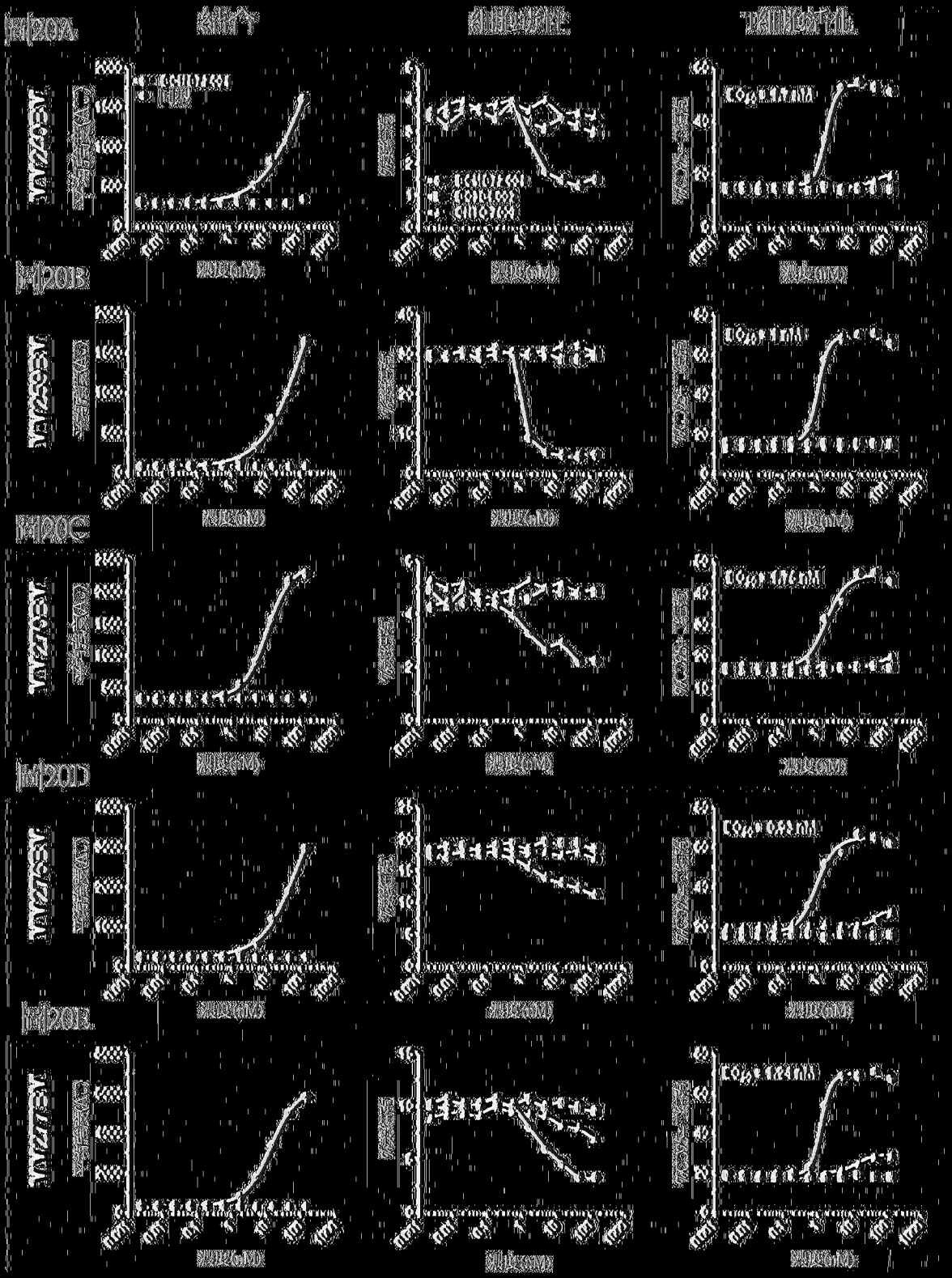


圖20A.
圖20B.
圖20C.
圖20D.
圖20E.
圖20F.
圖20G.
圖20H.
圖20I.
圖20J.
圖20K.
圖20L.
圖20M.
圖20N.
圖20O.
圖20P.
圖20Q.
圖20R.
圖20S.
圖20T.
圖20U.
圖20V.
圖20W.
圖20X.
圖20Y.
圖20Z.
圖20AA.
圖20AB.
圖20AC.
圖20AD.
圖20AE.
圖20AF.
圖20AG.
圖20AH.
圖20AI.
圖20AJ.
圖20AK.
圖20AL.
圖20AM.
圖20AN.
圖20AO.
圖20AP.
圖20AQ.
圖20AR.
圖20AS.
圖20AT.
圖20AU.
圖20AV.
圖20AW.
圖20AX.
圖20AY.
圖20AZ.
圖20BA.
圖20BB.
圖20BC.
圖20BD.
圖20BE.
圖20BF.
圖20BG.
圖20BH.
圖20BI.
圖20BJ.
圖20BK.
圖20BL.
圖20BM.
圖20BN.
圖20BO.
圖20BP.
圖20BQ.
圖20BR.
圖20BS.
圖20BT.
圖20BU.
圖20BV.
圖20BW.
圖20BX.
圖20BY.
圖20BZ.
圖20CA.
圖20CB.
圖20CC.
圖20CD.
圖20CE.
圖20CF.
圖20CG.
圖20CH.
圖20CI.
圖20CJ.
圖20CK.
圖20CL.
圖20CM.
圖20CN.
圖20CO.
圖20CP.
圖20CQ.
圖20CR.
圖20CS.
圖20CT.
圖20CU.
圖20CV.
圖20CW.
圖20CX.
圖20CY.
圖20CZ.
圖20DA.
圖20DB.
圖20DC.
圖20DD.
圖20DE.
圖20DF.
圖20DG.
圖20DH.
圖20DI.
圖20DJ.
圖20DK.
圖20DL.
圖20DM.
圖20DN.
圖20DO.
圖20DP.
圖20DQ.
圖20DR.
圖20DS.
圖20DT.
圖20DU.
圖20DV.
圖20DW.
圖20DX.
圖20DY.
圖20DZ.
圖20EA.
圖20EB.
圖20EC.
圖20ED.
圖20EE.
圖20EF.
圖20EG.
圖20EH.
圖20EI.
圖20EJ.
圖20EK.
圖20EL.
圖20EM.
圖20EN.
圖20EO.
圖20EP.
圖20EQ.
圖20ER.
圖20ES.
圖20ET.
圖20EU.
圖20EV.
圖20EW.
圖20EX.
圖20EY.
圖20EZ.
圖20FA.
圖20FB.
圖20FC.
圖20FD.
圖20FE.
圖20FF.
圖20FG.
圖20FH.
圖20FI.
圖20FJ.
圖20FK.
圖20FL.
圖20FM.
圖20FN.
圖20FO.
圖20FP.
圖20FQ.
圖20FR.
圖20FS.
圖20FT.
圖20FU.
圖20FV.
圖20FW.
圖20FX.
圖20FY.
圖20FZ.
圖20GA.
圖20GB.
圖20GC.
圖20GD.
圖20GE.
圖20GF.
圖20GG.
圖20GH.
圖20GI.
圖20GJ.
圖20GK.
圖20GL.
圖20GM.
圖20GN.
圖20GO.
圖20GP.
圖20GQ.
圖20GR.
圖20GS.
圖20GT.
圖20GU.
圖20GV.
圖20GW.
圖20GX.
圖20GY.
圖20GZ.
圖20HA.
圖20HB.
圖20HC.
圖20HD.
圖20HE.
圖20HF.
圖20HG.
圖20HH.
圖20HI.
圖20HJ.
圖20HK.
圖20HL.
圖20HM.
圖20HN.
圖20HO.
圖20HP.
圖20HQ.
圖20HR.
圖20HS.
圖20HT.
圖20HU.
圖20HV.
圖20HW.
圖20HX.
圖20HY.
圖20HZ.
圖20IA.
圖20IB.
圖20IC.
圖20ID.
圖20IE.
圖20IF.
圖20IG.
圖20IH.
圖20II.
圖20IJ.
圖20IK.
圖20IL.
圖20IM.
圖20IN.
圖20IO.
圖20IP.
圖20IQ.
圖20IR.
圖20IS.
圖20IT.
圖20IU.
圖20IV.
圖20IW.
圖20IX.
圖20IY.
圖20IZ.
圖20JA.
圖20JB.
圖20JC.
圖20JD.
圖20JE.
圖20JF.
圖20JG.
圖20JH.
圖20JI.
圖20JJ.
圖20JK.
圖20JL.
圖20JM.
圖20JN.
圖20JO.
圖20JP.
圖20JQ.
圖20JR.
圖20JS.
圖20JT.
圖20JU.
圖20JV.
圖20JW.
圖20JX.
圖20JY.
圖20JZ.
圖20KA.
圖20KB.
圖20KC.
圖20KD.
圖20KE.
圖20KF.
圖20KG.
圖20KH.
圖20KI.
圖20KJ.
圖20KK.
圖20KL.
圖20KM.
圖20KN.
圖20KO.
圖20KP.
圖20KQ.
圖20KR.
圖20KS.
圖20KT.
圖20KU.
圖20KV.
圖20KW.
圖20KX.
圖20KY.
圖20KZ.
圖20LA.
圖20LB.
圖20LC.
圖20LD.
圖20LE.
圖20LF.
圖20LG.
圖20LH.
圖20LI.
圖20LJ.
圖20LK.
圖20LL.
圖20LM.
圖20LN.
圖20LO.
圖20LP.
圖20LQ.
圖20LR.
圖20LS.
圖20LT.
圖20LU.
圖20LV.
圖20LW.
圖20LX.
圖20LY.
圖20LZ.
圖20MA.
圖20MB.
圖20MC.
圖20MD.
圖20ME.
圖20MF.
圖20MG.
圖20MH.
圖20MI.
圖20MJ.
圖20MK.
圖20ML.
圖20MM.
圖20MN.
圖20MO.
圖20MP.
圖20MQ.
圖20MR.
圖20MS.
圖20MT.
圖20MU.
圖20MV.
圖20MW.
圖20MX.
圖20MY.
圖20MZ.
圖20NA.
圖20NB.
圖20NC.
圖20ND.
圖20NE.
圖20NF.
圖20NG.
圖20NH.
圖20NI.
圖20NJ.
圖20NK.
圖20NL.
圖20NM.
圖20NN.
圖20NO.
圖20NP.
圖20NQ.
圖20NR.
圖20NS.
圖20NT.
圖20NU.
圖20NV.
圖20NW.
圖20NX.
圖20NY.
圖20NZ.
圖20OA.
圖20OB.
圖20OC.
圖20OD.
圖20OE.
圖20OF.
圖20OG.
圖20OH.
圖20OI.
圖20OJ.
圖20OK.
圖20OL.
圖20OM.
圖20ON.
圖20OO.
圖20OP.
圖20OQ.
圖20OR.
圖20OS.
圖20OT.
圖20OU.
圖20OV.
圖20OW.
圖20OX.
圖20OY.
圖20OZ.
圖20PA.
圖20PB.
圖20PC.
圖20PD.
圖20PE.
圖20PF.
圖20PG.
圖20PH.
圖20PI.
圖20PJ.
圖20PK.
圖20PL.
圖20PM.
圖20PN.
圖20PO.
圖20PP.
圖20PQ.
圖20PR.
圖20PS.
圖20PT.
圖20PU.
圖20PV.
圖20PW.
圖20PX.
圖20PY.
圖20PZ.
圖20QA.
圖20QB.
圖20QC.
圖20QD.
圖20QE.
圖20QF.
圖20QG.
圖20QH.
圖20QI.
圖20QJ.
圖20QK.
圖20QL.
圖20QM.
圖20QN.
圖20QO.
圖20QP.
圖20QQ.
圖20QR.
圖20QS.
圖20QT.
圖20QU.
圖20QV.
圖20QW.
圖20QX.
圖20QY.
圖20QZ.
圖20RA.
圖20RB.
圖20RC.
圖20RD.
圖20RE.
圖20RF.
圖20RG.
圖20RH.
圖20RI.
圖20RJ.
圖20RK.
圖20RL.
圖20RM.
圖20RN.
圖20RO.
圖20RP.
圖20RQ.
圖20RR.
圖20RS.
圖20RT.
圖20RU.
圖20RV.
圖20RW.
圖20RX.
圖20RY.
圖20RZ.
圖20SA.
圖20SB.
圖20SC.
圖20SD.
圖20SE.
圖20SF.
圖20SG.
圖20SH.
圖20SI.
圖20SJ.
圖20SK.
圖20SL.
圖20SM.
圖20SN.
圖20SO.
圖20SP.
圖20SQ.
圖20SR.
圖20SS.
圖20ST.
圖20SU.
圖20SV.
圖20SW.
圖20SX.
圖20SY.
圖20SZ.
圖20TA.
圖20TB.
圖20TC.
圖20TD.
圖20TE.
圖20TF.
圖20TG.
圖20TH.
圖20TI.
圖20TJ.
圖20TK.
圖20TL.
圖20TM.
圖20TN.
圖20TO.
圖20TP.
圖20TQ.
圖20TR.
圖20TS.
圖20TT.
圖20TU.
圖20TV.
圖20TW.
圖20TX.
圖20TY.
圖20TZ.
圖20UA.
圖20UB.
圖20UC.
圖20UD.
圖20UE.
圖20UF.
圖20UG.
圖20UH.
圖20UI.
圖20UJ.
圖20UK.
圖20UL.
圖20UM.
圖20UN.
圖20UO.
圖20UP.
圖20UQ.
圖20UR.
圖20US.
圖20UT.
圖20UU.
圖20UV.
圖20UW.
圖20UX.
圖20UY.
圖20UZ.
圖20VA.
圖20VB.
圖20VC.
圖20VD.
圖20VE.
圖20VF.
圖20VG.
圖20VH.
圖20VI.
圖20VJ.
圖20VK.
圖20VL.
圖20VM.
圖20VN.
圖20VO.
圖20VP.
圖20VQ.
圖20VR.
圖20VS.
圖20VT.
圖20VU.
圖20VV.
圖20VW.
圖20VX.
圖20VY.
圖20VZ.
圖20WA.
圖20WB.
圖20WC.
圖20WD.
圖20WE.
圖20WF.
圖20WG.
圖20WH.
圖20WI.
圖20WJ.
圖20WK.
圖20WL.
圖20WM.
圖20WN.
圖20WO.
圖20WP.
圖20WQ.
圖20WR.
圖20WS.
圖20WT.
圖20WU.
圖20WV.
圖20WW.
圖20WX.
圖20WY.
圖20WZ.
圖20XA.
圖20XB.
圖20XC.
圖20XD.
圖20XE.
圖20XF.
圖20XG.
圖20XH.
圖20XI.
圖20XJ.
圖20XK.
圖20XL.
圖20XM.
圖20XN.
圖20XO.
圖20XP.
圖20XQ.
圖20XR.
圖20XS.
圖20XT.
圖20XU.
圖20XV.
圖20XW.
圖20XX.
圖20XY.
圖20XZ.
圖20YA.
圖20YB.
圖20YC.
圖20YD.
圖20YE.
圖20YF.
圖20YG.
圖20YH.
圖20YI.
圖20YJ.
圖20YK.
圖20YL.
圖20YM.
圖20YN.
圖20YO.
圖20YP.
圖20YQ.
圖20YR.
圖20YS.
圖20YT.
圖20YU.
圖20YV.
圖20YW.
圖20YX.
圖20YY.
圖20YZ.
圖20ZA.
圖20ZB.
圖20ZC.
圖20ZD.
圖20ZE.
圖20ZF.
圖20ZG.
圖20ZH.
圖20ZI.
圖20ZJ.
圖20ZK.
圖20ZL.
圖20ZM.
圖20ZN.
圖20ZO.
圖20ZP.
圖20ZQ.
圖20ZR.
圖20ZS.
圖20ZT.
圖20ZU.
圖20ZV.
圖20ZW.
圖20ZX.
圖20ZY.
圖20ZZ.

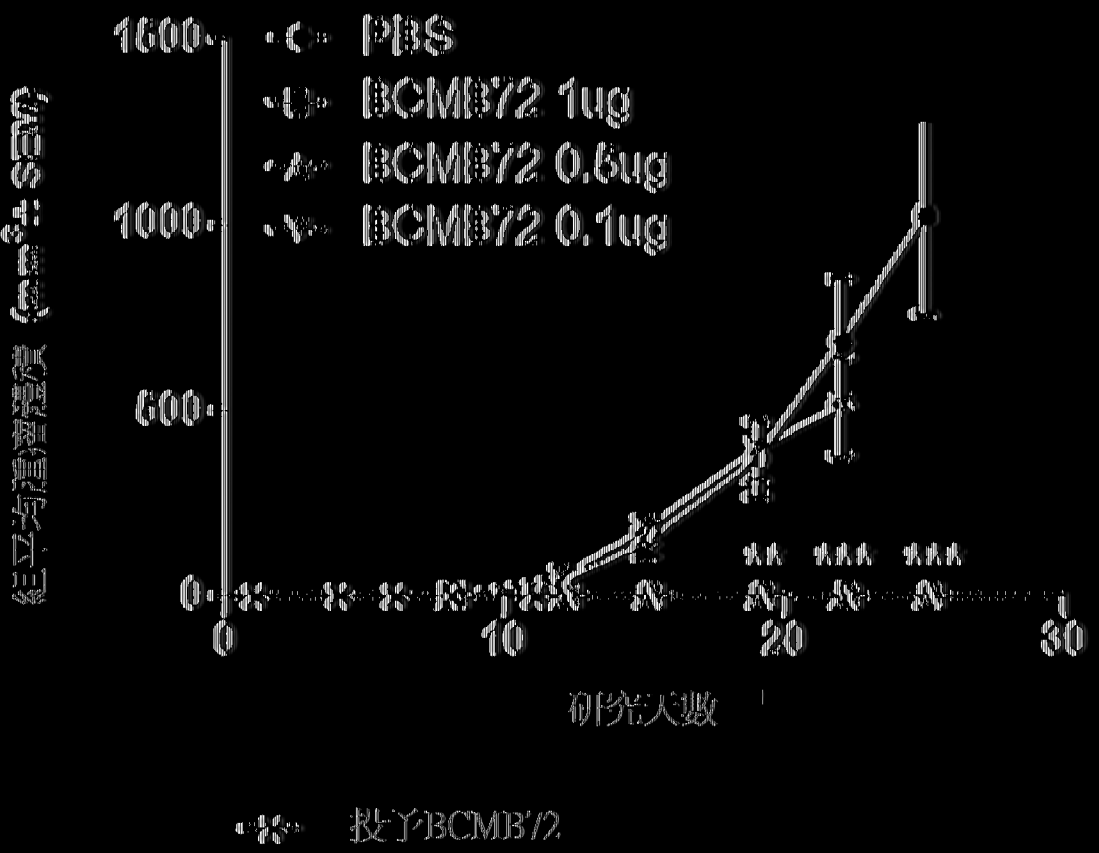

1600
1000
600
0
腫瘤體積 (mm³)
PBS
BCMB72 1ug
BCMB72 0.6ug
BCMB72 0.1ug
0
10
20
30
研究天數
投予BCMB72

圖21

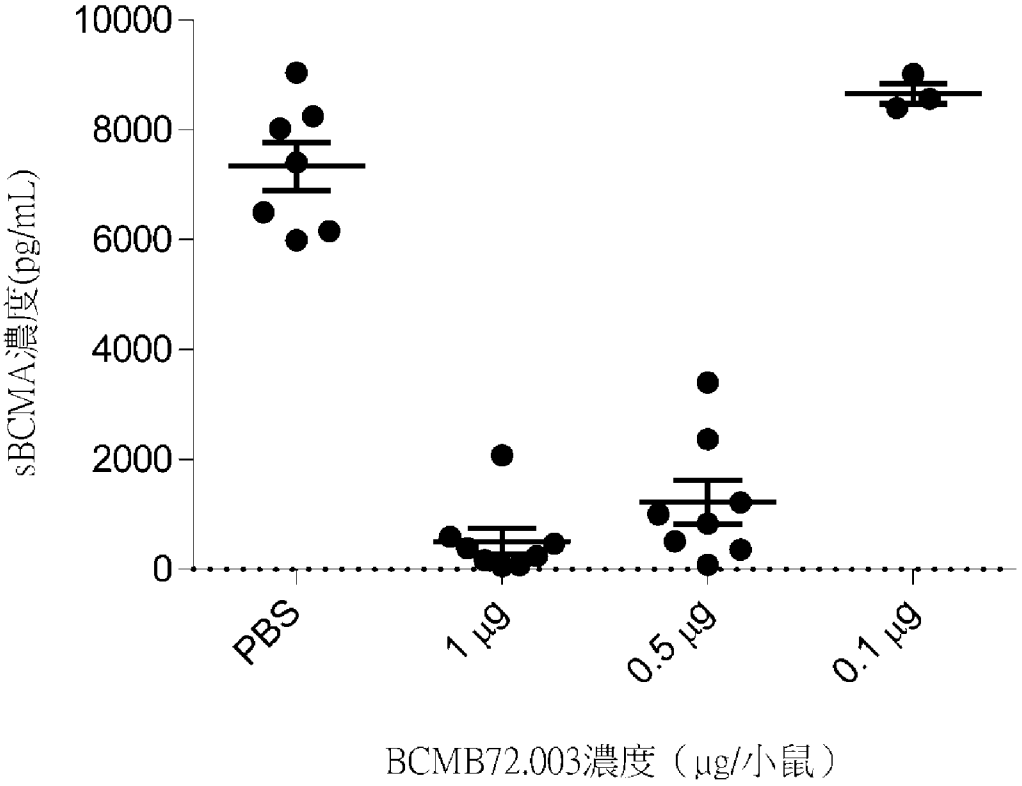

10000
8000
6000
4000
2000
0
sBCMA濃度(pg/mL)
PBS
1 μg
0.5 μg
0.1 μg
BCMB72.003濃度（μg/小鼠）

圖22