



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I780031 B

(45)公告日：中華民國 111 (2022) 年 10 月 11 日

(21)申請案號：105134336

(22)申請日：中華民國 105 (2016) 年 10 月 24 日

(51)Int. Cl.：

*C07K14/725 (2006.01)**C12N15/11 (2006.01)**C12N15/85 (2006.01)**C12N5/0783 (2010.01)**A61K39/00 (2006.01)**A61P35/00 (2006.01)**C12Q1/68 (2018.01)*

(30)優先權：2015/10/23

美國

62/245,944

2016/03/07

美國

62/304,918

2016/06/03

美國

62/345,649

2016/08/01

美國

62/369,694

(71)申請人：美商優瑞科生物技術公司 (美國) EUREKA THERAPEUTICS, INC. (US)

美國

(72)發明人：路經偉 LU, JINGWEI (CN)；楊智源 YANG, ZHIYUAN (CN)；劉 誠 LIU, CHENG

(US)；劉 宏 LIU, HONG (US)；許 奕陽 XU, YIYANG (US)；言 甦 YAN, SU

(US)；陳 慧芬 CHAN, VIVIEN WAI-FAN (US)；霍蘭 盧卡斯 HORAN, LUCAS

(US)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

期刊 C.O.Yun et al., Targeting of T Lymphocytes to Melanoma Cells Through Chimeric Anti-GD3 Immunoglobulin T-Cell Receptors.

Neoplasia. Volume 2, Issue 5, 2000, Pages 449-459.

期刊 Michael Girardi, Immunosurveillance and Immunoregulation by $\gamma\delta$ T Cells. Journal of Investigative Dermatology. Volume 126, Issue 1, January 2006, Pages 25-31.

期刊 Torikai H et al., A foundation for universal T-cell based immunotherapy: T cells engineered to express a CD19-specific chimeric-antigen-receptor and eliminate expression of endogenous TCR. Blood. 2012; 119(24), Pages 5697-5705.

審查人員：林佳慧

申請專利範圍項數：20 項 圖式數：46 共 365 頁

(54)名稱

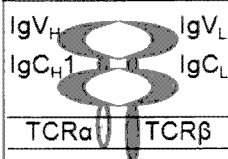
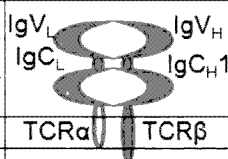
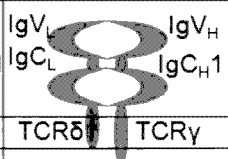
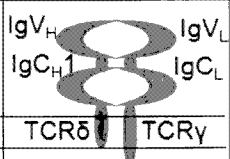
抗體/T細胞受體嵌合建構物及其用途

(57)摘要

本申請案提供抗體-TCR 嵌合建構物，其包含特異性結合至靶抗原的抗體部分，該抗體部分與能夠募集至少一個 TCR 相關信號傳導模組的 TCRM 融合。亦提供此等建構物之製造及使用方法。

The present application provides antibody-TCR chimeric constructs comprising an antibody moiety that specifically binds to a target antigen fused to a TCRM capable of recruiting at least one TCR-associated signaling module. Also provided are methods of making and using these constructs.

指定代表圖：

abTCR-3	abTCR-4	abTCR-5	abTCR-6
			

【圖1A】

I780031

【發明摘要】

【中文發明名稱】

抗體／T細胞受體嵌合建構物及其用途

【英文發明名稱】

ANTIBODY/T-CELL RECEPTOR CHIMERIC CONSTRUCTS
AND USES THEREOF

【中文】

本申請案提供抗體-TCR嵌合建構物，其包含特異性結合至靶抗原的抗體部分，該抗體部分與能夠募集至少一個TCR相關信號傳導模組的TCRM融合。亦提供此等建構物之製造及使用方法。

【英文】

The present application provides antibody-TCR chimeric constructs comprising an antibody moiety that specifically binds to a target antigen fused to a TCRM capable of recruiting at least one TCR-associated signaling module. Also provided are methods of making and using these constructs.

【指定代表圖】

圖1A

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

抗體／T細胞受體嵌合建構物及其用途

【英文發明名稱】

ANTIBODY/T-CELL RECEPTOR CHIMERIC CONSTRUCTS
AND USES THEREOF

【技術領域】

本發明係關於抗體/T細胞受體嵌合建構物及其用途，包括治療及診斷疾病。

【先前技術】

T細胞介導免疫為發展出抗原(Ag)-特異性T淋巴細胞來消除病毒、細菌、寄生蟲感染或惡性細胞的適應過程。其亦可涉及自體抗原之異常識別，導致自體免疫性發炎疾病。T淋巴細胞之Ag特異性係基於T細胞受體(TCR)對由主要組織相容性複合體(MHC)分子於Ag呈遞細胞(APC)上呈遞之獨特抗原肽的識別(Broere等人, *Principles of Immunopharmacology*, 2011)。由於在胸腺中成熟後之發育選擇，各T淋巴細胞於細胞表面上表現獨特的TCR。TCR以兩種形式存在： $\alpha\beta$ 雜二聚體或 $\gamma\delta$ 雜二聚體。T細胞於細胞表面上表現 $\alpha\beta$ 形式或 $\gamma\delta$ 形式之TCR。四條鏈 $\alpha/\beta/\gamma/\delta$ 皆具有由高度多形「免疫球蛋白可變區」樣N端域及「免疫球蛋白恆定區」樣第二域組成的特徵性細胞外結構。此等域各自具有特徵性域內二硫橋鍵。恆定區最靠近細胞膜，其後為連接肽、跨膜區及胞質尾區。雜二聚TCR之2條鏈之間的共價鍵係由位於短連接肽序列內的半胱胺酸殘基形成，該短連接肽序列橋接細胞外恆定域與跨膜區，該半胱胺酸殘基與所配對的TCR鏈半胱

胺酸殘基在對應位置形成二硫鍵(The T cell Receptor Factsbook, 2001)。

$\alpha\beta$ 及 $\gamma\delta$ TCR與非多形膜結合CD3蛋白質結合以形成功能性八聚TCR-CD3複合體，由TCR雜二聚體及三個二聚信號傳導模組CD3 δ/ϵ 、CD3 γ/ϵ 及CD3 ζ/ζ 或 ζ/η 組成。各次單元之跨膜域中之可電離殘基形成將複合體固定在一起的極性相互作用網。關於T細胞活化，TCR N端可變區識別於靶細胞表面上呈遞之肽/MHC複合體，而CD3蛋白質則參與信號轉導(Call等人, *Cell*. 111(7):967-79, 2002；The T cell Receptor Factsbook, 2001)。

$\alpha\beta$ TCR亦稱作習知TCR，於大部分淋巴細胞上表現且由糖基化多形 α 及 β 鏈組成。不同的 $\alpha\beta$ TCR可區分嵌入於尺寸及形狀相對恆定的MHC II (大部分表現於APC細胞表面上)及MHC I (於所有有核細胞上表現)分子之表面中的不同肽。 $\gamma\delta$ TCR儘管在結構上類似於 $\alpha\beta$ TCR，但以與MHC呈遞無關的方式識別攜帶碳水化合物、核苷酸或磷光體之抗原(The T cell Receptor Factsbook, 2001；Girardi等人, *J. Invest. Dermatol.* 126(1):25-31, 2006；Hayes等人, *Immunity*. 16(6):827-38, 2002)。

細胞表面蛋白質僅構成細胞蛋白質的一小部分且此等蛋白質之大部分並非腫瘤特異性的。相比之下，突變的或致癌腫瘤相關的蛋白質通常位於細胞內、為細胞核的、細胞質的或分泌性的。大部分細胞內蛋白質作為蛋白質分解代謝及MHC分子呈遞之正常過程的一部分而暴露於細胞表面上。細胞內蛋白質通常藉由蛋白酶體或內體/溶酶體降解，且所得特異性肽片段結合至MHC I類/II類分子。此等肽/MHC複合體呈現於細胞表面，其中其經由肽/MHC TCR相互作用提供T細胞識別標靶(Scheinberg等人, *Oncotarget*. 4(5):647-8, 2013；Cheever等人, *Clin. Cancer Res.* 15(17):5323-37, 2009)。

在過去的二十年裏，在免疫學及腫瘤生物學方面的根本性進展以及大量腫瘤抗原之鑑別促成了基於細胞之免疫療法領域的顯著進展。在基於細胞之免疫療法領域中，T細胞療法佔據重要位置，其目標為藉由將自體性及離體擴增的T細胞轉移給患者來治療癌症，且已產生了一些值得注意的抗腫瘤反應(Blattman等人, *Science*. 305(5681):200-5, 2004)。舉例而言，在黑色素瘤患者中，包括龐大的侵襲性腫瘤，在多個部位投與天然產生之經離體擴增的腫瘤浸潤性淋巴細胞(TIL)可介導在50-70%範圍內的客觀反應率(Rosenberg等人, *Nat. Rev. Cancer*. 8(4):299-308, 2008 ; Dudley ME等人, *J. Clin. Oncol.* 23(10):2346-57, 2005)。

TIL療法之普遍應用的主要限制為難以產生具有抗腫瘤潛力的人類T細胞。作為替代方法，可經由T細胞工程改造將外源性高親和力TCR引入患者之正常自體性T細胞中。此等細胞至淋巴缺乏患者中之授受性轉移已顯示可介導諸如黑色素瘤、結腸直腸癌及滑膜肉瘤之癌症的癌症消退(Kunert R等人, *Front. Immunol.* 4:363, 2013)。最新的I期臨床試驗使用針對滑膜肉瘤之抗NY-ESO-1 TCR，報導66%之整體反應率且在一位接受T細胞療法之患者中達成完全反應(Robbins PF等人, *Clin. Cancer Res.* 21(5):1019-27, 2015)。

TCR工程改造T細胞療法之優點之一為其可靶向潛在細胞內腫瘤特異性蛋白質之整個陣列，其經由MHC呈遞經處理及傳遞至細胞表面。另外，TCR為高度敏感的且可僅由一些抗原肽/MHC分子活化，其又可觸發細胞溶解性T細胞反應，包括細胞因子分泌、T細胞增殖及限定靶細胞之細胞溶解。因此，相比於抗體或小分子療法，經TCR工程改造之T細胞因為其以細胞內靶抗原之極少複本殺死靶細胞的能力而特別有價值(Kunert

R等人, *Front. Immunol.* 4:363, 2013)。

然而，不同於治療性抗體，其多半經由融合瘤或呈現技術發現，標靶特異性TCR之鑑別要求自患者T細胞建立靶肽/MHC特異性TCR純系且篩選出具有最佳靶抗原結合親和力的正確 α - β 鏈組合。經常在自患者T細胞選殖TCR之後採用噬菌體/酵母呈現來進一步增強TCR之標靶結合親和力。整個過程要求諸多領域的專業知識且耗時(Kobayashi E等人, *Oncoimmunology*. 3(1):e27258, 2014)。TCR探索過程中之難處極大地阻礙了經TCR工程改造之T細胞療法的普遍應用。其亦受到治療相關之毒性的妨礙，尤其是針對於腫瘤細胞上過度表現且亦於健康細胞上表現之抗原的TCR，或識別脫靶肽/MHC複合體之TCR (Rosenberg SA等人, *Science*. 348(6230):62-8, 2015)。

近年來已研發出一種不同的方法來使T細胞參與靶向癌症免疫療法。此新方法稱作嵌合抗原受體T細胞療法(CAR-T)。其合併單株抗體之敏銳的靶向特異性與由細胞毒性T細胞提供之強力細胞毒性及長期持久性。CAR係由識別細胞表面抗原之細胞外域、跨膜區及細胞內信號傳導域構成。細胞外域由來自單株抗體之重鏈及輕鏈的抗原結合可變區組成，其融合成單鏈可變片段(scFv)。細胞內信號傳導域含有基於免疫受體酪胺酸之活化基元(ITAM)，諸如來自CD3 ζ 或FcR γ 之彼等，及一或多個共刺激信號傳導域，諸如來自CD28、4-1BB或OX40之彼等(Barrett DM等人, *Annu. Rev. Med.* 65:333-47, 2014；Davila ML等人, *Oncoimmunology*. 1(9):1577-1583, 2012)。移植至T細胞表面上之CAR對靶抗原的結合可觸發與TCR-肽/MHC複合體相互作用無關的T細胞效應功能。因此，具有CAR之T細胞可重新定向以攻擊多種細胞，包括不匹配T細胞上之TCR之

MHC類型但表現靶細胞表面抗原的彼等細胞。此方法克服了MHC限制性TCR識別的約束且避免了經由抗原呈遞或MHC分子表現障礙所致的腫瘤逃逸。臨床試驗已顯示CAR-T療法在神經母細胞瘤(Louis CU等人, *Blood*. 118(23):6050-6056, 2011)、B-ALL (Maude, SL等人, *New England Journal of Medicine* 371:16:1507-1517, 2014)、CLL (Brentjens, RJ等人 *Blood* 118:18:4817-4828, 2011)及B細胞淋巴瘤(Kochenderfer, JN等人 *Blood* 116:20:4099-4102, 2010)中在臨床上具有相當大的抗腫瘤活性。在一個研究中,報導用CD19-CAR T療法治療之30位患有B-ALL之患者中90%之完全緩解率(Maude, SL等人, 同前文獻)。

迄今為止的大部分(若非全部) CAR研究皆針對具有高細胞表面表現之腫瘤抗原。為靶向低複本數細胞表面腫瘤抗原及細胞內腫瘤抗原,其代表95%之所有已知的腫瘤特異性抗原,需要研發更強力且更有效的經工程改造之細胞療法(Cheever等人, *Clin. Cancer Res.* 15(17):5323-37, 2009)。

已作出若干嘗試來工程改造具有抗體特異性與T細胞受體效應功能的嵌合受體分子。參見例如Kuwana, Y等人, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 149(3):960-968, 1987; Gross, G等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 86:10024-10028, 1989; Gross, G及 Eshhar, Z, *FASEB J.* 6(15):3370-3378, 1992; 美國專利第7,741,465號。迄今為止,此等嵌合受體中無一者用於臨床使用,且需要針對在人類T細胞中具有改良表現及功能的抗體-TCR嵌合受體的新穎設計。

本文所提及之所有公開案、專利、專利申請案及公開專利申請案之揭示內容特此以全文引用的方式併入本文中。

【發明內容】

在一個態樣中，本申請案提供一種建構物(諸如經分離建構物)，其包含與T細胞受體模組融合的抗體部分(諸如Fab樣抗原結合模組)(該建構物在本文中亦稱作「抗體-TCR嵌合分子」或「abTCR」)。在一些實施例中，abTCR包含特異性結合至靶抗原的Fab樣抗原結合模組及能夠募集至少一個TCR相關信號傳導模組的T細胞受體模組(TCRM)。在一些實施例中，靶抗原為包含肽及MHC蛋白質(諸如MHC I類蛋白質或MHC II類蛋白質)的複合體。在一些實施例中，靶抗原為細胞表面抗原。

在一些實施例中，提供一種特異性結合至靶抗原的abTCR (諸如經分離abTCR)，其中該abTCR包含：a)第一多肽鏈，其包含第一抗原結合域及第一T細胞受體域(TCRD)，該第一抗原結合域包含V_H及C_{H1}抗體域，該第一T細胞受體域(TCRD)包含第一TCR次單元之第一跨膜域；及b)第二多肽鏈，其包含第二抗原結合域及第二TCRD，該第二抗原結合域包含V_L及C_L抗體域，該第二TCRD包含第二TCR次單元之第二跨膜域，其中第一抗原結合域之V_H及C_{H1}域與第二抗原結合域之V_L及C_L域形成特異性結合至靶抗原的Fab樣抗原結合模組，且其中第一TCRD與第二TCRD形成能夠募集至少一個TCR相關信號傳導模組的T細胞受體模組(TCRM)。在一些實施例中，第一多肽鏈及第二多肽鏈經由一或多個二硫鍵連接。在一些實施例中，Fab樣抗原結合模組包含在第一多肽鏈中之C_{H1}域中之殘基與第二多肽鏈中之C_L域中之殘基之間的二硫鍵。在一些實施例中，第一多肽鏈進一步包含在第一抗原結合域與第一TCRD之間的第一肽連接子。在一些實施例中，第二多肽鏈進一步包含在第二抗原結合域與第二TCRD之間的第二肽連接子。在一些實施例中，第一肽連接子及/或第二肽連接子之長度

個別地為約5至約50個胺基酸。在一些實施例中，靶抗原為細胞表面抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原係選自由蛋白質、碳水化合物及脂質組成之群。在一些實施例中，細胞表面抗原為CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D或FCRL5。在一些實施例中，靶抗原為包含肽及主要組織相容性複合體(MHC)蛋白質的複合體。

在一些實施例中，提供一種特異性結合至靶抗原的abTCR，其包含：a)第一多肽鏈，其包含第一抗原結合域及第一TCRD，該第一抗原結合域包含V_H抗體域，該第一TCRD包含第一TCR次單元之第一跨膜域；及b)第二多肽鏈，其包含第二抗原結合域及第二TCRD，該第二抗原結合域包含V_L抗體域，該第二TCRD包含第二TCR次單元之第二跨膜域，其中第一抗原結合域之V_H域與第二抗原結合域之V_L域形成特異性結合至靶抗原的抗原結合模組，其中第一TCRD與第二TCRD形成能夠募集至少一個TCR相關信號傳導模組的T細胞受體模組(TCRM)，且其中靶抗原為包含肽及MHC蛋白質之複合體。在一些實施例中，第一多肽鏈進一步包含在第一抗原結合域與第一TCRD之間的第一肽連接子且第二多肽鏈進一步包含在第二抗原結合域與第二TCRD之間的第二肽連接子。在一些實施例中，第一及/或第二肽連接子個別地包含來自免疫球蛋白或T細胞受體次單元之恆定域或其片段。在一些實施例中，第一及/或第二肽連接子個別地包含CH1、CH2、CH3、CH4或CL抗體域或其片段。在一些實施例中，第一及/或第二肽連接子個別地包含C α 、C β 、C γ 或C δ TCR域或其片段。

在一些實施例中，根據以上所述之abTCR (諸如經分離abTCR)中之任一者，第一TCRD進一步包含TCR次單元中在第一跨膜域N端之第一連接肽或其片段。第二TCRD進一步包含TCR次單元中在第二跨膜域N端之

第二連接肽或其片段。在一些實施例中，TCRM包含在第一連接肽中之殘基與第二連接肽中之殘基之間的二硫鍵。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR細胞內域，其包含在第一跨膜域C端之TCR細胞內序列。在一些實施例中，第二TCRD進一步包含第二TCR細胞內域，其包含在第二跨膜域C端之TCR細胞內序列。在一些實施例中，abTCR以約0.1 pM至約500 nM之平衡解離常數(K_d)結合至靶抗原。在一些實施例中，TCR相關信號傳導模組係選自由CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及 $\zeta\zeta$ 組成之群。

在一些實施例中，根據以上所述abTCR (諸如經分離abTCR)中之任一者，第一多肽鏈進一步包含第一附屬細胞內域，其包含在第一跨膜域C端之共刺激細胞內信號傳導序列。在一些實施例中，第二多肽鏈進一步包含第二附屬細胞內域，其包含在第二跨膜域C端之共刺激細胞內信號傳導序列。在一些實施例中，第一多肽鏈進一步包含在第一抗原結合域N端之第一信號傳導肽。在一些實施例中，第二多肽鏈進一步包含在第二抗原結合域N端之第二信號傳導肽。

在一些實施例中，根據以上所述abTCR (諸如經分離abTCR)中之任一者，其中靶抗原為包含肽及主要組織相容性複合體(MHC)蛋白質之複合體，該肽係源自選自由WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA組成之群的蛋白質。

在一些實施例中，根據以上所述abTCR (諸如經分離abTCR)中之任一者，a)第一TCR次單元為TCR α 鏈，且第二TCR次單元為TCR β 鏈；b)第一TCR次單元為TCR β 鏈，且第二TCR次單元為TCR α 鏈；c)第一TCR次單元為TCR γ 鏈，且第二TCR次單元為TCR δ 鏈；或d)第一TCR次單元為TCR δ 鏈，且第二TCR次單元為TCR γ 鏈。

在一些實施例中，根據以上所述abTCR (諸如經分離abTCR)中之任一者，提供一種核酸，其編碼abTCR之第一及第二多肽鏈。

在一些實施例中，根據以上所述abTCR (諸如經分離abTCR)中之任一者，提供一種複合體，其包含abTCR及至少一個選自由CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及 $\zeta\zeta$ 組成之群的TCR相關信號傳導模組。在一些實施例中，複合體為包含abTCR及CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及 $\zeta\zeta$ 的八聚物。

在一些實施例中，根據以上所述abTCR (諸如經分離abTCR)中之任一者，提供一種效應細胞，其呈遞abTCR於其表面上。在一些實施例中，效應細胞包含編碼abTCR之核酸。在一些實施例中，效應細胞不表現第一TCR次單元及/或第二TCR次單元。舉例而言，在一些實施例中，a)第一TCR次單元為TCR γ 且第二TCR次單元為TCR δ ；或b)第一TCR次單元為TCR δ 且第二TCR次單元為TCR γ ；且效應細胞為 $\alpha\beta$ T細胞。在一些實施例中，a)第一TCR次單元為TCR γ 且第二TCR次單元為TCR δ ；或b)第一TCR次單元為TCR δ 且第二TCR次單元為TCR γ ；且效應細胞為 $\alpha\beta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞經修飾以阻斷或減少第一內源性TCR次單元及/或第二內源性TCR次單元之表現。舉例而言，在一些實施例中，第一TCR次單元為TCR α 且第二TCR次單元為TCR β ；或b)第一TCR次單元為TCR β 且第二TCR次單元為TCR α ；且效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR α 及/或TCR β 之表現的 $\alpha\beta$ T細胞。在一些實施例中，a)第一TCR次單元為TCR γ 且第二TCR次單元為TCR δ ；或b)第一TCR次單元為TCR δ 且第二TCR次單元為TCR γ ；且效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR γ 及/或TCR δ 之表現的 $\gamma\delta$ T細胞。

在一些實施例中，根據以上所述abTCR (諸如經分離abTCR)中之任

一者，提供一種效應細胞，其呈遞abTCR於其表面上，其中該效應細胞為T細胞。在一些實施例中，T細胞係選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群。

在一些實施例中，根據以上所述abTCR (諸如經分離abTCR)中之任一者，提供一種效應細胞，其呈遞abTCR於其表面上，其中該效應細胞包含a)第一載體，其包含在第一啟動子控制下編碼abTCR之第一多肽鏈的第一核酸序列；及b)第二載體，其包含在第二啟動子控制下編碼abTCR之第二多肽鏈的第二核酸序列。

在一些實施例中，根據以上所述abTCR (諸如經分離abTCR)中之任一者，提供一種效應細胞，其呈遞abTCR於其表面上，其中該效應細胞包含載體，其包含a)在第一啟動子控制下編碼abTCR之第一多肽鏈的第一核酸序列；及b)在第二啟動子控制下編碼abTCR之第二多肽鏈的第二核酸序列。

在一些實施例中，根據以上所述abTCR (諸如經分離abTCR)中之任一者，提供一種效應細胞，其呈遞abTCR於其表面上，其中該效應細胞包含載體，其包含a)編碼abTCR之第一多肽鏈的第一核酸序列及編碼abTCR之第二多肽鏈的第二核酸序列，其中第一及第二核酸序列係在單一啟動子的控制下。

在一些實施例中，根據以上所述abTCR (諸如經分離abTCR)中之任一者，提供一種效應細胞，其呈遞abTCR於其表面上，其中abTCR之第一多肽鏈之表現與abTCR之第二多肽鏈之表現相差超過兩倍。

在一些實施例中，提供一種殺死呈遞靶抗原之靶細胞的方法，其包含使靶細胞與表現根據以上所述abTCR (諸如經分離abTCR)中之任一者的

abTCR的效應細胞接觸，其中abTCR特異性結合至靶抗原。

在一些實施例中，提供一種殺死呈遞靶抗原之靶細胞的方法，其包含使靶細胞與效應 $\alpha\beta$ T細胞接觸，該效應 $\alpha\beta$ T細胞包含特異性結合至靶抗原之abTCR，其包含：a)第一多肽鏈，其包含第一抗原結合域及第一TCRD，該第一抗原結合域包含 V_H 抗體域，該第一TCRD包含第一TCR次單元之第一跨膜域；及b)第二多肽鏈，其包含第二抗原結合域及第二TCRD，該第二抗原結合域包含 V_L 抗體域，該第二TCRD包含第二TCR次單元之第二跨膜域，其中第一抗原結合域之 V_H 域與第二抗原結合域之 V_L 域形成特異性結合至靶抗原的抗原結合模組，其中第一TCRD與第二TCRD形成能夠募集至少一個TCR相關信號傳導模組的T細胞受體模組(TCRM)，且其中第一TCR次單元為 $TCR\gamma$ 且第二TCR次單元為 $TCR\delta$ ，或第一TCR次單元為 $TCR\delta$ 且第二TCR次單元為 $TCR\gamma$ 。在一些實施例中，第一多肽鏈進一步包含在第一抗原結合域與第一TCRD之間的第一肽連接子且第二多肽鏈進一步包含在第二抗原結合域與第二TCRD之間的第二肽連接子。在一些實施例中，第一及/或第二肽連接子個別地包含來自免疫球蛋白或T細胞受體次單元之恆定域或其片段。在一些實施例中，第一及/或第二肽連接子個別地包含CH1、CH2、CH3、CH4或CL抗體域或其片段。在一些實施例中，第一及/或第二肽連接子個別地包含 $C\alpha$ 、 $C\beta$ 、 $C\gamma$ 或 $C\delta$ TCR域或其片段。

在一些實施例中，根據以上所述之靶細胞殺死方法中之任一者，該接觸為活體內的。在一些實施例中，該接觸為活體外的。

在一些實施例中，提供一種醫藥組合物，其包含根據以上所述abTCR (諸如經分離abTCR)中之任一者的abTCR及醫藥學上可接受之載

劑。在一些實施例中，提供一種醫藥組合物，其包含編碼根據以上所述實施例中之任一者的abTCR的核酸及醫藥學上可接受之載劑。在一些實施例中，提供一種醫藥組合物，其包含表現根據以上所述abTCR (諸如經分離abTCR)中之任一者的abTCR的效應細胞及醫藥學上可接受之載劑。

在一些實施例中，提供一種治療有需要個體之靶抗原相關疾病的方法，其包含向個體投與有效量之醫藥組合物，該醫藥組合物包含表現根據以上所述abTCR (諸如經分離abTCR)中之任一者的abTCR的效應細胞。

在一些實施例中，提供一種治療有需要個體之靶抗原相關疾病的方法，其包含向個體投與有效量之組合物，該組合物包含效應 $\alpha\beta$ T細胞，該效應 $\alpha\beta$ T細胞包含特異性結合至靶抗原的abTCR，其包含：a)第一多肽鏈，其包含第一抗原結合域及第一TCRD，該第一抗原結合域包含 V_H 抗體域，該第一TCRD包含第一TCR次單元之第一跨膜域；及b)第二多肽鏈，其包含第二抗原結合域及第二TCRD，該第二抗原結合域包含 V_L 抗體域，該第二TCRD包含第二TCR次單元之第二跨膜域，其中第一抗原結合域之 V_H 域與第二抗原結合域之 V_L 域形成特異性結合至靶抗原的抗原結合模組，其中第一TCRD與第二TCRD形成能夠募集至少一個TCR相關信號傳導模組的T細胞受體模組(TCRM)，且其中第一TCR次單元為 $TCR\gamma$ 且第二TCR次單元為 $TCR\delta$ ，或第一TCR次單元為 $TCR\delta$ 且第二TCR次單元為 $TCR\gamma$ 。在一些實施例中，第一多肽鏈進一步包含在第一抗原結合域與第一TCRD之間的第一肽連接子且第二多肽鏈進一步包含在第二抗原結合域與第二TCRD之間的第二肽連接子。在一些實施例中，第一及/或第二肽連接子個別地包含來自免疫球蛋白或T細胞受體次單元之恆定域或其片段。在一些實施例中，第一及/或第二肽連接子個別地包含CH1、CH2、

CH3、CH4或CL抗體域或其片段。在一些實施例中，第一及/或第二肽連接子個別地包含C α 、C β 、C γ 或C δ TCR域或其片段。

在一些實施例中，根據以上所述治療靶抗原相關疾病的方法中之任一者，該靶抗原相關疾病為癌症。在一些實施例中，癌症係選自由以下組成之群：腎上腺皮質癌、膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、膽管癌、結腸直腸癌、食道癌、神經膠母細胞瘤、神經膠質瘤、肝細胞癌、頭頸癌、腎癌、淋巴瘤、白血病、肺癌、黑色素瘤、間皮瘤、多發性骨髓瘤、胰臟癌、嗜鉻細胞瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤、胃癌、子宮癌及甲狀腺癌。在一些實施例中，靶抗原相關疾病為病毒感染。在一些實施例中，病毒感染係由選自由以下組成之群的病毒引起：巨細胞病毒(CMV)、埃-巴二氏病毒(Epstein-Barr Virus；EBV)、B型肝炎病毒(HBV)、卡波西氏肉瘤相關疱疹病毒(Kaposi's Sarcoma associated herpesvirus；KSHV)、人類乳頭狀瘤病毒(HPV)、傳染性軟疣病毒(MCV)、人類T細胞白血病毒1 (HTLV-1)、HIV (人類免疫缺乏病毒)及C型肝炎病毒(HCV)。

在一些實施例中，提供一種治療有需要個體之靶抗原相關疾病的方法，其包含向個體投與有效量之醫藥組合物，該醫藥組合物包含編碼根據以上所述abTCR (諸如經分離abTCR)中之任一者的abTCR的核酸。

在一些實施例中，提供一種富集異質性細胞群體中表現根據以上所述abTCR (諸如經分離abTCR)中之任一者的abTCR的效應細胞的方法，其中該方法包含a)使異質性細胞群體與包含靶抗原或其中所含之一或多個抗原決定基的配位體接觸，形成效應細胞與配位體結合之複合體；及b)自異質性細胞群體中分離複合體，從而產生針對效應細胞富集的細胞群體。

在一些實施例中，提供一種核酸文庫，其包含編碼複數個根據以上所述abTCR (諸如經分離abTCR)中之任一者的abTCR的序列。

在一些實施例中，提供一種篩選根據以上所述實施例中之任一者的核酸文庫中編碼對靶抗原具有特異性之abTCR的序列的方法，其包含：a) 將核酸文庫引入至複數個細胞中，使得abTCR表現於複數個細胞之表面上；b) 將複數個細胞與包含靶抗原或其中所含之一或多個抗原決定基的配位體一起培育；c) 收集結合至配位體之細胞；及d) 自步驟c)中所收集的細胞中分離編碼abTCR之序列，從而鑑別對靶抗原具有特異性的abTCR。

亦提供本文所述建構物中之任一者的製造方法、製品及適合於本文所述方法之套組。

【圖式簡單說明】

圖1A顯示各種abTCR建構物設計(abTCR-3、abTCR-4、abTCR-5及abTCR-6)之示意性圖示。

圖1B顯示abTCR建構物設計之預期變化形式。

圖2顯示用於組裝TCR-CD3複合體之習知模型。

圖3顯示來自J.RT3-T3.5或Jurkat細胞之溶解產物的西方墨點分析，該等細胞個別地經具有抗AFP158/HLA*02:01結合部分之abTCR-3、-4、-5、-6或-6MD建構物轉導，經抗FLAG (源自TCR α 及TCR γ 之嵌合亞單元)或抗HA抗體(源自TCR β 及TCR δ 之嵌合亞單元)染色。

圖4A顯示J.RT3-T3.5細胞中之表面CD3 ϵ 表現之流動式細胞測量術分析，該等細胞個別地經具有抗AFP158/HLA-A*02:01結合部分之abTCR-3、-4、-5、-6或-6MD建構物轉導；細胞用抗CD3 ϵ 抗體染色。

圖4b顯示J.RT3-T3.5細胞中之表面AFP158/HLA-A*02:01四聚物結

合之流動式細胞測量術分析，該等細胞個別地經具有抗AFP158/HLA-A*02:01結合部分之abTCR-3、-4、-5、-6或-6MD建構物轉導；細胞用經藻紅素(PE)標記之AFP158/HLA-A*02:01四聚物染色。

圖4C顯示J.RT3-T3.5細胞中之表面抗個體基因型抗體結合之流動式細胞測量術分析，該等細胞個別地經具有由抗體識別之抗AFP158/HLA-A*02:01結合部分之abTCR-3、-4、-5、-6或-6MD建構物轉導；細胞用針對abTCR建構物之抗AFP158/HLA-A*02:01結合部分的抗個體基因型抗體染色。

圖5A顯示Jurkat細胞中之表面抗TCR α/β 抗體結合之流動式細胞測量術分析，該等細胞個別地經具有抗AFP158/HLA-A*02:01結合部分之abTCR-3、-4、-5、-6或-6MD建構物轉導；細胞用抗TCR α/β 抗體染色。

圖5B顯示Jurkat細胞中之表面AFP158/HLA-A*02:01四聚物結合之流動式細胞測量術分析，該等細胞個別地經具有抗AFP158/HLA-A*02:01結合部分之abTCR-3、-4、-5、-6或-6MD建構物轉導；細胞用經PE標記之AFP158/HLA-A*02:01四聚物染色。

圖5C顯示Jurkat細胞中之表面抗個體基因型抗體結合之流動式細胞測量術分析，該等細胞個別地經具有由抗體識別之抗AFP158/HLA-A*02:01結合部分之abTCR-3、-4、-5、-6或-6MD建構物轉導；細胞用針對abTCR建構物之抗AFP158/HLA-A*02:01結合部分的抗個體基因型抗體染色。

圖6顯示J.RT3-T3.5細胞中CD3 ϵ 與abTCR嵌合體之共表現之流動式細胞測量術分析，該等細胞個別地經具有抗AFP158/HLA-A*02:01結合部分之abTCR-6或abTCR-6MD建構物轉導；細胞用抗CD3 ϵ 抗體及

AFP158/HLA-A*02:01四聚物共染色。

圖7A顯示經abTCR轉導之周邊血液淋巴細胞之流動式細胞測量術分析；細胞經具有抗AFP158/HLA-A*02:01結合部分之abTCR-6MD建構物轉導且經抗CD4抗體、抗CD8抗體及AFP158/HLA-A*02:01四聚物共染色。虛線框指示圖7B中之CD4/CD8圖中所示之細胞的四聚物⁺群體間。

圖7B顯示周邊血液淋巴細胞上之CD4及CD8表現之流動式細胞測量術分析，該等細胞經模擬轉導或經具有抗AFP158/HLA-A*02:01結合部分之abTCR-6MD建構物轉導且經抗CD4及抗CD8抗體共染色；顯示未經閘控之細胞(上面2張圖)或經四聚物⁺閘控之細胞(下圖)的CD4及CD8表現。

圖8顯示外源性abTCR鏈與CD3複合體之相關性的西方墨點分析；毛地黃皂苷溶解產物由經模擬轉導或經具有抗AFP158/HLA-A*02:01結合部分之abTCR-6MD轉導的初級T細胞製得；用抗FLAG、抗CD3 δ 、抗CD3 ϵ 、抗CD3 γ 或抗CD3 ζ 抗體對溶解產物或抗FLAG免疫沈澱物進行墨點分析。

圖9A顯示初級T細胞在用具有相同的抗AFP158/HLA-A*02:01結合部分可變域的CAR或abTCR-6MD轉導後之轉導效率；細胞用經PE標記之AFP158/HLA-A*02:01四聚物染色。

圖9B顯示癌細胞株HepG2、SK-HEP-1及SK-HEP-1-AFP-MG之由T細胞介導的殺死，該等T細胞經具有相同的抗AFP158/HLA-A*02:01結合部分可變域之CAR或abTCR-6MD建構物轉導。

圖10顯示經abTCR轉導之T細胞在與靶細胞共培養後脫粒之流動式細胞測量術分析；T細胞經具有相同的抗AFP158/HLA-A*02:01結合部分可變域之CAR或abTCR-6MD轉導。顯示AFP158/HLA-A*02:01四聚物、抗

CD8抗體或抗CD107a抗體對經轉導細胞在與靶細胞HepG2、SK-HEP-1及SK-HEP-1-AFP-MG共培養後之染色。

圖11A顯示由經模擬轉導之T細胞或經具有相同的抗AFP158/HLA-A*02:01結合部分可變域之CAR或abTCR-6MD轉導的T細胞在與HepG2細胞共培養後分泌的一組細胞因子之量。

圖11B顯示由經模擬轉導之T細胞或經具有相同的抗AFP158/HLA-A*02:01結合部分可變域之CAR或abTCR-6MD轉導的T細胞在與SK-HEP-1或SK-HEP-1-AFP-MG細胞共培養後分泌的一組細胞因子之量。

圖12A至圖12H顯示經轉導之T細胞在存在或不存在靶癌細胞之情況下的細胞因子產生的流動式細胞測量術分析；T細胞經具有相同的抗AFP158/HLA-A*02:01結合部分可變域之CAR或abTCR-6MD轉導，與SK-HEP-1、SK-HEP-1-AFP-MG或HepG2細胞共培養；細胞隨後用經PE標記之AFP158/HLA-A*02:01四聚物、抗CD4抗體、以及抗TNF- α 抗體(12A及12B)、抗IFN γ 抗體(12C及12D)、抗IL-2抗體(12E及12F)或抗IL-6抗體(12G及12H)中之一者共染色。所示群體經AFP158/HLA-A*02:01四聚物⁺細胞閘控。

圖13顯示經抗AFP158 abTCR轉導且與AFP表現陽性或陰性之癌細胞株一起培育的CD4⁺ T細胞中之細胞因子表現的標靶特異性活化。

圖14顯示經具有相同的抗AFP158/HLA-A*02:01結合部分可變域之CAR或abTCR轉導之T細胞在暴露於抗原陽性或陰性靶細胞後，其上之T細胞耗盡標記物PD-1、LAG-3及TIM-3之流動式細胞測量術分析。

圖15顯示經具有相同的抗AFP158/HLA-A*02:01結合部分可變域之CAR或abTCR轉導之T細胞在暴露於抗原陽性或陰性靶細胞後，其上之T

細胞分化標記物CD28、CCR7及顆粒酶B之流動式細胞測量術分析。

圖16A至圖16C顯示經具有相同的抗AFP158/HLA-A*02:01結合部分可變域之抗AFP158/HLA-A*02:01 abTCR-6MD或抗AFP158/HLA-A*02:01 abTCR-7轉導的T細胞之表徵。圖16A顯示經轉導T細胞之細胞生長。圖16B顯示abTCR-6MD及abTCR-7在T細胞中之表現的西方墨點分析，使用抗FLAG抗體偵測經FLAG標記之建構物。包括CD3 ζ 之染色作為內參考物。圖16C顯示由經abTCR-6MD或abTCR-7轉導之T細胞介導的SK-HEP-1及SK-HEP-1-AFP-MG細胞之殺死。

圖17顯示由經模擬轉導之T細胞或經具有相同的抗CD19結合部分可變域之CAR或abTCR-6MD轉導的T細胞介導之癌細胞株JeKo-1、IM9、THP-1及Jurkat之殺死。

圖18A及圖18B顯示由與JeKo-1、IM9、THP-1或Jurkat細胞株共培養的、經模擬轉導之T細胞或經具有相同的抗CD19結合部分可變域之CAR或abTCR-6MD轉導的T細胞分泌的一組細胞因子之量。

圖19顯示經抗CD19 abTCR轉導且與CD19表現陽性或陰性之癌細胞株一起培育的CD4⁺ T細胞中之細胞因子表現的標靶特異性活化。

圖20顯示經具有相同的抗CD19結合部分可變域之CAR或abTCR轉導之T細胞在暴露於抗原陽性或陰性靶細胞後，其上之T細胞分化標記物CD28、CCR7及顆粒酶B之流動式細胞測量術分析。

圖21顯示經CAR或abTCR轉導之CD4⁺或CD8⁺ T細胞在暴露於抗原陽性靶細胞期間之增殖，兩者均為具有相同抗CD19結合部分可變域之嵌合受體，如藉由在起始暴露後第2天至第3天之染料稀釋所評定。

圖22顯示經CAR或abTCR轉導之T細胞上之嵌合受體在指定時間點之

內化，該等嵌合受體均為具有相同抗CD19結合部分可變域之嵌合受體，如藉由針對具有靶向抗CD19結合部分之抗個體基因型抗體的表面嵌合受體染色的細胞之流動式細胞測量術分析所評定。

圖23A及圖23B顯示經具有相同的抗CD19結合部分可變域之abTCR (抗CD19 abTCR-6MD)或cTCR (抗CD19-cTCR)轉導之T細胞的表徵。圖23A顯示abTCR及cTCR T細胞之細胞生長。圖23B顯示藉由經模擬轉導之T細胞或經abTCR或cTCR轉導之T細胞介導的CD19陽性癌細胞株Nalm-6之殺死。

圖24顯示藉由經模擬轉導之T細胞或經具有相同的抗NY-ESO-1結合部分可變域的CAR (#35 CAR)或abTCR-6MD (#35 abTCR)轉導之T細胞介導的癌細胞株IM9、Colo205、MDA-231、MCF7、JeKo-1、Raji、Hep1及Jurkat之殺死。

圖25A顯示CD3及CD56在自人類PBMC純化之NKT細胞子組上之表現的流動式細胞測量術分析。

圖25B顯示由與Raji或Raji-CD19ko細胞株共培養的經模擬轉導之T細胞或經具有抗CD19結合部分之abTCR-6MD轉導的T細胞分泌的細胞因子IL-2、GM-CSF、IFN γ 及TNF α 之量。對照包括單獨的經模擬轉導或經abTCR轉導之T細胞，及單獨的Raji或Raji-CD19ko細胞。

圖26A顯示CD25及CD4在自人類PBMC純化之Treg細胞子組上之表現的流動式細胞測量術分析。

圖26B顯示藉由與Raji或Raji-CD19ko細胞株共培養的經模擬轉導之T細胞或經具有抗CD19結合部分之abTCR-6MD轉導的T細胞分泌的細胞因子IL-2、GM-CSF、IFN γ 及TNF α 之量。

圖27顯示藉由經模擬轉導之T細胞或經具有各種免疫球蛋白CH1域，各自具有相同的抗AFP結合部分之abTCR轉導的T細胞介導之癌細胞株HepG2、SK-Hep1及SK-Hep1-AFP MG之殺死。

圖28顯示含有一或多個共刺激域之各種abTCR建構物設計(abTCR-6M-1、abTCR-6M-2、abTCR-6M-3、abTCR-6M-4、abTCR-6M-5、abTCR-6M-6、abTCR-6M-7、abTCR-6M-8)的示意性圖示。

圖29顯示藉由經模擬轉導之T細胞或經具有一或多個C端共刺激域，各自具有相同抗AFP結合部分的各種abTCR轉導之T細胞介導的癌細胞株HepG2、SK-Hep1及SK-Hep1-AFP MG的殺死。

圖30顯示藉由與SK-Hep1或SK-Hep1-AFP MG細胞株共培養的經模擬轉導之T細胞或經具有一或多個C端共刺激域，各自具有相同抗AFP結合部分的各種abTCR轉導之T細胞分泌的細胞因子IL-2、GM-CSF、IFN γ 及TNF α 之量。

圖31顯示藉由經模擬轉導之T細胞或經具有一或多個C端共刺激域，各自具有相同抗CD19結合部分之各種abTCR轉導的T細胞介導之癌細胞株Raji、Raji-CD19ko及JeKo-1的殺死。

圖32顯示藉由與Raji、Raji-CD19ko或JeKo-1細胞共培養的經模擬轉導之T細胞或經具有一或多個C端共刺激域，各自具有相同抗CD19結合部分的各種abTCR轉導之T細胞分泌的細胞因子IL-2、GM-CSF、IFN γ 及TNF α 之量。

圖33顯示在經靜脈內注射經模擬轉導之T細胞或經具有抗AFP158/HLA-A*02:01結合部分之abTCR-6MD轉導的T細胞處理之SK-HEP-1-AFP-MG的皮下小鼠異種移植模型中，隨時間推移之體重變化。

圖 34A 顯示在經靜脈內注射經模擬轉導之 T 細胞或經具有抗 AFP158/HLA-A*02:01 結合部分之 abTCR-6MD 轉導的 T 細胞處理之 SK-HEP-1-AFP-MG 的皮下小鼠模型中之腫瘤生長。

圖 34B 顯示在無處理或單次瘤內注射經具有抗 AFP158/HLA-A*02:01 結合部分之 abTCR-6MD 轉導的 T 細胞之 SK-HEP-1-AFP-MG 的皮下小鼠模型中當平均腫瘤體積達到 300 mm³ 時的腫瘤生長。

圖 35 顯示在經各種抗 CD19 abTCR (純系 5、5-3、5-9 及 5-14) 轉導之 T 細胞處理的報導基因 Raji 靜脈內異種移植小鼠中的腫瘤生長。包括經模擬轉導之 T 細胞及無 T 細胞處理作為對照。

圖 36 顯示注射有經模擬轉導之 T 細胞或經具有純系 5-13 抗 CD19 結合部分可變域之 CAR 或 abTCR-6MD 轉導的 T 細胞之 Raji 異種移植小鼠中 IL-2、IFN- γ 、TNF- α 及 IL-10 之血清含量。

圖 37 顯示經具有純系 5-13 抗 CD19 結合部分可變域之 CAR 或 abTCR-6MD 轉導之 T 細胞處理的報導基因 Raji 異種移植小鼠中腫瘤生長之定量。包括經模擬轉導之 T 細胞作為對照。

圖 38 顯示在經具有純系 5-13 抗 CD19 結合部分可變域之 CAR 或 abTCR-6MD 轉導之 T 細胞處理的報導基因 Raji 異種移植小鼠中源自腫瘤之生物發光的成像結果。包括經模擬轉導之 T 細胞作為對照。灰階轉換熱圖指示在腫瘤位置每秒之總光子數，其以覆蓋於小鼠影像上之黑點形式出現。

圖 39 顯示在初始腫瘤細胞植入且用經純系 5-13 抗 CD19 abTCR-6MD 轉導之 T 細胞處理之後用腫瘤細胞再攻擊 7 週的報導基因 Raji 異種移植小鼠中腫瘤生長之定量。包括經模擬轉導之 T 細胞作為對照。

圖40顯示經具有純系5-13抗CD19結合部分可變域之CAR或abTCR-6MD轉導之T細胞處理的報導基因NALM-6靜脈內異種移植小鼠中之腫瘤生長。包括經模擬轉導之T細胞及無T細胞處理作為對照。

圖41顯示注射有經具有純系5-13抗CD19結合部分可變域之CAR或abTCR-6MD轉導之細胞的NALM-6異種移植小鼠中IL-2、IL-4、IL-6、IL-8、IL-10、IFN- γ 及TNF- α 之血清含量。包括經模擬轉導之T細胞及無T細胞處理作為對照。

圖42顯示在處理後第7天及第13天，注射有經具有純系5-13抗CD19結合部分可變域之CAR或abTCR-6MD轉導之細胞的NALM-6異種移植小鼠之血液中的嵌合受體陽性T細胞之量。

圖43顯示在處理後第13天，注射有經具有純系5-13抗CD19結合部分可變域之CAR或abTCR-6MD轉導之細胞的NALM-6異種移植小鼠之血液中的腫瘤細胞的流動式細胞測量術分析。

圖44顯示在處理後第13天，注射有經具有純系5-13抗CD19結合部分可變域之CAR或abTCR-6MD轉導之細胞的NALM-6異種移植小鼠之骨髓中的腫瘤細胞的流動式細胞測量術分析。

圖45顯示注射有經具有純系5-13抗CD19結合部分可變域之CAR或abTCR-6MD轉導之細胞的NALM-6異種移植小鼠之血液中的CD4⁺或CD8⁺ CD3⁺ T細胞上之PD-1表現的流動式細胞測量術分析。

圖46顯示注射有經具有純系5-13抗CD19結合部分可變域之CAR或abTCR-6MD轉導之細胞的NALM-6異種移植小鼠之骨髓中的CD4⁺或CD8⁺ CD3⁺ T細胞上之PD-1表現的流動式細胞測量術分析。

【實施方式】

相關申請案之交叉引用

本申請案主張2015年10月23日申請之美國臨時申請案第62/245,944號、2016年3月7日申請之美國臨時申請案第62/304,918號、2016年6月3日申請之美國臨時申請案第62/345,649號及2016年8月1日申請之美國臨時申請案第62/369,694號的優先權，該等申請案皆以全文引用的方式併入本文中。

以ASCII正文檔案形式提交序列表

以ASCII正文檔案提交之以下內容以全文引用之方式併入本文中：電腦可讀形式(CRF)之序列表(檔案名稱：750042000340SEQLIST.txt，記錄日期：2016年10月20日，大小：104 KB)。

本申請案提供一種經分離嵌合抗體/T細胞受體建構物(本文中稱為「abTCR」)，其包含a)特異性結合至靶抗原之抗體部分，諸如Fab或Fv片段；及b)能夠募集至少一個TCR相關信號傳導模組的T細胞受體模組(TCRM)。

吾人已研發出一系列新穎的合成嵌合抗體/TCR建構物，其將吾人之TCR樣mAb以及習知mAb之結合特異性及親和力與藉由TCR獲得之標靶特異性細胞毒性效能及控制活化相組合。經轉導以表現abTCR之初級T細胞顯示有效的表面表現且聯合內源性CD3分子形成穩定的TCR樣信號傳導複合體。當經工程改造至T細胞中時，abTCR以MHC依賴性(肽/MHC抗原)及MHC非依賴性(細胞表面抗原)組態賦予T細胞活體外及活體內針對攜帶標靶之腫瘤細胞的強力細胞毒性。觀察到經轉導以表現abTCR之多個不同T細胞子組的標靶特異性活化，包括CD4⁺ T細胞、CD8⁺ T細胞、自然殺手T (NKT)細胞及調節T (Treg)細胞。此外，發現包括細胞內共刺激序

列之abTCR之表現與對應的不含任何共刺激序列之abTCR一樣好，且在一些情況下更好。

儘管CAR T細胞療法展現出了顯著的治療潛力，但臨床試驗連續觸發與過量細胞因子釋放及不受控制的T細胞增殖相關的嚴重不良事件。在不受理論限制之情況下，咸信abTCR可由天然存在之控制TCR活化之機構調節，需要與內源性CD3複合體組裝以活化T細胞介導之殺死，且可因此避免組成性活化。吾人已發現，經abTCR建構物轉導之T細胞相比於經攜帶相同抗體可變區，同時在癌細胞殺死方面具有同等效能之對應嵌合抗原受體(CAR)轉導的T細胞而言，表現較少量之細胞因子(例如，IL-2)及T細胞耗盡標記物(例如，PD-1、TIM3及LAG1)。此策略由此提供優於使用CAR之顯著技術優勢，產生細胞毒性信號傳導響應於內源性T細胞調節機制且具有活體內功能持續更久的潛力的T細胞。藉由將單株抗體與特異性抗原(諸如細胞表面抗原或肽/MHC複合體)之結合的極度最佳化與T細胞受體嚙合內源性信號傳導複合體以活化免疫細胞之能力相組合，本發明允許經由肽/MHC複合體高度特異性且強力靶向低複本數細胞表面抗原，以及細胞內或分泌抗原。

本申請案由此提供一種abTCR (諸如經分離abTCR)，其包含特異性結合至靶抗原之抗體部分及能夠募集至少一個TCR相關信號傳導模組之TCRM。abTCR可為包含第一多肽鏈及第二多肽鏈之雜二聚體。抗體部分可包含重鏈可變抗體域(V_H)及輕鏈可變抗體域(V_L)。在一些實施例中，抗體部分進一步包含一或多個抗體重鏈恆定域，諸如重鏈恆定1抗體域(C_H1)及/或輕鏈恆定抗體域(C_L)。TCRM包含第一T細胞受體域(TCRD)及第二TCRD，第一TCRD包含第一TCR次單元之跨膜域，第二TCRD包含第二

TCR次單元之跨膜域。abTCR之第一多肽鏈及第二多肽鏈可經由一或多個二硫鍵連接。關於例示性abTCR建構物設計，參見圖1A。

在另一態樣中，提供一或多個編碼abTCR之核酸。

在又另一態樣中，提供一種複合體(本文中稱為「abTCR-CD3複合體」)，其包含abTCR及至少一個TCR相關信號傳導模組。複合體可為包含四個二聚物abTCR、CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及 $\zeta\zeta$ 之八聚物。亦提供一種效應細胞，諸如T細胞，其表現abTCR或abTCR-CD3複合體或者與abTCR或abTCR-CD3複合體相關。

在又另一態樣中，提供一種組合物，其包含abTCR。組合物可為包含abTCR或效應細胞之醫藥組合物，該效應細胞表現abTCR或與abTCR相關(例如，表現abTCR之T細胞)。

亦提供abTCR (或表現abTCR或與abTCR相關之細胞)的出於治療目的的製造及使用方法，以及適用於此類方法之套組及製品。進一步提供使用abTCR (或表現abTCR或與abTCR相關之細胞)治療疾病之方法。

定義

如本文所用，「治療(treatment/treating)」為用於獲得有益或期望結果(包括臨床結果)之方法。出於本發明的目的，有益或期望臨床結果包括(但不限於)以下中的一或多者：緩解一或多種產生於疾病之症狀、降低疾病程度、使疾病穩定化(例如預防或延遲疾病惡化)、預防或延遲疾病擴散(例如轉移)、預防或延遲疾病復發、延遲或減緩疾病進展、改善疾病病況、提供疾病緩解(部分或完全)、減少治療疾病所需的一或多種其他藥物之劑量、延遲疾病進展、增加或改善生活品質、增加體重增長及/或延長存活期。「治療」亦涵蓋疾病之病理性結果(諸如，癌症中之腫瘤體積)降

低。本發明之方法涵蓋此等治療態樣中之任何一或多者。

術語「復發(recurrence/relapse/relapsed)」係指癌症或疾病在疾病消失之臨床評定之後的恢復。遠端癌轉移或局部復發之診斷可視為復發。

術語「難治性」或「耐受性」係指不回應於治療之癌症或疾病。

如本文中關於T細胞所用之「活化」係指已經充分刺激而誘導可偵測細胞增殖之T細胞狀態。活化亦可與誘導之細胞因子產生及可偵測效應功能相關聯。

術語「抗體」或「抗體部分」包括全長抗體及其抗原結合片段。全長抗體包含兩個重鏈及兩個輕鏈。輕鏈及重鏈之可變區負責抗原結合。兩種鏈中之可變區一般均含有三個稱作互補決定區(CDR)之高度可變環(輕鏈(LC) CDR包括LC-CDR1、LC-CDR2及LC-CDR3，重鏈(HC) CDR包括HC-CDR1、HC-CDR2及HC-CDR3)。本文所揭示之抗體及抗原結合片段之CDR邊界可藉由Kabat、Chothia或Al-Lazikani公約(Al-Lazikani 1997；Chothia 1985；Chothia 1987；Chothia 1989；Kabat 1987；Kabat 1991)界定或鑑別。重鏈或輕鏈之三個CDR插入於稱為構架區(FR)之側接伸長部之間，該等側接伸長部比CDR更高度保守且形成支撐高變環之架構。重鏈及輕鏈之恆定區不參與抗原結合，但展現各種效應功能。抗體基於其重鏈之恆定區胺基酸序列分配至各種類別。抗體之五種主要類別或同型為IgA、IgD、IgE、IgG及IgM，其特徵為分別存在 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 及 μ 重鏈。若干主要抗體類別分成子類，諸如IgG1 (γ 1重鏈)、IgG2 (γ 2重鏈)、IgG3 (γ 3重鏈)、IgG4 (γ 4重鏈)、IgA1 (α 1重鏈)或IgA2 (α 2重鏈)。

如本文所用之術語「抗原結合片段」係指抗體片段，包括例如雙功能抗體、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv片段、二硫鍵穩定性Fv片段(dsFv)、

(dsFv)₂、雙特異性dsFv (dsFv-dsFv')、二硫鍵穩定性雙功能抗體(ds雙功能抗體)、單鏈抗體分子(scFv)、scFv二聚體(二價雙功能抗體)、由包含一或多個CDR之抗體的一部分形成之多特異性抗體、駱駝的單域抗體、奈米抗體、域抗體、二價域抗體、或結合至抗原但不包含完整抗體結構之任何其他抗體片段。抗原結合片段能夠結合至與親本抗體或親本抗體片段(例如親本scFv)所結合相同之抗原。在一些實施例中，抗原結合片段可包含接枝至來自一或多種不同人類抗體之構架區的來自特定人類抗體之一或多個CDR。

「Fab樣抗原結合模組」係指包含第一多肽鏈及第二多肽鏈之抗體部分，其中第一及第二多肽鏈包含V_L抗體域、C_L抗體域、V_H抗體域及C_{H1}抗體域。V_L及C_L抗體域可位於一條鏈上，且V_H及C_{H1}抗體域位於另一條鏈上；或者V_L及C_{H1}抗體域可位於一條鏈上，且V_H及C_L抗體域位於另一條鏈上。在一些實施例中，第一及第二多肽鏈經由二硫鍵連接。

如本文所用，當第一抗體部分在等莫耳濃度之第一抗體部分存在下使第二抗體部分之靶抗原結合抑制至少約50% (諸如至少約55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%或99%中的任一者)時，第一抗體部分與第二抗體部分「競爭」結合至靶抗原，或反之亦然。基於抗體之交叉競爭而將其「框併(binining)」之高通量方法描述於PCT公開案第WO 03/48731號中。

如本文中所用，術語「特異性結合」或「對.....具有特異性」係指可量測且可再現的相互作用，諸如標靶與抗體或抗體部分之間的結合，其在非均質分子(包括生物分子)群體存在下決定標靶之存在。舉例而言，特異性結合於標靶(其可為抗原決定基)之抗體部分為以相比於其結合至其他標

靶而言更大之親和力、親合力、更容易及/或以更長持續時間結合該標靶之抗體部分。在一些實施例中，特異性結合於抗原之抗體部分以至少為其對於其他標靶之結合親和力約10倍的結合親和力與抗原(例如細胞表面抗原或肽/MHC蛋白質複合體)之一或多個抗原決定子反應。

術語「T細胞受體」或「TCR」係指由T細胞表面上配對的 $\alpha\beta$ 或 $\gamma\delta$ 鏈構成之雜二聚受體。各 α 、 β 、 γ 及 δ 鏈由兩個Ig樣域構成：經由互補決定區(CDR)賦予抗原識別之可變域(V)，隨後為藉由連接肽及跨膜(TM)區錨定至細胞膜的恆定域(C)。TM區與CD3信號傳導設備之恆定次單元結合。V域各自具有三個CDR。此等CDR與結合至由主要組織相容性複合體(pMHC)編碼之蛋白質的抗原肽之間的複合體相互作用(Davis及Bjorkman (1988) *Nature*, 334, 395-402；Davis等人 (1998) *Annu Rev Immunol*, 16, 523-544；Murphy (2012), xix, 第868頁)。

術語「TCR相關信號傳導模組」係指具有基於細胞質免疫受體酪氨酸之活化基元(ITAM)的分子，其為TCR-CD3複合體之一部分。TCR相關信號傳導模組包括CD3 $\gamma\epsilon$ 、CD3 $\delta\epsilon$ 及 $\zeta\zeta$ 。

術語「模組」當涉及蛋白質或蛋白質之一部分時意謂該蛋白質或該蛋白質之一部分包含複數個多肽鏈(例如，二聚蛋白質或二聚蛋白質之一部分)。複數個多肽鏈可諸如經由連接子(例如，肽連接子)或化學鍵(例如，肽鍵)連接。「模組」意謂包括一或多個組成蛋白質之多肽的結構上及/或功能上相關部分。舉例而言，二聚受體之跨膜模組可指受體各多肽鏈之跨膜部分。模組亦可指單一多肽鏈之相關部分。舉例而言，單體受體之跨膜模組可指受體單一多肽鏈之跨膜部分。

術語「T細胞受體模組」或「TCRM」係指包含源自T細胞受體之序

列的雜二聚體。TCRM包含T細胞受體跨膜域，且可進一步包含所有或一部分T細胞受體連接肽及/或細胞內域。

如本文所用之「經分離」建構物(諸如abTCR)係指(1)不與自然界中發現之蛋白質相關，(2)不含來自相同來源之其他蛋白質，(3)由來自不同物種之細胞表現，或(4)不存在於自然界中之建構物。

如本文所用之術語「經分離核酸」欲意謂基因組、cDNA或合成來源或其某一組合之核酸，藉助於其來源，該「經分離核酸」(1)不與發現於自然界中之「經分離核酸」的所有或一部分聚核苷酸相關聯，(2)可操作地連接於自然界中不與其連接之聚核苷酸，或(3)在自然界中不作為較大序列之一部分存在。

如本文所用，術語「CDR」或「互補決定區」欲意謂重鏈與輕鏈多肽之可變區內存在的非鄰接抗原組合位點。此等特定區域已由Kaba等人, J. Biol. Chem. 252:6609-6616 (1977)；Kabat等人，美國健康及人類服務部(U.S. Dept. of Health and Human Services), 「Sequences of proteins of immunological interest」 (1991)；Chothia 等人，J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)；及 MacCallum 等人，J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996)描述，其中定義包括胺基酸殘基相對於彼此比較時之重疊或子組。儘管如此，使用任一定義來提及抗體或接枝抗體或其變體之CDR意欲屬於如本文所定義及使用之術語的範疇。包涵以上所引用參考文獻中之每一者所定義的CDR的胺基酸殘基如下闡述於表1中作為對比物。

表1：CDR定義

	<u>Kabat</u> ¹	<u>Chothia</u> ²	<u>MacCallum</u> ³
V _H CDR1	31-35	26-32	30-35
V _H CDR2	50-65	53-55	47-58
V _H CDR3	95-102	96-101	93-101
V _L CDR1	24-34	26-32	30-36
V _L CDR2	50-56	50-52	46-55

¹殘基編號遵循Kabat等人, 同前文獻之命名法

²殘基編號遵循Chothia等人, 同前文獻之命名法

³殘基編號遵循MacCallum等人, 同前文獻之命名法

術語「嵌合抗體」係指如下抗體：其中重鏈及/或輕鏈之一部分與源自特定物種或屬於特定抗體類別或子類別之抗體中的對應序列相同或同源，而鏈之其餘部分與源自另一物種或屬於另一抗體類別或子類別的抗體中的對應序列相同或同源；以及此類抗體的片段，只要其展現本發明之生物活性即可(參見美國專利第4,816,567號；及Morrison等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81:6851-6855 (1984))。

關於抗體或抗體部分之術語「半合成」意謂抗體或抗體部分具有一或多個天然存在之序列及一或多個非天然存在之(亦即合成)序列。

關於抗體或抗體部分之術語「全合成」意謂抗體或抗體部分具有固定的、大部分或所有天然產生之V_H/V_L構架配對，但重鏈及輕鏈之所有6種CDR之非天然存在之(亦即合成)序列。非天然存在之CDR包括包含經修飾之人類CDR序列，諸如藉由保守胺基酸取代修飾或引入半胱胺酸殘基之CDR序列的彼等CDR。

非人類(例如嚙齒動物)抗體之「人類化」形式為含有源自非人類抗體之最小序列之嵌合抗體。在極大程度上，人類化抗體為人類免疫球蛋白(接受者抗體)，其中來自接受者的高變區(HVR)之殘基經來自諸如具有所需抗體特異性、親和力及能力之小鼠、大鼠、兔子或非人類靈長類動物之非人類物種(供者抗體)的高變區之殘基置換。在一些情況下，人類免疫球蛋白之構架區(FR)殘基置換為相應非人類殘基。此外，人類化抗體可包含在接受者抗體或供者抗體中未發現之殘基。進行此等修飾以進一步改進抗

體效能。一般而言，人類化抗體將包含至少一個且通常兩個可變域中之大體上全部，其中全部或大體上全部高變環與非人類免疫球蛋白之彼等區域相對應且全部或大體上全部FR為人類免疫球蛋白序列之彼等區。人類化抗體視情況亦將包含免疫球蛋白恆定區(Fc)之至少一部分，通常，人類免疫球蛋白之恆定區的至少一部分。關於其他細節，參見Jones等人, *Nature* 321:522-525 (1986)；Riechmann等人, *Nature* 332:323-329 (1988)；及 Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.* 2:593-596 (1992)。

「同源性」係指兩個多肽之間或兩個核酸分子之間的序列相似性或序列一致性。當所比較的兩個序列中之一個位置由相同鹼基或胺基酸單體次單元佔據時，例如若兩個DNA分子中之每一者中的一個位置由腺嘌呤佔據，則該等分子在該位置處「同源」。兩個序列之間的「同源性百分比」或「序列一致性百分比」為兩個序列共享之匹配或同源位置之數目除以所比較位置之數目乘以100之函數，任何保守取代視為序列一致性之一部分。舉例而言，若兩個序列中之10個位置中有6個匹配或同源，則兩個序列為60%同源。舉例而言，DNA序列ATTGCC及TATGGC共享50%同源性。一般而言，在比對兩個序列以得到最大同源性時進行了比較。出於測定胺基酸序列一致性百分比目的之比對可以此項技術中之技能範圍內的各種方式達成，例如使用公開可獲得之電腦軟體，諸如BLAST、BLAST-2、ALIGN、Megalign (DNASTAR)或MUSCLE軟體。熟習此項技術者可確定用於量測比對之適當參數，包括用於達成所比較序列之全長內之最大比對所需的任何演算法。然而，出於本文之目的，使用序列比較電腦程式MUSCLE (Edgar, R.C., *Nucleic Acids Research* 32 (5):1792-1797, 2004；Edgar, R.C., *BMC Bioinformatics* 5 (1):113, 2004)產生胺基酸序

列一致性%值。

人類IgG之「C_H1域」(亦稱為「H1」域之「C1」)通常自約胺基酸118延伸至約胺基酸215 (EU編號系統)。

除非另外規定，否則「編碼胺基酸序列之核苷酸序列」包括為彼此之簡併形式且編碼相同胺基酸序列之所有核苷酸序列。片語編碼蛋白質或RNA之核苷酸序列亦可包括內含子，其達到編碼蛋白質之核苷酸序列可在一些型式中含有內含子之程度。

術語「可操作地連接」係指調節序列與異源核酸序列之間的功能鍵，其導致後者之表現。舉例而言，當第一核酸序列與第二核酸序列處於功能性關係時，第一核酸序列可操作地連接第二核酸序列。舉例而言，若啟動子影響編碼序列之轉錄或表現，則啟動子可操作地連接於編碼序列。一般而言，可操作地連接之DNA序列為連續的，且當必需接合兩個蛋白質編碼區時，在相同閱讀框架中。

術語「誘導性啟動子」係指可藉由添加或移除一或多個特定信號來調節活性的啟動子。舉例而言，誘導性啟動子可在一組特定條件下活化可操作地連接之核酸的轉錄，例如在活化啟動子及/或緩解啟動子之壓制的誘導劑存在下。

如本文所揭示之abTCR或包含abTCR之組合物的「有效量」為足以進行具體陳述之目的之量。「有效量」可憑經驗及藉由與所述目的相關之已知方法確定。

術語「治療有效量」係指如本文所揭示之abTCR或包含abTCR之組合物可有效「治療」個體之疾病或病症的量。在癌症之情形下，如本文所揭示之abTCR或包含abTCR之組合物的治療有效量可減少癌細胞數目；減

小腫瘤尺寸或重量；抑制(亦即在一定程度上減緩且較佳終止)癌細胞浸潤至周邊器官中；抑制(亦即在一定程度上減緩且較佳終止)腫瘤轉移；在一定程度上抑制腫瘤生長；及/或在一定程度上減輕一或多種與癌症相關之症狀。在如本文所揭示之abTCR或包含abTCR之組合物可阻止生長及/或殺死現有癌細胞之程度上，其可為細胞生長抑制及/或細胞毒性的。在一些實施例中，治療有效量為生長抑制量。在一些實施例中，治療有效量為改良患者之無進展存活期的量。在諸如病毒感染之傳染性疾病之情況下，如本文所揭示之abTCR或包含abTCR之組合物的治療有效量可減少受到病原體感染之細胞的數目；減少源自病原體之抗原的產生或釋放；抑制(亦即在一定程度上減緩且較佳終止)病原體擴散至未感染細胞中；及/或在一定程度上減輕一或多種與感染相關之症狀。在一些實施例中，治療有效量為延長患者存活期之量。

如本文所使用，「醫藥學上可接受」或「藥理學上相容」意謂不為生物學上或其他方面不適宜之物質，例如，該物質可併入投與給患者之醫藥組合物中而不會引起任何顯著不當生物學作用或以有害方式與含有其之組合物的任何其他組分相互作用。醫藥學上可接受之載劑或賦形劑較佳滿足毒理學及製造測試之所要求標準及/或包括於美國食品藥物管理局(U.S. Food and Drug administration)制定之非活性成分導引(Inactive Ingredient Guide)中。

應瞭解，本文所述之本發明實施例包括「由」實施例「組成」及/或「基本上由」實施例「組成」。

本文中提及「約」某個值或參數時包括(且描述)針對該值或參數本身之變化。舉例而言，關於「約X」之描述包括「X」之描述。

如本文所用，提及「不為」某個值或參數時一般意謂且描述「除」該值或參數「以外」。舉例而言，該方法不用於治療X型癌症意謂該方法用於治療除X以外的類型之癌症。

除非上下文另外明確指示，否則如本文中及所附申請專利範圍中所使用，單數形式「一(a/an)」及「該」包括複數個指示物。

嵌合抗體/T細胞受體建構物

在一個態樣中，本發明提供一種靶抗原特異性嵌合抗體/T細胞受體(abTCR)，其特異性結合至靶抗原(諸如細胞表面抗原或肽/MHC複合體)且能夠募集至少一個TCR相關信號傳導模組(諸如CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 或 $\zeta\zeta$)。在一些實施例中，abTCR包含第一多肽鏈及第二多肽鏈。在一些實施例中，第一及第二多肽鏈諸如藉由共價鍵(例如，肽鍵或其他化學鍵)或非共價鍵連接。在一些實施例中，abTCR為包含第一多肽鏈及第二多肽鏈之雜二聚體。在一些實施例中，第一多肽鏈及第二多肽鏈經由至少一個二硫鍵連接。abTCR之特異性源自賦予靶抗原結合特異性之抗體部分。在一些實施例中，抗體部分為包含V_H、C_{H1}、V_L及C_L抗體域之Fab樣抗原結合模組。在一些實施例中，抗體部分為包含V_H及V_L抗體域之Fv樣抗原結合模組。abTCR募集TCR相關信號傳導模組之能力源自T細胞受體模組(TCRM)。在一些實施例中，TCRM包含TCR之跨膜模組(諸如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR)。在一些實施例中，TCRM進一步包含TCR之連接肽或其片段中之一者或兩者。在一些實施例中，跨膜模組及連接肽或其片段源自同一種TCR類型($\alpha\beta$ 或 $\gamma\delta$)。在一些實施例中，跨膜模組源自 $\alpha\beta$ TCR且連接肽或其片段源自 $\gamma\delta$ TCR，或者跨膜模組源自 $\gamma\delta$ TCR且連接肽或其片段源自 $\alpha\beta$ TCR。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個細胞內域。在一些實

施例中，abTCR之至少一個細胞內域中之一或多者包含來自TCR之細胞內域的序列。在一些實施例中，abTCR之至少一個細胞內域中之一或多者包含T細胞共刺激信號傳導序列。共刺激信號傳導序列可為共刺激分子之細胞內域的一部分，該共刺激分子包括例如CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30、CD40、ICOS、淋巴細胞功能相關抗原-1 (LFA-1)、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、B7-H3、特異性結合CD83之配位體及其類似物。在一些實施例中，抗體部分含於abTCR之細胞外域中。在一些實施例中，abTCR進一步包含在抗體部分與TCRM之間的一或多個肽連接子以最佳化細胞外域之長度。在一些實施例中，提及特異性結合至靶抗原之抗原結合模組(諸如Fab樣或Fv樣抗原結合模組)時意謂抗原結合模組以a)相對於其於其他分子之結合親和力至少約10 (包括例如至少約10、20、30、40、50、75、100、200、300、400、500、750、1000或更大中之任一者)倍的親和力；或b)相對於其結合至其他分子之 K_d 不超過約1/10 (諸如不超過約1/10、1/20、1/30、1/40、1/50、1/75、1/100、1/200、1/300、1/400、1/500、1/750、1/1000或更小中之任一者)的 K_d 結合至靶抗原。結合親和力可藉由此項技術中已知之方法，諸如ELISA、螢光活化細胞分選(FACS)分析或放射免疫沈澱分析(RIA)測定。 K_d 可藉由此項技術中已知之方法，諸如利用例如Biacore儀器之表面電漿子共振(SPR)分析，或利用例如Sapidyne儀器之動力學排除分析(KinExA)測定。

預期abTCR建構物包括例如特異性結合至細胞表面抗原之abTCR及特異性結合至細胞表面呈遞肽/MHC複合體之abTCR。

在一些實施例中，abTCR包含Fab樣抗原結合模組，其包含a)第一多肽鏈，第一多肽鏈包含第一抗原結合域，第一抗原結合域包含 V_H 抗體域

及C_H1抗體域；及b)第二多肽鏈，第二多肽鏈包含第二抗原結合域，第二抗原結合域包含V_L抗體域及C_L抗體域。在一些實施例中，第一抗原結合域包含C_H1抗體域胺基端之V_H抗體域及/或第二抗原結合域包含C_L抗體域胺基端之V_L抗體域。在一些實施例中，在V_L與C_L抗體域之間存在肽連接子及/或在V_H與C_H1抗體域之間存在肽連接子。在一些實施例中，所有V_L抗體域及V_H抗體域CDR皆源自同一抗體部分。在一些實施例中，V_L抗體域及V_H抗體域包含源自超過一個抗體部分之抗體CDR。在一些實施例中，V_L抗體域包含源自V_H抗體域之抗體CDR及/或V_H抗體域包含源自V_L抗體域之抗體CDR。在一些實施例中，V_L抗體域包含源自一個抗體之構架區及一或多個源自另一抗體之CDR；及/或V_H抗體域包含源自一個抗體之構架區及一或多個源自另一抗體之CDR。在一些實施例中，第一及第二多肽鏈諸如藉由共價鍵(例如，肽鍵或其他化學鍵)或非共價鍵連接。在一些實施例中，第一及第二抗原結合域藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一及第二抗原結合域藉由C_H1域中之殘基與C_L域中之殘基之間的二硫鍵連接。在一些實施例中，C_H1域源自IgG (例如IgG1、IgG2、IgG3或IgG4)、IgA (例如，IgA1或IgA2)、IgD、IgM或IgE重鏈，視情況為人類的。在一些實施例中，C_H1域包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 39及60至69中之任一者的胺基酸序列。在一些實施例中，C_H1域為相比於獲得其之序列而言包含一或多個修飾(例如，胺基酸取代、插入及/或缺失)的變異體。在一些實施例中，C_L域源自κ或λ輕鏈，視情況為人類的。在一些實施例中，C_L域包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 41之胺基酸序列。在一些實施例中，C_L域為相比於獲得其之序列而言包含一或多個修飾(例如，胺基酸取代、插入及/或缺失)的變異體。在一些實施例中，C_H1及/或C_L域

包含一或多個基本上不改變其彼此之間的結合親和力的修飾。在一些實施例中， C_{H1} 及/或 C_L 域包含一或多個增加其彼此之間的結合親和力及/或引入非天然存在之二硫鍵的修飾。在一些實施例中， C_{H1} 及 C_L 域包含杵-臼(knob-into-hole)修飾(參見例如Carter P. *J Immunol Methods*. 248:7-15, 2001)。在一些實施例中， C_{H1} 及 C_L 域藉由靜電轉向(electrostatic steering)修飾以增強其彼此間的相關性(參見例如WO2006106905及Gunasekaran K等人 *J Biol Chem*. 285:19637-46, 2010)。在一些實施例中，Fab樣抗原結合模組為人類、人類化、嵌合、半合成或全合成的。

在一些實施例中，abTCR包含Fab樣抗原結合模組，其包含a)第一多肽鏈，第一多肽鏈包含第一抗原結合域，第一抗原結合域包含 V_L 抗體域及 C_{H1} 抗體域；及b)第二多肽鏈，第二多肽鏈包含第二抗原結合域，第二抗原結合域包含 V_H 抗體域及 C_L 抗體域。在一些實施例中，第一抗原結合域包含在 C_{H1} 抗體域之胺基端的 V_L 抗體域及/或第二抗原結合域包含在 C_L 抗體域之胺基端的 V_H 抗體域。在一些實施例中，在 V_H 與 C_L 抗體域之間存在肽連接子及/或在 V_L 與 C_{H1} 抗體域之間存在肽連接子。在一些實施例中，所有 V_L 抗體域及 V_H 抗體域CDR皆源自同一抗體部分。在一些實施例中， V_L 抗體域及 V_H 抗體域包含源自超過一個抗體部分之抗體CDR。在一些實施例中， V_L 抗體域包含源自 V_H 抗體域之抗體CDR及/或 V_H 抗體域包含源自 V_L 抗體域之抗體CDR。在一些實施例中， V_L 抗體域包含源自一個抗體之構架區及一或多個源自另一抗體之CDR；及/或 V_H 抗體域包含源自一個抗體之構架區及一或多個源自另一抗體之CDR。在一些實施例中，第一及第二多肽鏈諸如藉由共價鍵(例如，肽鍵或其他化學鍵)或非共價鍵連接。在一些實施例中，第一及第二抗原結合域藉由二硫鍵連接。在一些實

施例中，第一及第二抗原結合域藉由C_H1域中之殘基與C_L域中之殘基之間的二硫鍵連接。在一些實施例中，C_H1域源自IgG（例如IgG1、IgG2、IgG3或IgG4）、IgA（例如，IgA1或IgA2）、IgD、IgM或IgE重鏈，視情況為人類的。在一些實施例中，C_H1域包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 39及60至69中之任一者的胺基酸序列。在一些實施例中，C_H1域為相比於獲得其之序列而言包含一或多個修飾(例如，胺基酸取代、插入及/或缺失)的變異體。在一些實施例中，C_L域源自κ或λ輕鏈，視情況為人類的。在一些實施例中，C_L域包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 41之胺基酸序列。在一些實施例中，C_L域為相比於獲得其之序列而言包含一或多個修飾(例如，胺基酸取代、插入及/或缺失)的變異體。在一些實施例中，C_H1及/或C_L域包含一或多個基本上不改變其彼此之間的結合親和力的修飾。在一些實施例中，C_H1及/或C_L域包含一或多個增加其彼此之間的結合親和力及/或引入非天然存在之二硫鍵的修飾。在一些實施例中，C_H1及C_L域包含杵-臼修飾(參見例如Carter P. *J Immunol Methods*. 248:7-15, 2001)。在一些實施例中，C_H1及C_L域藉由靜電轉向修飾以增強其彼此間的相關性(參見例如WO2006106905及Gunasekaran K等人 *J Biol Chem*. 285:19637-46, 2010)。在一些實施例中，Fab樣抗原結合模組為人類、人類化、嵌合、半合成或全合成的。

在一些實施例中，abTCR包含Fv樣抗原結合模組，其包含a)第一多肽鏈，第一多肽鏈包含第一抗原結合域，第一抗原結合域包含V_H抗體域；及b)第二多肽鏈，第二多肽鏈包含第二抗原結合域，第二抗原結合域包含V_L抗體域。在一些實施例中，存在與V_L抗體域之C端融合的第一肽連接子及/或與V_H抗體域之C端融合的第二肽連接子。在一些實施例中，第

一及第二肽連接子能夠彼此結合。在一些實施例中，第一及/或第二肽連接子源自免疫球蛋白重鏈及/或輕鏈恆定區。在一些實施例中，第一及/或第二肽連接子包含CH3抗體域或其變異體。在一些實施例中，肽連接子中所含的免疫球蛋白重鏈恆定域(例如，C_H1或CH3)源自IgG (例如IgG1、IgG2、IgG3或IgG4)、IgA (例如，IgA1或IgA2)、IgD、IgM或IgE重鏈，視情況為人類的。在一些實施例中，第一及/或第二肽連接子源自TCR次單元恆定區。舉例而言，在一些實施例中，第一及/或第二肽連接子源自a) TCR α 及 β 次單元恆定域；或b) TCR γ 及 δ 次單元恆定域。在一些實施例中，第一及/或第二肽連接子為合成的。在一些實施例中，所有V_L抗體域及V_H抗體域CDR皆源自同一抗體部分。在一些實施例中，V_L抗體域及V_H抗體域包含源自超過一個抗體部分之抗體CDR。在一些實施例中，V_L抗體域包含源自V_H抗體域之抗體CDR及/或V_H抗體域包含源自V_L抗體域之抗體CDR。在一些實施例中，V_L抗體域包含源自一個抗體之構架區及一或多個源自另一抗體之CDR；及/或V_H抗體域包含源自一個抗體之構架區及一或多個源自另一抗體之CDR。在一些實施例中，第一及第二多肽鏈諸如藉由共價鍵(例如，肽鍵或其他化學鍵)或非共價鍵連接。在一些實施例中，第一及第二抗原結合域藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一及第二肽連接子藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一及/或第二肽連接子為相比於獲得其之序列而言包含一或多個修飾(例如，胺基酸取代、插入及/或缺失)的變異體。在一些實施例中，第一及/或第二肽連接子包含一或多個基本上不改變其彼此之間的結合親和力的修飾。在一些實施例中，第一及/或第二肽連接子包含一或多個增加其彼此之間的結合親和力及/或引入非天然存在之二硫鍵的修飾。在一些實施例中，第一及第二肽連接子包

含杵-臼修飾(參見例如Carter P. *J Immunol Methods*. 248:7-15, 2001)。在一些實施例中，第一及第二肽連接子藉由靜電轉向修飾以增強其彼此間的相關性(參見例如WO2006106905及Gunasekaran K等人 *J Biol Chem*. 285:19637-46, 2010)。在一些實施例中，Fv樣抗原結合模組為人類、人類化、嵌合、半合成或全合成的。

在一些實施例中，抗體部分(例如，Fab樣抗原結合模組或Fv樣抗原結合模組)為半合成的，包含完全人類序列及一或多個合成區。在一些實施例中，抗體部分為半合成的，包含完全人類V_L及半合成V_H，半合成V_H包含完全人類FR1、HC-CDR1、FR2、HC-CDR2、FR3及FR4區及合成的HC-CDR3。在一些實施例中，半合成V_H包含全合成HC-CDR3，其序列長度為約5至約25 (諸如約5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25中之任一者)個胺基酸。在一些實施例中，半合成V_H或合成HC-CDR3係自半合成文庫(諸如半成人類文庫)獲得，包含全合成HC-CDR3區，其序列長度為約5至約25 (諸如約5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25中之任一者)個胺基酸，其中該序列中之各胺基酸隨機選自標準人類胺基酸，排除半胱胺酸。在一些實施例中，合成HC-CDR3之長度為約10至約19 (諸如約10、11、12、13、14、15、16、17、18或19中之任一者)個胺基酸。在一些實施例中，抗體部分為半合成的，包含半合成V_L及半合成V_H。在一些實施例中，抗體部分為全合成的，包含具有固定的人類V_H/V_L構架配對的抗體，但重鏈及輕鏈之所有6種CDR為隨機合成序列。

在一些實施例中，抗體部分(例如，Fab樣抗原結合模組或Fv樣抗原

結合模組)包含源自一或多個抗體部分(諸如單株抗體)之特異性CDR序列或此類序列之包含一或多個胺基酸取代之某些變異體。在一些實施例中，變異序列中之胺基酸取代基本上不會減弱抗體部分結合靶抗原之能力。亦涵蓋大體上改良靶抗原結合親和力或影響一些其他特性(諸如特異性及/或與靶抗原之相關變異體之交叉反應性)的改變。

TCRM包含a)第一多肽鏈，第一多肽鏈包含第一T細胞受體域(TCRD)，第一TCRD包含第一跨膜域；及b)第二多肽鏈，第二多肽鏈包含第二TCRD，第二TCRD包含第二跨膜域。在一些實施例中，第一跨膜域為第一TCR次單元之跨膜域及/或第二跨膜域為第二TCR次單元之跨膜域。在一些實施例中，第一TCR次單元為TCR α 鏈(例如，GenBank寄存編號：CCI73895)，且第二TCR次單元為TCR β 鏈(例如，GenBank寄存編號：CCI73893)。在一些實施例中，第一TCR次單元為TCR β 鏈，且第二TCR次單元為TCR α 鏈。在一些實施例中，第一TCR次單元為TCR γ 鏈(例如，GenBank寄存編號：AGE91788)，且第二TCR次單元為TCR δ 鏈(例如，GenBank寄存編號：AAQ57272)。在一些實施例中，第一TCR次單元為TCR δ 鏈，且第二TCR次單元為TCR γ 鏈。在一些實施例中，第一及/或第二跨膜域個別地包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 77-80之胺基酸序列中之一者中所含的跨膜域。在一些實施例中，第一及/或第二跨膜域個別地包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 1-4之胺基酸序列中之任一者。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含在跨膜域之胺基端的第一連接肽及/或第二TCRD進一步包含在跨膜域之胺基端的第二連接肽。在一些實施例中，第一連接肽包含第一TCR次單元之所有或一部分連接肽及/或第二連接肽包含第二TCR次單元之所有或一部分連接肽。在一些實施例

中，第一跨膜域及第一連接肽源自不同TCR次單元及/或第二跨膜域及第二連接肽源自不同TCR次單元。在一些實施例中，第一及/或第二連接肽個別地包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 77-80之胺基酸序列中之一者中所含的連接肽或其片段。在一些實施例中，第一及/或第二連接肽個別地包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO:5-12之胺基酸序列中之任一者。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含在第一跨膜域之羧基端的第一TCR細胞內域及/或第二TCRD進一步包含在第二跨膜域之羧基端的第二TCR細胞內域。在一些實施例中，第一TCR細胞內域包含第一TCR次單元之所有或部分細胞內域及/或第二TCR細胞內域包含第二TCR次單元之所有或部分細胞內域。在一些實施例中，第一及/或第二TCR細胞內域個別地包含SEQ ID NO: 77-80之胺基酸序列中之任一者中所含的所有或部分細胞內域。在一些實施例中，第一及/或第二TCR細胞內域個別地包含SEQ ID NO: 13-14之胺基酸序列中之任一者。在一些實施例中，第一TCRD為第一TCR次單元之片段及/或第二TCRD為第二TCR鏈之片段。在一些實施例中，第一及第二多肽鏈諸如藉由共價鍵(例如，肽鍵或其他化學鍵)或非共價鍵連接。在一些實施例中，第一及第二TCRD藉由二硫鍵連接。在一些實施例中，第一及第二TCRD藉由第一連接肽中之殘基與第二連接肽中之殘基之間的二硫鍵連接。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一個選自由CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及 $\zeta\zeta$ 組成之群的TCR相關信號傳導模組。在一些實施例中，TCRM能夠募集CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及 $\zeta\zeta$ 中之每一者以形成八聚abTCR-CD3複合體(亦即，促進abTCR-CD3複合體形成)。

在一些實施例中，abTCR為如下分子，其包含在TCRM之第一多肽鏈之胺基端的抗體部分(例如，Fab樣抗原結合模組或Fv樣抗原結合模組)

之第一多肽鏈的融合體，從而形成abTCR之第一多肽鏈；及在TCRM之第二多肽鏈之胺基端的抗體部分之第二多肽鏈的融合體，從而形成abTCR之第二多肽鏈。在一些實施例中，abTCR進一步包含在抗體部分之第一多肽鏈與TCRM之第一多肽鏈之間的第一肽連接子及/或在抗體部分之第二多肽鏈與TCRM之第二多肽鏈之間的第二肽連接子。在一些實施例中，第一及/或第二肽連接子之長度介於約5至約70（諸如約5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65或70中之任一者，包括在此等值之間的任何範圍）個胺基酸之間。在一些實施例中，abTCR之第一多肽鏈進一步包含在第一抗原結合域之胺基端的第一信號肽及/或abTCR之第二多肽鏈進一步包含在第二抗原結合域之胺基端的第二信號肽。在一些實施例中，第一及/或第二信號肽包含（諸如由以下組成）SEQ ID NO: 49之胺基酸序列。在一些實施例中，abTCR之第一多肽鏈進一步包含在第一跨膜域之羧基端的第一附屬細胞內域及/或abTCR之第二多肽鏈進一步包含在第二跨膜域之羧基端的第二附屬細胞內域。在一些實施例中，第一及/或第二附屬細胞內域包含TCR共刺激域。在一些實施例中，TCR共刺激域包含SEQ ID NO: 70或71之胺基酸序列中的所有或一部分。在一些實施例中，第一及/或第二附屬細胞內域包含抗原決定基標籤。在一些實施例中，抗原決定基標籤包含SEQ ID NO: 50-52之胺基酸序列中之任一者。在一些實施例中，abTCR之第一及第二多肽鏈諸如藉由共價鍵（例如，肽鍵或其他化學鍵）或非共價鍵連接。在一些實施例中，abTCR為雜二聚體。

在一些實施例中，靶抗原為細胞表面抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原係選自由蛋白質、碳水化合物及脂質組成之群。在一些實施例中，細胞表面抗原為於病變細胞中表現之疾病相關抗原。在一些實施例

中，靶抗原為包含肽及MHC蛋白質之複合體。肽/MHC複合體包括例如表面呈遞複合體，其包含源自在病變細胞中表現之疾病相關抗原的肽及MHC蛋白質。在一些實施例中，全長疾病相關抗原通常不表現於病變細胞(例如，疾病相關抗原為細胞內或分泌蛋白)之表面上。在一些實施例中，疾病為癌症且疾病相關抗原為在癌細胞中表現之腫瘤相關抗原。在一些實施例中，腫瘤相關抗原為癌蛋白。在一些實施例中，癌蛋白為原癌基因之突變結果，且癌蛋白包含含突變之新生抗原決定基。舉例而言，在一些實施例中，靶抗原為細胞表面腫瘤相關抗原(例如，包含新生抗原決定基之癌蛋白)。在一些實施例中，靶抗原為複合體，其包含源自通常不表現於癌細胞(例如，細胞內或分泌的腫瘤相關抗原)之表面上的腫瘤相關抗原(例如，包含新生抗原決定基之癌蛋白)的肽及MHC蛋白質。在一些實施例中，疾病為病毒感染且疾病相關抗原為在感染細胞中表現之病毒相關抗原。舉例而言，在一些實施例中，靶抗原為細胞表面病毒相關抗原。在一些實施例中，靶抗原為複合體，其包含源自通常不表現於病毒感染細胞(例如，細胞內或分泌的病毒相關抗原)之表面上的病毒相關抗原的肽及MHC蛋白質。在一些實施例中，abTCR建構物以介於約0.1 pM至約500 nM (諸如約0.1 pM、1.0 pM、10 pM、50 pM、100 pM、500 pM、1 nM、10 nM、50 nM、100 nM或500 nM中之任一者，包括此等值之間的任何範圍)之間的 K_d 結合靶抗原。

在一些實施例中，abTCR包含特異性結合至細胞表面抗原之抗體部分(例如，Fab樣抗原結合模組或Fv樣抗原結合模組)，其中細胞表面抗原為CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPC5D或FCRL5。與例如細胞表面抗原之完整抗原之特異性結合有時稱為「非MHC限制結合」。

在一些實施例中，abTCR包含特異性結合至複合體之抗體部分(例如，Fab樣抗原結合模組或Fv樣抗原結合模組)，該複合體包含肽及MHC蛋白質，其中該肽源自選自由WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA組成之群的蛋白質。與包含肽及MHC蛋白質之複合體的特異性結合有時稱為「MHC限制結合」。

在一些實施例中，abTCR包含特異性結合至複合體之抗體部分(例如，Fab樣抗原結合模組或Fv樣抗原結合模組)，該複合體包含源自疾病相關抗原(諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原)的肽及MHC I類蛋白質，其中MHC I類蛋白質為HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-E、HLA-F或HLA-G。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A、HLA-B或HLA-C。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-B。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-C。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A01、HLA-A02、HLA-A03、HLA-A09、HLA-A10、HLA-A11、HLA-A19、HLA-A23、HLA-A24、HLA-A25、HLA-A26、HLA-A28、HLA-A29、HLA-A30、HLA-A31、HLA-A32、HLA-A33、HLA-A34、HLA-A36、HLA-A43、HLA-A66、HLA-A68、HLA-A69、HLA-A74或HLA-A80。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A02。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A*02:01-555中之任一者，諸如HLA-A*02:01、HLA-A*02:02、HLA-A*02:03、HLA-A*02:04、HLA-A*02:05、HLA-A*02:06、HLA-A*02:07、HLA-A*02:08、HLA-A*02:09、HLA-A*02:10、HLA-A*02:11、HLA-A*02:12、HLA-A*02:13、HLA-A*02:14、HLA-A*02:15、HLA-A*02:16、HLA-A*02:17、HLA-A*02:18、HLA-A*02:19、HLA-

A*02:20、HLA-A*02:21、HLA-A*02:22或HLA-A*02:24。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A*02:01。

在一些實施例中，abTCR包含特異性結合至複合體之抗體部分(例如，Fab樣抗原結合模組或Fv樣抗原結合模組)，該複合體包含源自疾病相關抗原(諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原)的肽及MHC II類蛋白質，其中MHC II類蛋白質為HLA-DP、HLA-DQ或HLA-DR。在一些實施例中，MHC II類蛋白質為HLA-DP。在一些實施例中，MHC II類蛋白質為HLA-DQ。在一些實施例中，MHC II類蛋白質為HLA-DR。

舉例而言，在一些實施例中，提供一種abTCR (諸如經分離abTCR)，其包含a)特異性結合至靶抗原之Fab樣抗原結合模組，及b)能夠募集至少一個TCR相關信號傳導模組之TCRM。在一些實施例中，Fab樣抗原結合模組包含V_H抗體域、C_H1抗體域、V_L抗體域及C_L抗體域。在一些實施例中，C_H1域源自IgG (例如IgG1、IgG2、IgG3或IgG4)重鏈，視情況為人類的。在一些實施例中，C_H1域為相比於獲得其之序列而言包含一或多個修飾(例如，胺基酸取代、插入及/或缺失)的變異體。在一些實施例中，C_L域源自κ或λ輕鏈，視情況為人類的。在一些實施例中，C_L域為相比於獲得其之序列而言包含一或多個修飾(例如，胺基酸取代、插入及/或缺失)的變異體。在一些實施例中，Fab樣抗原結合模組為人類、人類化、嵌合、半合成或全合成的。在一些實施例中，TCRM包含TCR之跨膜域，諸如αβTCR或γδTCR。在一些實施例中，TCRM進一步包含TCR之連接肽或其片段，諸如αβTCR或γδTCR。在一些實施例中，跨膜域及連接肽源自αβTCR或γδTCR。在一些實施例中，跨膜域源自αβTCR且連接肽源自γδTCR，或者跨膜域源自γδTCR且連接肽源自αβTCR。在一些實施例

中，TCRM進一步包含TCR之細胞外域之至少一部分。在一些實施例中，TCRM進一步包含至少一個包含TCR之細胞內域之序列的TCR細胞內域。在一些實施例中，TCRM包含TCR次單元之片段。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含T細胞共刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)及/或抗原決定基標籤(諸如HA、FLAG或myc)。在一些實施例中，abTCR進一步包含在第一抗原結合域之胺基端的第一信號肽及/或在第二抗原結合域之胺基端的第二信號肽。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個二硫鍵。在一些實施例中，Fab樣抗原結合模組包含二硫鍵及/或TCRM包含二硫鍵。在一些實施例中，Fab樣抗原結合模組包含在C_H1域中之殘基與C_L域中之殘基之間的二硫鍵及/或TCRM包含在第一連接肽中之殘基與第二連接肽中之殘基之間的二硫鍵。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一個選自由CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及 $\zeta\zeta$ 組成之群的TCR相關信號傳導模組。在一些實施例中，TCRM促進abTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，在Fab樣抗原結合模組與TCRM之間存在肽連接子。在一些實施例中，靶抗原為細胞表面抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原係選自由蛋白質、碳水化合物及脂質組成之群。在一些實施例中，細胞表面抗原為疾病相關抗原，諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原為CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPC5D或FCRL5。在一些實施例中，靶抗原為表面呈遞肽/MHC複合體。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含源自疾病相關抗原(諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原)之肽及MHC蛋白質。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含肽及MHC蛋白質，其中該肽源自選自由WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-

LMP2A、HIV-1及PSA組成之群的蛋白質。在一些實施例中，MHC蛋白質為MHC I類蛋白質。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A。在一些實施例中，HLA-A為HLA-A02。在一些實施例中，HLA-A02為HLA-A*02:01。

在一些實施例中，提供一種abTCR（諸如經分離abTCR），其包含a) 特異性結合至靶抗原之Fv樣抗原結合模組，及b)能夠募集至少一個TCR相關信號傳導模組之TCRM，其中靶抗原為肽/MHC複合體。在一些實施例中，Fv樣抗原結合模組包含V_H抗體域及V_L抗體域。在一些實施例中，存在與V_L抗體域之C端融合的第一肽連接子及/或與V_H抗體域之C端融合的第二肽連接子。在一些實施例中，第一及第二肽連接子能夠彼此結合。在一些實施例中，第一及/或第二肽連接子源自免疫球蛋白重鏈及/或輕鏈恆定區。在一些實施例中，第一及/或第二肽連接子源自TCR次單元恆定區。舉例而言，在一些實施例中，第一及/或第二肽連接子源自a) TCR α 及 β 次單元恆定域；或b) TCR γ 及 δ 次單元恆定域。在一些實施例中，第一及/或第二肽連接子為合成的。在一些實施例中，Fv樣抗原結合模組為人類、人類化、嵌合、半合成或全合成的。在一些實施例中，TCRM包含TCR之跨膜域，諸如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR。在一些實施例中，TCRM進一步包含TCR之連接肽或其片段，諸如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR。在一些實施例中，跨膜域及連接肽源自 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR。在一些實施例中，跨膜域源自 $\alpha\beta$ TCR且連接肽源自 $\gamma\delta$ TCR，或者跨膜域源自 $\gamma\delta$ TCR且連接肽源自 $\alpha\beta$ TCR。在一些實施例中，TCRM進一步包含TCR之細胞外域之至少一部分。在一些實施例中，TCRM進一步包含至少一個包含TCR之細胞內域之序列的TCR細胞內域。在一些實施例中，TCRM包含TCR次單元之片段。在一些實施例中，

abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含T細胞共刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)及/或抗原決定基標籤(諸如HA、FLAG或myc)。在一些實施例中，abTCR進一步包含在第一抗原結合域之胺基端的第一信號肽及/或在第二抗原結合域之胺基端的第二信號肽。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個二硫鍵。在一些實施例中，第一及/或第二肽連接子包含二硫鍵及/或TCRM包含二硫鍵。在一些實施例中，TCRM包含在第一連接肽中之殘基與第二連接肽中之殘基之間的二硫鍵。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一個選自由CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及 $\zeta\zeta$ 組成之群的TCR相關信號傳導模組。在一些實施例中，TCRM促進abTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，靶抗原肽/MHC複合體包含源自疾病相關抗原(諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原)之肽及MHC蛋白質。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含肽及MHC蛋白質，其中該肽源自選自由WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA組成之群的蛋白質。在一些實施例中，MHC蛋白質為MHC I類蛋白質。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A。在一些實施例中，HLA-A為HLA-A02。在一些實施例中，HLA-A02為HLA-A*02:01。

在一些實施例中，提供一種特異性識別靶抗原之abTCR，其包含a) 第一多肽鏈，第一多肽鏈包含第一抗原結合域及第一TCRD，第一抗原結合域包含V_H及C_{H1}抗體域，第一TCRD包含第一TCR次單元之跨膜域；及b) 第二多肽鏈，第二多肽鏈包含第二抗原結合域及第二TCRD，第二抗原結合域包含V_L及C_L抗體域，第二TCRD包含第二TCR次單元之跨膜域，其中第一抗原結合域之V_H及C_{H1}域與第二抗原結合域之V_L及C_L域形成特異

性結合靶抗原之Fab樣抗原結合模組，其中第一TCRD與第二TCRD形成能夠募集至少一個TCR相關信號傳導模組之TCRM。在一些實施例中，Fab樣抗原結合模組為人類、人類化、嵌合、半合成或全合成的。在一些實施例中，第一TCR次單元為TCR α 鏈，且第二TCR次單元為TCR β 鏈。在一些實施例中，第一TCR次單元為TCR β 鏈，且第二TCR次單元為TCR α 鏈。在一些實施例中，第一TCR次單元為TCR γ 鏈，且第二TCR次單元為TCR δ 鏈。在一些實施例中，第一TCR次單元為TCR δ 鏈，且第二TCR次單元為TCR γ 鏈。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR次單元之連接肽或其片段及/或第二TCRD進一步包含第二TCR次單元之連接肽或其片段。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR次單元之細胞外域之一部分及/或第二TCRD進一步包含第二TCR次單元之細胞外域之一部分。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR細胞內域及/或第二TCRD進一步包含第二TCR細胞內域。在一些實施例中，第一TCR細胞內域包含來自第一TCR次單元之細胞內域之序列及/或第二TCR細胞內域包含來自第二TCR次單元之細胞內域之序列。在一些實施例中，第一TCRD為第一TCR次單元之片段及/或第二TCRD為第二TCR鏈之片段。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含T細胞共刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)及/或抗原決定基標籤(諸如HA、FLAG或myc)。在一些實施例中，abTCR進一步包含在第一抗原結合域之胺基端的第一信號肽及/或在第二抗原結合域之胺基端的第二信號肽。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一個選自由CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及 $\zeta\zeta$ 組成之群的TCR相關信號傳導模組。在一些實施例中，TCRM促進abTCR-CD3複合體形成。在一些實

施例中，在第一抗原結合域與第一TCRD之間存在第一肽連接子及/或在第二抗原結合域與第二TCRD之間存在第二肽連接子。在一些實施例中，第一及第二多肽鏈諸如藉由共價鍵(例如，肽鍵或其他化學鍵)或非共價鍵連接。在一些實施例中，第一多肽鏈及第二多肽鏈經由以下連接：a)在第一TCRD之連接肽中之殘基與第二TCRD之連接肽中之殘基之間的二硫鍵；及/或b)在第一抗原結合域中之C_H1抗體域中之殘基與第二抗原結合域中之C_L抗體域中之殘基之間的二硫鍵。在一些實施例中，C_H1域源自IgG (例如IgG1、IgG2、IgG3或IgG4)重鏈，視情況為人類的。在一些實施例中，C_H1域為相比於獲得其之序列而言包含一或多個修飾(例如，胺基酸取代、插入及/或缺失)的變異體。在一些實施例中，C_L域源自κ或λ輕鏈，視情況為人類的。在一些實施例中，C_L域為相比於獲得其之序列而言包含一或多個修飾(例如，胺基酸取代、插入及/或缺失)的變異體。在一些實施例中，靶抗原為細胞表面抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原係選自由蛋白質、碳水化合物及脂質組成之群。在一些實施例中，細胞表面抗原為疾病相關抗原，諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原為CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPC5D或FCRL5。在一些實施例中，靶抗原為表面呈遞肽/MHC複合體。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含源自疾病相關抗原(諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原)之肽及MHC蛋白質。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含肽及MHC蛋白質，其中該肽源自選自由WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA組成之群的蛋白質。在一些實施例中，MHC蛋白質為MHC I類蛋白質。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A。在一些實施例中，HLA-A為HLA-A02。在一些實施例中，HLA-A02為

HLA-A*02:01。

在一些實施例中，提供一種特異性識別靶抗原之abTCR，其包含a)第一多肽鏈，第一多肽鏈包含第一抗原結合域及第一TCRD，第一抗原結合域包含V_H抗體域，第一TCRD包含第一TCR次單元之跨膜域；及b)第二多肽鏈，第二多肽鏈包含第二抗原結合域及第二TCRD，第二抗原結合域包含V_L抗體域，第二TCRD包含第二TCR次單元之跨膜域，其中第一抗原結合域之V_H域與第二抗原結合域之V_L域形成特異性結合靶抗原之Fv樣抗原結合模組，其中第一TCRD與第二TCRD形成能夠募集至少一個TCR相關信號傳導模組之TCRM，且其中靶抗原為肽/MHC複合體。在一些實施例中，Fv樣抗原結合模組為人類、人類化、嵌合、半合成或全合成的。在一些實施例中，第一TCR次單元為TCR α 鏈，且第二TCR次單元為TCR β 鏈。在一些實施例中，第一TCR次單元為TCR β 鏈，且第二TCR次單元為TCR α 鏈。在一些實施例中，第一TCR次單元為TCR γ 鏈，且第二TCR次單元為TCR δ 鏈。在一些實施例中，第一TCR次單元為TCR δ 鏈，且第二TCR次單元為TCR γ 鏈。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR次單元之連接肽或其片段及/或第二TCRD進一步包含第二TCR次單元之連接肽或其片段。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR次單元之細胞外域之一部分及/或第二TCRD進一步包含第二TCR次單元之細胞外域之一部分。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR細胞內域及/或第二TCRD進一步包含第二TCR細胞內域。在一些實施例中，第一TCR細胞內域包含來自第一TCR次單元之細胞內域之序列及/或第二TCR細胞內域包含來自第二TCR次單元之細胞內域之序列。在一些實施例中，第一TCRD為第一TCR次單元之片段及/或第二TCRD為第二TCR鏈之

片段。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含T細胞共刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)及/或抗原決定基標籤(諸如HA、FLAG或myc)。在一些實施例中，abTCR進一步包含在第一抗原結合域之胺基端的第一信號肽及/或在第二抗原結合域之胺基端的第二信號肽。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一個選自由CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及 $\zeta\zeta$ 組成之群的TCR相關信號傳導模組。在一些實施例中，TCRM促進abTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，在第一抗原結合域與第一TCRD之間存在第一肽連接子及/或在第二抗原結合域與第二TCRD之間存在第二肽連接子。在一些實施例中，第一及/或第二肽連接子源自免疫球蛋白重鏈及/或輕鏈恆定區。在一些實施例中，第一及/或第二肽連接子源自TCR次單元恆定區。舉例而言，在一些實施例中，第一及/或第二肽連接子源自a) TCR α 及 β 次單元恆定域；或b) TCR γ 及 δ 次單元恆定域。在一些實施例中，第一及/或第二肽連接子為合成的。在一些實施例中，第一及第二多肽鏈諸如藉由共價鍵(例如，肽鍵或其他化學鍵)或非共價鍵連接。在一些實施例中，第一多肽鏈及第二多肽鏈經由以下連接：a)在第一TCRD之連接肽中之殘基與第二TCRD之連接肽中之殘基之間的二硫鍵；及/或b)在第一肽連接子中之殘基與第二肽連接子中之殘基之間的二硫鍵。在一些實施例中，第一及/或第二肽連接子為相比於獲得其之序列而言包含一或多個修飾(例如，胺基酸取代、插入及/或缺失)的變異體。在一些實施例中，第一及/或第二肽連接子包含一或多個基本上不改變其彼此之間的結合親和力的修飾。在一些實施例中，第一及/或第二肽連接子包含一或多個增加其彼此之間的結合親和力及/或引入非天然存在之二硫鍵的修飾。在一些實施例中，靶抗原肽

/MHC複合體包含源自疾病相關抗原(諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原)之肽及MHC蛋白質。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含肽及MHC蛋白質，其中該肽源自選自由WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA組成之群的蛋白質。在一些實施例中，MHC蛋白質為MHC I類蛋白質。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A。在一些實施例中，HLA-A為HLA-A02。在一些實施例中，HLA-A02為HLA-A*02:01。

在一些實施例中，提供一種特異性識別靶抗原之abTCR，其包含a)第一多肽鏈，第一多肽鏈包含第一抗原結合域及第一TCRD，第一抗原結合域包含V_H及C_{H1}抗體域，第一TCRD包含TCR α鏈之跨膜域；及b)第二多肽鏈，第二多肽鏈包含第二抗原結合域及第二TCRD，第二抗原結合域包含V_L及C_L抗體域，第二TCRD包含TCR β鏈之跨膜域，其中第一抗原結合域之V_H及C_{H1}域與第二抗原結合域之V_L及C_L域形成特異性結合靶抗原之Fab樣抗原結合模組，其中第一TCRD與第二TCRD形成能夠募集至少一個TCR相關信號傳導模組之TCRM。在一些實施例中，Fab樣抗原結合模組為人類、人類化、嵌合、半合成或全合成的。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含TCR α鏈之連接肽或其片段及/或第二TCRD進一步包含TCR β鏈之連接肽或其片段。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含TCR α鏈之細胞外域之一部分及/或第二TCRD進一步包含TCR β鏈之細胞外域之一部分。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR細胞內域及/或第二TCRD進一步包含第二TCR細胞內域。在一些實施例中，第一TCR細胞內域包含來自TCR α鏈之細胞內域之序列及/或第二TCR細胞內域包含來自TCR β鏈之細胞內域之序列。在一些實施例中，abTCR進一步

包含至少一個附屬細胞內域，其包含T細胞共刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)及/或抗原決定基標籤(諸如HA、FLAG或myc)。在一些實施例中，abTCR進一步包含在第一抗原結合域之胺基端的第一信號肽及/或在第二抗原結合域之胺基端的第二信號肽。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一個選自由CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及 $\zeta\zeta$ 組成之群的TCR相關信號傳導模組。在一些實施例中，TCRM促進abTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，在第一抗原結合域與第一TCRD之間存在第一肽連接子及/或在第二抗原結合域與第二TCRD之間存在第二肽連接子。在一些實施例中，第一及第二多肽鏈諸如藉由共價鍵(例如，肽鍵或其他化學鍵)或非共價鍵連接。在一些實施例中，第一多肽鏈及第二多肽鏈經由以下連接：a)在第一TCRD之連接肽中之殘基與第二TCRD之連接肽中之殘基之間的二硫鍵；及/或b)在第一抗原結合域中之C_H1抗體域中之殘基與第二抗原結合域中之C_L抗體域中之殘基之間的二硫鍵。在一些實施例中，靶抗原為細胞表面抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原係選自由蛋白質、碳水化合物及脂質組成之群。在一些實施例中，細胞表面抗原為疾病相關抗原，諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原為CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPCR5D或FCRL5。在一些實施例中，靶抗原為表面呈遞肽/MHC複合體。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含源自疾病相關抗原(諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原)之肽及MHC蛋白質。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含肽及MHC蛋白質，其中該肽源自選自由WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA組成之群的蛋白質。在一些實施例中，MHC蛋白質為MHC I類蛋白質。在一些實施例

中，MHC I類蛋白質為HLA-A。在一些實施例中，HLA-A為HLA-A02。在一些實施例中，HLA-A02為HLA-A*02:01。

在一些實施例中，提供一種特異性識別靶抗原之abTCR，其包含a)第一多肽鏈，第一多肽鏈包含第一抗原結合域及第一TCRD，第一抗原結合域包含V_H及C_{H1}抗體域，第一TCRD包含TCR β鏈之跨膜域；及b)第二多肽鏈，第二多肽鏈包含第二抗原結合域及第二TCRD，第二抗原結合域包含V_L及C_L抗體域，第二TCRD包含TCR α鏈之跨膜域，其中第一抗原結合域之V_H及C_{H1}域與第二抗原結合域之V_L及C_L域形成特異性結合靶抗原之Fab樣抗原結合模組，其中第一TCRD與第二TCRD形成能夠募集至少一個TCR相關信號傳導模組之TCRM。在一些實施例中，Fab樣抗原結合模組為人類、人類化、嵌合、半合成或全合成的。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含TCR β鏈之連接肽或其片段及/或第二TCRD進一步包含TCR α鏈之連接肽或其片段。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含TCR β鏈之細胞外域之一部分及/或第二TCRD進一步包含TCR α鏈之細胞外域之一部分。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR細胞內域及/或第二TCRD進一步包含第二TCR細胞內域。在一些實施例中，第一TCR細胞內域包含來自TCR β鏈之細胞內域之序列及/或第二TCR細胞內域包含來自TCR α鏈之細胞內域之序列。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含T細胞共刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)及/或抗原決定基標籤(諸如HA、FLAG或myc)。在一些實施例中，abTCR進一步包含在第一抗原結合域之胺基端的第一信號肽及/或在第二抗原結合域之胺基端的第二信號肽。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一個選自由

CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及 $\zeta\zeta$ 組成之群的TCR相關信號傳導模組。在一些實施例中，TCRM促進abTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，在第一抗原結合域與第一TCRD之間存在第一肽連接子及/或在第二抗原結合域與第二TCRD之間存在第二肽連接子。在一些實施例中，第一及第二多肽鏈諸如藉由共價鍵(例如，肽鍵或其他化學鍵)或非共價鍵連接。在一些實施例中，第一多肽鏈及第二多肽鏈經由以下連接：a)在第一TCRD之連接肽中之殘基與第二TCRD之連接肽中之殘基之間的二硫鍵；及/或b)在第一抗原結合域中之C_H1抗體域中之殘基與第二抗原結合域中之C_L抗體域中之殘基之間的二硫鍵。在一些實施例中，靶抗原為細胞表面抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原係選自由蛋白質、碳水化合物及脂質組成之群。在一些實施例中，細胞表面抗原為疾病相關抗原，諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原為CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPCR5D或FCRL5。在一些實施例中，靶抗原為表面呈遞肽/MHC複合體。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含源自疾病相關抗原(諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原)之肽及MHC蛋白質。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含肽及MHC蛋白質，其中該肽源自選自由WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA組成之群的蛋白質。在一些實施例中，MHC蛋白質為MHC I類蛋白質。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A。在一些實施例中，HLA-A為HLA-A02。在一些實施例中，HLA-A02為HLA-A*02:01。

在一些實施例中，提供一種特異性識別靶抗原之abTCR，其包含a)第一多肽鏈，第一多肽鏈包含第一抗原結合域及第一TCRD，第一抗原結合域包含V_H及C_H1抗體域，第一TCRD包含TCR γ 鏈之跨膜域；及b)第二

多肽鏈，第二多肽鏈包含第二抗原結合域及第二TCRD，第二抗原結合域包含 V_L 及 C_L 抗體域，第二TCRD包含TCR δ 鏈之跨膜域，其中第一抗原結合域之 V_H 及 C_H1 域與第二抗原結合域之 V_L 及 C_L 域形成特異性結合靶抗原之Fab樣抗原結合模組，其中第一TCRD與第二TCRD形成能夠募集至少一個TCR相關信號傳導模組之TCRM。在一些實施例中，Fab樣抗原結合模組為人類、人類化、嵌合、半合成或全合成的。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含TCR γ 鏈之連接肽或其片段及/或第二TCRD進一步包含TCR δ 鏈之連接肽或其片段。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含TCR γ 鏈之細胞外域之一部分及/或第二TCRD進一步包含TCR δ 鏈之細胞外域之一部分。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR細胞內域及/或第二TCRD進一步包含第二TCR細胞內域。在一些實施例中，第一TCR細胞內域包含來自TCR γ 鏈之細胞內域之序列及/或第二TCR細胞內域包含來自TCR δ 鏈之細胞內域之序列。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含T細胞共刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)及/或抗原決定基標籤(諸如HA、FLAG或myc)。在一些實施例中，abTCR進一步包含在第一抗原結合域之胺基端的第一信號肽及/或在第二抗原結合域之胺基端的第二信號肽。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一個選自由CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及 $\zeta\zeta$ 組成之群的TCR相關信號傳導模組。在一些實施例中，TCRM促進abTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，在第一抗原結合域與第一TCRD之間存在第一肽連接子及/或在第二抗原結合域與第二TCRD之間存在第二肽連接子。在一些實施例中，第一及第二多肽鏈諸如藉由共價鍵(例如，肽鍵或其他化學鍵)或非共價鍵連接。在一些實施例

中，第一多肽鏈及第二多肽鏈經由以下連接：a)在第一TCRD之連接肽中之殘基與第二TCRD之連接肽中之殘基之間的二硫鍵；及/或b)在第一抗原結合域中之C_H1抗體域中之殘基與第二抗原結合域中之C_L抗體域中之殘基之間的二硫鍵。在一些實施例中，靶抗原為細胞表面抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原係選自由蛋白質、碳水化合物及脂質組成之群。在一些實施例中，細胞表面抗原為疾病相關抗原，諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原為CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPCR5D或FCRL5。在一些實施例中，靶抗原為表面呈遞肽/MHC複合體。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含源自疾病相關抗原(諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原)之肽及MHC蛋白質。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含肽及MHC蛋白質，其中該肽源自選自由WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA組成之群的蛋白質。在一些實施例中，MHC蛋白質為MHC I類蛋白質。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A。在一些實施例中，HLA-A為HLA-A02。在一些實施例中，HLA-A02為HLA-A*02:01。

在一些實施例中，提供一種特異性識別靶抗原之abTCR，其包含a)第一多肽鏈，第一多肽鏈包含第一抗原結合域及第一TCRD，第一抗原結合域包含V_H及C_H1抗體域，第一TCRD包含TCR δ鏈之跨膜域；及b)第二多肽鏈，第二多肽鏈包含第二抗原結合域及第二TCRD，第二抗原結合域包含V_L及C_L抗體域，第二TCRD包含TCR γ鏈之跨膜域，其中第一抗原結合域之V_H及C_H1域與第二抗原結合域之V_L及C_L域形成特異性結合靶抗原之Fab樣抗原結合模組，其中第一TCRD與第二TCRD形成能夠募集至少一個TCR相關信號傳導模組之TCRM。在一些實施例中，Fab樣抗原結合模

組為人類、人類化、嵌合、半合成或全合成的。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含TCR δ 鏈之連接肽或其片段及/或第二TCRD進一步包含TCR γ 鏈之連接肽或其片段。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含TCR δ 鏈之細胞外域之一部分及/或第二TCRD進一步包含TCR γ 鏈之細胞外域之一部分。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR細胞內域及/或第二TCRD進一步包含第二TCR細胞內域。在一些實施例中，第一TCR細胞內域包含來自TCR δ 鏈之細胞內域之序列及/或第二TCR細胞內域包含來自TCR γ 鏈之細胞內域之序列。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含T細胞共刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)及/或抗原決定基標籤(諸如HA、FLAG或myc)。在一些實施例中，abTCR進一步包含在第一抗原結合域之胺基端的第一信號肽及/或在第二抗原結合域之胺基端的第二信號肽。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一個選自由CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及 $\zeta\zeta$ 組成之群的TCR相關信號傳導模組。在一些實施例中，TCRM促進abTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，在第一抗原結合域與第一TCRD之間存在第一肽連接子及/或在第二抗原結合域與第二TCRD之間存在第二肽連接子。在一些實施例中，第一及第二多肽鏈諸如藉由共價鍵(例如，肽鍵或其他化學鍵)或非共價鍵連接。在一些實施例中，第一多肽鏈及第二多肽鏈經由以下連接：a)在第一TCRD之連接肽中之殘基與第二TCRD之連接肽中之殘基之間的二硫鍵；及/或b)在第一抗原結合域中之C_H1抗體域中之殘基與第二抗原結合域中之C_L抗體域中之殘基之間的二硫鍵。在一些實施例中，靶抗原為細胞表面抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原係選自由蛋白質、碳水化合物及脂質組成之群。在一些

實施例中，細胞表面抗原為疾病相關抗原，諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原為CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPCR5D或FCRL5。在一些實施例中，靶抗原為表面呈遞肽/MHC複合體。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含源自疾病相關抗原(諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原)之肽及MHC蛋白質。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含肽及MHC蛋白質，其中該肽源自選自由WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA組成之群的蛋白質。在一些實施例中，MHC蛋白質為MHC I類蛋白質。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A。在一些實施例中，HLA-A為HLA-A02。在一些實施例中，HLA-A02為HLA-A*02:01。

在一些實施例中，提供一種特異性識別靶抗原之abTCR，其包含：

a)第一多肽鏈，第一多肽鏈包含第一抗原結合域及第一TCRD，第一抗原結合域包含V_H及C_H1抗體域，第一TCRD包含含有(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 1-4中之任一者之胺基酸序列的跨膜域；及b)第二多肽鏈，第二多肽鏈包含第二抗原結合域及第二TCRD，第二抗原結合域包含V_L及C_L抗體域，第二TCRD包含含有(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 1-4中之任一者之胺基酸序列的跨膜域，其中第一抗原結合域之V_H及C_H1域與第二抗原結合域之V_L及C_L域形成特異性結合靶抗原之Fab樣抗原結合模組，其中第一TCRD與第二TCRD形成能夠募集至少一個TCR相關信號傳導模組之TCRM。在一些實施例中，Fab樣抗原結合模組為人類、人類化、嵌合、半合成或全合成的。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR次單元之第一連接肽或其片段及/或第二TCRD進一步包含第二TCR次單元之第二連接肽或其片段，其中第一及/或第二連接肽包含(諸如由以下組成)

SEQ ID NO: 5-12中之任一者之胺基酸序列。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR細胞內域及/或第二TCRD進一步包含第二TCR細胞內域，其中第一及/或第二TCR細胞內域包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 13-14中之任一者之胺基酸序列。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含a)至少一個包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 70或71之胺基酸序列的T細胞共刺激信號傳導序列；及/或b)包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 50-52中之任一者之胺基酸序列的抗原決定基標籤。在一些實施例中，abTCR進一步包含在第一抗原結合域之胺基端的第一信號肽及/或在第二抗原結合域之胺基端的第二信號肽，其中第一及/或第二信號肽包含SEQ ID NO: 49之胺基酸序列。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一個選自由CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及 $\zeta\zeta$ 組成之群的TCR相關信號傳導模組。在一些實施例中，TCRM促進abTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，在第一抗原結合域與第一TCRD之間存在第一肽連接子及/或在第二抗原結合域與第二TCRD之間存在第二肽連接子。在一些實施例中，第一及第二多肽鏈諸如藉由共價鍵(例如，肽鍵或其他化學鍵)或非共價鍵連接。在一些實施例中，第一多肽鏈及第二多肽鏈經由以下連接：a)在第一TCRD之連接肽中之殘基與第二TCRD之連接肽中之殘基之間的二硫鍵；及/或b)在第一抗原結合域中之C_H1抗體域中之殘基與第二抗原結合域中之C_L抗體域中之殘基之間的二硫鍵。在一些實施例中，靶抗原為細胞表面抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原係選自由蛋白質、碳水化合物及脂質組成之群。在一些實施例中，細胞表面抗原為疾病相關抗原，諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原為CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPC5D或FCRL5。在一些實施例中，

靶抗原為表面呈遞肽/MHC複合體。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含源自疾病相關抗原(諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原)之肽及MHC蛋白質。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含肽及MHC蛋白質，其中該肽源自選自由WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA組成之群的蛋白質。在一些實施例中，MHC蛋白質為MHC I類蛋白質。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A。在一些實施例中，HLA-A為HLA-A02。在一些實施例中，HLA-A02為HLA-A*02:01。

在一些實施例中，提供一種特異性識別靶抗原之abTCR，其包含：

a)第一多肽鏈，第一多肽鏈包含第一抗原結合域及第一TCRD，第一抗原結合域包含V_H抗體域，第一TCRD包含含有(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 1-4中之任一者之胺基酸序列的跨膜域；及b)第二多肽鏈，第二多肽鏈包含第二抗原結合域及第二TCRD，第二抗原結合域包含V_L抗體域，第二TCRD包含含有(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 1-4中之任一者之胺基酸序列的跨膜域，其中第一抗原結合域之V_H域與第二抗原結合域之V_L域形成特異性結合靶抗原之Fv樣抗原結合模組，其中第一TCRD與第二TCRD形成能夠募集至少一個TCR相關信號傳導模組之TCRM，且其中靶抗原為肽/MHC複合體。在一些實施例中，Fv樣抗原結合模組為人類、人類化、嵌合、半合成或全合成的。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR次單元之第一連接肽或其片段及/或第二TCRD進一步包含第二TCR次單元之第二連接肽或其片段，其中第一及/或第二連接肽包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 5-12中之任一者之胺基酸序列。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR細胞內域及/或第二TCRD進一步包含第二TCR細胞內域，其中第一及/或第二TCR細胞內域包含(諸如由以下組成)

SEQ ID NO: 13-14中之任一者之胺基酸序列。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含a)至少一個包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 70或71之胺基酸序列的T細胞共刺激信號傳導序列；及/或b)包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 50-52中之任一者之胺基酸序列的抗原決定基標籤。在一些實施例中，abTCR進一步包含在第一抗原結合域之胺基端的第一信號肽及/或在第二抗原結合域之胺基端的第二信號肽，其中第一及/或第二信號肽包含SEQ ID NO: 49之胺基酸序列。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一個選自由CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及 $\zeta\zeta$ 組成之群的TCR相關信號傳導模組。在一些實施例中，TCRM促進abTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，在第一抗原結合域與第一TCRD之間存在第一肽連接子及/或在第二抗原結合域與第二TCRD之間存在第二肽連接子。在一些實施例中，第一及第二肽連接子能夠彼此結合。在一些實施例中，第一及/或第二肽連接子源自免疫球蛋白重鏈及/或輕鏈恆定區。在一些實施例中，第一及/或第二肽連接子源自TCR次單元恆定區。舉例而言，在一些實施例中，第一及/或第二肽連接子源自a) TCR α 及 β 次單元恆定域；或b) TCR γ 及 δ 次單元恆定域。在一些實施例中，第一及/或第二肽連接子為合成的。在一些實施例中，第一及第二多肽鏈諸如藉由共價鍵(例如，肽鍵或其他化學鍵)或非共價鍵連接。在一些實施例中，第一多肽鏈及第二多肽鏈經由以下連接：a)在第一TCRD之連接肽中之殘基與第二TCRD之連接肽中之殘基之間的二硫鍵；及/或b)在第一肽連接子中之殘基與第二肽連接子中之殘基之間的二硫鍵。在一些實施例中，第一及/或第二肽連接子為相比於獲得其之序列而言包含一或多個修飾(例如，胺基酸取代、插入及/或缺失)的變異體。在一些實施例中，第一及/或第二肽連接

子包含一或多個基本上不改變其彼此之間的結合親和力的修飾。在一些實施例中，第一及/或第二肽連接子包含一或多個增加其彼此之間的結合親和力及/或引入非天然存在之二硫鍵的修飾。在一些實施例中，靶抗原肽/MHC複合體包含源自疾病相關抗原(諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原)之肽及MHC蛋白質。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含肽及MHC蛋白質，其中該肽源自選自由WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA組成之群的蛋白質。在一些實施例中，MHC蛋白質為MHC I類蛋白質。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A。在一些實施例中，HLA-A為HLA-A02。在一些實施例中，HLA-A02為HLA-A*02:01。

在一些實施例中，提供一種特異性識別靶抗原之abTCR，其包含a)第一多肽鏈，第一多肽鏈自胺基端至羧基端依次包含第一抗原結合域及第一TCRD，第一抗原結合域包含 V_H 及 C_H1 抗體域，第一TCRD包含含有(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 5-12中之任一者之胺基酸序列的連接肽及包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 1-4中之任一者之胺基酸序列的跨膜域；及b)第二多肽鏈，第二多肽鏈自胺基端至羧基端依次包含第二抗原結合域及第二TCRD，第二抗原結合域包含 V_L 及 C_L 抗體域，第二TCRD包含含有(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 5-12中之任一者之胺基酸序列的連接肽及包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 1-4中之任一者之胺基酸序列的跨膜域；其中第一抗原結合域之 V_H 及 C_H1 域與第二抗原結合域之 V_L 及 C_L 域形成特異性結合靶抗原之Fab樣抗原結合模組，其中第一TCRD與第二TCRD形成能夠募集至少一個TCR相關信號傳導模組之TCRM。在一些實施例中，Fab樣抗原結合模組為人類、人類化、嵌合、半合成或全合成

的。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR細胞內域及/或第二TCRD進一步包含第二TCR細胞內域，其中第一及/或第二TCR細胞內域包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 13-14中之任一者之胺基酸序列。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含至少一個包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 70或71之胺基酸序列的T細胞共刺激信號傳導序列；及/或b)包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 50-52中之任一者之胺基酸序列的抗原決定基標籤。在一些實施例中，abTCR進一步包含在第一抗原結合域之胺基端的第一信號肽及/或在第二抗原結合域之胺基端的第二信號肽，其中第一及/或第二信號肽包含SEQ ID NO: 49之胺基酸序列。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一個選自由CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及 $\zeta\zeta$ 組成之群的TCR相關信號傳導模組。在一些實施例中，TCRM促進abTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，第一多肽鏈及第二多肽鏈經由以下連接：a)在第一TCRD之連接肽中之殘基與第二TCRD之連接肽中之殘基之間的二硫鍵；及/或b)在第一抗原結合域中之C_H1抗體域中之殘基與第二抗原結合域中之C_L抗體域中之殘基之間的二硫鍵。在一些實施例中，靶抗原為細胞表面抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原係選自由蛋白質、碳水化合物及脂質組成之群。在一些實施例中，細胞表面抗原為疾病相關抗原，諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原為CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPCR5D或FCRL5。在一些實施例中，靶抗原為表面呈遞肽/MHC複合體。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含源自疾病相關抗原(諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原)之肽及MHC蛋白質。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含肽及MHC蛋白質，其中該肽源自選自由WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-

LMP2A、HIV-1及PSA組成之群的蛋白質。在一些實施例中，MHC蛋白質為MHC I類蛋白質。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A。在一些實施例中，HLA-A為HLA-A02。在一些實施例中，HLA-A02為HLA-A*02:01。

在一些實施例中，提供一種特異性識別靶抗原之abTCR，其包含a) 第一多肽鏈，第一多肽鏈自胺基端至羧基端依次包含第一抗原結合域及第一TCRD，第一抗原結合域包含V_H抗體域，第一TCRD包含含有(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 5-12中之任一者之胺基酸序列的連接肽及包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 1-4中之任一者之胺基酸序列的跨膜域；及b) 第二多肽鏈，第二多肽鏈自胺基端至羧基端依次包含第二抗原結合域及第二TCRD，第二抗原結合域包含V_L抗體域，第二TCRD包含含有(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 5-12中之任一者之胺基酸序列的連接肽及包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 1-4中之任一者之胺基酸序列的跨膜域；其中第一抗原結合域之V_H域與第二抗原結合域之V_L域形成特異性結合靶抗原之Fv樣抗原結合模組，其中第一TCRD與第二TCRD形成能夠募集至少一個TCR相關信號傳導模組之TCRM，且其中靶抗原為肽/MHC複合體。在一些實施例中，Fv樣抗原結合模組為人類、人類化、嵌合、半合成或全合成的。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR次單元之第一連接肽或其片段及/或第二TCRD進一步包含第二TCR次單元之第二連接肽或其片段，其中第一及/或第二連接肽包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 5-12中之任一者之胺基酸序列。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR細胞內域及/或第二TCRD進一步包含第二TCR細胞內域，其中第一及/或第二TCR細胞內域包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 13-14中之任

一者之胺基酸序列。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含a)至少一個包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 70或71之胺基酸序列的T細胞共刺激信號傳導序列；及/或b)包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 50-52中之任一者之胺基酸序列的抗原決定基標籤。在一些實施例中，abTCR進一步包含在第一抗原結合域之胺基端的第一信號肽及/或在第二抗原結合域之胺基端的第二信號肽，其中第一及/或第二信號肽包含SEQ ID NO: 49之胺基酸序列。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一個選自由CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及 $\zeta\zeta$ 組成之群的TCR相關信號傳導模組。在一些實施例中，TCRM促進abTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，在第一抗原結合域與第一TCRD之間存在第一肽連接子及/或在第二抗原結合域與第二TCRD之間存在第二肽連接子。在一些實施例中，第一及第二肽連接子能夠彼此結合。在一些實施例中，第一及/或第二肽連接子源自免疫球蛋白重鏈及/或輕鏈恆定區。在一些實施例中，第一及/或第二肽連接子源自TCR次單元恆定區。舉例而言，在一些實施例中，第一及/或第二肽連接子源自a) TCR α 及 β 次單元恆定域；或b) TCR γ 及 δ 次單元恆定域。在一些實施例中，第一及/或第二肽連接子為合成的。在一些實施例中，第一及第二多肽鏈諸如藉由共價鍵(例如，肽鍵或其他化學鍵)或非共價鍵連接。在一些實施例中，第一多肽鏈及第二多肽鏈經由以下連接：a) 在第一TCRD之連接肽中之殘基與第二TCRD之連接肽中之殘基之間的二硫鍵；及/或b)在第一肽連接子中之殘基與第二肽連接子中之殘基之間的二硫鍵。在一些實施例中，第一及/或第二肽連接子為相比於獲得其之序列而言包含一或多個修飾(例如，胺基酸取代、插入及/或缺失)的變異體。在一些實施例中，第一及/或第二肽連接子包含一或多個基本上不改變其

彼此之間的結合親和力的修飾。在一些實施例中，第一及/或第二肽鏈接子包含一或多個增加其彼此之間的結合親和力及/或引入非天然存在之二硫鍵的修飾。在一些實施例中，靶抗原肽/MHC複合體包含源自疾病相關抗原(諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原)之肽及MHC蛋白質。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含肽及MHC蛋白質，其中該肽源自選自由WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA組成之群的蛋白質。在一些實施例中，MHC蛋白質為MHC I類蛋白質。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A。在一些實施例中，HLA-A為HLA-A02。在一些實施例中，HLA-A02為HLA-A*02:01。

在一些實施例中，提供一種特異性識別靶抗原之abTCR，其包含a)第一多肽鏈，第一多肽鏈自胺基端至羧基端依次包含第一抗原結合域及第一TCRD，第一TCRD包含SEQ ID NO: 15之胺基酸序列；及b)第二多肽鏈，第二多肽鏈自胺基端至羧基端依次包含第二抗原結合域及第二TCRD，第二TCRD包含SEQ ID NO: 16之胺基酸序列；其中第一抗原結合域與第二抗原結合域形成特異性結合靶抗原之Fab樣抗原結合模組，其中第一TCRD與第二TCRD形成能夠募集至少一個TCR相關信號傳導模組之TCRM。在一些實施例中，Fab樣抗原結合模組為人類、人類化、嵌合、半合成或全合成的。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含a)至少一個包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 70或71之胺基酸序列的T細胞共刺激信號傳導序列；及/或b)包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 50-52中之任一者之胺基酸序列的抗原決定基標籤。在一些實施例中，abTCR進一步包含在第一抗原結合域之胺基端的第一信號肽及/或在第二抗原結合域之胺基端的第二信號肽，其中第一及/或第二信

號肽包含SEQ ID NO: 49之胺基酸序列。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一個選自由CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及 $\zeta\zeta$ 組成之群的TCR相關信號傳導模組。在一些實施例中，TCRM促進abTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，第一多肽鏈及第二多肽鏈經由以下連接：a)在第一TCRD之連接肽中之殘基與第二TCRD之連接肽中之殘基之間的二硫鍵；及/或b)在Fab樣抗原結合模組中之C_H1及C_L抗體域中之殘基之間的二硫鍵。在一些實施例中，靶抗原為細胞表面抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原係選自由蛋白質、碳水化合物及脂質組成之群。在一些實施例中，細胞表面抗原為疾病相關抗原，諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原為CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPC5D或FCRL5。在一些實施例中，靶抗原為表面呈遞肽/MHC複合體。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含源自疾病相關抗原(諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原)之肽及MHC蛋白質。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含肽及MHC蛋白質，其中該肽源自選自由WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA組成之群的蛋白質。在一些實施例中，MHC蛋白質為MHC I類蛋白質。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A。在一些實施例中，HLA-A為HLA-A02。在一些實施例中，HLA-A02為HLA-A*02:01。

在一些實施例中，提供一種特異性識別靶抗原之abTCR，其包含a)第一多肽鏈，第一多肽鏈自胺基端至羧基端依次包含第一抗原結合域及第一TCRD，第一TCRD包含SEQ ID NO: 17之胺基酸序列；及b)第二多肽鏈，第二多肽鏈自胺基端至羧基端依次包含第二抗原結合域及第二TCRD，第二TCRD包含SEQ ID NO: 18之胺基酸序列；其中第一抗原結

合域與第二抗原結合域形成特異性結合靶抗原之Fab樣抗原結合模組，其中第一TCRD與第二TCRD形成能夠募集至少一個TCR相關信號傳導模組之TCRM。在一些實施例中，Fab樣抗原結合模組為人類、人類化、嵌合、半合成或全合成的。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含a)至少一個包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 70或71之胺基酸序列的T細胞共刺激信號傳導序列；及/或b)包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 50-52中之任一者之胺基酸序列的抗原決定基標籤。在一些實施例中，abTCR進一步包含在第一抗原結合域之胺基端的第一信號肽及/或在第二抗原結合域之胺基端的第二信號肽，其中第一及/或第二信號肽包含SEQ ID NO: 49之胺基酸序列。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一個選自由CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及 $\zeta\zeta$ 組成之群的TCR相關信號傳導模組。在一些實施例中，TCRM促進abTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，第一多肽鏈及第二多肽鏈經由以下連接：a)在第一TCRD之連接肽中之殘基與第二TCRD之連接肽中之殘基之間的二硫鍵；及/或b)在Fab樣抗原結合模組中之C_H1及C_L抗體域中之殘基之間的二硫鍵。在一些實施例中，靶抗原為細胞表面抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原係選自由蛋白質、碳水化合物及脂質組成之群。在一些實施例中，細胞表面抗原為疾病相關抗原，諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原為CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPC5D或FCRL5。在一些實施例中，靶抗原為表面呈遞肽/MHC複合體。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含源自疾病相關抗原(諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原)之肽及MHC蛋白質。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含肽及MHC蛋白質，其中該肽源自選自由WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-

LMP2A、HIV-1及PSA組成之群的蛋白質。在一些實施例中，MHC蛋白質為MHC I類蛋白質。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A。在一些實施例中，HLA-A為HLA-A02。在一些實施例中，HLA-A02為HLA-A*02:01。

在一些實施例中，提供一種特異性識別靶抗原之abTCR，其包含a)第一多肽鏈，第一多肽鏈自胺基端至羧基端依次包含第一抗原結合域及第一TCRD，第一TCRD包含SEQ ID NO: 19之胺基酸序列；及b)第二多肽鏈，第二多肽鏈自胺基端至羧基端依次包含第二抗原結合域及第二TCRD，第二TCRD包含SEQ ID NO: 20之胺基酸序列；其中第一抗原結合域與第二抗原結合域形成特異性結合靶抗原之Fab樣抗原結合模組，其中第一TCRD與第二TCRD形成能夠募集至少一個TCR相關信號傳導模組之TCRM。在一些實施例中，Fab樣抗原結合模組為人類、人類化、嵌合、半合成或全合成的。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含a)至少一個包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 70或71之胺基酸序列的T細胞共刺激信號傳導序列；及/或b)包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 50-52中之任一者之胺基酸序列的抗原決定基標籤。在一些實施例中，abTCR進一步包含在第一抗原結合域之胺基端的第一信號肽及/或在第二抗原結合域之胺基端的第二信號肽，其中第一及/或第二信號肽包含SEQ ID NO: 49之胺基酸序列。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一個選自由CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及 $\zeta\zeta$ 組成之群的TCR相關信號傳導模組。在一些實施例中，TCRM促進abTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，第一多肽鏈及第二多肽鏈經由以下連接：a)在第一TCRD之連接肽中之殘基與第二TCRD之連接肽中之殘基之間的二硫鍵；及/或b)在Fab樣

抗原結合模組中之 C_H1 及 C_L 抗體域中之殘基之間的二硫鍵。在一些實施例中，靶抗原為細胞表面抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原係選自由蛋白質、碳水化合物及脂質組成之群。在一些實施例中，細胞表面抗原為疾病相關抗原，諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原為CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPRC5D或FCRL5。在一些實施例中，靶抗原為表面呈遞肽/MHC複合體。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含源自疾病相關抗原(諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原)之肽及MHC蛋白質。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含肽及MHC蛋白質，其中該肽源自選自由WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA組成之群的蛋白質。在一些實施例中，MHC蛋白質為MHC I類蛋白質。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A。在一些實施例中，HLA-A為HLA-A02。在一些實施例中，HLA-A02為HLA-A*02:01。

在一些實施例中，提供一種特異性識別靶抗原之abTCR，其包含a)第一多肽鏈，第一多肽鏈自胺基端至羧基端依次包含第一抗原結合域及第一TCRD，第一TCRD包含SEQ ID NO: 21之胺基酸序列；及b)第二多肽鏈，第二多肽鏈自胺基端至羧基端依次包含第二抗原結合域及第二TCRD，第二TCRD包含SEQ ID NO: 22之胺基酸序列；其中第一抗原結合域與第二抗原結合域形成特異性結合靶抗原之Fab樣抗原結合模組，其中第一TCRD與第二TCRD形成能夠募集至少一個TCR相關信號傳導模組之TCRM。在一些實施例中，Fab樣抗原結合模組為人類、人類化、嵌合、半合成或全合成的。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含a)至少一個包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 70或

71之胺基酸序列的T細胞共刺激信號傳導序列；及/或b)包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 50-52中之任一者之胺基酸序列的抗原決定基標籤。在一些實施例中，abTCR進一步包含在第一抗原結合域之胺基端的第一信號肽及/或在第二抗原結合域之胺基端的第二信號肽，其中第一及/或第二信號肽包含SEQ ID NO: 49之胺基酸序列。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一個選自由CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及 $\zeta\zeta$ 組成之群的TCR相關信號傳導模組。在一些實施例中，TCRM促進abTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，第一多肽鏈及第二多肽鏈經由以下連接：a)在第一TCRD之連接肽中之殘基與第二TCRD之連接肽中之殘基之間的二硫鍵；及/或b)在Fab樣抗原結合模組中之C_H1及C_L抗體域中之殘基之間的二硫鍵。在一些實施例中，靶抗原為細胞表面抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原係選自由蛋白質、碳水化合物及脂質組成之群。在一些實施例中，細胞表面抗原為疾病相關抗原，諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原為CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPCR5D或FCRL5。在一些實施例中，靶抗原為表面呈遞肽/MHC複合體。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含源自疾病相關抗原(諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原)之肽及MHC蛋白質。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含肽及MHC蛋白質，其中該肽源自選自由WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA組成之群的蛋白質。在一些實施例中，MHC蛋白質為MHC I類蛋白質。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A。在一些實施例中，HLA-A為HLA-A02。在一些實施例中，HLA-A02為HLA-A*02:01。

在一些實施例中，提供一種特異性識別包含AFP肽及MHC I蛋白質

之複合體的abTCR，其包含a)第一多肽鏈，第一多肽鏈包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO: 23之胺基酸序列；及b)第二多肽鏈，第二多肽鏈包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO: 24之胺基酸序列。在一些實施例中，第一多肽鏈及第二多肽鏈經由一或多個二硫鍵連接。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含T細胞共刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)及/或抗原決定基標籤(諸如HA、FLAG或myc)。在一些實施例中，抗原決定基標籤包含SEQ ID NO: 50-52之胺基酸序列中之任一者。在一些實施例中，第一多肽鏈進一步包含在第一abTCR域之胺基端的第一信號肽及/或第二多肽鏈進一步包含在第二abTCR域之胺基端的第二信號肽。在一些實施例中，第一及/或第二信號肽包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 49之胺基酸序列。

在一些實施例中，提供一種特異性識別包含AFP肽及MHC I蛋白質之複合體的abTCR，其包含a)第一多肽鏈，第一多肽鏈包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO: 25之胺基酸序列；及b)第二多肽鏈，第二多肽鏈包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO: 26之胺基酸序列。在一些實施例中，第一多肽鏈及第二多肽鏈經由一或多個二硫鍵連接。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含T細胞共刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)及/或抗原決定基標籤(諸如HA、FLAG或myc)。在一些實施例中，抗原決定基標籤包含SEQ ID NO: 50-52之胺基酸序列中之任一者。在一些實施例中，第一多肽鏈進一步包含在第一abTCR域之胺基端的第一信號肽及/或第二多肽鏈進一步包含在第二abTCR域之胺基端

的第二信號肽。在一些實施例中，第一及/或第二信號肽包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 49之胺基酸序列。

在一些實施例中，提供一種特異性識別包含AFP肽及MHC I蛋白質之複合體的abTCR，其包含a)第一多肽鏈，第一多肽鏈包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO: 27之胺基酸序列；及b)第二多肽鏈，第二多肽鏈包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO: 28之胺基酸序列。在一些實施例中，第一多肽鏈及第二多肽鏈經由一或多個二硫鍵連接。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含T細胞共刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)及/或抗原決定基標籤(諸如HA、FLAG或myc)。在一些實施例中，抗原決定基標籤包含SEQ ID NO: 50-52之胺基酸序列中之任一者。在一些實施例中，第一多肽鏈進一步包含在第一abTCR域之胺基端的第一信號肽及/或第二多肽鏈進一步包含在第二abTCR域之胺基端的第二信號肽。在一些實施例中，第一及/或第二信號肽包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 49之胺基酸序列。

在一些實施例中，提供一種特異性識別包含AFP肽及MHC I蛋白質之複合體的abTCR，其包含a)第一多肽鏈，第一多肽鏈包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO: 29之胺基酸序列；及b)第二多肽鏈，第二多肽鏈包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO: 30之胺基酸序列。在一些實施例中，第一多肽鏈及第二多肽鏈經由一或多個二硫鍵連接。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含T細胞共刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)及/或抗原決定基標籤(諸如HA、FLAG或myc)。在

一些實施例中，抗原決定基標籤包含SEQ ID NO: 50-52之胺基酸序列中之任一者。在一些實施例中，第一多肽鏈進一步包含在第一abTCR域之胺基端的第一信號肽及/或第二多肽鏈進一步包含在第二abTCR域之胺基端的第二信號肽。在一些實施例中，第一及/或第二信號肽包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 49之胺基酸序列。

在一些實施例中，提供一種特異性識別包含AFP肽及MHC I蛋白質之複合體的abTCR，其包含a)第一多肽鏈，第一多肽鏈包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO: 31之胺基酸序列；及b)第二多肽鏈，第二多肽鏈包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO: 32之胺基酸序列。在一些實施例中，第一多肽鏈及第二多肽鏈經由一或多個二硫鍵連接。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含T細胞共刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)及/或抗原決定基標籤(諸如HA、FLAG或myc)。在一些實施例中，抗原決定基標籤包含SEQ ID NO: 50-52之胺基酸序列中之任一者。在一些實施例中，第一多肽鏈進一步包含在第一abTCR域之胺基端的第一信號肽及/或第二多肽鏈進一步包含在第二abTCR域之胺基端的第二信號肽。在一些實施例中，第一及/或第二信號肽包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 49之胺基酸序列。

在一些實施例中，提供一種特異性識別包含AFP肽及MHC I蛋白質之複合體的abTCR，其包含a)第一多肽鏈，第一多肽鏈包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO: 33之胺基酸序列；及b)第二多肽鏈，第二多肽鏈包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO: 34之胺基酸序列。在一些實施例中，第一多肽鏈及第二多肽鏈經由一或多個二硫鍵

連接。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含T細胞共刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)及/或抗原決定基標籤(諸如HA、FLAG或myc)。在一些實施例中，抗原決定基標籤包含SEQ ID NO: 50-52之胺基酸序列中之任一者。在一些實施例中，第一多肽鏈進一步包含在第一abTCR域之胺基端的第一信號肽及/或第二多肽鏈進一步包含在第二abTCR域之胺基端的第二信號肽。在一些實施例中，第一及/或第二信號肽包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 49之胺基酸序列。

在一些實施例中，提供一種特異性識別包含AFP肽及MHC I蛋白質之複合體的abTCR，其包含a)第一多肽鏈，第一多肽鏈包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO: 35之胺基酸序列；及b)第二多肽鏈，第二多肽鏈包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO: 36之胺基酸序列。在一些實施例中，第一多肽鏈及第二多肽鏈經由一或多個二硫鍵連接。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含T細胞共刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)及/或抗原決定基標籤(諸如HA、FLAG或myc)。在一些實施例中，抗原決定基標籤包含SEQ ID NO: 50-52之胺基酸序列中之任一者。在一些實施例中，第一多肽鏈進一步包含在第一abTCR域之胺基端的第一信號肽及/或第二多肽鏈進一步包含在第二abTCR域之胺基端的第二信號肽。在一些實施例中，第一及/或第二信號肽包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 49之胺基酸序列。

在一些實施例中，提供一種特異性識別包含AFP肽及MHC I蛋白質之複合體的abTCR，其包含抗原結合模組，該抗原結合模組包含V_H抗體

域及V_L抗體域，V_H抗體域包含(且在一些實施例中，由以下組成) SEQ ID NO: 38之胺基酸序列或其具有至少約95% (例如至少約96%、97%、98%或99%中之任一者)序列一致性的變異體，V_L抗體域包含(且在一些實施例中，由以下組成) SEQ ID NO: 40之胺基酸序列或其具有至少約95% (例如至少約96%、97%、98%或99%中之任一者)序列一致性之變異體。

因此，在一些實施例中，提供一種根據以上所述abTCR中之任一者的特異性識別包含AFP肽及MHC I蛋白質之複合體的abTCR，其中Fab樣抗原結合模組之V_H抗體域替換為包含(且在一些實施例中，由以下組成) SEQ ID NO: 38之胺基酸序列的序列或其具有至少約95% (例如至少約96%、97%、98%或99%中之任一者)序列一致性之變異體，且其中Fab樣抗原結合模組之V_L抗體域替換為包含(且在一些實施例中，由以下組成) SEQ ID NO: 40之胺基酸序列的序列或其具有至少約95% (例如至少約96%、97%、98%或99%中之任一者)序列一致性的變異體。

在一些實施例中，提供一種特異性識別CD19之abTCR，其包含a)第一多肽鏈，第一多肽鏈包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO: 42之胺基酸序列；及b)第二多肽鏈，第二多肽鏈包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO: 43之胺基酸序列。在一些實施例中，第一多肽鏈及第二多肽鏈經由一或多個二硫鍵連接。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含T細胞共刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)及/或抗原決定基標籤(諸如HA、FLAG或myc)。在一些實施例中，抗原決定基標籤包含SEQ ID NO: 50-52之胺基酸序列中之任一者。在一些實施例中，第一多肽鏈進一步包含在第一abTCR域之胺基端的第一信號肽及/或第二

多肽鏈進一步包含在第二abTCR域之胺基端的第二信號肽。在一些實施例中，第一及/或第二信號肽包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 49之胺基酸序列。

在一些實施例中，提供一種特異性識別CD19之abTCR，其包含a)第一多肽鏈，第一多肽鏈包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO: 42之胺基酸序列；及b)第二多肽鏈，第二多肽鏈包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO: 54之胺基酸序列。在一些實施例中，第一多肽鏈及第二多肽鏈經由一或多個二硫鍵連接。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含T細胞共刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)及/或抗原決定基標籤(諸如HA、FLAG或myc)。在一些實施例中，抗原決定基標籤包含SEQ ID NO: 50-52之胺基酸序列中之任一者。在一些實施例中，第一多肽鏈進一步包含在第一abTCR域之胺基端的第一信號肽及/或第二多肽鏈進一步包含在第二abTCR域之胺基端的第二信號肽。在一些實施例中，第一及/或第二信號肽包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 49之胺基酸序列。

在一些實施例中，提供一種特異性識別CD19之abTCR，其包含a)第一多肽鏈，第一多肽鏈包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO: 55之胺基酸序列；及b)第二多肽鏈，第二多肽鏈包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO: 54之胺基酸序列。在一些實施例中，第一多肽鏈及第二多肽鏈經由一或多個二硫鍵連接。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含T細胞共刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)及/或抗

原決定基標籤(諸如HA、FLAG或myc)。在一些實施例中，抗原決定基標籤包含SEQ ID NO: 50-52之胺基酸序列中之任一者。在一些實施例中，第一多肽鏈進一步包含在第一abTCR域之胺基端的第一信號肽及/或第二多肽鏈進一步包含在第二abTCR域之胺基端的第二信號肽。在一些實施例中，第一及/或第二信號肽包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 49之胺基酸序列。

在一些實施例中，提供一種特異性識別CD19之abTCR，其包含a)第一多肽鏈，第一多肽鏈包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO: 56之胺基酸序列；及b)第二多肽鏈，第二多肽鏈包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO: 54之胺基酸序列。在一些實施例中，第一多肽鏈及第二多肽鏈經由一或多個二硫鍵連接。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含T細胞共刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)及/或抗原決定基標籤(諸如HA、FLAG或myc)。在一些實施例中，抗原決定基標籤包含SEQ ID NO: 50-52之胺基酸序列中之任一者。在一些實施例中，第一多肽鏈進一步包含在第一abTCR域之胺基端的第一信號肽及/或第二多肽鏈進一步包含在第二abTCR域之胺基端的第二信號肽。在一些實施例中，第一及/或第二信號肽包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 49之胺基酸序列。

在一些實施例中，提供一種根據本文所述實施例中之任一者的特異性識別CD19之abTCR，其包含抗原結合模組，抗原結合模組包含V_H抗體域及V_L抗體域，V_H抗體域包含(且在一些實施例中，由以下組成) SEQ ID NO: 45之胺基酸序列或其具有至少約95% (例如至少約96%、97%、98%

或99%中之任一者)序列一致性之變異體，V_L抗體域包含(且在一些實施例中，由以下組成) SEQ ID NO: 46之胺基酸序列或其具有至少約95% (例如至少約96%、97%、98%或99%中之任一者)序列一致性之變異體。

在一些實施例中，提供一種根據本文所述實施例中之任一者的特異性識別CD19之abTCR，其包含抗原結合模組，抗原結合模組包含V_H抗體域及V_L抗體域，V_H抗體域包含(且在一些實施例中，由以下組成) SEQ ID NO: 45之胺基酸序列或其具有至少約95% (例如至少約96%、97%、98%或99%中之任一者)序列一致性之變異體，V_L抗體域包含(且在一些實施例中，由以下組成) SEQ ID NO: 57之胺基酸序列或其具有至少約95% (例如至少約96%、97%、98%或99%中之任一者)序列一致性之變異體。

在一些實施例中，提供一種根據本文所述實施例中之任一者的特異性識別CD19之abTCR，其包含抗原結合模組，抗原結合模組包含V_H抗體域及V_L抗體域，V_H抗體域包含(且在一些實施例中，由以下組成) SEQ ID NO: 58之胺基酸序列或其具有至少約95% (例如至少約96%、97%、98%或99%中之任一者)序列一致性之變異體，V_L抗體域包含(且在一些實施例中，由以下組成) SEQ ID NO: 57之胺基酸序列或其具有至少約95% (例如至少約96%、97%、98%或99%中之任一者)序列一致性之變異體。

在一些實施例中，提供一種根據本文所述實施例中之任一者的特異性識別CD19之abTCR，其包含抗原結合模組，抗原結合模組包含V_H抗體域及V_L抗體域，V_H抗體域包含(且在一些實施例中，由以下組成) SEQ ID NO: 59之胺基酸序列或其具有至少約95% (例如至少約96%、97%、98%或99%中之任一者)序列一致性之變異體，V_L抗體域包含(且在一些實施例中，由以下組成) SEQ ID NO: 57之胺基酸序列或其具有至少約95% (例如

至少約96%、97%、98%或99%中之任一者)序列一致性之變異體。

在一些實施例中，提供一種根據本文所述實施例中之任一者的特異性識別包含NY-ESO-1 157-165肽及MHC I蛋白質之複合體的abTCR，其包含抗原結合模組，抗原結合模組包含V_H抗體域及V_L抗體域，V_H抗體域包含(且在一些實施例中，由以下組成) SEQ ID NO: 72之胺基酸序列或其具有至少約95% (例如至少約96%、97%、98%或99%中之任一者)序列一致性之變異體，V_L抗體域包含(且在一些實施例中，由以下組成) SEQ ID NO: 73之胺基酸序列或其具有至少約95% (例如至少約96%、97%、98%或99%中之任一者)序列一致性之變異體。

在一些實施例中，提供一種根據本文所述abTCR中之任一者的abTCR，其包含第一抗原結合模組，第一抗原結合模組與第二抗原結合模組競爭結合至靶抗原。在一些實施例中，第一抗原結合模組與第二抗原結合模組結合至相同或大體上相同的抗原決定基。在一些實施例中，第一抗原結合模組與靶抗原之結合使第二抗原結合模組與靶抗原之結合遭到至少約70% (諸如至少約75%、80%、85%、90%、95%、98%或99%中之任一者)之抑制，或反之亦然。在一些實施例中，第一抗原結合模組及第二抗原結合模組交叉競爭結合至靶抗原，亦即第一及第二抗原結合模組各自彼此競爭結合至靶抗原。

在一些實施例中，提供一種根據本文所述abTCR中之任一者的abTCR，其中V_L及V_H域互換，使得第一抗原結合域包含V_L及C_{H1}抗體域且第二抗原結合域包含V_H及C_L抗體域。

在一些實施例中，提供一種複合體，其包含根據本文所述abTCR中之任一者abTCR及至少一個選自由CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及 $\zeta\zeta$ 組成之群的信號傳

導模組。在一些實施例中，複合體包含CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及 $\zeta\zeta$ 中之每一者。因此，在一些實施例中，提供一種包含abTCR、CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及 $\zeta\zeta$ 之複合體。

不同態樣更詳細地論述於下文各部分中。

核酸

亦涵蓋編碼abTCR之核酸分子。在一些實施例中，根據本文所述abTCR中之任一者，提供一種編碼abTCR之核酸(或一組核酸)。

本發明亦提供插入有本發明之核酸的載體。

簡單概括而言，藉由編碼abTCR之核酸表現abTCR可藉由將核酸插入至適當表現載體中，使得核酸可操作地連接於5'及3'調節元件，包括例如啟動子(例如淋巴細胞特異性啟動子)及3'非轉譯區(UTR)而實現。載體可適合於真核宿主細胞中之複製及整合。典型選殖及表現載體含有轉錄及轉譯終止子、起始序列及適用於調節所要核酸序列之表現的啟動子。

本發明之核酸亦可用於使用標準基因傳遞方案的核酸免疫接種及基因療法。基因傳遞方法為此項技術中已知的。參見例如美國專利第5,399,346號、第5,580,859號、第5,589,466號，其以全文引用的方式併入本文中。在一些實施例中，本發明提供基因療法載體。

核酸可選殖至多種類型之載體中。舉例而言，核酸可選殖至載體中，包括(但不限於)質體、噬菌粒、噬菌體衍生物、動物病毒及黏質體。尤其受關注之載體包括表現載體、複製載體、探針產生載體及定序載體。

此外，表現載體可以病毒載體形式提供給細胞。病毒載體技術為此項技術中熟知的且描述於例如Sambrook等人 (2001, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, New York)及其

他病毒學及分子生物學手冊中。適用作載體之病毒包括(但不限於)反轉錄病毒、腺病毒、腺相關病毒、疱疹病毒及慢病毒。一般而言，適合載體含有在至少一種有機體中起作用的複製起點、啟動子序列、方便的限制核酸內切酶位點及一或多種可選標記物（參見例如 WO 01/96584；WO 01/29058；及美國專利第6,326,193號）。

已針對至哺乳動物細胞中之基因轉移開發出多個基於病毒之系統。舉例而言，反轉錄病毒提供基因傳遞系統之適宜平台。所選基因可插入至載體中且使用此項技術中已知之技術封裝於反轉錄病毒粒子中。重組病毒可隨後經分離且活體內或離體傳遞至個體細胞中。此項技術中已知多個反轉錄病毒系統。在一些實施例中，使用腺病毒載體。此項技術中已知多個腺病毒載體。在一些實施例中，使用慢病毒載體。來源於反轉錄病毒(諸如慢病毒)之載體為實現長期基因轉移之適合工具，因為其允許轉殖基因之長期穩定整合及其在子細胞中之傳播。慢病毒載體具有優於來源於致癌反轉錄病毒(諸如鼠類白血病毒)之載體的額外優勢，因為其可轉導非增殖性細胞，諸如肝細胞。其亦具有低免疫原性之額外優勢。

額外啟動子元件(例如，強化子)調節轉錄起始頻率。通常，此等元件定位於起始位點上游30-110 bp區中，儘管多個啟動子最近已顯示含有亦在起始位點下游之功能元件。啟動子元件之間間距通常為靈活的，使得當元件倒置或相對於彼此移動時，啟動子功能保留。在胸苷激酶(tk)啟動子中，啟動子元件之間間距在活性開始減退之前可增加至相隔50 bp。

適合啟動子之一個實例為即刻早期巨細胞病毒(CMV)啟動子序列。此啟動子序列為能夠驅使高程度表現任何可操作地連接至其上之聚核苷酸序列的強組成性啟動子序列。適合啟動子之另一實例為延伸生長因子-1 α

(EF-1 α)。然而，亦可使用其他組成性啟動子序列，包括(但不限於)猴病毒40 (SV40)早期啟動子、小鼠乳房腫瘤病毒(MMTV)、人類免疫缺乏病毒(HIV)長末端重複序列(LTR)啟動子、MoMuLV啟動子、禽類白血病毒啟動子、埃-巴二氏病毒即刻早期啟動子、勞斯肉瘤病毒啟動子(Rous sarcoma virus promoter)，以及人類基因啟動子，諸如(但不限於)肌動蛋白啟動子、肌球蛋白啟動子、血紅蛋白啟動子及肌酸激酶啟動子。

此外，本發明應不限於組成性啟動子之使用。亦涵蓋誘導型啟動子作為本發明之一部分。誘導型啟動子之使用提供分子開關，該分子開關能夠在需要此類表現時打開其可操作地連接之聚核苷酸序列之表現，或在不需要表現時關閉表現。用於真核細胞中之例示性誘導型啟動子系統包括(但不限於)激素調節元件(例如參見Mader, S.及White, J. H. (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:5603-5607)、合成配位體調節元件(參見例如Spencer, D. M.等人 1993) *Science* 262: 1019-1024)及電離輻射調節元件(例如參見Manome, Y.等人 (1993) *Biochemistry* 32: 10607-10613 ; Datta, R.等人 (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89: 1014-10153)。用於活體外或活體內哺乳動物系統中之其他例示性誘導型啟動子系統綜述於Gingrich等人 (1998) *Annual Rev. Neurosci* 21:377-405中。

用於本發明之例示性誘導型啟動子系統為Tet系統。此類系統係基於Gossen等人(1993)所述之Tet系統。在一例示性實施例中，相關聚核苷酸處於包含一或多個Tet操作子(TetO)位點之啟動子的控制下。呈非活性狀態時，Tet抑制子(TetR)將結合至TetO位點且抑制自啟動子轉錄。呈活性狀態時，例如在諸如四環素(Tc)、無水四環素、多西環素(doxycycline ; Dox)或其活性類似物之誘導劑存在下，誘導劑引起TetR自TetO釋放，從

而允許轉錄發生。多西環素為四環素抗生素家族之成員，化學名稱為1-二甲胺基-2,4a,5,7,12-五羥基-11-甲基-4,6-二側氧基-1,4a,11,11a,12,12a-六氫稠四苯-3-甲醯胺。

在一個實施例中，TetR針對在例如鼠類或人類細胞之哺乳動物細胞中之表現進行密碼子最佳化。由於遺傳密碼之簡併性，所以大部分胺基酸係由超過一個密碼子編碼，從而允許指定核酸之核苷酸序列的實質性變異，但由核酸編碼之胺基酸序列無任何改變。然而，多種生物體在密碼子使用方面呈現出差異，亦稱為「密碼子偏好(codon bias)」(亦即，針對指定胺基酸使用特定密碼子之偏好)。密碼子偏好常常與特定密碼子之tRNA的主要種類之存在相關，其又可提高mRNA之轉譯效率。因此，可經由密碼子最佳化來調整源自特定生物體(例如，原核生物)之編碼序列以改良在不同生物體(例如，真核生物)中之表現。

Tet系統之其他特定變化形式包括以下「Tet關」及「Tet開」系統。在Tet關系統中，轉錄在Tc或Dox存在下為不活躍的。在彼系統中，四環素控制的轉活化蛋白(tTA)調節在四環素反應性啟動子元件(TRE)之轉錄控制下的靶核酸之表現，tTA係由與來自單純疱疹病毒之VP16的強轉活化域融合之TetR構成。TRE係由與啟動子(通常為源自人類巨細胞病毒(hCMV)即刻早期啟動子之最小啟動子序列)融合之TetO序列多聯體組成。在不存在Tc或Dox的情況下，tTA結合至TRE且活化靶基因之轉錄。在Tc或Dox存在下，tTA不能結合至TRE，且來自靶基因之表現仍不活躍。

反之，在Tet開系統中，轉錄在Tc或Dox存在下為活躍的。Tet開系統係基於反向四環素控制的轉活化劑rtTA。如同tTA一樣，rtTA亦為由TetR

抑制子及VP16轉活化域構成之融合蛋白。然而，TetR DNA結合部分中之四個胺基酸改變使得rtTA之結合特徵改變，使得其僅可在Dox存在下識別標靶轉殖基因之TRE中之tetO序列。因此，在Tet開系統中，TRE調節之靶基因之轉錄僅在Dox存在下受到rtTA刺激。

另一誘導型啟動子系統為來自大腸桿菌(*E. coli*)之lac抑制子系統。(參見Brown等人, *Cell* 49:603-612 (1987)。lac抑制子系統藉由調節可操作地連接於包含lac操作子(lacO)之啟動子的相關聚核苷酸之轉錄來起作用。lac抑制子(lacR)結合至LacO，從而防止相關聚核苷酸之轉錄。相關聚核苷酸之表現係由適合誘導劑誘導，例如異丙基- β -D-硫代呋喃半乳糖苷(IPTG)。

為評定多肽或其部分之表現，待引入細胞中之表現載體亦可含有可選標記基因或報導基因或兩者以促進自設法經病毒載體轉染或感染之細胞群體鑑別及選擇表現細胞。在其他態樣中，可選標記物可攜載於獨立DNA段上且用於共轉染程序。可選標記物及報導基因均可側接適當調節序列以便能夠在宿主細胞中表現。適用可選標記物包括例如耐抗生素基因，諸如neo及其類似物。

報導基因用於鑑別潛在轉染細胞及評估調節序列功能。一般而言，報導基因為接受生物體或組織中不存在或不表現且編碼表現藉由一些容易偵測之特性(例如酶促活性)顯現之多肽的基因。在DNA已引入受體細胞中之後的適合時間分析報導基因之表現。適合報告基因可包括編碼螢光素酶、 β -半乳糖苷酶、氯黴素乙酰基轉移酶、分泌鹼性磷酸酶或綠色螢光蛋白基因之基因(例如Ui-Tel等人, 2000 *FEBS Letters* 479: 79-82)。適合表現系統為熟知的且可使用已知技術製備或商業購買。一般而言，具有展示

報導基因最高表現量之最小5'側接區的建構物鑑別為啟動子。此類啟動子區域可連接至報導基因且用於評估調變啟動子驅動之轉錄能力的試劑。

在一些實施例中，提供編碼根據本文所述abTCR中之任一者之abTCR的核酸。在一些實施例中，編碼abTCR之核酸包含編碼abTCR之第一多肽鏈的第一核酸序列及編碼abTCR之第二多肽鏈的第二核酸序列。在一些實施例中，第一核酸序列位於第一載體上且第二核酸序列位於第二載體上。在一些實施例中，第一及第二核酸序列位於同一載體上。載體可選自例如由哺乳動物表現載體及病毒載體(諸如源自反轉錄病毒、腺病毒、腺相關病毒、疱疹病毒及慢病毒之彼等載體)組成之群。在一些實施例中，第一核酸序列處於第一啟動子控制下且第二核酸序列處於第二啟動子控制下。在一些實施例中，第一及第二啟動子具有相同序列。在一些實施例中，第一及第二啟動子具有不同序列。在一些實施例中，第一及第二核酸序列表示為在多順反子(諸如雙順反子)載體中在單一啟動子控制下的單一轉錄物。參見例如Kim, JH等人, *PLoS One* 6(4):e18556, 2011。在一些實施例中，第一、第二及/或單一啟動子為誘導型啟動子。在一些實施例中，第一核酸序列在宿主細胞(諸如T細胞)中之表現量與第二核酸序列在宿主細胞中之表現量大致相同。在一些實施例中，第一核酸序列在宿主細胞(諸如T細胞)中之表現量為第二核酸序列在宿主細胞中之表現量的至少約兩(諸如至少約2、3、4、5或更大中之任一者)倍。在一些實施例中，第一核酸序列在宿主細胞(諸如T細胞)中之表現量不超過第二核酸序列在宿主細胞中之表現量的約1/2 (諸如不超過約1/2、1/3、1/4、1/5或更小中之任一者)。可以mRNA或蛋白質含量測定表現。mRNA之表現量可藉由使用各種熟知方法量測自核酸轉錄之mRNA的量來測定，該等方法包括北方

墨點法、定量RT-PCR、微陣列分析及其類似者。蛋白質表現量可藉由已知方法量測，包括免疫細胞化學染色、酶聯免疫吸附分析(ELISA)、西方墨點分析、發光分析、質譜、高效液相層析、高壓液相層析-串聯質譜及其類似者。

因此，在一些實施例中，提供編碼根據本文所述abTCR中之任一者的abTCR的核酸，其包含a)編碼abTCR之第一多肽鏈的第一核酸序列，及b)編碼abTCR之第二多肽鏈的第二核酸序列，其中第一核酸序列位於第一載體(諸如慢病毒載體)上且可操作地連接於第一啟動子，且第二核酸序列位於第二載體(諸如慢病毒載體)上且可操作地連接於第二啟動子。在一些實施例中，第一及第二啟動子具有相同序列。在一些實施例中，第一及第二啟動子具有不同序列。在一些實施例中，第一及/或第二啟動子為誘導型啟動子。在一些實施例中，第一核酸序列在宿主細胞(諸如T細胞)中之表現量與第二核酸序列在宿主細胞中之表現量大致相同。在一些實施例中，第一核酸序列在宿主細胞(諸如T細胞)中之表現量為第二核酸序列在宿主細胞中之表現量的至少約兩(諸如至少約2、3、4、5或更大中之任一者)倍。在一些實施例中，第一核酸序列在宿主細胞(諸如T細胞)中之表現量不超過第二核酸序列在宿主細胞中之表現量的約1/2 (諸如不超過約1/2、1/3、1/4、1/5或更小中之任一者)。在一些實施例中，第一及/或第二載體為病毒載體(諸如慢病毒載體)。

在一些實施例中，提供一種包含編碼根據本文所述abTCR中之任一者的abTCR的核酸的載體(諸如慢病毒載體)，其包含a)第一啟動子，第一啟動子可操作地連接於編碼abTCR之第一多肽鏈之第一核酸序列；及b)第二啟動子，第二啟動子可操作地連接於編碼abTCR之第二多肽鏈之第二核

酸序列。在一些實施例中，第一及第二啟動子具有相同序列。在一些實施例中，第一及第二啟動子具有不同序列。在一些實施例中，第一及/或第二啟動子為誘導型啟動子。在一些實施例中，第一核酸序列在宿主細胞(諸如T細胞)中之表現量與第二核酸序列在宿主細胞中之表現量大致相同。在一些實施例中，第一核酸序列在宿主細胞(諸如T細胞)中之表現量為第二核酸序列在宿主細胞中之表現量的至少約兩(諸如至少約2、3、4、5或更大中之任一者)倍。在一些實施例中，第一核酸序列在宿主細胞(諸如T細胞)中之表現量不超過第二核酸序列在宿主細胞中之表現量的約1/2(諸如不超過約1/2、1/3、1/4、1/5或更小中之任一者)。在一些實施例中，載體為病毒載體(諸如慢病毒載體)。

在一些實施例中，提供一種包含編碼根據本文所述abTCR中之任一者的abTCR的核酸的載體(諸如慢病毒載體)，其包含a)第一核酸序列，第一核酸序列編碼abTCR之第一多肽鏈；及b)第二核酸序列，第二核酸序列編碼abTCR之第二多肽鏈；其中第一及第二核酸序列在單一啟動子的控制下。在一些實施例中，啟動子可操作地連接於第一核酸序列之5'端，且存在選自由內部核糖體進入位點(IRES)及編碼自裂解2A肽(諸如P2A、T2A、E2A或F2A)之核酸組成之群的核酸連接子以將第一核酸序列之3'端連接至第二核酸序列之5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在啟動子控制下轉錄為單一RNA。在一些實施例中，啟動子可操作地連接於第二核酸序列之5'端，且存在選自由內部核糖體進入位點(IRES)及編碼自裂解2A肽(諸如P2A、T2A、E2A或F2A)之核酸組成之群的核酸連接子以將第二核酸序列之3'端連接至第一核酸序列之5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在啟動子控制下轉錄為單一RNA。在一些實施例中，啟動子為

誘導型啟動子。在一些實施例中，載體為病毒載體(諸如慢病毒載體)。

向細胞中引入及表現基因之方法為此項技術中已知的。在表現載體之情況下，載體可易於藉由此項技術中之任何方法引入宿主細胞(例如，哺乳動物、細菌、酵母或昆蟲細胞)中。舉例而言，表現載體可藉由物理、化學或生物方式轉移至宿主細胞中。

用於將聚核苷酸引入至宿主細胞中之物理方法包括磷酸鈣沈澱、脂質體轉染、粒子轟擊、顯微注射、電穿孔及其類似方法。用於製造包含載體及/或外源性核酸之細胞的方法為此項技術中熟知的。參見例如 Sambrook 等人(2001, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, New York)。在一些實施例中，藉由磷酸鈣轉染將聚核苷酸引入至宿主細胞中。

將相關聚核苷酸引入宿主細胞中之生物方法包括使用DNA及RNA載體。病毒載體且尤其反轉錄病毒載體已成為將基因插入哺乳動物(例如，人類)細胞中之最常用方法。其他病毒載體可來源於慢病毒、痘病毒、1型單純疱疹病毒、腺病毒及腺相關病毒及其類似病毒。參見例如美國專利第 5,350,674 號及第 5,585,362 號。

用於將聚核苷酸引入至宿主細胞中之化學方式包括膠態分散系統，諸如大分子複合物、奈米囊劑、微球、珠粒及基於脂質之系統，包括水包油乳液、微胞、混合微胞及脂質體。用作活體外及活體內傳遞媒劑之例示性膠態系統為脂質體(例如人工膜泡)。

在利用非病毒傳遞系統的情況下，例示性傳遞媒劑為脂質體。預期使用脂質調配物將核酸引入至宿主細胞(活體外、離體或活體內)。在另一態樣中，核酸可與脂質相關聯。與脂質相關聯之核酸可囊封於脂質體之水

性內部中，穿插於脂質體之脂質雙層內，經由與脂質體及寡核苷酸相關聯之連接分子附接至脂質體，包覆於脂質體中，與脂質體複合，分散於含有脂質之溶液中，與脂質混合，與脂質組合，以懸浮液形式含於脂質中，含有微胞中或與微胞複合，或以其他方式與脂質相關聯。與組合物相關聯之脂質、脂質/DNA或脂質/表現載體不限於溶液中之任何特定結構。舉例而言，其可存在於雙層結構中，呈微胞形式或具有「塌陷」結構。其亦可簡單地穿插於溶液中，可能形成大小或形狀不均勻的聚集物。脂質為可為天然存在脂質或合成脂質的脂肪物質。舉例而言，脂質包括細胞質中天然存在之脂肪滴以及含有長鏈脂族烴及其衍生物之化合物類別(諸如脂肪酸、醇、胺、胺基醇及醛)。

無論是用於將外源性核酸引入宿主細胞抑或是以其他方式使細胞暴露於本發明之抑制劑的方法，為了確認宿主細胞中重組DNA序列之存在，可進行多種分析。此類分析包括例如熟習此項技術者熟知的「分子生物」分析，諸如南方及北方墨點法、RT-PCR及PCR；「生物化學」分析，諸如偵測特定肽之存在或不存在，例如藉由免疫方式(ELISA及西方墨點法)或藉由本文所述用於鑑別在本發明之範疇內的試劑之分析。

abTCR效應細胞

在一些實施例中，提供一種效應細胞(諸如T細胞)，其呈遞根據本文所述abTCR中之任一者的abTCR於其表面上。在一些實施例中，效應細胞包含編碼abTCR之核酸，其中abTCR自核酸表現且定位於效應細胞表面。在一些實施例中，abTCR外源性表現且與效應細胞組合。在一些實施例中，效應細胞為T細胞。在一些實施例中，效應細胞係選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群。在一些實施例

中，效應細胞不表現獲得abTCR之TCRD的TCR次單元。舉例而言，在一些實施例中，效應細胞為 $\alpha\beta$ T細胞且所引入abTCR之TCRD包含源自TCR δ 及 γ 鏈之序列，或T細胞為 $\gamma\delta$ T細胞且所引入abTCR之TCRD包含源自TCR α 及 β 鏈之序列。在一些實施例中，效應細胞經修飾以阻斷或減少獲得abTCR之TCRD的內源性TCR次單元中之一者或兩者的表現。舉例而言，在一些實施例中，效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR α 及/或 β 鏈之表現的 $\alpha\beta$ T細胞且所引入abTCR之TCRD包含源自TCR α 及 β 鏈之序列，或效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR γ 及/或 δ 鏈之表現的 $\gamma\delta$ T細胞且所引入abTCR之TCRD包含源自TCR γ 及 δ 鏈之序列。用於破壞基因表現之細胞修飾包括此項技術中已知的任何此類技術，包括例如RNA干擾(例如，siRNA、shRNA、miRNA)、基因編輯(例如，基於CRISPR或TALEN之基因剔除)及其類似者。舉例而言，在一些實施例中，提供一種效應細胞(諸如T細胞)，其包含編碼根據本文所述abTCR中之任一者的abTCR的核酸，其中abTCR自核酸表現且定位於效應細胞表面。在一些實施例中，編碼abTCR之核酸包含編碼abTCR之第一多肽鏈的第一核酸序列及編碼abTCR之第二多肽鏈的第二核酸序列。在一些實施例中，第一核酸序列位於第一載體上且第二核酸序列位於第二載體上。在一些實施例中，第一及第二核酸序列位於同一載體上。載體可選自例如由哺乳動物表現載體及病毒載體(諸如源自反轉錄病毒、腺病毒、腺相關病毒、疱疹病毒及慢病毒之彼等載體)組成之群。在一些實施例中，將載體中之一或多者整合於效應細胞之宿主基因組中。在一些實施例中，第一核酸序列處於第一啟動子控制下且第二核酸序列處於第二啟動子控制下。在一些實施例中，第一及第二啟動子具有相同序列。在一些實施例中，第一及第二啟動子具有不同序列。

在一些實施例中，第一及第二核酸處於單一啟動子控制下。在一些實施例中，第一、第二及/或單一啟動子為誘導型啟動子。在一些實施例中，第一多肽鏈之表現與第二多肽鏈之表現大致相同。在一些實施例中，第一多肽鏈之表現為第二多肽鏈之表現的至少約兩(諸如至少約2、3、4、5或更大中之任一者)倍。在一些實施例中，第一多肽鏈之表現不超過第二多肽鏈之表現的約1/2 (諸如不超過約1/2、1/3、1/4、1/5或更小中之任一者)。可以mRNA或蛋白質含量測定表現。mRNA之表現量可藉由使用各種熟知方法量測自核酸轉錄之mRNA的量來測定，該等方法包括北方墨點法、定量RT-PCR、微陣列分析及其類似者。蛋白質表現量可藉由已知方法量測，包括免疫細胞化學染色、酶聯免疫吸附分析(ELISA)、西方墨點分析、發光分析、質譜、高效液相層析、高壓液相層析-串聯質譜及其類似者。在一些實施例中，效應細胞係選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群。

因此，在一些實施例中，提供一種abTCR效應細胞(諸如T細胞)，其於其表面上表現根據本文所述abTCR中之任一者的abTCR，其中abTCR效應細胞包含a)第一核酸，第一核酸包含第一啟動子，第一啟動子可操作地連接於編碼abTCR之第一多肽鏈的核酸序列；及b)第二核酸，第二核酸包含第二啟動子，第二啟動子可操作地連接於編碼abTCR之第二多肽鏈的核酸序列，其中第一多肽鏈自第一核酸表現且第二多肽鏈自第二核酸表現以形成abTCR，且其中abTCR定位於效應細胞之表面。在一些實施例中，第一及第二啟動子具有相同序列。在一些實施例中，第一及第二啟動子具有不同序列。在一些實施例中，第一及/或第二啟動子為誘導型啟動子。在一些實施例中，第一多肽鏈之表現與第二多肽鏈之表現大致相同。在一些

實施例中，第一多肽鏈之表現為第二多肽鏈之表現的至少約兩(諸如至少約2、3、4、5或更大中之任一者)倍。在一些實施例中，第一多肽鏈之表現不超過第二多肽鏈之表現的約1/2 (諸如不超過約1/2、1/3、1/4、1/5或更小中之任一者)。在一些實施例中，效應細胞不表現獲得abTCR之TCRD的TCR次單元。舉例而言，在一些實施例中，效應細胞為 $\alpha\beta$ T細胞且所引入abTCR之TCRD包含源自TCR δ 及 γ 鏈之序列，或效應細胞為 $\gamma\delta$ T細胞且所引入abTCR之TCRD包含源自TCR α 及 β 鏈之序列。在一些實施例中，效應細胞經修飾以阻斷或減少獲得abTCR之TCRD的內源性TCR次單元中之一者或兩者的表現。舉例而言，在一些實施例中，效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR α 及/或 β 鏈之表現的 $\alpha\beta$ T細胞且所引入abTCR之TCRD包含源自TCR α 及 β 鏈之序列，或效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR γ 及/或 δ 鏈之表現的 $\gamma\delta$ T細胞且所引入abTCR之TCRD包含源自TCR γ 及 δ 鏈之序列。在一些實施例中，效應細胞係選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群。在一些實施例中，載體為整合至效應細胞之宿主基因組中之病毒載體(諸如慢病毒載體)。

在一些實施例中，提供一種abTCR效應細胞(諸如T細胞)，其於其表面上表現根據本文所述abTCR中之任一者的abTCR，其中abTCR效應細胞包含a)第一載體，第一載體包含第一啟動子，第一啟動子可操作地連接於編碼abTCR之第一多肽鏈的第一核酸序列；及b)第二載體，第二載體包含第二啟動子，第二啟動子可操作地連接於編碼abTCR之第二多肽鏈的第二核酸序列，其中第一多肽鏈自第一核酸序列表現且第二多肽鏈自第二核酸序列表現以形成abTCR，且其中abTCR定位於效應細胞之表面。在一些實施例中，第一及第二啟動子具有相同序列。在一些實施例中，第一及第二

啟動子具有不同序列。在一些實施例中，第一及/或第二啟動子為誘導型啟動子。在一些實施例中，第一多肽鏈之表現與第二多肽鏈之表現大致相同。在一些實施例中，第一多肽鏈之表現為第二多肽鏈之表現的至少約兩(諸如至少約2、3、4、5或更大中之任一者)倍。在一些實施例中，第一多肽鏈之表現不超過第二多肽鏈之表現的約1/2 (諸如不超過約1/2、1/3、1/4、1/5或更小中之任一者)。在一些實施例中，效應細胞不表現獲得abTCR之TCRD的TCR次單元。舉例而言，在一些實施例中，效應細胞為 $\alpha\beta$ T細胞且所引入abTCR之TCRD包含源自TCR δ 及 γ 鏈之序列，或效應細胞為 $\gamma\delta$ T細胞且所引入abTCR之TCRD包含源自TCR α 及 β 鏈之序列。在一些實施例中，效應細胞經修飾以阻斷或減少獲得abTCR之TCRD的內源性TCR次單元中之一者或兩者的表現。舉例而言，在一些實施例中，效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR α 及/或 β 鏈之表現的 $\alpha\beta$ T細胞且所引入abTCR之TCRD包含源自TCR α 及 β 鏈之序列，或效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR γ 及/或 δ 鏈之表現的 $\gamma\delta$ T細胞且所引入abTCR之TCRD包含源自TCR γ 及 δ 鏈之序列。在一些實施例中，效應細胞係選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群。在一些實施例中，第一及第二載體為整合於效應細胞之宿主基因組中之病毒載體(諸如慢病毒載體)。

在一些實施例中，提供一種abTCR效應細胞(諸如T細胞)，其於其表面上表現根據本文所述abTCR中之任一者的abTCR，其中abTCR效應細胞包含載體，該載體包含a)第一啟動子，第一啟動子可操作地連接於編碼abTCR之第一多肽鏈的第一核酸序列；及b)第二啟動子，第二啟動子可操作地連接於編碼abTCR之第二多肽鏈的第二核酸序列，其中第一多肽鏈自

第一核酸序列表現且第二多肽鏈自第二核酸序列表現以形成abTCR，且其中abTCR定位於效應細胞之表面。在一些實施例中，第一及第二啟動子具有相同序列。在一些實施例中，第一及第二啟動子具有不同序列。在一些實施例中，第一及/或第二啟動子為誘導型啟動子。在一些實施例中，第一多肽鏈之表現與第二多肽鏈之表現大致相同。在一些實施例中，第一多肽鏈之表現為第二多肽鏈之表現的至少約兩(諸如至少約2、3、4、5或更大中之任一者)倍。在一些實施例中，第一多肽鏈之表現不超過第二多肽鏈之表現的約1/2 (諸如不超過約1/2、1/3、1/4、1/5或更小中之任一者)。在一些實施例中，效應細胞不表現獲得abTCR之TCRD的TCR次單元。舉例而言，在一些實施例中，效應細胞為 $\alpha\beta$ T細胞且所引入abTCR之TCRD包含源自TCR δ 及 γ 鏈之序列，或效應細胞為 $\gamma\delta$ T細胞且所引入abTCR之TCRD包含源自TCR α 及 β 鏈之序列。在一些實施例中，效應細胞經修飾以阻斷或減少獲得abTCR之TCRD的內源性TCR次單元中之一者或兩者的表現。舉例而言，在一些實施例中，效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR α 及/或 β 鏈之表現的 $\alpha\beta$ T細胞且所引入abTCR之TCRD包含源自TCR α 及 β 鏈之序列，或效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR γ 及/或 δ 鏈之表現的 $\gamma\delta$ T細胞且所引入abTCR之TCRD包含源自TCR γ 及 δ 鏈之序列。在一些實施例中，效應細胞係選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群。在一些實施例中，第一及第二載體為整合於效應細胞之宿主基因組中之病毒載體(諸如慢病毒載體)。

在一些實施例中，提供一種abTCR效應細胞(諸如T細胞)，其於其表面上表現根據本文所述abTCR中之任一者的abTCR，其中abTCR效應細胞包含宿主基因組整合之慢病毒載體，其包含a)第一啟動子，第一啟動子可

操作地連接於編碼abTCR之第一多肽鏈的第一核酸序列；及b)第二啟動子，第二啟動子可操作地連接於編碼abTCR之第二多肽鏈的第二核酸序列，其中第一多肽鏈自第一核酸序列表現且第二多肽鏈自第二核酸序列表現以形成abTCR，且其中abTCR定位於效應細胞之表面。在一些實施例中，第一及第二啟動子具有相同序列。在一些實施例中，第一及第二啟動子具有不同序列。在一些實施例中，第一及/或第二啟動子為誘導型啟動子。在一些實施例中，第一多肽鏈之表現與第二多肽鏈之表現大致相同。在一些實施例中，第一多肽鏈之表現為第二多肽鏈之表現的至少約兩(諸如至少約2、3、4、5或更大中之任一者)倍。在一些實施例中，第一多肽鏈之表現不超過第二多肽鏈之表現的約1/2 (諸如不超過約1/2、1/3、1/4、1/5或更小中之任一者)。在一些實施例中，效應細胞不表現獲得abTCR之TCRD的TCR次單元。舉例而言，在一些實施例中，效應細胞為 $\alpha\beta$ T細胞且所引入abTCR之TCRD包含源自TCR δ 及 γ 鏈之序列，或效應細胞為 $\gamma\delta$ T細胞且所引入abTCR之TCRD包含源自TCR α 及 β 鏈之序列。在一些實施例中，效應細胞經修飾以阻斷或減少獲得abTCR之TCRD的內源性TCR次單元中之一者或兩者的表現。舉例而言，在一些實施例中，效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR α 及/或 β 鏈之表現的 $\alpha\beta$ T細胞且所引入abTCR之TCRD包含源自TCR α 及 β 鏈之序列，或效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR γ 及/或 δ 鏈之表現的 $\gamma\delta$ T細胞且所引入abTCR之TCRD包含源自TCR γ 及 δ 鏈之序列。在一些實施例中，效應細胞經修飾以阻斷或減少內源性TCR鏈中之一者或兩者的表現。在一些實施例中，效應細胞係選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群。

在一些實施例中，提供一種abTCR效應細胞(諸如T細胞)，其於其表面上表現根據本文所述abTCR中之任一者的abTCR，其中abTCR效應細胞包含載體，該載體包含a)編碼abTCR之第一多肽鏈的第一核酸序列及b)編碼abTCR之第二多肽鏈的第二核酸序列，其中第一及第二核酸序列在單一啟動子控制下，其中第一多肽鏈自第一核酸序列表現且第二多肽鏈自第二核酸序列表現以形成abTCR，且其中abTCR定位於效應細胞之表面。在一些實施例中，啟動子可操作地連接於第一核酸序列之5'端，且存在選自由內部核糖體進入位點(IRES)及編碼自裂解2A肽(諸如P2A、T2A、E2A或F2A)之核酸組成之群的核酸連接子以將第一核酸序列之3'端連接至第二核酸序列之5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在啟動子控制下轉錄為單一RNA。在一些實施例中，啟動子可操作地連接於第二核酸序列之5'端，且存在選自由內部核糖體進入位點(IRES)及編碼自裂解2A肽(諸如P2A、T2A、E2A或F2A)之核酸組成之群的核酸連接子以將第二核酸序列之3'端連接至第一核酸序列之5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在啟動子控制下轉錄為單一RNA。在一些實施例中，啟動子為誘導型啟動子。在一些實施例中，效應細胞不表現獲得abTCR之TCRD的TCR次單元。舉例而言，在一些實施例中，效應細胞為 $\alpha\beta$ T細胞且所引入abTCR之TCRD包含源自TCR δ 及 γ 鏈之序列，或效應細胞為 $\gamma\delta$ T細胞且所引入abTCR之TCRD包含源自TCR α 及 β 鏈之序列。在一些實施例中，效應細胞經修飾以阻斷或減少獲得abTCR之TCRD的內源性TCR次單元中之一者或兩者的表現。舉例而言，在一些實施例中，效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR α 及/或 β 鏈之表現的 $\alpha\beta$ T細胞且所引入abTCR之TCRD包含源自TCR α 及 β 鏈之序列，或效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR γ 及/或 δ 鏈之

表現的 $\gamma\delta$ T細胞且所引入abTCR之TCRD包含源自TCR γ 及 δ 鏈之序列。在一些實施例中，效應細胞係選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群。在一些實施例中，載體為整合至效應細胞之宿主基因組中之病毒載體(諸如慢病毒載體)。

在一些實施例中，提供一種abTCR效應細胞(諸如T細胞)，其於其表面上表現根據本文所述abTCR中之任一者的abTCR，其中abTCR效應細胞包含宿主基因組整合的慢病毒載體，其包含a)編碼abTCR之第一多肽鏈的第一核酸序列及b)編碼abTCR之第二多肽鏈的第二核酸序列，其中第一及第二核酸序列在單一啟動子控制下，其中第一多肽鏈自第一核酸序列表現且第二多肽鏈自第二核酸序列表現以形成abTCR，且其中abTCR定位於效應細胞之表面。在一些實施例中，存在可操作地連接於第一核酸序列之5'端的啟動子，且存在選自由內部核糖體進入位點(IRES)及編碼自裂解2A肽(諸如P2A、T2A、E2A或F2A)之核酸組成之群的核酸連接子以將第一核酸序列之3'端連接至第二核酸序列之5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在啟動子控制下轉錄為單一RNA。在一些實施例中，存在可操作地連接於第二核酸序列之5'端的啟動子，且存在選自由內部核糖體進入位點(IRES)及編碼自裂解2A肽(諸如P2A、T2A、E2A或F2A)之核酸組成之群的核酸連接子以將第二核酸序列之3'端連接至第一核酸序列之5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在啟動子控制下轉錄為單一RNA。在一些實施例中，啟動子為誘導型啟動子。在一些實施例中，效應細胞不表現獲得abTCR之TCRD的TCR次單元。舉例而言，在一些實施例中，效應細胞為 $\alpha\beta$ T細胞且所引入abTCR之TCRD包含源自TCR δ 及 γ 鏈之序列，或效應細胞為 $\gamma\delta$ T細胞且所引入abTCR之TCRD包含源自TCR α 及 β 鏈之序列。

在一些實施例中，效應細胞經修飾以阻斷或減少獲得abTCR之TCRD的內源性TCR次單元中之一者或兩者的表現。舉例而言，在一些實施例中，效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR α 及/或 β 鏈之表現的 $\alpha\beta$ T細胞且所引入abTCR之TCRD包含源自TCR α 及 β 鏈之序列，或效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR γ 及/或 δ 鏈之表現的 $\gamma\delta$ T細胞且所引入abTCR之TCRD包含源自TCR γ 及 δ 鏈之序列。在一些實施例中，效應細胞係選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群。

在一些實施例中，提供一種於表面上表現abTCR之abTCR效應細胞(諸如T細胞)，其包含a)編碼第一多肽鏈之第一核酸序列，其自胺基端至羧基端依次包含第一抗原結合域及包含SEQ ID NO: 15之胺基酸序列的第一TCRD；及b)編碼第二多肽鏈之第二核酸序列，其自胺基端至羧基端依次包含第二抗原結合域及包含SEQ ID NO: 16之胺基酸序列的第二TCRD；其中第一抗原結合域與第二抗原結合域形成特異性結合靶抗原之Fab樣抗原結合模組，其中第一TCRD與第二TCRD形成能夠募集至少一個TCR相關信號傳導模組之TCRM。在一些實施例中，Fab樣抗原結合模組為人類、人類化、嵌合、半合成或全合成的。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含a)至少一個包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 70或71之胺基酸序列的T細胞共刺激信號傳導序列；及/或b)包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 50-52中之任一者之胺基酸序列的抗原決定基標籤。在一些實施例中，abTCR進一步包含在第一抗原結合域之胺基端的第一信號肽及/或在第二抗原結合域之胺基端的第二信號肽，其中第一及/或第二信號肽包含SEQ ID NO: 49之胺基酸序列。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一個選自由CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及 $\zeta\zeta$ 組成之

群的TCR相關信號傳導模組。在一些實施例中，TCRM促進abTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，存在可操作地連接於第一核酸序列之5'端的啟動子，且存在選自由內部核糖體進入位點(IRES)及編碼自裂解2A肽(諸如P2A、T2A、E2A或F2A)之核酸組成之群的核酸連接子以將第一核酸序列之3'端連接至第二核酸序列之5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在啟動子控制下轉錄為單一RNA。在一些實施例中，存在可操作地連接於第二核酸序列之5'端的啟動子，且存在選自由內部核糖體進入位點(IRES)及編碼自裂解2A肽(諸如P2A、T2A、E2A或F2A)之核酸組成之群的核酸連接子以將第二核酸序列之3'端連接至第一核酸序列之5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在啟動子控制下轉錄為單一RNA。在一些實施例中，啟動子為誘導型啟動子。在一些實施例中，靶抗原為細胞表面抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原係選自由蛋白質、碳水化合物及脂質組成之群。在一些實施例中，細胞表面抗原為疾病相關抗原，諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原為CD19。在一些實施例中，靶抗原為表面呈遞肽/MHC複合體。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含源自疾病相關抗原(諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原)之肽及MHC蛋白質。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含肽及MHC蛋白質，其中該肽源自選自由WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA組成之群的蛋白質。在一些實施例中，MHC蛋白質為MHC I類蛋白質。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A。在一些實施例中，HLA-A為HLA-A02。在一些實施例中，HLA-A02為HLA-A*02:01。在一些實施例中，效應細胞為 $\gamma\delta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR α 及/或 β 鏈之表現的

$\alpha\beta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞係選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群。

在一些實施例中，提供一種於表面上表現abTCR之abTCR效應細胞(諸如T細胞)，其包含a)編碼第一多肽鏈之第一核酸序列，其自胺基端至羧基端依次包含第一抗原結合域及包含SEQ ID NO: 17之胺基酸序列的第一TCRD；及b)編碼第二多肽鏈之第二核酸序列，其自胺基端至羧基端依次包含第二抗原結合域及包含SEQ ID NO: 18之胺基酸序列的第二TCRD；其中第一抗原結合域與第二抗原結合域形成特異性結合靶抗原之Fab樣抗原結合模組，其中第一TCRD與第二TCRD形成能夠募集至少一個TCR相關信號傳導模組之TCRM。在一些實施例中，Fab樣抗原結合模組為人類、人類化、嵌合、半合成或全合成的。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含a)至少一個包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 70或71之胺基酸序列的T細胞共刺激信號傳導序列；及/或b)包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 50-52中之任一者之胺基酸序列的抗原決定基標籤。在一些實施例中，abTCR進一步包含在第一抗原結合域之胺基端的第一信號肽及/或在第二抗原結合域之胺基端的第二信號肽，其中第一及/或第二信號肽包含SEQ ID NO: 49之胺基酸序列。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一個選自由CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及 $\zeta\zeta$ 組成之群的TCR相關信號傳導模組。在一些實施例中，TCRM促進abTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，存在可操作地連接於第一核酸序列之5'端的啟動子，且存在選自由內部核糖體進入位點(IRES)及編碼自裂解2A肽(諸如P2A、T2A、E2A或F2A)之核酸組成之群的核酸連接子以將第一核酸序列之3'端連接至第二核酸序列之5'端，其中第一核酸序列及第二核酸

序列在啟動子控制下轉錄為單一RNA。在一些實施例中，存在可操作地連接於第二核酸序列之5'端的啟動子，且存在選自由內部核糖體進入位點(IRES)及編碼自裂解2A肽(諸如P2A、T2A、E2A或F2A)之核酸組成之群的核酸連接子以將第二核酸序列之3'端連接至第一核酸序列之5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在啟動子控制下轉錄為單一RNA。在一些實施例中，啟動子為誘導型啟動子。在一些實施例中，靶抗原為細胞表面抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原係選自由蛋白質、碳水化合物及脂質組成之群。在一些實施例中，細胞表面抗原為疾病相關抗原，諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原為CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPC5D或FCRL5。在一些實施例中，靶抗原為表面呈遞肽/MHC複合體。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含源自疾病相關抗原(諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原)之肽及MHC蛋白質。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含肽及MHC蛋白質，其中該肽源自選自由WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA組成之群的蛋白質。在一些實施例中，MHC蛋白質為MHC I類蛋白質。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A。在一些實施例中，HLA-A為HLA-A02。在一些實施例中，HLA-A02為HLA-A*02:01。在一些實施例中，效應細胞為 $\gamma\delta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR α 及/或 β 鏈之表現的 $\alpha\beta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞係選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群。

在一些實施例中，提供一種於表面上表現abTCR之abTCR效應細胞(諸如T細胞)，其包含a)編碼第一多肽鏈之第一核酸序列，其自胺基端至

羧基端依次包含第一抗原結合域及包含SEQ ID NO: 19之胺基酸序列的第一TCRD；及b)編碼第二多肽鏈之第二核酸序列，其自胺基端至羧基端依次包含第二抗原結合域及包含SEQ ID NO: 20之胺基酸序列的第二TCRD；其中第一抗原結合域與第二抗原結合域形成特異性結合靶抗原之Fab樣抗原結合模組，其中第一TCRD與第二TCRD形成能夠募集至少一個TCR相關信號傳導模組之TCRM。在一些實施例中，Fab樣抗原結合模組為人類、人類化、嵌合、半合成或全合成的。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含a)至少一個包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 70或71之胺基酸序列的T細胞共刺激信號傳導序列；及/或b)包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 50-52中之任一者之胺基酸序列的抗原決定基標籤。在一些實施例中，abTCR進一步包含在第一抗原結合域之胺基端的第一信號肽及/或在第二抗原結合域之胺基端的第二信號肽，其中第一及/或第二信號肽包含SEQ ID NO: 49之胺基酸序列。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一個選自由CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及 $\zeta\zeta$ 組成之群的TCR相關信號傳導模組。在一些實施例中，TCRM促進abTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，存在可操作地連接於第一核酸序列之5'端的啟動子，且存在選自由內部核糖體進入位點(IRES)及編碼自裂解2A肽(諸如P2A、T2A、E2A或F2A)之核酸組成之群的核酸連接子以將第一核酸序列之3'端連接至第二核酸序列之5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在啟動子控制下轉錄為單一RNA。在一些實施例中，存在可操作地連接於第二核酸序列之5'端的啟動子，且存在選自由內部核糖體進入位點(IRES)及編碼自裂解2A肽(諸如P2A、T2A、E2A或F2A)之核酸組成之群的核酸連接子以將第二核酸序列之3'端連接至第一核酸序列之5'端，其中

第一核酸序列及第二核酸序列在啟動子控制下轉錄為單一RNA。在一些實施例中，啟動子為誘導型啟動子。在一些實施例中，靶抗原為細胞表面抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原係選自由蛋白質、碳水化合物及脂質組成之群。在一些實施例中，細胞表面抗原為疾病相關抗原，諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原為CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPC5D或FCRL5。在一些實施例中，靶抗原為表面呈遞肽/MHC複合體。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含源自疾病相關抗原(諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原)之肽及MHC蛋白質。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含肽及MHC蛋白質，其中該肽源自選自由WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA組成之群的蛋白質。在一些實施例中，MHC蛋白質為MHC I類蛋白質。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A。在一些實施例中，HLA-A為HLA-A02。在一些實施例中，HLA-A02為HLA-A*02:01。在一些實施例中，效應細胞為 $\alpha\beta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR γ 及/或 δ 鏈之表現的 $\gamma\delta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞係選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群。

在一些實施例中，提供一種於表面上表現abTCR之abTCR效應細胞(諸如T細胞)，其包含a)編碼第一多肽鏈之第一核酸序列，其自胺基端至羧基端依次包含第一抗原結合域及包含SEQ ID NO: 21之胺基酸序列的第一TCRD；及b)編碼第二多肽鏈之第二核酸序列，其自胺基端至羧基端依次包含第二抗原結合域及包含SEQ ID NO: 22之胺基酸序列的第二TCRD；其中第一抗原結合域與第二抗原結合域形成特異性結合靶抗原之

Fab樣抗原結合模組，其中第一TCRD與第二TCRD形成能夠募集至少一個TCR相關信號傳導模組之TCRM。在一些實施例中，Fab樣抗原結合模組為人類、人類化、嵌合、半合成或全合成的。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含a)至少一個包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 70或71之胺基酸序列的T細胞共刺激信號傳導序列；及/或b)包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 50-52中之任一者之胺基酸序列的抗原決定基標籤。在一些實施例中，abTCR進一步包含在第一抗原結合域之胺基端的第一信號肽及/或在第二抗原結合域之胺基端的第二信號肽，其中第一及/或第二信號肽包含SEQ ID NO: 49之胺基酸序列。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一個選自由CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及 $\zeta\zeta$ 組成之群的TCR相關信號傳導模組。在一些實施例中，TCRM促進abTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，存在可操作地連接於第一核酸序列之5'端的啟動子，且存在選自由內部核糖體進入位點(IRES)及編碼自裂解2A肽(諸如P2A、T2A、E2A或F2A)之核酸組成之群的核酸連接子以將第一核酸序列之3'端連接至第二核酸序列之5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在啟動子控制下轉錄為單一RNA。在一些實施例中，存在可操作地連接於第二核酸序列之5'端的啟動子，且存在選自由內部核糖體進入位點(IRES)及編碼自裂解2A肽(諸如P2A、T2A、E2A或F2A)之核酸組成之群的核酸連接子以將第二核酸序列之3'端連接至第一核酸序列之5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在啟動子控制下轉錄為單一RNA。在一些實施例中，啟動子為誘導型啟動子。在一些實施例中，靶抗原為細胞表面抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原係選自由蛋白質、碳水化合物及脂質組成之群。在一些實施例中，細胞表面抗原為疾病相關抗原，諸如腫瘤

相關或病毒編碼抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原為CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPC5D或FCRL5。在一些實施例中，靶抗原為表面呈遞肽/MHC複合體。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含源自疾病相關抗原(諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原)之肽及MHC蛋白質。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含肽及MHC蛋白質，其中該肽源自選自由WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA組成之群的蛋白質。在一些實施例中，MHC蛋白質為MHC I類蛋白質。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A。在一些實施例中，HLA-A為HLA-A02。在一些實施例中，HLA-A02為HLA-A*02:01。在一些實施例中，效應細胞為 $\alpha\beta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR γ 及/或 δ 鏈之表現的 $\gamma\delta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞係選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群。

在一些實施例中，提供一種於表面上表現abTCR之abTCR效應細胞(諸如T細胞)，其包含a)編碼abTCR之第一多肽鏈的第一核酸序列，第一多肽鏈包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO: 23之胺基酸序列；及b)編碼abTCR之第二多肽鏈的第二核酸序列，第二多肽鏈包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO: 24之胺基酸序列，其中第一多肽鏈自第一核酸序列表現且第二多肽鏈自第二核酸序列表現以形成abTCR，且其中abTCR定位於效應細胞之表面。在一些實施例中，存在可操作地連接於第一核酸序列之5'端的啟動子，且存在選自由內部核糖體進入位點(IRES)及編碼自裂解2A肽(諸如P2A、T2A、E2A或F2A)之核酸組成之群的核酸連接子以將第一核酸序列之3'端連接至第二核酸序列之5'

端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在啟動子控制下轉錄為單一RNA。在一些實施例中，存在可操作地連接於第二核酸序列之5'端的啟動子，且存在選自由內部核糖體進入位點(IRES)及編碼自裂解2A肽(諸如P2A、T2A、E2A或F2A)之核酸組成之群的核酸連接子以將第二核酸序列之3'端連接至第一核酸序列之5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在啟動子控制下轉錄為單一RNA。在一些實施例中，啟動子為誘導型啟動子。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含T細胞共刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)及/或抗原決定基標籤(諸如HA、FLAG或myc)。在一些實施例中，抗原決定基標籤包含SEQ ID NO: 50-52之胺基酸序列中之任一者。在一些實施例中，第一多肽鏈進一步包含在第一abTCR域之胺基端的第一信號肽及/或第二多肽鏈進一步包含在第二abTCR域之胺基端的第二信號肽。在一些實施例中，第一及/或第二信號肽包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 49之胺基酸序列。在一些實施例中，效應細胞為 $\gamma\delta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR α 及/或 β 鏈之表現的 $\alpha\beta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞係選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群。

在一些實施例中，提供一種於表面上表現abTCR之abTCR效應細胞(諸如T細胞)，其包含a)編碼abTCR之第一多肽鏈的第一核酸序列，第一多肽鏈包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO: 25之胺基酸序列；及b)編碼abTCR之第二多肽鏈的第二核酸序列，第二多肽鏈包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO: 26之胺基酸序列，其中第一多肽鏈自第一核酸序列表現且第二多肽鏈自第二核酸序列表現以形成

abTCR，且其中abTCR定位於效應細胞之表面。在一些實施例中，存在可操作地連接於第一核酸序列之5'端的啟動子，且存在選自由內部核糖體進入位點(IRES)及編碼自裂解2A肽(諸如P2A、T2A、E2A或F2A)之核酸組成之群的核酸連接子以將第一核酸序列之3'端連接至第二核酸序列之5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在啟動子控制下轉錄為單一RNA。在一些實施例中，存在可操作地連接於第二核酸序列之5'端的啟動子，且存在選自由內部核糖體進入位點(IRES)及編碼自裂解2A肽(諸如P2A、T2A、E2A或F2A)之核酸組成之群的核酸連接子以將第二核酸序列之3'端連接至第一核酸序列之5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在啟動子控制下轉錄為單一RNA。在一些實施例中，啟動子為誘導型啟動子。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含T細胞共刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)及/或抗原決定基標籤(諸如HA、FLAG或myc)。在一些實施例中，抗原決定基標籤包含SEQ ID NO: 50-52之胺基酸序列中之任一者。在一些實施例中，第一多肽鏈進一步包含在第一abTCR域之胺基端的第一信號肽及/或第二多肽鏈進一步包含在第二abTCR域之胺基端的第二信號肽。在一些實施例中，第一及/或第二信號肽包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 49之胺基酸序列。在一些實施例中，效應細胞為 $\gamma\delta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR α 及/或 β 鏈之表現的 $\alpha\beta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞係選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群。

在一些實施例中，提供一種於表面上表現abTCR之abTCR效應細胞(諸如T細胞)，其包含a)編碼abTCR之第一多肽鏈的第一核酸序列，第一

多肽鏈包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO: 27之胺基酸序列；及b)編碼abTCR之第二多肽鏈的第二核酸序列，第二多肽鏈包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO: 28之胺基酸序列，其中第一多肽鏈自第一核酸序列表現且第二多肽鏈自第二核酸序列表現以形成abTCR，且其中abTCR定位於效應細胞之表面。在一些實施例中，存在可操作地連接於第一核酸序列之5'端的啟動子，且存在選自由內部核糖體進入位點(IRES)及編碼自裂解2A肽(諸如P2A、T2A、E2A或F2A)之核酸組成之群的核酸連接子以將第一核酸序列之3'端連接至第二核酸序列之5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在啟動子控制下轉錄為單一RNA。在一些實施例中，存在可操作地連接於第二核酸序列之5'端的啟動子，且存在選自由內部核糖體進入位點(IRES)及編碼自裂解2A肽(諸如P2A、T2A、E2A或F2A)之核酸組成之群的核酸連接子以將第二核酸序列之3'端連接至第一核酸序列之5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在啟動子控制下轉錄為單一RNA。在一些實施例中，啟動子為誘導型啟動子。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含T細胞共刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)及/或抗原決定基標籤(諸如HA、FLAG或myc)。在一些實施例中，抗原決定基標籤包含SEQ ID NO: 50-52之胺基酸序列中之任一者。在一些實施例中，第一多肽鏈進一步包含在第一abTCR域之胺基端的第一信號肽及/或第二多肽鏈進一步包含在第二abTCR域之胺基端的第二信號肽。在一些實施例中，第一及/或第二信號肽包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 49之胺基酸序列。在一些實施例中，效應細胞為 $\gamma\delta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR α 及/或 β 鏈

之表現的 $\alpha\beta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞係選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群。

在一些實施例中，提供一種於表面上表現abTCR之abTCR效應細胞(諸如T細胞)，其包含a)編碼abTCR之第一多肽鏈的第一核酸序列，第一多肽鏈包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO: 29之胺基酸序列；及b)編碼abTCR之第二多肽鏈的第二核酸序列，第二多肽鏈包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO: 30之胺基酸序列，其中第一多肽鏈自第一核酸序列表現且第二多肽鏈自第二核酸序列表現以形成abTCR，且其中abTCR定位於效應細胞之表面。在一些實施例中，存在可操作地連接於第一核酸序列之5'端的啟動子，且存在選自由內部核糖體進入位點(IRES)及編碼自裂解2A肽(諸如P2A、T2A、E2A或F2A)之核酸組成之群的核酸連接子以將第一核酸序列之3'端連接至第二核酸序列之5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在啟動子控制下轉錄為單一RNA。在一些實施例中，存在可操作地連接於第二核酸序列之5'端的啟動子，且存在選自由內部核糖體進入位點(IRES)及編碼自裂解2A肽(諸如P2A、T2A、E2A或F2A)之核酸組成之群的核酸連接子以將第二核酸序列之3'端連接至第一核酸序列之5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在啟動子控制下轉錄為單一RNA。在一些實施例中，啟動子為誘導型啟動子。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含T細胞共刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)及/或抗原決定基標籤(諸如HA、FLAG或myc)。在一些實施例中，抗原決定基標籤包含SEQ ID NO: 50-52之胺基酸序列中之任一者。在一些實施例中，第一多肽鏈進一步包含在第一abTCR域之胺

基端的第一信號肽及/或第二多肽鏈進一步包含在第二abTCR域之胺基端的第二信號肽。在一些實施例中，第一及/或第二信號肽包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 49之胺基酸序列。在一些實施例中，效應細胞為 $\alpha\beta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR γ 及/或 δ 鏈之表現的 $\gamma\delta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞係選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群。

在一些實施例中，提供一種於表面上表現abTCR之abTCR效應細胞(諸如T細胞)，其包含a)編碼abTCR之第一多肽鏈的第一核酸序列，第一多肽鏈包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO: 31之胺基酸序列；及b)編碼abTCR之第二多肽鏈的第二核酸序列，第二多肽鏈包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO: 32之胺基酸序列，其中第一多肽鏈自第一核酸序列表現且第二多肽鏈自第二核酸序列表現以形成abTCR，且其中abTCR定位於效應細胞之表面。在一些實施例中，存在可操作地連接於第一核酸序列之5'端的啟動子，且存在選自由內部核糖體進入位點(IRES)及編碼自裂解2A肽(諸如P2A、T2A、E2A或F2A)之核酸組成之群的核酸連接子以將第一核酸序列之3'端連接至第二核酸序列之5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在啟動子控制下轉錄為單一RNA。在一些實施例中，存在可操作地連接於第二核酸序列之5'端的啟動子，且存在選自由內部核糖體進入位點(IRES)及編碼自裂解2A肽(諸如P2A、T2A、E2A或F2A)之核酸組成之群的核酸連接子以將第二核酸序列之3'端連接至第一核酸序列之5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在啟動子控制下轉錄為單一RNA。在一些實施例中，啟動子為誘導型啟動子。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含

T細胞共刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)及/或抗原決定基標籤(諸如HA、FLAG或myc)。在一些實施例中，抗原決定基標籤包含SEQ ID NO: 50-52之胺基酸序列中之任一者。在一些實施例中，第一多肽鏈進一步包含在第一abTCR域之胺基端的第一信號肽及/或第二多肽鏈進一步包含在第二abTCR域之胺基端的第二信號肽。在一些實施例中，第一及/或第二信號肽包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 49之胺基酸序列。在一些實施例中，效應細胞為 $\alpha\beta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR γ 及/或 δ 鏈之表現的 $\gamma\delta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞係選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群。

在一些實施例中，提供一種於表面上表現abTCR之abTCR效應細胞(諸如T細胞)，其包含a)編碼abTCR之第一多肽鏈的第一核酸序列，第一多肽鏈包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO: 33之胺基酸序列；及b)編碼abTCR之第二多肽鏈的第二核酸序列，第二多肽鏈包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO: 34之胺基酸序列，其中第一多肽鏈自第一核酸序列表現且第二多肽鏈自第二核酸序列表現以形成abTCR，且其中abTCR定位於效應細胞之表面。在一些實施例中，存在可操作地連接於第一核酸序列之5'端的啟動子，且存在選自由內部核糖體進入位點(IRES)及編碼自裂解2A肽(諸如P2A、T2A、E2A或F2A)之核酸組成之群的核酸連接子以將第一核酸序列之3'端連接至第二核酸序列之5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在啟動子控制下轉錄為單一RNA。在一些實施例中，存在可操作地連接於第二核酸序列之5'端的啟動子，且存在選自由內部核糖體進入位點(IRES)及編碼自裂解2A肽(諸如

P2A、T2A、E2A或F2A)之核酸組成之群的核酸連接子以將第二核酸序列之3'端連接至第一核酸序列之5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在啟動子控制下轉錄為單一RNA。在一些實施例中，啟動子為誘導型啟動子。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含T細胞共刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)及/或抗原決定基標籤(諸如HA、FLAG或myc)。在一些實施例中，抗原決定基標籤包含SEQ ID NO: 50-52之胺基酸序列中之任一者。在一些實施例中，第一多肽鏈進一步包含在第一abTCR域之胺基端的第一信號肽及/或第二多肽鏈進一步包含在第二abTCR域之胺基端的第二信號肽。在一些實施例中，第一及/或第二信號肽包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 49之胺基酸序列。在一些實施例中，效應細胞為 $\alpha\beta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR γ 及/或 δ 鏈之表現的 $\gamma\delta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞係選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群。

在一些實施例中，提供一種於表面上表現abTCR之abTCR效應細胞(諸如T細胞)，其包含a)編碼abTCR之第一多肽鏈的第一核酸序列，第一多肽鏈包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO: 35之胺基酸序列；及b)編碼abTCR之第二多肽鏈的第二核酸序列，第二多肽鏈包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO: 36之胺基酸序列，其中第一多肽鏈自第一核酸序列表現且第二多肽鏈自第二核酸序列表現以形成abTCR，且其中abTCR定位於效應細胞之表面。在一些實施例中，存在可操作地連接於第一核酸序列之5'端的啟動子，且存在選自由內部核糖體進入位點(IRES)及編碼自裂解2A肽(諸如P2A、T2A、E2A或F2A)之核酸組

成之群的核酸連接子以將第一核酸序列之3'端連接至第二核酸序列之5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在啟動子控制下轉錄為單一RNA。在一些實施例中，存在可操作地連接於第二核酸序列之5'端的啟動子，且存在選自由內部核糖體進入位點(IRES)及編碼自裂解2A肽(諸如P2A、T2A、E2A或F2A)之核酸組成之群的核酸連接子以將第二核酸序列之3'端連接至第一核酸序列之5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在啟動子控制下轉錄為單一RNA。在一些實施例中，啟動子為誘導型啟動子。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含T細胞共刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)及/或抗原決定基標籤(諸如HA、FLAG或myc)。在一些實施例中，抗原決定基標籤包含SEQ ID NO: 50-52之胺基酸序列中之任一者。在一些實施例中，第一多肽鏈進一步包含在第一abTCR域之胺基端的第一信號肽及/或第二多肽鏈進一步包含在第二abTCR域之胺基端的第二信號肽。在一些實施例中，第一及/或第二信號肽包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 49之胺基酸序列。在一些實施例中，效應細胞為 $\alpha\beta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR γ 及/或 δ 鏈之表現的 $\gamma\delta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞係選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群。

在一些實施例中，提供一種於表面上表現abTCR之abTCR效應細胞(諸如T細胞)，其包含a)編碼abTCR之第一多肽鏈的第一核酸序列，第一多肽鏈包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO: 42之胺基酸序列；及b)編碼abTCR之第二多肽鏈的第二核酸序列，第二多肽鏈包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO: 43之胺基酸序列，其中第一多

肽鏈自第一核酸序列表現且第二多肽鏈自第二核酸序列表現以形成 abTCR，且其中 abTCR 定位於效應細胞之表面。在一些實施例中，存在可操作地連接於第一核酸序列之 5' 端的啟動子，且存在選自由內部核糖體進入位點(IRES)及編碼自裂解 2A 肽(諸如 P2A、T2A、E2A 或 F2A)之核酸組成之群的核酸連接子以將第一核酸序列之 3' 端連接至第二核酸序列之 5' 端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在啟動子控制下轉錄為單一 RNA。在一些實施例中，存在可操作地連接於第二核酸序列之 5' 端的啟動子，且存在選自由內部核糖體進入位點(IRES)及編碼自裂解 2A 肽(諸如 P2A、T2A、E2A 或 F2A)之核酸組成之群的核酸連接子以將第二核酸序列之 3' 端連接至第一核酸序列之 5' 端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在啟動子控制下轉錄為單一 RNA。在一些實施例中，啟動子為誘導型啟動子。在一些實施例中，abTCR 進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含 T 細胞共刺激信號傳導序列(諸如來自 CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30 或 CD40)及/或抗原決定基標籤(諸如 HA、FLAG 或 myc)。在一些實施例中，抗原決定基標籤包含 SEQ ID NO: 50-52 之胺基酸序列中之任一者。在一些實施例中，第一多肽鏈進一步包含在第一 abTCR 域之胺基端的第一信號肽及/或第二多肽鏈進一步包含在第二 abTCR 域之胺基端的第二信號肽。在一些實施例中，第一及/或第二信號肽包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 49 之胺基酸序列。在一些實施例中，效應細胞為 $\alpha\beta$ T 細胞。在一些實施例中，效應細胞為經修飾以阻斷或減少 TCR γ 及/或 δ 鏈之表現的 $\gamma\delta$ T 細胞。在一些實施例中，效應細胞係選自由細胞毒性 T 細胞、輔助 T 細胞、自然殺手 T 細胞及抑制 T 細胞組成之群。

在一些實施例中，提供一種於表面上表現 abTCR 之 abTCR 效應細胞

(諸如T細胞)，其包含a)編碼abTCR之第一多肽鏈的第一核酸序列，第一多肽鏈包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO: 42之胺基酸序列；及b)編碼abTCR之第二多肽鏈的第二核酸序列，第二多肽鏈包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO: 54之胺基酸序列，其中第一多肽鏈自第一核酸序列表現且第二多肽鏈自第二核酸序列表現以形成abTCR，且其中abTCR定位於效應細胞之表面。在一些實施例中，存在可操作地連接於第一核酸序列之5'端的啟動子，且存在選自由內部核糖體進入位點(IRES)及編碼自裂解2A肽(諸如P2A、T2A、E2A或F2A)之核酸組成之群的核酸連接子以將第一核酸序列之3'端連接至第二核酸序列之5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在啟動子控制下轉錄為單一RNA。在一些實施例中，存在可操作地連接於第二核酸序列之5'端的啟動子，且存在選自由內部核糖體進入位點(IRES)及編碼自裂解2A肽(諸如P2A、T2A、E2A或F2A)之核酸組成之群的核酸連接子以將第二核酸序列之3'端連接至第一核酸序列之5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在啟動子控制下轉錄為單一RNA。在一些實施例中，啟動子為誘導型啟動子。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含T細胞共刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)及/或抗原決定基標籤(諸如HA、FLAG或myc)。在一些實施例中，抗原決定基標籤包含SEQ ID NO: 50-52之胺基酸序列中之任一者。在一些實施例中，第一多肽鏈進一步包含在第一abTCR域之胺基端的第一信號肽及/或第二多肽鏈進一步包含在第二abTCR域之胺基端的第二信號肽。在一些實施例中，第一及/或第二信號肽包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 49之胺基酸序列。在一些實施例中，效應細胞為 $\alpha\beta$ T

細胞。在一些實施例中，效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR γ 及/或 δ 鏈之表現的 $\gamma\delta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞係選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群。

在一些實施例中，提供一種於表面上表現abTCR之abTCR效應細胞(諸如T細胞)，其包含a)編碼abTCR之第一多肽鏈的第一核酸序列，第一多肽鏈包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO: 55之胺基酸序列；及b)編碼abTCR之第二多肽鏈的第二核酸序列，第二多肽鏈包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO: 54之胺基酸序列，其中第一多肽鏈自第一核酸序列表現且第二多肽鏈自第二核酸序列表現以形成abTCR，且其中abTCR定位於效應細胞之表面。在一些實施例中，存在可操作地連接於第一核酸序列之5'端的啟動子，且存在選自由內部核糖體進入位點(IRES)及編碼自裂解2A肽(諸如P2A、T2A、E2A或F2A)之核酸組成之群的核酸連接子以將第一核酸序列之3'端連接至第二核酸序列之5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在啟動子控制下轉錄為單一RNA。在一些實施例中，存在可操作地連接於第二核酸序列之5'端的啟動子，且存在選自由內部核糖體進入位點(IRES)及編碼自裂解2A肽(諸如P2A、T2A、E2A或F2A)之核酸組成之群的核酸連接子以將第二核酸序列之3'端連接至第一核酸序列之5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在啟動子控制下轉錄為單一RNA。在一些實施例中，啟動子為誘導型啟動子。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含T細胞共刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)及/或抗原決定基標籤(諸如HA、FLAG或myc)。在一些實施例中，抗原決定基標籤包含SEQ ID NO: 50-52之胺基酸序列中

之任一者。在一些實施例中，第一多肽鏈進一步包含在第一abTCR域之胺基端的第一信號肽及/或第二多肽鏈進一步包含在第二abTCR域之胺基端的第二信號肽。在一些實施例中，第一及/或第二信號肽包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 49之胺基酸序列。在一些實施例中，效應細胞為 $\alpha\beta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR γ 及/或 δ 鏈之表現的 $\gamma\delta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞係選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群。

在一些實施例中，提供一種於表面上表現abTCR之abTCR效應細胞(諸如T細胞)，abTCR包含a)編碼abTCR之第一多肽鏈的第一核酸序列，第一多肽鏈包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO: 56之胺基酸序列；及b)編碼abTCR之第二多肽鏈的第二核酸序列，第二多肽鏈包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO: 54之胺基酸序列，其中第一多肽鏈自第一核酸序列表現且第二多肽鏈自第二核酸序列表現以形成abTCR，且其中abTCR定位於效應細胞之表面。在一些實施例中，存在可操作地連接於第一核酸序列之5'端的啟動子，且存在選自由內部核糖體進入位點(IRES)及編碼自裂解2A肽(諸如P2A、T2A、E2A或F2A)之核酸組成之群的核酸連接子以將第一核酸序列之3'端連接至第二核酸序列之5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在啟動子控制下轉錄為單一RNA。在一些實施例中，存在可操作地連接於第二核酸序列之5'端的啟動子，且存在選自由內部核糖體進入位點(IRES)及編碼自裂解2A肽(諸如P2A、T2A、E2A或F2A)之核酸組成之群的核酸連接子以將第二核酸序列之3'端連接至第一核酸序列之5'端，其中第一核酸序列及第二核酸序列在啟動子控制下轉錄為單一RNA。在一些實施例中，啟動子為誘導型啟動

子。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含T細胞共刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)及/或抗原決定基標籤(諸如HA、FLAG或myc)。在一些實施例中，抗原決定基標籤包含SEQ ID NO: 50-52之胺基酸序列中之任一者。在一些實施例中，第一多肽鏈進一步包含在第一abTCR域之胺基端的第一信號肽及/或第二多肽鏈進一步包含在第二abTCR域之胺基端的第二信號肽。在一些實施例中，第一及/或第二信號肽包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 49之胺基酸序列。在一些實施例中，效應細胞為 $\alpha\beta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR γ 及/或 δ 鏈之表現的 $\gamma\delta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞係選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群。

在本文所述之一些此類實施例中之任一者中，當在類似條件下比較時，abTCR效應細胞之嵌合受體內化速率低於對應CAR效應細胞(諸如於表面上呈遞包含abTCR之抗體部分的CAR的效應細胞，該CAR例如包含含有abTCR之抗體可變域之scFv的CAR)。舉例而言，在一些實施例中，在類似條件下在嵌合受體效應細胞之靶抗原依賴性刺激之後，abTCR效應細胞之嵌合受體內化速率低於對應CAR效應細胞。在一些實施例中，在用abTCR之靶抗原刺激之後約90分鐘，abTCR效應細胞具有小於約50% (諸如小於約45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%或5%中之任一者，包括此等值之間的任何範圍)之abTCR內化。在一些實施例中，abTCR效應細胞為abTCR T細胞。

在本文所述之一些此類實施例中之任一者中，當在類似條件下比較時，abTCR效應細胞之耗盡率及/或發生率低於對應CAR效應細胞(諸如於

表面上呈遞包含abTCR之抗體部分的CAR的效應細胞)。效應細胞耗盡可藉由此項技術中已知之任何方式測定，諸如藉由量測耗盡標記物之表現量，耗盡標記物包括(但不限於) PD-1、TIM-3及LAG-3。舉例而言，在一些實施例中，在類似條件下在嵌合受體效應細胞之靶抗原依賴性刺激之後，abTCR效應細胞之一或多個耗盡標記物(諸如PD-1、TIM-3或LAG-3)的表現量低於對應CAR效應細胞。在一些實施例中，在類似條件下在嵌合受體效應細胞之靶抗原依賴性刺激之後，abTCR效應細胞中一或多個耗盡標記物(諸如PD-1、TIM-3或LAG-3)為陽性之發生率低於對應CAR效應細胞。在一些實施例中，在用abTCR之靶抗原刺激之後，abTCR效應細胞中一或多個耗盡標記物(諸如PD-1、TIM-3或LAG-3)為陽性之發生率小於約50% (諸如小於約45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%、5%、4%、3%、2%、1%中之任一者，包括此等值之間的任何範圍)。在一些實施例中，abTCR效應細胞為abTCR T細胞。發生率可藉由此項技術中已知之任何方式計算，例如藉由定量嵌合受體效應細胞群體中耗盡標記物為陽性的嵌合受體效應細胞之百分比，其中耗盡標記物為陽性之細胞的百分比即為發生率。

在本文所述之一些此類實施例中之任一者中，當在類似條件下比較時，abTCR效應細胞之最後分化率及/或發生率低於對應CAR效應細胞(諸如於表面上呈遞包含abTCR之抗體部分的CAR的效應細胞)。最後分化可藉由此項技術中已知之任何方式測定，諸如藉由量測分化標記物之表現量，分化標記物包括(但不限於) CD28、CCR7及顆粒酶B。舉例而言，在一些實施例中，在類似條件下，相比於對應CAR效應細胞，abTCR效應細胞中一或多個最後分化標記物(諸如顆粒酶B)之表現量較低及/或一或多

個非最後分化標記物(諸如CD28或CCR7)之表現較多。在一些實施例中，在類似條件下，相比於對應CAR效應細胞，abTCR效應細胞中一或多個最後分化標記物(諸如顆粒酶B)為陽性之發生率較低及/或一或多個非最後分化標記物(諸如CD28或CCR7)為陽性之發生率較大。在一些實施例中，在用abTCR之靶抗原刺激之後，abTCR效應細胞中一或多個最後分化標記物(諸如顆粒酶B)為陽性之發生率小於約50% (諸如小於約45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%、5%、4%、3%、2%、1%中之任一者，包括此等值之間的任何範圍)，及/或一或多個非最後分化標記物(諸如CD28或CCR7)為陽性之發生率大於約10% (諸如大於約15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%中之任一者，包括此等值之間的任何範圍)。在一些實施例中，abTCR效應細胞為abTCR T細胞。發生率可藉由此項技術中已知之任何方式計算，例如藉由定量嵌合受體效應細胞群體中最後分化標記物為陽性之嵌合受體效應細胞的百分比，其中最後分化標記物為陽性之細胞的百分比即為發生率。

在本文所述之一些此類實施例中之任一者中，當在類似條件下比較時，abTCR效應細胞之增殖率大於對應CAR效應細胞(諸如於表面上呈遞包含abTCR之抗體部分的CAR的效應細胞)。增殖可藉由此項技術中已知之任何方式測定，諸如藉由量測染料稀釋。在一些實施例中，abTCR效應細胞為abTCR T細胞。

製備abTCR

在一些實施例中，根據本文所述abTCR中之任一者，抗體部分為包含來自單株抗體之序列的Fab樣抗原結合模組。在一些實施例中，Fab樣

抗原結合模組包含來自單株抗體之 V_H 、 C_H1 、 V_L 及 C_L 域。單株抗體可例如使用融合瘤方法製備，諸如由Kohler及Milstein, *Nature*, 256:495 (1975)及Sergeeva等人, *Blood*, 117(16):4262-4272所述之彼等方法。

在融合瘤方法中，倉鼠、小鼠或其他適當宿主動物通常用免疫劑免疫以產生淋巴細胞，其產生或能夠產生將特異性結合於免疫劑之抗體。或者，淋巴細胞可在活體外免疫。免疫劑可包括相關蛋白質之多肽或融合蛋白，或包含至少兩個分子之複合體，諸如包含肽及MHC蛋白質之複合體。通常，若需要人類來源之細胞，則使用周邊血液淋巴細胞(「PBL」)；或若需要非人類哺乳動物來源，則使用脾細胞或淋巴結細胞。隨後使用適合融合劑(諸如聚乙二醇)使淋巴細胞與永生化細胞株融合以形成融合瘤細胞。參見例如Goding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice* (New York: Academic Press, 1986), 第59-103頁。永生化細胞株通常為經轉型之哺乳動物細胞，尤其是嚙齒動物、牛類及人類來源之骨髓瘤細胞。通常採用大鼠或小鼠骨髓瘤細胞株。融合瘤細胞可在較佳含有一或多種抑制未融合的永生化細胞生長或存活之物質的適合培養基中培養。舉例而言，若親本細胞缺乏酶次黃嘌呤-鳥嘌呤磷酸核糖基轉移酶(HGPRT或HPRT)，則用於融合瘤之培養基通常將包括次黃嘌呤、胺基喋呤(aminopterin)及胸苷(「HAT培養基」)，其阻止缺乏HGPRT之細胞生長。

在一些實施例中，永生化細胞株有效融合，藉由所選產抗體細胞支持抗體之穩定高含量表現且對於諸如HAT培養基之培養基敏感。在一些實施例中，永生化細胞株為鼠類骨髓瘤細胞株，其可例如獲自Salk Institute Cell Distribution Center, San Diego, California及American Type Culture

Collection, Manassas, Virginia。用於產生人類單株抗體之人類骨髓瘤及小鼠-人類雜骨髓瘤細胞株亦已有描述。Kozbor, *J. Immunol.*, 133:3001 (1984)；Brodeur等人 *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications* (Marcel Dekker, Inc.: New York, 1987) 第51-63頁。

隨後可分析培養融合瘤細胞之培養基中針對多肽之單株抗體的存在情況。由融合瘤細胞產生之單株抗體的結合特異性可藉由免疫沈澱或藉由活體外結合分析(諸如放射免疫分析(RIA)或酶聯免疫吸附分析(ELISA))測定。該等技術及分析為此項技術中已知的。單株抗體之結合親和力可例如藉由Munson及Pollard, *Anal. Biochem.*, 107:220 (1980)之Scatchard分析測定。

在鑑別所需融合瘤細胞之後，純系可藉由限制稀釋程序次選殖且藉由標準方法生長。Goding, 同前文獻。出於此目的之適合培養基包括例如杜爾貝科氏改良伊格爾培養基(Dulbecco's Modified Eagle's Medium)及RPMI-1640培養基。或者，融合瘤細胞可以腹水形式活體內生長於哺乳動物中。

次純系所分泌之單株抗體可藉由習知免疫球蛋白純化程序(諸如蛋白A-瓊脂糖、羥磷灰石層析、凝膠電泳、透析或親和層析)自培養基或腹水液分離或純化。

在一些實施例中，根據本文所述abTCR中之任一者，抗體部分為包含選自抗體部分文庫(諸如呈遞scFv或Fab片段之噬菌體文庫)的純系之序列的Fab樣抗原結合模組。純系可藉由篩選組合文庫中具有所要活性之抗體片段來鑑別。舉例而言，此項技術中已知多種用於產生噬菌體呈現文庫且針對具有所需結合特徵之抗體篩選此類文庫的方法。此類方法綜述於例

如Hoogenboom等人, *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien等人編, Human Press, Totowa, NJ, 2001) 中, 且進一步描述於例如McCafferty等人, *Nature* 348:552-554; Clackson等人, *Nature* 352: 624-628 (1991); Marks等人, *J. Mol. Biol.* 222: 581-597 (1992); Marks及Bradbury, *Methods in Molecular Biology* 248:161-175 (Lo編, Human Press, Totowa, NJ, 2003); Sidhu等人, *J. Mol. Biol.* 338 (2): 299-310 (2004); Lee等人, *J. Mol. Biol.* 340 (5): 1073-1093 (2004); Fellouse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101 (34): 12467-12472 (2004); 及Lee等人, *J. Immunol. Methods* 284 (1-2): 119-132 (2004)中。

在某些噬菌體呈現方法中, V_H 及 V_L 基因之譜系分別藉由聚合酶鏈反應(PCR)選殖且在噬菌體文庫中隨機重組, 隨後可如Winter等人, *Ann. Rev. Immunol.* 12: 433-455 (1994)中所述, 篩選出結合抗原之噬菌體。噬菌體通常呈現抗體片段, 呈單鏈Fv (scFv)片段形式或呈Fab片段形式的抗體片段。來自免疫來源之文庫提供抗免疫原之高親和力抗體而無需建構融合瘤。或者, 可選殖原始譜系(例如來自人類)以提供針對廣泛範圍之非自體抗原以及自體抗原之單一抗體來源而無需任何免疫接種, 如Griffiths等人, *EMBO J.* 12: 725-734 (1993)所述。最後, 原始文庫亦可以合成方式如下製備: 自幹細胞選殖未重排V基因區段, 且使用含有隨機序列之PCR引子以編碼高度可變CDR3區且實現活體外重排, 如Hoogenboom及Winter, *J. Mol. Biol.*, 227: 381-388 (1992)所述。描述人類抗體噬菌體文庫之專利公開案包括例如: 美國專利第5,750,373號及美國專利公開案第2005/0079574號、第2005/0119455號、第2005/0266000號、第2007/0117126號、第2007/0160598號、第2007/0237764號、第

2007/0292936號及第2009/0002360號。

Fab樣抗原結合模組可使用噬菌體呈現製備以篩選文庫中對靶抗原(諸如肽/MHC I類/II類複合體或細胞表面抗原)具有特異性的抗體。文庫可為具有至少 1×10^9 (諸如至少約 1×10^9 、 2.5×10^9 、 5×10^9 、 7.5×10^9 、 1×10^{10} 、 2.5×10^{10} 、 5×10^{10} 、 7.5×10^{10} 或 1×10^{11} 中之任一者)個獨特人類抗體片段之多樣性之人類scFv噬菌體呈現文庫。在一些實施例中，文庫為建構自DNA之未處理人類文庫，該DNA係自來自健康供體之人類PMBC及脾臟提取，涵蓋所有人類重鏈及輕鏈子族。在一些實施例中，文庫為建構自DNA之未處理人類文庫，該DNA係自患有各種疾病之患者，諸如患有自體免疫疾病之患者、癌症患者及患有傳染性疾病之患者分離之PBMC提取。在一些實施例中，文庫為半成人類文庫，其中重鏈CDR3為完全隨機化的，所有胺基酸(除半胱胺酸之外)同等地可能存在於任何指定位置(參見例如Hoet, R.M. 等人, *Nat. Biotechnol.* 23(3):344-348, 2005)。在一些實施例中，半成人類文庫之重鏈CDR3之長度為約5至約24 (諸如約5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23或24中之任一者)個胺基酸。在一些實施例中，該文庫為全合成噬菌體呈現文庫。在一些實施例中，文庫為非人類噬菌體呈現文庫。

以高親和力結合至靶抗原之噬菌體純系可如下選擇：藉由將噬菌體反覆結合至靶抗原，該靶抗原結合至固體載體(諸如用於溶液淘選之珠粒或用於細胞淘選之哺乳動物細胞)，隨後移除未結合噬菌體且溶離特異性結合之噬菌體。在溶液淘選之實例中，靶抗原可經生物素標記以固定至固體載體。生物素標記之靶抗原與噬菌體文庫及固體載體(諸如抗生蛋白鏈菌素結合之Dynabeads M-280)混合，且隨後分離靶抗原-噬菌體-珠粒複合

體。所結合的噬菌體純系隨後經溶離且用於感染用於表現及純化之適當宿主細胞，諸如大腸桿菌(*E. coli*) XL1-Blue。在細胞淘選之實例中，負載有AFP肽之T2細胞(缺乏TAP之HLA-A*02:01⁺淋巴母細胞細胞株)與噬菌體文庫混合，其後收集細胞且所結合的純系經溶離且用於感染用於表現及純化之適當宿主細胞。淘選可藉由溶液淘選、細胞淘選或兩者之組合進行多個(諸如約2、3、4、5、6或更多個中之任一者)回合以富集特異性結合至靶抗原之噬菌體純系。可藉由此項技術中已知之任何方法，包括例如ELISA及FACS來測試所富集之噬菌體純系與靶抗原之特異性結合。

人類及人類化抗體部分

abTCR抗體部分可為人類或人類化的。人類化形式之非人類(例如鼠類)抗體部分為嵌合免疫球蛋白、免疫球蛋白鏈或其片段(諸如Fv、Fab、Fab'、F(ab')₂、scFv或抗體之其他抗原結合子序列)，通常含有源自非人類免疫球蛋白之最小序列。人類化抗體部分包括人類免疫球蛋白、免疫球蛋白鏈或其片段(接受者抗體)，其中接受者CDR之殘基替換為具有所要特異性、親和力及能力的非人類物種(諸如小鼠、大鼠或兔)之CDR(供者抗體)的殘基。在一些情況下，人類免疫球蛋白之Fv構架殘基替換為相應非人類殘基。人類化抗體部分亦可包含在接受者抗體部分中及在所引入之CDR或構架序列中均不存在之殘基。一般而言，人類化抗體部分可包含基本上所有，至少一個且通常兩個可變域，其中所有或基本上所有CDR區對應於非人類免疫球蛋白之彼等CDR區且所有或基本上所有FR區為人類免疫球蛋白共同序列之彼等FR區。參見例如Jones等人, *Nature*, 321: 522-525 (1986)；Riechmann等人, *Nature*, 332: 323-329 (1988)；Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.*, 2:593-596 (1992)。

一般而言，人類化抗體部分具有一或多個自非人類來源引入至其中之胺基酸殘基。此等非人類胺基酸殘基通常稱為「輸入」殘基，其通常取自「輸入」可變域。根據一些實施例，人類化可基本上遵循Winter及同事之方法(Jones等人, *Nature*, 321: 522-525 (1986) ; Riechmann等人, *Nature*, 332: 323-327 (1988) ; Verhoeyen等人, *Science*, 239: 1534-1536 (1988))，藉由用人類抗體部分之對應序列取代啮齒動物CDR或CDR序列進行。因此，此類「人類化」抗體部分為如下抗體部分(美國專利第4,816,567號)，其中基本上不到完整的人類可變域已經來自非人類物種之對應序列取代。實際上，人類化抗體部分通常為一些CDR殘基且可能一些FR殘基經來自啮齒動物抗體中之類似位點的殘基取代之人類抗體部分。

作為人類化之替代方案，可產生人類抗體部分。舉例而言，現在可能產生在免疫接種後能夠在不產生內源性免疫球蛋白的情況下產生人類抗體之完全譜系的轉殖基因動物(例如小鼠)。舉例而言，已描述嵌合型生殖系突變小鼠中之抗體重鏈接合區(JH)基因的同型接合缺失導致完全抑制內源性抗體產生。將人類生殖系免疫球蛋白基因陣列轉移至此類生殖系突變小鼠中將導致在抗原攻擊時產生人類抗體。參見例如Jakobovits等人, *PNAS USA*, 90:2551 (1993) ; Jakobovits等人, *Nature*, 362:255-258 (1993) ; Bruggemann等人, *Year in Immunol.*, 7:33 (1993) ; 美國專利第5,545,806號、第5,569,825號、第5,591,669號；第5,545,807號；及WO 97/17852。或者，可藉由將人類免疫球蛋白基因座引入轉殖基因動物(例如內源免疫球蛋白基因已部分或完全不活化的小鼠)中來製備人類抗體。在攻擊之後，觀察到有人類抗體產生，其在所有方面與在人類中所見極其類似，包括基因重排、組裝及抗體譜系。此方法描述於例如美國專利第

5,545,807 號；第 5,545,806 號；第 5,569,825 號；第 5,625,126 號；第 5,633,425 號；及第 5,661,016 號，及 Marks 等人, *Bio/Technology*, 10: 779-783 (1992)；Lonberg 等人, *Nature*, 368: 856-859 (1994)；Morrison, *Nature*, 368: 812-813 (1994)；Fishwild 等人, *Nature Biotechnology*, 14: 845-851 (1996)；Neuberger, *Nature Biotechnology*, 14: 826 (1996)；Lonberg 及 Huszar, *Intern. Rev. Immunol.*, 13: 65-93 (1995) 中。

人類抗體亦可藉由活體外活化 B 細胞(參見美國專利 5,567,610 及 5,229,275)或藉由使用此項技術中已知之各種技術(包括噬菌體呈現文庫)產生。Hoogenboom 及 Winter, *J. Mol. Biol.*, 227:381 (1991)；Marks 等人, *J. Mol. Biol.*, 222:581 (1991)。Cole 等人及 Boerner 等人之技術亦可用於製備人類單株抗體。Cole 等人, *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, 第 77 頁 (1985) 及 Boerner 等人, *J. Immunol.*, 147 (1): 86-95 (1991)。

變異體

在一些實施例中，涵蓋本文所提供之抗體部分之胺基酸序列變異體。舉例而言，可能需要改進抗體部分之結合親和力及/或其他生物特性。抗體部分之胺基酸序列變異體可藉由將適當修飾引入編碼該抗體部分之核苷酸序列中或藉由肽合成製備。此類修飾包括例如在抗體部分之胺基酸序列內的殘基之缺失及/或插入及/或取代。可進行缺失、插入及取代之任何組合以獲得最終建構物，其限制條件為最終建構物具有所要特徵，例如抗原結合。

在一些實施例中，提供具有一或多個胺基酸取代之抗體部分變異體。用於取代型突變誘發之相關位點包括 HVR 及 FR。胺基酸取代可引入

至相關抗體部分中且針對所需活性篩選產物，所需活性例如保留/提高之抗原結合或降低之免疫原性。

保守取代顯示於下表1中。

表1：保守取代

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

胺基酸可根據共同側鏈特性分組為不同類別：

- 疏水性：正白胺酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile；
- 中性親水性：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；
- 酸性：Asp、Glu；
- 鹼性：His、Lys、Arg；
- 影響鏈取向之殘基：Gly、Pro；
- 芳族：Trp、Tyr、Phe。

非保守取代將必然伴有將此等類別中之一者之成員換成另一個類

別。

例示性取代型變異體為親和力成熟抗體部分，其可例如使用基於噬菌體呈現之親和力成熟技術便利地產生。簡言之，使一或多個CDR殘基突變且在噬菌體上呈現變異抗體部分且針對特定生物活性(例如結合親和力)進行篩選。改變(例如取代)可在HVR中進行以例如提高抗體部分親和力。此類改變可在HVR「熱點」(亦即由在體細胞成熟過程期間經歷高頻率突變之密碼子所編碼之殘基(參見例如Chowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179-196 (2008)))及/或特異性決定殘基(SDR)中進行，其中測試所得變異體V_H或V_L之結合親和力。藉由建構二級文庫及自二級文庫再選擇達成之親和力成熟已描述於例如Hoogenboom等人 *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien等人編, Human Press, Totowa, NJ, (2001))中。

在親和力成熟之一些實施例中，藉由多種方法(例如易錯PCR、鏈改組或寡核苷酸引導之突變誘發)中之任一種將多樣性引入經選擇用於成熟之可變基因中。隨後產生二級文庫。隨後篩選該文庫以鑑別任何具有所需親和力之抗體部分變異體。引入多樣性之另一方法涉及HVR引導途徑，其中將若干HVR殘基(例如一次4-6個殘基)隨機分組。參與抗原結合之HVR殘基可特定鑑別，例如使用丙胺酸掃描突變誘發或模型化來鑑別。特定言之，通常靶向CDR-H3及CDR-L3。

在一些實施例中，取代、插入或缺失可發生在一或多個HVR內，只要此等改變實質上不降低抗體部分結合抗原之能力即可。舉例而言，可在HVR中進行實質上不降低結合親和力之保守改變(例如如本文所提供之保守取代)。此類改變可在HVR「熱點」或SDR外。在上文所提供之變異V_H

及V_L序列之某些實施例中，各HVR未改變或含有不超過一個、兩個或三個胺基酸取代。

用於鑑別抗體部分之可針對突變誘發靶向之殘基或區域的適用方法稱為「丙胺酸掃描突變誘發」，如由Cunningham及Wells (1989) *Science*, 244:1081-1085所描述。在此方法中，鑑別一個殘基或一組標靶殘基(例如帶電殘基，諸如arg、asp、his、lys及glu)且用中性或帶負電胺基酸(例如丙胺酸或聚丙胺酸)替換以判定抗體部分與抗原之相互相用是否受到影響。可在對初始取代顯示功能敏感性之胺基酸位置處引入其他取代。或者或另外，可測定抗原-抗體部分複合體之晶體結構以鑑別抗體部分與抗原之間的接觸點。此類接觸殘基及鄰近殘基可作為取代候選物之標靶或排除在取代候選物之外。可篩選變體以判定其是否含有所需特性。

胺基酸序列插入包括在一個殘基至含有一百個或更多個殘基之多肽的長度範圍內的胺基及/或羧基端融合物，以及具有單個或多個胺基酸殘基之序列內插入。末端插入之實例包括具有N端甲硫胺醯基殘基之抗體部分。抗體部分之其他插入變異體包括抗體部分之N端或C端與酶(例如對於ADEPT而言)或延長抗體部分之血清半衰期之多肽的融合物。

衍生物

在一些實施例中，根據本文所述abTCR中之任一者的abTCR可經進一步修飾以含有此項技術中已知且可易於獲得之額外非蛋白質部分。適合於abTCR衍生作用之部分包括(但不限於)水溶性聚合物。水溶性聚合物之非限制性實例包括(但不限於)聚乙二醇(PEG)、乙二醇/丙二醇共聚物、羧甲基纖維素、聚葡萄糖、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯啶酮、聚-1,3-二氧雜環戊烷、聚-1,3,6-三噁烷、乙烯/順丁烯二酸酐共聚物、聚胺基酸(均聚物或無

規共聚物)及聚葡萄糖或聚(n-乙基吡咯啉酮)聚乙二醇、丙二醇均聚物、聚氧化丙烯/氧化乙烯共聚物、聚氧乙烯多元醇(例如甘油)、聚乙烯醇及其混合物。聚乙二醇丙醛因其於水中之穩定性而可具有製造優勢。聚合物可具有任何分子量，且可為分支鏈或未分支的。連接至abTCR之聚合物之數目可變化，且若連接一個以上聚合物，則其可為相同或不同分子。一般而言，用於衍生作用之聚合物之數目及/或類型可基於包括(但不限於)abTCR之特定待改良特性或功能、abTCR衍生物是否將用於限定條件下之療法等考慮因素來確定。

在一些實施例中，提供abTCR與可藉由暴露於輻射選擇性地加熱之非蛋白質部分之結合物。在一些實施例中，非蛋白質部分為碳奈米管(Kam等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102: 11600-11605 (2005))。輻射可具有任何波長，且包括(但不限於)不損害普通細胞但將非蛋白質部分加熱至殺死abTCR-非蛋白質部分近側之細胞之溫度的波長。

製備abTCR效應細胞

在一個態樣中，本發明提供表現abTCR之效應細胞(諸如淋巴細胞，例如T細胞)。本文提供表現abTCR之效應細胞(諸如T細胞)(abTCR效應細胞，諸如abTCR T細胞)的例示性製備方法。

在一些實施例中，abTCR效應細胞(諸如abTCR T細胞)可藉由將一或多個編碼特異性結合至靶抗原(諸如疾病相關抗原)之abTCR (諸如本文所述abTCR中之任一者)的核酸(包括例如慢病毒載體)引入至效應細胞中而產生。將一或多個核酸引入至效應細胞中可使用此項技術中已知之技術實現，諸如本文針對核酸所述之彼等技術。在一些實施例中，本發明之abTCR效應細胞(諸如abTCR T細胞)能夠在活體內複製，產生可促成與靶

抗原之表現相關之疾病(諸如癌症或病毒感染)之持續控制的長期持久性。

在一些實施例中，本發明係關於使用淋巴細胞輸注投與經基因修飾T細胞來治療患有或有風險患上與靶抗原之表現相關之疾病及/或病症(在本文中亦稱作「靶抗原陽性」或「TA陽性」疾病或病症)的患者，該疾病及/或病症包括例如癌症或病毒感染，該經基因修飾T細胞表現根據本文所述abTCR中之任一者的特異性結合至靶抗原的abTCR。在一些實施例中，在治療中使用自體淋巴細胞輸注。自需要治療之患者收集自體PBMC且使用本文所描述及此項技術中已知之方法活化及擴增T細胞，且隨後將其輸注回患者體內。

在一些實施例中，提供一種表現根據本文所述abTCR中之任一者的特異性結合至靶抗原之abTCR的T細胞(在本文中亦稱作「abTCR T細胞」)。本發明之abTCR T細胞可經歷穩固的活體內T細胞擴增且可建立以高含量在血液及骨髓中存留較長時間的靶抗原特異性記憶細胞。在一些實施例中，輸注至患者體內的本發明abTCR T細胞可活體內消除具有靶抗原相關疾病之患者體內呈遞靶抗原之細胞，諸如呈遞靶抗原之癌症或病毒感染細胞。在一些實施例中，輸注至患者體內的本發明abTCR T細胞可活體內消除具有難以用至少一種習知療法治療之靶抗原相關疾病的患者體內呈遞靶抗原之細胞，諸如呈遞靶抗原之癌症或病毒感染細胞。

在T細胞擴增及基因修飾之前，自個體獲得T細胞來源。T細胞可獲自多種來源，包括周邊血液單核細胞、骨髓、淋巴結組織、臍帶血、胸腺組織、來自感染位點之組織、腹水、肋膜積液、脾組織及腫瘤。在本發明之一些實施例中，可使用任何數目的此項技術中可用之T細胞株。在本發明之一些實施例中，T細胞可獲自使用任何數目的熟習此項技術者已知之

技術(諸如Ficoll™分離)自個體收集之血液單元。在一些實施例中，藉由血球分離(apheresis)獲得來自個體之循環血液的細胞。血球分離產物通常含有淋巴細胞，包括T細胞、單核細胞、粒細胞、B細胞、其他有核白血球、紅血球及血小板。在一些實施例中，可洗滌藉由血球分離收集之細胞以移除血漿部分且將細胞置於適當緩衝液或培養基中以進行後續處理步驟。在一些實施例中，用磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)洗滌細胞。在一些實施例中，洗滌溶液缺乏鈣且可能缺乏鎂或可能缺乏許多(若並非所有)二價陽離子。如一般技術者將容易瞭解，洗滌步驟可藉由熟習此項技術者已知的方法實現，諸如藉由根據製造商說明書使用半自動「流通」離心(例如Cobe 2991細胞處理器、Baxter CytoMate或Haemonetics細胞保存器5)。在洗滌之後，細胞可再懸浮於多種生物相容性緩衝劑中，諸如不含Ca²⁺、不含Mg²⁺之PBS、PlasmaLyte A或其他具有或不具有緩衝劑之生理鹽水溶液。或者，可移除血球分離樣品之非所要組分且將細胞直接再懸浮於培養基中。

在一些實施例中，藉由溶解紅血球及例如藉由經PERCOLL™梯度離心或藉由逆流離心淘析耗盡單核細胞而自周邊血液淋巴細胞分離T細胞。T細胞之特異性亞群(諸如CD3⁺、CD28⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD45RA⁺及CD45RO⁺ T細胞)可藉由正向選擇或負向選擇技術進一步分離。舉例而言，在一些實施例中，藉由與抗CD3/抗CD28 (亦即3×28)結合之珠粒(諸如DYNABEADS® M-450 CD3/CD28 T)一起培育足以正向選擇所要T細胞之時段來分離T細胞。在一些實施例中，時段為約30分鐘。在一些實施例中，時段在30分鐘至36小時或更長(包括此等值之間的所有範圍)的範圍內。在一些實施例中，時段為至少1、2、3、4、5或6小時。在一些實施

例中，時段為10至24小時。在一些實施例中，培育時段為24小時。關於T細胞自患有白血病之患者的分離，使用較長培育時間(諸如24小時)可提高細胞產量。在任何相較於其他細胞類型存在較少T細胞的情形中可使用較長培育時間分離T細胞，諸如自腫瘤組織或免疫功能不全個體分離腫瘤浸潤淋巴細胞(TIL)。此外，使用較長培育時間可提高CD8⁺ T細胞之捕捉效率。因此，藉由僅縮短或延長允許T細胞結合至CD3/CD28珠粒之時間及/或藉由增加或減小珠粒與T細胞之比率，可對於或針對在培養起始時或該過程期間之其他時間點優先選擇T細胞亞群。另外，藉由增加或減小珠粒或其他表面上抗CD3及/或抗CD28抗體之比率，可對於或針對在培養起始時或在其他所要時間點優先選擇T細胞亞群。熟習此項技術者將認識到本發明之上下文中亦可使用多個選擇回合。在一些實施例中，可能需要進行選擇程序且在活化及擴增過程中使用「未經選擇之」細胞。「未經選擇之」細胞亦可進行其他選擇回合。

藉由負向選擇富集T細胞群體可使用針對負向選擇細胞所特有之表面標記物的抗體之組合來實現。一種方法為經負磁性免疫黏附或流動式細胞量測術分選及/或選擇細胞，該負磁性免疫黏附或流動式細胞量測術使用針對負向選擇細胞上存在之細胞表面標記物之單株抗體混合物。舉例而言，為了藉由負向選擇富集CD4⁺細胞，單株抗體混合物通常包括針對CD14、CD20、CD11b、CD16、HLA-DR及CD8之抗體。在一些實施例中，可能需要富集或正向選擇通常表現CD4⁺、CD25⁺、CD62Lhi、GITR⁺及FoxP3⁺之調節T細胞。或者，在一些實施例中，T調節細胞藉由抗CD25結合珠粒或其他類似選擇方法耗盡。

為了藉由正向選擇或負向選擇分離所要細胞群體，細胞濃度及表面

(例如粒子，諸如珠粒)可變化。在一些實施例中，可能需要顯著減小珠粒及細胞混合在一起之體積(亦即增加細胞濃度)，以確保細胞及珠粒之最大接觸。舉例而言，在一些實施例中，使用約20億個細胞/毫升之濃度。在一些實施例中，使用約10億個細胞/毫升之濃度。在一些實施例中，使用大於約100,000,000個細胞/毫升。在一些實施例中，使用約10,000,000、15,000,000、20,000,000、25,000,000、30,000,000、35,000,000、40,000,000、45,000,000或50,000,000個細胞/毫升中的任一者之細胞濃度。在一些實施例中，使用約75,000,000、80,000,000、85,000,000、90,000,000、95,000,000或100,000,000個細胞/毫升中的任一者之細胞濃度。在一些實施例中，使用約125,000,000或約150,000,000個細胞/毫升之濃度。使用高濃度可導致增加之細胞產量、細胞活化及細胞擴增。此外，使用高細胞濃度使得更有效捕捉可能弱表現所關注靶抗原之細胞(諸如CD28陰性T細胞)或自存在許多腫瘤細胞之樣品(亦即白血病血液、腫瘤組織等)更有效捕捉細胞。此類細胞群體可具有治療價值且期望可以獲得。舉例而言，使用高細胞濃度允許更有效選擇通常具有較弱CD28表現之CD8⁺ T細胞。

在本發明之一些實施例中，T細胞直接獲自治療之後的患者。就此而言，已觀察到，在某些癌症治療之後，尤其是使用破壞免疫系統之藥物治療之後，在治療之後不久在患者通常將自治療恢復的時段期間，所獲得之T細胞之品質可為最佳的或其離體擴增之能力得到改良。同樣，在使用本文所描述之方法離體操縱之後，此等細胞之增強移植及活體內擴增可呈較佳狀態。因此，本發明之上下文內涵蓋在此恢復階段期間收集血細胞(包括T細胞)、樹突狀細胞或造血譜系之其他細胞。此外，在一些實施例中，

可使用移動(例如用GM-CSF移動)及調節方案在個體內建立條件，其中尤其在治療之後的限定時間窗期間宜再增殖、再循環、再生及/或擴增特定細胞類型。說明性細胞類型包括T細胞、B細胞、樹突狀細胞及免疫系統之其他細胞。

無論係在基因修飾T細胞以表現所需 $\alpha\beta$ TCR之前或之後，T細胞一般均可使用如例如以下各者中所描述之方法活化及擴增：美國專利第6,352,694；6,534,055；6,905,680；6,692,964；5,858,358；6,887,466；6,905,681；7,144,575；7,067,318；7,172,869；7,232,566；7,175,843；5,883,223；6,905,874；6,797,514；6,867,041號；及美國專利申請公開案第20060121005號。

一般而言，本發明之T細胞藉由與某一表面接觸而擴增，該表面上連接有刺激CD3/TCR複合體相關信號之藥劑及刺激T細胞表面上之共刺激分子之配位體。特定言之，可諸如藉由與抗CD3抗體或其抗原結合片段，或固定於表面上之抗CD28抗體接觸，或藉由與鈣離子載體結合之蛋白激酶C活化劑(例如苔蘚蟲素(bryostatin))接觸來刺激T細胞群體。為了共刺激T細胞表面上之輔助分子，使用結合輔助分子之配位體。舉例而言，T細胞群體可與抗CD3抗體及抗CD28抗體在適於刺激T細胞增殖之條件下接觸。為了刺激CD4⁺ T細胞或CD8⁺ T細胞之增殖，抗CD3抗體及抗CD28抗體。抗CD28抗體之實例包括9.3、B-T3、XR-CD28 (Diaclone, Besançon, France)，可如此項技術中通常已知之其他方法一般可使用(Berg等人, *Transplant Proc.* 30 (8):3975-3977, 1998；Haanen等人, *J. Exp. Med.* 190 (9):1319-1328, 1999；Garland等人, *J. Immunol Meth.* 227 (1-2):53-63, 1999)。

在本文所述之任何此類實施例中之一些中，abTCR效應細胞之製備導致最小程度或基本上不耗盡abTCR效應細胞。舉例而言，在一些實施例中，製備引起小於約50% (諸如小於約45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10或5%中之任一者)之abTCR效應細胞被耗盡。效應細胞耗盡可藉由此項技術中已知之任何方式測定，包括本文所述之任何方式。

在本文所述之任何此類實施例中之一些中，abTCR效應細胞之製備導致abTCR效應細胞之最小程度或基本上無最後分化。舉例而言，在一些實施例中，製備導致小於約50% (諸如小於約45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10或5%中之任一者)之abTCR效應細胞發生最後分化。效應細胞分化可藉由此項技術中已知之任何方式測定，包括本文所述之任何方式。

在本文所述之任何此類實施例中之一些中，abTCR效應細胞之製備導致abTCR效應細胞上之abTCR之最小程度或基本上無內化。舉例而言，在一些實施例中，製備導致abTCR效應細胞上小於約50% (諸如小於約45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10或5%中之任一者)之abTCR發生內化。abTCR效應細胞上之abTCR之內化可藉由此項技術中已知之任何方式測定，包括本文所述之任何方式。

基因修飾

在一些實施例中，本發明之abTCR效應細胞(諸如abTCR T細胞)係藉由用編碼如本文所述之abTCR的病毒載體轉導效應細胞(諸如藉由本文所描述之方法製備的T細胞)而產生。病毒載體傳遞系統包括DNA及RNA病毒，其在傳遞至效應細胞之後具有游離或整合基因組。關於基因療法程序之綜述，參見Anderson, Science 256:808-813 (1992)；Nabel及Feigner,

TIBTECH 11 :211 - 217 (1993) ; Mitani及Caskey, TIBTECH 11 :162-166 (1993) ; Dillon, TIBTECH 11 : 167-175 (1993) ; Miller, Nature 357:455-460 (1992) ; Van Brunt, Biotechnology 6(10): 1149-1 154 (1988) ; Vigne, Restorative Neurology and Neuroscience 8:35-36 (1995) ; Kremer 及 Perricaudet, British Medical Bulletin 51(1):31-44 (1995) ; 及Yu等人, Gene Therapy 1 :13-26 (1994) 。 在一些實施例中，病毒載體為慢病毒載體，且abTCR效應細胞包含整合至abTCR效應細胞基因組中之慢病毒載體。 在一些實施例中，abTCR效應細胞為abTCR T細胞，其包含整合至其基因組中之慢病毒載體。

在一些實施例中，abTCR效應細胞為經修飾以阻斷或減少內源性TCR鏈中之一者或兩者之表現的T細胞。舉例而言，在一些實施例中，abTCR效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR α 及/或 β 鏈之表現的 $\alpha\beta$ T細胞，或者abTCR效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR γ 及/或 δ 鏈之表現的 $\gamma\delta$ T細胞。用於破壞基因表現之細胞修飾包括此項技術中已知的任何此類技術，包括例如RNA干擾(例如，siRNA、shRNA、miRNA)、基因編輯(例如，基於CRISPR或TALEN之基因剔除)及其類似者。

在一些實施例中，使用CRISPR/Cas系統產生T細胞之內源性TCR鏈中之一者或兩者之表現減少的abTCR T細胞。關於基因編輯之CRISPR/Cas系統之綜述，參見例如Jian W及Marraffini LA, *Annu. Rev. Microbiol.* 69, 2015 ; Hsu PD等人, *Cell*, 157(6):1262-1278, 2014 ; 及O'Connell MR等人, *Nature* 516: 263-266, 2014 。 在一些實施例中，使用基於TALEN之基因組編輯產生T細胞之內源性TCR鏈中之一者或兩者之表現減少的abTCR T細胞。

富集

在一些實施例中，提供一種富集異質性細胞群體中根據本文所述之abTCR效應細胞中之任一者的abTCR效應細胞的方法。

可藉由正向選擇技術富集特異性結合至靶抗原之abTCR效應細胞(諸如abTCR T細胞)的特定亞群。舉例而言，在一些實施例中，abTCR效應細胞(諸如abTCR T細胞)藉由與靶抗原結合之珠粒一起培育足以正向選擇所要abTCR效應細胞之時段來進行富集。在一些實施例中，時段為約30分鐘。在一些實施例中，時段在30分鐘至36小時或更長(包括此等值之間的所有範圍)的範圍內。在一些實施例中，時段為至少1、2、3、4、5或6小時。在一些實施例中，時段為10至24小時。在一些實施例中，培育時段為24小時。關於異質性細胞群體中以低含量存在之abTCR效應細胞之分離，使用較長培育時間(諸如24小時)可提高細胞產量。在任何相較於其他細胞類型存在較少abTCR效應細胞的情形中可使用較長培育時間分離abTCR效應細胞。熟習此項技術者將認識到本發明之上下文中亦可使用多個選擇回合。

為了藉由正向選擇分離所要abTCR效應細胞群體，細胞濃度及表面(例如，粒子，諸如珠粒)可變化。在一些實施例中，可能需要顯著減小珠粒及細胞混合在一起之體積(亦即增加細胞濃度)，以確保細胞及珠粒之最大接觸。舉例而言，在一些實施例中，使用約20億個細胞/毫升之濃度。在一些實施例中，使用約10億個細胞/毫升之濃度。在一些實施例中，使用大於約1億個細胞/毫升。在一些實施例中，使用約10,000,000、15,000,000、20,000,000、25,000,000、30,000,000、35,000,000、40,000,000、45,000,000或50,000,000個細胞/毫升中的任一者之細胞濃

度。在一些實施例中，使用約75,000,000、80,000,000、85,000,000、90,000,000、95,000,000或100,000,000個細胞/毫升中的任一者之細胞濃度。在一些實施例中，使用約125,000,000或約150,000,000個細胞/毫升之濃度。使用高濃度可導致增加之細胞產量、細胞活化及細胞擴增。此外，使用高細胞濃度使得更有效捕捉可能弱表現abTCR之abTCR效應細胞。

在本文所述之任何此類實施例中的一些中，富集導致最小程度或基本上無abTCR效應細胞耗盡。舉例而言，在一些實施例中，富集導致小於約50% (諸如小於約45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10或5%中之任一者)之abTCR效應細胞發生耗盡。效應細胞耗盡可藉由此項技術中已知之任何方式測定，包括本文所述之任何方式。

在本文所述之任何此類實施例中的一些中，富集導致最小程度或基本上無abTCR效應細胞之最後分化。舉例而言，在一些實施例中，富集導致小於約50% (諸如小於約45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10或5%中之任一者)之abTCR效應細胞發生最後分化。效應細胞分化可藉由此項技術中已知之任何方式測定，包括本文所述之任何方式。

在本文所述之任何此類實施例中的一些中，富集導致abTCR效應細胞上之abTCR的最小程度或基本上無內化。舉例而言，在一些實施例中，富集導致abTCR效應細胞上小於約50% (諸如小於約45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10或5%中之任一者)之abTCR發生內化。abTCR效應細胞上之abTCR之內化可藉由此項技術中已知之任何方式測定，包括本文所述之任何方式。

在本文所述之任何此類實施例中的一些中，富集導致abTCR效應細胞之增殖增加。舉例而言，在一些實施例中，富集導致abTCR效應細胞之

數目在富集之後增加至少約10% (諸如至少約20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%、200%、300%、400%、500%、1000%或更多中之任一者)。

因此，在一些實施例中，提供一種富集異質性細胞群體中表現特異性結合至靶抗原之abTCR的abTCR效應細胞的方法，其包含：a)使異質性細胞群體與包含靶抗原或其中所含之一或多個抗原決定基的配位體接觸，形成包含abTCR效應細胞結合至配位體的複合體；及b)自異質性細胞群體分離複合體，從而產生abTCR效應細胞富集的細胞群體。在一些實施例中，將配位體固定至固體載體。在一些實施例中，固體載體為微粒(諸如珠粒)。在一些實施例中，固體載體為表面(諸如孔的底部)。在一些實施例中，配位體經標籤標記。在一些實施例中，標籤為螢光分子、親和力標籤或磁性標籤。在一些實施例中，該方法進一步包含自配位體溶離abTCR效應細胞且回收溶離液。

文庫篩選

為了分離對靶抗原具有特異性的候選abTCR建構物，可使abTCR文庫(例如表現編碼複數個abTCR之核酸文庫的細胞)暴露於包含靶抗原或其中所含之一或多個抗原決定基的配位體，隨後分離文庫中特異性結合配位體之親和力成員。在一些實施例中，將配位體固定於固體載體上。在一些實施例中，載體可為珠粒表面、微量滴定盤、免疫管或此項技術中已知適用於此類目的的任何材料。在一些實施例中，在溶液中在所標記之配位體標靶(例如，生物素標記配位體)上發生相互作用。在一些實施例中，該程序涉及一或多個用於移除非特異性且非反應性文庫成員的洗滌步驟(淘選)。在一些實施例中，為了純化溶液中之複合體，藉由固定或藉由離心

捕捉複合體。在一些實施例中，將親和力成員捕捉於可溶性生物素標記配位體上，隨後於抗生蛋白鏈菌素珠粒上固定親和力複合體(親和力成員及配位體)。在一些實施例中，固體載體為珠粒。在一些實施例中，珠粒包括例如磁性珠粒(例如，來自Bangs Laboratories、Polysciences inc.、DynaL Biotech、Miltenyi Biotech或Quantum Magnetic)、非磁性珠粒(例如，Pierce及Upstate technology)、單分散珠粒(例如，DynaL Biotech及Microparticle GmbH)及多分散珠粒(例如，Chemagen)。磁性珠粒之使用在文獻中已有詳盡描述(Uhlen, M等人 (1994) *Advances in Biomagnetic Separation*, BioTechniques press, Westborough, MA)。在一些實施例中，藉由正向選擇純化親和力成員。在一些實施例中，藉由負向選擇純化親和力成員以移除不合需要之文庫成員。在一些實施例中，藉由正向及負向選擇步驟純化親和力成員。

一般而言，用於製備文庫建構物之技術將基於已知的基因工程技術。就此而言，將編碼文庫中待表現之abTCR的核酸序列併入至適合於待使用類型之表現系統的表現載體中。用於在諸如CD3⁺細胞之細胞中呈現的適當表現載體在此項技術中為熟知的且有描述。舉例而言，在一些實施例中，表現載體為病毒載體，諸如慢病毒載體。

在一些實施例中，提供一種核酸文庫，其包含編碼複數個根據本文所述實施例中之任一者的abTCR的序列。在一些實施例中，核酸文庫包含編碼複數個abTCR之病毒載體。在一些實施例中，病毒載體為慢病毒載體。

在一些實施例中，提供一種篩選根據本文所述實施例中之任一者的核酸文庫中編碼對靶抗原具有特異性之abTCR的序列的方法，其包含：a)

將核酸文庫引入至複數個細胞中，使得abTCR表現於複數個細胞之表面上；b)使複數個細胞與包含靶抗原或其中所含之一或多個抗原決定基之配位體一起培育；c)收集結合至配位體之細胞；及d)自步驟c)中所收集之細胞分離編碼abTCR之序列，從而鑑別對靶抗原具有特異性的abTCR。在一些實施例中，該方法進一步包含一或多個洗滌步驟。在一些實施例中，一或多個洗滌步驟係在步驟b)與c)之間進行。在一些實施例中，複數個細胞為複數個CD3+細胞。在一些實施例中，將配位體固定於固體載體上。在一些實施例中，固體載體為珠粒。在一些實施例中，收集結合至配位體之細胞包含自結合至固體載體之配位體溶離細胞且收集溶離液。在一些實施例中，配位體經標籤標記。在一些實施例中，標籤為螢光分子、親和力標籤或磁性標籤。在一些實施例中，收集結合至配位體之細胞包含分離包含該等細胞及經標記之配位體的複合體。在一些實施例中，自複合體解離該等細胞。

MHC蛋白質

MHC I類蛋白質為兩種主要類別之主要組織相容性複合體(MHC)分子中的一者(另一者為MHC II類)且發現於體內幾乎每一個有核細胞上。其功能為向T細胞呈現細胞內之蛋白質片段；健康細胞將忽略，而含有外來的或突變的蛋白質之細胞將受到免疫系統攻擊。因為MHC I類蛋白質呈遞源自胞溶質蛋白質之肽，所以MHC I類之呈遞路徑通常稱作胞溶質或內源性路徑。I類MHC分子結合主要由蛋白酶體降解胞溶質蛋白質產生的肽。隨後將MHC I:肽複合體插入至細胞之質膜中。肽結合至I類MHC分子之細胞外部分。因此，I類MHC之功能為向細胞毒性T細胞(CTL)呈現細胞內蛋白質。然而，I類MHC亦可在稱為交叉呈遞之過程中呈遞由外源性蛋

白質產生之肽。

MHC I類蛋白質由兩個多肽鏈組成： α 及 β 2-微球蛋白(β 2M)。兩條鏈經由 β 2M與 α 3域之相互作用非共價連接。僅 α 鏈為多形的且由HLA基因編碼，而 β 2M次單元並非多形的且由 β -2微球蛋白基因編碼。 α 3域跨越質膜且與T細胞之CD8共受體相互作用。 α 3-CD8相互作用將MHC I分子保持在適當的位置，而細胞毒性T細胞表面上之T細胞受體(TCR)結合其 α 1- α 2雜二聚體配位體，且檢查偶合肽之抗原性。 α 1及 α 2域摺疊而構成凹槽，用於肽結合。MHC I類蛋白質結合長度為8-10個胺基酸之肽。

MHC II類分子為通常僅發現於抗原呈遞細胞上之分子家族，抗原呈遞細胞諸如樹突狀細胞、單核吞噬細胞、一些內皮細胞、胸腺上皮細胞及B細胞。由II類肽呈遞之抗原源自細胞外蛋白質(並非如同I類中之胞溶質蛋白質)；因此，MHC II類依賴性抗原呈遞路徑稱作胞吞或外源性路徑。MHC II類分子之負載藉由吞噬作用發生；細胞外蛋白質遭胞吞，在溶酶體中消化，且所得抗原決定基肽片段負載至MHC II類分子上，其隨後遷移至細胞表面。

如同MHC I類分子一樣，II類分子亦為雜二聚體，但在此情況下由兩個均勻肽組成： α 及 β 鏈。子名稱 α 1、 α 2等係指HLA基因內之單獨域；各域通常由該基因內之不同外顯子編碼，且一些基因具有編碼前導序列、跨膜序列等之其他域。因為MHC II類分子之抗原結合凹槽在兩個末端均打開而I類分子上之對應凹槽在各末端關閉，所以由MHC II類分子呈遞之抗原更長，長度一般介於15個與24個胺基酸殘基之間。

人類白血球抗原(HLA)基因為MHC基因之人類型式。人體中之三種主要MHC I類蛋白質為HLA-A、HLA-B及HLA-C，而3種次要MHC I類

蛋白質為HLA-E、HLA-F及HLA-G。人體中參與抗原呈遞之三種主要MHC II類蛋白質為HLA-DP、HLA-DQ及HLA-DR，而其他MHC II類蛋白質HLA-DM及HLA-DO則參與抗原之內部處理及負載。HLA-A位列人體中具有最快演進編碼序列之基因中。截至2013年12月，存在2432種編碼1740種活性蛋白質及117種剔除式蛋白質之已知HLA-A對偶基因。HLA-A基因位於染色體6之短臂上且編碼HLA-A之較大 α 鏈成分。HLA-A α -鏈之變化對於HLA功能至關重要。此變化促進群體中之基因多樣性。由於各HLA對於某些結構之肽具有不同親和力，所以較多種HLA意謂較多種抗原『呈遞』於細胞表面上，增加群體子組將對任何指定外來侵入物具抗性之可能性。此減小單一病原體具有消滅整個人類群體之能力的可能性。各個體可表現至多兩種類型之HLA-A，分別來自其親本。一些個體將自親本繼承相同HLA-A，減少其個體HLA多樣性；然而，大多數個體將接受HLA-A之兩種不同複本。所有HLA組遵循此相同模式。換言之，個體可僅表現2432種已知HLA-A對偶基因中之一者或兩者。

所有對偶基因接受至少一個四位數分類，例如HLA-A*02:12。A表示對偶基因所屬之HLA基因。存在許多HLA-A對偶基因，使得藉由血清型之分類使分類簡化。下一對數字指示此分配。舉例而言，HLA-A*02:02、HLA-A*02:04及HLA-A*02:324全部為A2血清型(由*02前綴指示)之成員。此組為造成HLA相容性之主要因子。此後的所有數字無法藉由血清分型測定且經由基因定序指示。第二組數字指示產生何種HLA蛋白質。此等以發現順序指定且截至2013年12月，存在456種不同的已知HLA-A02蛋白質(指定名稱HLA-A*02:01至HLA-A*02:456)。可能的最短HLA名稱包括此等細節中之全部兩者。超出其的各擴增表示可或可不改變

蛋白質之核苷酸變化。

在一些實施例中，Fab樣抗原結合模組特異性結合至包含源自疾病相關抗原(諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原)之肽及MHC I類蛋白質的複合體，其中MHC I類蛋白質為HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-E、HLA-F或HLA-G。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A、HLA-B或HLA-C。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-B。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-C。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A01、HLA-A02、HLA-A03、HLA-A09、HLA-A10、HLA-A11、HLA-A19、HLA-A23、HLA-A24、HLA-A25、HLA-A26、HLA-A28、HLA-A29、HLA-A30、HLA-A31、HLA-A32、HLA-A33、HLA-A34、HLA-A36、HLA-A43、HLA-A66、HLA-A68、HLA-A69、HLA-A74或HLA-A80。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A02。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A*02:01-555中之任一者，諸如HLA-A*02:01、HLA-A*02:02、HLA-A*02:03、HLA-A*02:04、HLA-A*02:05、HLA-A*02:06、HLA-A*02:07、HLA-A*02:08、HLA-A*02:09、HLA-A*02:10、HLA-A*02:11、HLA-A*02:12、HLA-A*02:13、HLA-A*02:14、HLA-A*02:15、HLA-A*02:16、HLA-A*02:17、HLA-A*02:18、HLA-A*02:19、HLA-A*02:20、HLA-A*02:21、HLA-A*02:22或HLA-A*02:24。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A*02:01。所有高加索人(Caucasian)中有39-46%的人表現HLA-A*02:01且因此其代表用於本發明之MHC I類蛋白質之適合選擇。

在一些實施例中，Fab樣抗原結合模組特異性結合至包含源自疾病相

關抗原(諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原)之肽及MHC II類蛋白質的複合體，其中MHC II類蛋白質為HLA-DP、HLA-DQ或HLA-DR。在一些實施例中，MHC II類蛋白質為HLA-DP。在一些實施例中，MHC II類蛋白質為HLA-DQ。在一些實施例中，MHC II類蛋白質為HLA-DR。

適用於產生Fab樣抗原結合模組之肽可例如基於蛋白酶體及免疫蛋白酶體之HLA (諸如HLA-A*02:01)結合基元及裂解位點的存在，使用熟習此項技術者已知之電腦預測模型來確定。關於預測MHC結合位點，此類模型包括(但不限於) ProPred1 (更詳細地描述於Singh及Raghava, *ProPred: prediction of HLA-DR binding sites. BIOINFORMATICS* 17(12):1236-1237, 2001中)及SYFPEITHI (參見Schuler等人 *SYFPEITHI, Database for Searching and T-Cell Epitope Prediction. Immunoinformatics Methods in Molecular Biology*, 第409卷(1): 75-93, 2007)。

一旦鑑別出適當肽，即可根據一般熟習此項技術者熟知之方案完成肽合成。本發明之肽由於其相對較小的尺寸而可根據習知肽合成技術直接在溶液中或固體載體上合成。各種自動合成器為可商購的且可根據已知方案使用。在溶液相中合成肽已變成用於大規模製造合成肽之公認程序，且因此為用於製備本發明肽之適合替代方法(參見例如Solid Phase Peptide Synthesis, John Morrow Stewart及Martin等人 *Application of Almez-mediated Amidation Reactions to Solution Phase Peptide Synthesis*, Tetrahedron Letters 第39卷, 第1517-1520頁, 1998)。

醫藥組合物

本文亦提供一種組合物(諸如醫藥組合物，在本文中亦稱作調配物)，

其包含根據本文所述實施例中之任一者的abTCR、編碼根據本文所述實施例中之任一者的abTCR的核酸、或根據本文所述實施例中之任一者的abTCR效應細胞。在一些實施例中，組合物為abTCR效應細胞組合物(諸如醫藥組合物)，其包含於表面上呈遞根據本文所述abTCR中之任一者的abTCR的效應細胞(諸如T細胞)。在一些實施例中，abTCR效應細胞組合物為醫藥組合物。

組合物可包含均質細胞群體或異質細胞群體，均質細胞群體包含相同細胞類型且表現相同abTCR之abTCR效應細胞，異質細胞群體包含複數個包含不同細胞類型及/或表現不同abTCR之abTCR效應細胞的abTCR效應細胞群體。組合物可進一步包含不為abTCR效應細胞的細胞。

因此，在一些實施例中，提供一種abTCR效應細胞組合物，其包含相同細胞類型且表現相同abTCR之abTCR效應細胞(諸如abTCR T細胞)的均質細胞群體。在一些實施例中，abTCR效應細胞為T細胞。在一些實施例中，abTCR效應細胞係選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群。在一些實施例中，abTCR效應細胞組合物為醫藥組合物。

在一些實施例中，提供一種abTCR效應細胞組合物，其包含異質細胞群體，異質細胞群體包含複數個abTCR效應細胞群體，該等abTCR效應細胞群體包含不同細胞類型及/或表現不同abTCR之abTCR效應細胞。在一些實施例中，abTCR效應細胞為T細胞。在一些實施例中，各abTCR效應細胞群體具有選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群的細胞類型。在一些實施例中，組合物中之所有abTCR效應細胞具有相同細胞類型(例如，所有abTCR效應細胞皆為細胞毒性T細

胞)。在一些實施例中，至少一個abTCR效應細胞群體具有不同於其他abTCR效應細胞群體的細胞類型(例如，一個abTCR效應細胞群體由細胞毒性T細胞組成且其他abTCR效應細胞群體由自然殺手T細胞組成)。在一些實施例中，各abTCR效應細胞群體表現相同abTCR。在一些實施例中，至少一個abTCR效應細胞群體表現不同於其他abTCR效應細胞群體的abTCR。在一些實施例中，各abTCR效應細胞群體表現不同於其他abTCR效應細胞群體的abTCR。在一些實施例中，各abTCR效應細胞群體表現特異性結合至相同靶抗原之abTCR。在一些實施例中，至少一個abTCR效應細胞群體表現特異性結合至不同於其他abTCR效應細胞群體的靶抗原之abTCR (例如，一個abTCR效應細胞群體特異性結合至pMHC複合體且其他abTCR效應細胞群體特異性結合至細胞表面受體)。在一些實施例中，其中至少一個abTCR效應細胞群體表現特異性結合至不同靶抗原之abTCR，各abTCR效應細胞群體表現特異性結合至與相同疾病或病症相關之靶抗原的abTCR (例如，靶抗原中之每一者與癌症相關，諸如乳癌)。在一些實施例中，abTCR效應細胞組合物為醫藥組合物。

因此，在一些實施例中，提供一種abTCR效應細胞組合物，其包含複數個根據本文所述實施例中之任一者的abTCR效應細胞群體，其中組合物中之所有abTCR效應細胞具有相同細胞類型(例如，所有abTCR效應細胞為細胞毒性T細胞)，且其中各abTCR效應細胞群體表現不同於其他abTCR效應細胞群體的abTCR。在一些實施例中，abTCR效應細胞為T細胞。在一些實施例中，abTCR效應細胞係選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群。在一些實施例中，各abTCR效應細胞群體表現特異性結合至相同靶抗原之abTCR。在一些實施

例中，至少一個abTCR效應細胞群體表現特異性結合至不同於其他abTCR效應細胞群體的靶抗原之abTCR (例如，一個abTCR效應細胞群體特異性結合至pMHC複合體且其他abTCR效應細胞群體特異性結合至細胞表面受體)。在一些實施例中，其中至少一個abTCR效應細胞群體表現特異性結合至不同靶抗原之abTCR，各abTCR效應細胞群體表現特異性結合至與相同疾病或病症相關之靶抗原的abTCR (例如，靶抗原中之每一者與癌症相關，諸如乳癌)。在一些實施例中，abTCR效應細胞組合物為醫藥組合物。

在一些實施例中，提供一種組合物，其包含複數個根據本文所述實施例中之任一者的abTCR效應細胞群體，其中至少一個abTCR效應細胞群體具有不同於其他abTCR效應細胞群體之細胞類型。在一些實施例中，所有abTCR效應細胞群體全具有不同細胞類型。在一些實施例中，abTCR效應細胞為T細胞。在一些實施例中，各abTCR效應細胞群體具有選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群的細胞類型。在一些實施例中，各abTCR效應細胞群體表現相同abTCR。在一些實施例中，至少一個abTCR效應細胞群體表現不同於其他abTCR效應細胞群體的abTCR。在一些實施例中，各abTCR效應細胞群體表現不同於其他abTCR效應細胞群體的abTCR。在一些實施例中，各abTCR效應細胞群體表現特異性結合至相同靶抗原之abTCR。在一些實施例中，至少一個abTCR效應細胞群體表現特異性結合至不同於其他abTCR效應細胞群體的靶抗原之abTCR (例如，一個abTCR效應細胞群體特異性結合至pMHC複合體且其他abTCR效應細胞群體特異性結合至細胞表面受體)。在一些實施例中，其中至少一個abTCR效應細胞群體表現特異性結合至不同靶抗原

之abTCR，各abTCR效應細胞群體表現特異性結合至與相同疾病或病症相關之靶抗原的abTCR（例如，靶抗原中之每一者與癌症相關，諸如乳癌）。在一些實施例中，abTCR效應細胞組合物為醫藥組合物。

在組合物製備期間的各個時刻，可能需要或者宜低溫保存細胞。術語「冷凍 (frozen/freezing)」及「低溫保存 (cryopreserved/cryopreserving)」可互換地使用。冷凍包括冷凍乾燥。

如一般技術者所瞭解，冷凍細胞可具破壞性(參見Mazur, P., 1977, *Cryobiology* 14:251 -272)，但存在大量可供防止此類破壞用之程序。舉例而言，可藉由(a)使用低溫保護劑、(b)控制冷凍速率及/或(c)在可使降解反應降到最低的足夠低的溫度下儲存來避免破壞。例示性低溫保護劑包括二甲亞砜(DMSO) (Lovelock及Bishop, 1959, *Nature* 183:1394- 1395 ; Ashwood-Smith, 1961 , *Nature* 190:1204-1205)、甘油、聚乙烯吡咯啶酮(Rinfret, 1960, *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 85:576)、聚乙二醇(Sloviter及Ravdin, 1962, *Nature* 196:548)、白蛋白、聚葡萄糖、蔗糖、乙二醇、i-赤藻糖醇、D-核糖醇、D-甘露糖醇(Rowe等人, 1962, *Fed. Proc.* 21 :157)、D-山梨糖醇、i-肌醇、D-乳糖、氯化膽鹼(Bender等人, 1960, *J. Appl. Physiol.* 15:520)、胺基酸(Phan The Tran及Bender, 1960, *Exp. Cell Res.* 20:651)、甲醇、乙醯胺、甘油單乙酸酯(Lovelock, 1954, *Biochem. J.* 56:265)及無機鹽(Phan The Tran及Bender, 1960, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 104:388 ; Phan The Tran及Bender, 1961, *Radiobiology, Proceedings of the Third Australian Conference on Radiobiology*, Ilbery 編, Butterworth, London, 第59頁)。在特定實施例中，可使用DMSO。添加血漿(例如，至20-25%之濃度)可強化DMSO之保護作用。在添加DMSO

之後，細胞可保持在0℃下直至冷凍，因為1%之DMSO濃度在高於4℃之溫度下可具有毒性。

在細胞之低溫保存中，緩慢的控制的冷卻速率可為關鍵的且不同低溫保護劑(Rapatz等人, 1968, *Cryobiology* 5(1): 18-25)及不同細胞類型具有不同的最佳冷卻速率(關於冷卻速度對幹細胞之存活率及對於其移植潛能的影響，參見例如Rowe及Rinfret, 1962, *Blood* 20:636；Rowe, 1966, *Cryobiology* 3(1):12-18；Lewis等人, 1967, *Transfusion* 7(1):17-32；及Mazur, 1970, *Science* 168:939-949)。水變成冰之融化階段的熱量應該極少。冷卻程序可藉由使用例如可程式化冷凍裝置或甲醇浴液程序進行。可程式化冷凍設備允許測定最佳冷卻速率且促成標準可再現冷卻。

在特定實施例中，經DMSO處理之細胞可於冰上預先冷卻且轉移至含有經冷藏之甲醇的托盤中，其又置放於機械製冷機(例如，Harris或Revco)中置於-80℃下。甲醇浴液及樣品之熱電偶量測指示1℃至3℃/分鐘之冷卻速率可為較佳的。在至少兩個小時之後，樣本可達到-80℃之溫度且可直接置放於液氮(-196℃)中。

在澈底冷凍之後，細胞可迅速轉移至長期低溫儲存容器中。在一較佳實施例中，樣品可低溫儲存於液氮(-196℃)或蒸氣(-1℃)中。高效液氮冰箱之可獲得性有助於此類儲存。

關於操控、低溫保存及長期儲存細胞之其他考慮因素及程序可見於以下例示性參考文獻中：美國專利第4,199,022號、第3,753,357號及第4,559,298號；Gorin, 1986, *Clinics In Haematology* 15(1):19-48；Bone-Marrow Conservation, Culture and Transplantation, Proceedings of a Panel, Moscow, 1968年7月22-26日，International Atomic Energy

Agency, Vienna, 第 107-186 頁 ; Livesey 及 Linner, 1987, Nature 327:255 ; Linner 等人, 1986, J. Histochem. Cytochem. 34(9):1 123-1 135 ; Simione, 1992, J. Parenter. Sci. Technol. 46(6):226-32。

在低溫保存之後，可解凍冷凍細胞以根據一般技術者已知之方法使用。冷凍細胞較佳快速解凍且在解凍後立刻冷藏。在特定實施例中，含有冷凍細胞之小瓶可浸入溫水浴中直至其頸部；平緩旋轉將確保細胞懸浮液隨著解凍發生混合且提高自溫水至內部冰塊的熱傳遞。一旦冰完全融化，即可立刻將小瓶置放於冰上。

在特定實施例中，可在解凍期間使用防止細胞凝集的方法。例示性方法包括：在冷凍之前及/或之後添加脫氧核糖核酸酶(Spitzer等人, 1980, Cancer 45:3075-3085)、低分子量聚葡萄糖及檸檬酸鹽、羥乙基澱粉(Stiff等人, 1983, Cryobiology 20:17-24)等。如一般技術者所瞭解，若使用對人類有毒的低溫保護劑，則其應該在治療用途之前移除。DMSO無嚴重毒性。

例示性載劑及細胞投藥模式描述於美國專利公開案第2010/0183564號第14-15頁。其他醫藥載劑描述於Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 第21版, David B. Troy編, Lippicott Williams & Wilkins (2005)中。

在特定實施例中，細胞可自培養基收集，且洗滌且於載劑中濃縮至治療有效量。例示性載劑包括鹽水、緩衝鹽水、生理食鹽水、水、漢克氏溶液(Hanks' solution)、林格氏溶液(Ringer's solution)、Nonnosol-R (Abbott Labs)、Plasma-Lyte A(R) (Baxter Laboratories, Inc., Morton Grove, IL)、甘油、乙醇及其組合。

在特定實施例中，載劑可補充有人類血清白蛋白(HSA)或其他人類血清組分或胎牛血清。在特定實施例中，輸注載劑包括含5% HAS或右旋糖之緩衝鹽水。其他等張劑包括多羥基糖醇，包括三元醇或高級糖醇，諸如甘油、赤藻糖醇、阿拉伯糖醇、木糖醇、山梨糖醇或甘露糖醇。

載劑可包括緩衝劑，諸如檸檬酸鹽緩衝劑、丁二酸鹽緩衝劑、酒石酸鹽緩衝劑、反丁烯二酸鹽緩衝劑、葡糖酸鹽緩衝劑、草酸鹽緩衝劑、乳酸鹽緩衝劑、乙酸鹽緩衝劑、磷酸鹽緩衝劑、組胺酸緩衝劑及/或三甲胺鹽。

穩定劑係指寬泛的一類賦形劑，其功能範圍可介於增積劑至有助於防止細胞黏附於容器壁上的添加劑之間。典型的穩定劑可包括多羥基糖醇；胺基酸，諸如精胺酸、離胺酸、甘胺酸、麩醯胺酸、天冬醯胺、組胺酸、丙胺酸、鳥胺酸、L-白胺酸、2-苯丙胺酸、麩胺酸及蘇胺酸；有機糖或糖醇，諸如乳糖、海藻糖、水蘇糖、甘露糖醇、山梨糖醇、木糖醇、核糖醇、肌肉肌醇、半乳糖醇、甘油及環醇，諸如肌醇；PEG；胺基酸聚合物；含硫還原劑，諸如脲、麩胱甘肽、硫辛酸、硫乙醇酸鈉、硫代甘油、 α -單硫代甘油及硫代硫酸鈉；低分子量多肽(亦即，<10個殘基)；蛋白質，諸如HSA、牛血清白蛋白、明膠或免疫球蛋白；親水性聚合物，諸如聚乙烯吡咯啶酮；單醣，諸如木糖、甘露糖、果糖及葡萄糖；雙醣，諸如乳糖、麥芽糖及蔗糖；三醣，諸如棉子糖；及多醣，諸如聚葡萄糖。

在需要時或在有利時，組合物可包括諸如利多卡因(lidocaine)之局部麻醉劑以減輕注射部位之疼痛。

例示性防腐劑包括苯酚、苯甲醇、間甲酚、對羥基苯甲酸甲酯、對羥基苯甲酸丙酯、氯化十八烷基二甲基苯甲銨、鹵化苯甲銨、氯化六羥

季銨、對羥基苯甲酸烷基酯(諸如對羥基苯甲酸甲酯或丙酯)、兒茶酚、間苯二酚、環己醇及3-戊醇。

組合物內之細胞的治療有效量可為大於 10^2 個細胞、大於 10^3 個細胞、大於 10^4 個細胞、大於 10^5 個細胞、大於 10^6 個細胞、大於 10^7 個細胞、大於 10^8 個細胞、大於 10^9 個細胞、大於 10^{10} 個細胞或大於 10^{11} 個細胞。

在本文所揭示之組合物及調配物中，細胞之體積一般為一公升或更小、500 ml或更小、250 ml或更小、或100 ml或更小。因此，所投與之細胞密度通常為大於 10^4 個細胞/毫升、 10^7 個細胞/毫升或 10^8 個細胞/毫升。

本文亦提供abTCR核酸組合物(諸如醫藥組合物，在本文中亦稱作調配物)，其包含編碼本文所述abTCR之核酸中之任一者。在一些實施例中，abTCR核酸組合物為醫藥組合物。在一些實施例中，abTCR核酸組合物進一步包含以下中之任一者：等張劑、賦形劑、稀釋劑、增稠劑、穩定劑、緩衝劑及/或防腐劑；及/或含水媒劑，諸如純化水、糖水溶液、緩衝溶液、生理鹽水、聚合物水溶液或不含核糖核酸酶之水。待添加之此類添加劑及含水媒劑之量可根據abTCR核酸組合物之使用形式進行適當地選擇。

本文所揭示之組合物及調配物可經製備用於藉由例如注射、輸注、灌注或灌洗投與。組合物及調配物可進一步經調配用於骨髓、靜脈內、皮內、動脈內、結節內、淋巴管內、腹膜內、病灶內、前列腺內、陰道內、直腸內、局部、鞘內、瘤內、肌肉內、囊泡內及/或皮下注射。

用於活體內投與之調配物必須為無菌的。此要求容易藉由例如經由無菌過濾膜過濾達成。

使用abTCR之治療方法

可向個體(例如哺乳動物，諸如人類)投與本發明之abTCR及/或組合物以治療與靶抗原(TA)表現相關之疾病及/或病症(在本文中亦稱作「靶抗原陽性」或「TA陽性」疾病或病症)，包括例如癌症及傳染性疾病(諸如病毒感染)。因此在一些實施例中，本申請案提供一種用於治療個體之靶抗原陽性疾病(諸如癌症或病毒感染)的方法，其包含向個體投與有效量之組合物(諸如醫藥組合物)，該組合物包含含抗體部分之abTCR，諸如本文所述abTCR中之任一者。在一些實施例中，組合物進一步包含與abTCR相關之細胞(諸如效應細胞)。在一些實施例中，癌症係選自例如由以下組成之群：腎上腺皮質癌、膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、膽管癌、結腸直腸癌、食道癌、神經膠母細胞瘤、神經膠質瘤、肝細胞癌、頭頸癌、腎癌、肺癌、黑色素瘤、間皮瘤、多發性骨髓瘤、胰臟癌、嗜鉻細胞瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤、胃癌、子宮癌及甲狀腺癌。在一些實施例中，病毒感染係由選自由例如以下組成之群的病毒引起：巨細胞病毒(CMV)、埃-巴二氏病毒(EBV)、B型肝炎病毒(HBV)、卡波西氏肉瘤相關疱疹病毒(KSHV)、人類乳頭狀瘤病毒(HPV)、傳染性軟疣病毒(MCV)、人類T細胞白血病毒1 (HTLV-1)、HIV (人類免疫缺乏病毒)及C型肝炎病毒(HCV)。

舉例而言，在一些實施例中，提供一種治療有需要個體之靶抗原相關疾病(諸如癌症或病毒感染)的方法，其包含向個體投與有效量之組合物，該組合物包含於表面上呈遞abTCR (諸如經分離abTCR)的效應細胞(諸如T細胞或自然殺手細胞)，abTCR包含a)特異性結合至靶抗原之Fab樣抗原結合模組，及b)能夠募集至少一個TCR相關信號傳導模組之TCRM。在一些實施例中，Fab樣抗原結合模組包含V_H抗體域、C_H1抗體域、V_L抗

體域及C_L抗體域。在一些實施例中，Fab樣抗原結合模組為人類、人類化、嵌合、半合成或全合成的。在一些實施例中，TCRM包含TCR之跨膜域，諸如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR。在一些實施例中，TCRM進一步包含TCR之連接肽或其片段。在一些實施例中，TCRM進一步包含TCR之細胞外域之至少一部分。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個細胞內域。在一些實施例中，至少一個細胞內域包含以下中之任一者：來自TCR之細胞內域之序列、共刺激細胞內信號傳導序列、抗原決定基標籤或其組合。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個二硫鍵。在一些實施例中，Fab樣抗原結合模組包含二硫鍵及/或TCRM包含二硫鍵。在一些實施例中，Fab樣抗原結合模組包含在C_H1域中之殘基與C_L域中之殘基之間的二硫鍵及/或TCRM包含在第一連接肽中之殘基與第二連接肽中之殘基之間的二硫鍵。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一個選自由CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及 $\zeta\zeta$ 組成之群的TCR相關信號傳導模組。在一些實施例中，TCRM促進abTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，在Fab樣抗原結合模組與TCRM之間存在肽連接子。在一些實施例中，靶抗原為細胞表面抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原係選自由蛋白質、碳水化合物及脂質組成之群。在一些實施例中，細胞表面抗原為疾病相關抗原，諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原為CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPC5D或FCRL5。在一些實施例中，靶抗原為表面呈遞肽/MHC複合體。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含源自疾病相關抗原(諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原)之肽及MHC蛋白質。在一些實施例中，該方法導致最小程度或基本上無abTCR效應細胞耗盡。在一些實施例中，該方法導致最小程度或基本上無abTCR效應細胞之最後分化。在一些實施例

中，該方法導致abTCR效應細胞上之abTCR的最小程度或基本上無內化。在一些實施例中，該方法導致abTCR效應細胞之增殖增加。

在一些實施例中，提供一種治療有需要個體之靶抗原相關疾病(諸如癌症或病毒感染)的方法，其包含向個體投與有效量之組合物，該組合物包含於表面上呈遞abTCR (諸如經分離abTCR)的效應細胞(諸如T細胞或自然殺手細胞)，abTCR包含a)特異性結合至靶抗原之Fv樣抗原結合模組，及b)能夠募集至少一個TCR相關信號傳導模組之TCRM，其中靶抗原為肽/MHC複合體。在一些實施例中，Fv樣抗原結合模組包含V_H抗體域及V_L抗體域。在一些實施例中，存在與V_L抗體域之C端融合的第一肽連接子及/或與V_H抗體域之C端融合的第二肽連接子。在一些實施例中，第一及第二肽連接子能夠彼此結合。在一些實施例中，第一及/或第二肽連接子源自免疫球蛋白重鏈及/或輕鏈恆定區。在一些實施例中，第一及/或第二肽連接子源自TCR次單元恆定區。舉例而言，在一些實施例中，第一及/或第二肽連接子源自a) TCR α 及 β 次單元恆定域；或b) TCR γ 及 δ 次單元恆定域。在一些實施例中，第一及/或第二肽連接子為合成的。在一些實施例中，Fv樣抗原結合模組為人類、人類化、嵌合、半合成或全合成的。在一些實施例中，TCRM包含TCR之跨膜域，諸如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR。在一些實施例中，TCRM進一步包含TCR之連接肽或其片段，諸如 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR。在一些實施例中，跨膜域及連接肽源自 $\alpha\beta$ TCR或 $\gamma\delta$ TCR。在一些實施例中，跨膜域源自 $\alpha\beta$ TCR且連接肽源自 $\gamma\delta$ TCR，或者跨膜域源自 $\gamma\delta$ TCR且連接肽源自 $\alpha\beta$ TCR。在一些實施例中，TCRM進一步包含TCR之細胞外域之至少一部分。在一些實施例中，TCRM進一步包含至少一個包含TCR之細胞內域之序列的TCR細胞內域。在一些實施例中，TCRM包含

TCR次單元之片段。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含T細胞共刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)及/或抗原決定基標籤(諸如HA、FLAG或myc)。在一些實施例中，abTCR進一步包含在第一抗原結合域之胺基端的第一信號肽及/或在第二抗原結合域之胺基端的第二信號肽。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個二硫鍵。在一些實施例中，第一及/或第二肽連接子包含二硫鍵及/或TCRM包含二硫鍵。在一些實施例中，TCRM包含在第一連接肽中之殘基與第二連接肽中之殘基之間的二硫鍵。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一個選自由CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及 $\zeta\zeta$ 組成之群的TCR相關信號傳導模組。在一些實施例中，TCRM促進abTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，靶抗原肽/MHC複合體包含源自疾病相關抗原(諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原)之肽及MHC蛋白質。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含肽及MHC蛋白質，其中該肽源自選自由WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA組成之群的蛋白質。在一些實施例中，MHC蛋白質為MHC I類蛋白質。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A。在一些實施例中，HLA-A為HLA-A02。在一些實施例中，HLA-A02為HLA-A*02:01。在一些實施例中，該方法導致最小程度或基本上無abTCR效應細胞耗盡。在一些實施例中，該方法導致最小程度或基本上無abTCR效應細胞之最後分化。在一些實施例中，該方法導致abTCR效應細胞上之abTCR的最小程度或基本上無內化。在一些實施例中，該方法導致abTCR效應細胞之增殖增加。

在一些實施例中，提供一種治療有需要個體之靶抗原相關疾病(諸如

癌症或病毒感染)的方法，其包含向個體投與有效量之組合物，該組合物包含於表面上呈遞特異性識別靶抗原之abTCR的效應細胞(諸如T細胞或自然殺手細胞)，abTCR包含a)第一多肽鏈，第一多肽鏈包含第一抗原結合域及第一TCRD，第一抗原結合域包含 V_H 及 C_H1 抗體域，第一TCRD包含第一TCR次單元之跨膜域；及b)第二多肽鏈，第二多肽鏈包含第二抗原結合域及第二TCRD，第二抗原結合域包含 V_L 及 C_L 抗體域，第二TCRD包含第二TCR次單元之跨膜域，其中第一抗原結合域之 V_H 及 C_H1 域與第二抗原結合域之 V_L 及 C_L 域形成特異性結合靶抗原之Fab樣抗原結合模組，其中第一TCRD與第二TCRD形成能夠募集至少一個TCR相關信號傳導模組之TCRM。在一些實施例中，Fab樣抗原結合模組為人類、人類化、嵌合、半合成或全合成的。在一些實施例中，第一TCR次單元為TCR α 鏈，且第二TCR次單元為TCR β 鏈。在一些實施例中，第一TCR次單元為TCR β 鏈，且第二TCR次單元為TCR α 鏈。在一些實施例中，第一TCR次單元為TCR γ 鏈，且第二TCR次單元為TCR δ 鏈。在一些實施例中，第一TCR次單元為TCR δ 鏈，且第二TCR次單元為TCR γ 鏈。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR次單元之連接肽或其片段及/或第二TCRD進一步包含第二TCR次單元之連接肽或其片段。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR次單元之細胞外域之一部分及/或第二TCRD進一步包含第二TCR次單元之細胞外域之一部分。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR細胞內域及/或第二TCRD進一步包含第二TCR細胞內域。在一些實施例中，第一TCR細胞內域包含來自第一TCR次單元之細胞內域之序列及/或第二TCR細胞內域包含來自第二TCR次單元之細胞內域之序列。在一些實施例中，abTCR進一步包含在第一抗原結合域之胺基端

的第一信號肽及/或在第二抗原結合域之胺基端的第二信號肽。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一個選自由CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及 $\zeta\zeta$ 組成之群的TCR相關信號傳導模組。在一些實施例中，TCRM促進abTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，在第一抗原結合域與第一TCRD之間存在第一肽連接子及/或在第二抗原結合域與第二TCRD之間存在第二肽連接子。在一些實施例中，第一及第二多肽鏈諸如藉由共價鍵(例如，肽鍵或其他化學鍵)或非共價鍵連接。在一些實施例中，第一多肽鏈及第二多肽鏈經由以下連接：a)在第一TCRD之連接肽中之殘基與第二TCRD之連接肽中之殘基之間的二硫鍵；及/或b)在第一抗原結合域中之C_H1抗體域中之殘基與第二抗原結合域中之C_L抗體域中之殘基之間的二硫鍵。在一些實施例中，靶抗原為細胞表面抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原係選自由蛋白質、碳水化合物及脂質組成之群。在一些實施例中，細胞表面抗原為疾病相關抗原，諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原為CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPC5D或FCRL5。在一些實施例中，靶抗原為表面呈遞肽/MHC複合體。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含源自疾病相關抗原(諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原)之肽及MHC蛋白質。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含肽及MHC蛋白質，其中該肽源自選自由WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA組成之群的蛋白質。

在一些實施例中，提供一種治療有需要個體之靶抗原相關疾病(諸如癌症或病毒感染)的方法，其包含向個體投與有效量之組合物，該組合物包含於表面上呈遞特異性識別靶抗原之abTCR的效應細胞(諸如T細胞或自然殺手細胞)，abTCR包含a)第一多肽鏈，第一多肽鏈包含第一抗原結合

域及第一TCRD，第一抗原結合域包含 V_H 及 C_H1 抗體域，第一TCRD包含TCR α 鏈之跨膜域；及b)第二多肽鏈，第二多肽鏈包含第二抗原結合域及第二TCRD，第二抗原結合域包含 V_L 及 C_L 抗體域，第二TCRD包含TCR β 鏈之跨膜域，其中第一抗原結合域之 V_H 及 C_H1 域與第二抗原結合域之 V_L 及 C_L 域形成特異性結合至細胞表面抗原之Fab樣抗原結合模組，其中第一TCRD及第二TCRD形成能夠募集至少一個TCR相關信號傳導模組之TCRM。在一些實施例中，Fab樣抗原結合模組為人類、人類化、嵌合、半合成或全合成的。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含TCR α 鏈之連接肽或其片段及/或第二TCRD進一步包含TCR β 鏈之連接肽或其片段。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含TCR α 鏈之細胞外域之一部分及/或第二TCRD進一步包含TCR β 鏈之細胞外域之一部分。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR細胞內域及/或第二TCRD進一步包含第二TCR細胞內域。在一些實施例中，第一TCR細胞內域包含來自TCR α 鏈之細胞內域之序列及/或第二TCR細胞內域包含來自TCR β 鏈之細胞內域之序列。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含T細胞共刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)及/或抗原決定基標籤(諸如HA、FLAG或myc)。在一些實施例中，abTCR進一步包含在第一抗原結合域之胺基端的第一信號肽及/或在第二抗原結合域之胺基端的第二信號肽。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一個選自由CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及 $\zeta\zeta$ 組成之群的TCR相關信號傳導模組。在一些實施例中，TCRM促進abTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，在第一抗原結合域與第一TCRD之間存在第一肽連接子及/或在第二抗原結合域與第二TCRD之間存在第二肽連接子。

在一些實施例中，第一及第二多肽鏈諸如藉由共價鍵(例如，肽鍵或其他化學鍵)或非共價鍵連接。在一些實施例中，第一多肽鏈及第二多肽鏈經由以下連接：a)在第一TCRD之連接肽中之殘基與第二TCRD之連接肽中之殘基之間的二硫鍵；及/或b)在第一抗原結合域中之C_H1抗體域中之殘基與第二抗原結合域中之C_L抗體域中之殘基之間的二硫鍵。在一些實施例中，靶抗原為細胞表面抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原係選自由蛋白質、碳水化合物及脂質組成之群。在一些實施例中，細胞表面抗原為疾病相關抗原，諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原為CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPC5D或FCRL5。在一些實施例中，靶抗原為表面呈遞肽/MHC複合體。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含源自疾病相關抗原(諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原)之肽及MHC蛋白質。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含肽及MHC蛋白質，其中該肽源自選自由WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA組成之群的蛋白質。在一些實施例中，MHC蛋白質為MHC I類蛋白質。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A。在一些實施例中，HLA-A為HLA-A02。在一些實施例中，HLA-A02為HLA-A*02:01。在一些實施例中，效應細胞為 $\gamma\delta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR α 及/或 β 鏈之表現的 $\alpha\beta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞係選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群。

在一些實施例中，提供一種治療有需要個體之靶抗原相關疾病(諸如癌症或病毒感染)的方法，其包含向個體投與有效量之組合物，該組合物包含於表面上呈遞特異性識別靶抗原之 $\alpha\beta$ TCR的效應細胞(諸如T細胞或自

然殺手細胞)，abTCR包含a)第一多肽鏈，第一多肽鏈包含第一抗原結合域及第一TCRD，第一抗原結合域包含 V_H 及 C_H1 抗體域，第一TCRD包含TCR β 鏈之跨膜域；及b)第二多肽鏈，第二多肽鏈包含第二抗原結合域及第二TCRD，第二抗原結合域包含 V_L 及 C_L 抗體域，第二TCRD包含TCR α 鏈之跨膜域，其中第一抗原結合域之 V_H 及 C_H1 域與第二抗原結合域之 V_L 及 C_L 域形成特異性結合至細胞表面抗原之Fab樣抗原結合模組，其中第一TCRD與第二TCRD形成能夠募集至少一個TCR相關信號傳導模組之TCRM。在一些實施例中，Fab樣抗原結合模組為人類、人類化、嵌合、半合成或全合成的。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含TCR β 鏈之連接肽或其片段及/或第二TCRD進一步包含TCR α 鏈之連接肽或其片段。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含TCR β 鏈之細胞外域之一部分及/或第二TCRD進一步包含TCR α 鏈之細胞外域之一部分。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR細胞內域及/或第二TCRD進一步包含第二TCR細胞內域。在一些實施例中，第一TCR細胞內域包含來自TCR β 鏈之細胞內域之序列及/或第二TCR細胞內域包含來自TCR α 鏈之細胞內域之序列。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含T細胞共刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)及/或抗原決定基標籤(諸如HA、FLAG或myc)。在一些實施例中，abTCR進一步包含在第一抗原結合域之胺基端的第一信號肽及/或在第二抗原結合域之胺基端的第二信號肽。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一個選自由CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及 $\zeta\zeta$ 組成之群的TCR相關信號傳導模組。在一些實施例中，TCRM促進abTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，在第一抗原結合域與第一TCRD之間存在第

一肽連接子及/或在第二抗原結合域與第二TCRD之間存在第二肽連接子。在一些實施例中，第一及第二多肽鏈諸如藉由共價鍵(例如，肽鍵或其他化學鍵)或非共價鍵連接。在一些實施例中，第一多肽鏈及第二多肽鏈經由以下連接：a)在第一TCRD之連接肽中之殘基與第二TCRD之連接肽中之殘基之間的二硫鍵；及/或b)在第一抗原結合域中之C_H1抗體域中之殘基與第二抗原結合域中之C_L抗體域中之殘基之間的二硫鍵。在一些實施例中，靶抗原為細胞表面抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原係選自由蛋白質、碳水化合物及脂質組成之群。在一些實施例中，細胞表面抗原為疾病相關抗原，諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原為CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPCR5D或FCRL5。在一些實施例中，靶抗原為表面呈遞肽/MHC複合體。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含源自疾病相關抗原(諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原)之肽及MHC蛋白質。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含肽及MHC蛋白質，其中該肽源自選自由WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA組成之群的蛋白質。在一些實施例中，MHC蛋白質為MHC I類蛋白質。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A。在一些實施例中，HLA-A為HLA-A02。在一些實施例中，HLA-A02為HLA-A*02:01。在一些實施例中，效應細胞為 $\gamma\delta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR α 及/或 β 鏈之表現的 $\alpha\beta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞係選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群。

在一些實施例中，提供一種治療有需要個體之靶抗原相關疾病(諸如癌症或病毒感染)的方法，其包含向個體投與有效量之組合物，該組合物

包含於表面上呈遞特異性識別靶抗原之abTCR的效應細胞(諸如T細胞或自然殺手細胞)，abTCR包含a)第一多肽鏈，第一多肽鏈包含第一抗原結合域及第一TCRD，第一抗原結合域包含V_H及C_H1抗體域，第一TCRD包含TCR γ 鏈之跨膜域；及b)第二多肽鏈，第二多肽鏈包含第二抗原結合域及第二TCRD，第二抗原結合域包含V_L及C_L抗體域，第二TCRD包含TCR δ 鏈之跨膜域，其中第一抗原結合域之V_H及C_H1域與第二抗原結合域之V_L及C_L域形成特異性結合至細胞表面抗原之Fab樣抗原結合模組，其中第一TCRD與第二TCRD形成能夠募集至少一個TCR相關信號傳導模組之TCRM。在一些實施例中，Fab樣抗原結合模組為人類、人類化、嵌合、半合成或全合成的。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含TCR γ 鏈之連接肽或其片段及/或第二TCRD進一步包含TCR δ 鏈之連接肽或其片段。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含TCR γ 鏈之細胞外域之一部分及/或第二TCRD進一步包含TCR δ 鏈之細胞外域之一部分。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR細胞內域及/或第二TCRD進一步包含第二TCR細胞內域。在一些實施例中，第一TCR細胞內域包含來自TCR γ 鏈之細胞內域之序列及/或第二TCR細胞內域包含來自TCR δ 鏈之細胞內域之序列。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含T細胞共刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)及/或抗原決定基標籤(諸如HA、FLAG或myc)。在一些實施例中，abTCR進一步包含在第一抗原結合域之胺基端的第一信號肽及/或在第二抗原結合域之胺基端的第二信號肽。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一個選自由CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及 $\zeta\zeta$ 組成之群的TCR相關信號傳導模組。在一些實施例中，TCRM促進abTCR-CD3複

合體形成。在一些實施例中，在第一抗原結合域與第一TCRD之間存在第一肽連接子及/或在第二抗原結合域與第二TCRD之間存在第二肽連接子。在一些實施例中，第一及第二多肽鏈諸如藉由共價鍵(例如，肽鍵或其他化學鍵)或非共價鍵連接。在一些實施例中，第一多肽鏈及第二多肽鏈經由以下連接：a)在第一TCRD之連接肽中之殘基與第二TCRD之連接肽中之殘基之間的二硫鍵；及/或b)在第一抗原結合域中之C_H1抗體域中之殘基與第二抗原結合域中之C_L抗體域中之殘基之間的二硫鍵。在一些實施例中，靶抗原為細胞表面抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原係選自由蛋白質、碳水化合物及脂質組成之群。在一些實施例中，細胞表面抗原為疾病相關抗原，諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原為CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPC5D或FCRL5。在一些實施例中，靶抗原為表面呈遞肽/MHC複合體。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含源自疾病相關抗原(諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原)之肽及MHC蛋白質。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含肽及MHC蛋白質，其中該肽源自選自由WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA組成之群的蛋白質。在一些實施例中，MHC蛋白質為MHC I類蛋白質。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A。在一些實施例中，HLA-A為HLA-A02。在一些實施例中，HLA-A02為HLA-A*02:01。在一些實施例中，效應細胞為 $\alpha\beta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR γ 及/或 δ 鏈之表現的 $\gamma\delta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞係選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群。

在一些實施例中，提供一種治療有需要個體之靶抗原相關疾病(諸如

癌症或病毒感染)的方法，其包含向個體投與有效量之組合物，該組合物包含於表面上呈遞特異性識別靶抗原之abTCR的效應細胞(諸如T細胞或自然殺手細胞)，abTCR包含a)第一多肽鏈，第一多肽鏈包含第一抗原結合域及第一TCRD，第一抗原結合域包含V_H及C_H1抗體域，第一TCRD包含TCR δ鏈之跨膜域；及b)第二多肽鏈，第二多肽鏈包含第二抗原結合域及第二TCRD，第二抗原結合域包含V_L及C_L抗體域，第二TCRD包含TCR γ鏈之跨膜域，其中第一抗原結合域之V_H及C_H1域與第二抗原結合域之V_L及C_L域形成特異性結合至細胞表面抗原之Fab樣抗原結合模組，其中第一TCRD與第二TCRD形成能夠募集至少一個TCR相關信號傳導模組之TCRM。在一些實施例中，Fab樣抗原結合模組為人類、人類化、嵌合、半合成或全合成的。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含TCR δ鏈之連接肽或其片段及/或第二TCRD進一步包含TCR γ鏈之連接肽或其片段。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含TCR δ鏈之細胞外域之一部分及/或第二TCRD進一步包含TCR γ鏈之細胞外域之一部分。在一些實施例中，第一TCRD進一步包含第一TCR細胞內域及/或第二TCRD進一步包含第二TCR細胞內域。在一些實施例中，第一TCR細胞內域包含來自TCR δ鏈之細胞內域之序列及/或第二TCR細胞內域包含來自TCR γ鏈之細胞內域之序列。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含T細胞共刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30或CD40)及/或抗原決定基標籤(諸如HA、FLAG或myc)。在一些實施例中，abTCR進一步包含在第一抗原結合域之胺基端的第一信號肽及/或在第二抗原結合域之胺基端的第二信號肽。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一個選自由CD3δ_ε、CD3γ_ε及ζζ組成之群

的TCR相關信號傳導模組。在一些實施例中，TCRM促進abTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，在第一抗原結合域與第一TCRD之間存在第一肽連接子及/或在第二抗原結合域與第二TCRD之間存在第二肽連接子。在一些實施例中，第一及第二多肽鏈諸如藉由共價鍵(例如，肽鍵或其他化學鍵)或非共價鍵連接。在一些實施例中，第一多肽鏈及第二多肽鏈經由以下連接：a)在第一TCRD之連接肽中之殘基與第二TCRD之連接肽中之殘基之間的二硫鍵；及/或b)在第一抗原結合域中之C_H1抗體域中之殘基與第二抗原結合域中之C_L抗體域中之殘基之間的二硫鍵。在一些實施例中，靶抗原為細胞表面抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原係選自由蛋白質、碳水化合物及脂質組成之群。在一些實施例中，細胞表面抗原為疾病相關抗原，諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原為CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPC5D或FCRL5。在一些實施例中，靶抗原為表面呈遞肽/MHC複合體。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含源自疾病相關抗原(諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原)之肽及MHC蛋白質。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含肽及MHC蛋白質，其中該肽源自選自由WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA組成之群的蛋白質。在一些實施例中，MHC蛋白質為MHC I類蛋白質。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A。在一些實施例中，HLA-A為HLA-A02。在一些實施例中，HLA-A02為HLA-A*02:01。在一些實施例中，效應細胞為 $\alpha\beta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR γ 及/或 δ 鏈之表現的 $\gamma\delta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞係選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群。

在一些實施例中，提供一種治療有需要個體之靶抗原相關疾病(諸如癌症或病毒感染)的方法，其包含向個體投與有效量之組合物，該組合物包含於表面上呈遞特異性識別靶抗原之abTCR的效應細胞(諸如T細胞或自然殺手細胞)，abTCR包含a)第一多肽鏈，其自胺基端至羧基端依次包含第一抗原結合域及包含SEQ ID NO: 15之胺基酸序列的第一TCRD；及b)第二多肽鏈，其自胺基端至羧基端依次包含第二抗原結合域及包含SEQ ID NO: 16之胺基酸序列的第二TCRD，其中第一抗原結合域與第二抗原結合域形成特異性結合靶抗原之Fab樣抗原結合模組，其中第一TCRD與第二TCRD形成能夠募集至少一個TCR相關信號傳導模組之TCRM。在一些實施例中，Fab樣抗原結合模組為人類、人類化、嵌合、半合成或全合成的。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含a)至少一個包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 70或71之胺基酸序列的T細胞共刺激信號傳導序列；及/或b)包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 50-52中之任一者之胺基酸序列的抗原決定基標籤。在一些實施例中，abTCR進一步包含在第一抗原結合域之胺基端的第一信號肽及/或在第二抗原結合域之胺基端的第二信號肽，其中第一及/或第二信號肽包含SEQ ID NO: 49之胺基酸序列。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一個選自由CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及 $\zeta\zeta$ 組成之群的TCR相關信號傳導模組。在一些實施例中，TCRM促進abTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，第一多肽鏈及第二多肽鏈經由以下連接：a)在第一TCRD之連接肽中之殘基與第二TCRD之連接肽中之殘基之間的二硫鍵；及/或b)在Fab樣抗原結合模組中之C_H1及C_L抗體域中之殘基之間的二硫鍵。在一些實施例中，靶抗原為細胞表面抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原係選自由蛋白質、碳水化合物

物及脂質組成之群。在一些實施例中，細胞表面抗原為疾病相關抗原，諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原為CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPCR5D或FCRL5。在一些實施例中，靶抗原為表面呈遞肽/MHC複合體。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含源自疾病相關抗原(諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原)之肽及MHC蛋白質。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含肽及MHC蛋白質，其中該肽源自選自由WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA組成之群的蛋白質。在一些實施例中，MHC蛋白質為MHC I類蛋白質。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A。在一些實施例中，HLA-A為HLA-A02。在一些實施例中，HLA-A02為HLA-A*02:01。在一些實施例中，效應細胞為 $\gamma\delta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR α 及/或 β 鏈之表現的 $\alpha\beta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞係選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群。

在一些實施例中，提供一種治療有需要個體之靶抗原相關疾病(諸如癌症或病毒感染)的方法，其包含向個體投與有效量之組合物，該組合物包含於表面上呈遞特異性識別靶抗原之abTCR的效應細胞(諸如T細胞或自然殺手細胞)，abTCR包含a)第一多肽鏈，其自胺基端至羧基端依次包含第一抗原結合域及包含SEQ ID NO: 17之胺基酸序列的第一TCRD；及b)第二多肽鏈，其自胺基端至羧基端依次包含第二抗原結合域及包含SEQ ID NO: 18之胺基酸序列的第二TCRD，其中第一抗原結合域與第二抗原結合域形成特異性結合靶抗原之Fab樣抗原結合模組，其中第一TCRD與第二TCRD形成能夠募集至少一個TCR相關信號傳導模組之TCRM。在一

些實施例中，Fab樣抗原結合模組為人類、人類化、嵌合、半合成或全合成的。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含a)至少一個包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 70或71之胺基酸序列的T細胞共刺激信號傳導序列；及/或b)包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 50-52中之任一者之胺基酸序列的抗原決定基標籤。在一些實施例中，abTCR進一步包含在第一抗原結合域之胺基端的第一信號肽及/或在第二抗原結合域之胺基端的第二信號肽，其中第一及/或第二信號肽包含SEQ ID NO: 49之胺基酸序列。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一個選自由CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及 $\zeta\zeta$ 組成之群的TCR相關信號傳導模組。在一些實施例中，TCRM促進abTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，第一多肽鏈及第二多肽鏈經由以下連接：a)在第一TCRD之連接肽中之殘基與第二TCRD之連接肽中之殘基之間的二硫鍵；及/或b)在Fab樣抗原結合模組中之C_H1及C_L抗體域中之殘基之間的二硫鍵。在一些實施例中，靶抗原為細胞表面抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原係選自由蛋白質、碳水化合物及脂質組成之群。在一些實施例中，細胞表面抗原為疾病相關抗原，諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原為CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPC5D或FCRL5。在一些實施例中，靶抗原為表面呈遞肽/MHC複合體。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含源自疾病相關抗原(諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原)之肽及MHC蛋白質。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含肽及MHC蛋白質，其中該肽源自選自由WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA組成之群的蛋白質。在一些實施例中，MHC蛋白質為MHC I類蛋白質。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A。在一些實施例中，

HLA-A為HLA-A02。在一些實施例中，HLA-A02為HLA-A*02:01。在一些實施例中，效應細胞為 $\gamma\delta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR α 及/或 β 鏈之表現的 $\alpha\beta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞係選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群。

在一些實施例中，提供一種治療有需要個體之靶抗原相關疾病(諸如癌症或病毒感染)的方法，其包含向個體投與有效量之組合物，該組合物包含於表面上呈遞特異性識別靶抗原之abTCR的效應細胞(諸如T細胞或自然殺手細胞)，abTCR包含a)第一多肽鏈，其自胺基端至羧基端依次包含第一抗原結合域及包含SEQ ID NO: 19之胺基酸序列的第一TCRD；及b)第二多肽鏈，其自胺基端至羧基端依次包含第二抗原結合域及包含SEQ ID NO: 20之胺基酸序列的第二TCRD，其中第一抗原結合域與第二抗原結合域形成特異性結合靶抗原之Fab樣抗原結合模組，其中第一TCRD與第二TCRD形成能夠募集至少一個TCR相關信號傳導模組之TCRM。在一些實施例中，Fab樣抗原結合模組為人類、人類化、嵌合、半合成或全合成的。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含a)至少一個包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 70或71之胺基酸序列的T細胞共刺激信號傳導序列；及/或b)包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 50-52中之任一者之胺基酸序列的抗原決定基標籤。在一些實施例中，abTCR進一步包含在第一抗原結合域之胺基端的第一信號肽及/或在第二抗原結合域之胺基端的第二信號肽，其中第一及/或第二信號肽包含SEQ ID NO: 49之胺基酸序列。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一個選自由CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及 $\zeta\zeta$ 組成之群的TCR相關信號傳導模組。在一些實施

例中，TCRM促進abTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，第一多肽鏈及第二多肽鏈經由以下連接：a)在第一TCRD之連接肽中之殘基與第二TCRD之連接肽中之殘基之間的二硫鍵；及/或b)在Fab樣抗原結合模組中之C_H1及C_L抗體域中之殘基之間的二硫鍵。在一些實施例中，靶抗原為細胞表面抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原係選自由蛋白質、碳水化合物及脂質組成之群。在一些實施例中，細胞表面抗原為疾病相關抗原，諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原為CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPC5D或FCRL5。在一些實施例中，靶抗原為表面呈遞肽/MHC複合體。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含源自疾病相關抗原(諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原)之肽及MHC蛋白質。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含肽及MHC蛋白質，其中該肽源自選自由WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA組成之群的蛋白質。在一些實施例中，MHC蛋白質為MHC I類蛋白質。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A。在一些實施例中，HLA-A為HLA-A02。在一些實施例中，HLA-A02為HLA-A*02:01。在一些實施例中，效應細胞為 $\alpha\beta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR γ 及/或 δ 鏈之表現的 $\gamma\delta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞係選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群。

在一些實施例中，提供一種治療有需要個體之靶抗原相關疾病(諸如癌症或病毒感染)的方法，其包含向個體投與有效量之組合物，該組合物包含於表面上呈遞特異性識別靶抗原之abTCR的效應細胞(諸如T細胞或自然殺手細胞)，abTCR包含a)第一多肽鏈，其自胺基端至羧基端依次包含

第一抗原結合域及包含SEQ ID NO: 21之胺基酸序列的第一TCRD；及b) 第二多肽鏈，其自胺基端至羧基端依次包含第二抗原結合域及包含SEQ ID NO: 22之胺基酸序列的第二TCRD，其中第一抗原結合域與第二抗原結合域形成特異性結合靶抗原之Fab樣抗原結合模組，其中第一TCRD與第二TCRD形成能夠募集至少一個TCR相關信號傳導模組之TCRM。在一些實施例中，Fab樣抗原結合模組為人類、人類化、嵌合、半合成或全合成的。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含a)至少一個包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 70或71之胺基酸序列的T細胞共刺激信號傳導序列；及/或b)包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 50-52中之任一者之胺基酸序列的抗原決定基標籤。在一些實施例中，abTCR進一步包含在第一抗原結合域之胺基端的第一信號肽及/或在第二抗原結合域之胺基端的第二信號肽，其中第一及/或第二信號肽包含SEQ ID NO: 49之胺基酸序列。在一些實施例中，TCRM能夠募集至少一個選自由CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及 $\zeta\zeta$ 組成之群的TCR相關信號傳導模組。在一些實施例中，TCRM促進abTCR-CD3複合體形成。在一些實施例中，第一多肽鏈及第二多肽鏈經由以下連接：a)在第一TCRD之連接肽中之殘基與第二TCRD之連接肽中之殘基之間的二硫鍵；及/或b)在Fab樣抗原結合模組中之C_H1及C_L抗體域中之殘基之間的二硫鍵。在一些實施例中，靶抗原為細胞表面抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原係選自由蛋白質、碳水化合物及脂質組成之群。在一些實施例中，細胞表面抗原為疾病相關抗原，諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原。在一些實施例中，細胞表面抗原為CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPCR5D或FCRL5。在一些實施例中，靶抗原為表面呈遞肽/MHC複合體。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含源自

疾病相關抗原(諸如腫瘤相關或病毒編碼抗原)之肽及MHC蛋白質。在一些實施例中，肽/MHC複合體包含肽及MHC蛋白質，其中該肽源自選自由WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA組成之群的蛋白質。在一些實施例中，MHC蛋白質為MHC I類蛋白質。在一些實施例中，MHC I類蛋白質為HLA-A。在一些實施例中，HLA-A為HLA-A02。在一些實施例中，HLA-A02為HLA-A*02:01。在一些實施例中，效應細胞為 $\alpha\beta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR γ 及/或 δ 鏈之表現的 $\gamma\delta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞係選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群。

在一些實施例中，提供一種治療有需要個體之AFP相關疾病的方法，其包含向個體投與有效量之組合物，該組合物包含於表面上呈遞abTCR之效應細胞(諸如T細胞或自然殺手細胞)，abTCR包含a)第一多肽鏈，第一多肽鏈包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO: 23之胺基酸序列；及b)第二多肽鏈，第二多肽鏈包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO: 24之胺基酸序列，其中第一多肽鏈及第二多肽鏈經由一或多個二硫鍵連接。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含T細胞共刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)及/或抗原決定基標籤(諸如HA、FLAG或myc)。在一些實施例中，抗原決定基標籤包含SEQ ID NO: 50-52之胺基酸序列中之任一者。在一些實施例中，第一多肽鏈進一步包含在第一abTCR域之胺基端的第一信號肽及/或第二多肽鏈進一步包含在第二abTCR域之胺基端的第二信號肽。在一些實施例中，第一及/或

第二信號肽包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 49之胺基酸序列。在一些實施例中，效應細胞為 $\gamma\delta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR α 及/或 β 鏈之表現的 $\alpha\beta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞係選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群。

在一些實施例中，提供一種治療有需要個體之AFP相關疾病的方法，其包含向個體投與有效量之組合物，該組合物包含於表面上呈遞abTCR之效應細胞(諸如T細胞或自然殺手細胞)，abTCR包含a)第一多肽鏈，第一多肽鏈包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO: 25之胺基酸序列；及b)第二多肽鏈，第二多肽鏈包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO: 26之胺基酸序列，其中第一多肽鏈及第二多肽鏈經由一或多個二硫鍵連接。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含T細胞共刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)及/或抗原決定基標籤(諸如HA、FLAG或myc)。在一些實施例中，抗原決定基標籤包含SEQ ID NO: 50-52之胺基酸序列中之任一者。在一些實施例中，第一多肽鏈進一步包含在第一abTCR域之胺基端的第一信號肽及/或第二多肽鏈進一步包含在第二abTCR域之胺基端的第二信號肽。在一些實施例中，第一及/或第二信號肽包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 49之胺基酸序列。在一些實施例中，效應細胞為 $\gamma\delta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR α 及/或 β 鏈之表現的 $\alpha\beta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞係選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群。

在一些實施例中，提供一種治療有需要個體之AFP相關疾病的方法，其包含向個體投與有效量之組合物，該組合物包含於表面上呈遞abTCR之效應細胞(諸如T細胞或自然殺手細胞)，abTCR包含a)第一多肽鏈，第一多肽鏈包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO: 27之胺基酸序列；及b)第二多肽鏈，第二多肽鏈包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO: 28之胺基酸序列，其中第一多肽鏈及第二多肽鏈經由一或多個二硫鍵連接。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含T細胞共刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)及/或抗原決定基標籤(諸如HA、FLAG或myc)。在一些實施例中，抗原決定基標籤包含SEQ ID NO: 50-52之胺基酸序列中之任一者。在一些實施例中，第一多肽鏈進一步包含在第一abTCR域之胺基端的第一信號肽及/或第二多肽鏈進一步包含在第二abTCR域之胺基端的第二信號肽。在一些實施例中，第一及/或第二信號肽包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 49之胺基酸序列。在一些實施例中，效應細胞為 $\gamma\delta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR α 及/或 β 鏈之表現的 $\alpha\beta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞係選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群。

在一些實施例中，提供一種治療有需要個體之AFP相關疾病的方法，其包含向個體投與有效量之組合物，該組合物包含於表面上呈遞abTCR之效應細胞(諸如T細胞或自然殺手細胞)，abTCR包含a)第一多肽鏈，第一多肽鏈包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO: 29之胺基酸序列；及b)第二多肽鏈，第二多肽鏈包含第二abTCR域，第二

abTCR域包含SEQ ID NO: 30之胺基酸序列，其中第一多肽鏈及第二多肽鏈經由一或多個二硫鍵連接。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含T細胞共刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)及/或抗原決定基標籤(諸如HA、FLAG或myc)。在一些實施例中，抗原決定基標籤包含SEQ ID NO: 50-52之胺基酸序列中之任一者。在一些實施例中，第一多肽鏈進一步包含在第一abTCR域之胺基端的第一信號肽及/或第二多肽鏈進一步包含在第二abTCR域之胺基端的第二信號肽。在一些實施例中，第一及/或第二信號肽包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 49之胺基酸序列。在一些實施例中，效應細胞為 $\alpha\beta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR γ 及/或 δ 鏈之表現的 $\gamma\delta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞係選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群。

在一些實施例中，提供一種治療有需要個體之AFP相關疾病的方法，其包含向個體投與有效量之組合物，該組合物包含於表面上呈遞abTCR之效應細胞(諸如T細胞或自然殺手細胞)，abTCR包含a)第一多肽鏈，第一多肽鏈包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO: 31之胺基酸序列；及b)第二多肽鏈，第二多肽鏈包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO: 32之胺基酸序列，其中第一多肽鏈及第二多肽鏈經由一或多個二硫鍵連接。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含T細胞共刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)及/或抗原決定基標籤(諸如HA、FLAG或myc)。在一些實施例中，抗原決定基標籤包含SEQ ID

NO: 50-52之胺基酸序列中之任一者。在一些實施例中，第一多肽鏈進一步包含在第一abTCR域之胺基端的第一信號肽及/或第二多肽鏈進一步包含在第二abTCR域之胺基端的第二信號肽。在一些實施例中，第一及/或第二信號肽包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 49之胺基酸序列。在一些實施例中，效應細胞為 $\alpha\beta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR γ 及/或 δ 鏈之表現的 $\gamma\delta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞係選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群。

在一些實施例中，提供一種治療有需要個體之AFP相關疾病的方法，其包含向個體投與有效量之組合物，該組合物包含於表面上呈遞abTCR之效應細胞(諸如T細胞或自然殺手細胞)，abTCR包含a)第一多肽鏈，第一多肽鏈包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO: 33之胺基酸序列；及b)第二多肽鏈，第二多肽鏈包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO: 34之胺基酸序列，其中第一多肽鏈及第二多肽鏈經由一或多個二硫鍵連接。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含T細胞共刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)及/或抗原決定基標籤(諸如HA、FLAG或myc)。在一些實施例中，抗原決定基標籤包含SEQ ID NO: 50-52之胺基酸序列中之任一者。在一些實施例中，第一多肽鏈進一步包含在第一abTCR域之胺基端的第一信號肽及/或第二多肽鏈進一步包含在第二abTCR域之胺基端的第二信號肽。在一些實施例中，第一及/或第二信號肽包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 49之胺基酸序列。在一些實施例中，效應細胞為 $\alpha\beta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞為經修飾以

阻斷或減少TCR γ 及/或 δ 鏈之表現的 $\gamma\delta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞係選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群。

在一些實施例中，提供一種治療有需要個體之AFP相關疾病的方法，其包含向個體投與有效量之組合物，該組合物包含於表面上呈遞abTCR之效應細胞(諸如T細胞或自然殺手細胞)，abTCR包含a)第一多肽鏈，第一多肽鏈包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO: 35之胺基酸序列；及b)第二多肽鏈，第二多肽鏈包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO: 36之胺基酸序列，其中第一多肽鏈及第二多肽鏈經由一或多個二硫鍵連接。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含T細胞共刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)及/或抗原決定基標籤(諸如HA、FLAG或myc)。在一些實施例中，抗原決定基標籤包含SEQ ID NO: 50-52之胺基酸序列中之任一者。在一些實施例中，第一多肽鏈進一步包含在第一abTCR域之胺基端的第一信號肽及/或第二多肽鏈進一步包含在第二abTCR域之胺基端的第二信號肽。在一些實施例中，第一及/或第二信號肽包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 49之胺基酸序列。在一些實施例中，效應細胞為 $\alpha\beta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR γ 及/或 δ 鏈之表現的 $\gamma\delta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞係選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群。

在一些實施例中，提供一種治療有需要個體之CD19相關疾病的方法，其包含向個體投與有效量之組合物，該組合物包含於表面上呈遞

abTCR之效應細胞(諸如T細胞或自然殺手細胞)，abTCR包含a)第一多肽鏈，第一多肽鏈包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO: 42之胺基酸序列；及b)第二多肽鏈，第二多肽鏈包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO: 43之胺基酸序列，其中第一多肽鏈及第二多肽鏈經由一或多個二硫鍵連接。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含T細胞共刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)及/或抗原決定基標籤(諸如HA、FLAG或myc)。在一些實施例中，抗原決定基標籤包含SEQ ID NO: 50-52之胺基酸序列中之任一者。在一些實施例中，第一多肽鏈進一步包含在第一abTCR域之胺基端的第一信號肽及/或第二多肽鏈進一步包含在第二abTCR域之胺基端的第二信號肽。在一些實施例中，第一及/或第二信號肽包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 49之胺基酸序列。在一些實施例中，效應細胞為 $\alpha\beta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR γ 及/或 δ 鏈之表現的 $\gamma\delta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞係選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群。

在一些實施例中，提供一種治療有需要個體之CD19相關疾病的方法，其包含向個體投與有效量之組合物，該組合物包含於表面上呈遞abTCR之效應細胞(諸如T細胞或自然殺手細胞)，abTCR包含a)第一多肽鏈，第一多肽鏈包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO: 42之胺基酸序列；及b)第二多肽鏈，第二多肽鏈包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO: 54之胺基酸序列，其中第一多肽鏈及第二多肽鏈經由一或多個二硫鍵連接。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一

個附屬細胞內域，其包含T細胞共刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)及/或抗原決定基標籤(諸如HA、FLAG或myc)。在一些實施例中，抗原決定基標籤包含SEQ ID NO: 50-52之胺基酸序列中之任一者。在一些實施例中，第一多肽鏈進一步包含在第一abTCR域之胺基端的第一信號肽及/或第二多肽鏈進一步包含在第二abTCR域之胺基端的第二信號肽。在一些實施例中，第一及/或第二信號肽包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 49之胺基酸序列。在一些實施例中，效應細胞為 $\alpha\beta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR γ 及/或 δ 鏈之表現的 $\gamma\delta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞係選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群。

在一些實施例中，提供一種治療有需要個體之CD19相關疾病的方法，其包含向個體投與有效量之組合物，該組合物包含於表面上呈遞abTCR之效應細胞(諸如T細胞或自然殺手細胞)，abTCR包含a)第一多肽鏈，第一多肽鏈包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO: 55之胺基酸序列；及b)第二多肽鏈，第二多肽鏈包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO: 54之胺基酸序列，其中第一多肽鏈及第二多肽鏈經由一或多個二硫鍵連接。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含T細胞共刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)及/或抗原決定基標籤(諸如HA、FLAG或myc)。在一些實施例中，抗原決定基標籤包含SEQ ID NO: 50-52之胺基酸序列中之任一者。在一些實施例中，第一多肽鏈進一步包含在第一abTCR域之胺基端的第一信號肽及/或第二多肽鏈進一步包

含在第二abTCR域之胺基端的第二信號肽。在一些實施例中，第一及/或第二信號肽包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 49之胺基酸序列。在一些實施例中，效應細胞為 $\alpha\beta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR γ 及/或 δ 鏈之表現的 $\gamma\delta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞係選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群。

在一些實施例中，提供一種治療有需要個體之CD19相關疾病的方法，其包含向個體投與有效量之組合物，該組合物包含於表面上呈遞abTCR之效應細胞(諸如T細胞或自然殺手細胞)，abTCR包含a)第一多肽鏈，第一多肽鏈包含第一abTCR域，第一abTCR域包含SEQ ID NO: 56之胺基酸序列；及b)第二多肽鏈，第二多肽鏈包含第二abTCR域，第二abTCR域包含SEQ ID NO: 54之胺基酸序列，其中第一多肽鏈及第二多肽鏈經由一或多個二硫鍵連接。在一些實施例中，abTCR進一步包含至少一個附屬細胞內域，其包含T細胞共刺激信號傳導序列(諸如來自CD27、CD28、4-1BB (CD137)、OX40、CD30或CD40)及/或抗原決定基標籤(諸如HA、FLAG或myc)。在一些實施例中，抗原決定基標籤包含SEQ ID NO: 50-52之胺基酸序列中之任一者。在一些實施例中，第一多肽鏈進一步包含在第一abTCR域之胺基端的第一信號肽及/或第二多肽鏈進一步包含在第二abTCR域之胺基端的第二信號肽。在一些實施例中，第一及/或第二信號肽包含(諸如由以下組成) SEQ ID NO: 49之胺基酸序列。在一些實施例中，效應細胞為 $\alpha\beta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR γ 及/或 δ 鏈之表現的 $\gamma\delta$ T細胞。在一些實施例中，效應細胞係選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組

成之群。

亦涵蓋治療有需要個體之靶抗原相關疾病的方法，其包含向個體投與一種組合物，該組合物包含複數個表現不同abTCR之效應細胞。因此，在一些實施例中，根據本文所述之治療個體之靶抗原相關疾病的方法中之任一者，組合物為如本文所述之異質性abTCR效應細胞組合物。

舉例而言，在一些實施例中，提供一種治療有需要個體之靶抗原相關疾病(諸如癌症或病毒感染)的方法，其包含向個體投與有效量之異質性abTCR效應細胞組合物，該組合物包含複數個根據本文所述實施例中之任一者的abTCR效應細胞群體，其中組合物中之所有abTCR效應細胞皆具有相同細胞類型(例如，所有abTCR效應細胞皆為細胞毒性T細胞)，其中各abTCR效應細胞群體表現不同於其他abTCR效應細胞群體的abTCR，且其中至少一個abTCR效應細胞群體表現特異性結合至靶抗原之abTCR。在一些實施例中，abTCR效應細胞為T細胞。在一些實施例中，abTCR效應細胞係選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群。在一些實施例中，各abTCR效應細胞群體表現特異性結合至靶抗原之abTCR。在一些實施例中，至少一個abTCR效應細胞群體表現特異性結合至不同靶抗原之abTCR。在一些實施例中，其中至少一個abTCR效應細胞群體表現特異性結合至不同靶抗原之abTCR，不同靶抗原中之每一者與靶抗原相關疾病相關。

在一些實施例中，提供一種治療有需要個體之靶抗原相關疾病(諸如癌症或病毒感染)的方法，其包含向個體投與有效量之異質性abTCR效應細胞組合物，該組合物包含複數個根據本文所述實施例中之任一者的abTCR效應細胞群體，其中至少一個abTCR效應細胞群體具有不同於其他

abTCR效應細胞群體的細胞類型，且其中至少一個abTCR效應細胞群體表現特異性結合至靶抗原之abTCR。在一些實施例中，所有abTCR效應細胞群體全具有不同細胞類型。在一些實施例中，abTCR效應細胞為T細胞。在一些實施例中，各abTCR效應細胞群體具有選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群的細胞類型。在一些實施例中，各abTCR效應細胞群體表現相同abTCR。在一些實施例中，至少一個abTCR效應細胞群體表現不同於其他abTCR效應細胞群體的abTCR。在一些實施例中，各abTCR效應細胞群體表現不同於其他abTCR效應細胞群體的abTCR。在一些實施例中，各abTCR效應細胞群體表現特異性結合至靶抗原之abTCR。在一些實施例中，至少一個abTCR效應細胞群體表現特異性結合至不同靶抗原之abTCR。在一些實施例中，其中至少一個abTCR效應細胞群體表現特異性結合至不同靶抗原之abTCR，不同靶抗原中之每一者與靶抗原相關疾病相關。

在一些實施例中，提供一種治療有需要個體之與複數個靶抗原相關之疾病的方法，其包含向個體投與有效量之異質性abTCR效應細胞組合物，該組合物包含複數個根據本文所述實施例中之任一者的abTCR效應細胞群體，其中組合物中之所有abTCR效應細胞皆具有相同細胞類型(例如，所有abTCR效應細胞皆為細胞毒性T細胞)，其中各abTCR效應細胞群體表現不同於其他abTCR效應細胞群體的abTCR，且其中對於複數個靶抗原之各靶抗原而言，至少一個abTCR效應細胞群體表現特異性結合至靶抗原之abTCR。在一些實施例中，abTCR效應細胞為T細胞。在一些實施例中，abTCR效應細胞係選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群。

在一些實施例中，提供一種治療有需要個體之與複數個靶抗原相關之疾病的方法，其包含向個體投與有效量之異質性abTCR效應細胞組合物，該組合物包含複數個根據本文所述實施例中之任一者的abTCR效應細胞群體，其中至少一個abTCR效應細胞群體具有不同於其他abTCR效應細胞群體的細胞類型，且其中對於複數個靶抗原之各靶抗原而言，至少一個abTCR效應細胞群體表現特異性結合至靶抗原之abTCR。在一些實施例中，所有abTCR效應細胞群體全具有不同細胞類型。在一些實施例中，abTCR效應細胞為T細胞。在一些實施例中，各abTCR效應細胞群體具有選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群的細胞類型。在一些實施例中，各abTCR效應細胞群體表現不同於其他abTCR效應細胞群體的abTCR。

在一些實施例中，個體為哺乳動物(例如人類、非人類靈長類動物、大鼠、小鼠、母牛、馬、豬、綿羊、山羊、狗、貓等)。在一些實施例中，個體為人類。在一些實施例中，個體為臨床患者、臨床試驗志願者、實驗動物等。在一些實施例中，個體年齡小於約60歲(包括例如年齡小於約50、40、30、25、20、15或10歲中的任一者)。。在一些實施例中，個體年齡大於約60歲(包括例如年齡大於約70、80、90或100歲中的任一者)。在一些實施例中，個體診斷患有或環境上或基因上易患本文所述之疾病或病症中的一或多者(諸如癌症或病毒感染)。在一些實施例中，個體具有與一或多種本文所述之疾病或病症相關之一或多種風險因素。

在一些實施例中，本發明之abTCR效應細胞組合物與第二、第三或第四藥劑(包括例如抗贅生劑、生長抑制劑、細胞毒性劑或化學治療劑)組合投與來治療涉及靶抗原表現之疾病或病症。在一些實施例中，abTCR效

應細胞組合物與細胞因子(諸如IL-2)組合投與。在一些實施例中，abTCR與增加MHC蛋白質表現及/或增強MHC蛋白質對肽之表面呈遞之藥劑組合投與。在一些實施例中，藥劑包括例如IFN受體促效劑、Hsp90抑制劑、p53表現增強劑及化學治療劑。在一些實施例中，藥劑為IFN受體促效劑，包括例如IFN γ 、IFN β 及IFN α 。在一些實施例中，藥劑為Hsp90抑制劑，包括例如坦螺旋黴素(tanespimycin；17-AAG)、阿螺旋黴素(alvespimycin；17-DMAG)、瑞他黴素(retaspimycin；IPI-504)、IPI-493、CNF2024/BIIB021、MPC-3100、Debio 0932 (CUDC-305)、PU-H71、加利特皮(Ganetespib；STA-9090)、NVP-AUY922 (VER-52269)、HSP990、KW-2478、AT13387、SNX-5422、DS-2248及XL888。在一些實施例中，藥劑為p53表現增強劑，包括例如5-氟尿嘧啶及nutlin-3。在一些實施例中，藥劑為化學治療劑，包括例如拓朴替康(topotecan)、依託泊苷(etoposide)、順鉑(cisplatin)、太平洋紫杉醇(paclitaxel)及長春鹼(vinblastine)。

在一些實施例中，提供一種治療有需要個體之靶抗原陽性疾病的方法，其包含向個體投與根據本文所述實施例中之任一者的abTCR效應細胞組合物以及細胞因子(諸如IL-2)。在一些實施例中，abTCR效應細胞組合物及細胞因子係同時投與。在一些實施例中，abTCR效應細胞組合物及細胞因子係依序投與。

在一些實施例中，提供一種治療有需要個體之靶抗原陽性疾病的方法，其中表現靶抗原之細胞於其表面上通常不呈遞或以相對較低含量呈遞包含靶抗原及MHC I類蛋白質之複合體，該方法包含向個體投與根據本文所述實施例中之任一者的abTCR效應細胞組合物以及提高MHC I類蛋白質

之表現及/或增強MHC I類蛋白質對靶抗原之表面呈遞的藥劑。在一些實施例中，藥劑包括例如IFN受體促效劑、Hsp90抑制劑、p53表現增強劑及化學治療劑。在一些實施例中，藥劑為IFN受體促效劑，包括例如IFN γ 、IFN β 及IFN α 。在一些實施例中，藥劑為Hsp90抑制劑，包括例如坦螺旋黴素(17-AAG)、阿螺旋黴素(17-DMAG)、瑞他黴素(IPI-504)、IPI-493、CNF2024/BIIB021、MPC-3100、Debio 0932 (CUDC-305)、PU-H71、加利特皮(STA-9090)、NVP-AUY922 (VER-52269)、HSP990、KW-2478、AT13387、SNX-5422、DS-2248及XL888。在一些實施例中，藥劑為p53表現增強劑，包括例如5-氟尿嘧啶及nutlin-3。在一些實施例中，藥劑為化學治療劑，包括例如拓朴替康、依託泊苷、順鉑、太平洋紫杉醇及長春鹼。在一些實施例中，abTCR效應細胞組合物及藥劑同時投與。在一些實施例中，abTCR效應細胞組合物及藥劑依序投與。

在一些實施例中，提供一種治療有需要個體之靶抗原相關疾病(諸如癌症或病毒感染)的方法，其包含向個體投與有效量之組合物，該組合物包含編碼根據本文所述實施例中之任一者之abTCR的核酸。基因傳遞方法為此項技術中已知的。參見例如美國專利第5,399,346號、第5,580,859號、第5,589,466號，其以全文引用的方式併入本文中。

癌症治療可藉由例如腫瘤消退、腫瘤重量或尺寸收縮、進展時間、存活持續時間、無進展存活期、總反應率、反應持續時間、生活品質、蛋白質表現及/或活性評估。可使用用於確定療法功效之方法，包括例如經由放射成像量測反應。

在一些實施例中，治療功效以腫瘤生長抑制百分比(TGI%)形式量測，其使用方程式 $100 - (T/C \times 100)$ 計算，其中T為經治療腫瘤之平均相對

腫瘤體積，且C為未治療腫瘤之平均相對腫瘤體積。在一些實施例中，TGI%為約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%或大於95%。

病毒感染治療可例如藉由病毒負荷、存活持續時間、生活品質、蛋白質表現及/或活性評估。

疾病

在一些實施例中，abTCR效應細胞可適用於治療與靶抗原相關之癌症。可使用本文所描述之方法中的任一者治療之癌症包括非血管化，或尚未大體上血管化之腫瘤，以及血管化腫瘤。癌症可包含非實體腫瘤(諸如血液腫瘤，例如白血病及淋巴瘤)或可包含實體腫瘤。待藉由本發明之abTCR效應細胞治療之癌症之類型包括(但不限於)癌瘤、母細胞瘤及肉瘤，及某些白血病或淋巴惡性腫瘤、良性及惡性腫瘤，及惡性病，例如，肉瘤、癌瘤及黑色素瘤。成人腫瘤/癌症及小兒腫瘤/癌症亦包括在內。

血液癌為血液或骨髓之癌症。血液(或血性)癌之實例包括白血病，包括急性白血病(諸如急性淋巴球性白血病、急性骨髓細胞性白血病、急性骨髓性白血病及骨髓母細胞性、前髓細胞性、骨髓單核細胞性、單核細胞性及紅白血病)、慢性白血病(諸如慢性骨髓細胞性(粒細胞性)白血病、慢性骨髓性白血病及慢性淋巴球性白血病)、真性紅血球增多症、淋巴瘤、霍奇金氏病(Hodgkin's disease)、非霍奇金氏淋巴瘤(頑固性及高級形式)、多發性骨髓瘤、漿細胞瘤、瓦爾登斯特倫氏巨球蛋白血症(Waldenstrom's macroglobulinemia)、重鏈病、骨髓發育不良症候群、毛細胞白血病及骨髓發育不良。

實體腫瘤為通常不含有囊腫或液體區域之異常組織塊體。實體腫瘤

可為良性或惡性的。不同類型的實體腫瘤以形成其之細胞類型命名(諸如肉瘤、癌瘤及淋巴瘤)。實體腫瘤(諸如肉瘤及癌瘤)之實例包括腎上腺皮質癌、膽管癌、纖維肉瘤、黏液肉瘤、脂肉瘤、軟骨肉瘤、骨肉瘤及其他肉瘤、滑膜瘤、間皮瘤、尤文氏腫瘤(Ewing's tumor)、平滑肌肉瘤、橫紋肌肉瘤、結腸癌瘤、胃癌、淋巴惡性腫瘤、胰臟癌、乳癌、肺癌、卵巢癌、前列腺癌、肝細胞癌、鱗狀細胞癌、基底細胞癌、腺癌、汗腺癌、甲狀腺癌(例如甲狀腺髓樣癌及乳頭狀甲狀腺癌)、嗜鉻細胞瘤、皮脂腺癌、乳頭狀癌、乳頭狀腺癌、髓性癌、支氣管癌、腎細胞癌、肝癌、膽管癌、絨膜癌、威耳姆士腫瘤(Wilms' tumor)、子宮頸癌(例如，子宮頸癌及侵襲前子宮頸發育異常)、結腸直腸癌、肛門癌、肛管癌或肛門直腸癌、陰道癌、外陰癌(例如，鱗狀細胞癌、上皮內癌、腺癌及纖維肉瘤)、陰莖癌、口咽癌、食道癌、頭癌(例如，鱗狀細胞癌)、頸癌(例如，鱗狀細胞癌)、睪丸癌(例如，精原細胞瘤、畸胎瘤、胚胎癌、畸胎上皮癌、絨膜癌、肉瘤、萊迪希細胞腫瘤(Leydig cell tumor)、纖維瘤、纖維腺瘤、腺瘤樣腫瘤及脂肪瘤)、膀胱癌、腎癌、黑色素瘤、子宮癌(例如，子宮內膜癌)、尿道上皮癌(例如，鱗狀細胞癌、移行細胞癌、腺癌、輸尿管癌及膀胱癌)、及CNS腫瘤(諸如神經膠質瘤(諸如腦幹神經膠質瘤及混合神經膠質瘤)、神經膠母細胞瘤(亦稱為多形性膠質母細胞瘤)星形細胞瘤、CNS淋巴瘤、胚細胞瘤、神經管胚細胞瘤、神經鞘瘤、顱咽管瘤、室管膜瘤、松果體瘤、血管母細胞瘤、聽神經瘤、少突神經膠質瘤、腦膜瘤、神經母細胞瘤、視網膜母細胞瘤及腦轉移瘤)。

癌症治療可例如藉由腫瘤消退、腫瘤重量或尺寸收縮、進展時間、存活持續時間、無進展存活期、總反應率、反應持續時間、生活品質、蛋

白質表現及/或活性評估。可使用用於確定療法功效之方法，包括例如經由放射成像量測反應。

在其他實施例中，abTCR效應細胞可適用於藉由靶向病原體相關(諸如病毒編碼)抗原治療傳染性疾病。待預防或治療之感染例如可能係由病毒、細菌、原蟲或寄生蟲引起。靶抗原可為致病性蛋白質、多肽或肽，其造成由病原體引起之疾病，或能夠在受到病原體感染之宿主中誘導免疫反應。可藉由abTCR效應細胞靶向之致病性抗原包括(但不限於)源自以下之抗原：鮑氏不動桿菌(*Acinetobacter baumannii*)、邊蟲屬(*Anaplasma* genus)、嗜吞噬細胞無形體(*Anaplasma phagocytophilum*)、巴西鉤蟲(*Ancylostoma braziliense*)、十二指腸鉤蟲(*Ancylostoma duodenale*)、溶血隱秘桿菌(*Arcanobacterium haemolyticum*)、似蚓蛔線蟲(*Ascaris lumbricoides*)、麴菌屬(*Aspergillus* genus)、星狀病毒科(*Astroviridae*)、巴倍蟲屬(*Babesia* genus)、炭疽芽孢桿菌(*Bacillus anthracis*)、蠟樣芽孢桿菌(*Bacillus cereus*)、漢氏巴爾通體(*Bartonella henselae*)、BK病毒、人芽囊原蟲(*Blastocystis hominis*)、皮炎芽生菌(*Blastomyces dermatitidis*)、百日咳博特氏菌(*Bordetella pertussis*)、伯氏疏螺旋體(*Borrelia burgdorferi*)、疏螺旋體屬(*Borrelia* genus)、疏螺旋體屬物種(*Borrelia* spp)、布氏桿菌屬(*Brucella* genus)、馬來血絲蟲(*Brugia malayi*)、布尼亞病毒科(*Bunyaviridae* family)、洋蔥伯克霍爾德氏菌(*Burkholderia cepacia*)及其他伯克霍爾德氏菌物種、鼻疽伯克霍爾德氏菌(*Burkholderia mallei*)、類鼻疽伯克霍爾德氏菌(*Burkholderia pseudomallei*)、杯狀病毒科(*Caliciviridae* family)、曲狀桿菌屬(*Campylobacter* genus)、白色念珠菌(*Candida albicans*)、假絲酵母屬

(*Candida* spp)、沙眼披衣菌(*Chlamydia trachomatis*)、肺炎嗜衣原體(*Chlamydophila pneumoniae*)、鸚鵡熱嗜衣原體(*Chlamydophila psittaci*)、CJD朊病毒、華支睪吸蟲(*Clonorchis sinensis*)、肉毒梭菌(*Clostridium botulinum*)、艱難梭菌(*Clostridium difficile*)、產氣莢膜梭菌(*Clostridium perfringens*)、產氣莢膜梭菌、梭菌屬(*Clostridium* spp)、破傷風梭菌(*Clostridium tetani*)、粗球菌屬(*Coccidioides* spp)、冠狀病毒(*coronaviruses*)、白喉棒狀桿菌(*Corynebacterium diphtheriae*)、貝氏考克斯菌(*Coxiella burnetii*)、克里米亞-岡果出血熱病毒(*Crimean-Congo hemorrhagic fever virus*)、新型隱球菌(*Cryptococcus neoformans*)、隱孢子蟲屬(*Cryptosporidium* genus)、巨細胞病毒(CMV)、登革病毒(*Dengue virus*) (DEN-1、DEN-2、DEN-3及DEN-4)、脆雙核阿米巴(*Dientamoeba fragilis*)、埃博拉病毒(*Ebolavirus* ; EBOV)、胞蟲屬(*Echinococcus* genus)、查菲艾利希體(*Ehrlichia chaffeensis*)、尤溫艾利希體(*Ehrlichia ewingii*)、艾利希體屬(*Ehrlichia* genus)、溶組織內阿米巴(*Entamoeba histolytica*)、腸球菌屬(*Enterococcus* genus)、腸病毒屬(*Enterovirus* genus)、腸病毒、主要為科沙奇A病毒(*Coxsackie A virus*)及腸病毒71 (EV71)、表皮癬菌屬(*Epidermophyton* spp)、埃-巴二氏病毒(EBV)、大腸桿菌(*Escherichia coli*) O157:H7、O111及O104:H4、肝片吸蟲(*Fasciola hepatica*)及巨大肝蛭(*Fasciola gigantica*)、FFI朊病毒、絲蟲總科(*Filarioidea* superfamily)、黃病毒(*Flavivirus*)、土拉熱弗朗西絲菌(*Francisella tularensis*)、梭菌屬(*Fusobacterium* genus)、白地絲黴菌(*Geotrichum candidum*)、腸梨形鞭毛蟲(*Giardia intestinalis*)、頷口蟲屬(*Gnathostoma* spp)、GSS朊病毒、瓜納里托病毒(*Guanarito virus*)、杜氏

嗜血桿菌 (*Haemophilus ducreyi*)、流感嗜血桿菌 (*Haemophilus influenzae*)、幽門螺旋桿菌 (*Helicobacter pylori*)、亨尼帕病毒 (*Henipavirus*) (亨德拉病毒尼帕病毒(*Hendra virus Nipah virus*))、A型肝炎病毒、B型肝炎病毒(*HBV*)、C型肝炎病毒(*HCV*)、D型肝炎病毒、E型肝炎病毒、單純疱疹病毒1及2 (*HSV-1*及*HSV-2*)、莢膜組織胞漿菌 (*Histoplasma capsulatum*)、HIV (人類免疫缺乏病毒)、威尼克外瓶黴 (*Hortaea werneckii*)、人類博卡病毒(*Human bocavirus ; HBoV*)、人類疱疹病毒6 (*HHV-6*)及人類疱疹病毒7 (*HHV-7*)、人類間質肺炎病毒 (*hMPV*)、人類乳頭狀瘤病毒(*HPV*)、人類副流行性感冒病毒(*HPIV*)、人類T細胞白血病毒1 (*HTLV-1*)、日本腦炎病毒(*Japanese encephalitis virus*)、JC病毒、胡寧病毒(*Junin virus*)、卡波西氏肉瘤相關疱疹病毒 (*KSHV*)、金格桿菌(*Kingella kingae*)、肉芽腫克雷伯氏菌(*Klebsiella granulomatis*)、庫魯病朊病毒(*Kuru prion*)、拉沙病毒(*Lassa virus*)、嗜肺軍團菌(*Legionella pneumophila*)、利什曼原蟲屬(*Leishmania genus*)、鉤端螺旋體屬(*Leptospira genus*)、單核球增多性李氏菌 (*Listeria monocytogenes*)、淋巴球性脈絡叢腦膜炎病毒 (*Lymphocytic choriomeningitis virus ; LCMV*)、馬丘波病毒(*Machupo virus*)、馬拉色氏黴菌屬 (*Malassezia spp*)、馬堡病毒 (*Marburg virus*)、麻疹病毒 (*Measles virus*)、橫川後殖吸蟲(*Metagonimus yokagawai*)、微孢子蟲門 (*Microsporidia phylum*)、傳染性軟疣病毒(*MCV*)、流行性腮腺炎病毒 (*Mumps virus*)、麻風分枝桿菌(*Mycobacterium leprae*)及瀰漫型癩瘋分枝桿菌 (*Mycobacterium lepromatosis*)、結核分枝桿菌 (*Mycobacterium tuberculosis*)、潰瘍分枝桿菌 (*Mycobacterium ulcerans*)、支原體肺炎

(*Mycoplasma pneumoniae*)、變形纖毛蟲(*Naegleria fowleri*)、美洲鉤蟲(*Necator americanus*)、淋病奈瑟氏菌(*Neisseria gonorrhoeae*)、腦膜炎奈瑟氏菌(*Neisseria meningitidis*)、星形土壤絲菌(*Nocardia asteroides*)、土壤絲菌屬、人蟠尾絲蟲(*Onchocerca volvulus*)、恙蟲病東方體(*Orientia tsutsugamushi*)、正黏病毒科(*Orthomyxoviridae* family) (流感)、巴西副球孢子菌(*Paracoccidioides brasiliensis*)、并殖吸蟲屬(*Paragonimus* spp)、衛氏并殖吸蟲(*Paragonimus westermani*)、小病毒B19、巴氏桿菌屬(*Pasteurella* genus)、瘧原蟲屬(*Plasmodium* genus)、耶氏肺孢子蟲(*Pneumocystis jirovecii*)、脊髓灰白質炎病毒(*Poliovirus*)、狂犬病病毒(*Rabies virus*)、呼吸道融合病毒(RSV)、鼻病毒(*Rhinovirus*)、鼻病毒(*rhinoviruses*)、痘立克次體(*Rickettsia akari*)、立克次體屬(*Rickettsia* genus)、普氏立克次體(*Rickettsia prowazekii*)、落磯山熱立克次體(*Rickettsia rickettsii*)、傷寒立克次體(*Rickettsia typhi*)、東非瑞夫特河谷羊熱病病毒(*Rift Valley fever virus*)、輪狀病毒(*Rotavirus*)、風疹病毒(*Rubella virus*)、薩比亞病毒(*Sabia virus*)、沙門氏菌屬(*Salmonella* genus)、疥蟎(*Sarcoptes scabiei*)、SARS冠狀病毒、住血吸蟲屬(*Schistosoma* genus)、志賀桿菌屬(*Shigella* genus)、辛諾柏病毒(*Sin Nombre virus*)、漢坦病毒(*Hantavirus*)、申克孢子絲菌(*Sporothrix schenckii*)、葡萄球菌屬(*Staphylococcus* genus)、葡萄球菌屬(*Staphylococcus* genus)、無乳鏈球菌(*Streptococcus agalactiae*)、肺炎鏈球菌(*Streptococcus pneumoniae*)、化膿性鏈球菌(*Streptococcus pyogenes*)、腸類圓線蟲(*Strongyloides stercoralis*)、條蟲屬(*Taenia* genus)、有鉤條蟲(*Taenia solium*)、蜱傳腦炎病毒(Tick-borne

encephalitis virus ; TBEV)、犬蛔蟲(*Toxocara canis*)或貓蛔蟲(*Toxocara cati*)、弓蟲(*Toxoplasma gondii*)、梅毒螺旋體(*Treponema pallidum*)、旋毛蟲(*Trichinella spiralis*)、陰道毛滴蟲(*Trichomonas vaginalis*)、發癬菌屬(*Trichophyton spp*)、毛首鞭形線蟲(*Trichuris trichiura*)、布氏錐蟲(*Trypanosoma brucei*)、克氏錐蟲(*Trypanosoma cruzi*)、解脲支原體(*Ureaplasma urealyticum*)、水痘帶狀皰狀病毒(*Varicella zoster virus ; VZV*)、水痘帶狀皰狀病毒(*VZV*)、大天花(*Variola major*)或小天花(*Variola minor*)、vCJD朊病毒、委內瑞拉馬腦炎病毒(*Venezuelan equine encephalitis virus*)、霍亂弧菌(*Vibrio cholerae*)、西尼羅河病毒(*West Nile virus*)、西部馬腦炎病毒(*Western equine encephalitis virus*)、潘氏絲狀蟲(*Wuchereria bancrofti*)、黃熱病病毒(*Yellow fever virus*)、小腸結腸炎耶爾森氏菌(*Yersinia enterocolitica*)、鼠疫耶爾森菌(*Yersinia pestis*)及假結核耶爾森菌(*Yersinia pseudotuberculosis*)。

在一些實施例中，使用abTCR效應細胞治療致癌傳染性疾病，諸如受到致癌病毒感染。致癌病毒包括(但不限於) CMV、EBV、HBV、KSHV、HPV、MCV、HTLV-1、HIV-1及HCV。abTCR之靶抗原可為病毒癌蛋白，包括(但不限於) Tax、E7、E6/E7、E6、HBx、EBNA蛋白質(例如，EBNA3 A、EBNA3 C及EBNA 2)、v-週期素、LANA1、LANA2、LMP-1、k-bZIP、RTA、KSHV K8及其片段。參見Ahuja, Richa等人, *Curr. Sci.*, 2014。

製品及套組

在本發明之一些實施例中，提供一種製品，其含有適用於治療靶抗原陽性疾病之材料，該靶抗原陽性疾病諸如癌症(例如腎上腺皮質癌、膀

膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、膽管癌、結腸直腸癌、食道癌、神經膠母細胞瘤、神經膠質瘤、肝細胞癌、頭頸癌、腎癌、肺癌、黑色素瘤、間皮瘤、多發性骨髓瘤、胰臟癌、嗜鉻細胞瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤、胃癌、子宮癌或甲狀腺癌)或病毒感染(例如由CMV、EBV、HBV、KSHV、HPV、MCV、HTLV-1、HIV-1或HCV造成之感染)。該製品可包含容器及容器上或容器隨附之標記或藥品說明書。適合的容器包括例如瓶子、小瓶、注射器等。容器可由各種材料形成，諸如玻璃或塑膠。一般來說，容器容納可有效治療本文所述之疾病或病症的組合物，且可具有無菌出入端口(例如容器可為靜脈內溶液袋或具有可藉由皮下注射針刺穿之塞子的小瓶)。組合物中之至少一種活性劑為在表面上呈遞本發明abTCR之效應細胞。標記或藥品說明書指示該組合物用於治療特定病狀。標記或藥品說明書將進一步包含向患者投與abTCR效應細胞組合物之說明書。亦涵蓋包含本文中描述之組合療法的製品及套組。

藥品說明書係指市售治療產品包裝中通常所包括之含有關於適應症、用途、劑量、投藥、與此類治療產品之使用有關之禁忌及/或警告的說明書。在一些實施例中，藥品說明書指示，該組合物用於治療靶抗原陽性癌症(諸如腎上腺皮質癌、膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、膽管癌、結腸直腸癌、食道癌、神經膠母細胞瘤、神經膠質瘤、肝細胞癌、頭頸癌、腎癌、肺癌、黑色素瘤、間皮瘤、多發性骨髓瘤、胰臟癌、嗜鉻細胞瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤、胃癌、子宮癌或甲狀腺癌)。在其他實施例中，藥品說明書指示，該組合物用於治療靶抗原陽性病毒感染(例如由CMV、EBV、HBV、KSHV、HPV、MCV、HTLV-

1、HIV-1或HCV造成之感染)。

另外，製品可進一步包含第二容器，其包含醫藥學上可接受之緩衝液，諸如抑菌性注射用水(BWFI)、磷酸鹽緩衝鹽水、林格氏溶液及右旋糖溶液。其可進一步包括就商業及使用者觀點而言所需之其他物質，包括其他緩衝液、稀釋劑、過濾器、針及注射器。

亦提供適用於各種目的之套組，例如用於治療本文所述之靶抗原陽性疾病或病症，視情況與製品組合。本發明之套組包括一或多個容器，其包含abTCR效應細胞組合物(或單位劑型及/或製品)，且在一些實施例中，進一步包含根據本文所描述之方法中的任一者之另一藥劑(如本文所述之藥劑)及/或使用說明書。套組可進一步包含適合治療之個體之選擇的說明。本發明套組中提供之說明書為通常在標記或藥品說明書(例如，套組中包括之紙片)上之書面說明書，但為機器可讀說明書(例如，磁化或光學儲存碟上載有的說明書)亦為可接受的。

舉例而言，在一些實施例中，套組包含一種組合物，該組合物包含在表面上呈遞abTCR之效應細胞。在一些實施例中，套組包含a)包含在表面上呈遞abTCR之效應細胞的組合物，及b)有效量的至少一種其他藥劑，其中其他藥劑增加MHC蛋白質之表現及/或增強MHC蛋白質(例如IFN γ 、IFN β 、IFN α 或Hsp90抑制劑)對肽之表面呈遞。在一些實施例中，套組包含a)包含在表面上呈遞abTCR之效應細胞的組合物，及b)向個體投與abTCR效應細胞組合物以治療靶細胞陽性疾病(諸如癌症或病毒感染)之說明書。在一些實施例中，套組包含a)包含在表面上呈遞abTCR之效應細胞的組合物，b)有效量的至少一種其他藥劑，其中其他藥劑增加MHC蛋白質之表現及/或增強MHC蛋白質(例如IFN γ 、IFN β 、IFN α 或Hsp90抑制劑)

對肽之表面呈遞，及c)向個體投與abTCR效應細胞組合物及其他藥劑以治療靶細胞陽性疾病(諸如癌症或病毒感染)之說明書。abTCR效應細胞組合物及其他藥劑可存在於獨立容器或單一容器中。舉例而言，套組可包含一種獨特的組合物或兩種或更多種組合物，其中一種組合物包含abTCR效應細胞且另一組合物包含另一藥劑。

在一些實施例中，套組包含a)包含abTCR之組合物，及b)說明書，該說明書涉及abTCR與效應細胞(諸如源自個體之效應細胞，例如T細胞或自然殺手細胞)組合形成包含於表面上呈遞abTCR之效應細胞的組合物及向個體投與abTCR效應細胞組合物以治療靶抗原陽性疾病(諸如癌症或病毒感染)。在一些實施例中，套組包含a)包含abTCR之組合物，及b)效應細胞(諸如細胞毒性細胞)。在一些實施例中，套組包含a)包含abTCR之組合物，b)效應細胞(諸如細胞毒性細胞)，及c)說明書，該說明書涉及abTCR與效應細胞組合形成包含於表面上呈遞abTCR之效應細胞的組合物及向個體投與abTCR效應細胞組合物以治療靶抗原陽性疾病(諸如癌症或病毒感染)。

在一些實施例中，套組包含編碼abTCR的一種核酸(或一組核酸)。在一些實施例中，套組包含a)編碼abTCR的一種核酸(或一組核酸)，及b)用於表現該核酸(或該組核酸)之宿主細胞(諸如效應細胞)。在一些實施例中，套組包含a)編碼abTCR的一種核酸(或一組核酸)，及b)說明書，該說明書涉及i)在宿主細胞(諸如效應細胞，例如T細胞)中表現abTCR，ii)製備包含表現abTCR之宿主細胞的組合物，及iii)向個體投與包含表現abTCR之宿主細胞的組合物以治療靶抗原陽性疾病(諸如癌症或病毒感染)。在一些實施例中，宿主細胞源自個體。在一些實施例中，套組包含

a)編碼abTCR的一種核酸(或一組核酸)，b)用於表現該核酸(或該組核酸)之宿主細胞(諸如效應細胞)，及c)說明書，該說明書涉及i)在宿主細胞中表現abTCR，ii)製備包含表現abTCR之宿主細胞的組合物，及iii)向個體投與包含表現abTCR之宿主細胞的組合物以治療靶抗原陽性疾病(諸如癌症或病毒感染)。

本發明之套組係在適合的包裝中。適合的包裝包括(但不限於)小瓶、瓶子、罐、可撓性包裝(例如密封Mylar或塑膠袋)及其類似物。套組可視情況提供諸如緩衝劑之額外組分及說明性資訊。本申請案因此亦提供製品，其包括小瓶(諸如密封小瓶)、瓶子、罐、可撓性包裝及其類似者。

與abTCR效應細胞組合物之使用相關的說明書大體上包括關於所期望治療之劑量、給藥時程及投與途徑之資訊。容器可為單位劑量、散裝(例如多劑量包裝)或次單位劑量。舉例而言，可提供含有足夠劑量之如本文中所揭示之abTCR效應細胞組合物的套組，用於為個體提供較長時間之有效治療，諸如一週、8天、9天、10天、11天、12天、13天、2週、3週、4週、6週、8週、3個月、4個月、5個月、7個月、8個月、9個月或更久中的任一者。套組亦可包括多個單位劑量之abTCR及醫藥組合物及使用說明書且以對於在藥房，例如醫院藥房及配藥房中儲存及使用而言足夠之量包裝。

熟習此項技術者將認識到，在本發明之範疇及精神內，若干實施例為可能的。現將參照以下非限制性實例來更詳細地描述本發明。以下實施例進一步說明本發明，但當然不應解釋為以任何方式限制其範疇。

例示性實施例

實施例1. 一種特異性結合至靶抗原的抗體-T細胞受體(TCR)嵌合分

子(abTCR)，其包含：

a) 第一多肽鏈，其包含第一抗原結合域及第一T細胞受體域(TCRD)，該第一抗原結合域包含 V_H 及 C_{H1} 抗體域，該第一T細胞受體域(TCRD)包含第一TCR次單元之第一跨膜域；及

b) 第二多肽鏈，其包含第二抗原結合域及第二TCRD，該第二抗原結合域包含 V_L 及 C_L 抗體域，該第二TCRD包含第二TCR次單元之第二跨膜域，

其中該第一抗原結合域之該 V_H 及該 C_{H1} 域與該第二抗原結合域之該 V_L 及該 C_L 域形成特異性結合至該靶抗原之抗原結合模組，

且其中該第一TCRD與該第二TCRD形成能夠募集至少一個TCR相關信號傳導模組的T細胞受體模組(TCRM)。

實施例2. 如實施例1之abTCR，其中該抗原結合模組包含在該 C_{H1} 域中之殘基與該 C_L 域中之殘基之間的二硫鍵。

實施例3. 如實施例1或2之abTCR，其中該第一多肽鏈進一步包含在該第一抗原結合域與該第一TCRD之間的第一肽連接子。

實施例4. 如實施例1至3中任一者之abTCR，其中該第二多肽鏈進一步包含在該第二抗原結合域與該第二TCRD之間的第二肽連接子。

實施例5. 如實施例3或4之abTCR，其中該第一肽連接子及/或該第二肽連接子之長度個別地為約5至約50個胺基酸。

實施例6. 如實施例1至5中任一者之abTCR，其中該靶抗原為細胞表面抗原。

實施例7. 如實施例6之abTCR，其中該細胞表面抗原係選自由蛋白質、碳水化合物及脂質組成之群。

實施例8. 如實施例7之abTCR，其中該細胞表面抗原為CD19、ROR1、ROR2、BCMA、GPC5D或FCRL5。

實施例9. 如實施例1至5中任一者之abTCR，其中該靶抗原為包含肽及主要組織相容性複合體(MHC)蛋白質的複合體。

實施例10. 一種特異性結合至靶抗原之abTCR，其包含：

a) 第一多肽鏈，其包含第一抗原結合域及第一TCRD，該第一抗原結合域包含V_H抗體域，該第一TCRD包含第一TCR次單元之第一跨膜域；
及

b) 第二多肽鏈，其包含第二抗原結合域及第二TCRD，該第二抗原結合域包含V_L抗體域，該第二TCRD包含第二TCR次單元之第二跨膜域，

其中該第一抗原結合域之該V_H域與該第二抗原結合域之該V_L域形成特異性結合至該靶抗原之抗原結合模組，

其中該第一TCRD與該第二TCRD形成能夠募集至少一個TCR相關信號傳導模組的T細胞受體模組(TCRM)，且

其中該靶抗原為包含肽及MHC蛋白質之複合體。

實施例11. 如實施例10之abTCR，其中該第一多肽鏈進一步包含在該第一抗原結合域與該第一TCRD之間的第一肽連接子且該第二多肽鏈進一步包含在該第二抗原結合域與該第二TCRD之間的第二肽連接子。

實施例12. 如實施例11之abTCR，其中該第一及/或該第二肽連接子個別地包含來自免疫球蛋白或T細胞受體次單元之恆定域或其片段。

實施例13. 如實施例12之abTCR，其中該第一及/或該第二肽連接子個別地包含CH1、CH2、CH3、CH4或CL抗體域或其片段。

實施例14. 如實施例12之abTCR，其中該第一及/或該第二肽連接子

個別地包含C α 、C β 、C γ 或C δ TCR域或其片段。

實施例15. 如實施例1至14中任一者之abTCR，其中該第一TCRD進一步包含TCR次單元中在該第一跨膜域N端之第一連接肽或其片段。

實施例16. 如實施例1至15中任一者之abTCR，其中該第二TCRD進一步包含TCR次單元中在該第二跨膜域N端之第二連接肽或其片段。

實施例17. 如實施例15或16之abTCR，其中該TCRM包含在該第一連接肽中之殘基與該第二連接肽中之殘基之間的二硫鍵。

實施例18. 如實施例1至17中任一者之abTCR，其中該第一TCRD進一步包含第一TCR細胞內域，其包含在該第一跨膜域C端之TCR細胞內序列。

實施例19. 如實施例1至18中任一者之abTCR，其中該第二TCRD進一步包含第二TCR細胞內域，其包含在該第二跨膜域C端之TCR細胞內序列。

實施例20. 如實施例1至19中任一者之abTCR，其中該第一多肽鏈進一步包含第一附屬細胞內域，其包含在該第一跨膜域C端之共刺激細胞內信號傳導序列。

實施例21. 如實施例1至20中任一者之abTCR，其中該第二多肽鏈進一步包含第二附屬細胞內域，其包含在該第二跨膜域C端之共刺激細胞內信號傳導序列。

實施例22. 如實施例1至21中任一者之abTCR，其中該第一多肽鏈進一步包含在該第一抗原結合域N端之第一信號傳導肽。

實施例23. 如實施例1至22中任一者之abTCR，其中該第二多肽鏈進一步包含在該第二抗原結合域N端之第二信號傳導肽。

實施例24. 如實施例9至23中任一者之abTCR，其中該靶抗原複合體中之該肽係源自選自由以下組成之群的蛋白質：WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA。

實施例25. 如實施例1至24中任一者之abTCR，其中該分子以約0.1 pM至約500 nM之平衡解離常數(K_d)結合至該靶抗原。

實施例26. 如實施例1至25中任一者之abTCR，其中該TCR相關信號傳導模組係選自由CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及 $\zeta\zeta$ 組成之群。

實施例27. 如實施例1至26中任一者之abTCR，其中該第一TCR次單元為TCR α 鏈，且該第二TCR次單元為TCR β 鏈。

實施例28. 如實施例1至26中任一者之abTCR，其中該第一TCR次單元為TCR β 鏈，且該第二TCR次單元為TCR α 鏈。

實施例29. 如實施例1至26中任一者之abTCR，其中該第一TCR次單元為TCR γ 鏈，且該第二TCR次單元為TCR δ 鏈。

實施例30. 如實施例1至26中任一者之abTCR，其中該第一TCR次單元為TCR δ 鏈，且該第二TCR次單元為TCR γ 鏈。

實施例31. 一種核酸，其編碼如實施例1至30中任一者之abTCR之該第一及該第二多肽鏈。

實施例32. 一種複合體，其包含如實施例1至30中任一者之abTCR及至少一個選自由CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及 $\zeta\zeta$ 組成之群的TCR相關信號傳導模組。

實施例33. 如實施例32之複合體，其中該複合體為包含該abTCR及CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及 $\zeta\zeta$ 之八聚物。

實施例34. 一種效應細胞，其呈遞如實施例1至30中任一者之abTCR或如實施例32或33之複合體於其表面上。

實施例35. 一種效應細胞，其包含如實施例31之核酸。

實施例36. 如實施例34或35之效應細胞，其中該效應細胞不表現該第一TCR次單元及/或該第二TCR次單元。

實施例37. 如實施例36之效應細胞，其中

- a) 該第一TCR次單元為TCR α 且該第二TCR次單元為TCR β ；或
 - b) 該第一TCR次單元為TCR β 且該第二TCR次單元為TCR α ；且
- 其中該效應細胞為 $\gamma\delta$ T細胞。

實施例38. 如實施例36之效應細胞，其中

- a) 該第一TCR次單元為TCR γ 且該第二TCR次單元為TCR δ ；或
 - b) 該第一TCR次單元為TCR δ 且該第二TCR次單元為TCR γ ；且
- 其中該效應細胞為 $\alpha\beta$ T細胞。

實施例39. 如實施例34至36中任一者之效應細胞，其中該效應細胞經修飾以阻斷或減少第一內源性TCR次單元及/或第二內源性TCR次單元之表現。

實施例40. 如實施例39之效應細胞，其中

- a) 該第一TCR次單元為TCR α 且第二TCR次單元為TCR β ；或
- b) 該第一TCR次單元為TCR β 且該第二TCR次單元為TCR α ；且

其中該效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR α 及/或TCR β 之表現的 $\alpha\beta$ T細胞。

實施例41. 如實施例39之效應細胞，其中

- a) 該第一TCR次單元為TCR γ 且第二TCR次單元為TCR δ ；或
- b) 該第一TCR次單元為TCR δ 且該第二TCR次單元為TCR γ ；且

其中該效應細胞為經修飾以阻斷或減少TCR γ 及/或TCR δ 之表現的 $\gamma\delta$

T細胞。

實施例42. 如實施例34至41中任一者之效應細胞，其中該效應細胞為CD3⁺細胞。

實施例43. 如實施例42之效應細胞，其中該CD3⁺細胞係選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群。

實施例44. 如實施例34至43中任一者之效應細胞，其包含a)第一載體，該第一載體包含第一核酸序列，該第一核酸序列在第一啟動子的控制下編碼該abTCR之該第一多肽鏈；及b)第二載體，該第二載體包含第二核酸序列，該第二核酸序列在第二啟動子的控制下編碼該abTCR之該第二多肽鏈。

實施例45. 如實施例34至43中任一者之效應細胞，其包含載體，該載體包含a)第一核酸序列，該第一核酸序列在第一啟動子的控制下編碼該abTCR之該第一多肽鏈；及b)第二核酸序列，該第二核酸序列在第二啟動子的控制下編碼該abTCR之該第二多肽鏈。

實施例46. 如實施例34至43中任一者之效應細胞，其包含載體，該載體包含a)編碼該abTCR之該第一多肽鏈的第一核酸序列及編碼該abTCR之該第二多肽鏈的第二核酸序列，其中該第一及該第二核酸序列係在單一啟動子的控制下。

實施例47. 如實施例34至45中任一者之效應細胞，其中該abTCR之該第一多肽鏈之表現與該abTCR之該第二多肽鏈之表現相差超過兩倍。

實施例48. 一種殺死呈遞靶抗原之靶細胞的方法，其包含使該靶細胞與如實施例34至47中任一者之效應細胞接觸，其中該abTCR特異性結合至該靶抗原。

實施例49. 一種殺死呈遞靶抗原之靶細胞的方法，其包含使該靶細胞與效應 $\alpha\beta$ T細胞接觸，該效應 $\alpha\beta$ T細胞包含特異性結合至該靶抗原之abTCR，其包含：

a) 第一多肽鏈，其包含第一抗原結合域及第一TCRD，該第一抗原結合域包含 V_H 抗體域，該第一TCRD包含第一TCR次單元之第一跨膜域；及

b) 第二多肽鏈，其包含第二抗原結合域及第二TCRD，該第二抗原結合域包含 V_L 抗體域，該第二TCRD包含第二TCR次單元之第二跨膜域，

其中該第一抗原結合域之該 V_H 域與該第二抗原結合域之該 V_L 域形成特異性結合至該靶抗原之抗原結合模組，

其中該第一TCRD與該第二TCRD形成能夠募集至少一個TCR相關信號傳導模組的T細胞受體模組(TCRM)，且

其中該第一TCR次單元為 $TCR\gamma$ 且該第二TCR次單元為 $TCR\delta$ ，或該第一TCR次單元為 $TCR\delta$ 且該第二TCR次單元為 $TCR\gamma$ 。

實施例50. 如實施例49之方法，其中該第一多肽鏈進一步包含在該第一抗原結合域與該第一TCRD之間的第一肽連接子且該第二多肽鏈進一步包含在該第二抗原結合域與該第二TCRD之間的第二肽連接子。

實施例51. 如實施例50之方法，其中該第一及/或該第二肽連接子個別地包含來自免疫球蛋白或T細胞受體次單元之恆定域或其片段。

實施例52. 如實施例51之方法，其中該第一及/或該第二肽連接子個別地包含CH1、CH2、CH3、CH4或CL抗體域或其片段。

實施例53. 如實施例51之方法，其中該第一及/或該第二肽連接子個別地包含 $C\alpha$ 、 $C\beta$ 、 $C\gamma$ 或 $C\delta$ TCR域或其片段。

實施例54. 如實施例48至53中任一者之方法，其中該接觸為活體內的。

實施例55. 如實施例48至53中任一者之方法，其中該接觸為活體外的。

實施例56. 一種醫藥組合物，其包含如實施例1至30中任一者之abTCR、如實施例31之核酸或如實施例34至47中任一者之效應細胞，及醫藥學上可接受之載劑。

實施例57. 一種治療有需要個體之靶抗原相關疾病的方法，其包含向該個體投與有效量之如實施例51之醫藥組合物。

實施例58. 一種治療有需要個體之靶抗原相關疾病的方法，其包含向該個體投與有效量之包含效應 $\alpha\beta$ T細胞之組合物，該效應 $\alpha\beta$ T細胞包含特異性結合至該靶抗原之abTCR，其包含：

a) 第一多肽鏈，其包含第一抗原結合域及第一TCRD，該第一抗原結合域包含 V_H 抗體域，該第一TCRD包含第一TCR次單元之第一跨膜域；及

b) 第二多肽鏈，其包含第二抗原結合域及第二TCRD，該第二抗原結合域包含 V_L 抗體域，該第二TCRD包含第二TCR次單元之第二跨膜域，

其中該第一抗原結合域之該 V_H 域與該第二抗原結合域之該 V_L 域形成特異性結合至該靶抗原之抗原結合模組，

其中該第一TCRD與該第二TCRD形成能夠募集至少一個TCR相關信號傳導模組的T細胞受體模組(TCRM)，且

其中該第一TCR次單元為TCR γ 且該第二TCR次單元為TCR δ ，或該第一TCR次單元為TCR δ 且該第二TCR次單元為TCR γ 。

實施例59. 如實施例58之方法，其中該第一多肽鏈進一步包含在該第

一抗原結合域與該第一TCRD之間的第一肽連接子且該第二多肽鏈進一步包含在該第二抗原結合域與該第二TCRD之間的第二肽連接子。

實施例60. 如實施例59之方法，其中該第一及/或該第二肽連接子個別地包含來自免疫球蛋白或T細胞受體次單元之恆定域或其片段。

實施例61. 如實施例60之方法，其中該第一及/或該第二肽連接子個別地包含CH1、CH2、CH3、CH4或CL抗體域或其片段。

實施例62. 如實施例60之方法，其中該第一及/或該第二肽連接子個別地包含C α 、C β 、C γ 或C δ TCR域或其片段。

實施例63. 如實施例57至62中任一者之方法，其中該靶抗原相關疾病為癌症。

實施例64. 如實施例63之方法，其中該癌症係選自由以下組成之群：腎上腺皮質癌、膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、膽管癌、結腸直腸癌、食道癌、神經膠母細胞瘤、神經膠質瘤、肝細胞癌、頭頸癌、腎癌、白血病、淋巴瘤、肺癌、黑色素瘤、間皮瘤、多發性骨髓瘤、胰臟癌、嗜鉻細胞瘤、漿細胞瘤、神經母細胞瘤、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤、胃癌、子宮癌及甲狀腺癌。

實施例65. 如實施例57至62中任一者之方法，其中該靶抗原相關疾病為病毒感染。

實施例66. 如實施例65之方法，其中該病毒感染係由選自由以下組成之群的病毒引起：巨細胞病毒(CMV)、埃-巴二氏病毒(EBV)、B型肝炎病毒(HBV)、卡波西氏肉瘤相關疱疹病毒(KSHV)、人類乳頭狀瘤病毒(HPV)、傳染性軟疣病毒(MCV)、人類T細胞白血病毒1 (HTLV-1)、HIV (人類免疫缺乏病毒)及C型肝炎病毒(HCV)。

實施例67. 一種富集異質性細胞群體中之如實施例34至47中任一者之效應細胞的方法，其包含：

- a) 使該異質性細胞群體與固定至固體載體上之靶抗原接觸以形成該效應細胞結合至該固體載體上之該靶抗原的複合體；及
- b) 自該異質性細胞群體中分離該等複合體，從而產生針對該效應細胞富集之細胞群體。

實施例68. 一種核酸文庫，其包含編碼複數個如實施例1至30中任一者之abTCR的序列。

實施例69. 一種篩選如實施例68之核酸文庫中編碼對靶抗原具有特異性之abTCR的序列的方法，其包含：

- a) 將該核酸文庫引入至複數個CD3⁺細胞中，使得該等abTCR於該複數個CD3⁺細胞之表面上表現；
- b) 將該複數個CD3⁺細胞與經標記之靶抗原一起培育；
- c) 收集與該經標記靶抗原結合之CD3⁺細胞；及
- d) 自步驟c)中收集之細胞中分離編碼該等abTCR之序列，從而鑑別對該靶抗原具有特異性的abTCR。

實例

材料及方法

細胞樣品、細胞株及抗體

自美國菌種保存中心(American Type Culture Collection)獲得細胞株 HepG2 (ATCC HB-8065 ; HLA-A2⁺ , AFP⁺)、SK-HEP-1 (ATCC HTB-52 ; HLA-A2⁺ , AFP⁻)、Raji (ATCC CCL-86 ; CD19⁺)、CA46 (ATCC CRL-1648 ; CD19⁺)、Jurkat (ATCC CRL-2899 , CD19⁻)、

J.RT3-T3.5 (ATCC TIB-153)、Jeko-1 (ATCC CRL-3006 ; CD19⁺)、THP-1 (ATCC TIB-202 , CD19⁻)、Daudi (ATCC CCL-213 ; CD19⁺)、HeLa (ATCC CCL-2)、MDA-MB-231 (ATCC HTB-26)及MCF-7 (ATCC HTB-22)。Jurkat為源自T細胞白血病之人類T淋巴細胞細胞株。J.RT3-T3.5為源自Jurkat細胞的缺乏T細胞受體β鏈之突變株。Raji為表現CD19之伯基特淋巴瘤(Burkitt lymphoma)細胞株。藉由CRISPR技術產生Raji-CD19基因剔除(Raji-CD19KO)株。設計三個不同的指導序列用於靶向Raji細胞中之CD19。自Origene購得CRISPR-Cas9載體且將各指導序列單獨地選殖至pCas-Guide載體中。在電穿孔三天後，藉由流動式細胞測量術評估藉由各指導序列達成之基因剔除之效率且選擇最佳CD19基因剔除合併物以藉由限制稀釋法進行純系選擇。所選擇之純系經定序確認為完全CD19基因剔除。藉由用表現AFP肽AFP158 (SEQ ID NO: 53)之袖珍基因卡匣轉導SK-HEP-1細胞株，該轉導引起AFP158/HLA-A*02:01複合體之高水準的細胞表面表現，產生了另一對照細胞株SK-HEP-1-AFP-MG。所有細胞株係在補充有10% FBS及2 mM麩醯胺酸之RPMI 1640或DMEM中在37°C/5% CO₂下培養。

購買以下各者：針對結合至FITC或APC之人類HLA-A02 (純系BB7.2)之單株Ab及其結合至FITC或APC之同型對照小鼠IgG 2b；針對人類或小鼠CD3、人類T細胞受體各種次單元、3×Flag標籤、HA標籤的抗體；與PE或FITC結合之山羊F(ab)2抗人類IgG；及螢光結合之山羊F(ab')2抗小鼠Ig (Invitrogen)。Eureka Therapeutics內部研發且生產了針對AFP158/HLA-A*02:01特異性抗體之抗個體基因型抗體。使用BD FACSCanto II收集流動式細胞測量術資料且使用FlowJo套裝軟體分析。

所有肽皆為購買的且由Elim Biopharma合成。肽之純度>90%。將肽溶解於DMSO中或以10 mg/mL於鹽水中稀釋且在-80°C下冷凍。藉由肽與重組HLA-A*02:01及 β -2微球蛋白(β 2M)再摺疊，產生生物素標記單鏈AFP158/HLA-A*02:01及對照肽/HLA-A*02:01複合單體。經由連接至HLA-A*02:01細胞外域(ECD)之C端末端的BSP肽藉由BirA酶生物素標記單體。將螢光標記抗生蛋白鏈菌素與生物素標記肽/HLA-A*02:01複合單體混合，形成螢光標記肽/HLA-A*02:01四聚物。

例如藉由用編碼嵌合建構物之載體轉染293T細胞，產生含有人類CD19特異性或AFP158/HLA-A*02:01特異性CAR或abTCR的慢病毒。在用CD3/CD28珠粒(Dynabeads®, Invitrogen)刺激一天之後，在100 U/ml 介白素-2 (IL-2)存在下，使用初級人類T細胞進行轉導。向塗有Retronectin (Takara)之6孔培養盤中之T細胞施加經濃縮之慢病毒，持續96小時。使用分別含有PE結合之抗生蛋白鏈菌素或抗myc抗體的生物素標記AFP158/HLA-A*02:01四聚物(「AFP158四聚物」)，藉由流動式細胞測量術評定抗AFP及抗CD19嵌合建構物之轉導效率。在第5天及其後每3-4天重複流動式細胞測量術分析。

用一個或兩個編碼abTCR建構物之兩個次單元之載體轉導細胞株。轉導五天後，使用抗HA (抗HA標籤抗體，ChIP級，Abcam)或抗Flag抗體(在兔中產生之抗Flag抗體，Sigma)，產生細胞溶解產物用於西方墨點法。

藉由Cyttox 96非放射性LDH細胞毒性分析(Promega)分析腫瘤細胞毒性。使用EasySep人類T細胞分離套組(StemCell Technologies)，由富含PBMC之全血製備CD3⁺ T細胞，其不利地耗盡CD14、CD16、CD19、

CD20、CD36、CD56、CD66b、CD123、血型糖蛋白A表現細胞。用例如CD3/CD28 Dynabeads (Invitrogen)根據製造商之方案活化及擴增人類T細胞。經活化之T細胞(ATC)在具有10% FBS加上100 U/ml IL-2之RPMI1640培養基中培養及維持，且在第7-14天使用。經活化之T細胞(效應細胞)與靶細胞以各種效靶比(effector-to-target ratio) (例如，2.5:1或5:1)共培養16小時且分析細胞毒性。

實例1. 抗體-T細胞受體(abTCR)嵌合體設計

圖1A及圖1B中顯示四個不同的抗體-T細胞受體嵌合建構物(abTCR)設計(abTCR-3、abTCR-4、abTCR-5及abTCR-6)，包括所涵蓋之變體。在此等設計中，抗體Fab片段之重鏈(IgV_H-IgC_{H1})及輕鏈(IgV_L-IgC_L)域與缺乏可變域及恆定域且包括其所有或一部分連接肽(在恆定域之後的區域)的T細胞受體 α/β 鏈或 γ/δ 鏈片段之胺基端融合，形成可於T細胞表面上表現之嵌合抗體-TCR雜二聚體。abTCR設計中之每一者中之IgV_H及IgV_L域決定了抗原結合特異性，且與IgC_{H1}及IgC_L一起形成類似於Fab片段之結構。在天然TCR中，V α /V β 或V δ /V γ 域形成TCR之抗原結合域。此等設計將V α -C α /V β -C β 或V δ -C δ /V γ -C γ 區域替換為IgV_H-IgC_{H1}或IgV_L-IgC_L，從而賦予建構物抗體之結合特異性，同時維持建構物與天然TCR複合體中之附屬分子(諸如CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及CD3 $\zeta\eta$)相關聯的能力。此等設計不同於Gross 及 Eshhar (Endowing T cells with antibody specificity using chimeric T cell receptors, FASEB J. 1992 (15):3370)所述之cTCR設計，其中抗體之可變域連接至TCR恆定區，僅將V α /V β 區替換為IgV_H/IgV_L。

在其他abTCR設計中，對包含肽及MHC蛋白質(MHC限制之抗體部分)之複合體具有特異性的抗體Fv片段之重鏈(IgV_H)及輕鏈(IgV_L)域與缺

乏可變域且包括其所有或一部分連接肽(在恆定域之後的區域)的T細胞受體 α/β 鏈或 γ/δ 鏈片段之胺基端融合。在此等abTCR設計中之一些中，T細胞受體 α/β 鏈或 γ/δ 鏈片段包括所有或一部分TCR恆定域。在一個此類設計(abTCR-7)中，IgV_H與包括恆定域之TCR δ 片段融合且IgV_L與包括恆定域之TCR γ 片段融合。此等設計不同於Gross及Eshhar (同前文獻)所述之cTCR設計，其中抗體可變域係用於非MHC限制結合。

在abTCR-3 (IgV_H-IgC_{H1}-TCR α /IgV_L-IgC_L-TCR β)設計中，抗體重鏈之可變域及第一恆定域(IgV_H-IgC_{H1})替換TCR α 鏈之胺基端部分直至與細胞外域中在V α -C α 區後之連接肽毗鄰的或在該連接肽內的位置。對應抗體輕鏈之可變域及恆定域(IgV_L-IgC_L)替換TCR β 鏈之胺基端部分直至與細胞外域中在V β -C β 區後之連接肽毗鄰的或在該連接肽內的位置。在abTCR-4 (IgV_H-IgC_{H1}-TCR β /IgV_L-IgC_L-TCR α)設計中，抗體重鏈之可變域及第一恆定域(IgV_H-IgC_{H1})替換TCR β 鏈之胺基端部分直至與細胞外域中在V β -C β 區後之連接肽毗鄰的或在該連接肽內的位置。對應抗體輕鏈之可變域及恆定域(IgV_L-IgC_L)替換TCR α 鏈之胺基端部分直至與細胞外域中在V α -C α 區後之連接肽毗鄰的或在該連接肽內的位置。嵌合 α 及 β 鏈經由兩個二硫鍵二聚，一個在IgC_L與IgC_{H1}域之間，且一個在TCR α 與 β 鏈中之連接肽之間。3 $\times$ -Flag標籤視情況與TCR α 鏈細胞質區之C端融合，且HA標籤視情況與TCR β 鏈細胞質區之C端融合。

在一個abTCR-3實施例中，一條鏈包括SEQ ID NO: 23 (抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-3)之序列，其中抗AFP158/HLA-A*02:01抗體(SEQ ID NO: 38)之IgV_H域與IgC_{H1}域(SEQ ID NO: 39)融合，後者與SEQ ID NO: 15融合，TCR α 鏈之一部分包括TCR α 鏈之細胞外域中在V α -

C α 區後之連接肽之一部分，且另一條鏈包括SEQ ID NO: 24之序列，其中抗AFP158/HLA-A*02:01抗體(SEQ ID NO: 40)之IgV_L域與IgC_L域(SEQ ID NO: 41)融合，後者與SEQ ID NO: 16融合，TCR β 鏈之羧基部分包括TCR β 鏈之細胞外域中在V β -C β 區後之連接肽之一部分。在一個abTCR-4實施例中，一條鏈包括SEQ ID NO: 25 (抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-4)之序列，其中抗AFP158/HLA-A*02:01抗體(SEQ ID NO: 40)之IgV_L域與IgC_L域(SEQ ID NO: 41)融合，後者與SEQ ID NO: 15融合，TCR α 鏈之一部分包括TCR α 鏈之細胞外域中在V α -C α 區後之連接肽之一部分，且另一條鏈包括SEQ ID NO: 26之序列，其中抗AFP158/HLA-A*02:01抗體(SEQ ID NO: 38)之IgV_H域與IgC_{H1}域(SEQ ID NO: 39)融合，後者與SEQ ID NO: 16融合，TCR β 鏈之羧基部分包括TCR β 鏈之細胞外域中在V β -C β 區後之連接肽之一部分。

在abTCR-5 (IgV_H-IgC_{H1}-TCR γ /IgV_L-IgC_L-TCR δ)設計中，抗體重鏈之可變域及第一恆定域(IgV_H-IgC_{H1})替換TCR γ 鏈之胺基端部分直至與TCR γ 鏈之細胞外域中在V γ -C γ 區後之連接肽毗鄰的或在該連接肽內的位置。對應抗體輕鏈之可變域及恆定域(IgV_L-IgC_L)替換TCR δ 鏈之胺基端部分直至與TCR δ 鏈之細胞外域中在V δ -C δ 區後之連接肽毗鄰的或在該連接肽內的位置。在abTCR-6 (IgV_H-IgC_{H1}-TCR δ /IgV_L-IgC_L-TCR γ)設計中，抗體重鏈之可變域及第一恆定域(IgV_H-IgC_{H1})替換TCR δ 鏈之胺基端部分直至與TCR δ 鏈之細胞外域中在V δ -C δ 區後之連接肽毗鄰的或在該連接肽內的位置。對應抗體輕鏈之可變域及恆定域(IgV_L-IgC_L)替換TCR γ 鏈之胺基端部分直至與TCR γ 鏈之細胞外域中在V γ -C γ 區後之連接肽毗鄰的或在該連接肽內的位置。嵌合 γ 及 δ 鏈經由兩個二硫鍵二聚，一個在IgC_L與

IgC_H1域之間，且一個在TCR γ 與 δ 鏈中之連接肽之間。3×flag標籤視情況與TCR γ 鏈細胞質區之C端融合，且HA標籤視情況與TCR δ 鏈細胞質區之C端融合。

在一個abTCR-5實施例中，一條鏈包括SEQ ID NO: 30 (抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-5)之序列，其中抗AFP158/HLA-A*02:01抗體(SEQ ID NO: 38)之IgV_H域與IgC_H1域(SEQ ID NO: 39)融合，後者與SEQ ID NO: 20融合，TCR γ 鏈之一部分包括TCR γ 鏈之細胞外域中在V γ -C γ 區後之連接肽之一部分，且另一條鏈包括SEQ ID NO: 29之序列，其中抗AFP158/HLA-A*02:01抗體(SEQ ID NO: 40)之IgV_L域與IgC_L域(SEQ ID NO: 41)融合，且隨後與SEQ ID NO: 19融合，TCR δ 鏈之羧基部分包括TCR δ 鏈之細胞外域中在V δ -C δ 區後之連接肽之一部分。在一個abTCR-6實施例中，一條鏈包括SEQ ID NO: 34 (抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-6)之序列，其中抗AFP158/HLA-A*02:01抗體(SEQ ID NO: 40)之IgV_L域與IgC_L域(SEQ ID NO: 41)融合，後者與SEQ ID NO: 20融合，TCR γ 鏈之一部分包括TCR γ 鏈之細胞外域中在V γ -C γ 區後之連接肽之一部分，且另一條鏈包括SEQ ID NO: 33之序列，其中抗AFP158/HLA-A*02:01抗體(SEQ ID NO: 38)之IgV_H域與IgC_H1域(SEQ ID NO: 39)融合，後者與SEQ ID NO: 19融合，TCR δ 鏈之羧基端部分包括TCR δ 鏈之細胞外域中在V δ -C δ 區後之連接肽之一部分。

如圖1B中所示，亦涵蓋四個abTCR設計中之每一者之變體。該等變體可包括改變細胞外域之長度，諸如(i)藉由在由IgC與TCR融合形成之接合點處添加殘基進行延長或(ii)藉由刪除TCR連接肽N端之殘基進行縮短。abTCR-6之此類變體之實施例為abTCR-6MD，其中一條鏈包括SEQ

ID NO: 36 (抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-6MD)之序列，其中抗AFP158/HLA-A*02:01抗體(SEQ ID NO: 40)之IgV_L域與IgC_L域(SEQ ID NO: 41)融合，後者與SEQ ID NO: 22融合，TCR γ 鏈之羧基端部分包括在TCR γ 鏈中在V γ -C γ 區後之連接肽的較長(相較於abTCR-6而言)部分，且另一條鏈包括SEQ ID NO: 35之序列，其中抗AFP158/HLA-A*02:01抗體(SEQ ID NO: 38)之IgV_H域與IgC_{H1}域(SEQ ID NO: 39)融合，後者與SEQ ID NO: 21融合，TCR δ 鏈之羧基端部分包括TCR δ 鏈之V δ -C δ 區後之連接肽的較長(相較於abTCR-6而言)部分。abTCR-5之此類變體之實施例為abTCR-5MD，其中一條鏈包括SEQ ID NO: 31 (抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-5MD)之序列，其中抗AFP158/HLA-A*02:01抗體(SEQ ID NO: 40)之IgV_L域與IgC_L域(SEQ ID NO: 41)融合，後者與SEQ ID NO: 21融合，TCR δ 鏈之羧基端部分包括TCR δ 鏈之V δ -C δ 區後之連接肽的較長(相較於abTCR-5而言)部分，且另一條鏈包括SEQ ID NO: 32之序列，其中抗AFP158/HLA-A*02:01抗體(SEQ ID NO: 38)之IgV_H域與IgC_{H1}域(SEQ ID NO: 39)融合，後者與SEQ ID NO: 22融合，TCR γ 鏈之羧基端部分包括TCR γ 鏈中在V γ -C γ 區後之連接肽的較長(相較於abTCR-5而言)部分。abTCR-4之此類變體之實施例為abTCR-4MD，其中一條鏈包括SEQ ID NO: 27 (抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-4MD)之序列，其中抗AFP158/HLA-A*02:01抗體(SEQ ID NO: 40)之IgV_L域與IgC_L域(SEQ ID NO: 41)融合，後者與SEQ ID NO: 17融合，TCR α 鏈之羧基端部分包括在V α -C α 區後之連接肽之較長(相較於abTCR-4而言)部分，且另一條鏈包括SEQ ID NO: 28之序列，其中抗AFP158/HLA-A*02:01抗體(SEQ ID NO: 38)之IgV_H域與IgC_{H1}域(SEQ ID NO: 39)融合，後者與SEQ ID NO:

18融合，TCR β 鏈之羧基端部分包括在V β -C β 區後之連接肽之較長(相較於abTCR-4而言)部分。

其他變化可包括其他效應域(例如，CD28之細胞內域)與TCR $\alpha/\beta/\delta/\gamma$ 鏈中之任一者之C端末端融合。另一變化可包括改變IgV與IgC域之間的連接區域。

實例2：abTCR在T細胞株中之表現

在成熟T細胞中，TCR-CD3複合體由四個二聚模組構成：TCR $\alpha\beta$ (或TCR $\gamma\delta$)、CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及CD3 $\zeta\zeta$ ，其視為經由膜內及膜外接觸結合以形成完整複合體，如圖2中所示(根據Wucherpfennig KW等人, *Structural biology of the T-cell receptor: insights into receptor assembly, ligand recognition, and initiation of signaling*. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2010年4月; 2(4):a005140)。複合體組裝發生在內質網(ER)中。僅完整的TCR-CD3複合體轉移至高基氏體(Golgi apparatus)中，該等完整的TCR-CD3複合體在高基氏體中經歷糖基化過程且被輸送至T細胞之質膜。不完整的TCR自高基氏體定向至溶酶體，且在溶酶體中降解。

為了測試T細胞中之abTCR表現且檢查abTCR是否可像內源性TCR一樣起作用募集CD3分子及實現abTCR-CD3複合體於T細胞表面上之表現，將abTCR建構物引入突變型JurkatT細胞株J.RT3-T3.5中。不同於Jurkat， $\alpha\beta$ TCR陽性白血病T細胞株J.RT3-T3.5為缺乏TCR β 次單元表現之Jurkat突變株。因為在無TCR β 次單元的情況下，TCR-CD3複合體之組裝減弱，所以TCR及CD3均無法輸送至J.RT3-T3.5細胞中之質膜。

藉由西方墨點法偵測abTCR表現

用抗AFP158/HLA-A*02:01抗體之IgV_H及IgV_L區產生五組abTCR建

構物(abTCR-3、-4、-5、-6、-6MD)。用abTCR-3 (SEQ ID NO: 23及24)、abTCR-4 (SEQ ID NO: 25及26)、abTCR-5 (SEQ ID NO: 29及30)、abTCR-6 (SEQ ID NO: 33及34)或abTCR-6MD (SEQ ID NO: 35及36)建構物轉導J.RT3-T3.5及Jurkat細胞，且在西方墨點法中使用抗Flag或抗HA抗體偵測abTCR之個別次單元之表現(圖3)。針對各建構物，將兩個次單元次選殖至兩個單獨慢病毒載體中。為了表現完整的abTCR雜二聚體，用兩種載體轉導T細胞。TCR β 及TCR δ 嵌合體用HA標記，而TCR α 及TCR γ 嵌合體則用連接在abTCR次單元之C端的3 $\times$ Flag標記。攜帶HA或3 $\times$ Flag標籤之TCR鏈在圖3中用括弧指示，在各abTCR設計之標記下方。

在J.RT3-T3.5及Jurkat中之HA標記嵌合體(圖3，抗HA組)中，abTCR-3中之IgV_L-IgC_L-TCR β 次單元展現最高表現，其次為abTCR-6及abTCR-6MD中之IgV_H-IgC_{H1}-TCR δ 次單元及abTCR-4中之IgV_H-IgC_{H1}-TCR β 次單元。在3 $\times$ Flag標記嵌合體(圖3，抗flag組)中，觀察到abTCR-6及abTCR-6MD中之IgV_L-IgC_L-TCR γ 表現最高，其次為ab-TCR-4中之IgV_L-IgC_L-TCR α 。在所測試的5組建構物中，abTCR-5之兩條鏈(IgV_H-IgC_{H1}-TCR γ /IgV_L-IgC_L-TCR δ)均展現最低表現。abTCR-6MD之TCR δ 鏈之表現量類似於abTCR6，而abTCR-6MD之TCR γ 鏈的表現量則低於abTCR6所觀察到的表現量。經轉導細胞之百分比及經轉導細胞內之表現量均會影響西方墨點法中所偵測到之信號。因此，接下來執行流動式細胞測量術以測定abTCR於細胞表面上之表現量。

藉由流動式細胞測量術偵測abTCR細胞表面表現及TCR-CD3複合體形成

將以上所述之5對嵌合abTCR鏈(abTCR-3、-4、-5、-6、-6MD)個別地轉導至J.RT3-T3.5 (圖4A至圖4C)及Jurkat (圖5A至圖5C)細胞中。藉由

以下評定經abTCR建構物轉導之細胞：(i)用於評定J.RT3-T3.5細胞上CD3 ϵ 表現之拯救的抗CD3 ϵ 抗體(圖4A)，(ii)用於評定abTCR建構物對TCR $\alpha\beta$ 在Jurkat細胞中之內源性表現的影響到抗TCR $\alpha\beta$ 抗體(圖5A)，(iii)用於評定經轉導abTCR建構物之抗原結合的PE標記之AFP158/HLA-A*02:01四聚物(圖4B及圖5B)及(iv)用於評定嵌合建構物之表面表現的針對abTCR嵌合體中所用的抗AFP158/HLA-A*02:01抗體的抗個體基因型抗體(圖4C及圖5C)。

至於J.RT3-T3.5細胞，模擬轉導不能達成與AFP158/HLA-A*02:01四聚物及抗個體基因型抗體結合且不會引起細胞表面上之CD3 ϵ 表現(圖4A至圖4C)。抗個體基因型抗體在經abTCR-3及abTCR-4轉導之J.RT3-T3.5細胞中偵測到自abTCR陰性峰延伸之肩峰。相比之下，經abTCR-5、-6及-6MD轉導之細胞當用抗個體基因型抗體染色時呈現不同的高螢光強度峰(圖4C)。abTCR建構物之功能為能夠結合靶抗原AFP158四聚物(圖4B)。相較於abTCR-6而言，更大的細胞群體表現abTCR-6MD建構物，如藉由abTCR-6MD中較高的AFP158四聚物陽性峰顯而易見。然而，經abTCR-6MD轉導之細胞似乎每細胞表現與經abTCR-6轉導之細胞類似的複本數，因為AFP158四聚物陽性峰具有類似的平均螢光強度(MFI)。另外，abTCR建構物之表現拯救了CD3 ϵ 在J.RT3-T3.5細胞中之細胞表面表現(圖4A)。這是出人意料的，因為TCR之恆定域一直都歸因於與CD3鏈之相互作用(由以下綜述：Kuhns及Davis, TCR Signaling Emerges from the Sum of Many Parts, Front Immunol. 2012; 3: 159；Wang及Reinherz, The structural basis of $\alpha\beta$ T-lineage immune recognition: TCR docking topologies, mechanotransduction, and co-receptor function, Immunol Rev.

2012, 250:102)。因為嵌合體將TCR恆定域替換為IgC，所以吾人證實了TCR恆定域並非CD3與TCR複合體組裝所必需的。當經abTCR-6及abTCR-6MD轉導之細胞用抗CD3 ϵ 及AFP158/HLA-A*02:01四聚物共染色且藉由流動式細胞測量術分析時，吾人證實CD3 ϵ ⁺ J.RT3-T3.5細胞亦為AFP158四聚物陽性的(圖6)。這表明外源性abTCR嵌合體形成了可結合其同源抗原且拯救CD3複合體於J.RT3-T3.5細胞上之細胞表面表現的功能性受體。

亦在Jurkat細胞($\alpha\beta$ TCR陽性T細胞株)中，使用含抗AFP158/HLA-A*02:01抗體之abTCR-3、-4、-5、-6及-6MD建構物執行同一組實驗(圖5A至圖5C)。就AFP158四聚物染色(圖5B)及抗個體基因型抗體結合(圖5C)而言，結果與在J.RT3-T3.5細胞中觀察到的一致。經轉導細胞亦用抗TCR α/β 抗體染色以測定abTCR建構物對內源性TCR α/β 鏈之表現的影響。雖然經模擬轉導之Jurkat細胞表現高含量之TCR α/β ，但在經abTCR轉導之細胞中之每一者中偵測到TCR α/β 陰性群體，如TCR α/β 峰左側之肩峰(圖5A)。此等資料表明，abTCR嵌合體之表現競爭CD3鏈，導致內源性TCR α/β 之表面表現減少。

合併西方墨點法與流動式細胞測量術實驗的觀察結果，吾人假定在經abTCR-3及-4轉導之細胞中，一些內源性TCR α 次單元可與abTCR嵌合體之外源性 β 鏈配對，形成可輸送至細胞表面之TCR-CD3複合體。或者，abTCR-3及-4可具有不同構形，其限制了抗原決定基對抗個體基因型抗體之暴露。在經abTCR-3轉導之J.RT3-T3.5及Jurkat細胞中，IgV_L-IgC_L-TCR β 鏈之高度表現(根據西方墨點法，圖3)導致較大百分比之J.RT3-T3.5細胞於細胞表面上表現CD3 ϵ (圖4A)且經abTCR-3轉導之Jurkat細胞子組中內源性TCR α/β 表現減少。在經abTCR-4轉導之細胞中，IgV_H-IgC_{H1}-

TCR β 鏈亦導致J.RT3-T3.5細胞中之CD3 ϵ 表現且Jurkat細胞中之內源性TCR α/β 表現減少，但減少程度低得多，因為abTCR-4中之嵌合abTCR β 鏈表現遠低於abTCR-3 (根據西方墨點法，圖3)。

至於經 abTCR-3 及 -4 轉導之細胞，預期外源性TCR β 嵌合體與TCR $\alpha\beta^+$ T細胞中之內源性TCR α 鏈配對使得可用於與外源性TCR α 嵌合體鏈正確配對之TCR β 嵌合體鏈庫減少。當表現abTCR-5、-6或-6MD建構物時，這在TCR $\alpha\beta^+$ T細胞中將不成問題，其中嵌合體經產生含TCR δ 及TCR γ 鏈。abTCR陽性峰之高MFI與表現abTCR-5、-6或-6MD建構物之J.RT3-T3.5及Jurkat細胞中大量正確配對之嵌合體一致。反之，使用abTCR-3及-4建構物(其中嵌合體經產生含TCR α 及TCR β 鏈)在TCR $\delta\gamma^+$ T細胞中進行表現可較佳避免外源性嵌合鏈與內源性TCR δ 及TCR γ 鏈之配對。

實例3. abTCR在初級T細胞中之表現

鑒於已證實abTCR建構物可成功轉導至T細胞株中且於細胞表面上與CD3複合體一起表現為功能性抗原結合受體，吾人接下來測試abTCR在初級T細胞中之表現。

abTCR在CD4⁺及CD8⁺初級T細胞中表現

自健康供體分離周邊血液淋巴細胞且用編碼抗AFP158/HLA-A*02:01結合部分之abTCR-6MD建構物(SEQ ID NO: 35及36)轉導。將abTCR γ 及 δ 次單元次選殖至相同慢病毒載體中以轉導初級人類T細胞。轉導5天後，abTCR-T細胞及經模擬轉導之細胞用AFP158四聚物及CD4及CD8抗體共染色，且藉由流動式細胞測量術分析。圖7A顯示CD8對比抗原(AFP158四聚物)結合之散佈圖，而圖7B顯示CD8對比CD4之散佈圖。在經模擬轉導之T細胞中，CD4:CD8比為約2:1 (圖7B上圖)。在經abTCR-

6MD建構物轉導之細胞中觀察到相同的CD4:CD8比(圖7B中圖)。吾人發現，在經abTCR-6MD轉導之細胞中AFP158四聚物⁺群體中CD4:CD8比亦為約2:1 (參見圖7B下圖及圖7A中之閘控)。這表明abTCR嵌合體在CD4⁺及CD8⁺初級T細胞中均可表現。

外源性abTCR鏈與CD3複合體物理結合

鑒於T細胞株中之abTCR表現能夠拯救CD3 ϵ 在J.RT3-T3.5細胞中之表面表現，吾人藉由共免疫沈澱(co-ip)測試在初級T細胞中表現之abTCR建構物是否與CD3複合體中之個別鏈物理結合。使用抗CD3及抗CD28刺激初級T細胞，且隨後使其經模擬轉導或用編碼抗AFP158/HLA-A*02:01結合部分之abTCR-6MD建構物(SEQ ID NO: 35及36)轉導。轉導十二天後，abTCR-T細胞與SK-HEP-1-AFP-MG再共培養12天以富集AFP158四聚物⁺細胞。隨後用毛地黃皂苷(0.1%)溶解緩衝液溶解細胞且使用抗Flag抗體，經由3×Flag標籤免疫沈澱TCR γ 鏈。如圖8中所示，CD3 δ 、CD3 ϵ 、CD3 γ 及CD3 ζ 鏈與abTCR γ 嵌合體共免疫沈澱，證明經轉導之abTCR嵌合體與內源性CD3複合體物理結合。在與抗Flag免疫沈澱之經模擬轉導之樣品中觀察到的MW高於CD3 ϵ 之條帶為非特異性條帶。

在JRT3-T3.5及Jurkat細胞株中進行類似的共免疫沈澱實驗。用編碼抗AFP158/HLA-A*02:01結合部分之abTCR-6MD建構物(SEQ ID NO: 35及36)轉導JRT3-T3.5及Jurkat細胞株。轉導5天後，使用CELLlection生物素黏合劑套組自JRT3-T3.5及Jurkat細胞株純化AFP158四聚物⁺群體。經abTCR-6MD轉導且經AFP158四聚物純化之Jurkat及JRT3-T3.5細胞分別命名為Jurkat-abTCR純及JRT3-T3.5-abTCR純。JRT3-T3.5、JRT3-T3.5-abTCR純、Jurkat及Jurkat-abTCR純細胞經擴增且在0.1%毛地黃皂苷溶解

緩衝液中溶解。使用抗Flag抗體(Sigma)及用於免疫沈澱之Dynabeads蛋白質G (Life Technologies)，根據標準方案執行共免疫沈澱。

實例4.表徵經含有相同的抗AFP158/HLA-A*02:01可變域之abTCR-6MD及CAR建構物轉導的T細胞之生物活性

經abTCR轉導之T細胞可特異性殺死抗原陽性癌細胞

初級T細胞經模擬轉導或經編碼含有抗AFP158/HLA-A*02:01 scFv之CAR (SEQ ID NO: 37)或含有相同抗AFP158/HLA-A*02:01可變域之abTCR-6MD (SEQ ID NO: 35及36)的慢病毒載體轉導。藉由用經PE標記之AFP158/HLA-A*02:01四聚物染色來測定轉導效率(圖9A)。使用具有類似轉導速率的T細胞群體(CART為32%且abTCR為34%)來測試其殺死癌細胞株之能力。使用三個細胞株：HepG2 (AFP+/HLA-A2+)、SK-HEP-1 (AFP-/HLA-A2+)及SK-HEP-1-AFP-MG (經AFP袖珍基因轉導之SK-HEP-1)，效靶比為2.5:1。培育16小時後，使用Cyttox 96非放射性細胞毒性分析(Promega)量測比溶胞率。如圖9B中所示，經攜帶抗AFP158/HLA-A*02:01結合部分之CAR及abTCR-6MD轉導的T細胞定向殺死抗原陽性細胞株HepG2及SK-HEP-1-AFP-MG，但不殺死抗原陰性細胞株SK-HEP-1。在經abTCR轉導之細胞中觀察到之比溶胞率水準等效於CAR-T細胞之比溶胞率水準。

經abTCR轉導之T細胞在抗原刺激後脫粒

為了進一步表徵經abTCR轉導對比經CAR轉導之T細胞中之生物活性，吾人使用流動式細胞測量術分析來偵測CD107a表面表現，作為脫粒活性之量度。如上所述產生含抗AFP158/HLA*02:01結合部分的經abTCR及經CAR轉導之T細胞且在1:200稀釋之抗CD107a抗體及蛋白轉運抑制劑

混合物(eBioscience)存在下，將其與HepG2、SK-HEP-1及SK-HEP-1-AFP-MG細胞一起共培育4小時。在與靶細胞一起共培育之後，經轉導T細胞用AFP158/HLA四聚物及抗CD8染色。圖10右圖顯示四聚物陽性、CD8陽性T細胞中之脫粒。如藉由CD107a表現所量測，在相繼與SK-HEP-1-AFP-MG (實線，灰色填充)、HepG2 (虛線，灰色填充)共培育後觀察到最高程度之脫粒，而在親本抗原陰性SK-HEP-1 (實線，白色填充)之情況下，經abTCR及CAR轉導之T細胞均未觀察到脫粒。當使用相同靶細胞時，經abTCR轉導之細胞與經CAR轉導之細胞之間的脫粒程度類似。這一點與上文T細胞介導之細胞溶解資料一致。綜合而言，吾人證實，經abTCR轉導之T細胞在脫粒(圖10)及介導細胞殺死(圖9)方面對抗原陽性癌細胞之反應性與經CAR轉導之細胞相等。

abTCR及CAR T細胞在腫瘤細胞殺死中之細胞因子產生及分泌

產生經abTCR或CAR轉導且具有類似轉導速率之T細胞且將其與如上所述之靶細胞一起共培育。在圖9B中所示之活體外殺死分析之後，使用Magpix多重系統(Luminex)與Bio-plex Pro人類細胞因子8重分析(BioRad)量測IL-2、IL-4、IL-6、IL-8、IL-10、GM-CSF、IFN- γ 及TNF- α 至培養基中之釋放。為了達到分析之偵測極限，將來自SK-HEP-1-AFP-MG靶反應之上清液稀釋25倍，而所有其他樣品則未經稀釋。藉由已知標準曲線，在減去自培養基釋放之細胞因子、單獨的標靶及單獨的效應細胞之後，確定細胞因子濃度。

吾人使用高解析度顯微鏡(資料未示出)估算HepG2表面上之AFP158/HLA-A*02:01複合體的數目為約100個/細胞。在如此低複本數的肽/HLA複合體下，使用抗AFP158/HLA-A*02:01抗體進行流動式細胞測

量術無法偵測顯著的MFI位移。相比之下，藉由流動式細胞測量術，SK-HEP-1-AFP-MG細胞中之AFP袖珍基因之表現導致MFI發生一個對數位移，表明SK-HEP-1-AFP-MG細胞上之AFP158/HLA-A*02:01複合體的含量顯著高於HepG2中。當使用HepG2作為靶細胞且在與經abTCR或CAR轉導之T細胞一起共培育16小時之後量測一組八個人類細胞因子(IL-2、IL-4、IL-6、IL-8、IL-10、GM-CSF、IFN- γ 、TNF- α)時，培養基中之IL-8、IL-10、GM-CSF、IFN- γ 、TNF- α 為可偵測的(圖11A)。經abTCR轉導之樣品中的細胞因子釋放始終低於經CAR轉導之樣品。當對SK-HEP-1-AFP-MG進行相同分析時，在與經abTCR或CAR轉導之初級T細胞一起共培育後偵測到吾人所測試之8種細胞因子中7種的分泌(圖11B)。在所測試之各細胞因子之情況下，含有經abTCR轉導之T細胞之樣品與CAR-T樣品相比，在培養基中偵測到之細胞因子的含量為類似的或更低，一些相差超過兩倍(例如，IL-2、IFN- γ 、TNF- α)。在不存在T細胞的情況下，單獨的SK-HEP-1細胞亦展現可偵測含量(超過背景約3000 pg/ml)之IL-6及IL-8。

為了測定經轉導T細胞對培養基中偵測到之細胞因子的來源的貢獻，在用於防止細胞因子分泌之蛋白轉運抑制劑混合物(eBioscience目錄號00498003)的存在下，將具有類似轉導效率(34%)的經abTCR及CAR轉導之T細胞與靶細胞以2.5:1之比率共培養。處理4小時後，將T細胞用AFP158/HLA-A*02:01四聚物及抗CD4抗體以及抗TNF- α 、抗IFN- γ 、抗IL-2或抗IL-6抗體染色。使用流動式細胞測量術，對AFP158四聚物⁺細胞進行閘控(圖12A至圖12H)，吾人證實，細胞內TNF- α 、IFN- γ 及IL-2當其與抗原陽性靶細胞共培養時在經abTCR及CAR轉導之T細胞中均可表現，

但IL-6不行。關於所檢查之各細胞因子，SK-HEP-1-AFP-MG中的細胞內細胞因子之含量始終高於HepG2中，從而與靶細胞上之抗原表現量聯繫起來。關於各靶細胞群體，針對所測試之各細胞因子，在經abTCR轉導之細胞對比經CAR轉導之細胞之間，在細胞內細胞因子方面無顯著差異。這表明在細胞因子釋放分析方面所見之差異可歸因於細胞因子反饋。在經轉導之T細胞中不存在細胞內IL-6表明，在圖11B中之培養基中偵測到之IL-6的來源為SK-HEP-1細胞而非T細胞。

為了判定abTCR在CD4⁺ T細胞中之活化是否會導致特異性生物反應，吾人研究了細胞內細胞因子在用表現AFP之癌細胞株刺激之後在CD4⁺、抗AFP158之表現abTCR之T細胞中之表現。將CD3⁺ T細胞用如上所述之抗AFP158 abTCR轉導且與癌細胞株SK-HEP1-MG (AFP⁺)、SK-HEP1 (AFP⁻)或HEPG2 (AFP⁺)一起在蛋白轉運抑制劑存在下培育4小時。作為陰性對照，在不存在任何癌細胞株的情況下培育經abTCR轉導之T細胞。在培育後，將T細胞用抗IFN γ 、抗IL2或抗TNF α 抗體染色，且用AFP-四聚物-PE及抗CD4共染色。藉由流動式細胞測量術分析針對abTCR表現閘控之細胞的粒度及細胞因子表現(圖13，Y軸為側散射，X軸為細胞因子染色)。在經抗AFP158 abTCR轉導之T細胞與AFP⁺癌細胞株SK-HEP1-MG及HEPG2一起培育之後誘導出IFN γ 、IL2及TNF α 之表現，但當與AFP⁻細胞株SK-HEP1一起培育或在不存在任何癌細胞株的情況下培育時未誘導出，表明abTCR在CD4⁺ T細胞中之抗原特異性活化。

abTCR及CAR T細胞中之T細胞耗盡標記物在與靶細胞共培養後之表現

為了檢查在抗原刺激後於經abTCR及CAR轉導之細胞上表現之耗盡標記物的含量，使用EasySep人類T細胞分離套組(StemCell Technologies)，

由富含PBMC之全血製備CD3⁺ T細胞，且用如上所述之CD3/CD28 Dynabeads活化。藉由流動式細胞測量術，經活化及擴增之細胞群體為>99% CD3⁺。隨後用編碼含有抗AFP158/HLA-A*02:01 scFv之CAR (SEQ ID NO: 37)或含有相同抗AFP158/HLA-A*02:01可變域之abTCR-6MD (SEQ ID NO: 35及36)的慢病毒載體轉導此等細胞7-9天。將經轉導細胞與靶細胞一起以2.5:1之效靶比共培養16小時且用AFP158四聚物及抗CD8抗體以及用於耗盡標記物PD-1、TIM-3或LAG-3之抗體共染色。藉由對四聚物⁺ (亦即，經轉導)T細胞進行閘控，藉由流動式細胞測量術分析經轉導T細胞上耗盡標記物之含量。在獨立地流動式細胞測量術實驗中，吾人測定CD8-四聚物⁺ T細胞為CD4⁺的(資料未示出)。

在暴露於表現AFP之靶細胞(HepG2及SK-HEP-1-AFP-MG)之後，在CD8⁺四聚物⁺ T細胞中觀察到PD-1上調，而在CD8⁺四聚物⁺ T細胞中觀察到LAG-1及TIM-3上調(圖14)。在所有情況下，在經CAR轉導之T細胞上觀察到之耗盡標記物的上調程度等於或高於在經abTCR轉導之T細胞上觀察到的。這表明，經abTCR轉導之T細胞可導致較低程度之T細胞耗盡，促使T細胞在活體內停留較久。測定在所測試條件下對耗盡標記物中之每一者呈陽性的細胞之百分比且示出於表2中。

表2

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

T細胞分化標記物在abTCR及CAR T細胞中之表現

為了判定抗AFP158 abTCR是否可以在活體外擴增期間延遲T細胞分化，吾人量測三種T細胞分化標記物之細胞表面表現，該等T細胞分化標記物為記憶T細胞標記物CCR7及CD28、及最後分化標記物顆粒酶B。T細胞用編碼含有抗AFP158/HLA-A*02:01 scFv之CAR (SEQ ID NO: 37)或含有相同抗AFP158/HLA-A*02:01可變域之abTCR-6MD (SEQ ID NO: 35及36)的慢病毒載體轉導，用針對此等標記物之抗體染色，且在病毒轉導之後第10-12天藉由流動式細胞測量術分析(圖15)。結果顯示，關於CD4⁺及CD8⁺ T細胞，相對於CAR T細胞而言，abTCR T細胞表現較多CCR7及CD28，但表現較少顆粒酶B，表明在T細胞活體外擴增之後，抗AFP158 abTCR T細胞之分化程度低於抗AFP158 CAR T細胞。

比較抗AFP abTCR-6MD與abTCR-7建構物

比較經轉導以表現抗AFP158/HLA-A*02:01 abTCR-6MD之初級T細胞的細胞生長與經具有相同抗體可變域之抗AFP158/HLA-A*02:01 abTCR-7轉導之T細胞的細胞生長。在第0天，在100 U/ml IL-2存在下，藉由 α CD3/ α CD28珠粒(比率1:1)活化 6.7×10^5 個T細胞。在第1天，用編碼抗AFP158/HLA-A*02:01 abTCR-6MD (具有SEQ ID NO: 35之胺基酸序列的TCR δ 嵌合體次單元及具有SEQ ID NO: 36之胺基酸序列的TCR γ 嵌合體次單元)之慢病毒載體或編碼抗AFP158/HLA-A*02:01 abTCR-7(具有SEQ ID NO: 81之胺基酸序列的TCR δ 嵌合體次單元及具有SEQ ID NO: 82之胺基酸序列的TCR γ 嵌合體次單元)之慢病毒載體以MOI 4轉導經活化之T細胞。隨後在IL-2存在下培養及擴增經轉導T細胞9-10天。在第1天、第5天、第7天及第9天計數細胞數目。如圖16A中所示，經abTCR-6-MD

轉導之T細胞之生長比經abTCR-7轉導之T細胞快，截止第9天，前者之活細胞幾乎為後者之兩倍。在第9天，藉由西方墨點分析，針對經FLAG標記之建構物評定abTCR-6MD及abTCR-7建構物在經轉導之T細胞中之表現。簡言之，將5,000,000經轉導T細胞溶解於100 μ l溶解緩衝液中且使用NuPage系統，在4-12%聚丙烯醯胺凝膠上分離出13 μ l溶解產物。使用小鼠抗FLAG抗體(1 μ g/ml)偵測abTCR γ 鏈且使用小鼠抗CD3 ζ (1 μ g/ml)偵測內源性CD3。如圖16B中所示，abTCR-7建構物之表現量高於abTCR-6MD建構物。使用ImageJ軟體定量抗FLAG條帶之溶解產物的強度，針對對應抗CD3 ζ 條帶標準化，且顯示abTCR-7之表現相較於abTCR-6MD而言相對增加20%。

比較抗AFP158/HLA-A*02:01 abTCR-6MD T細胞與抗AFP158/HLA-A*02:01 abTCR-7 T細胞之靶細胞殺死活性。使初級T細胞經模擬轉導或用以上所述之編碼抗AFP158/HLA-A*02:01 abTCR-6MD或抗AFP158/HLA-A*02:01 abTCR-7建構物之慢病毒載體轉導。測試經abTCR-6MD或abTCR-7轉導之T細胞在5:1之效靶比下殺死SK-HEP-1 (AFP-/HLA-A2+)及SK-HEP-1-AFP-MG (經AFP袖珍基因轉導之SK-HEP-1)細胞的能力。在16小時時如上所述量測特異性殺死量。如圖16C中所示，含抗AFP158/HLA-A*02:01結合部分之abTCR-6MD建構物相比於含相同抗體可變域之abTCR-7，AFP陽性SK-HEP-1-AFP-MG細胞之比溶胞率類似。

實例5. 表徵經具有相同抗人類CD19可變域之abTCR-6MD及CAR建構物轉導之T細胞的生物活性

在實例4中，所用抗體部分為TCR-模擬，其結合肽/MHC複合體作為

抗原。為了證明abTCR設計亦對傳統抗體標靶(細胞表面抗原)有效，使用基於針對人類CD19之抗體的建構物進行一組類似的實驗。

經CD19 abTCR轉導之T細胞可殺死CD19陽性癌細胞

使初級T細胞經模擬轉導或用編碼含有抗CD19結合域之CAR (來自例示性抗CD19抗體之SEQ ID NO: 44，其包含具有IgV_H域，SEQ ID NO: 45及IgV_L域，SEQ ID NO: 46的scFv)或含有相同抗CD19可變域之abTCR-6MD (SEQ ID NO: 42及43)的慢病毒載體轉導。使用經CAR或abTCR轉導(轉導率均為25%)之T細胞測試其在5:1之效靶比下殺死B細胞株JeKo-1 (CD19⁺)、IM9 (CD19⁺)、Jurkat (CD19⁻)及THP-1 (CD19⁻)之能力。在16小時時使用與關於圖9B所述相同的方法量測特異性殺死量。如圖17中所示，含抗CD19結合部分之CAR及abTCR-6MD定向殺死類似量的CD19陽性JeKo-1及IM9細胞，但不殺死CD19陰性Jurkat及THP-1。

在腫瘤細胞殺死過程中abTCR及CAR T細胞之細胞因子分泌

在細胞因子釋放分析中使用與在上文癌症殺死實驗中所用相同的經轉導T細胞群體，將其與作為靶細胞之JeKo-1、IM9、THP-1及Jurkat一起共培育。16小時後，量測一組八種人類細胞因子(IL-2、IL-4、IL-6、IL-8、IL-10、GM-CSF、IFN- γ 、TNF- α)。在與CD19⁺靶細胞而非CD19⁻細胞一起共培育後，在經CAR轉導之T細胞的培養基中偵測到所有所測試之細胞因子(圖18A及圖18B)。在與經abTCR轉導之T細胞一起共培育之樣品中，在含CD19⁺細胞之abTCR樣品中，除IL-10外之所有所測試細胞因子的釋放量較低。抗CD19抗體建構物之此等發現類似於抗AFP158/HLA-A*02:01抗體建構物之彼等發現：雖然所觀察到的CAR-T細胞與經abTCR轉導之細胞的癌細胞殺死情況類似，但當使用經abTCR轉導之T細胞時，

細胞因子釋放量較低。這可為一大優勢：在大量細胞因子釋放導致不當生理作用之情況下，可使用abTCR。

為了判定abTCR在CD4⁺ T細胞中之活化是否會導致特異性生物反應，吾人研究了細胞內細胞因子在用表現CD19之癌細胞株刺激之後在CD4⁺、抗CD19之表現abTCR之T細胞中之表現。將CD3⁺ T細胞用純系5-13 abTCR-6MD (具有抗CD19純系5-13結合部分之abTCR-6MD，其包含SEQ ID NO: 56及54之胺基酸序列)轉導且在蛋白轉運抑制劑存在下，與癌細胞株Raji (CD19⁺)、Raji-CD19KO (CD19⁻)或Jeko-1 (CD19⁺)一起培育4小時。作為陰性對照，在不存在任何癌細胞株的情況下培育經abTCR轉導之T細胞。在培育之後，將T細胞用抗IFN γ 、抗IL2或抗TNF α 抗體染色，且用抗人類Fab(CD19)及抗CD4共染色。藉由流動式細胞測量術分析針對abTCR表現閘控之細胞的粒度及細胞因子表現(圖19，Y軸為側散射，X軸為細胞因子染色)。在經抗CD19 abTCR轉導之T細胞與CD19⁺癌細胞株Raji及Jeko-1一起培育之後誘導出IFN γ 、IL2及TNF α 之表現，但當與CD19⁻細胞株Raji-CD19KO一起培育或在不存在任何癌細胞株的情況下培育時未誘導出，表明abTCR在CD4⁺ T細胞中之抗原特異性活化。

abTCR及CAR T細胞中之T細胞耗盡標記物在與靶細胞共培養後之表現

如上所述針對抗AFP158嵌合受體測定在抗原刺激後於經抗CD19 abTCR及CAR轉導之細胞上表現的耗盡標記物之含量。將該等細胞用純系5-13 abTCR-6MD或含有相同抗CD19可變域之CAR轉導。靶細胞株包括Raji (CD19⁺)、Raji-CD19KO (CD19⁻)及Jeko-1 (CD19⁺)。測定在所測試條件下對耗盡標記物中之每一者呈陽性的細胞之百分比且示出於表3中。

表3

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

T細胞分化標記物在abTCR及CAR T細胞中之表現

為了判定抗CD19 abTCR是否可以在活體外擴增期間延遲T細胞分化，吾人量測三種T細胞分化標記物之細胞表面表現，該等T細胞分化標記物為記憶T細胞標記物CCR7及CD28、及最後分化標記物顆粒酶B。將T細胞用純系5-13 abTCR-6MD或具有相同抗CD19可變域之CAR轉導，用針對此等標記物之抗體染色，且在病毒轉導之後第10-12天藉由流動式細胞測量術分析(圖20)。結果顯示，對於CD4⁺及CD8⁺ T細胞，abTCR T細胞相比於CAR T細胞而言表現較多CCR7及CD28，但表現較少顆粒酶B，表明在T細胞活體外擴增之後，純系5-13 abTCR T細胞之分化程度低於對應CAR T細胞，這與抗AFP158嵌合受體之觀察結果一致。

abTCR及CAR T細胞之增殖

為了進一步判定abTCR T細胞相比於CAR T細胞而言是否分化程度較低且增殖潛能較大，吾人監測abTCR及CAR T細胞在其與抗原陽性癌細胞接合之後指示細胞分裂之CFSE螢光的變化。在用純系5-13 abTCR-6MD或具有相同抗CD19可變域之CAR進行病毒轉導之後第10天，用CFSE染料標記T細胞，且藉由流動式細胞測量術記錄基線螢光。將經標記之T細胞與Raji細胞(CD19+癌細胞株)一起在不含細胞因子之培養基中

培育。在第2天及第3天，藉由流動式細胞測量術量測CD4+及CD8+ T細胞之CFSE螢光(圖21)。在第2天與第3天之間的CFSE螢光強度減弱量指示細胞增殖量，abTCR T細胞中之CFSE螢光強度減弱量顯著高於CAR T細胞中，表明純系5-13 abTCRT細胞發生的細胞分裂比對應CAR T細胞多。

abTCR及CAR T細胞之嵌合受體內化

為了比較T細胞表面abTCR與CAR之內化速率，將T細胞用純系5-13 abTCR-6MD或含有相同抗CD19可變域之CAR轉導，且用識別抗CD19結合部分之經CypHer5E標記的抗個體基因型抗體於冰上染色30分鐘，CypHer5E為在酸性pH 6.5下發出螢光之pH敏感性染料。隨後將該等細胞在37°C下培育指定量的時間，固定，且藉由流動式細胞測量術分析粒度及嵌合受體表現(圖22，Y軸為側散射，X軸為CypHer5E染色)。結果顯示，在染色90分鐘後，幾乎所有CAR皆內化。相比之下，abTCR之內化速率小得多，且甚至在90分鐘時，大部分abTCR仍停留在細胞表面上。

比較抗CD19 abTCR與cTCR建構物

比較經轉導以表現抗CD19 abTCR-6MD之初級T細胞的細胞生長與經具有相同抗體可變域及跨膜域但含來自TCR δ 及TCR γ 多肽之恆定區的抗CD19嵌合建構物(cTCR)轉導之T細胞的細胞生長。在第0天，在100 U/ml IL-2存在下，藉由 α CD3/ α CD28珠粒(比率1:1)活化 6.7×10^5 個T細胞。在第1天，用編碼抗CD19 abTCR-6MD (具有SEQ ID NO: 56之胺基酸序列的TCR δ 嵌合體次單元及具有SEQ ID NO: 54之胺基酸序列的TCR γ 嵌合體次單元)之慢病毒載體或編碼抗CD19 cTCR (具有SEQ ID NO: 75之胺基酸序列的TCR δ 嵌合體次單元及具有SEQ ID NO: 76之胺基酸序列的TCR γ 嵌合體次單元)之慢病毒載體以MOI 4轉導經活化之T細胞。隨後在IL-2存在

下培養及擴增經轉導T細胞9-10天。在第1天、第5天、第7天及第9天計數細胞數目。如圖23A中所示，經abTCR轉導之T細胞之生長比經cTCR轉導之T細胞快，在第9天計數之活細胞前者多達後者之1.7倍以上。

比較抗CD19 abTCR T細胞與抗CD19 cTCR T細胞之靶細胞殺死活性。使初級T細胞經模擬轉導或用編碼抗CD19 abTCR-6MD或抗CD19 cTCR之慢病毒載體轉導。測試經abTCR或cTCR轉導之T細胞在5:1之效靶比下殺死CD19陽性靶細胞株Nalm-6的能力。在16小時時如上所述量測特异性殺死量。如圖23B中所示，含抗CD19結合部分之abTCR-6MD建構物引起的CD19陽性Nalm-6細胞之比溶胞率大於含相同抗CD19可變域之cTCR。

實例6. 表徵經具有相同抗NY-ESO-1/HLA-A*02:01可變域之abTCR-6MD及CAR建構物轉導之T細胞的生物活性

*抗NY-ESO-1/HLA-A*02:01 abTCR轉導之T細胞可殺死NY-ESO-1陽性癌細胞*

使初級T細胞經模擬轉導或經用於表現含有抗NY-ESO-1/HLA-A*02:01結合部分之CAR或abTCR-6MD轉導，該結合部分包含具有SEQ ID NO: 73之胺基酸序列的IgV_L域及具有SEQ ID NO: 72之胺基酸序列的IgV_H域。CAR所包含之scFv自N端至C端具有IgV_L域、連接子(SEQ ID NO: 74)及IgV_H域。如藉由流動式細胞測量術分析，經CAR或abTCR轉導之T細胞對其各別嵌合受體之表現量為類似的，且使用該等T細胞測試其在5:1之效靶比下殺死細胞株IM9 (HLA-A2⁺，NY-ESO-1⁺)、Colo205 (HLA-A2⁺，NY-ESO-1⁻)、MDA-231 (HLA-A2⁺，NY-ESO-1⁻)、MCF7 (HLA-A2⁺，NY-ESO-1⁻)、JeKo-1 (HLA-A2⁺，NY-ESO-1⁺)、Raji

(HLA-A2⁺ , NY-ESO-1⁻)、Hep1 (HLA-A2⁺ , NY-ESO-1⁻) 及 Jurkat (HLA-A2⁺ , NY-ESO-1⁻) 的能力。在16小時時使用與上文所述相同的方法量測特異性殺死量。如圖24中所示，含抗NY-ESO-1/HLA-A*02:01結合部分之CAR及abTCR-6MD定向殺死類似含量之NY-ESO-1陽性JeKo-1及IM9細胞，但不殺死其他NY-ESO-1陰性細胞。

在腫瘤細胞殺死過程中abTCR及CAR T細胞之細胞因子分泌

在細胞因子釋放分析中使用與在上文癌症殺死實驗中所用相同的經轉導T細胞群體，將其與IM9、Colo205、MDA-231、MCF7、JeKo-1、Hep1及Jurkat細胞一起共培育。16小時後，量測一組四種人類細胞因子(IL-2、GM-CSF、IFN- γ 、TNF- α)。在與NY-ESO-1⁺靶細胞而非大部分NY-ESO-1⁻細胞一起共培育後，在經CAR及abTCR轉導之T細胞的培養基中偵測到所有所測試之細胞因子(資料未示出)。重要的是，藉由經abTCR轉導之T細胞共培育引起的自大部分所測試NY-ESO-1⁺靶細胞釋放之細胞因子的含量顯著低於藉由經CAR轉導之T細胞共培育所引起的(資料未示出)。

實例7.表徵經abTCR-6MD建構物轉導之自然殺手T (NKT)細胞及調節T (Treg)細胞的生物活性

經抗CD19 abTCR轉導之NKT細胞

藉由用生物素-抗體混合物及抗生物素微珠間接磁性標記非CD3⁺/CD56⁺細胞(非NKT細胞)且耗盡非NKT細胞以富集CD3⁺/CD56⁺ NKT細胞，自人類PBMC分離NKT細胞。藉由流動式細胞測量術評定所富集的NKT細胞群體中CD3及CD56之表面表現，且示出在圖25A中。藉由抗CD3/抗CD28珠粒活化NKT細胞，用編碼抗CD19 abTCR之慢病毒轉

導，且在含有10% FBS及IL-2 (100 U/ml)之RPMI-1640中擴增。如藉由流動式細胞測量術所量測，對抗CD19結合部分具有特異性的抗個體基因型抗體之轉導效率大於80%。將NKT細胞與表現CD19之Raji或Raji CD19基因剔除(CD19ko)癌細胞株一起以5:1之效靶比共培育16小時，隨後量測培養基中之細胞因子釋放(IL-2、GM-CSF、IFN γ 、TNF α) (圖25B)。當與CD19陽性Raji細胞而非CD19陰性Raji CD19ko細胞一起培育時，經抗CD19 abTCR轉導之NKT細胞而非經模擬轉導之NKT細胞活化釋放出所測試細胞因子中之每一者，表明NKT細胞可經由經轉導abTCR與癌細胞上之CD19抗原的結合得到特異性活化。

經抗CD19 abTCR轉導之Treg細胞

藉由直接磁性標記CD4⁺/CD25⁺ Treg細胞，自人類PBMC分離Treg細胞。藉由流動式細胞測量術評定經分離Treg細胞群體中CD4及CD25之表面表現，且示出在圖26A中。藉由抗CD3/抗CD28珠粒活化Treg細胞，用編碼抗CD19 abTCR之慢病毒轉導，且在含有10% FBS及IL-2 (100 U/ml)之RPMI-1640中擴增。如藉由流動式細胞測量術所量測，對抗CD19結合部分具有特異性的抗個體基因型抗體之轉導效率為80%。將Treg細胞與表現CD19之Raji或Raji CD19基因剔除(CD19ko)癌細胞株一起在5:1之效靶比下共培育16小時，隨後量測培養基中之IL-10細胞因子釋放(圖26B)。當與CD19陽性Raji細胞而非CD19陰性Raji CD19ko細胞一起培育時，經抗CD19 abTCR轉導之Treg細胞而非經模擬轉導之Treg細胞活化釋放出IL-10，表明Treg細胞可經由經轉導abTCR與癌細胞上之CD19抗原的結合得到特異性活化。

實例8.表徵經具有不同抗體重鏈恆定域之abTCR轉導之T細胞的生物活性

在前述實例中，abTCR建構物中所用之抗體部分含有具有SEQ ID NO: 39之胺基酸序列的IgG1 CH1域。為了證明abTCR設計亦對來自其他免疫球蛋白重鏈之CH1域有效，使用基於抗AFP158/HLA-A*02:01抗體之建構物如上所述進行靶細胞殺死分析，該抗體具有來自IgG1 (SEQ ID NO: 39)、IgG2 (SEQ ID NO: 60、61或62)、IgG3 (SEQ ID NO: 63)或IgG4 (SEQ ID NO: 64)之CH1域。分析經abTCR轉導之T細胞的AFP158四聚物結合情況作為表面表現之指示(表4)且測試其殺死HepG2 (AFP+/HLA-A2+)、SK-HEP-1 (AFP-/HLA-A2+)及SK-HEP-1-AFP-MG (經AFP袖珍基因轉導之SK-HEP-1)細胞之能力。培育16小時後，使用Cyttox 96非放射性細胞毒性分析(Promega)量測比溶胞率。如圖27中所示，經攜帶抗AFP158/HLA-A*02:01結合部分之abTCR中之任一者轉導的T細胞定向殺死抗原陽性細胞株HepG2及SK-HEP-1-AFP-MG，但不殺死抗原陰性細胞株SK-HEP-1。重要的是，即使含有非IgG1 CH1域之abTCR的表面表現低於含有IgG1 CH1之abTCR (參見表4)，但其靶細胞殺死量類似，表明其可具有增強的功能特性。

表4. abTCR表面表現

abTCR	AFP158四聚物+ (%)
模擬	0.3
IgG1	64.5
IgG2-0C	9.58
IgG2-1C	18.2
IgG2-2C	7.36
IgG3	13.6
IgG4	22.2

實例9. 表徵經含有共刺激域之abTCR轉導的T細胞之生物活性

為了證明包括C端共刺激域之abTCR設計的可行性，使用源自CD28及/或4-1BB之共刺激片段設計各種抗AFP158/HLA-A*02:01 abTCR建構

物(圖28)。abTCR由以下組成：含有SEQ ID NO: 36之胺基酸序列的TCR γ 嵌合次單元及含有SEQ ID NO: 35之胺基酸序列的TCR δ 嵌合次單元。具有CD28共刺激域之abTCR次單元具有與其C端融合的SEQ ID NO: 70之胺基酸序列，且具有4-1BB共刺激域之次單元具有與其C端融合的SEQ ID NO: 71之胺基酸序列。將abTCR建構物轉導至J.RT3-R3.5細胞中，且如上所述使用流動式細胞測量術分析abTCR表現及CD3表面表現拯救。結果概述於表5中。abTCR之表現及其拯救CD3表現之能力在各種含或不含共刺激域之abTCR建構物之間為類似的。在另一實驗中，用abTCR建構物轉導初級T細胞且藉由流動式細胞測量術分析CD8表現及AFP158四聚物結合(表6)。將經abTCR轉導之初級T細胞針對AFP158四聚物結合及CD4或CD8表現進行閘控，且藉由流動式細胞測量術分析CCR7、CD45RA、CD28及顆粒酶B之表現(表7)。此等結果顯示，經轉導之T細胞之病毒轉導及分化在各種含或不含共刺激域之abTCR建構物之間為類似的。如上所述使用abTCR建構物進行靶細胞殺死分析。分析經abTCR轉導之T細胞殺死HepG2 (AFP+/HLA-A2+)、SK-HEP-1 (AFP-/HLA-A2+)及SK-HEP-1-AFP-MG (經AFP袖珍基因轉導之SK-HEP-1)細胞的能力。如圖29中所示，經abTCR中之任一者轉導之T細胞定向殺死抗原陽性細胞株HepG2及SK-HEP-1-AFP-MG，但不殺死抗原陰性細胞株SK-HEP-1。

為了進一步表徵含有共刺激域之abTCR建構物，將經各種abTCR轉導之T細胞閘控分為4個不同群體(CD8+/abTCR+；CD8+/abTCR-；CD4+/abTCR+；CD4+/abTCR-)，且藉由流動式細胞測量術分析T細胞耗盡標記物PD-1、TIM-3及LAG-3在與HepG2、SK-HEP-1及SK-HEP-1-AFP-MG細胞一起培育後的表現。經各種含有C端共刺激域之abTCR轉導

之T細胞在藉由標靶陽性細胞HepG2及SK-HEP-1-AFP-MG活化之後相比於經缺乏任何共刺激域之abTCR轉導之T細胞而言，顯示T細胞耗盡未顯著增加(資料未示出)。在如上所述之細胞因子釋放分析中使用經各種abTCR轉導之T細胞，將其與SK-HEP-1及SK-HEP-1-AFP-MG細胞共培育。16小時後，量測一組四種人類細胞因子(IL-2、GM-CSF、IFN- γ 、TNF- α)。在與AFP⁺ SK-HEP-1-AFP-MG細胞而非AFP⁻ SK-HEP-1細胞一起共培育後，在經abTCR轉導之T細胞的培養基中偵測到所有所測試之細胞因子(圖30)。經各種含有C端共刺激域之abTCR轉導之T細胞在藉由標靶陽性SK-HEP-1-AFP-MG細胞活化之後相比於經缺乏任何共刺激域之abTCR轉導之T細胞而言，顯示細胞因子釋放未顯著增加，且在一些情況下，顯示細胞因子釋放減少。

使用抗CD19 abTCR建構物重複靶細胞殺死、T細胞耗盡及細胞因子釋放實驗，該等抗CD19 abTCR建構物係使用源自CD28及/或4-1BB之共刺激片段設計的，如上文所述且圖28中所描繪。abTCR由以下組成：含有SEQ ID NO: 54之胺基酸序列的TCR γ 嵌合次單元及含有SEQ ID NO: 56之胺基酸序列的TCR δ 嵌合次單元。如同抗AFP158/HLA-A*02:01 abTCR建構物一樣，經含有共刺激域之抗CD19 abTCR轉導之T細胞的表現類似於經不含任何共刺激域之抗CD19 abTCR建構物轉導之T細胞(圖31及圖32)。

表5. abTCR及CD3表面表現

abTCR	abTCR ⁺ /CD3 ⁻ (%)	abTCR ⁻ /CD3 ⁺ (%)	abTCR ⁺ /CD3 ⁺ (%)
模擬	0.02	2.49	0.03
abTCR-6M	1.11	0.217	93.8
abTCR-6M-1	1.11	0.217	93.8
abTCR-6M-2	1.31	0.259	93.5
abTCR-6M-3	2.8	0.418	83.5

abTCR-6M-4	4.43	0.682	77.6
abTCR-6M-5	3.51	0.685	81.3
abTCR-6M-6	2.91	0.738	77.3
abTCR-6M-7	2.8	1.17	66.4
abTCR-6M-8	3.68	0.892	75.5

表6. CD8及abTCR表面表現

abTCR	CD8 ⁺ /四聚物 ⁺	CD8 ⁻ /四聚物 ⁺
模擬	0.068	0.013
abTCR-6M	20.6	38.3
abTCR-6M-1	28.0	44.7
abTCR-6M-2	23.1	39.2
abTCR-6M-3	24.9	40.0
abTCR-6M-4	18.2	37.1
abTCR-6M-5	14.3	33.3
abTCR-6M-6	16.1	32.6
abTCR-6M-7	19.6	38.8
abTCR-6M-8	7.79	19.6

表7. CCR7、CD45RA、CD28及顆粒酶B於CD4⁺及CD8⁺ abTCR T細胞上之表面表現

abTCR	表現百分比 (CD4 ⁺ /四聚物 ⁺ 閘控)			表現百分比 (CD8 ⁺ /四聚物 ⁺ 閘控)		
	CD28	CCR7	顆粒酶B	CD28	CCR7	顆粒酶B
abTCR-6M	60	56	2.4	52	26.5	23.3
abTCR-6M-1	65.9	53.7	2.31	57.1	20.9	21.6
abTCR-6M-2	60.3	53.8	2.41	57.1	19.1	28.5
abTCR-6M-3	60.1	53.7	2.96	54.6	18.9	29.1
abTCR-6M-4	63	52.5	3.11	58.6	20.2	30.1
abTCR-6M-5	56.1	54	3.74	52.2	19.1	34.1
abTCR-6M-6	62.3	54.8	3.1	54.5	19	33.4
abTCR-6M-7	63	52.2	2.4	57.7	18.4	28.1
abTCR-6M-8	55.6	54.1	2.44	57.7	22.8	34.2

實例10. 經abTCR轉導之T細胞的活體內功效研究

抗AFP158/HLA-A*02:01抗體在人類肝細胞癌異種移植模型中之活體內抗腫瘤活性

使用SK-HEP-1-AFP-MG於SCID-beige小鼠中之皮下(s.c.)模型測試經含有抗AFP158/HLA-A*02:01結合部分之abTCR-6MD建構物(SEQ ID NO: 35及36)轉導的T細胞之活體內抗腫瘤活性。將SK-HEP-1-AFP-MG細胞以 5×10^6 個細胞/小鼠皮下植入SCID-beige小鼠之右側腹。當平均腫瘤

體積達到 100 mm^3 時，基於腫瘤體積將動物隨機分成兩組(每組8隻小鼠)，分別接受：(i)經模擬轉導之T細胞及(ii)經abTCR轉導之T細胞。在隨機分組之後立即對動物進行處理，每隻小鼠靜脈內(i.v.)注射 10^7 個經模擬或abTCR轉導之T細胞，每兩週一次，三個劑量。密切監測小鼠之整體健康狀況、可能的不良反應(若存在)及腫瘤體積之變化。在當前劑量及時程下，經模擬及abTCR轉導之T細胞均良好耐受。在整個研究中未觀察到給藥相關的體重變化(圖33)。雖然SK-HEP-1-AFP-MG腫瘤在靜脈內投與經模擬或abTCR轉導之T細胞之後仍繼續生長，但經abTCR轉導之T細胞處理之腫瘤的生長速率慢於經模擬T細胞處理之腫瘤。如圖34A中所示，腫瘤生長曲線之分離始於起始給藥後20天。在第31天，觀察到經abTCR轉導之T細胞處理之腫瘤有23%生長抑制(t檢定， $p=0.018$)。

進一步在更大的SK-HEP-1-AFP-MG皮下腫瘤中評估經abTCR轉導之T細胞的抗腫瘤活性。在攜帶SK-HEP-1-AFP-MG腫瘤之小鼠的研究中，當平均腫瘤體積達到 300 mm^3 時，將動物隨機分成兩組(每組 $n=4$ 隻小鼠)。動物不進行處理或每隻小鼠接受單一瘤內(i.t.)注射 10^7 個經abTCR轉導之T細胞。如圖34B中所示，瘤內傳遞經abTCR轉導之T細胞減慢了大SK-HEP-1-AFP-MG腫瘤之生長，如藉由腫瘤體積隨時間推移之變化所量測。未經處理與經abTCR轉導之T細胞處理之大SK-HEP-1-AFP-MG腫瘤之間的曲線下面積比較顯示，兩組之間存在統計學顯著差異(雙尾t檢定， $p=0.04$)。綜合而言，靜脈內及瘤內投與經abTCR轉導之T細胞均顯著抑制了SK-HEP-1-AFP-MG之已形成之皮下異種移植物的生長。

抗CD19抗體在淋巴瘤異種移植模型中之活體內抗腫瘤活性

在CD19陽性人類淋巴瘤異種移植模型中，在NOD SCID γ (NSG)小

鼠中測試經含有例示性抗hCD19抗體結合部分之CAR及abTCR轉導之T細胞的活體內抗腫瘤活性。自Comparative Biosciences, Inc. (Sunnyville, California 94085)購得Raji-luc-GFP細胞且在RPMI培養基+10% FBS及1% L-麩醯胺酸中在37°C下在含5% CO₂之含濕氣氛圍中培養。Raji-luc-GFP細胞源自CD19陽性伯基特淋巴瘤細胞株Raji，在用編碼螢火蟲螢光素酶(luc)及綠色螢光蛋白之雙重報導基因穩定轉染之後，產生可使用生物發光成像活體內追蹤之細胞。自Jackson Laboratories (Bar Harbor, ME USA 04609)購得NSG小鼠且使其在實驗前適應至少7天。將Raji-luc-GFP細胞再懸浮於PBS中且經由尾靜脈以 1×10^6 個細胞/100 μ l/小鼠靜脈內(i.v.)植入至NSG小鼠中。腫瘤植入後五天，使用Xenogen IVIS成像系統使動物成像以便評定腫瘤負荷。在 6.7×10^5 個光子之平均光子發射下，基於光子發射將小鼠隨機分成以下四組(每組n=6隻小鼠)：(i)無處理，(ii)經模擬轉導之人類T細胞，(iii)經抗CD19 CAR-T處理及(iv)經抗hCD19 abTCR T細胞處理。在隨機分組之後立即以 10^7 個細胞/小鼠之劑量用模擬或抗CD19 CAR-T細胞靜脈內處理動物，每兩週一次，3個劑量。

在給藥之後密切監測動物。使用Xenogen IVIS系統進行生物發光成像，一週一次，直至8週。

如上所述進行動物研究以評估經具有抗CD19結合部分之abTCR-6MD轉導的T細胞之活體內抗腫瘤能力。

在此研究中使用6-8週齡雌性NSG小鼠。在RPMI培養基+10% FBS及1% L-麩醯胺酸中在37°C下在含5% CO₂之含濕氣氛圍中培養Raji-luc-GFP細胞株。將Raji-luc-GFP細胞再懸浮於PBS中且以 1×10^6 個細胞/100 μ l/小鼠靜脈內植入40隻NSG小鼠中。

腫瘤植入後四天，使用Ivis Spectrum使小鼠成像以確認腫瘤生長。隨後基於光子發射針對以下處理將小鼠隨機分成六組(每組n=6隻小鼠)：1)媒劑(PBS)；2)模擬(8×10^6 個經模擬轉導之T細胞)；3)純系5 abTCR (8×10^6 個經具有抗CD19純系5結合部分之abTCR-6MD轉導的T細胞，其包含SEQ ID NO: 42及54之胺基酸序列)；4)純系5-3 abTCR (8×10^6 個經具有抗CD19純系5-3結合部分之abTCR-6MD轉導的T細胞，其包含SEQ ID NO: 42及43之胺基酸序列)；5)純系5-9 abTCR (8×10^6 個經具有抗CD19純系5-9結合部分之abTCR-6MD轉導的T細胞，其包含SEQ ID NO: 55及54之胺基酸序列)；及6)純系5-13 abTCR (8×10^6 個經具有抗CD19純系5-13結合部分之abTCR-6MD轉導的T細胞，其包含SEQ ID NO: 56及54之胺基酸序列)。

在腫瘤植入及給予8,000,000個受體陽性T細胞之後密切監測動物。在研究期間，給動物稱重且進行Xenogen成像，一週兩次。使顯示出以下狀況的動物安樂死且記錄為「條件性死亡(conditional death)」：a)急性不良反應：呼吸困難、顫抖、被動行為(食慾不振及昏睡)；b)體重減輕超過25%初始體重；及c)肢體麻痺，影響小鼠活動。

此實驗之結果描繪於圖35中，其繪製了來自腫瘤之總發射通量對比給予abTCR細胞或對照後之天數。所有4種CD19-abTCR T細胞皆活體內靶向且溶解CD19陽性Raji腫瘤，展現出抗CD19抗體在abTCR平台中抑制腫瘤生長之功效。

在另一實驗中，用 8×10^6 個經含有相同結合序列之抗CD19 abTCR-6MD或抗CD19 CAR轉導的T細胞處理未植入腫瘤之NSG小鼠，且比較此等經轉導T細胞之活體內作用。經抗CD19 CAR T細胞處理之小鼠在24小

時內死亡，而經抗CD19 abTCR T細胞處理之小鼠在5週後仍存活。此結果指示，表現abTCR建構物之T細胞比表現CAR之彼等T細胞安全。

比較抗CD19 abTCR與抗CD19 CAR

如上所述，將Raji B細胞淋巴瘤Raji-luc-GFP細胞植入NSG小鼠中。隨後以每注射樣品八隻小鼠之分組給小鼠注射 5×10^6 個經純系5-13 abTCR-6MD (具有抗CD19純系5-13結合部分之abTCR-6MD，其包含SEQ ID NO: 56及54之胺基酸序列)轉導的abTCR⁺ T細胞、 5×10^6 個經純系5-13 CAR (具有抗CD19純系5-13結合部分之CAR)轉導的CAR⁺ T細胞或 5×10^6 個模擬T細胞。在T細胞植入24小時後收集血清且使用如上所述之Luminex Magpix機器量測血清內人類細胞因子之濃度。細胞因子量測結果示出在圖36中。如先前所述，藉由螢光素酶活性量測腫瘤負荷，且結果示出在圖37 (定量)及圖27 (成像)中。

在純系5-13 CAR與純系5-13 abTCR T細胞之間的頭對頭比較(head to head comparison)中，在早期時間點，相較於CAR T細胞而言，注射至小鼠中之abTCR T細胞引起快速腫瘤消退，而注射CAR T細胞之小鼠則直至約五天後才顯示出腫瘤消退。在此實驗之整個過程中，純系5-13 abTCR T細胞顯示出之活體內腫瘤抑制功效高於純系5-13 CAR T細胞。在24小時時之細胞因子量測結果指示，經純系5-13 abTCR T細胞處理之小鼠的細胞因子分泌量亦低於經CAR T細胞處理之小鼠。此等結果證明，抗腫瘤功效並不一定產生過量細胞因子，因為雖然abTCR T細胞之腫瘤抑制效能高於CAR T細胞，但其細胞因子分泌作用比CAR T細胞低。

在腫瘤植入之後7週時，經純系5-13 abTCR T細胞處理之小鼠皆不具有可偵測的腫瘤。此時，藉由靜脈內植入 5×10^5 個Raji淋巴瘤細胞對3隻來

自模擬T細胞處理組之小鼠及3隻來自純系5-13 abTCR T細胞處理組之小鼠進行再攻擊。如先前所述，藉由螢光素酶活性量測腫瘤負荷，且結果示出在圖39中。在來自模擬T細胞處理組之小鼠中腫瘤迅速生長，但藉由經純系5-13 abTCR轉導之T細胞達成之先前處理則防止了在經Raji淋巴瘤細胞植入再挑戰後之腫瘤生長，表明經abTCR轉導之T細胞保留且維持其對抗原起反應的能力。

在另一實驗中，在注射 5×10^6 個純系5-3 abTCR-6MD (具有抗CD19純系5-3結合部分之abTCR-6MD，其包含SEQ ID NO: 42及43之胺基酸序列) T細胞或 5×10^6 個純系5-3 CAR (具有抗CD19純系5-3結合部分之CAR，SEQ ID NO: 44) T細胞之後24小時，自NSG小鼠收集血清。如上所述量測小鼠血清中之細胞因子之濃度。在經純系5-3 CAR T細胞處理之小鼠中發現高含量之源自T細胞之人類細胞因子及源自小鼠之IL-6。相比之下，經純系5-3 abTCR處理之小鼠展現顯著較低的血清細胞因子含量(資料未示出)，進一步證明abTCR T細胞對細胞因子過度產生之影響較小。

抗CD19抗體在白血病異種移植模型中之活體內抗腫瘤活性

在CD19陽性人類白血病異種移植模型中，在NSG小鼠中測試經含有例示性抗hCD19抗體結合部分之CAR或abTCR轉導的T細胞之活體內抗腫瘤活性。NALM-6-luc-GFP細胞為來自紀念斯隆-凱特琳癌症中心(Memorial Sloan Kettering Cancer Center)的Eric Smith實驗室的禮物且在RPMI培養基+10% FBS中在37°C下在含5% CO₂之含濕氣氛圍中培養。NALM-6-luc-GFP細胞源自CD19陽性急性淋巴母細胞白血病細胞株NALM-6，在用編碼螢火蟲螢光素酶(luc)及綠色螢光蛋白之雙重報導基因

穩定轉染之後，產生可使用生物發光成像活體內追蹤之細胞。自Jackson Laboratories (Bar Harbor, ME USA 04609)購得NSG小鼠且使其在實驗前適應至少3天。將NALM-6-luc-GFP細胞再懸浮於PBS中且經由尾靜脈以 5×10^5 個細胞/100 μ l/小鼠靜脈內(i.v.)植入三十隻6-8週齡雌性NSG小鼠中。腫瘤植入後四天，使用Xenogen IVIS成像系統使動物成像以便評定腫瘤負荷。基於光子發射將小鼠隨機分成以下四組：(i)媒劑，僅PBS (n=6隻小鼠)；(ii) 10×10^6 個經模擬轉導之人類T細胞(n=6隻小鼠)；(iii) 5×10^6 個純系5-13 CAR T細胞(經具有抗CD19純系5-13結合部分之CAR轉導的T細胞) (n=8隻小鼠)；及(iv) 5×10^6 個純系5-13 abTCR-6MD T細胞(經具有抗CD19純系5-13結合部分之abTCR-6MD轉導的T細胞，其包含SEQ ID NO: 56及54之胺基酸序列) (n=8隻小鼠)。

在腫瘤植入及給予受體陽性T細胞之後密切監測動物。在研究期間，給動物稱重且進行Xenogen成像，一週兩次。使顯示出以下狀況的動物安樂死且記錄為「條件性死亡」：a)急性不良反應：呼吸困難、顫抖、被動行為(食慾不振及昏睡)；b)體重減輕超過25%初始體重；及c)肢體麻痺，影響小鼠活動。

此實驗之結果描繪於圖40中，其繪製了各處理組之源自平均腫瘤的總通量發射對比處理後之天數。純系5-13 abTCR T細胞及純系5-13 CAR T細胞均活體內靶向且溶解CD19陽性NALM-6腫瘤，展現出抗CD19抗體在多個癌症模型中在abTCR平台中抑制腫瘤生長之功效。

在處理後24小時，自每組3隻小鼠收集血液進行細胞因子量測，且結果示出在圖41中。如同淋巴瘤異種移植模型一樣，在此白血病異種移植模型中，用抗CD19 abTCR T細胞處理產生的細胞因子分泌量低於用抗

CD19 CAR T細胞處理。

在處理後7天及13天，自各組之代表性小鼠收集血液且使用 Affymetrix eBioscience, Inc.之「123count eBeads」套組，藉由流動式細胞測量術進行分析，測定每微升血液中CD3⁺ T細胞、表現CAR/abTCR之T細胞及腫瘤細胞的數目，及PD-1於T細胞上之表現量。在處理後13天，使每組2隻小鼠安樂死且藉由流動式細胞測量術分析骨髓提取物中的CD3⁺/CAR/abTCR T細胞、腫瘤細胞之存在情況及PD-1於T細胞上之表現量。

在投藥後第7天及第13天，投與abTCR T細胞之小鼠的血液中表現嵌合受體之T細胞的含量高於在投與CAR T細胞之小鼠中所觀察到的(圖42)，表明在此模型中，abTCR T細胞之活力及/或增殖水準高於其對應物CAR T細胞。如圖43及圖44中所示，雖然在處理後13天，經CAR T細胞或abTCR T細胞處理之小鼠均顯示出周邊血液及骨髓中之腫瘤細胞(藉由FITC染色指示)相較於經媒劑及模擬處理之對照動物中減少，但經abTCR T細胞處理之動物的周邊血液及骨髓中之腫瘤細胞的減少量更大。如圖45及圖46中所示，關於CD4⁺及CD8⁺ T細胞兩者，在經abTCR T細胞處理之小鼠中，T細胞耗盡標記物PD-1在來自周邊血液及骨髓之T細胞表面上的表現量比經CAR T細胞處理之彼等小鼠中低，且與經模擬處理之小鼠中觀察到之含量相當。此等結果表明，表現abTCR之T細胞的耗盡可能性小於表現CAR之T細胞。

序列表

SEQ ID NO	說明	序列
1	TCR α 跨膜域	ILLKLVAGFNLLMTLRLWSS
2	TCR β 跨膜域	TILYEILLGKATLYAVLVSAVL
3	TCR δ 跨膜域	MLFAKTVAVNFLLTAKLFFL
4	TCR γ 跨膜域	YYMYLLLLLKS VVYFAITCCLL
5	TCR α 連接肽	ESSCDVKLVKESFETDTNLFQNL SVIGFR
6	TCR β 連接肽	ADCGFTSVSYQQGVLSA
7	TCR δ 連接肽	DHVKPKETENTKQPSK SCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLR
8	TCR γ 連接肽	MDPKDNCSKDANDTLLLQLTNTSA
9	TCR α 連接肽MD	IPEDTFFPSPSSCDVKLVKESFETDTNLFQNL SVIGFR
10	TCR β 連接肽MD	GRADCGFTSVSYQQGVLSA
11	TCR δ 連接肽MD	EVKTDSTDHVKPKETENTKQPSK SCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLR
12	TCR γ 連接肽MD	PIKTDVITMDPKDNCSKDANDTLLLQLTNTSA
13	TCR β 細胞內域	MAMVKRKDF
14	TCR γ 細胞內域	RRTAFCCNGEKS
15	TCRD α	ESSCDVKLVKESFETDTNLFQNL SVIGFRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS
16	TCRD β	ADCGFTSVSYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSAVLMMAMVKRKDF
17	TCRD α MD	IPEDTFFPSPSSCDVKLVKESFETDTNLFQNL SVIGFRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS
18	TCRD β MD	GRADCGFTSVSYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSAVLMMAMVKRKDF
19	TCRD δ	DHVKPKETENTKQPSK SCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL
20	TCRD γ	MDPKDNCSKDANDTLLLQLTNTSAYMYMYLLLLLKS VVYFAITCCLLRRTAFCCNGEKS
21	TCRD δ MD	EVKTDSTDHVKPKETENTKQPSK SCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL
22	TCRD γ MD	PIKTDVITMDPKDNCSKDANDTLLLQLTNTSAYMYMYLLLLLKS VVYFAITCCLLRRTAFCCNGEKS
23	抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-3 α	EVQLVQSGAEVKKPGESLTISCKASGYSPNYWITWVRQMSGGGLEWMGRIDPGDSYTTYNPSFQGHVTISIDKSTNTAYLHWNSLKASDTAMYYCARYYVSLVDIWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCSSCDVKLVKESFETDTNLFQNL SVIGFRILLKLVAGFNLLMTLRLWSS
24	抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-3 β	QSVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYDVNNRPSEVSNRFGSGKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTGSRVFGGGTKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSADCGFTSVSYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSAVLMMAMVKRKDF
25	抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-4 α	QSVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIYDVNNRPSEVSNRFGSGKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTGSRVFGGGTKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNKYAASSYLSLTPE

		QWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSESSCDVKLVEKSFETDT NLNFQNL SVIGFRILLK VAGFNLLMTLRLWSS
26	抗AFP158/HLA- A*02:01-abTCR-4 β	EVQLVQSGAEVKKPGESLTISCKASGYSPNYWITWVRQMSGGGLE WMGRIDPGDSYTTYNP SFQGHVTISIDKSTNTAYLHWNSLKASDTA MYYCARYYVSLVDIWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCADCGFTSVSYQQ GVLSATILYEILLGKATLYAVLV SALVLMAMVKRKDF
27	抗AFP158/HLA- A*02:01-abTCR- 4MD α	QSVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPK LMIYDVNNRPSEVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYT TGSRAVFGGGTKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLIS DFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSN NKYAASSYLSLTPE QWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSESSCDVKLVEKSFETDTNLNFQNL SVIGFRILLK VAGFNLLMTLRLWSS
28	抗AFP158/HLA- A*02:01-abTCR- 4MD β	EVQLVQSGAEVKKPGESLTISCKASGYSPNYWITWVRQMSGGGLE WMGRIDPGDSYTTYNP SFQGHVTISIDKSTNTAYLHWNSLKASDTA MYYCARYYVSLVDIWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCGRADCGFTSVSY QQGVLSATILYEILLGKATLYAVLV SALVLMAMVKRKDF
29	抗AFP158/HLA- A*02:01-abTCR-5 δ	QSVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPK LMIYDVNNRPSEVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYT TGSRAVFGGGTKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLIS DFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSN NKYAASSYLSLTPE QWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSDHV KPKETENTKQPSKS CHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTVA VNFLLTAKLFFL
30	抗AFP158/HLA- A*02:01-abTCR-5 γ	EVQLVQSGAEVKKPGESLTISCKASGYSPNYWITWVRQMSGGGLE WMGRIDPGDSYTTYNP SFQGHVTISIDKSTNTAYLHWNSLKASDTA MYYCARYYVSLVDIWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCMDPKDNC SKDA NDTLLLQLTNTSAYMYLL LLLKSVVYFAITCCLLRRTAFCCNGEK S
31	抗AFP158/HLA- A*02:01-abTCR- 5MD δ	QSVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPK LMIYDVNNRPSEVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYT TGSRAVFGGGTKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLIS DFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSN NKYAASSYLSLTPE QWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSEVKT DSTDHVKPKETEN TKQPSK SCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTVA VNFLLTAKLFFL
32	抗AFP158/HLA- A*02:01-abTCR- 5MD γ	EVQLVQSGAEVKKPGESLTISCKASGYSPNYWITWVRQMSGGGLE WMGRIDPGDSYTTYNP SFQGHVTISIDKSTNTAYLHWNSLKASDTA MYYCARYYVSLVDIWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCPIKTDVITMDPK DNCSKDANDTLLLQLTNTSAYMYLL LLLKSVVYFAITCCLLRRTA FCCNGEKS
33	抗AFP158/HLA- A*02:01-abTCR-6 δ	EVQLVQSGAEVKKPGESLTISCKASGYSPNYWITWVRQMSGGGLE WMGRIDPGDSYTTYNP SFQGHVTISIDKSTNTAYLHWNSLKASDTA MYYCARYYVSLVDIWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDHVKPKETENT KQPSK SCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTVA VNFLLTAKLFFL
34	抗AFP158/HLA-	QSVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPK LMIYDVNNRPSEVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYT

	A*02:01-abTCR-6 γ	TGSRAVFGGGTKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGA VTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSMDPKDNC SKDANDTLL LQLTNTSAYYMYLLLLLLKSVVYFAITCCLLRRTAFCCNGEKS
35	抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-6MD δ	EVQLVQSGAEVKKPGESLTISCKASGYSPFNYWITWVRQMSGGGGLEWMGRIDPGDSYTTYNPSFQGHVTISIDKSTNTAYLHWNSLKASDTAMYYCARYYVSLVDIWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCEVKT DSTDHVKPKETENTKQPSKSKCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTAVAVNFLLTAKLFFL
36	抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-6MD γ	QSVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPK LMIYDVNNRPSEVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYT TGSRAVFGGGTKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGA VTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSPIKTDVITMDPKDNC SKDANDTLL LQLTNTSAYYMYLLLLLLKSVVYFAITCCLLRRTAFCCNGEKS
37	抗AFP158/HLA-A*02:01-scFv CAR	QSVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPK LMIYDVNNRPSEVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYT TGSRAVFGGGTKLTVLGSRRGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGESLTISCKASGYSPFNYWITWVRQMSGGGGLEWMGRIDPGDSYTTYNPSFQGHVTISIDKSTNTAYLHWNSLKASDTAMYYCARYYVSLVDIWGQGT LVTVSSAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPLPFGPSKPFVVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRL LHSYDMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVL DKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
38	抗AFP158/HLA-A*02:01抗體之IgVH域	EVQLVQSGAEVKKPGESLTISCKASGYSPFNYWITWVRQMSGGGGLEWMGRIDPGDSYTTYNPSFQGHVTISIDKSTNTAYLHWNSLKASDTAMYYCARYYVSLVDIWGQGT LVTVSS
39	IgG1 CH1域	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC
40	AFP158/HLA-A*02:01抗體之IgVL域	QSVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPK LMIYDVNNRPSEVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYT TGSRAVFGGGTKLTVL
41	IgCL域	GQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGA VTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
42	抗CD19-abTCR-6MD δ	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIPGDS DTRYSPSFQGV TISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARQVWG WQGGMYPRSNWWYNMDSWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCEVKT DSTDHVKPKETENTKQPSKSKCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTAVAVNFLLTAKLFFL
43	抗CD19-abTCR-6MD γ	LPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLV VYDDSNRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSEYVVFGGGTKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGA VTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSPIKTDVITMDPKDNC SKDANDTLL LQLTNTSAYYMYLLLLLLKSVVYFAITCCLLRRTAFCCNGE

		KS
44	抗CD19-scFv CAR	LPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLV VYDDSNRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSS SEYVVFGGGTKLTVLGSRGGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQLVQSG AEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGIIYPG DSDTRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYCARQV WGWQGGMYPRSNWWYNMDSWGQGTLLTVSSAAAEVMYPPPYL DNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKPFVVLVVVGGVLACYSLLV TVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFA AYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGR DPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKG HDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
45	抗CD19抗體之 IgVH域	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLE WMGIIYPGDS DTRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAM YYCARQVWGWQGGMYPRSNWWYNMDSWGQGTLLTVSS
46	抗CD19抗體之 IgVL域	LPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLV VYDDSNRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSS SEYVVFGGGTKLTVL
47	CD28之片段	IEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFPGPSKPFVVLVVVG GVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPY APPRDFAAYRS
48	CD3-ζ之片段	RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEM GGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGL YQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
49	信號肽	METDTLLLWVLLLWVPGSTG
50	HA標籤	YPYDVPDYA
51	3× Flag標籤	DYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDK
52	myc標籤	EQKLISEEDL
53	AFP158	FMNKFYIEI
54	抗CD19純系5 abTCR-6MD γ	LPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLV VYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSS SDYVVFGGGTKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISD FYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNKYAASSYLSLTPEQ WKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSPKTDVITMDPKDNCSD ANDTLLLQLTNTSAYMYLLLLKSVVYFAITCCLLRRTAFCCNGE KS
55	抗CD19純系5-9 abTCR-6MD δ	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLE WMGIIYPGDS DTRYSPFFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAM YYCARQVWGWQGGMYPRSNWWYNMDSWGQGTLLTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEP KSCEVKTDSTDHVKPKETENTKQPSKSKCHKPKAIVHTEKVNMSLT VLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL
56	抗CD19純系5-13 abTCR-6MD δ	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLE WMGIIYPGDS DTRYSPSFQGGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAM YYCARQVWGWQGGMYPRSNWWYNLDSWGQGTLLTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEP KSCEVKTDSTDHVKPKETENTKQPSKSKCHKPKAIVHTEKVNMSLT VLGLRMLFAKTVAVNFLLTAKLFFL
57	抗CD19抗體純系5 之IgVL域	LPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLV VYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSS SDYVVFGGGTKLTVL
58	抗CD19抗體純系5-	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLE

	9之IgVH域	WMGIYPGDS DTRYSPFFQGGVVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAM YYCARQVVGWQGGMYPRSNWWYNMDSWGQGT LVT VSS
59	抗CD19抗體純系5-13之IgVH域	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLE WMGIYPGDS DTRYSPSFQGGVVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAM YYCARQVVGWQGGMYPRSNWWYNLDSWGQGT LVT VSS
60	IgG2-0C CH1	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYS LSSV VTPSSNFGTQTYTCNV DHKPSNTKV DKTVERK
61	IgG2-1C CH1	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYS LSSV VTPSSNFGTQTYTCNV DHKPSNTKV DKTVERKC
62	IgG2-2C CH1	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYS LSSV VTPSSNFGTQTYTCNV DHKPSNTKV DKTVERKCC
63	IgG3 CH1	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYS LSSV VTPSSSLGTQTYTCNV NHKPSNTKV DKRVELKTP
64	IgG4 CH1	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYS LSSV VTPSSSLGTQTYTCNV DHKPSNTKV DKRVESKYG
65	IgA1 CH1	ASPTSPKVFPLSLCSTQPDGNVVIACL VQGFFPQEPLSVTWSESGQGV TARNFPSPQDASGDLYTSSQLTLPATQCLAGKSVTCHVKHYTNPSQ DVTVP CPVPSTPPTSPSTPPTSPS
66	IgA2 CH1	ASPTSPKVFPLSLDSTPDGNV VVACL VQGFFPQEPLSVTWSESGQN VTARNFPSPQDASGDLYTSSQLTLPATQCPDGKSVTCHVKHYTNPS QDVTVP CPVPPPP
67	IgD CH1	APTKAPDVFPIISGRHPKDN SPVVLACLITGYHPTSVTVTWYMG TQ SQPQRTFPEIQRRDSYMTSSQLSTPLQQWRQGEYKCVVQHTASKS KKEIFRWPESPKAQASSVPTAQPQAEGSLAKATTAPATTRNTGRGGE EKKKEKEKEEQEERETKTP
68	IgE CH1	ASTQSPSVFPLTRCCKNIPSNATSVTLGCLATGYFPEPVMVTWDTGS LNGTTMTLPATTLTSLGHYATISLLTVSGAWAKQMFTCRVAHTPSS TDWVDNKTF
69	IgM CH1	GSASAPTLFPLVSCENSPSDTSSVAVGCLAQDFLPDSITLSWKYKNNS DISSTRGFPSVLRGGKYAATSQVLLPSKDVMQGTDEHVVCKVQHPN GNKEKNVPLP
70	CD28共刺激片段	RSKR SRLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRS
71	4-1BB共刺激片段	KRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL
72	抗NY-ESO-1/HLA-A*02:01抗體純系35之IgVH域	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGDTFSSYSISWVRQAPGQGLE WMGRIIPILGIANYAQKYQGRVTL SADKSTSTSYMELNSLRSEDTAV YYCARDWSYSIDYWGQGT LVT VSS
73	抗NY-ESO-1/HLA-A*02:01抗體純系35之IgVL域	QSVVTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKL LIYDNNKRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDS SLSAWVFGGGTKLTVLG
74	scFv連接子	SRGGGGSGGGGSGGGGSLEMA
75	抗CD19-cTCR δ	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLE WMGIYPGDS DTRYSPSFQGGVVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAM YYCARQVVGWQGGMYPRSNWWYNLDSWGQGT LVT VSSRSQPHT KPSVFVMKNGTNVACL VKEFY PKDIRINLVSSKKITEFDPAIVISPSG KYN AVKL GK YEDSN SVTCSVQH DNKT VHSTDFEVKTDSTDHVKPK ETENTKQPSKSKHKPAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTAVAVNF LLTAKLFFL
76	抗CD19-cTCR γ	LPVLTQPPSVSVAPGKTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPV L V

		VYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSS SDYVVFGGGKLTVLGDKQLDADVSPKPTIFLPSIAETKLQKAGTYL CLLEKFFPDVIKIHWQEKKSENTILGSQEGNTMKTNDTYMKFSWLT PEKSLDKEHRCIVRHENNKNGVDQEIIFFPIKTDVITMDPKDNCSKDA NDTLLLQLTNTSAYMYLLLLLKS SVVYFAITCCLLRRTAFCCNGEK S
77	TCR α 恒定域	PNIQNPDP AVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYITD KTVLDMRSMDFKSNSA VAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPE SCDVKLVEKSFETDTNLFQNL SVIGFRILLK VAGFNLLMTLRLWS S
78	TCR β 恒定域	EDLNKVFPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFFPDHVELSWWV NGKEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRV SATFWQNPRNH FRCQVQFYGLSENDEWTQDRAKPV TQIVSAEAWGRADCGFTSVSY QQGVLSATILYEILLGKATLYAVLV SALVLMAMVKKRDF
79	TCR δ 恒定域	SQPHTKPSVFVMKNGTNVACL VKEFY PKDIRINLVSSKKITEFDPAIV ISPSGKYNAVKLGKYEDSNSVTCSVQHDNKT VHSTDFEVKTDSTDH VKPKETENTKQPSKSCHKPKAIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKT AVNFLLTAKLFFL
80	TCR γ 恒定域	DKQLDADVSPKPTIFLPSIAETKLQKAGTYLCLLEKFFPDVIKIHWQE KKSNTILGSQEGNTMKTNDTYMKFSWLTVP EKSLDKEHRCIVRHEN NKNGVDQEIIFFPIKTDVITMDPKDNCSKDANDTLLLQLTNTSAYMY YLLLLLKS SVVYFAITCCLLRRTAFCCNGEKS
81	抗AFP158/HLA-A*02:01 abTCR-7 δ	EVQLVQSGAEVKKPGESLTISCKASGYSEFPNYWITWVRQMSGGGLE WMGRIDPGDSYTTYNPSFQGHVTISIDKSTNTAYLHWNSLKASDTA MYYCARYYVSLVDIWGQGLTVTVSSRSQPHTKPSVFVMKNGTNVA CLVKEFY PKDIRINLVSSKKITEFDPAIVISPSGKYNAVKLGKYEDSNS VTCSVQHDNKT VHSTDFEVKTDSTDHV KPKETENTKQPSKSCHKPK AIVHTEKVNMMSLTVLGLRMLFAKTVA VNFLLTAKLFFL
82	抗AFP158/HLA-A*02:01 abTCR-7 γ	QSVLTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPK LMIYDVNNRPSEVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYT TGSRAVFGGGKLTVLGDKQLDADVSPKPTIFLPSIAETKLQKAGTYL CLLEKFFPDVIKIHWQEKKSENTILGSQEGNTMKTNDTYMKFSWLT PEKSLDKEHRCIVRHENNKNGVDQEIIFFPIKTDVITMDPKDNCSKDA NDTLLLQLTNTSAYMYLLLLLKS SVVYFAITCCLLRRTAFCCNGEK S

【序列表】

<110> 美商優瑞科生物技術公司(EUREKA THERAPEUTICS, INC.)

<120> 抗體/T細胞受體嵌合建構物及其用途

<140> 105134336
<141> 2016-10-24

<150> US 62/245,944
<151> 2015-10-23

<150> US 62/304,918
<151> 2016-03-07

<150> US 62/345,649
<151> 2016-06-03

<150> US 62/369,694
<151> 2016-08-01

<160> 82

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1
<211> 20
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> TCR α 跨膜域

<400> 1
Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg
1 5 10 15
Leu Trp Ser Ser
20

<210> 2
<211> 23
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> TCR β 跨膜域

<400> 2
Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala Val

15

10

5

1

Leu Val Ser Ala Leu Val Leu

20

<210> 3

<211> 20

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> TCRδ跨膜域

<400> 3

Met Leu Phe Ala Lys Thr Val Ala Val Asn Phe Leu Leu Thr Ala Lys

15105

Leu Phe Phe Leu

20

<210> 4

<211> 23

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> TCRγ跨膜域

<400> 4

Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu Leu Leu Leu Lys Ser Val Val Tyr Phe Ala

15105

Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu

20

<210> 5

<211> 30

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> TCRα連接肽

<400> 5

Glu Ser Ser Cys Asp Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp

15105

Thr Asn Leu Asn Phe Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg

202530

<210> 6

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人

<220>
<223> TCRβ連接肽

<400> 6
Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Val Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser
1 5 10 15
Ala

<210> 7
<211> 41
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> TCRδ連接肽

<400> 7
Asp His Val Lys Pro Lys Glu Thr Glu Asn Thr Lys Gln Pro Ser Lys
1 5 10 15
Ser Cys His Lys Pro Lys Ala Ile Val His Thr Glu Lys Val Asn Met
20 25 30
Met Ser Leu Thr Val Leu Gly Leu Arg
35 40

<210> 8
<211> 24
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> TCRγ連接肽

<400> 8
Met Asp Pro Lys Asp Asn Cys Ser Lys Asp Ala Asn Asp Thr Leu Leu
1 5 10 15
Leu Gln Leu Thr Asn Thr Ser Ala
20

<210> 9
<211> 40
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> TCRα連接肽MD

<400> 9
Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser Cys Asp Val
1 5 10 15
Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn Phe Gln
20 25 30

Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg
35 40

<210> 10
<211> 19
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> TCRβ连接肽MD

<400> 10
Gly Arg Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Val Ser Tyr Gln Gln Gly Val
1 5 10 15
Leu Ser Ala

<210> 11
<211> 48
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> TCRδ连接肽MD

<400> 11
Glu Val Lys Thr Asp Ser Thr Asp His Val Lys Pro Lys Glu Thr Glu
1 5 10 15
Asn Thr Lys Gln Pro Ser Lys Ser Cys His Lys Pro Lys Ala Ile Val
20 25 30
His Thr Glu Lys Val Asn Met Met Ser Leu Thr Val Leu Gly Leu Arg
35 40 45

<210> 12
<211> 32
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> TCRγ连接肽MD

<400> 12
Pro Ile Lys Thr Asp Val Ile Thr Met Asp Pro Lys Asp Asn Cys Ser
1 5 10 15
Lys Asp Ala Asn Asp Thr Leu Leu Leu Gln Leu Thr Asn Thr Ser Ala
20 25 30

<210> 13
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> TCRβ細胞内域

<400> 13
Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp Phe
1 5

<210> 14
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> TCRγ細胞内域

<400> 14
Arg Arg Thr Ala Phe Cys Cys Asn Gly Glu Lys Ser
1 5 10

<210> 15
<211> 50
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> TCRD α

<400> 15
Glu Ser Ser Cys Asp Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp
1 5 10 15
Thr Asn Leu Asn Phe Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu
20 25 30
Leu Leu Lys Val Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp
35 40 45
Ser Ser
50

<210> 16
<211> 49
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> TCRD β

<400> 16
Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Val Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser
1 5 10 15
Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala
20 25 30
Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp

Phc 35 40 45

<210> 17
<211> 60
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> TCRD α MD

<400> 17
Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser Cys Asp Val
1 5 10 15
Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn Phe Gln
20 25 30
Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly
35 40 45
Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser
50 55 60

<210> 18
<211> 51
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> TCRD β MD

<400> 18
Gly Arg Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Val Ser Tyr Gln Gln Gly Val
1 5 10 15
Leu Ser Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu
20 25 30
Tyr Ala Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys Arg
35 40 45
Lys Asp Phe
50

<210> 19
<211> 61
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> TCRD δ

<400> 19
Asp His Val Lys Pro Lys Glu Thr Glu Asn Thr Lys Gln Pro Ser Lys
1 5 10 15
Ser Cys His Lys Pro Lys Ala Ile Val His Thr Glu Lys Val Asn Met

Met Ser Leu Thr Val Leu Gly Leu Arg Met Leu Phe Ala Lys Thr Val
20 25 30
35 40 45
Ala Val Asn Phe Leu Leu Thr Ala Lys Leu Phe Phe Leu
50 55 60

<210> 20
<211> 59
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> TCRD γ

<400> 20
Met Asp Pro Lys Asp Asn Cys Ser Lys Asp Ala Asn Asp Thr Leu Leu
1 5 10 15
Leu Gln Leu Thr Asn Thr Ser Ala Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu Leu Leu
20 25 30
Leu Lys Ser Val Val Tyr Phe Ala Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu Arg
35 40 45
Arg Thr Ala Phe Cys Cys Asn Gly Glu Lys Ser
50 55

<210> 21
<211> 68
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> TCRD δ MD

<400> 21
Glu Val Lys Thr Asp Ser Thr Asp His Val Lys Pro Lys Glu Thr Glu
1 5 10 15
Asn Thr Lys Gln Pro Ser Lys Ser Cys His Lys Pro Lys Ala Ile Val
20 25 30
His Thr Glu Lys Val Asn Met Met Ser Leu Thr Val Leu Gly Leu Arg
35 40 45
Met Leu Phe Ala Lys Thr Val Ala Val Asn Phe Leu Leu Thr Ala Lys
50 55 60
Leu Phe Phe Leu
65

<210> 22
<211> 67
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> TCRD γ MD

<400> 22
Pro Ile Lys Thr Asp Val Ile Thr Met Asp Pro Lys Asp Asn Cys Ser
1 5 10 15
Lys Asp Ala Asn Asp Thr Leu Leu Leu Gln Leu Thr Asn Thr Ser Ala
20 25 30
Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu Leu Leu Lys Ser Val Val Tyr Phe Ala
35 40 45
Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu Arg Arg Thr Ala Phe Cys Cys Asn Gly
50 55 60
Glu Lys Ser
65

<210> 23
<211> 270
<212> PRT
<213> 人口序列

<220>
<223> 抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-3 α

<400> 23
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Pro Asn Tyr
20 25 30
Trp Ile Thr Trp Val Arg Gln Met Ser Gly Gly Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Asp Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Phe
50 55 60
Gln Gly His Val Thr Ile Ser Ile Asp Lys Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu His Trp Asn Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Tyr Tyr Val Ser Leu Val Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125
Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140
Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160
Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175
Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190
Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205
Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Glu Ser Ser Cys
210 215 220
Asp Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn
225 230 235 240
Phe Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val
245 250 255
Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser

260

265

270

<210> 24
<211> 265
<212> PRT
<213> 人口序列

<220>
<223> 抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-3 β

<400> 24
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
 20 25 30
Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
 35 40 45
Met Ile Tyr Asp Val Asn Asn Arg Pro Ser Glu Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80
Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Thr Gly
 85 90 95
Ser Arg Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln
100 105 110
Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu
115 120 125
Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr
130 135 140
Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys
145 150 155 160
Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
165 170 175
Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
180 185 190
Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
195 200 205
Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Val
210 215 220
Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu
225 230 235 240
Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu
245 250 255
Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp Phe
260 265

<210> 25
<211> 266
<212> PRT
<213> 人口序列

<220>
<223> 抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-4 α

<400> 25
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
20 25 30
Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45
Met Ile Tyr Asp Val Asn Asn Arg Pro Ser Glu Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80
Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Thr Gly
85 90 95
Ser Arg Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln
100 105 110
Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu
115 120 125
Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr
130 135 140
Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys
145 150 155 160
Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
165 170 175
Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
180 185 190
Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
195 200 205
Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser Glu Ser Ser Cys Asp Val Lys Leu
210 215 220
Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn Phe Gln Asn Leu
225 230 235 240
Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly Phe Asn
245 250 255
Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser
260 265

<210> 26
<211> 269
<212> PRT
<213> 入口序列

<220>
<223> 抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-4 β

<400> 26
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Pro Asn Tyr
20 25 30
Trp Ile Thr Trp Val Arg Gln Met Ser Gly Gly Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Asp Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Phe
50 55 60

Gln Gly His Val Thr Ile Ser Ile Asp Lys Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu His Trp Asn Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Tyr Tyr Val Ser Leu Val Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125
Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140
Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160
Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175
Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190
Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205
Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Ala Asp Cys Gly
210 215 220
Phe Thr Ser Val Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser Ala Thr Ile Leu
225 230 235 240
Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala Val Leu Val Ser
245 250 255
Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp Phe
260 265

<210> 27
<211> 276
<212> PRT
<213> 人口序列

<220>
<223> 抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-4MD α

<400> 27
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
20 25 30
Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45
Met Ile Tyr Asp Val Asn Asn Arg Pro Ser Glu Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80
Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Thr Gly
85 90 95
Ser Arg Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln
100 105 110
Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu
115 120 125
Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr
130 135 140

Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys
145 150 155 160
Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
165 170 175
Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
180 185 190
Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
195 200 205
Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro
210 215 220
Ser Pro Glu Ser Ser Cys Asp Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu
225 230 235 240
Thr Asp Thr Asn Leu Asn Phe Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg
245 250 255
Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg
260 265 270
Leu Trp Ser Ser
275

<210> 28
<211> 271
<212> PRT
<213> 人H序列

<220>
<223> 抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-4MD β

<400> 28
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Pro Asn Tyr
20 25 30
Trp Ile Thr Trp Val Arg Gln Met Ser Gly Gly Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Asp Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Phe
50 55 60
Gln Gly His Val Thr Ile Ser Ile Asp Lys Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu His Trp Asn Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Tyr Tyr Val Ser Leu Val Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125
Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140
Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160
Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175
Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190
Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Gly Arg Ala Asp
210 215 220
Cys Gly Phe Thr Ser Val Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser Ala Thr
225 230 235 240
Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala Val Leu
245 250 255
Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp Phe
260 265 270

<210> 29
<211> 277
<212> PRT
<213> 人口序列

<220>
<223> 抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-5 δ

<400> 29
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
20 25 30
Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45
Met Ile Tyr Asp Val Asn Asn Arg Pro Ser Glu Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80
Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Thr Gly
85 90 95
Ser Arg Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln
100 105 110
Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu
115 120 125
Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr
130 135 140
Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys
145 150 155 160
Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
165 170 175
Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
180 185 190
Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
195 200 205
Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser Asp His Val Lys Pro Lys Glu Thr
210 215 220
Glu Asn Thr Lys Gln Pro Ser Lys Ser Cys His Lys Pro Lys Ala Ile
225 230 235 240
Val His Thr Glu Lys Val Asn Met Met Ser Leu Thr Val Leu Gly Leu
245 250 255
Arg Met Leu Phe Ala Lys Thr Val Ala Val Asn Phe Leu Leu Thr Ala
260 265 270
Lys Leu Phe Phe Leu
275

<210> 30
 <211> 279
 <212> PRT
 <213> 入口序列

<220>
 <223> 抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-5 γ

<400> 30
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
 1 5 10 15
 Ser Leu Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Pro Asn Tyr
 20 25 30
 Trp Ile Thr Trp Val Arg Gln Met Ser Gly Gly Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Arg Ile Asp Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Phe
 50 55 60
 Gln Gly His Val Thr Ile Ser Ile Asp Lys Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu His Trp Asn Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Tyr Tyr Val Ser Leu Val Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
 115 120 125
 Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
 130 135 140
 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
 145 150 155 160
 Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
 165 170 175
 Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
 180 185 190
 Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
 195 200 205
 Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Met Asp Pro Lys
 210 215 220
 Asp Asn Cys Ser Lys Asp Ala Asn Asp Thr Leu Leu Leu Gln Leu Thr
 225 230 235 240
 Asn Thr Ser Ala Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu Leu Leu Lys Ser Val
 245 250 255
 Val Tyr Phe Ala Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu Arg Arg Thr Ala Phe
 260 265 270
 Cys Cys Asn Gly Glu Lys Ser
 275

<210> 31
 <211> 284
 <212> PRT
 <213> 入口序列

<220>

<223> 抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-5MD δ

<400> 31

Gln	Ser	Val	Leu	Thr	Gln	Pro	Ala	Ser	Val	Ser	Gly	Ser	Pro	Gly	Gln
1				5					10					15	
Ser	Ile	Thr	Ile	Ser	Cys	Thr	Gly	Thr	Ser	Ser	Asp	Val	Gly	Gly	Tyr
			20					25					30		
Asn	Tyr	Val	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	His	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu
		35				40						45			
Met	Ile	Tyr	Asp	Val	Asn	Asn	Arg	Pro	Ser	Glu	Val	Ser	Asn	Arg	Phe
	50				55					60					
Ser	Gly	Ser	Lys	Ser	Gly	Asn	Thr	Ala	Ser	Leu	Thr	Ile	Ser	Gly	Leu
65					70					75				80	
Gln	Ala	Glu	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Ser	Ser	Tyr	Thr	Thr	Gly
				85				90					95		
Ser	Arg	Ala	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gln
		100						105					110		
Pro	Lys	Ala	Asn	Pro	Thr	Val	Thr	Leu	Phe	Pro	Pro	Ser	Ser	Glu	Glu
	115						120					125			
Leu	Gln	Ala	Asn	Lys	Ala	Thr	Leu	Val	Cys	Leu	Ile	Ser	Asp	Phe	Tyr
	130					135					140				
Pro	Gly	Ala	Val	Thr	Val	Ala	Trp	Lys	Ala	Asp	Gly	Ser	Pro	Val	Lys
145					150					155					160
Ala	Gly	Val	Glu	Thr	Thr	Lys	Pro	Ser	Lys	Gln	Ser	Asn	Asn	Lys	Tyr
				165				170						175	
Ala	Ala	Ser	Ser	Tyr	Leu	Ser	Leu	Thr	Pro	Glu	Gln	Trp	Lys	Ser	His
			180					185					190		
Arg	Ser	Tyr	Ser	Cys	Gln	Val	Thr	His	Glu	Gly	Ser	Thr	Val	Glu	Lys
	195						200					205			
Thr	Val	Ala	Pro	Thr	Glu	Cys	Ser	Glu	Val	Lys	Thr	Asp	Ser	Thr	Asp
	210					215					220				
His	Val	Lys	Pro	Lys	Glu	Thr	Glu	Asn	Thr	Lys	Gln	Pro	Ser	Lys	Ser
225					230					235					240
Cys	His	Lys	Pro	Lys	Ala	Ile	Val	His	Thr	Glu	Lys	Val	Asn	Met	Met
				245				250						255	
Ser	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Leu	Arg	Met	Leu	Phe	Ala	Lys	Thr	Val	Ala
			260					265					270		
Val	Asn	Phe	Leu	Leu	Thr	Ala	Lys	Leu	Phe	Phe	Leu				
		275					280								

<210> 32

<211> 287

<212> PRT

<213> 人口序列

<220>

<223> 抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-5MD γ

<400> 32

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Glu
1				5					10					15	
Ser	Leu	Thr	Ile	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Ser	Phe	Pro	Asn	Tyr
			20					25					30		
Trp	Ile	Thr	Trp	Val	Arg	Gln	Met	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Glu	Trp	Met

		35					40					45				
Gly	Arg	Ile	Asp	Pro	Gly	Asp	Ser	Tyr	Thr	Thr	Tyr	Asn	Pro	Ser	Phe	
	50					55					60					
Gln	Gly	His	Val	Thr	Ile	Ser	Ile	Asp	Lys	Ser	Thr	Asn	Thr	Ala	Tyr	
65					70					75					80	
Leu	His	Trp	Asn	Ser	Leu	Lys	Ala	Ser	Asp	Thr	Ala	Met	Tyr	Tyr	Cys	
			85					90					95			
Ala	Arg	Tyr	Tyr	Val	Ser	Leu	Val	Asp	Ile	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	
		100						105				110				
Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	
	115						120					125				
Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	
130					135					140						
Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	
145					150					155					160	
Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	
			165					170						175		
Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	
	180							185				190				
Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	
	195					200						205				
Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Pro	Ile	Lys	Thr	
	210					215					220					
Asp	Val	Ile	Thr	Met	Asp	Pro	Lys	Asp	Asn	Cys	Ser	Lys	Asp	Ala	Asn	
225					230					235					240	
Asp	Thr	Leu	Leu	Leu	Gln	Leu	Thr	Asn	Thr	Ser	Ala	Tyr	Tyr	Met	Tyr	
			245					250						255		
Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Lys	Ser	Val	Val	Tyr	Phe	Ala	Ile	Ile	Thr	Cys	
		260						265					270			
Cys	Leu	Leu	Arg	Arg	Thr	Ala	Phe	Cys	Cys	Asn	Gly	Glu	Lys	Ser		
	275						280					285				

- <210> 33
- <211> 281
- <212> PRT
- <213> 人口序列

- <220>
- <223> 抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-6 δ

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Glu	
1				5				10					15			
Ser	Leu	Thr	Ile	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Ser	Phe	Pro	Asn	Tyr	
		20					25					30				
Trp	Ile	Thr	Trp	Val	Arg	Gln	Met	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Glu	Trp	Met	
	35					40					45					
Gly	Arg	Ile	Asp	Pro	Gly	Asp	Ser	Tyr	Thr	Thr	Tyr	Asn	Pro	Ser	Phe	
50					55					60						
Gln	Gly	His	Val	Thr	Ile	Ser	Ile	Asp	Lys	Ser	Thr	Asn	Thr	Ala	Tyr	
65					70					75					80	
Leu	His	Trp	Asn	Ser	Leu	Lys	Ala	Ser	Asp	Thr	Ala	Met	Tyr	Tyr	Cys	
			85					90					95			
Ala	Arg	Tyr	Tyr	Val	Ser	Leu	Val	Asp	Ile	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	

Val	Thr	Val	100	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	105	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	110	Phe	Pro	Leu
Ala	Pro	Ser	115	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	120	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	125	Leu	Gly	Cys
Leu	Val	Lys	130	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	135	Pro	Val	Thr	Val	Ser	140	Trp	Asn	Ser
Gly	Ala	Leu	145	Thr	Ser	Gly	Val	His	150	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	155	Leu	Gln	Ser
Ser	Gly	Leu	165	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	170	Val	Val	Thr	Val	Pro	175	Ser	Ser	Ser
Leu	Gly	Thr	180	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	185	Asn	Val	Asn	His	Lys	190	Pro	Ser	Asn
Thr	Lys	Val	195	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	200	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	205	His	Val	Lys
Pro	Lys	Glu	210	Thr	Glu	Asn	Thr	Lys	215	Gln	Pro	Ser	Lys	Ser	220	Cys	His	Lys
Pro	Lys	Ala	225	Ile	Val	His	Thr	Glu	230	Lys	Val	Asn	Met	Met	235	Ser	Leu	Thr
Val	Leu	Gly	245	Leu	Arg	Met	Leu	Phe	250	Ala	Lys	Thr	Val	Ala	255	Val	Asn	Phe
Leu	Leu	Thr	260	Ala	Lys	Leu	Phe	Phe	265	Leu					270			
			275						280									

<210> 34
<211> 275
<212> PRT
<213> 氨基酸序列

<220>
<223> 抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-6 γ

<400> 34

Gln	Ser	Val	Leu	Thr	Gln	Pro	Ala	Ser	Val	Ser	Gly	Ser	Pro	Gly	Gln
1				5					10					15	
Ser	Ile	Thr	Ile	Ser	Cys	Thr	Gly	Thr	Ser	Ser	Asp	Val	Gly	Gly	Tyr
			20					25					30		
Asn	Tyr	Val	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	His	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu
			35				40					45			
Met	Ile	Tyr	Asp	Val	Asn	Asn	Arg	Pro	Ser	Glu	Val	Ser	Asn	Arg	Phe
			50			55				60					
Ser	Gly	Ser	Lys	Ser	Gly	Asn	Thr	Ala	Ser	Leu	Thr	Ile	Ser	Gly	Leu
65					70				75					80	
Gln	Ala	Glu	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Ser	Ser	Tyr	Thr	Thr	Gly
			85					90					95		
Ser	Arg	Ala	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gln
			100					105					110		
Pro	Lys	Ala	Asn	Pro	Thr	Val	Thr	Leu	Phe	Pro	Pro	Ser	Ser	Glu	Glu
			115				120					125			
Leu	Gln	Ala	Asn	Lys	Ala	Thr	Leu	Val	Cys	Leu	Ile	Ser	Asp	Phe	Tyr
			130			135					140				
Pro	Gly	Ala	Val	Thr	Val	Ala	Trp	Lys	Ala	Asp	Gly	Ser	Pro	Val	Lys
145					150				155					160	
Ala	Gly	Val	Glu	Thr	Thr	Lys	Pro	Ser	Lys	Gln	Ser	Asn	Asn	Lys	Tyr

				165					170					175		
Ala	Ala	Ser	Ser	Tyr	Leu	Ser	Leu	Thr	Pro	Glu	Gln	Trp	Lys	Ser	His	
				180					185				190			
Arg	Ser	Tyr	Ser	Cys	Gln	Val	Thr	His	Glu	Gly	Ser	Thr	Val	Glu	Lys	
				195				200					205			
Thr	Val	Ala	Pro	Thr	Glu	Cys	Ser	Met	Asp	Pro	Lys	Asp	Asn	Cys	Ser	
				210			215					220				
Lys	Asp	Ala	Asn	Asp	Thr	Leu	Leu	Leu	Gln	Leu	Thr	Asn	Thr	Ser	Ala	
225					230					235					240	
Tyr	Tyr	Met	Tyr	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Lys	Ser	Val	Val	Tyr	Phe	Ala	
				245					250						255	
Ile	Ile	Thr	Cys	Cys	Leu	Leu	Arg	Arg	Thr	Ala	Phe	Cys	Cys	Asn	Gly	
			260					265					270			
Glu	Lys	Ser														
			275													

<210> 35
<211> 288
<212> PRT
<213> 人口序列

<220>
<223> 抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-6MD δ

<400> 35
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Pro Asn Tyr
20 25 30
Trp Ile Thr Trp Val Arg Gln Met Ser Gly Gly Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Asp Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Phe
50 55 60
Gln Gly His Val Thr Ile Ser Ile Asp Lys Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu His Trp Asn Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Tyr Tyr Val Ser Leu Val Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125
Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140
Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160
Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175
Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190
Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205
Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Glu Val Lys Thr
210 215 220
Asp Ser Thr Asp His Val Lys Pro Lys Glu Thr Glu Asn Thr Lys Gln

225					230					235				240	
Pro	Ser	Lys	Ser	Cys	His	Lys	Pro	Lys	Ala	Ile	Val	His	Thr	Glu	Lys
				245					250					255	
Val	Asn	Met	Met	Ser	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Leu	Arg	Met	Leu	Phe	Ala
			260					265					270		
Lys	Thr	Val	Ala	Val	Asn	Phe	Leu	Leu	Thr	Ala	Lys	Leu	Phe	Phe	Leu
		275					280					285			

<210> 36
<211> 283
<212> PRT
<213> 入口序列

<220>
<223> 抗AFP158/HLA-A*02:01-abTCR-6MD γ

<400> 36

Gln	Ser	Val	Leu	Thr	Gln	Pro	Ala	Ser	Val	Ser	Gly	Ser	Pro	Gly	Gln
1				5					10					15	
Ser	Ile	Thr	Ile	Ser	Cys	Thr	Gly	Thr	Ser	Ser	Asp	Val	Gly	Gly	Tyr
			20					25					30		
Asn	Tyr	Val	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	His	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu
		35					40					45			
Met	Ile	Tyr	Asp	Val	Asn	Asn	Arg	Pro	Ser	Glu	Val	Ser	Asn	Arg	Phe
	50					55				60					
Ser	Gly	Ser	Lys	Ser	Gly	Asn	Thr	Ala	Ser	Leu	Thr	Ile	Ser	Gly	Leu
65					70					75				80	
Gln	Ala	Glu	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Ser	Ser	Tyr	Thr	Thr	Gly
			85						90					95	
Ser	Arg	Ala	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Gln
			100					105					110		
Pro	Lys	Ala	Asn	Pro	Thr	Val	Thr	Leu	Phe	Pro	Pro	Ser	Ser	Glu	Glu
		115					120					125			
Leu	Gln	Ala	Asn	Lys	Ala	Thr	Leu	Val	Cys	Leu	Ile	Ser	Asp	Phe	Tyr
	130					135					140				
Pro	Gly	Ala	Val	Thr	Val	Ala	Trp	Lys	Ala	Asp	Gly	Ser	Pro	Val	Lys
145					150					155				160	
Ala	Gly	Val	Glu	Thr	Thr	Lys	Pro	Ser	Lys	Gln	Ser	Asn	Asn	Lys	Tyr
			165						170					175	
Ala	Ala	Ser	Ser	Tyr	Leu	Ser	Leu	Thr	Pro	Glu	Gln	Trp	Lys	Ser	His
		180						185					190		
Arg	Ser	Tyr	Ser	Cys	Gln	Val	Thr	His	Glu	Gly	Ser	Thr	Val	Glu	Lys
		195					200					205			
Thr	Val	Ala	Pro	Thr	Glu	Cys	Ser	Pro	Ile	Lys	Thr	Asp	Val	Ile	Thr
	210					215					220				
Met	Asp	Pro	Lys	Asp	Asn	Cys	Ser	Lys	Asp	Ala	Asn	Asp	Thr	Leu	Leu
225					230					235				240	
Leu	Gln	Leu	Thr	Asn	Thr	Ser	Ala	Tyr	Tyr	Met	Tyr	Leu	Leu	Leu	Leu
			245						250					255	
Leu	Lys	Ser	Val	Val	Tyr	Phe	Ala	Ile	Ile	Thr	Cys	Cys	Leu	Leu	Arg
		260					265						270		
Arg	Thr	Ala	Phe	Cys	Cys	Asn	Gly	Glu	Lys	Ser					
		275					280								

<210> 37
<211> 471
<212> PRT
<213> 人口序列

<220>
<223> 抗AFP158/HLA-A*02:01-scFv CAR

<400> 37
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
20 25 30
Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45
Met Ile Tyr Asp Val Asn Asn Arg Pro Ser Glu Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80
Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Thr Gly
85 90 95
Ser Arg Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
100 105 110
Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125
Leu Glu Met Ala Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
130 135 140
Lys Pro Gly Glu Ser Leu Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser
145 150 155 160
Phe Pro Asn Tyr Trp Ile Thr Trp Val Arg Gln Met Ser Gly Gly Gly
165 170 175
Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Thr Tyr
180 185 190
Asn Pro Ser Phe Gln Gly His Val Thr Ile Ser Ile Asp Lys Ser Thr
195 200 205
Asn Thr Ala Tyr Leu His Trp Asn Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala
210 215 220
Met Tyr Tyr Cys Ala Arg Tyr Tyr Val Ser Leu Val Asp Ile Trp Gly
225 230 235 240
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ala Ala Ile Glu Val Met
245 250 255
Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly Thr Ile Ile
260 265 270
His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro
275 280 285
Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys
290 295 300
Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser
305 310 315 320
Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg
325 330 335
Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg
340 345 350
Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp

355 360 365
Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn
370 375 380
Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg
385 390 395 400
Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly
405 410 415
Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu
420 425 430
Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu
435 440 445
Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His
450 455 460
Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
465 470

<210> 38
<211> 117
<212> PRT
<213> 人口序列

<220>
<223> 抗AFP158/HLA-A*02:01抗體之IgVH域

<400> 38
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Pro Asn Tyr
20 25 30
Trp Ile Thr Trp Val Arg Gln Met Ser Gly Gly Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Asp Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Phe
50 55 60
Gln Gly His Val Thr Ile Ser Ile Asp Lys Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu His Trp Asn Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Tyr Tyr Val Ser Leu Val Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 39
<211> 103
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> IgG1 CH1域

<400> 39
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
Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
100

<210> 40
<211> 110
<212> PRT
<213> 人口序列

<220>
<223> AFP158/HLA-A*02:01抗體之IgVL域

<400> 40
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
20 25 30
Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45
Met Ile Tyr Asp Val Asn Asn Arg Pro Ser Glu Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80
Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Thr Gly
85 90 95
Ser Arg Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 41
<211> 106
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> IgCL域

<400> 41
Gly Gln Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15
Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30
Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro
35 40 45
Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn

50

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys

65

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val

85

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser

100

55

70

90

105

60

75

95

<210> 42
<211> 301
<212> PRT
<213> 人口序列

<220>
<223> 抗CD19-abTCR-6MD δ

<400> 42

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu

1

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr

20

Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met

35

Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe

50

Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85

Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg Ser Asn

100

Trp Trp Tyr Asn Met Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val

115

Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser

130

Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys

145

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu

165

Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu

180

Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr

195

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val

210

Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Glu Val Lys Thr Asp Ser Thr

225

Asp His Val Lys Pro Lys Glu Thr Glu Asn Thr Lys Gln Pro Ser Lys

245

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

260

Met Ser Leu Thr Val Leu Gly Leu Arg Met Leu Phe Ala Lys Thr Val

275

Ala Val Asn Phe Leu Leu Thr Ala Lys Leu Phe Phe Leu

280

285

290

295

300

<210> 43
<211> 281
<212> PRT
<213> 人口序列

<220>
<223> 抗CD19-abTCR-6MD γ

<400> 43
Leu Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys
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 Asn 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 Glu Tyr
85 90 95
Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys
100 105 110
Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser 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 Gly Ser Pro Val Lys Ala Gly
145 150 155 160
Val Glu Thr Thr Lys 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 Pro Ile Lys Thr Asp Val Ile Thr Met Asp
210 215 220
Pro Lys Asp Asn Cys Ser Lys Asp Ala Asn Asp Thr Leu Leu Leu Gln
225 230 235 240
Leu Thr Asn Thr Ser Ala Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu Leu Leu Lys
245 250 255
Ser Val Val Tyr Phe Ala Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu Arg Arg Thr
260 265 270
Ala Phe Cys Cys Asn Gly Glu Lys Ser
275 280

<210> 44
<211> 482
<212> PRT
<213> 人口序列

<220>
<223> 抗CD19-scFv CAR

<400> 44
Leu Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys
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 Asn 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 Glu Tyr
85 90 95
Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser Arg Gly
100 105 110
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu
115 120 125
Met Ala Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro
130 135 140
Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr
145 150 155 160
Ser Tyr Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu
165 170 175
Trp Met Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro
180 185 190
Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr
195 200 205
Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr
210 215 220
Tyr Cys Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg
225 230 235 240
Ser Asn Trp Trp Tyr Asn Met Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
245 250 255
Thr Val Ser Ser Ala Ala Ala Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr
260 265 270
Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys
275 280 285
His Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp
290 295 300
Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val
305 310 315 320
Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu
325 330 335
Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr
340 345 350
Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr
355 360 365
Arg Ser Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln
370 375 380
Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu
385 390 395 400
Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly

405 410 415
Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu
420 425 430
Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly
435 440 445
Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser
450 455 460
Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro
465 470 475 480
Pro Arg

<210> 45
<211> 130
<212> PRT
<213> 人口序列

<220>
<223> 抗CD19抗體之IgVH域

<400> 45
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
50 55 60
Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg Ser Asn
100 105 110
Trp Trp Tyr Asn Met Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
115 120 125
Ser Ser
130

<210> 46
<211> 108
<212> PRT
<213> 人口序列

<220>
<223> 抗CD19抗體之IgVL域

<400> 46
Leu Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys
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 Asn 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 Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Glu Tyr
85 90 95
Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 47
<211> 107
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> CD28之片段

<400> 47
Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn
1 5 10 15
Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu
20 25 30
Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Gly Gly
35 40 45
Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe
50 55 60
Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn
65 70 75 80
Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr
85 90 95
Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser
100 105

<210> 48
<211> 112
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> CD3-ε之片段

<400> 48
Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly
1 5 10 15
Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
20 25 30
Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
35 40 45
Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys
50 55 60
Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg

65 70 75 80
Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala
85 90 95
Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
100 105 110

<210> 49
<211> 20
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> 信號肽

<400> 49
Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1 5 10 15
Gly Ser Thr Gly
20

<210> 50
<211> 9
<212> PRT
<213> 人口序列

<220>
<223> HA標籤

<400> 50
Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala
1 5

<210> 51
<211> 22
<212> PRT
<213> 人口序列

<220>
<223> 3× Flag標籤

<400> 51
Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp Ile Asp Tyr
1 5 10 15
Lys Asp Asp Asp Asp Lys
20

<210> 52
<211> 10
<212> PRT
<213> 人口序列

<220>

<223> myc標籤

<400> 52

Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu
1 5 10

<210> 53

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> AFP158

<400> 53

Phe Met Asn Lys Phe Ile Tyr Glu Ile
1 5

<210> 54

<211> 281

<212> PRT

<213> 人口序列

<220>

<223> 抗CD19純系5 abTCR-6MD γ

<400> 54

Leu Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys
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 Tyr
85 90 95
Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys
100 105 110
Ala Asn Pro Thr 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 Gly Ser Pro Val Lys Ala Gly
145 150 155 160
Val Glu Thr Thr Lys 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 Pro Ile Lys Thr Asp Val Ile Thr Met Asp
210 215 220
Pro Lys Asp Asn Cys Ser Lys Asp Ala Asn Asp Thr Leu Leu Leu Gln
225 230 235 240
Leu Thr Asn Thr Ser Ala Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu Leu Leu Lys
245 250 255
Ser Val Val Tyr Phe Ala Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu Arg Arg Thr
260 265 270
Ala Phe Cys Cys Asn Gly Glu Lys Ser
275 280

<210> 55
<211> 301
<212> PRT
<213> 入口序列

<220>
<223> 抗CD19純系5-9 abTCR-6MD δ

<400> 55
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Phe Phe
50 55 60
Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg Ser Asn
100 105 110
Trp Trp Tyr Asn Met Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
115 120 125
Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser
130 135 140
Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys
145 150 155 160
Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
165 170 175
Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu
180 185 190
Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
195 200 205
Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val
210 215 220
Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Glu Val Lys Thr Asp Ser Thr
225 230 235 240
Asp His Val Lys Pro Lys Glu Thr Glu Asn Thr Lys Gln Pro Ser Lys
245 250 255
Ser Cys His Lys Pro Lys Ala Ile Val His Thr Glu Lys Val Asn Met

Met	Ser	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Leu	Arg	Met	Leu	Phe	Ala	Lys	Thr	Val
		260					265					270			
Ala	Val	Asn	Phe	Leu	Leu	Thr	Ala	Lys	Leu	Phe	Phe	Leu			
		275					280					285			
		290					295					300			

<210> 56
<211> 301
<212> PRT
<213> 人口序列

<220>
<223> 抗CD19純系5-13 abTCR-6MD δ

<400> 56

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Glu
1				5					10					15	
Ser	Leu	Lys	Ile	Ser	Cys	Lys	Gly	Ser	Gly	Tyr	Ser	Phe	Thr	Ser	Tyr
			20					25					30		
Trp	Ile	Gly	Trp	Val	Arg	Gln	Met	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
		35					40					45			
Gly	Ile	Ile	Tyr	Pro	Gly	Asp	Ser	Asp	Thr	Arg	Tyr	Ser	Pro	Ser	Phe
	50					55					60				
Gln	Gly	Gln	Val	Thr	Ile	Ser	Ala	Asp	Lys	Ser	Ile	Ser	Thr	Ala	Tyr
65					70				75						80
Leu	Gln	Trp	Ser	Ser	Leu	Lys	Ala	Ser	Asp	Thr	Ala	Met	Tyr	Tyr	Cys
			85						90				95		
Ala	Arg	Gln	Val	Trp	Gly	Trp	Gln	Gly	Gly	Met	Tyr	Pro	Arg	Ser	Asn
			100					105					110		
Trp	Trp	Tyr	Asn	Leu	Asp	Ser	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val
		115					120					125			
Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser
	130					135					140				
Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys
145					150					155					160
Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu
			165						170					175	
Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu
		180						185						190	
Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr
	195						200						205		
Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val
	210					215						220			
Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Glu	Val	Lys	Thr	Asp	Ser	Thr
225					230				235						240
Asp	His	Val	Lys	Pro	Lys	Glu	Thr	Glu	Asn	Thr	Lys	Gln	Pro	Ser	Lys
			245						250					255	
Ser	Cys	His	Lys	Pro	Lys	Ala	Ile	Val	His	Thr	Glu	Lys	Val	Asn	Met
			260					265					270		
Met	Ser	Leu	Thr	Val	Leu	Gly	Leu	Arg	Met	Leu	Phe	Ala	Lys	Thr	Val
		275					280					285			
Ala	Val	Asn	Phe	Leu	Leu	Thr	Ala	Lys	Leu	Phe	Phe	Leu			
		290					295					300			

<210> 57
<211> 108
<212> PRT
<213> 人口序列

<220>
<223> 抗CD19抗體純系5之IgVL域

<400> 57
Leu Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys
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 Tyr
85 90 95
Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 58
<211> 130
<212> PRT
<213> 人口序列

<220>
<223> 抗CD19抗體純系5-9之IgVH域

<400> 58
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Phe Phe
50 55 60
Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg Ser Asn
100 105 110
Trp Trp Tyr Asn Met Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
115 120 125
Ser Ser
130

<210> 59
<211> 130
<212> PRT
<213> 人H序列

<220>
<223> 抗CD19抗體純系5-13之IgVH域

<400> 59
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
50 55 60
Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gln Val Trp Gly Trp Gln Gly Gly Met Tyr Pro Arg Ser Asn
100 105 110
Trp Trp Tyr Asn Leu Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
115 120 125
Ser Ser
130

<210> 60
<211> 101
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> IgG2-0C CH1

<400> 60
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 Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Thr Val Glu Arg Lys
100

<210> 61

<211> 102
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> IgG2-1C CH1

<400> 61
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 Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Thr Val Glu Arg Lys Cys
100

<210> 62
<211> 103
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> IgG2-2C CH1

<400> 62
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 Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys
100

<210> 63
<211> 103
<212> PRT
<213> 智人

<220>

<223> IgG3 CH1

<400> 63
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
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 Thr Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Arg Val Glu Leu Lys Thr Pro
100

<210> 64
<211> 103
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> IgG4 CH1

<400> 64
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
100

<210> 65
<211> 121
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> IgA1 CH1

<400> 65
Ala Ser Pro Thr Ser Pro Lys Val Phe Pro Leu Ser Leu Cys Ser Thr
1 5 10 15

Gln Pro Asp Gly Asn Val Val Ile Ala Cys Leu Val Gln Gly Phe Phe
20 25 30
Pro Gln Glu Pro Leu Ser Val Thr Trp Ser Glu Ser Gly Gln Gly Val
35 40 45
Thr Ala Arg Asn Phe Pro Pro Ser Gln Asp Ala Ser Gly Asp Leu Tyr
50 55 60
Thr Thr Ser Ser Gln Leu Thr Leu Pro Ala Thr Gln Cys Leu Ala Gly
65 70 75 80
Lys Ser Val Thr Cys His Val Lys His Tyr Thr Asn Pro Ser Gln Asp
85 90 95
Val Thr Val Pro Cys Pro Val Pro Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser Pro
100 105 110
Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser Pro Ser
115 120

<210> 66
<211> 108
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> IgA2 CH1

<400> 66
Ala Ser Pro Thr Ser Pro Lys Val Phe Pro Leu Ser Leu Asp Ser Thr
1 5 10 15
Pro Gln Asp Gly Asn Val Val Val Ala Cys Leu Val Gln Gly Phe Phe
20 25 30
Pro Gln Glu Pro Leu Ser Val Thr Trp Ser Glu Ser Gly Gln Asn Val
35 40 45
Thr Ala Arg Asn Phe Pro Pro Ser Gln Asp Ala Ser Gly Asp Leu Tyr
50 55 60
Thr Thr Ser Ser Gln Leu Thr Leu Pro Ala Thr Gln Cys Pro Asp Gly
65 70 75 80
Lys Ser Val Thr Cys His Val Lys His Tyr Thr Asn Pro Ser Gln Asp
85 90 95
Val Thr Val Pro Cys Pro Val Pro Pro Pro Pro Pro
100 105

<210> 67
<211> 159
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> IgD CH1

<400> 67
Ala Pro Thr Lys Ala Pro Asp Val Phe Pro Ile Ile Ser Gly Cys Arg
1 5 10 15
His Pro Lys Asp Asn Ser Pro Val Val Leu Ala Cys Leu Ile Thr Gly
20 25 30
Tyr His Pro Thr Ser Val Thr Val Thr Trp Tyr Met Gly Thr Gln Ser

35 40 45
Gln Pro Gln Arg Thr Phe Pro Glu Ile Gln Arg Arg Asp Ser Tyr Tyr
50 55 60
Met Thr Ser Ser Gln Leu Ser Thr Pro Leu Gln Gln Trp Arg Gln Gly
65 70 75 80
Glu Tyr Lys Cys Val Val Gln His Thr Ala Ser Lys Ser Lys Lys Glu
85 90 95
Ile Phe Arg Trp Pro Glu Ser Pro Lys Ala Gln Ala Ser Ser Val Pro
100 105 110
Thr Ala Gln Pro Gln Ala Glu Gly Ser Leu Ala Lys Ala Thr Thr Ala
115 120 125
Pro Ala Thr Thr Arg Asn Thr Gly Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Lys
130 135 140
Glu Lys Glu Lys Glu Glu Gln Glu Glu Arg Glu Thr Lys Thr Pro
145 150 155

<210> 68
<211> 103
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> IgE CH1

<400> 68
Ala Ser Thr Gln Ser Pro Ser Val Phe Pro Leu Thr Arg Cys Cys Lys
1 5 10 15
Asn Ile Pro Ser Asn Ala Thr Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu Ala Thr
20 25 30
Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Met Val Thr Trp Asp Thr Gly Ser Leu
35 40 45
Asn Gly Thr Thr Met Thr Leu Pro Ala Thr Thr Leu Thr Leu Ser Gly
50 55 60
His Tyr Ala Thr Ile Ser Leu Leu Thr Val Ser Gly Ala Trp Ala Lys
65 70 75 80
Gln Met Phe Thr Cys Arg Val Ala His Thr Pro Ser Ser Thr Asp Trp
85 90 95
Val Asp Asn Lys Thr Phe Ser
100

<210> 69
<211> 104
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> IgM CH1

<400> 69
Gly Ser Ala Ser Ala Pro Thr Leu Phe Pro Leu Val Ser Cys Glu Asn
1 5 10 15
Ser Pro Ser Asp Thr Ser Ser Val Ala Val Gly Cys Leu Ala Gln Asp
20 25 30

Phe Leu Pro Asp Ser Ile Thr Leu Ser Trp Lys Tyr Lys Asn Asn Ser
35 40 45
Asp Ile Ser Ser Thr Arg Gly Phe Pro Ser Val Leu Arg Gly Gly Lys
50 55 60
Tyr Ala Ala Thr Ser Gln Val Leu Leu Pro Ser Lys Asp Val Met Gln
65 70 75 80
Gly Thr Asp Glu His Val Val Cys Lys Val Gln His Pro Asn Gly Asn
85 90 95
Lys Glu Lys Asn Val Pro Leu Pro
100

<210> 70
<211> 41
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> CD28共刺激片段

<400> 70
Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr
1 5 10 15
Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro
20 25 30
Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser
35 40

<210> 71
<211> 42
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> 4-1BB共刺激片段

<400> 71
Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met
1 5 10 15
Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe
20 25 30
Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
35 40

<210> 72
<211> 117
<212> PRT
<213> 人B序列

<220>
<223> 抗NY-ESO-1/HLA-A*02:01抗體純系35之IgVH域

<400> 72
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Asp Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ser Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Ile Pro Ile Leu Gly Ile Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Tyr
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Leu Ser Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ser Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Asn Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Trp Ser Tyr Ser Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 73
<211> 111
<212> PRT
<213> 人口序列

<220>
<223> 抗NY-ESO-1/HLA-A*02:01抗體純系35之IgVL域

<400> 73
Gln Ser Val Val Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15
Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn
20 25 30
Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln
65 70 75 80
Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu
85 90 95
Ser Ala Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 74
<211> 21
<212> PRT
<213> 人口序列

<220>
<223> scFv連接子

<400> 74
Ser Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

1

5

10

15

Ser

Leu

Glu

Met

Ala

20

<210> 75

<211> 284

<212> PRT

<213> 人口序列

<220>

<223> 抗CD19-cTCR δ

<400> 75

Glu

Val

Gln

Leu

Val

Gln

Ser

Gly

Ala

Glu

Val

Lys

Lys

Pro

Gly

Glu

1

5

10

15

Ser

Leu

Lys

Ile

Ser

Cys

Lys

Gly

Ser

Gly

Tyr

Ser

Phe

Thr

Ser

Tyr

20

25

30

Trp

Ile

Gly

Trp

Val

Arg

Gln

Met

Pro

Gly

Lys

Gly

Leu

Glu

Trp

Met

35

40

45

Gly

Ile

Ile

Tyr

Pro

Gly

Asp

Ser

Asp

Thr

Arg

Tyr

Ser

Pro

Ser

Phe

50

55

60

Gln

Gly

Gln

Val

Thr

Ile

Ser

Ala

Asp

Lys

Ser

Ile

Ser

Thr

Ala

Tyr

65

70

75

80

Leu

Gln

Trp

Ser

Ser

Leu

Lys

Ala

Ser

Asp

Thr

Ala

Met

Tyr

Tyr

Cys

85

90

95

Ala

Arg

Gln

Val

Trp

Gly

Trp

Gln

Gly

Gly

Met

Tyr

Pro

Arg

Ser

Asn

100

105

110

Trp

Trp

Tyr

Asn

Leu

Asp

Ser

Trp

Gly

Gln

Gly

Thr

Leu

Val

Thr

Val

115

120

125

Ser

Ser

Arg

Ser

Gln

Pro

His

Thr

Lys

Pro

Ser

Val

Phe

Val

Met

Lys

130

135

140

Asn

Gly

Thr

Asn

Val

Ala

Cys

Leu

Val

Lys

Glu

Phe

Tyr

Pro

Lys

Asp

145

150

155

160

Ile

Arg

Ile

Asn

Leu

Val

Ser

Ser

Lys

Lys

Ile

Thr

Glu

Phe

Asp

Pro

165

170

175

Ala

Ile

Val

Ile

Ser

Pro

Ser

Gly

Lys

Tyr

Asn

Ala

Val

Lys

Leu

Gly

180

185

190

Lys

Tyr

Glu

Asp

Ser

Asn

Ser

Val

Thr

Cys

Ser

Val

Gln

His

Asp

Asn

195

200

205

Lys

Thr

Val

His

Ser

Thr

Asp

Phe

Glu

Val

Lys

Thr

Asp

Ser

Thr

Asp

210

215

220

His

Val

Lys

Pro

Lys

Glu

Thr

Glu

Asn

Thr

Lys

Gln

Pro

Ser

Lys

Ser

225

230

235

240

Cys

His

Lys

Pro

Lys

Ala

Ile

Val

His

Thr

Glu

Lys

Val

Asn

Met

Met

245

250

255

Ser

Leu

Thr

Val

Leu

Gly

Leu

Arg

Met

Leu

Phe

Ala

Lys

Thr

Val

Ala

260

265

270

Val

Asn

Phe

Leu

Leu

Thr

Ala

Lys

Leu

Phe

Phe

Leu

275

280

<210> 76

<211> 282

<212> PRT

<213> 人H序列

<220>

<223> 抗CD19-cTCR γ

<400> 76

Leu Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys
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 Tyr
85 90 95
Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Asp Lys Gln
100 105 110
Leu Asp Ala Asp Val Ser Pro Lys Pro Thr Ile Phe Leu Pro Ser Ile
115 120 125
Ala Glu Thr Lys Leu Gln Lys Ala Gly Thr Tyr Leu Cys Leu Leu Glu
130 135 140
Lys Phe Phe Pro Asp Val Ile Lys Ile His Trp Gln Glu Lys Lys Ser
145 150 155 160
Asn Thr Ile Leu Gly Ser Gln Glu Gly Asn Thr Met Lys Thr Asn Asp
165 170 175
Thr Tyr Met Lys Phe Ser Trp Leu Thr Val Pro Glu Lys Ser Leu Asp
180 185 190
Lys Glu His Arg Cys Ile Val Arg His Glu Asn Asn Lys Asn Gly Val
195 200 205
Asp Gln Glu Ile Ile Phe Pro Pro Ile Lys Thr Asp Val Ile Thr Met
210 215 220
Asp Pro Lys Asp Asn Cys Ser Lys Asp Ala Asn Asp Thr Leu Leu Leu
225 230 235 240
Gln Leu Thr Asn Thr Ser Ala Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu Leu Leu Leu
245 250 255
Lys Ser Val Val Tyr Phe Ala Ile Ile Thr Cys Cys Leu Leu Arg Arg
260 265 270
Thr Ala Phe Cys Cys Asn Gly Glu Lys Ser
275 280

<210> 77

<211> 142

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> TCR α 恒定域

<400> 77

Pro Asn Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg Asp Ser
1 5 10 15

Lys Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln
20 25 30
Thr Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr Asp Lys
35 40 45
Thr Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys Ser Asn Ser Ala Val
50 55 60
Ala Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe Asn Asn
65 70 75 80
Ser Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser Cys
85 90 95
Asp Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn
100 105 110
Phe Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val
115 120 125
Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser
130 135 140

<210> 78
<211> 177
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> TCRβ恒定域

<400> 78
Glu Asp Leu Asn Lys Val Phe Pro Pro Glu Val Ala Val Phe Glu Pro
1 5 10 15
Ser Glu Ala Glu Ile Ser His Thr Gln Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu
20 25 30
Ala Thr Gly Phe Phe Pro Asp His Val Glu Leu Ser Trp Trp Val Asn
35 40 45
Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val Ser Thr Asp Pro Gln Pro Leu Lys
50 55 60
Glu Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser Arg Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu
65 70 75 80
Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys
85 90 95
Gln Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asn Asp Glu Trp Thr Gln Asp
100 105 110
Arg Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile Val Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg
115 120 125
Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Val Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser
130 135 140
Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala
145 150 155 160
Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp
165 170 175
Phe

<210> 79
<211> 153

<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> TCRδ固定域

<400> 79
Ser Gln Pro His Thr Lys Pro Ser Val Phe Val Met Lys Asn Gly Thr
1 5 10 15
Asn Val Ala Cys Leu Val Lys Glu Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Arg Ile
20 25 30
Asn Leu Val Ser Ser Lys Lys Ile Thr Glu Phe Asp Pro Ala Ile Val
35 40 45
Ile Ser Pro Ser Gly Lys Tyr Asn Ala Val Lys Leu Gly Lys Tyr Glu
50 55 60
Asp Ser Asn Ser Val Thr Cys Ser Val Gln His Asp Asn Lys Thr Val
65 70 75 80
His Ser Thr Asp Phe Glu Val Lys Thr Asp Ser Thr Asp His Val Lys
85 90 95
Pro Lys Glu Thr Glu Asn Thr Lys Gln Pro Ser Lys Ser Cys His Lys
100 105 110
Pro Lys Ala Ile Val His Thr Glu Lys Val Asn Met Met Ser Leu Thr
115 120 125
Val Leu Gly Leu Arg Met Leu Phe Ala Lys Thr Val Ala Val Asn Phe
130 135 140
Leu Leu Thr Ala Lys Leu Phe Phe Leu
145 150

<210> 80
<211> 173
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<223> TCRγ固定域

<400> 80
Asp Lys Gln Leu Asp Ala Asp Val Ser Pro Lys Pro Thr Ile Phe Leu
1 5 10 15
Pro Ser Ile Ala Glu Thr Lys Leu Gln Lys Ala Gly Thr Tyr Leu Cys
20 25 30
Leu Leu Glu Lys Phe Phe Pro Asp Val Ile Lys Ile His Trp Gln Glu
35 40 45
Lys Lys Ser Asn Thr Ile Leu Gly Ser Gln Glu Gly Asn Thr Met Lys
50 55 60
Thr Asn Asp Thr Tyr Met Lys Phe Ser Trp Leu Thr Val Pro Glu Lys
65 70 75 80
Ser Leu Asp Lys Glu His Arg Cys Ile Val Arg His Glu Asn Asn Lys
85 90 95
Asn Gly Val Asp Gln Glu Ile Ile Phe Pro Pro Ile Lys Thr Asp Val
100 105 110
Ile Thr Met Asp Pro Lys Asp Asn Cys Ser Lys Asp Ala Asn Asp Thr
115 120 125
Leu Leu Leu Gln Leu Thr Asn Thr Ser Ala Tyr Tyr Met Tyr Leu Leu

130 135 140
Leu Leu Leu Lys Ser Val Val Tyr Phe Ala Ile Ile Thr Cys Cys Leu
145 150 155 160
Leu Arg Arg Thr Ala Phe Cys Cys Asn Gly Glu Lys Ser
165 170

<210> 81
<211> 271
<212> PRT
<213> 氨基酸序列

<220>
<223> 抗AFP158/HLA-A*02:01 abTCR-7 δ

<400> 81
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Pro Asn Tyr
20 25 30
Trp Ile Thr Trp Val Arg Gln Met Ser Gly Gly Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Asp Pro Gly Asp Ser Tyr Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Phe
50 55 60
Gln Gly His Val Thr Ile Ser Ile Asp Lys Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu His Trp Asn Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Tyr Tyr Val Ser Leu Val Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser Arg Ser Gln Pro His Thr Lys Pro Ser Val Phe
115 120 125
Val Met Lys Asn Gly Thr Asn Val Ala Cys Leu Val Lys Glu Phe Tyr
130 135 140
Pro Lys Asp Ile Arg Ile Asn Leu Val Ser Ser Lys Lys Ile Thr Glu
145 150 155 160
Phe Asp Pro Ala Ile Val Ile Ser Pro Ser Gly Lys Tyr Asn Ala Val
165 170 175
Lys Leu Gly Lys Tyr Glu Asp Ser Asn Ser Val Thr Cys Ser Val Gln
180 185 190
His Asp Asn Lys Thr Val His Ser Thr Asp Phe Glu Val Lys Thr Asp
195 200 205
Ser Thr Asp His Val Lys Pro Lys Glu Thr Glu Asn Thr Lys Gln Pro
210 215 220
Ser Lys Ser Cys His Lys Pro Lys Ala Ile Val His Thr Glu Lys Val
225 230 235 240
Asn Met Met Ser Leu Thr Val Leu Gly Leu Arg Met Leu Phe Ala Lys
245 250 255
Thr Val Ala Val Asn Phe Leu Leu Thr Ala Lys Leu Phe Phe Leu
260 265 270

<210> 82
<211> 283
<212> PRT

<213> 人H序列

<220>

<223> 抗AFP158/HLA-A*02:01 abTCR-7γ

<400> 82

Gln	Ser	Val	Leu	Thr	Gln	Pro	Ala	Ser	Val	Ser	Gly	Ser	Pro	Gly	Gln
1				5					10					15	
Ser	Ile	Thr	Ile	Ser	Cys	Thr	Gly	Thr	Ser	Ser	Asp	Val	Gly	Gly	Tyr
			20					25					30		
Asn	Tyr	Val	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	His	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu
		35				40						45			
Met	Ile	Tyr	Asp	Val	Asn	Asn	Arg	Pro	Ser	Glu	Val	Ser	Asn	Arg	Phe
	50					55					60				
Ser	Gly	Ser	Lys	Ser	Gly	Asn	Thr	Ala	Ser	Leu	Thr	Ile	Ser	Gly	Leu
65					70					75					80
Gln	Ala	Glu	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Ser	Ser	Tyr	Thr	Thr	Gly
				85					90					95	
Ser	Arg	Ala	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Thr	Val	Leu	Asp	Lys
			100					105					110		
Gln	Leu	Asp	Ala	Asp	Val	Ser	Pro	Lys	Pro	Thr	Ile	Phe	Leu	Pro	Ser
	115						120					125			
Ile	Ala	Glu	Thr	Lys	Leu	Gln	Lys	Ala	Gly	Thr	Tyr	Leu	Cys	Leu	Leu
	130					135					140				
Glu	Lys	Phe	Phe	Pro	Asp	Val	Ile	Lys	Ile	His	Trp	Gln	Glu	Lys	Lys
145					150					155					160
Ser	Asn	Thr	Ile	Leu	Gly	Ser	Gln	Glu	Gly	Asn	Thr	Met	Lys	Thr	Asn
				165					170					175	
Asp	Thr	Tyr	Met	Lys	Phe	Ser	Trp	Leu	Thr	Val	Pro	Glu	Lys	Ser	Leu
			180					185					190		
Asp	Lys	Glu	His	Arg	Cys	Ile	Val	Arg	His	Glu	Asn	Asn	Lys	Asn	Gly
	195						200					205			
Val	Asp	Gln	Glu	Ile	Ile	Phe	Pro	Pro	Ile	Lys	Thr	Asp	Val	Ile	Thr
	210					215						220			
Met	Asp	Pro	Lys	Asp	Asn	Cys	Ser	Lys	Asp	Ala	Asn	Asp	Thr	Leu	Leu
225					230					235					240
Leu	Gln	Leu	Thr	Asn	Thr	Ser	Ala	Tyr	Tyr	Met	Tyr	Leu	Leu	Leu	Leu
				245					250					255	
Leu	Lys	Ser	Val	Val	Tyr	Phe	Ala	Ile	Ile	Thr	Cys	Cys	Leu	Leu	Arg
			260					265						270	
Arg	Thr	Ala	Phe	Cys	Cys	Asn	Gly	Glu	Lys	Ser					
		275					280								

【發明申請專利範圍】

【第1項】

一種特異性結合至靶抗原的抗體-T細胞受體(TCR)嵌合分子(abTCR)，其包含：

a) 第一多肽鏈，其自N端至C端包含：第一抗原結合域、第一肽連接子及第一T細胞受體域(TCRD)，該第一抗原結合域包含V_H抗體域，該第一TCRD包含第一TCR次單元之第一跨膜域，其中該第一多肽鏈缺少該第一TCR次單元之可變域；及

b) 第二多肽鏈，其自N端至C端包含：第二抗原結合域、第二肽連接子及第二TCRD，該第二抗原結合域包含V_L抗體域，該第二TCRD包含第二TCR次單元之第二跨膜域，其中該第二多肽鏈缺少該第二TCR次單元之可變域，

其中該第一抗原結合域之該V_H域與該第二抗原結合域之該V_L域形成特異性結合至該靶抗原之抗原結合模組，

其中該第一TCRD與該第二TCRD形成能夠募集至少一個TCR相關信號傳導模組的T細胞受體模組(TCRM)；

其中該靶抗原係包含肽及MHC蛋白之複合體，且

其中i)該第一TCR次單元為TCR γ 鏈，且該第二TCR次單元為TCR δ 鏈；

或ii)該第一TCR次單元為TCR δ 鏈，且該第二TCR次單元為TCR γ 鏈。

【第2項】

如請求項1之abTCR，其中：

該第一肽連接子及/或該第二肽連接子之長度個別地為5至50個胺基酸。

【第3項】

如請求項1之abTCR，其中該靶抗原複合體中之該肽係源自選自由WT-1、AFP、HPV16-E7、NY-ESO-1、PRAME、EBV-LMP2A、HIV-1及PSA組成之群的蛋白質。

【第4項】

如請求項1之abTCR，其中：

- (i) 該分子以約0.1 pM至約500 nM之平衡解離常數(K_d)結合至該靶抗原；及/或
- (ii) 該TCR相關信號傳導模組係選自由CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及 $\zeta\zeta$ 組成之群。

【第5項】

如請求項1之abTCR，其中：

- (1) 該第一及/或該第二肽連接子個別地包含來自免疫球蛋白或T細胞受體次單元之恆定域或其片段；及/或
- (2) 該第一及/或該第二肽連接子個別地包含CH1、CH2、CH3、CH4或CL抗體域或其片段；或
- (3) 該第一及/或該第二肽連接子個別地包含C α 、C β 、C γ 或C δ TCR域或其片段。

【第6項】

如請求項1之abTCR，其中：

- (i) 該第一TCRD進一步包含TCR次單元中在該第一跨膜域N端之第一連接肽或其片段，及/或該第二TCRD進一步包含TCR次單元中在該第二跨膜域N端之第二連接肽或其片段；

- (ii) 該第一TCRD進一步包含第一TCR細胞內域，其包含在該第一跨膜域C端之TCR細胞內序列，及/或該第二TCRD進一步包含第二TCR細胞內域，其包含在該第二跨膜域C端之TCR細胞內序列；
- (iii) 該第一多肽鏈進一步包含第一附屬細胞內域，其包含在該第一跨膜域C端之共刺激細胞內信號傳導序列，及/或該第二多肽鏈進一步包含第二附屬細胞內域，其包含在該第二跨膜域C端之共刺激細胞內信號傳導序列；及/或
- (iv) 該第一多肽鏈進一步包含在該第一抗原結合域N端之第一信號傳導肽，及/或該第二多肽鏈進一步包含在該第二抗原結合域N端之第二信號傳導肽。

【第7項】

如請求項6之abTCR，其中該第一TCRD進一步包含TCR次單元中在該第一跨膜域N端之第一連接肽或其片段，且該第二TCRD進一步包含TCR次單元中在該第二跨膜域N端之第二連接肽或其片段，且其中：

- (i) 該第一TCR次單元為TCR δ 鏈，且該第二TCR次單元為TCR γ 鏈，其中該第一連接肽包含SEQ ID NO:7之胺基酸序列，且該第二連接肽包含SEQ ID NO:8之胺基酸序列；
- (ii) 該第一TCR次單元為TCR γ 鏈，且該第二TCR次單元為TCR δ 鏈，其中該第一連接肽包含SEQ ID NO:8之胺基酸序列，且該第二連接肽包含SEQ ID NO:7之胺基酸序列；
- (iii) 該第一TCR次單元為TCR δ 鏈，且該第二TCR次單元為TCR γ 鏈，其中該第一連接肽包含SEQ ID NO:11之胺基酸序列，且該

第二連接肽包含SEQ ID NO:12之胺基酸序列；或

- (iv) 該第一TCR次單元為TCR γ 鏈，且該第二TCR次單元為TCR δ 鏈，其中該第一連接肽包含SEQ ID NO:12之胺基酸序列，且該第二連接肽包含SEQ ID NO:11之胺基酸序列。

【第8項】

如請求項5之abTCR，其中：

- (1) 該第一肽連接子包含CH1抗體域，且該第二肽連接子包含CL抗體域；及/或
- (2) 該第一肽連接子含有包含SEQ ID NO:39之胺基酸序列之CH1抗體域，且該第二肽連接子含有包含SEQ ID NO:41之胺基酸序列之CL抗體域。

【第9項】

一種核酸，其編碼如請求項1之abTCR之該第一及該第二多肽鏈。

【第10項】

一種複合體，其包含如請求項1之abTCR及至少一個選自由CD3 $\delta\epsilon$ 、CD3 $\gamma\epsilon$ 及 $\zeta\eta$ 組成之群的TCR相關信號傳導模組。

【第11項】

一種效應細胞，其呈遞如請求項1之abTCR於其表面上。

【第12項】

如請求項11之效應細胞，其中：

- (i) 該效應細胞不表現該第一TCR次單元及/或該第二TCR次單元；
或
- (ii) 效應細胞經修飾以阻斷或減少第一內源性TCR次單元及/或第二

內源性TCR次單元的表現。

【第13項】

如請求項12之效應細胞，

其中：

a) 該第一TCR次單元為TCR γ 且該第二TCR次單元為TCR δ ；或

b) 該第一TCR次單元為TCR δ 且該第二TCR次單元為TCR γ ；且

其中該效應細胞為 $\alpha\beta$ T細胞。

【第14項】

如請求項11之效應細胞，其中該效應細胞為CD3⁺細胞。

【第15項】

如請求項14之效應細胞，其中該CD3⁺細胞係選自由細胞毒性T細胞、輔助T細胞、自然殺手T細胞及抑制T細胞組成之群。

【第16項】

如請求項11之效應細胞，其中：

(i) 該效應細胞包含：

(1) a)第一載體，其包含在第一啟動子控制下編碼該abTCR之該第一多肽鏈的第一核酸序列；及b)第二載體，其包含在第二啟動子控制下編碼該abTCR之該第二多肽鏈的第二核酸序列；

(2) 載體，其包含：a)在第一啟動子控制下編碼該abTCR之該第一多肽鏈的第一核酸序列；及b)在第二啟動子控制下編碼該abTCR之該第二多肽鏈的第二核酸序列；或

(3) 載體，其包含：a)編碼該abTCR之該第一多肽鏈的第一核

酸序列及編碼該abTCR之該第二多肽鏈的第二核酸序列，
其中該第一及該第二核酸序列係在單一啟動子控制下；

及/或

- (ii) 該abTCR之該第一多肽鏈之表現與該abTCR之該第二多肽鏈之表現相差超過兩倍。

【第17項】

一種如請求項11之效應細胞之用途，其用於製備殺死患有疾病之哺乳動物中之呈遞靶抗原之靶細胞的藥劑，其中該藥劑之使用方法包含使該靶細胞與效應細胞接觸，其中該abTCR特異性結合至該靶抗原。

【第18項】

一種醫藥組合物，其包含如請求項1至8中任一項之abTCR、如請求項9之核酸或如請求項11至16中任一項之效應細胞及醫藥學上可接受之載劑。

【第19項】

一種如請求項18之醫藥組合物之用途，其用於製備治療有需要個體之靶抗原相關疾病的藥物，其中該靶抗原相關疾病為癌症或病毒感染。

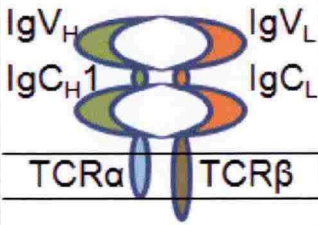
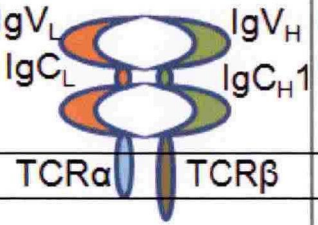
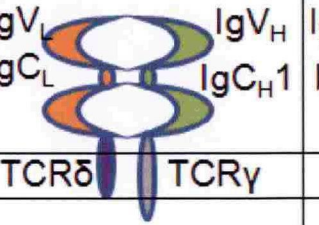
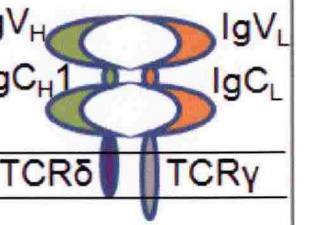
【第20項】

如請求項19之用途，其中：

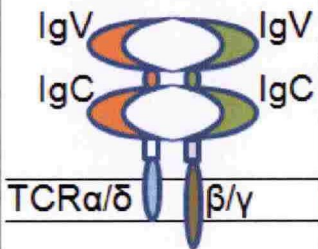
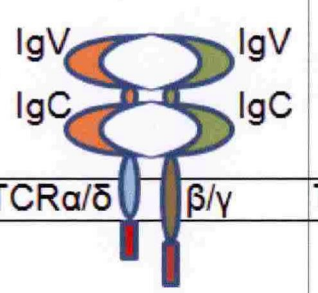
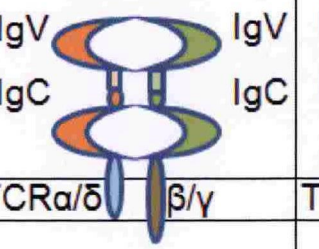
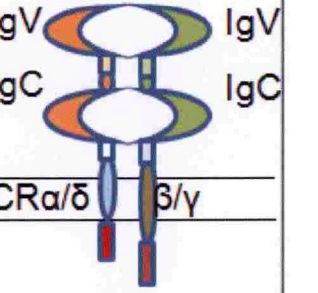
- (i) 該靶抗原相關疾病為癌症，其中該癌症係選自由以下組成之群：腎上腺皮質癌、膀胱癌、乳癌、子宮頸癌、膽管癌、結腸直腸癌、食道癌、神經膠母細胞瘤、神經膠質瘤、肝細胞癌、頭頸癌、腎癌、白血病、淋巴瘤、肺癌、黑色素瘤、間皮瘤、多發性骨髓瘤、胰臟癌、嗜鉻細胞瘤、漿細胞瘤、神經母細胞

- 瘤、卵巢癌、前列腺癌、肉瘤、胃癌、子宮癌及甲狀腺癌；或
- (ii) 該靶抗原相關疾病為病毒感染，其中該病毒感染係由選自由以下組成之群的病毒引起：巨細胞病毒(CMV)、埃-巴二氏病毒(Epstein-Barr Virus；EBV)、B型肝炎病毒(HBV)、卡波西氏肉瘤相關疱疹病毒(Kaposi's Sarcoma associated herpesvirus；KSHV)、人類乳頭狀瘤病毒(HPV)、傳染性軟疣病毒(MCV)、人類T細胞白血病毒1 (HTLV-1)、HIV (人類免疫缺乏病毒)及C型肝炎病毒(HCV)。

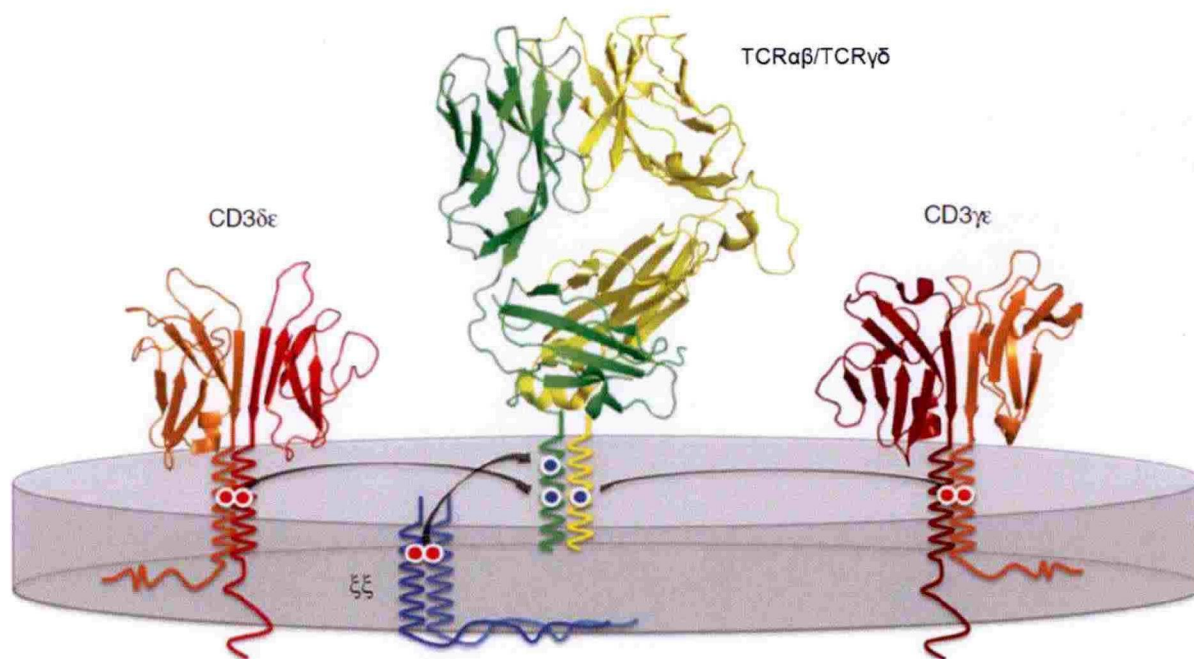
【發明圖式】

abTCR-3	abTCR-4	abTCR-5	abTCR-6
			
TCRα TCRβ	TCRα TCRβ	TCRδ TCRγ	TCRδ TCRγ

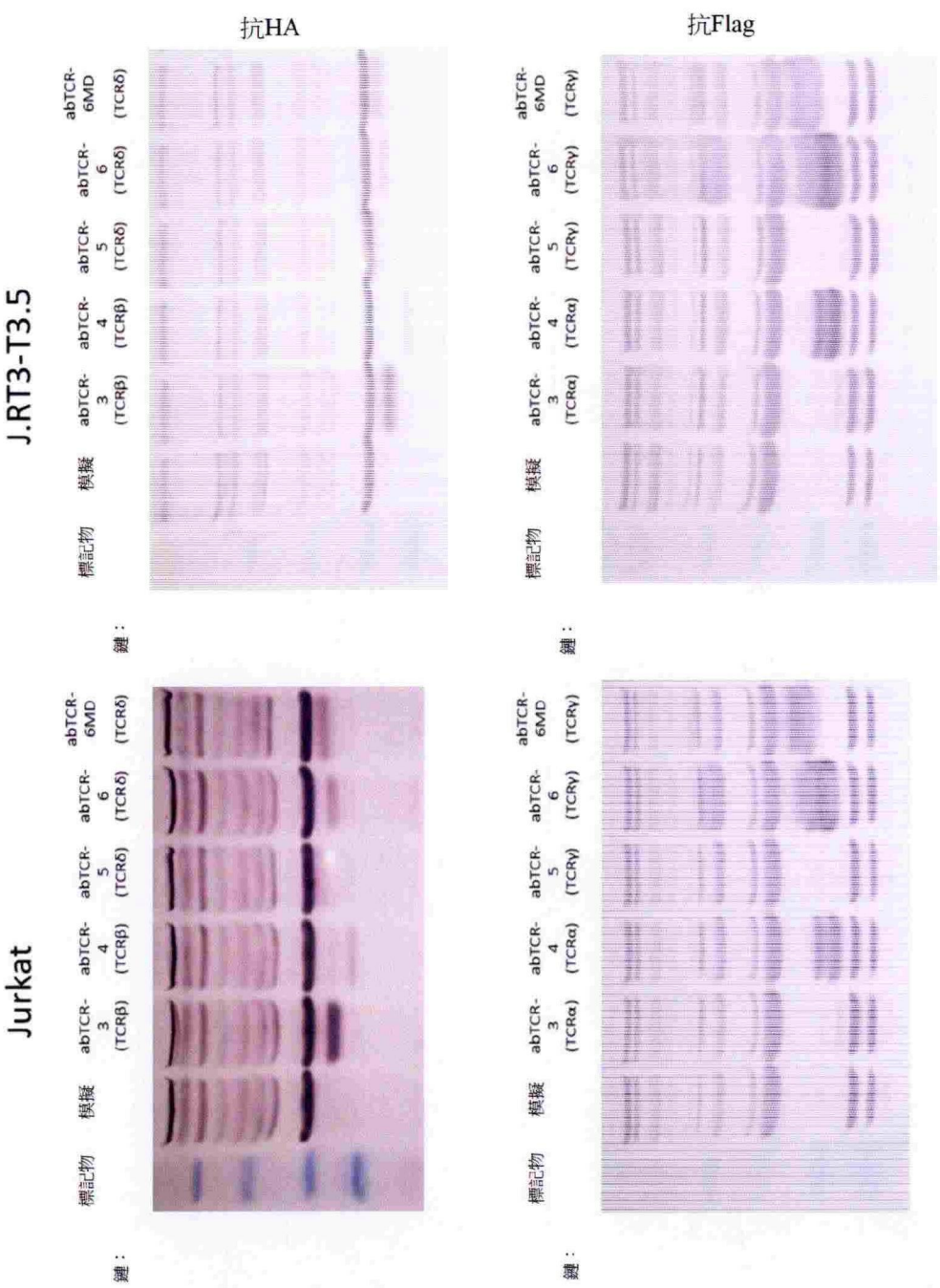
【圖1A】

用於延長TM與IgC之間的距離的額外連接子或用於縮短TM與IgC之間的距離的缺失	額外細胞內效應域	連接子修飾，或用於延長Ig域之間的距離的額外殘基	變體之任意組合或置換
			
TCRα/δ β/γ	TCRα/δ β/γ	TCRα/δ β/γ	TCRα/δ β/γ

【圖1B】

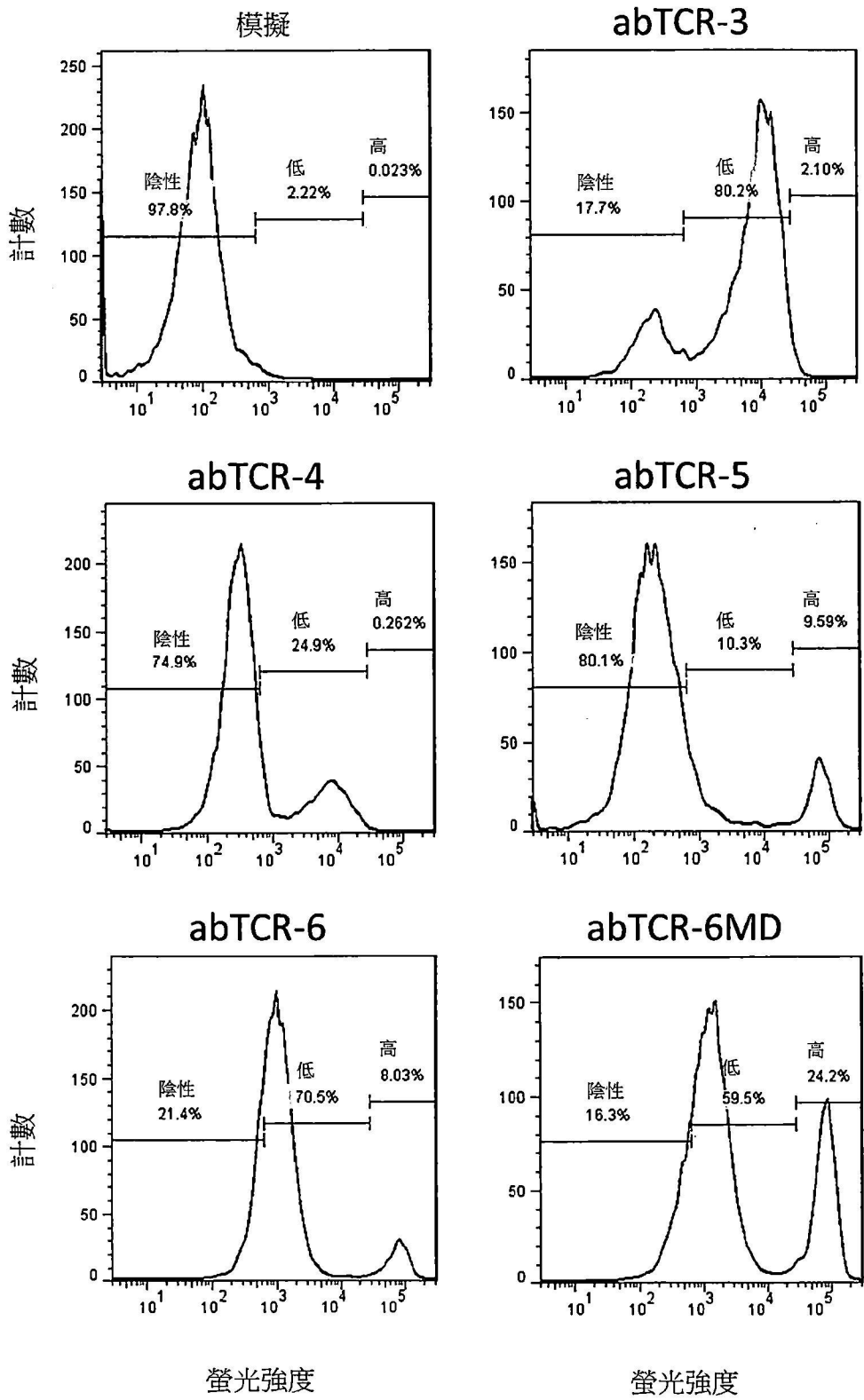


【圖2】



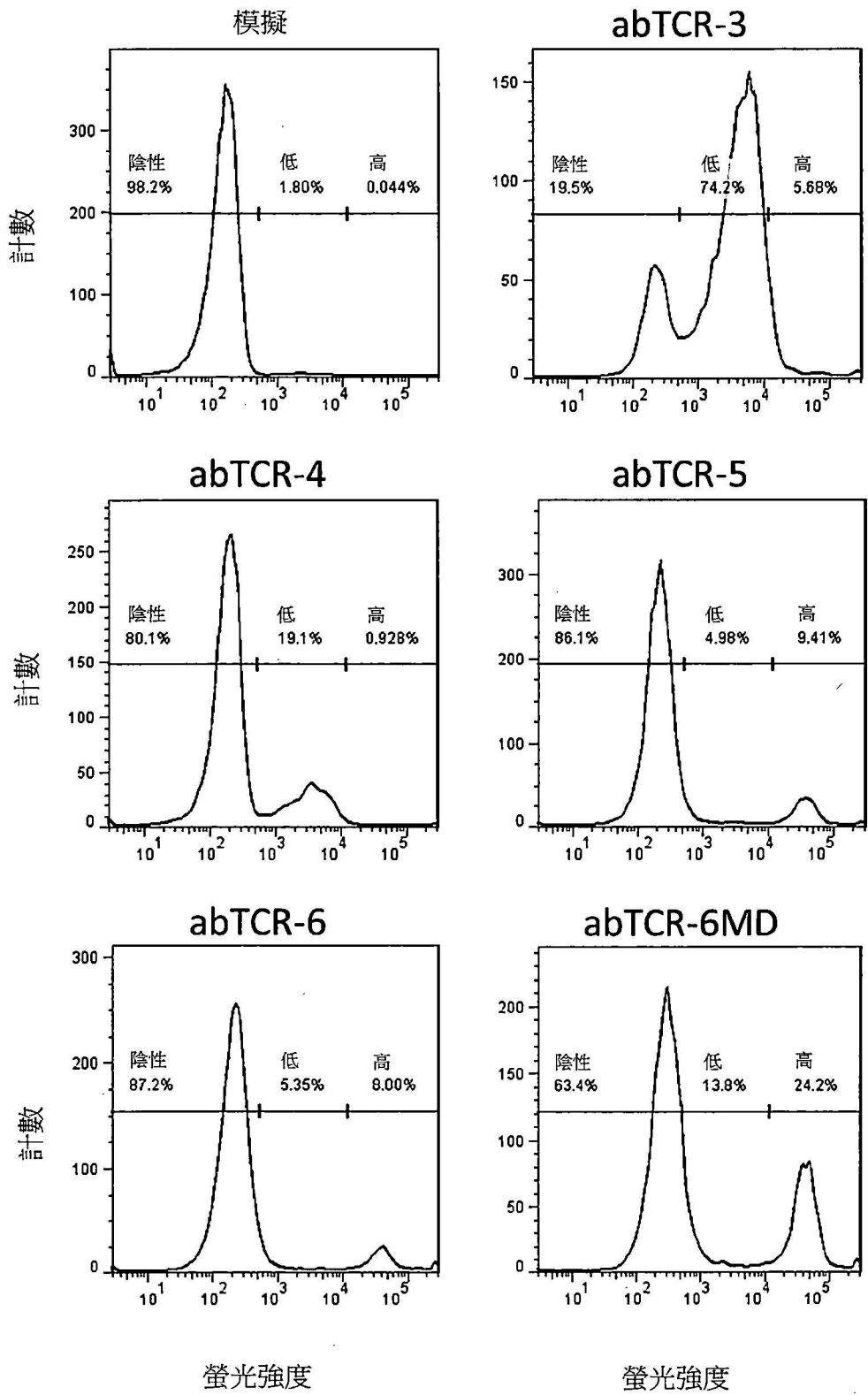
【圖3】

CD3ε表現



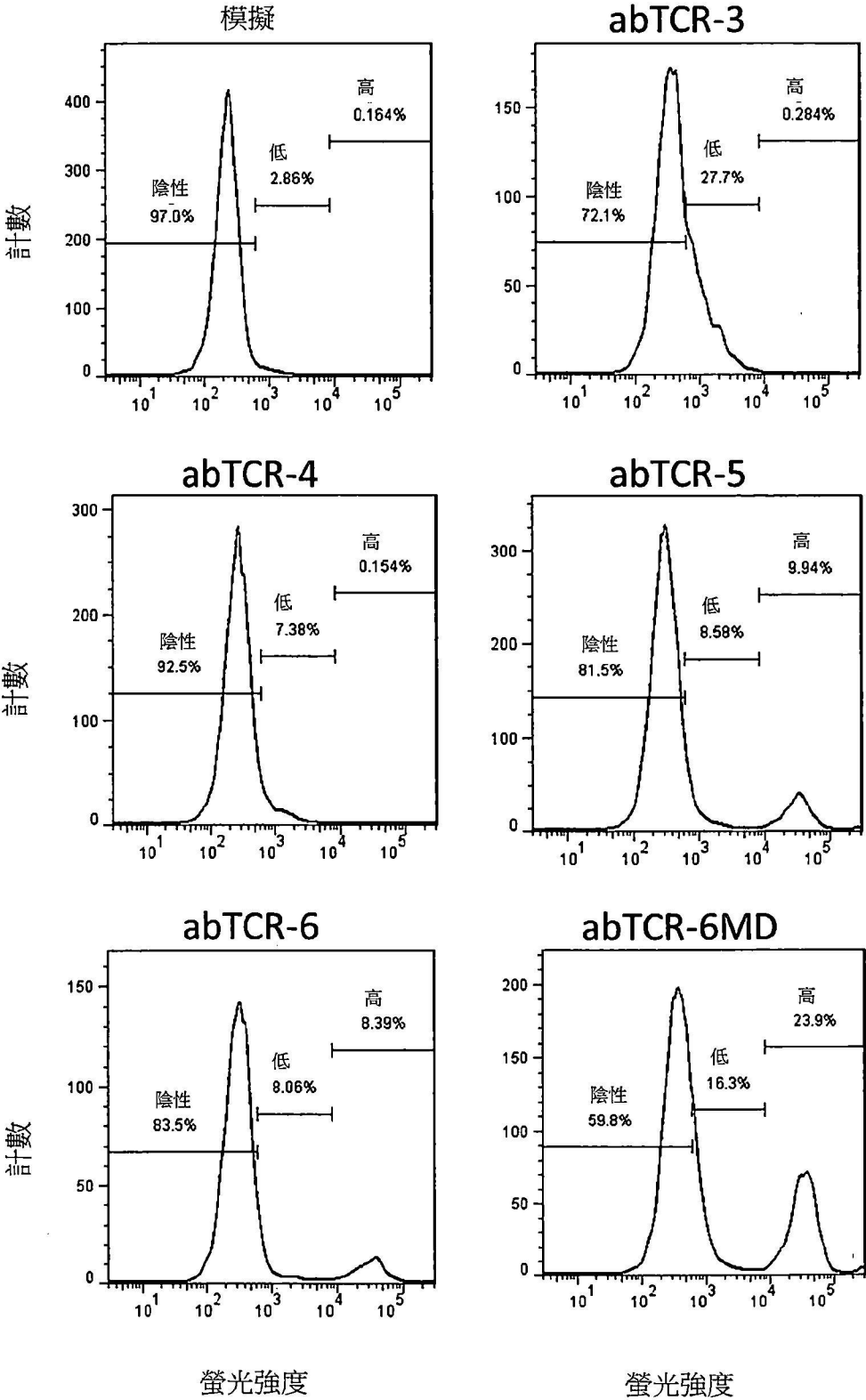
【圖4A】

AFP158/HLA四聚物結合

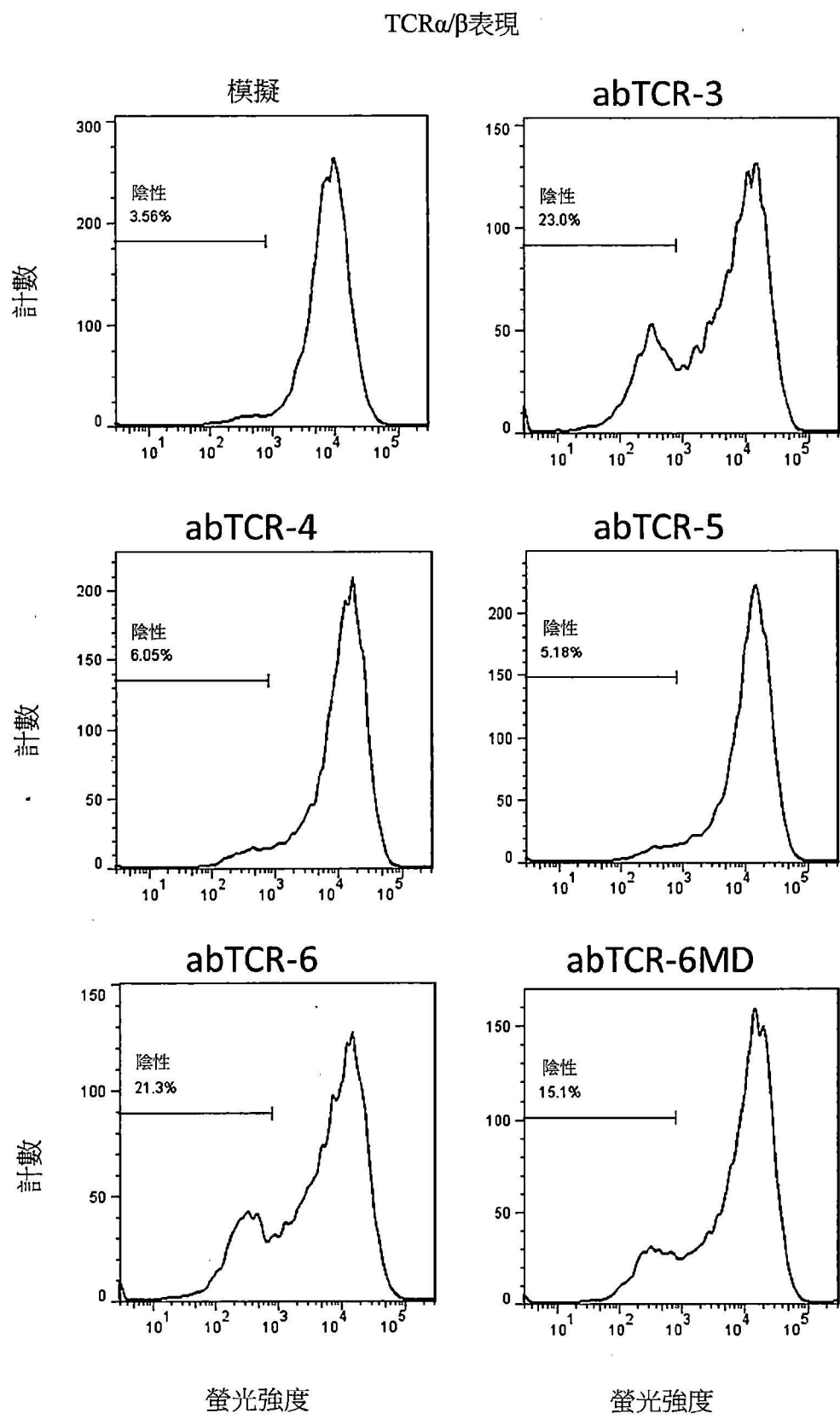


【圖4B】

抗個體基因型抗體

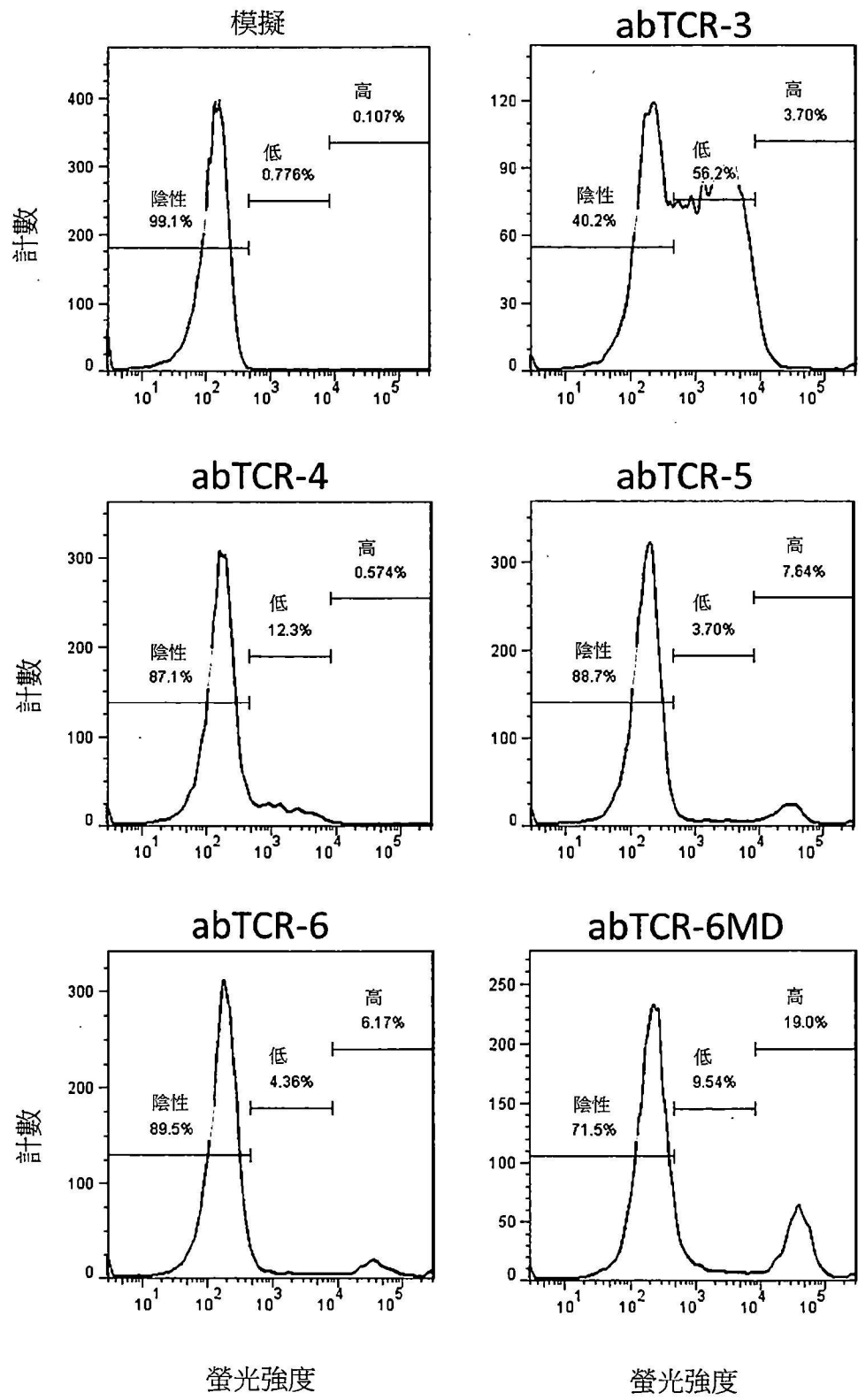


【圖4C】



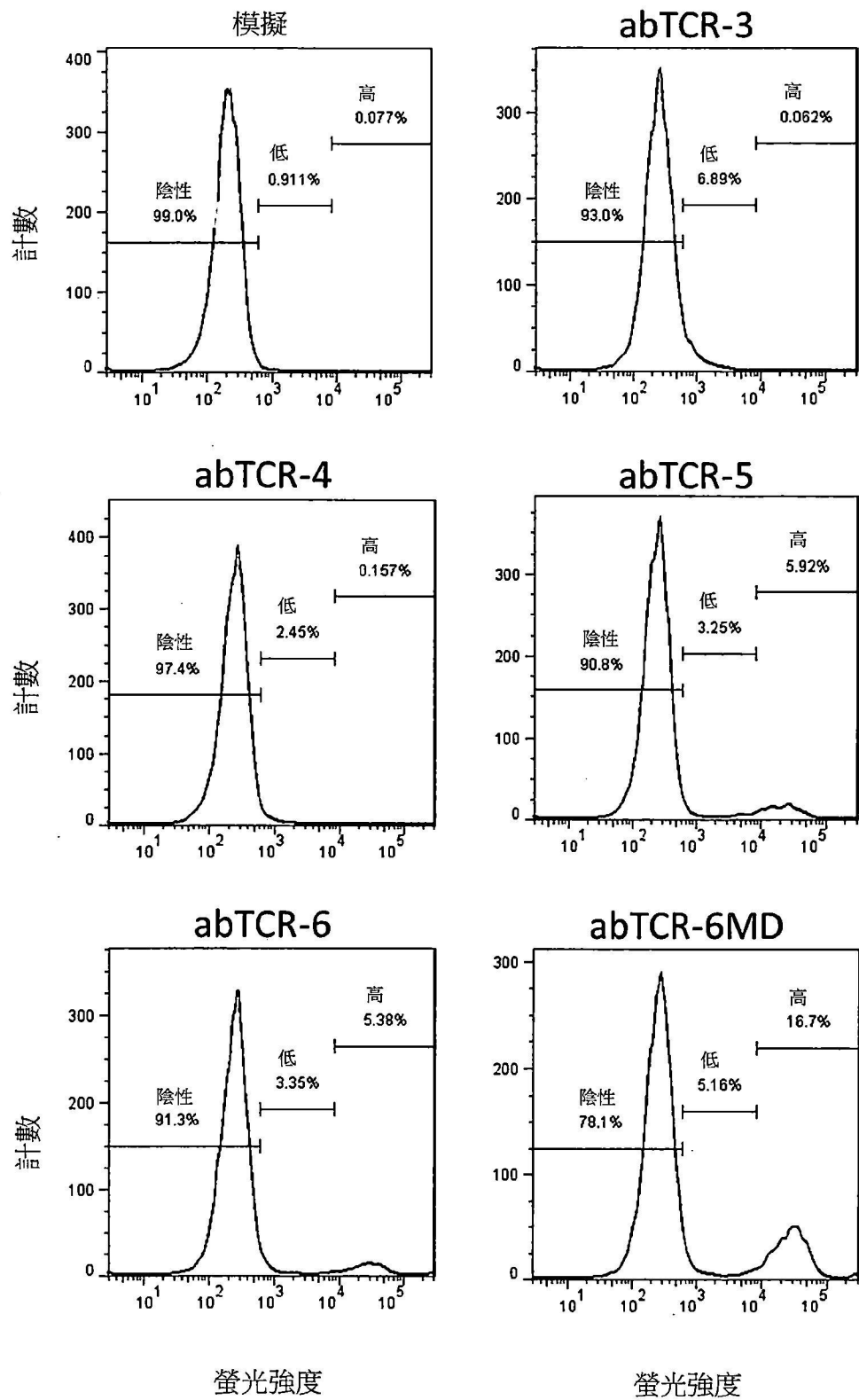
【圖5A】

AFP158/HLA四聚物結合

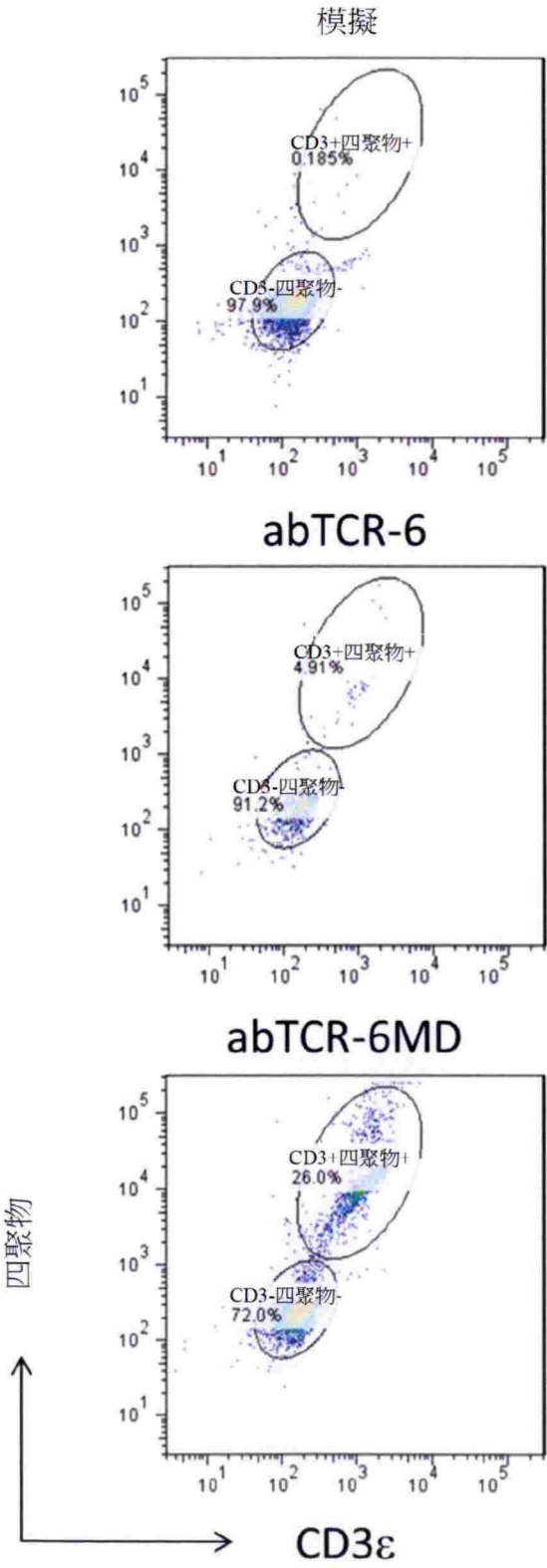


【圖5B】

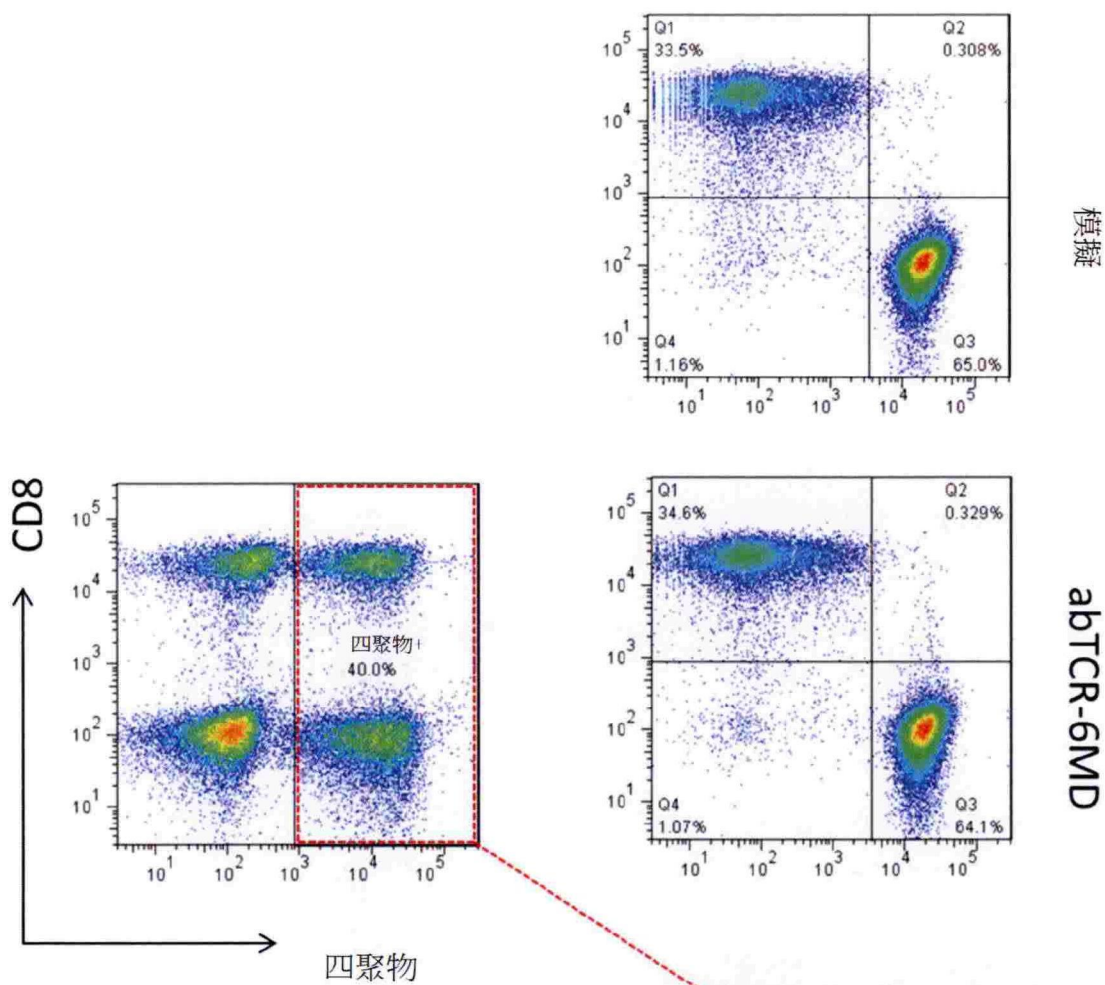
抗個體基因型抗體



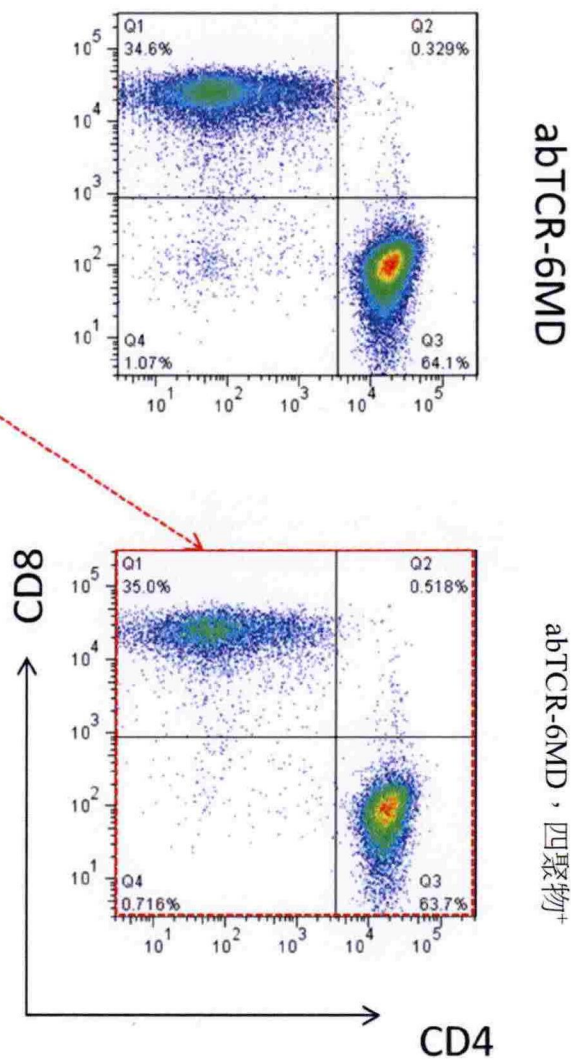
【圖5C】



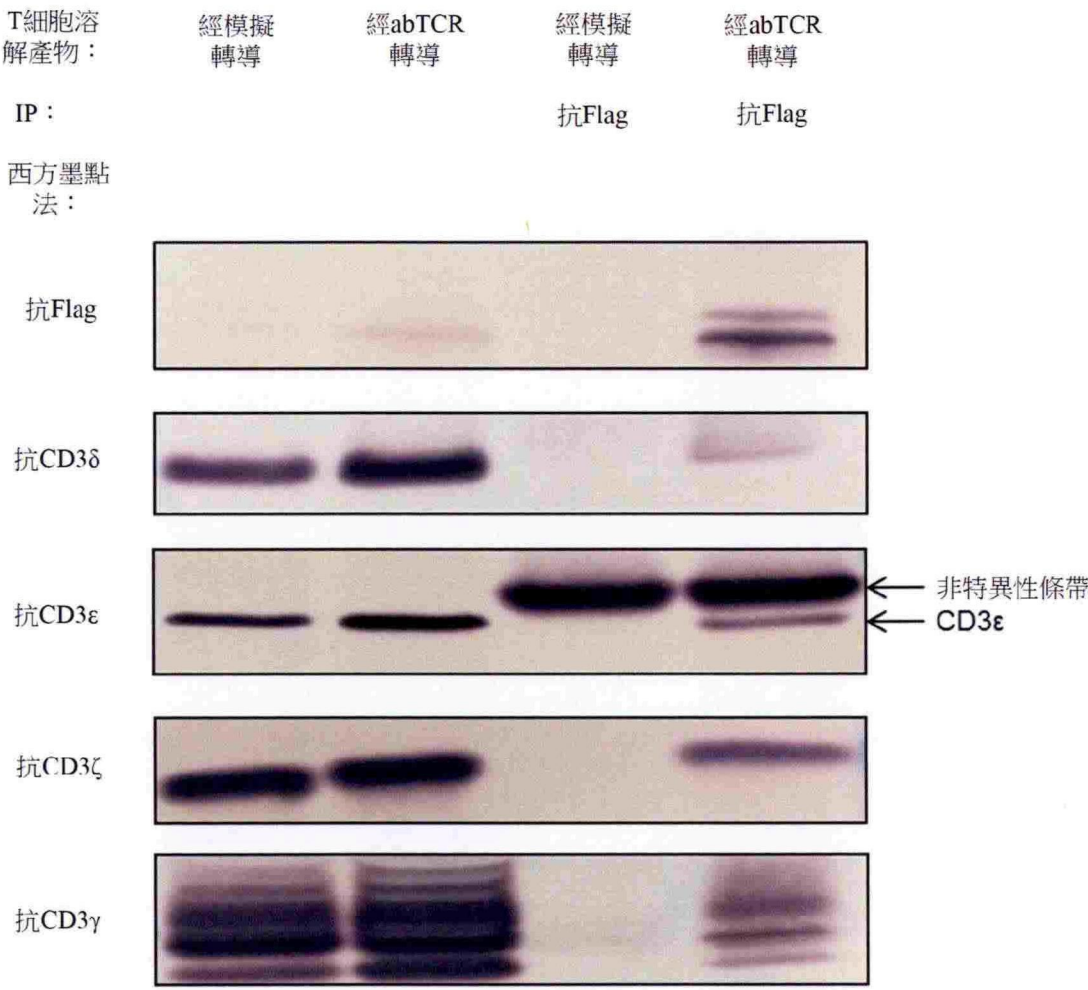
【圖6】



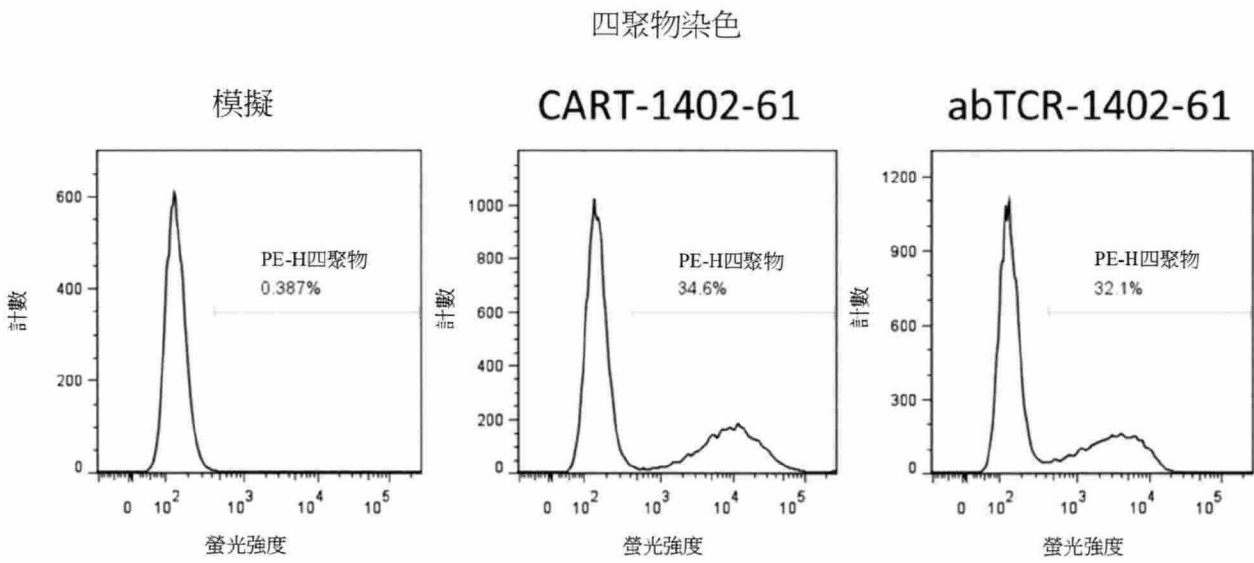
【圖7A】



【圖7B】

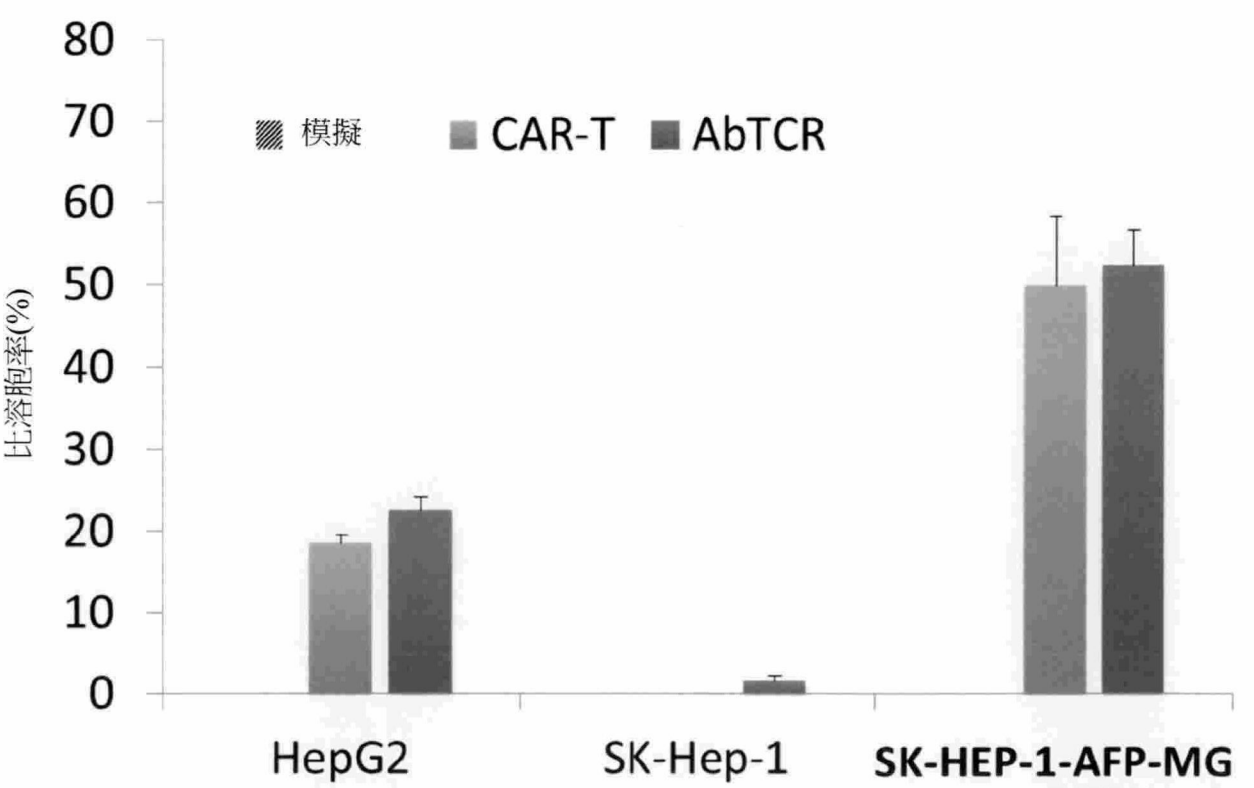


【圖8】

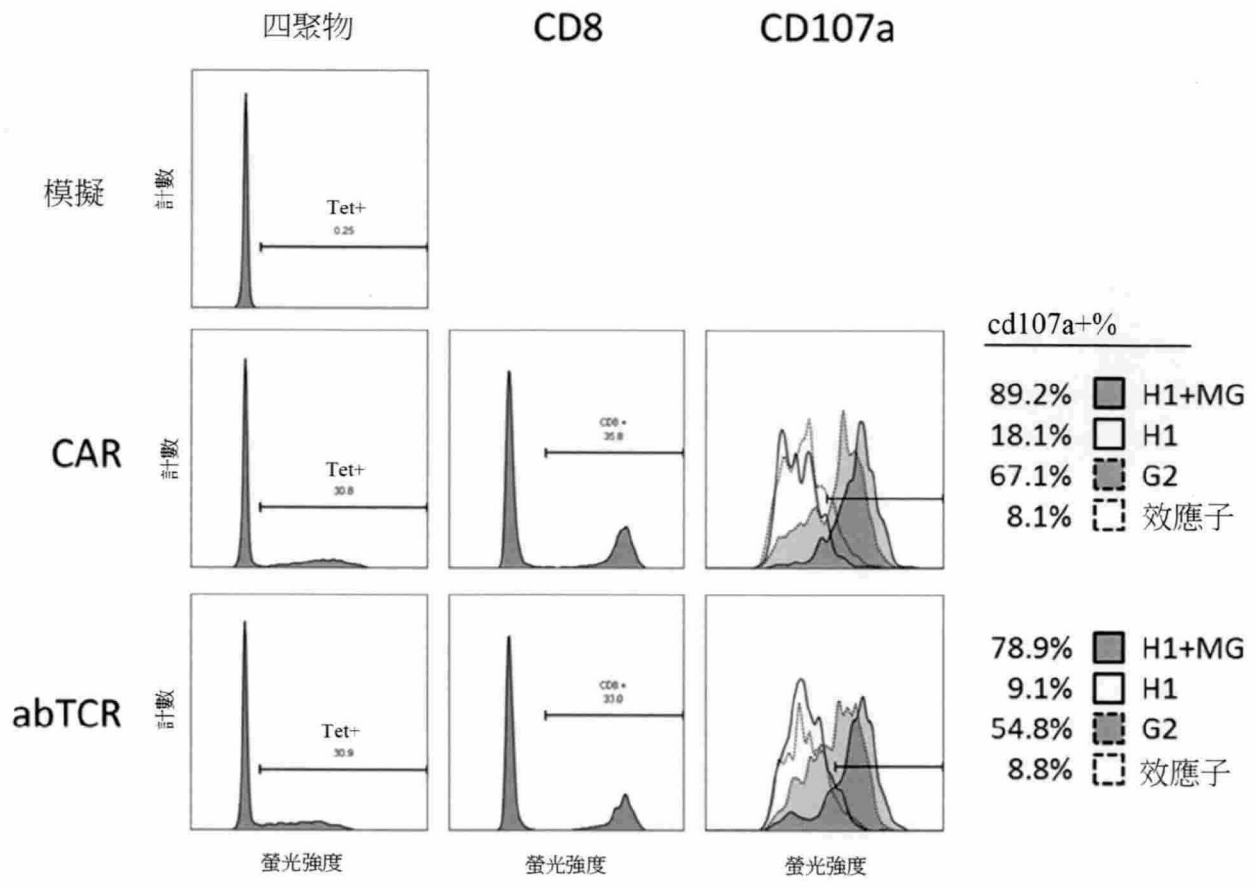


【圖9A】

細胞殺死

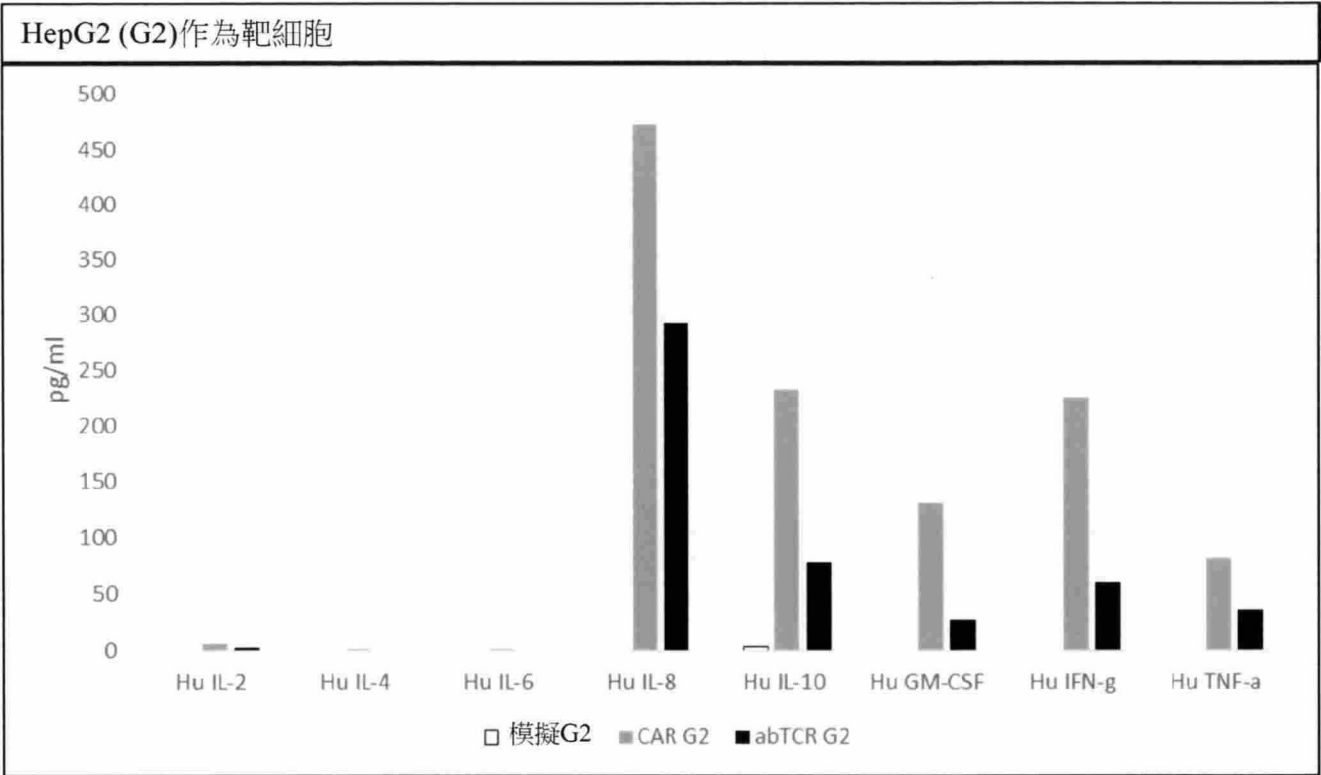


【圖9B】

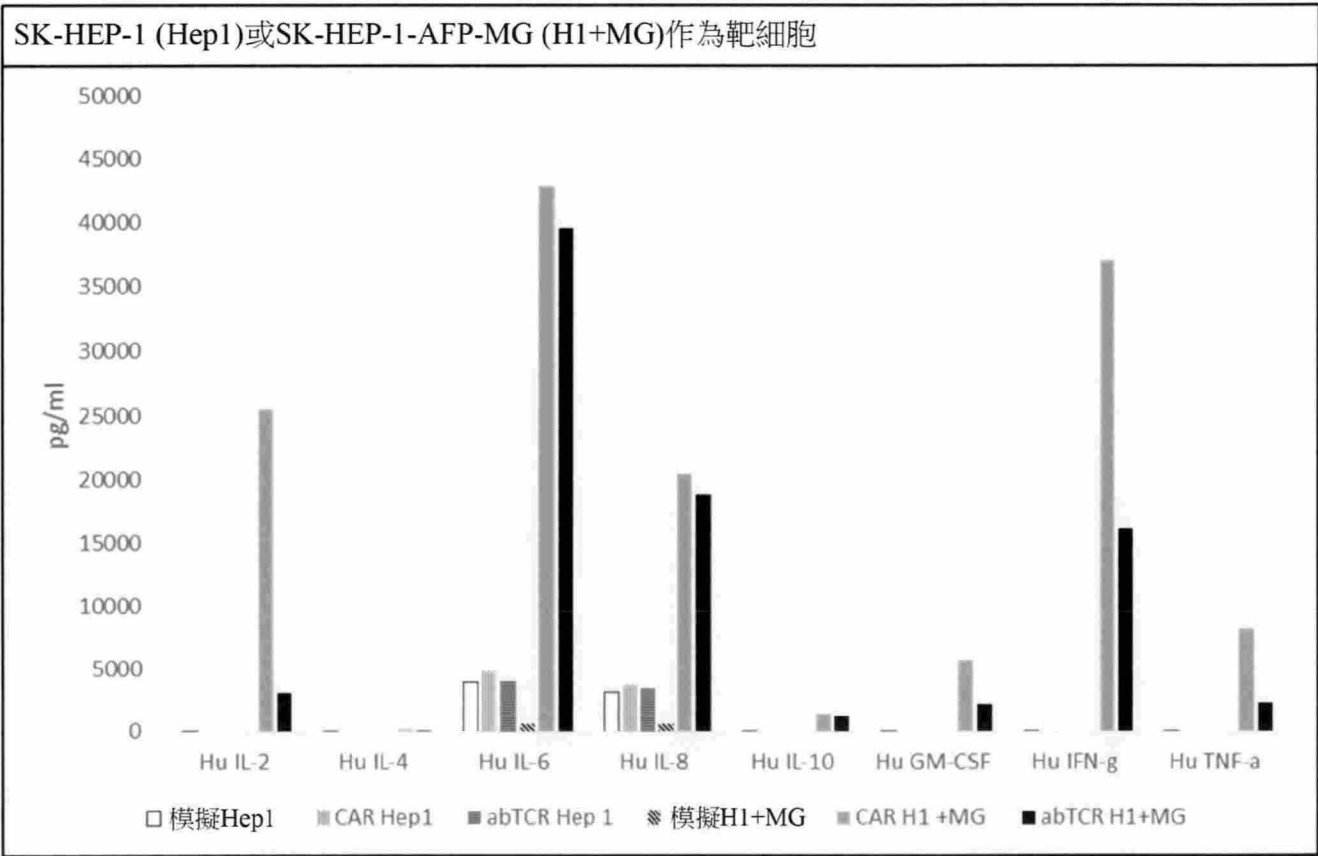


圖例	靶細胞
H1+MG	SK-HEP-1-AFP-MG
H1	SK-HEP-1
G2	HepG2
效應子	-

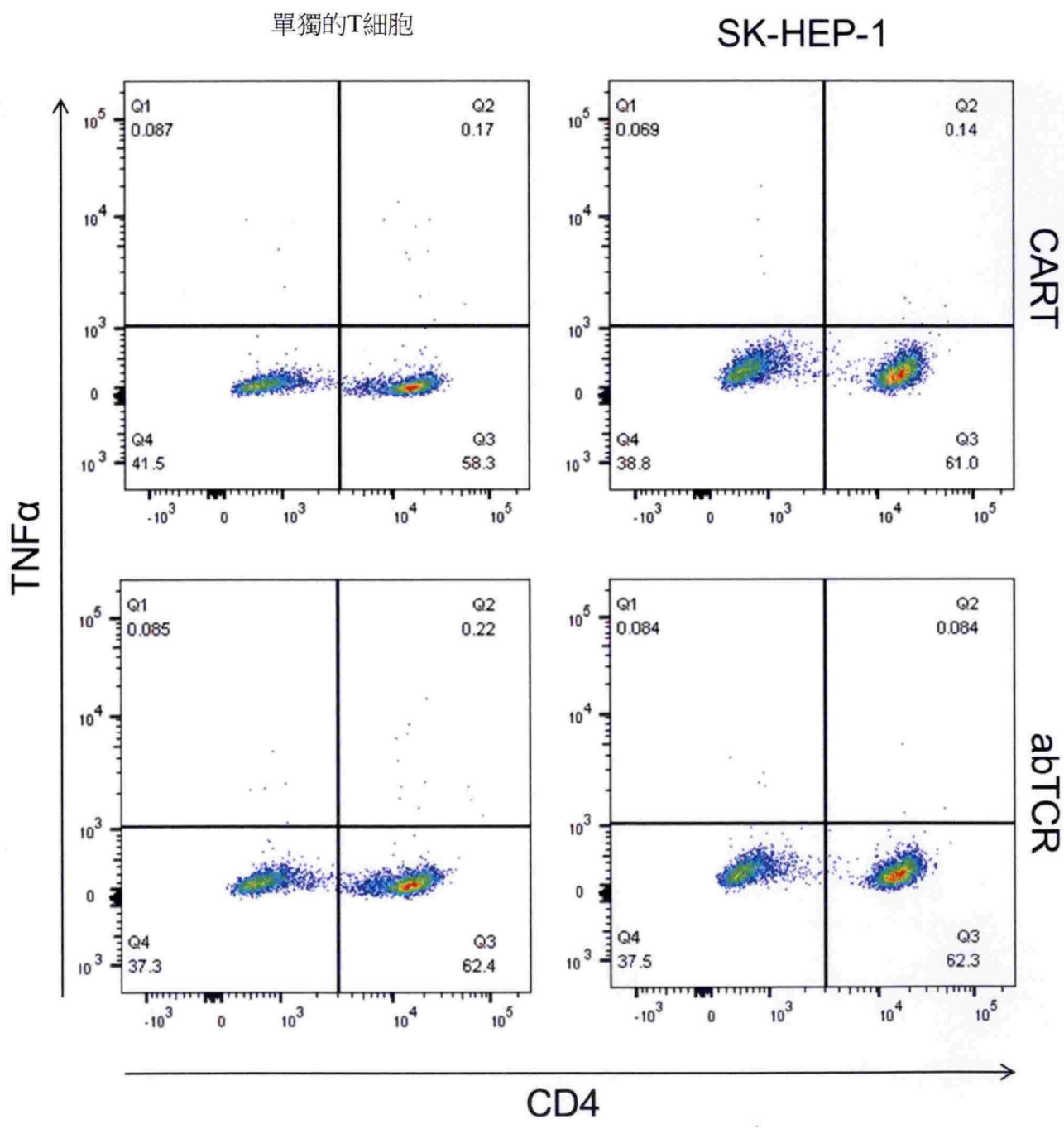
【圖10】



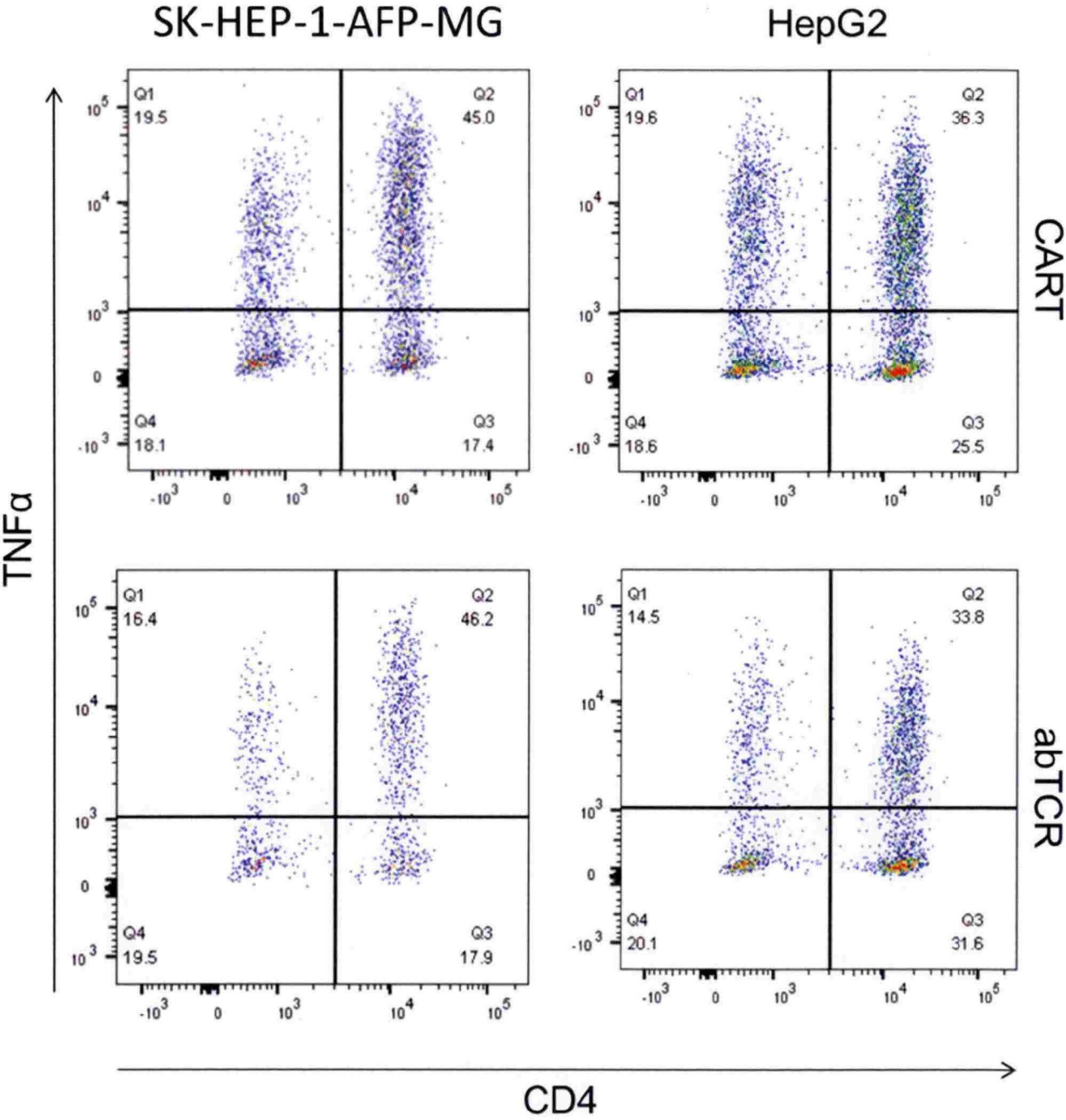
【圖11A】



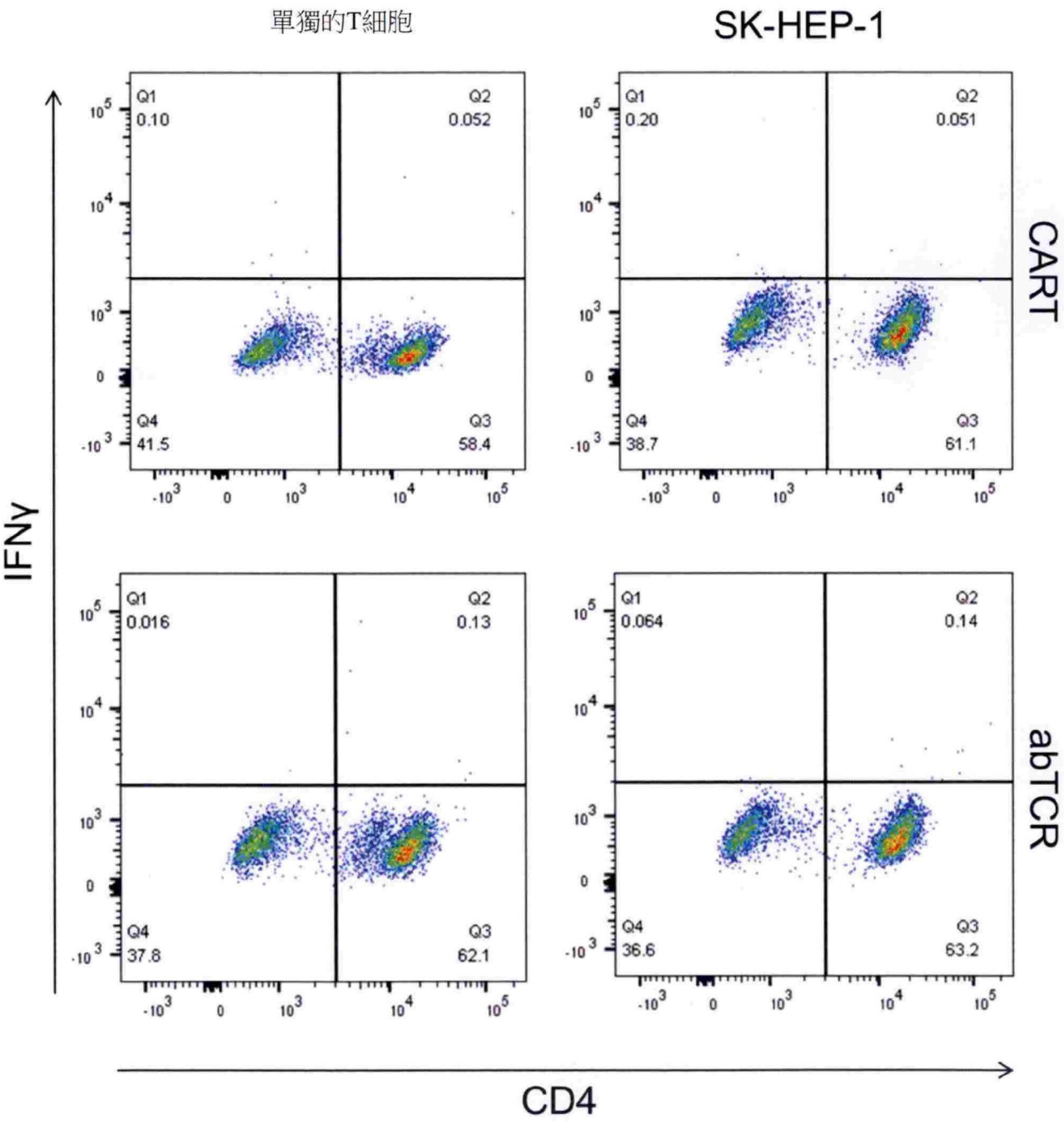
【圖11B】



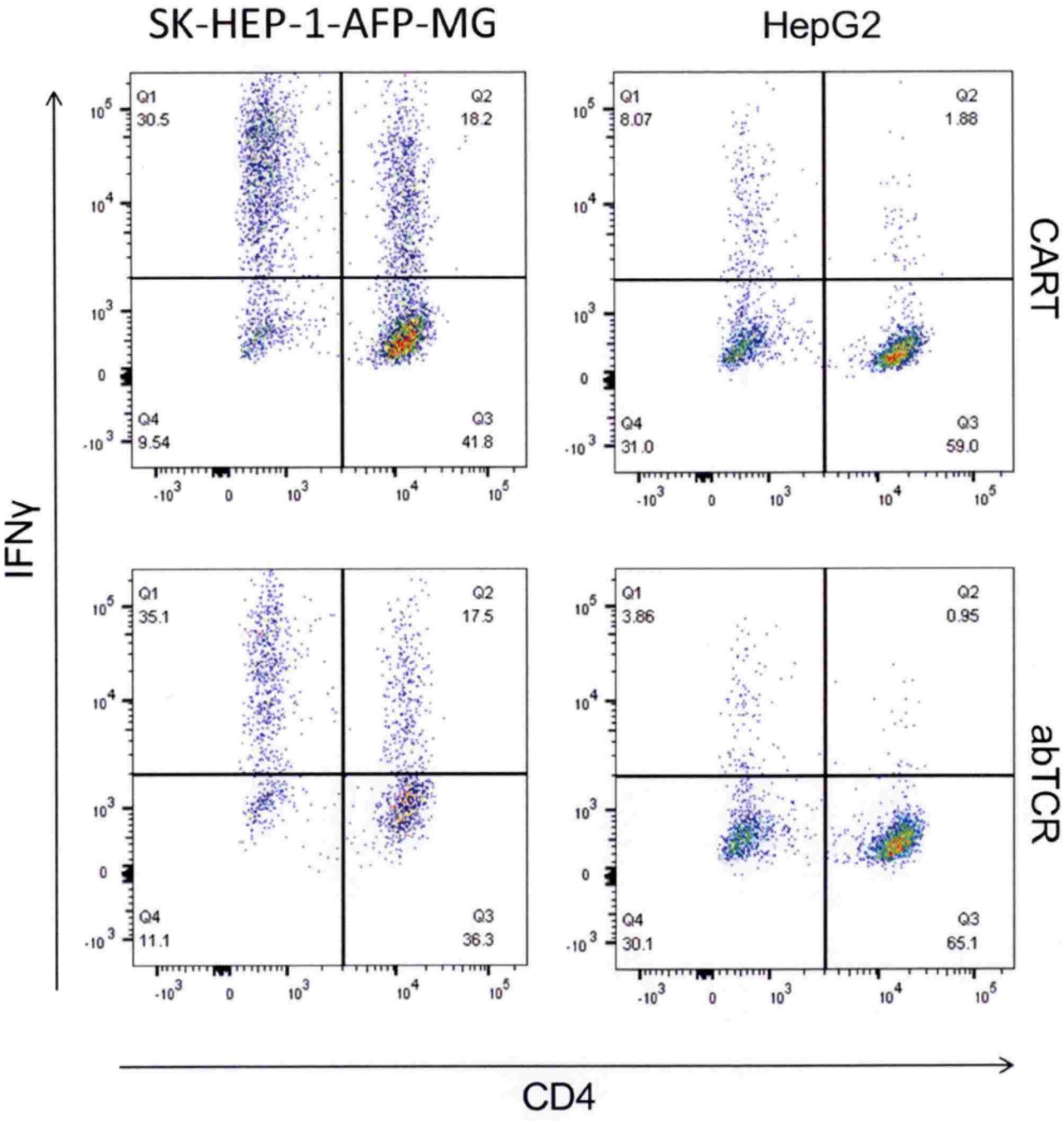
【圖12A】



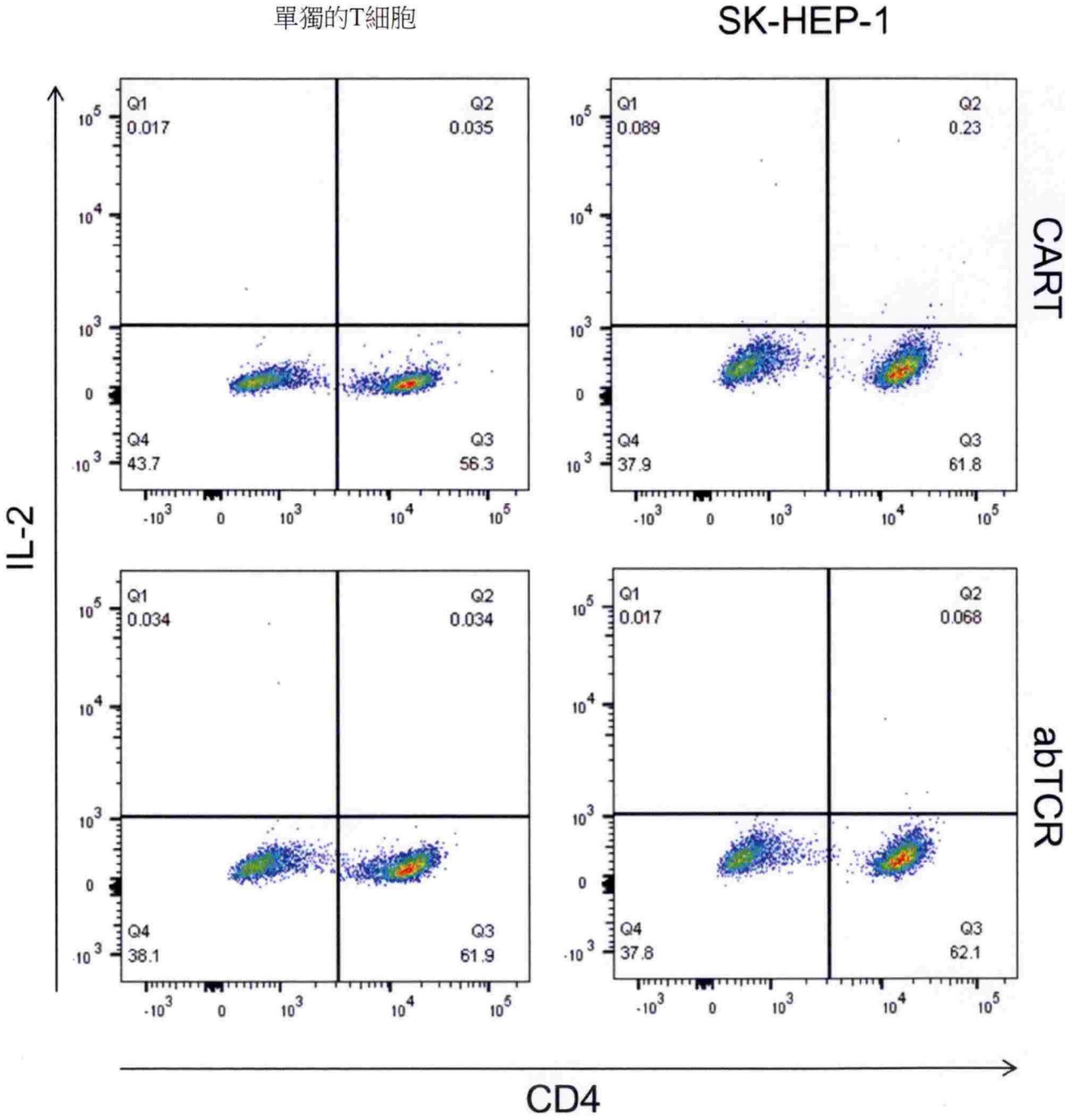
【圖12B】



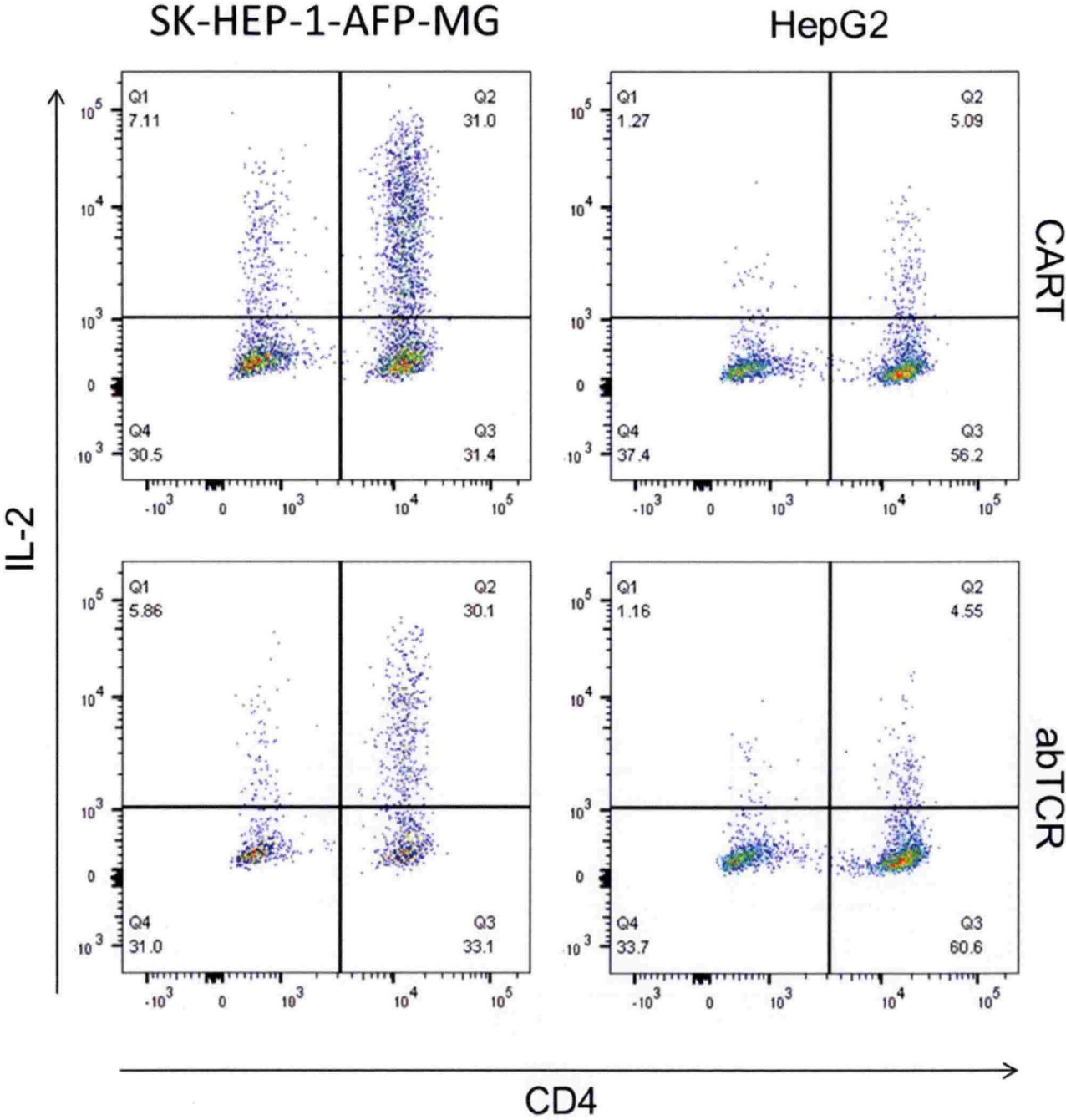
【圖12C】



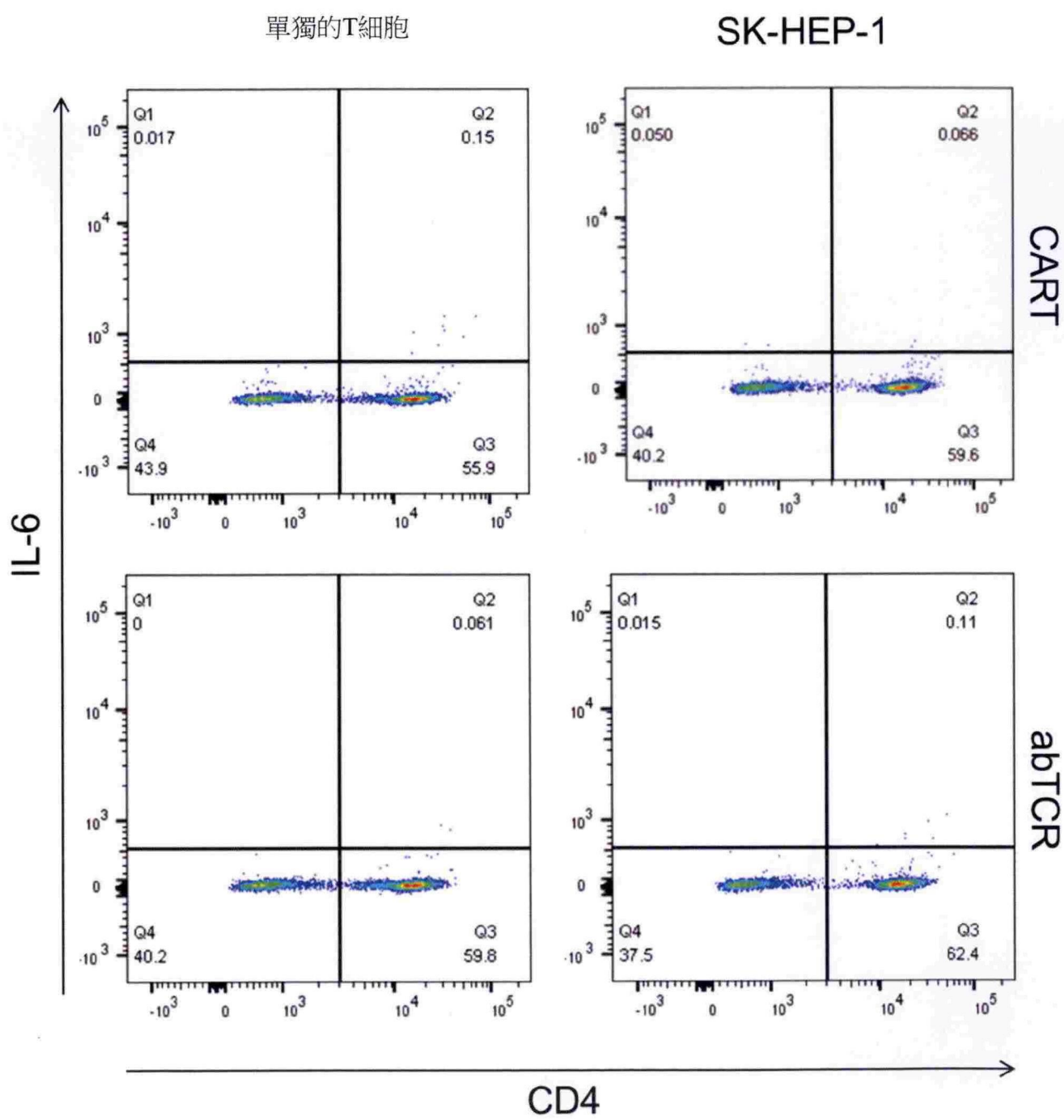
【圖12D】



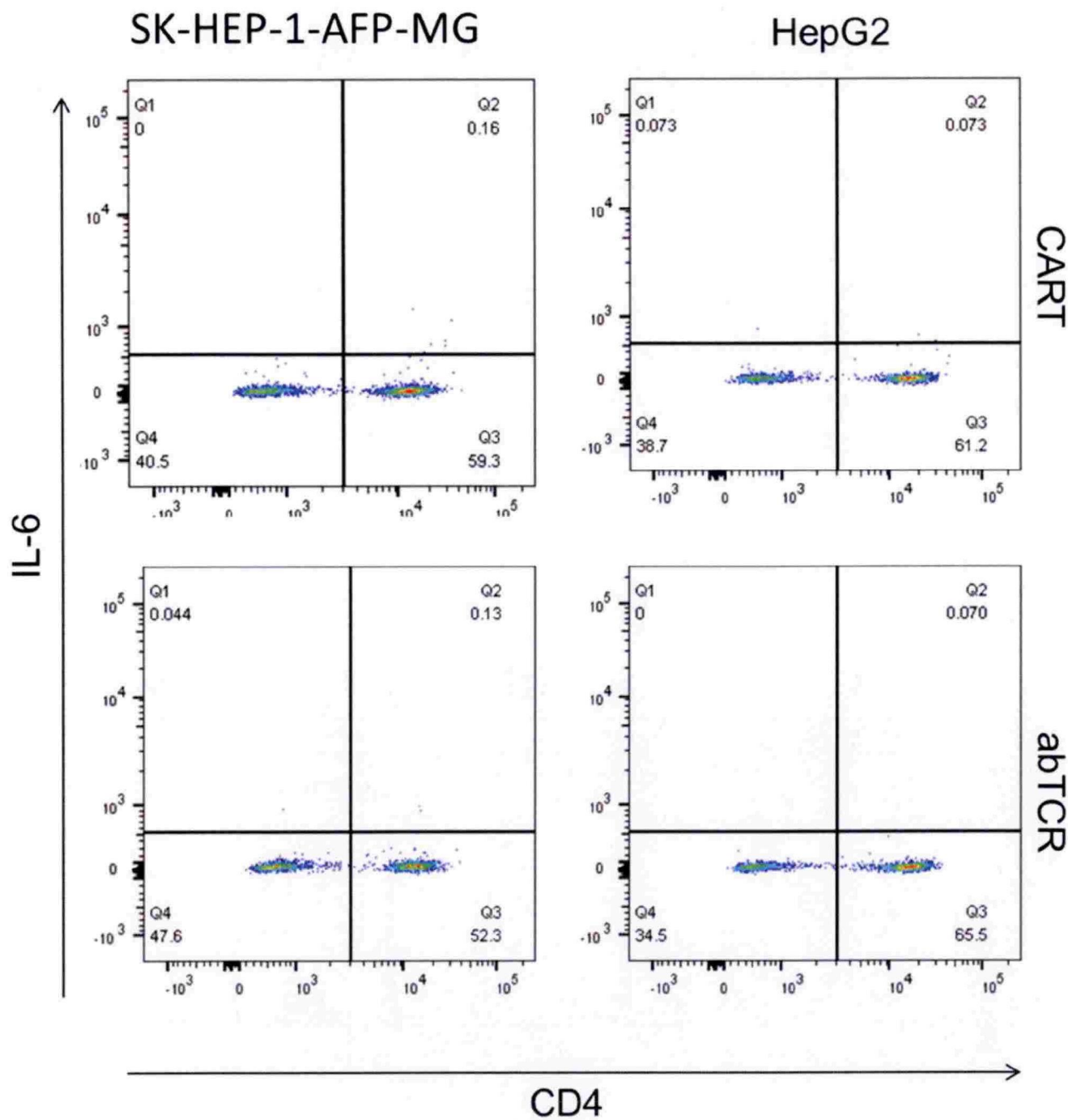
【圖12E】



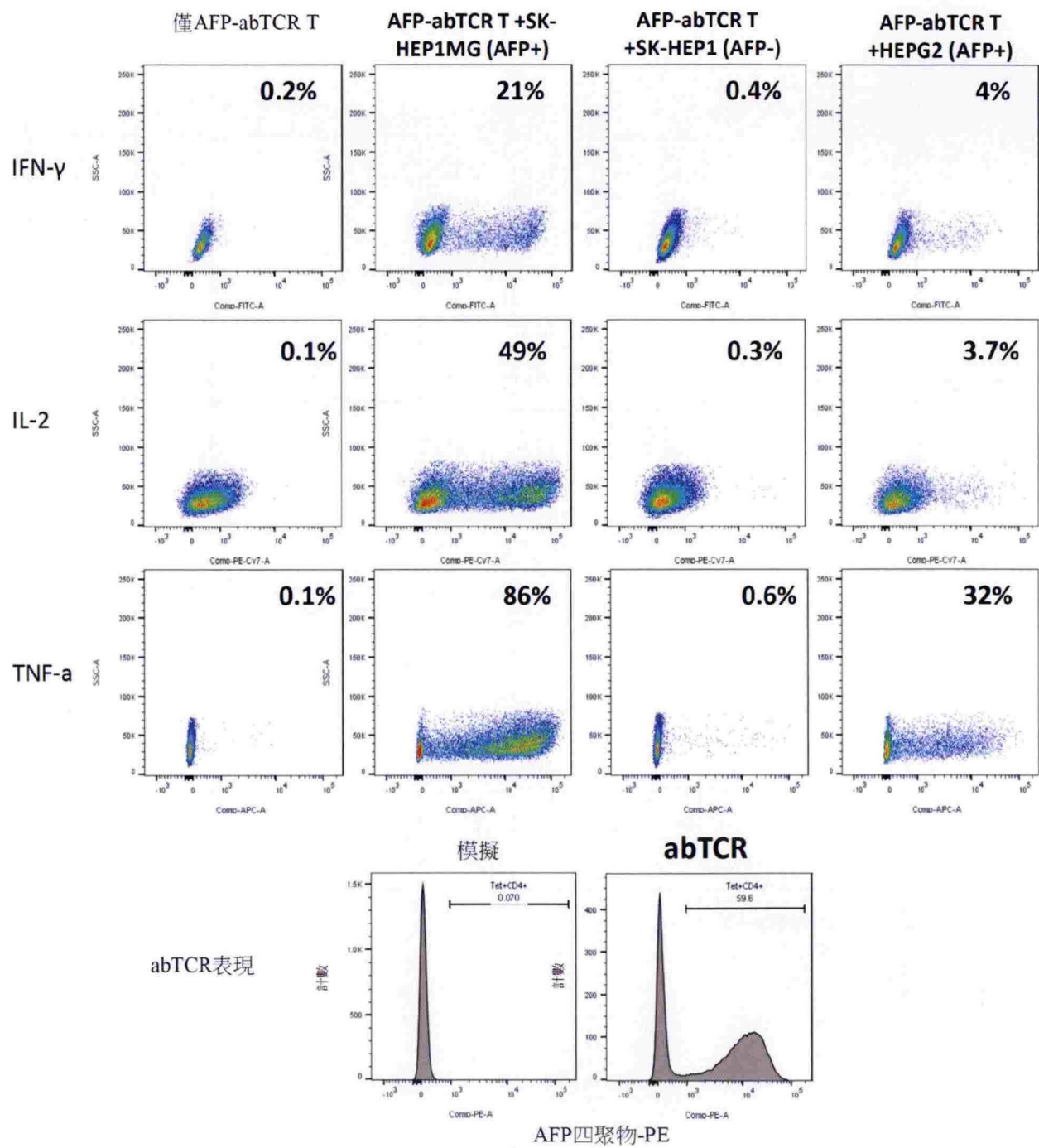
【圖12F】



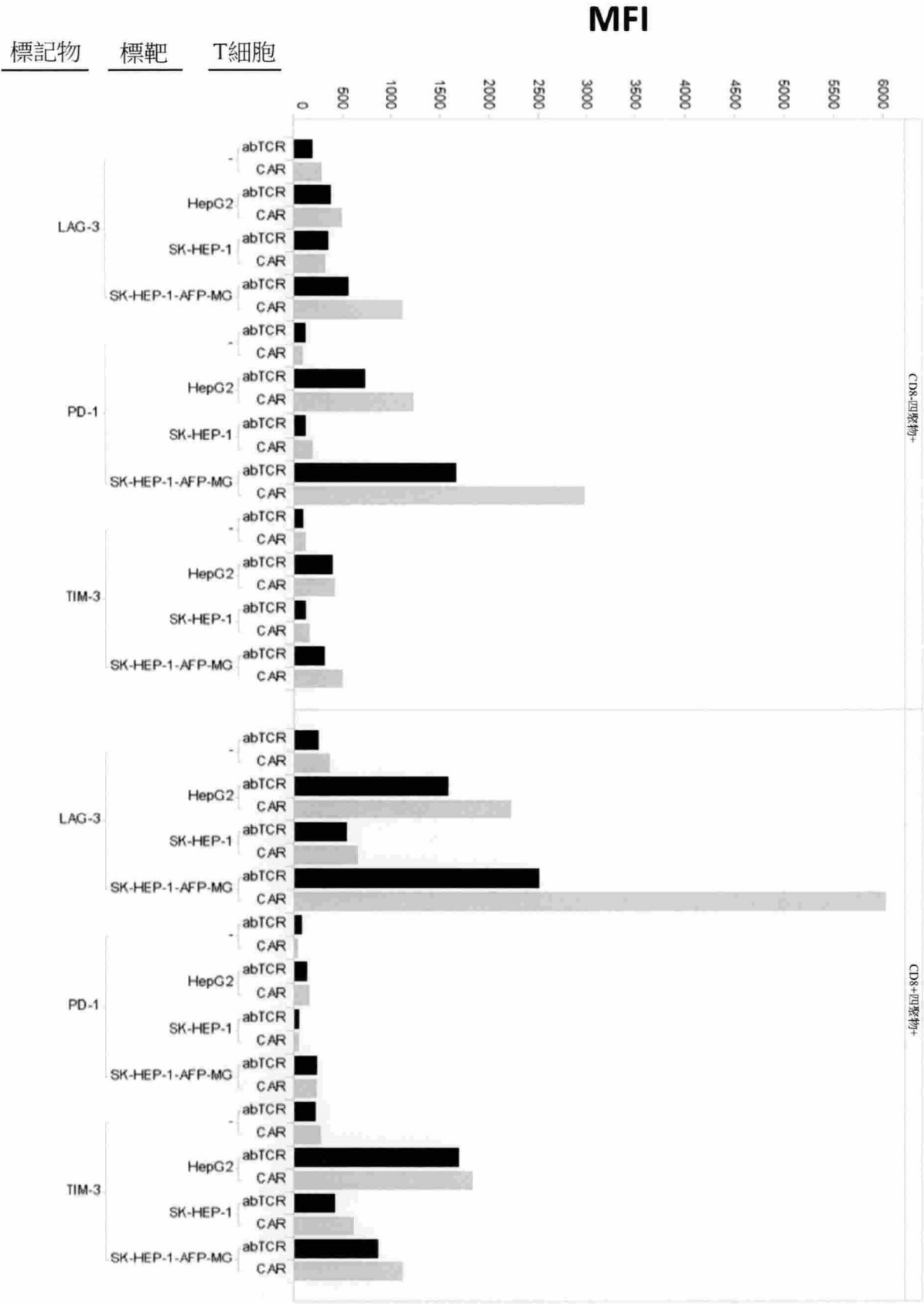
【圖12G】



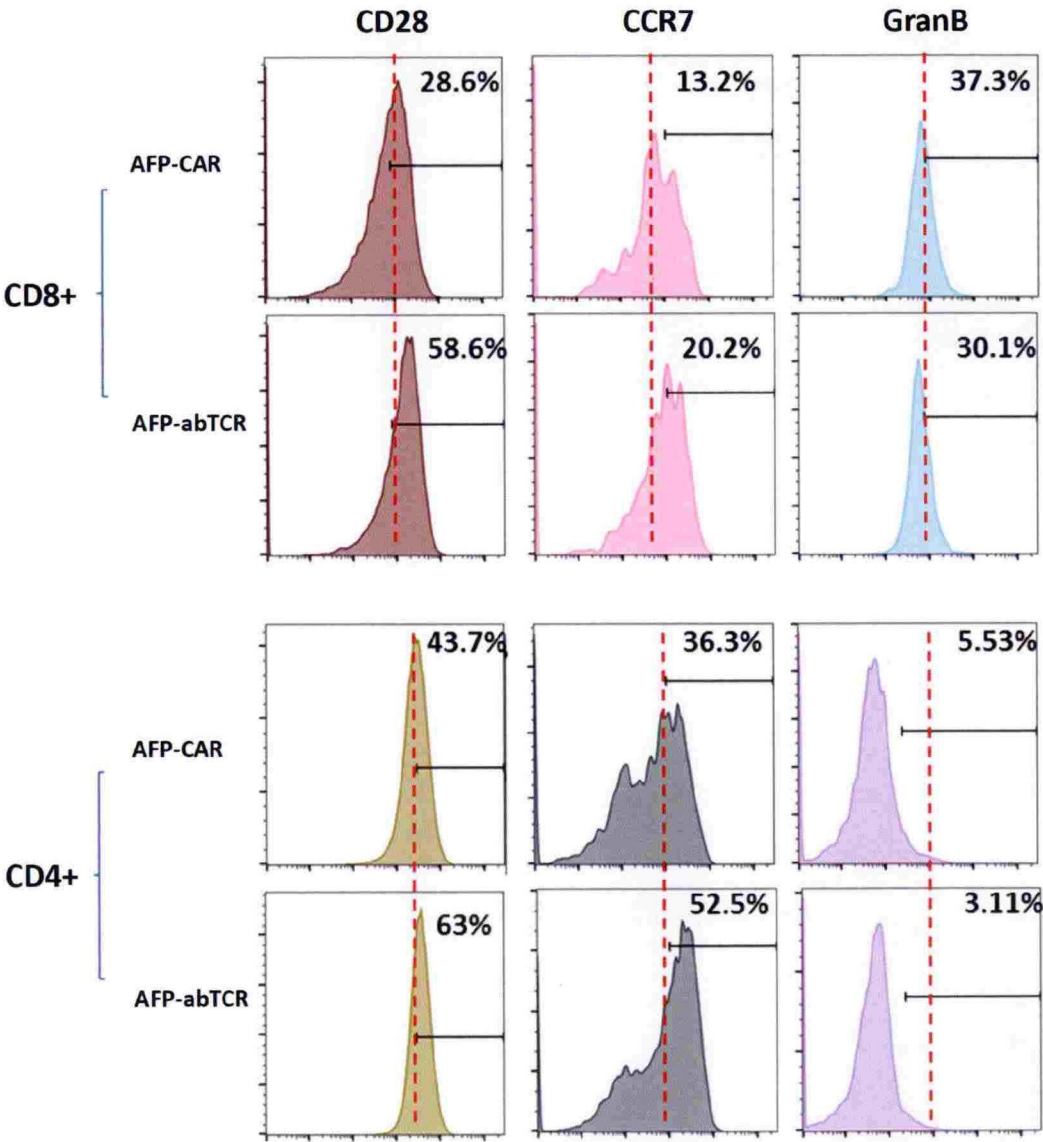
【圖12H】



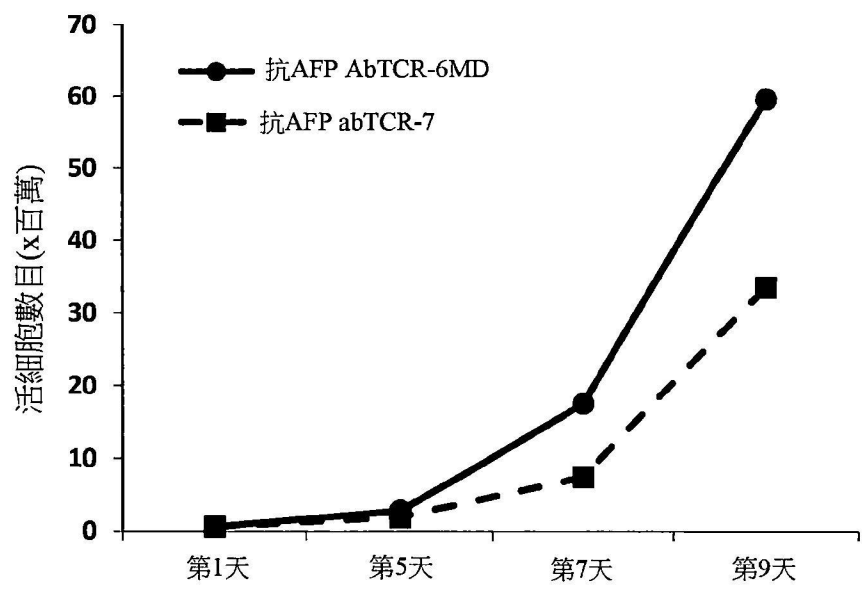
【圖13】



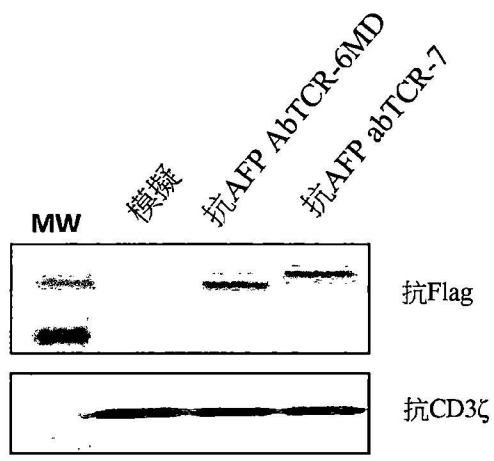
【圖14】



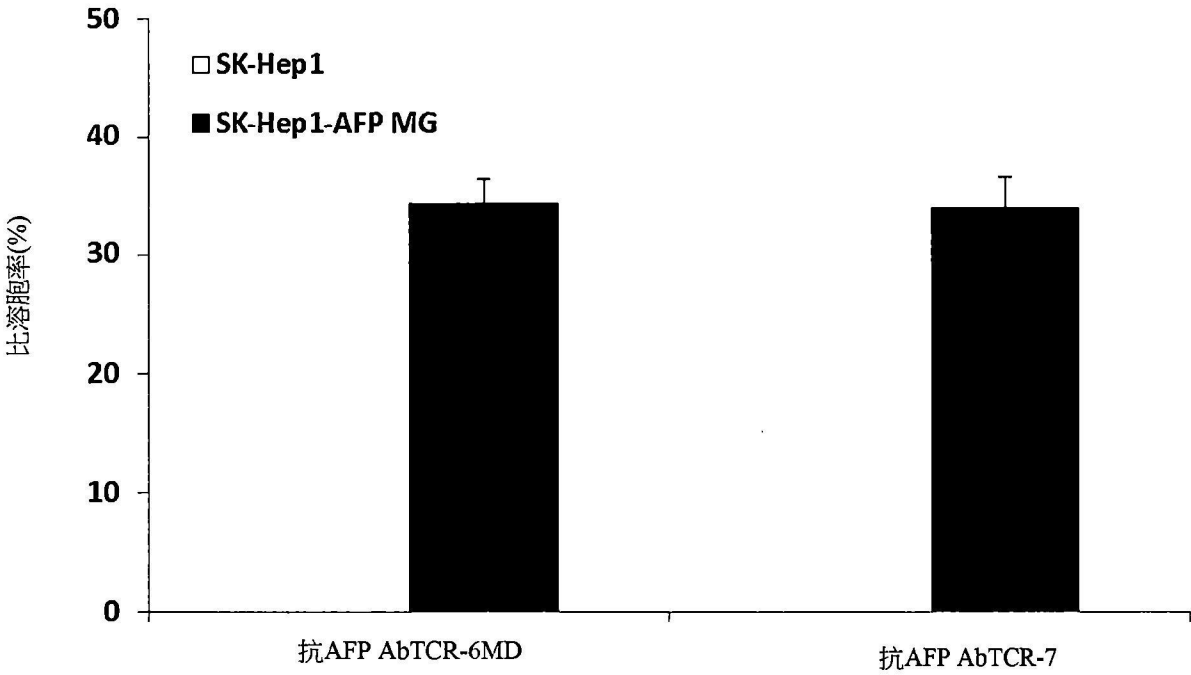
【圖15】



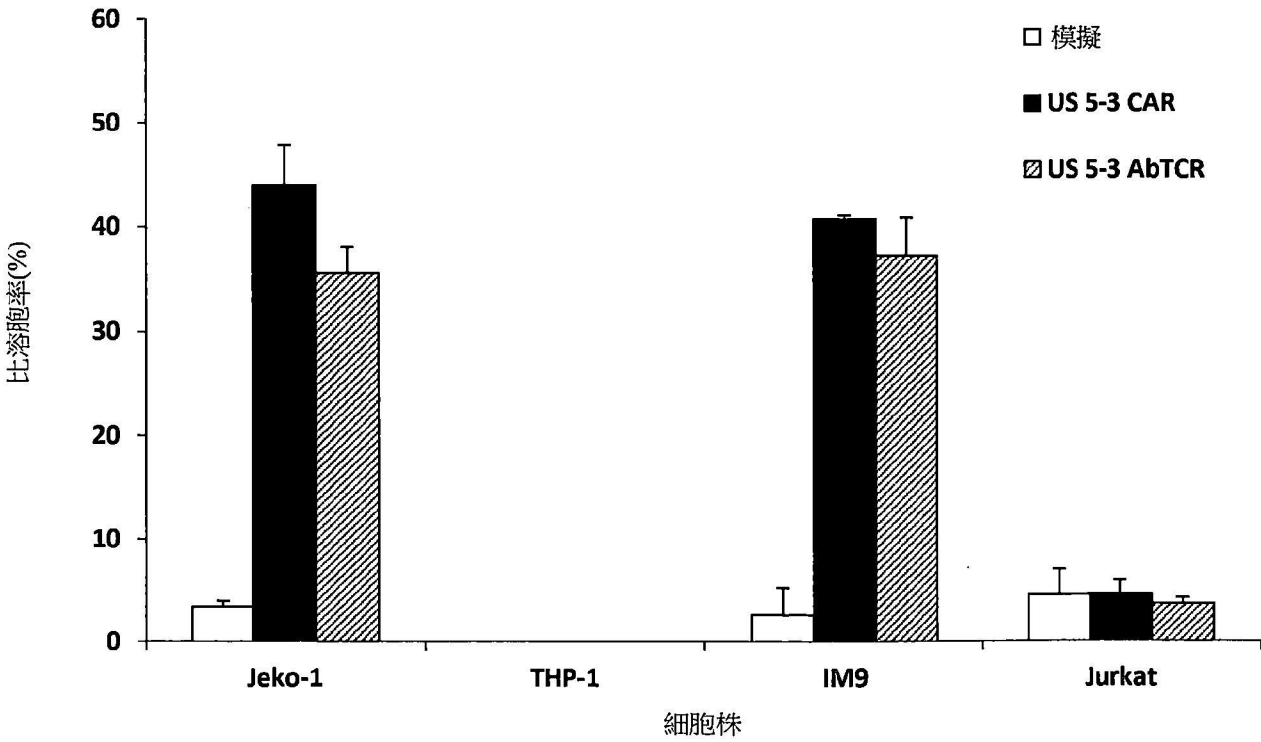
【圖16A】



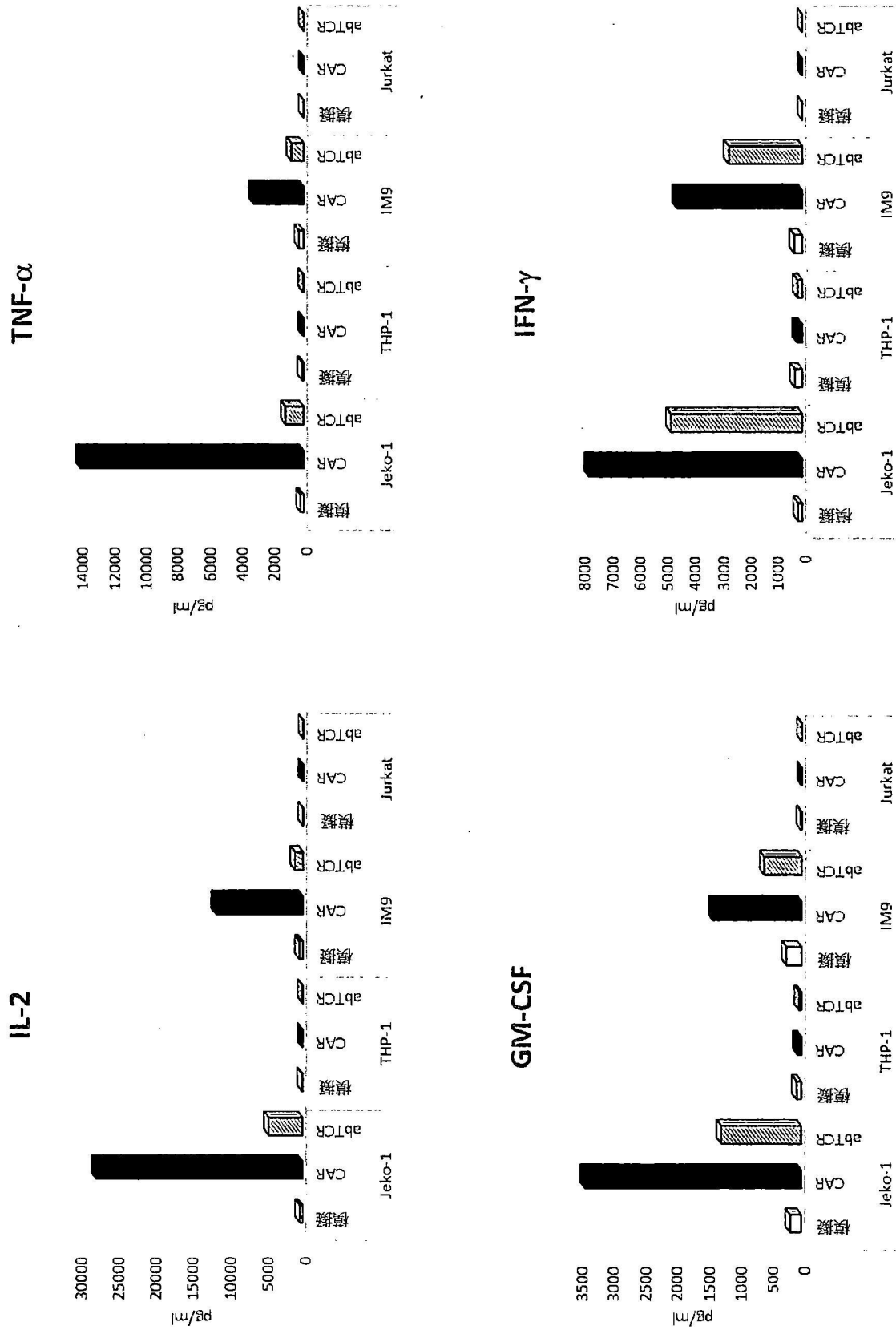
【圖16B】



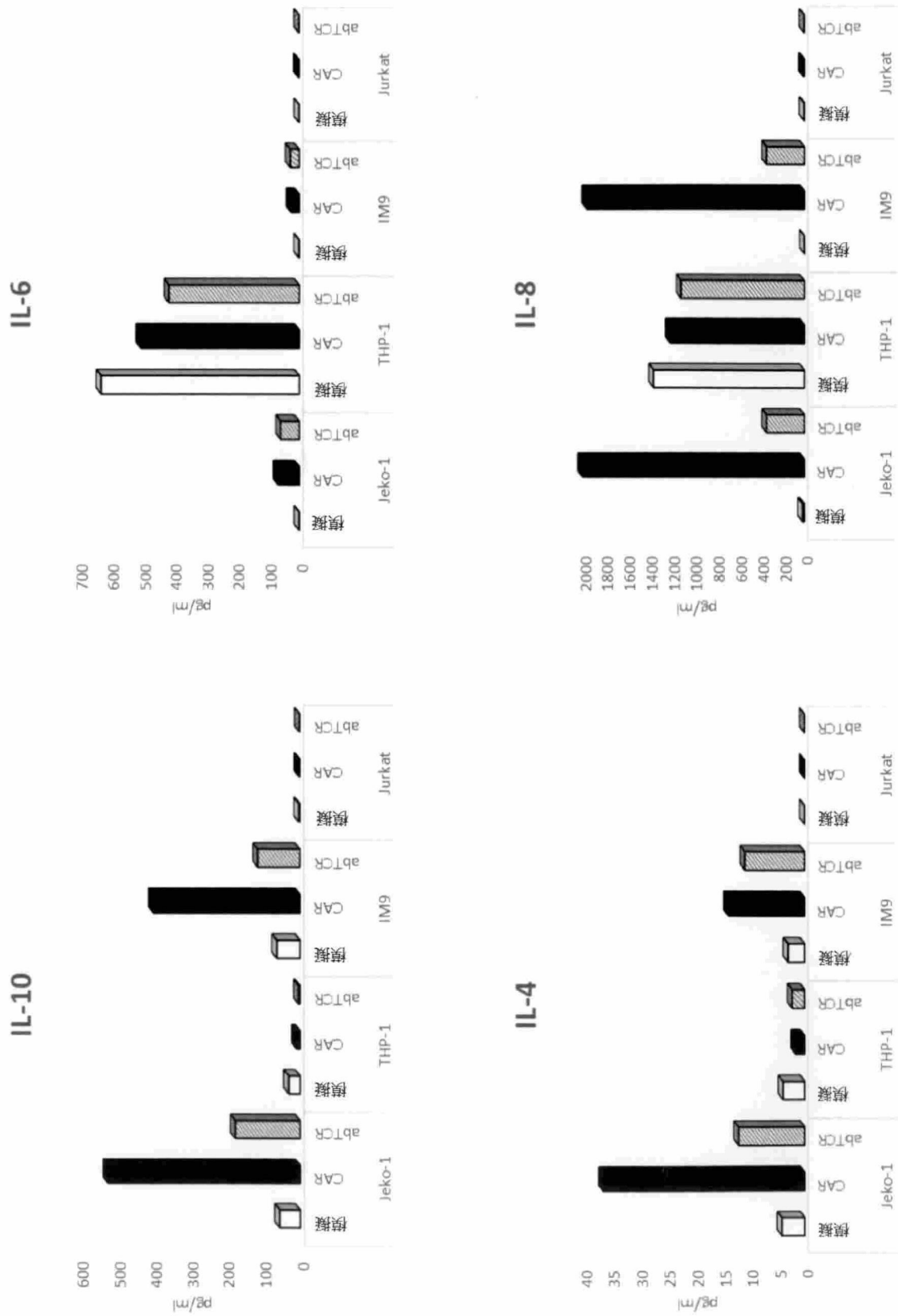
【圖16C】



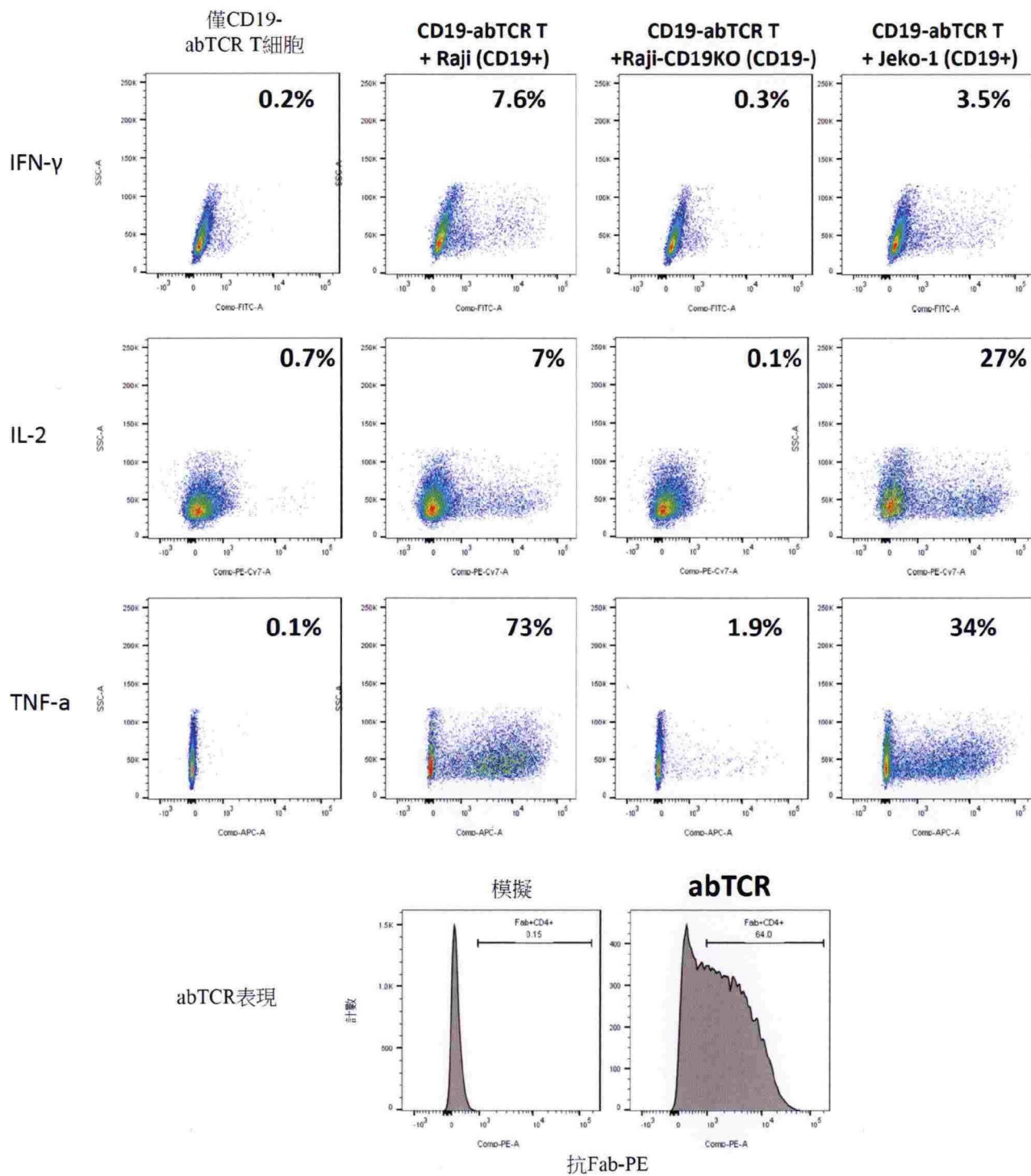
【圖17】



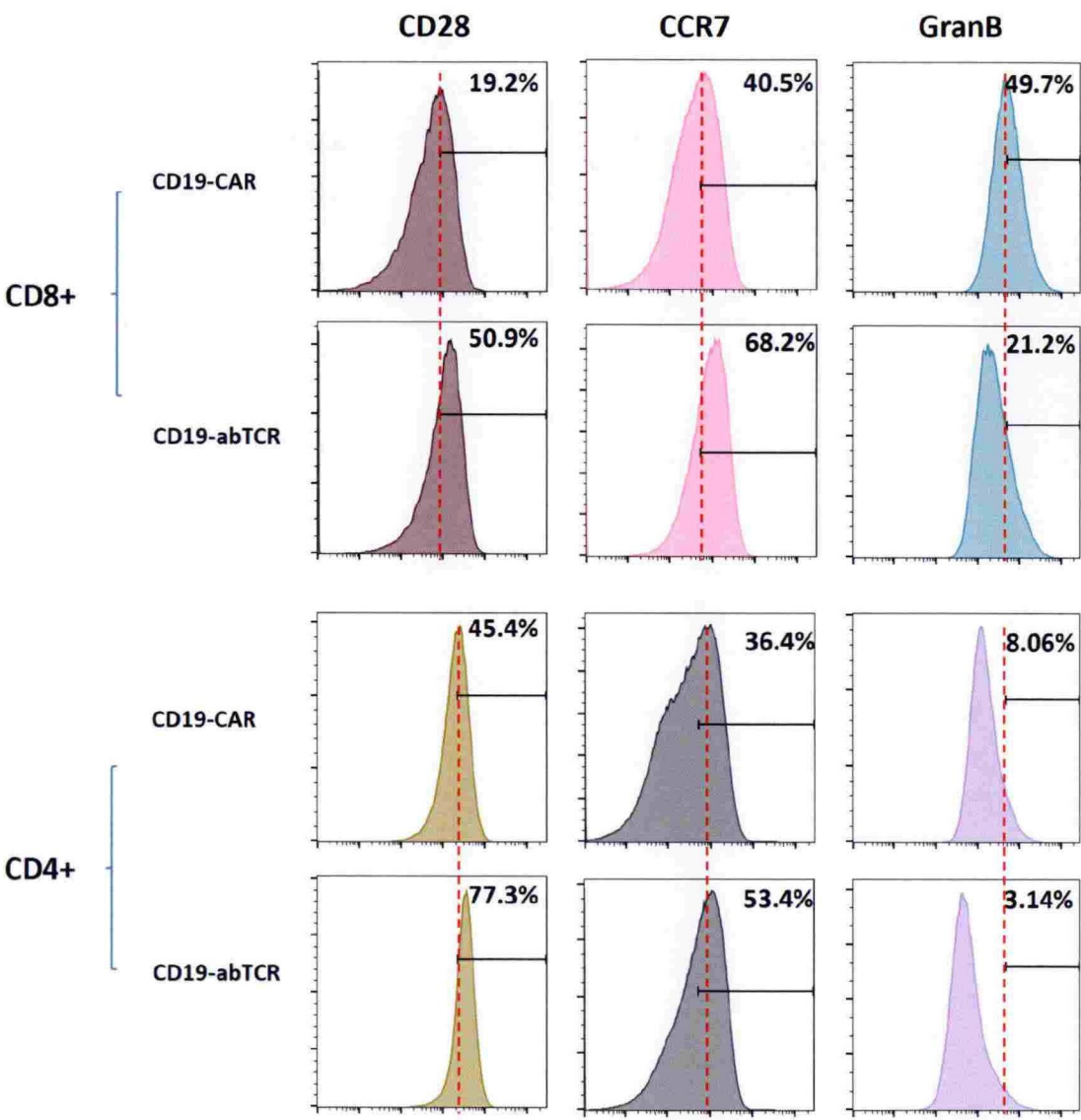
【圖18A】



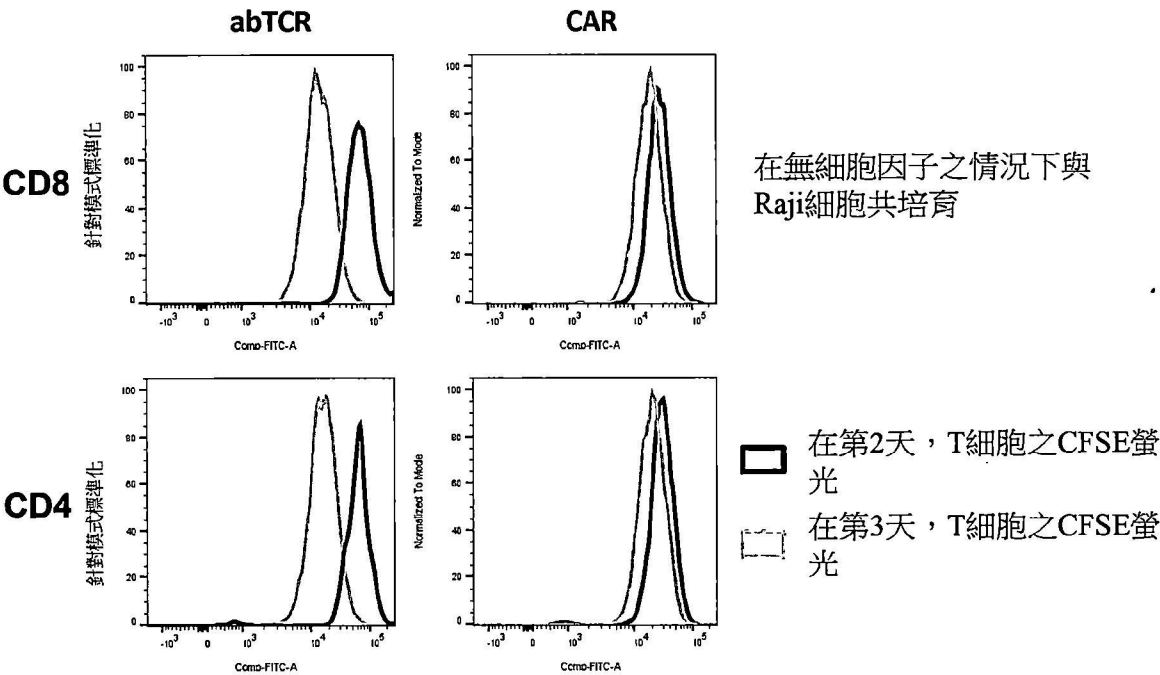
【圖18B】



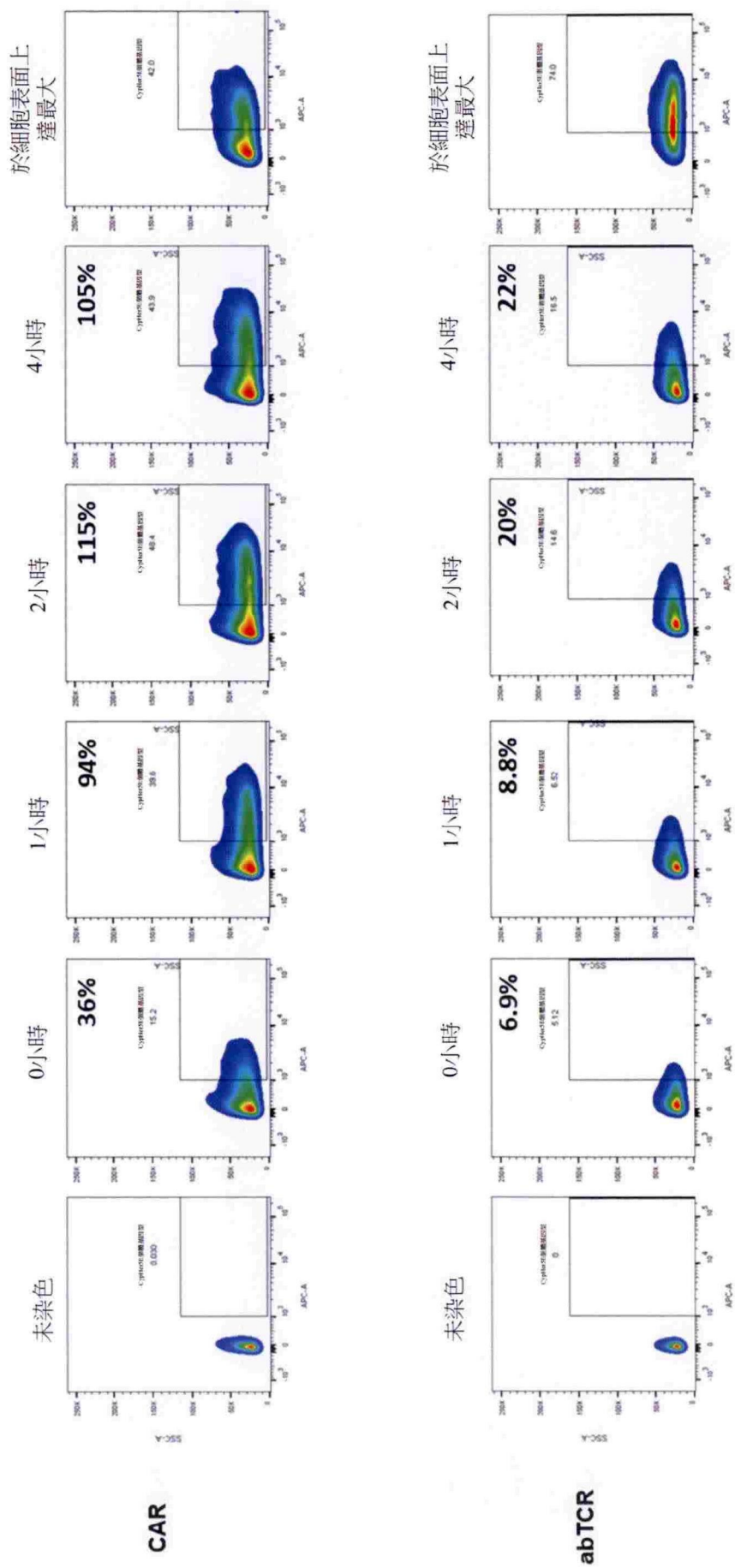
【圖19】



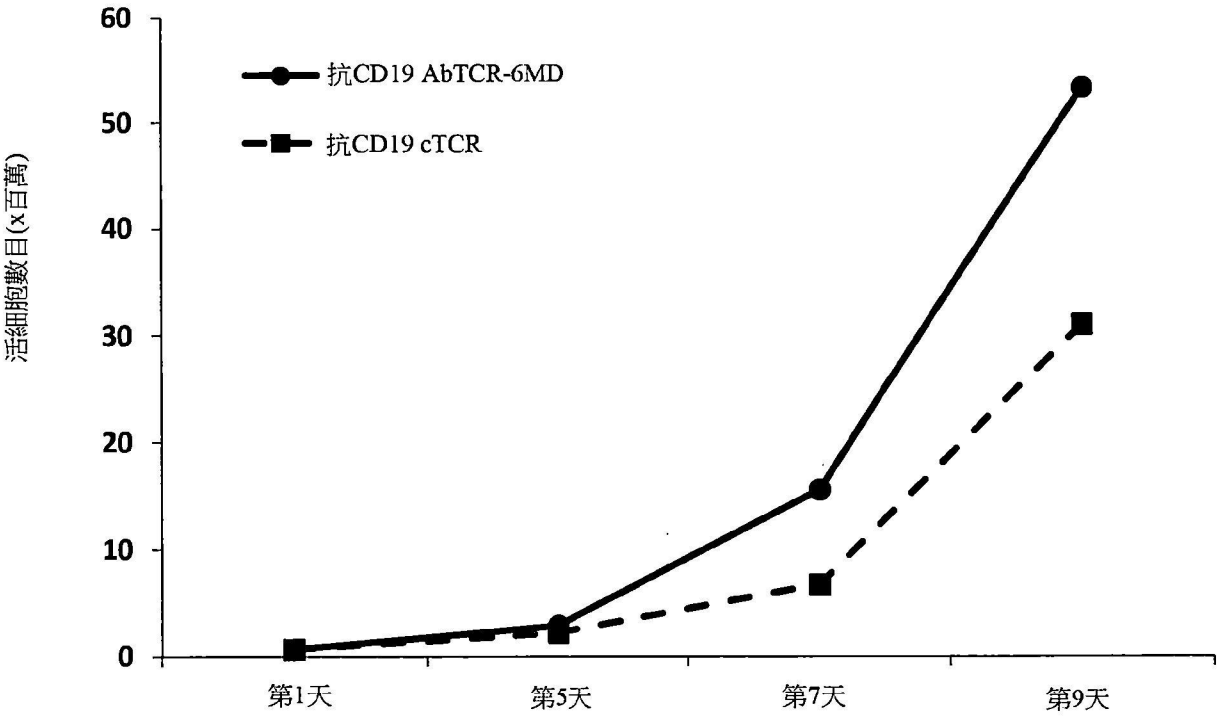
【圖20】



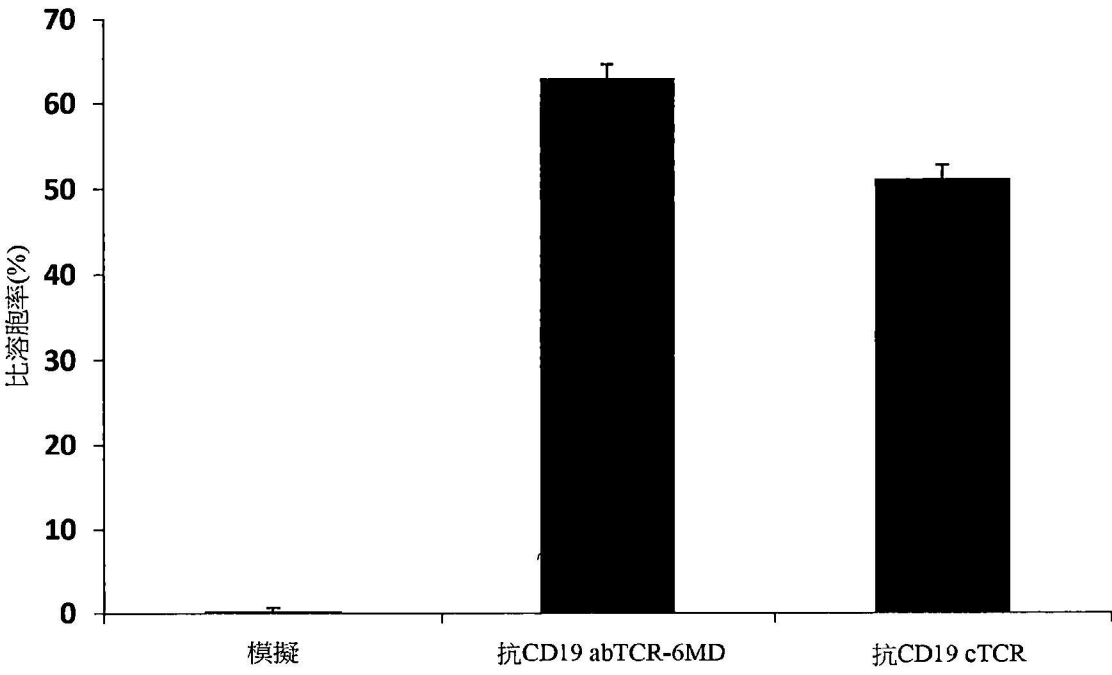
【圖21】



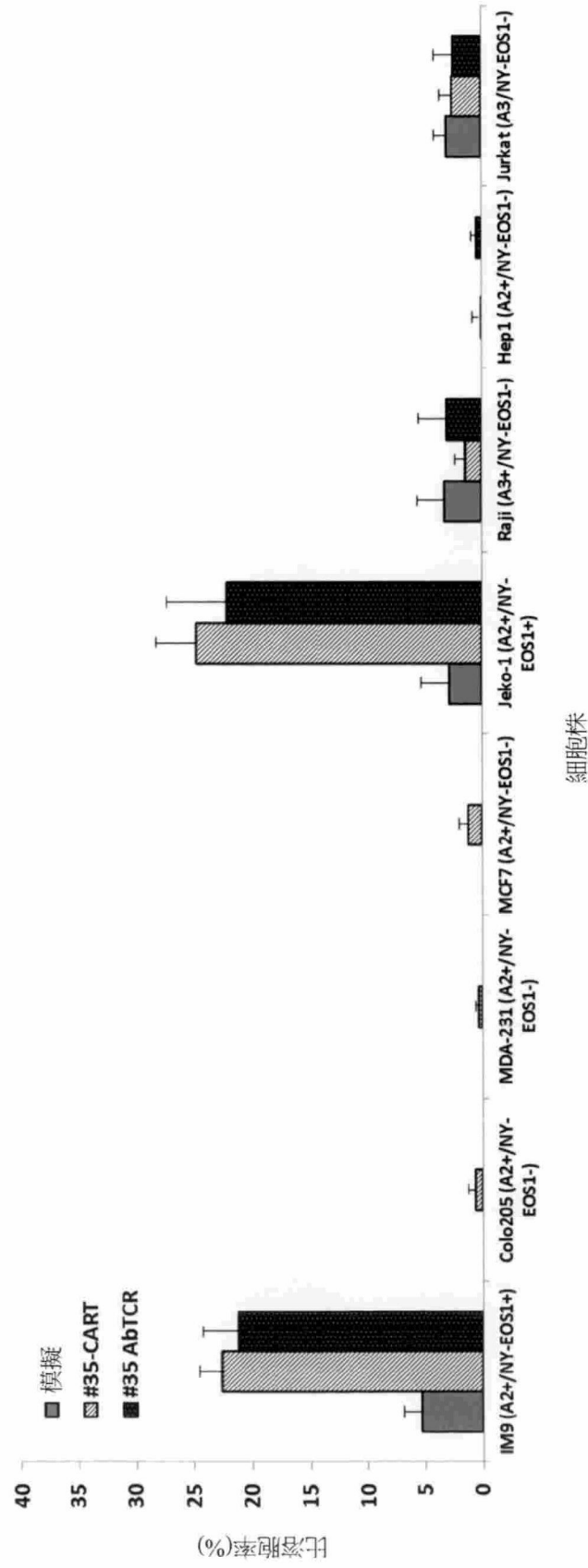
【圖22】



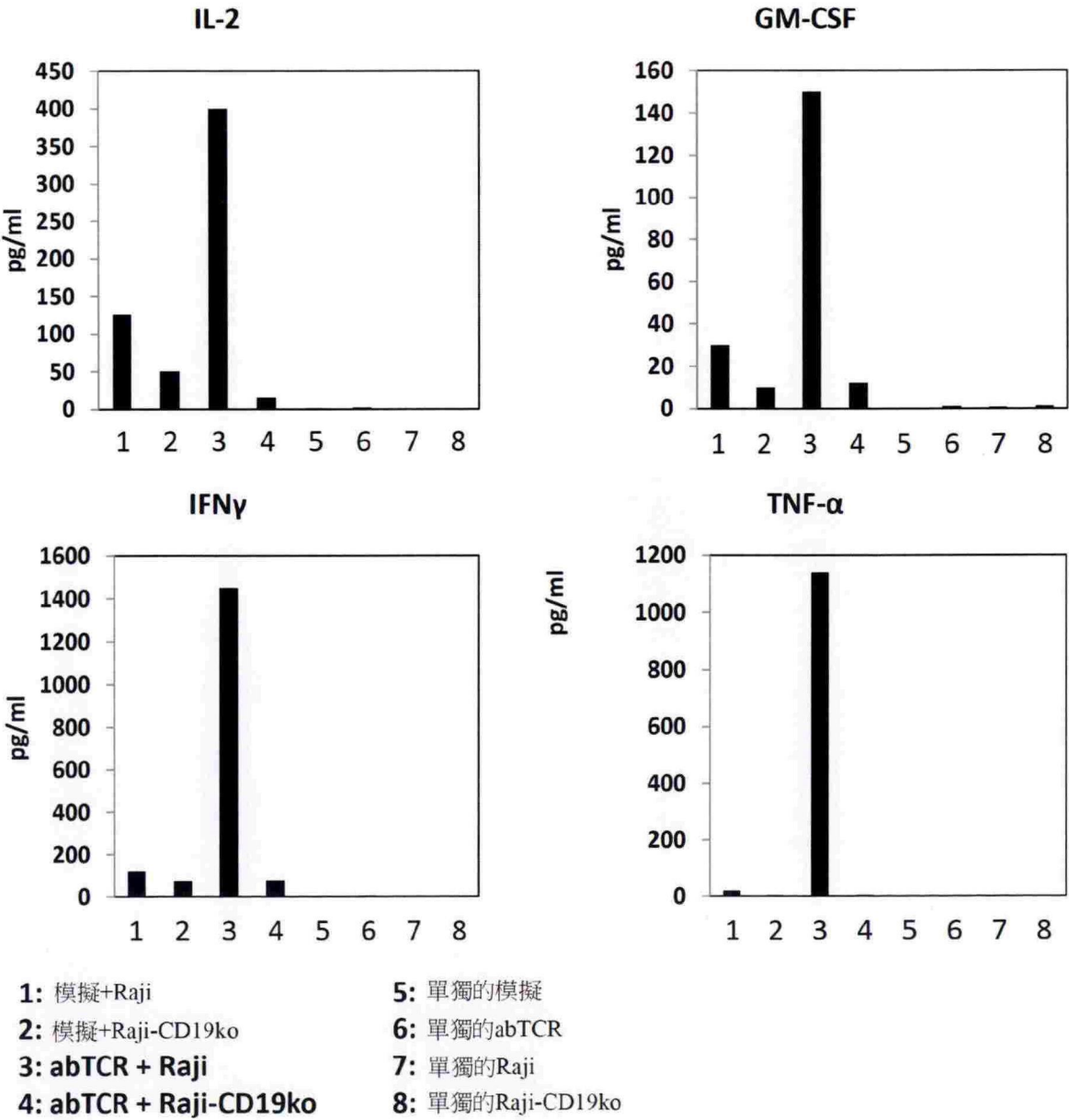
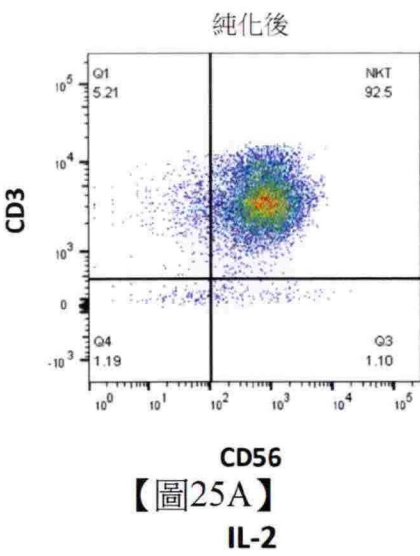
【圖23A】



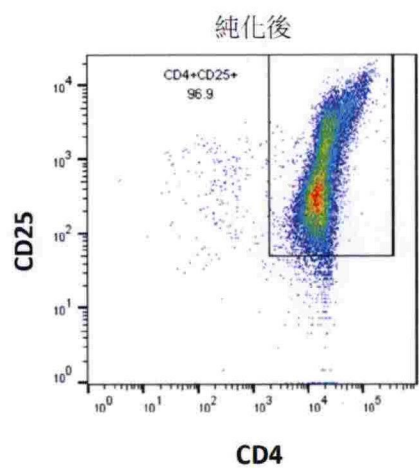
【圖23B】



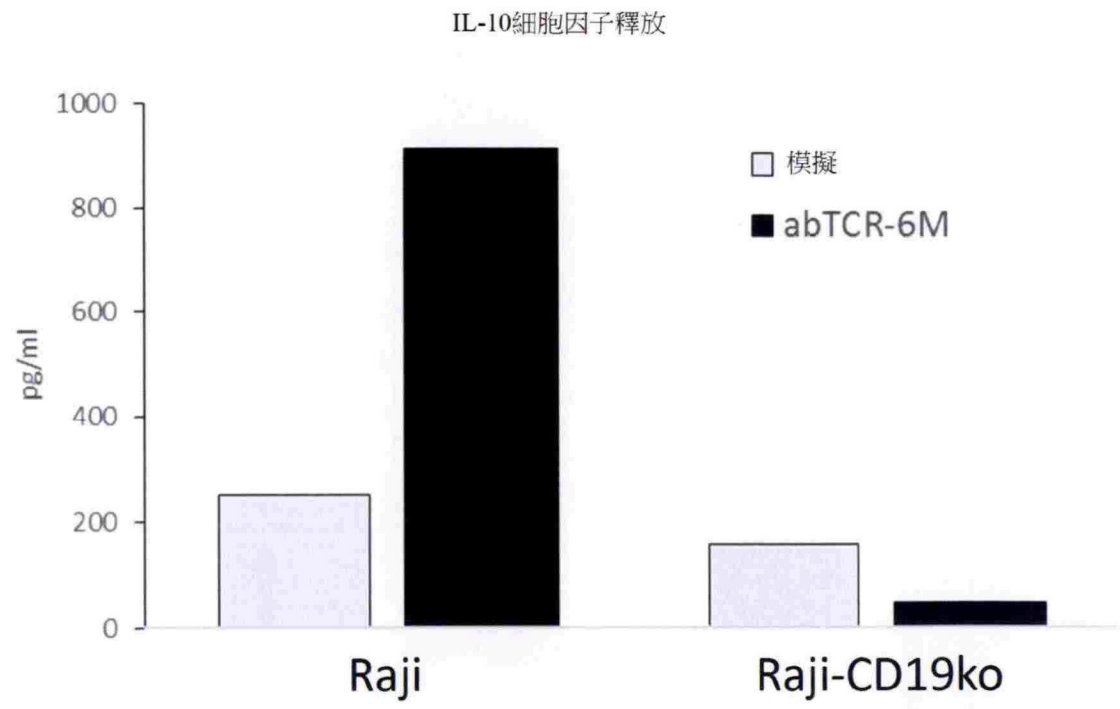
【圖24】



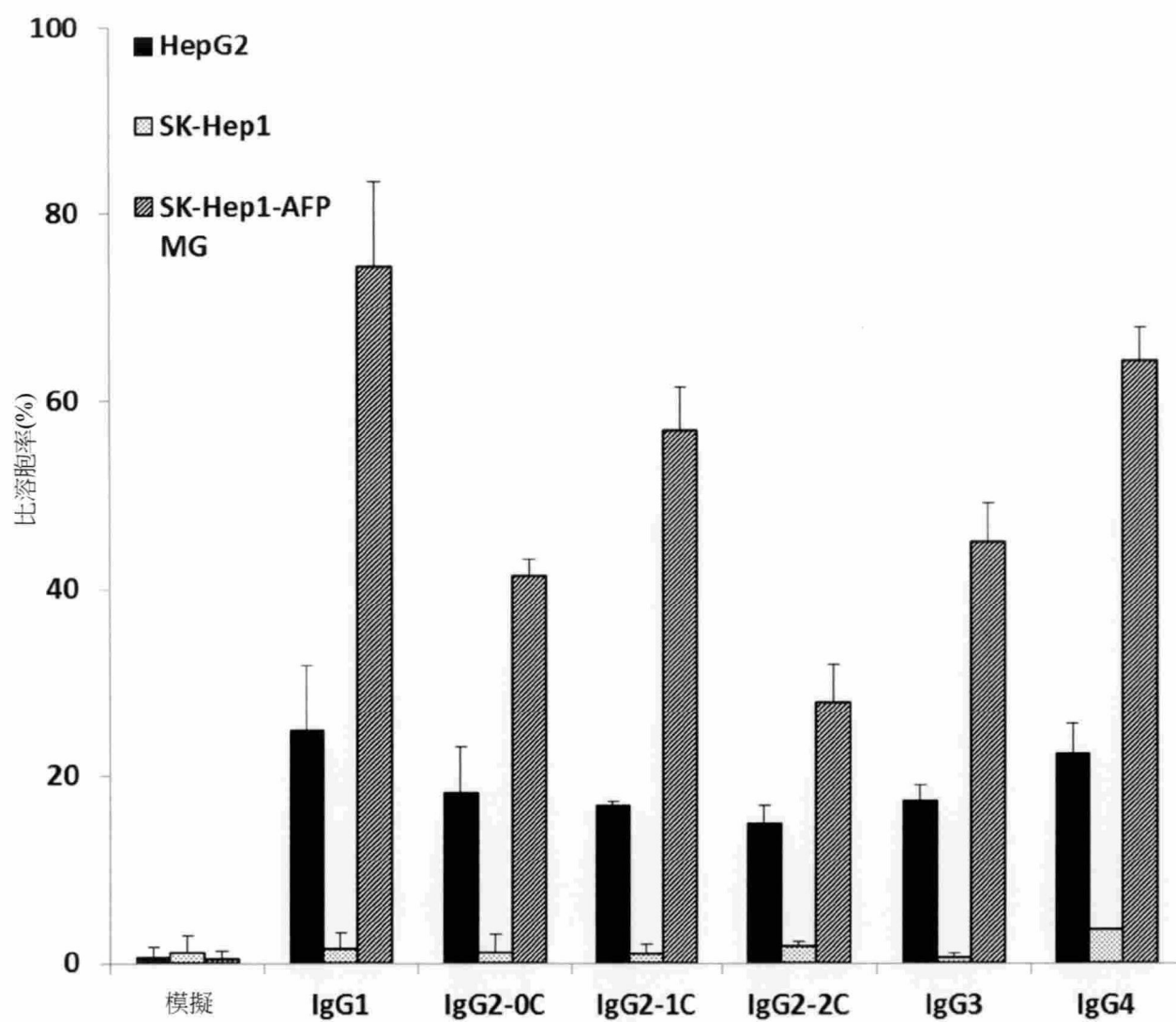
【圖25B】



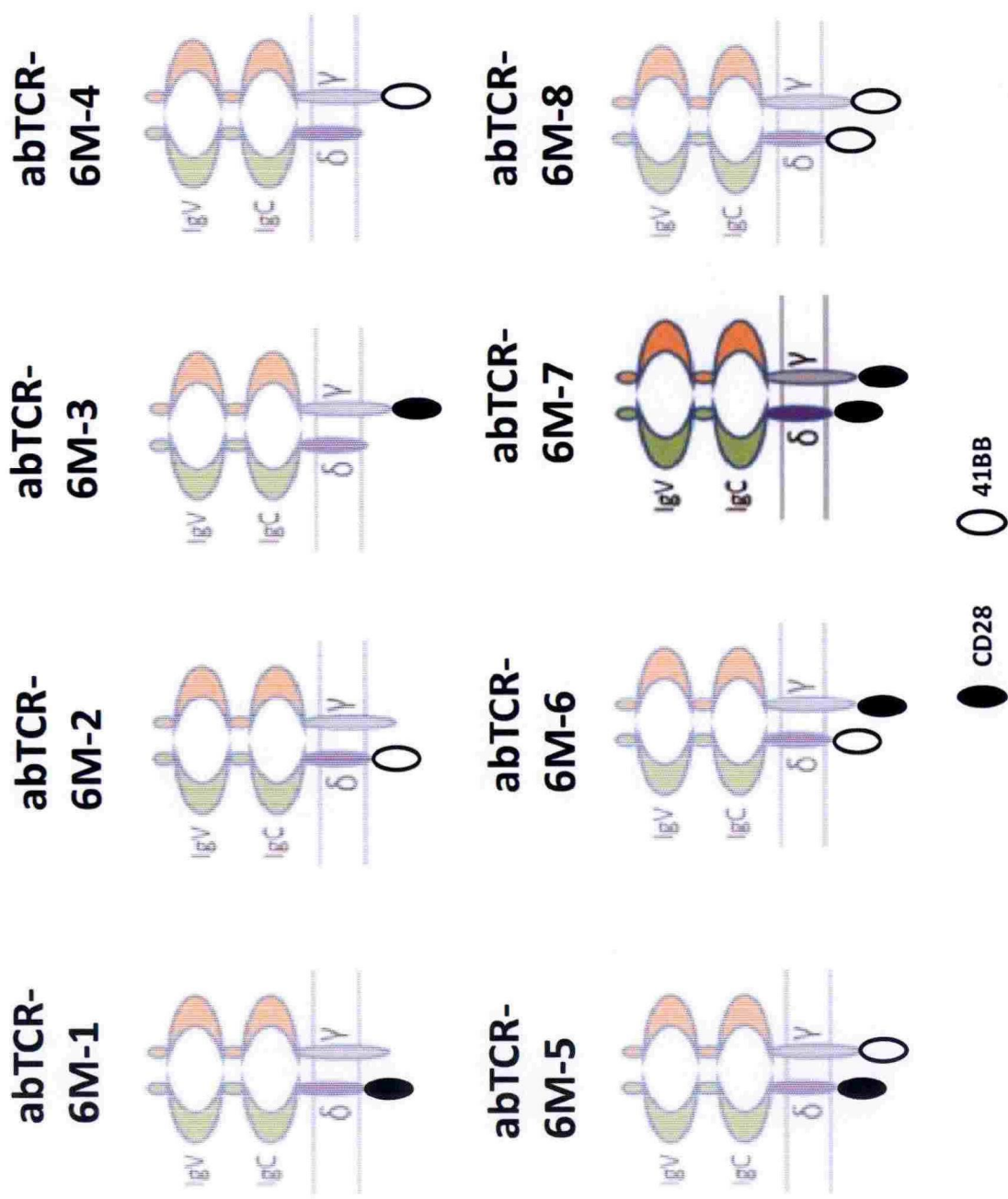
【圖26A】



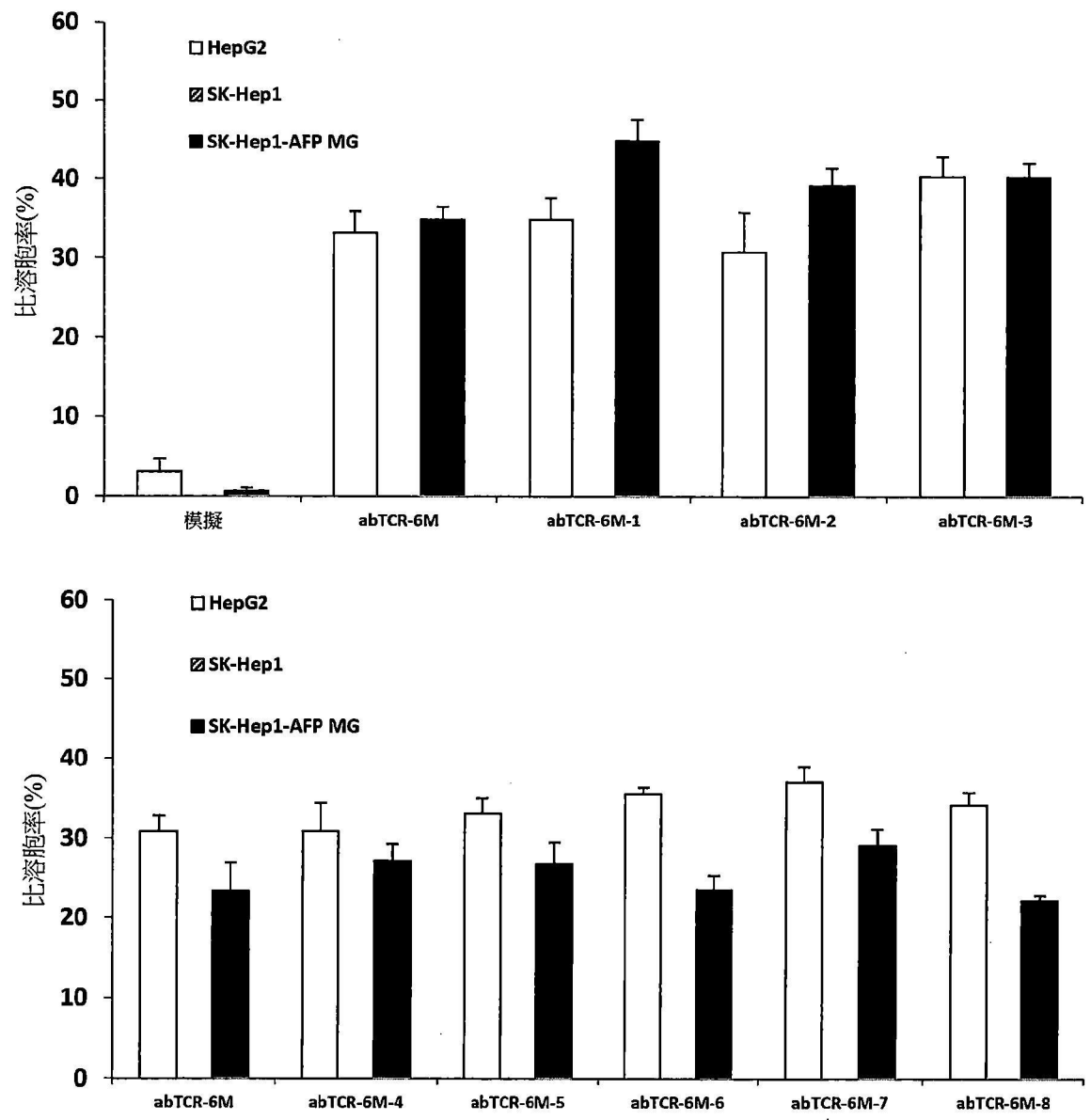
【圖26B】



【圖27】

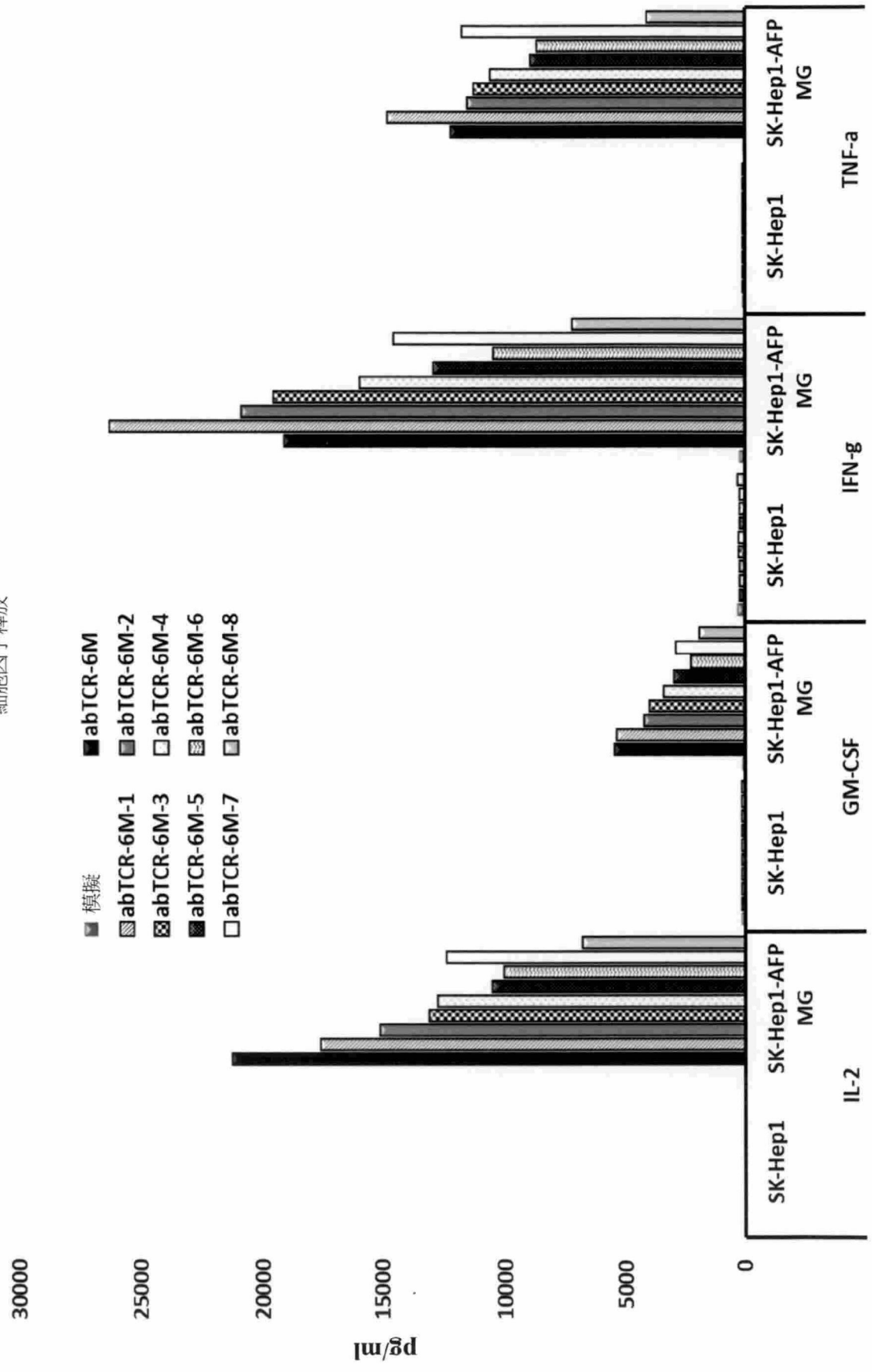


【圖28】

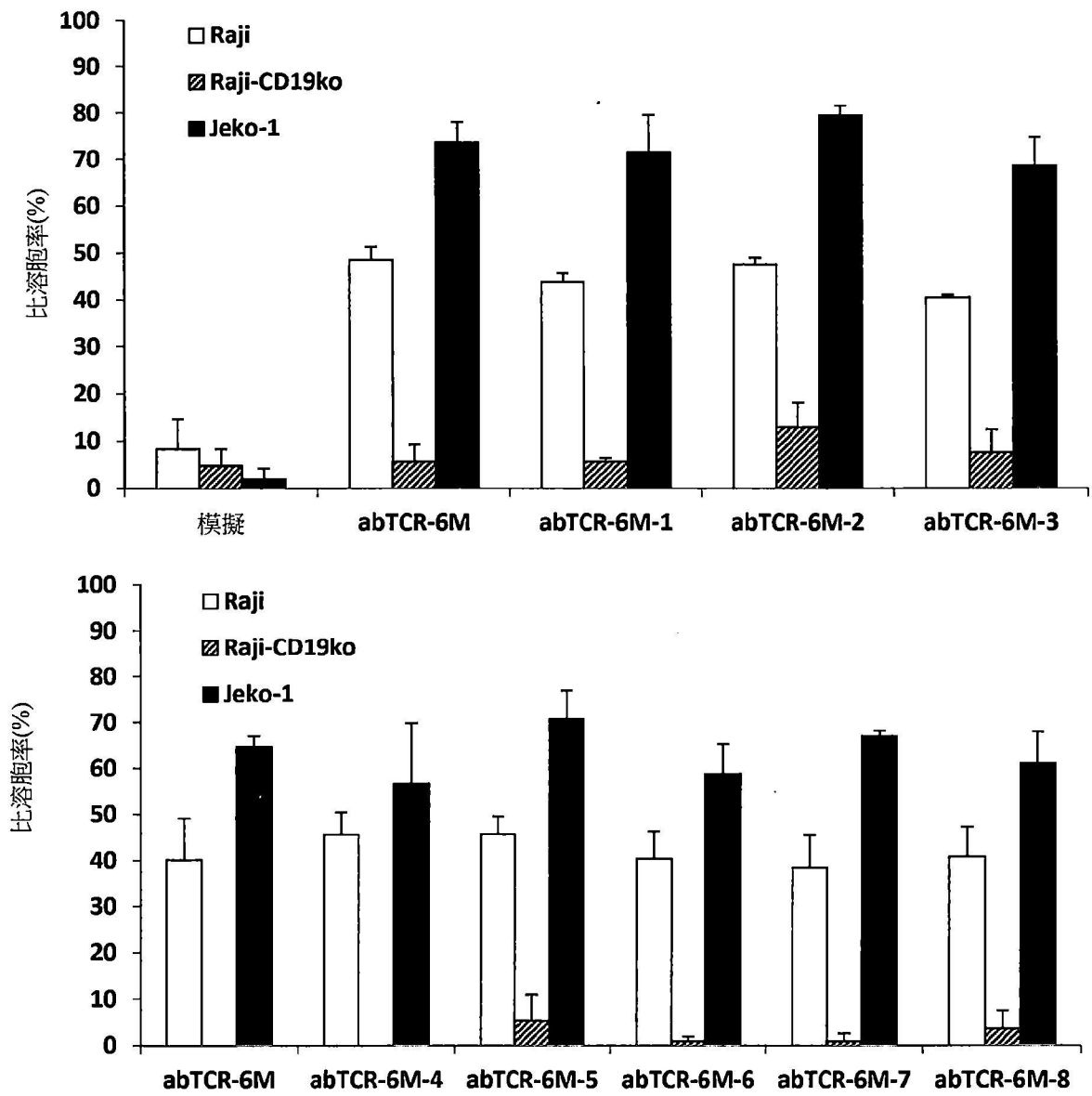


【圖29】

細胞因子釋放

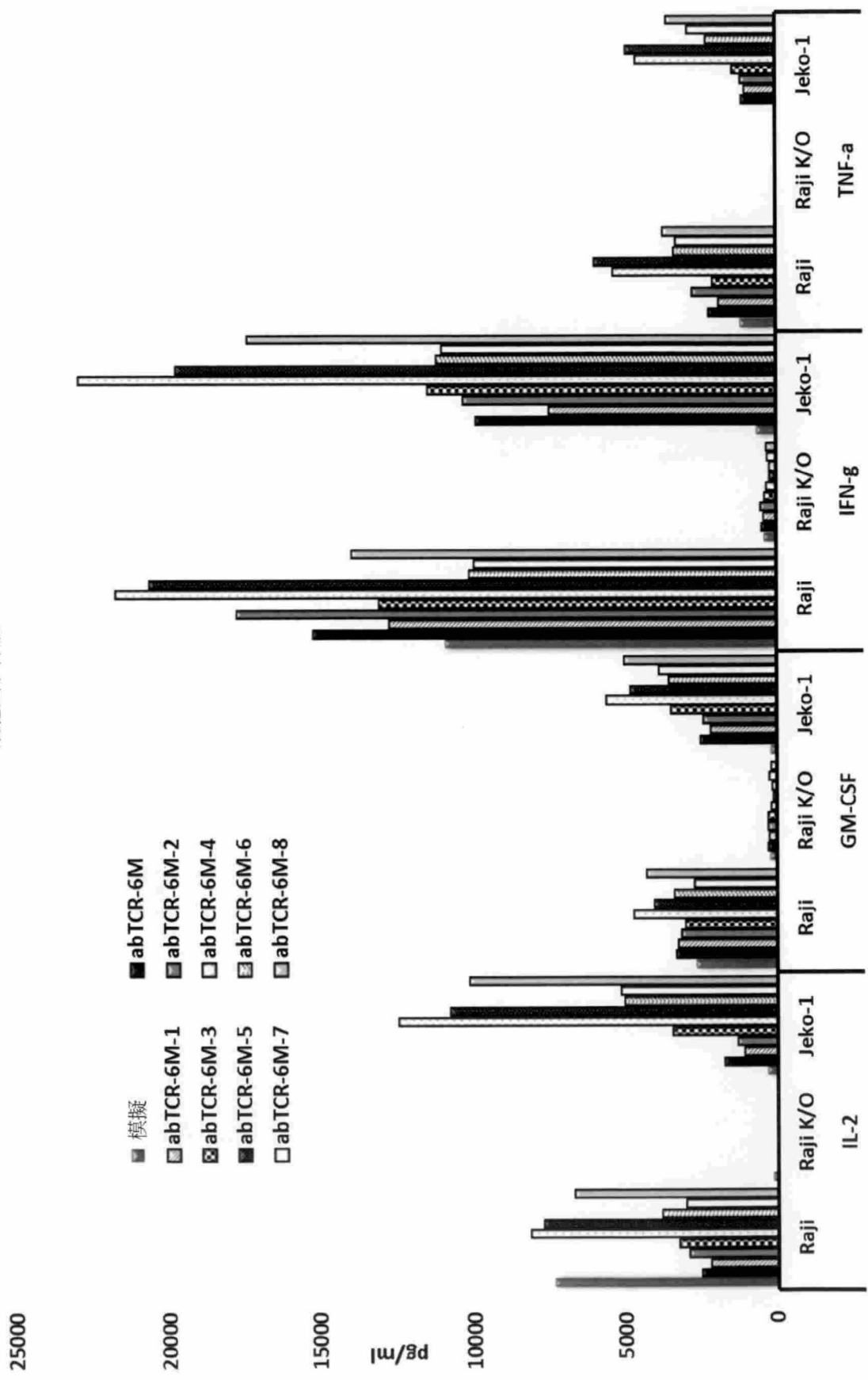


【圖 30】

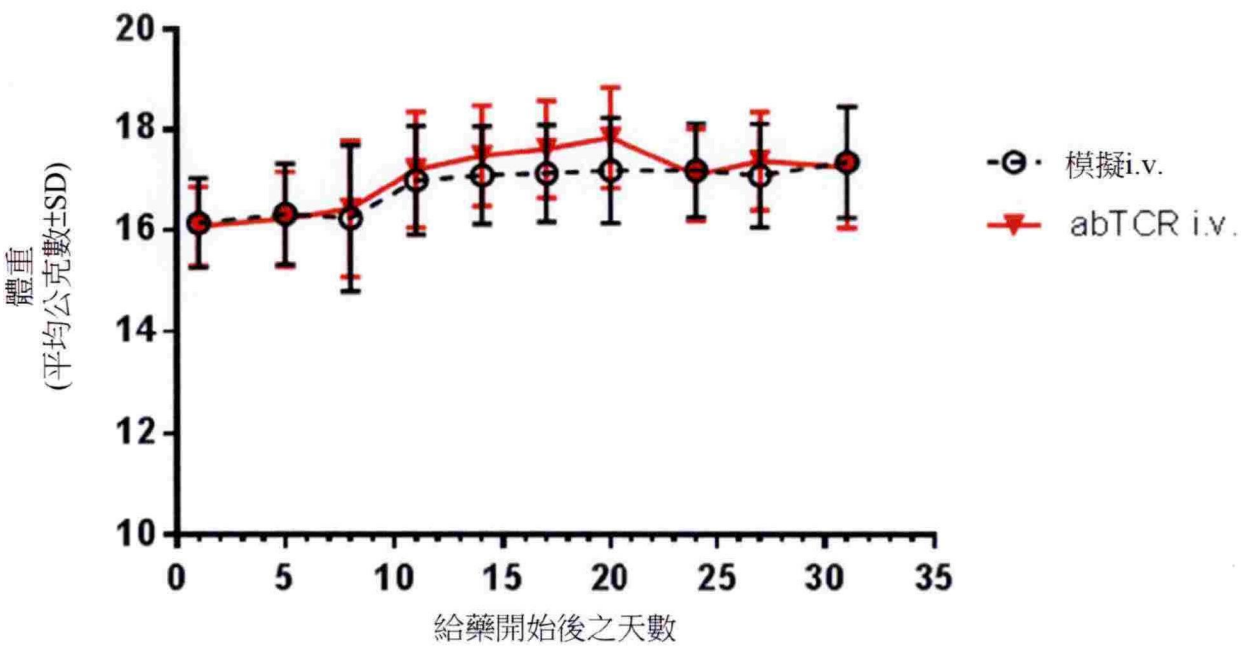


【圖31】

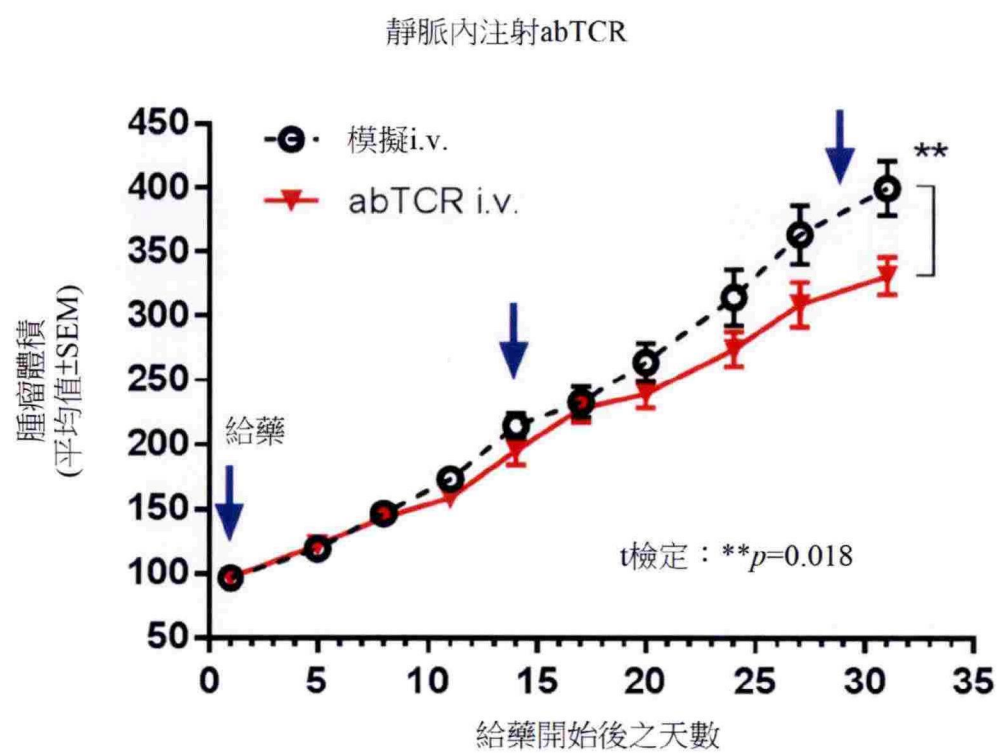
細胞因子釋放



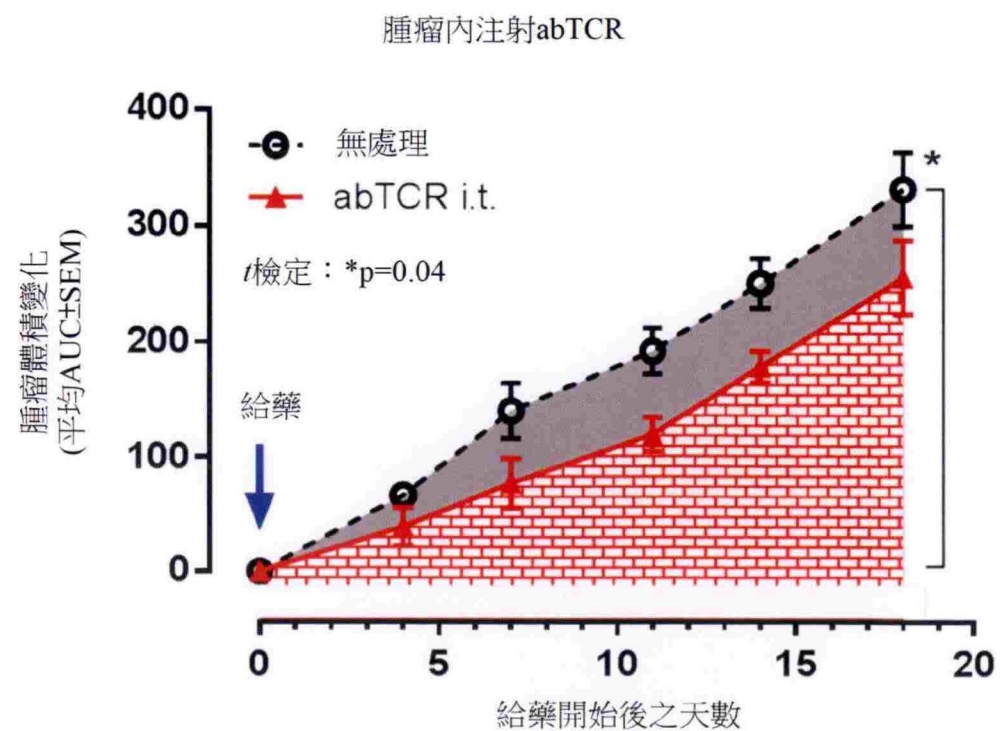
【圖32】



【圖33】

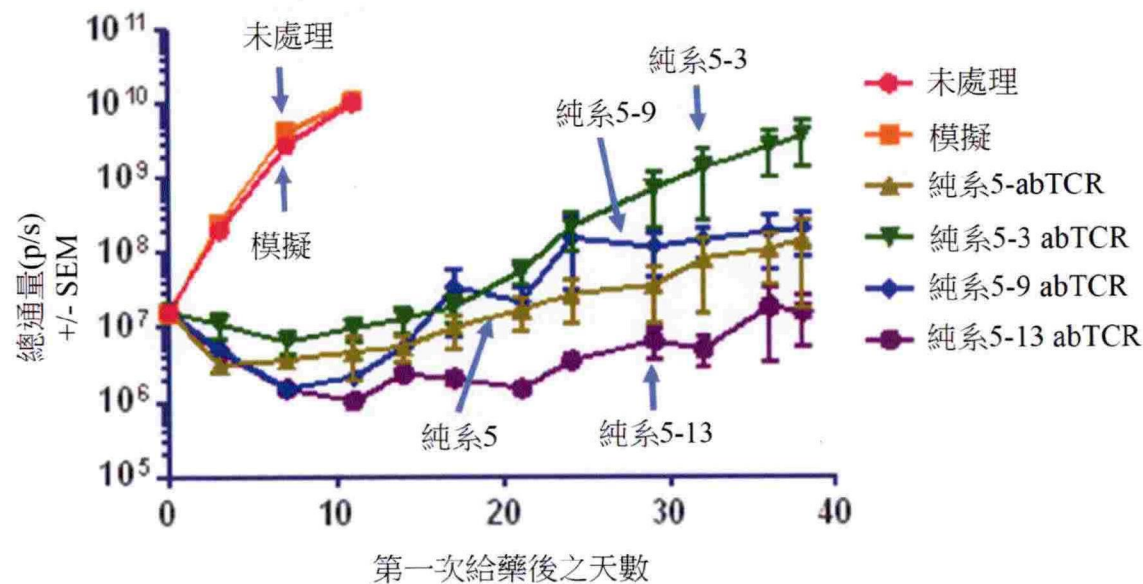


【圖34A】

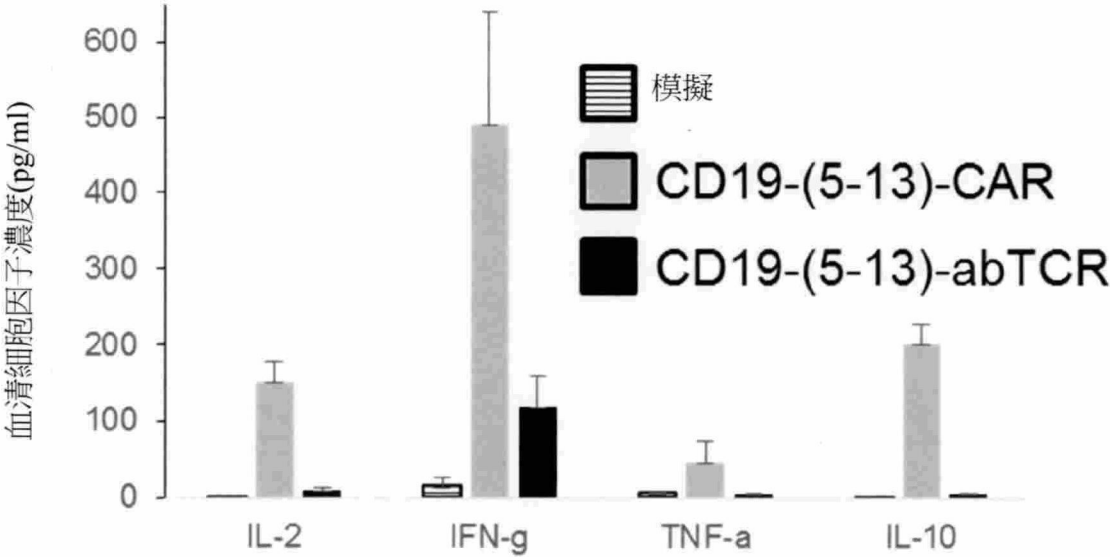


【圖34B】

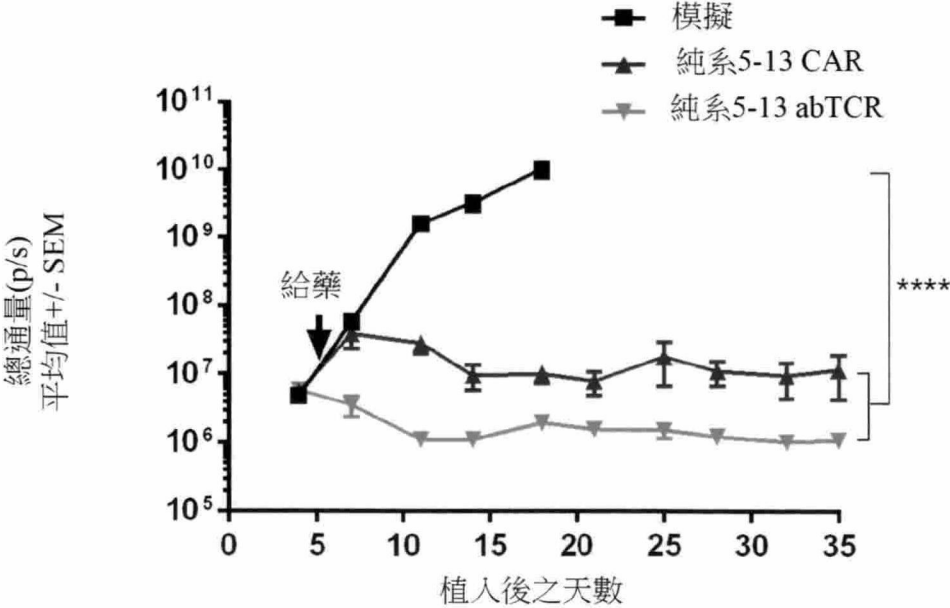
在NSG小鼠中之Raji B細胞淋巴瘤模型



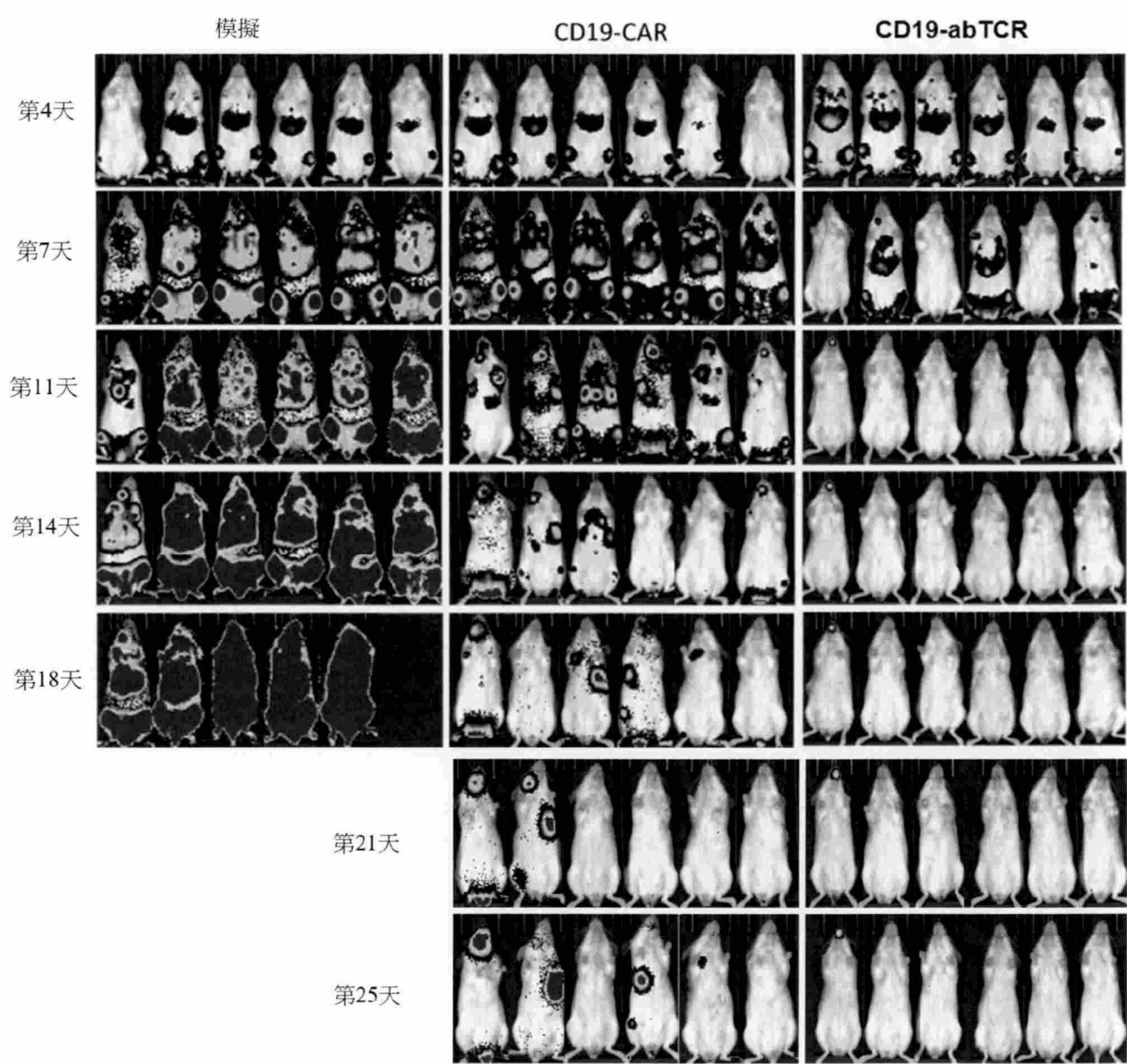
【圖35】



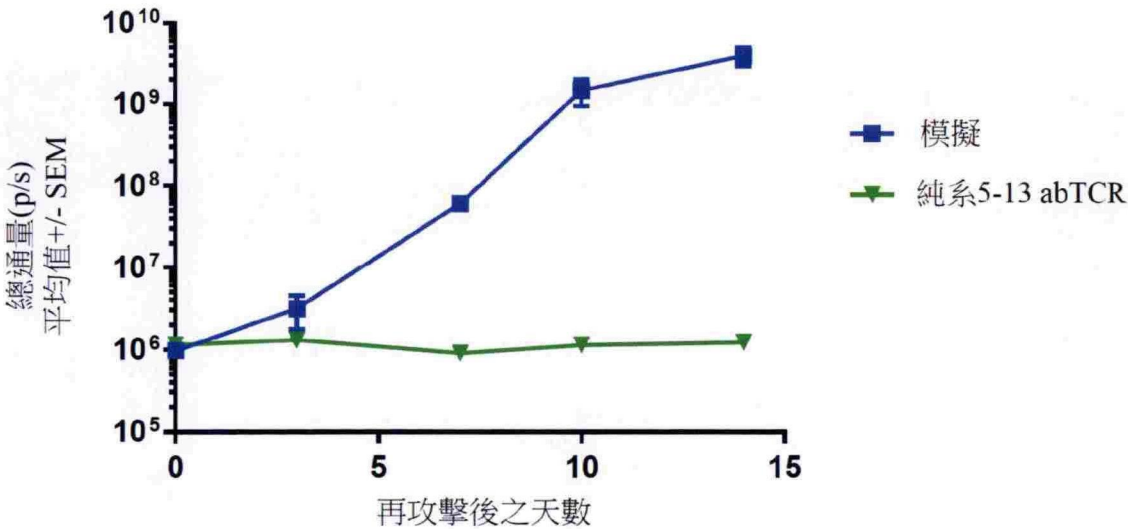
【圖36】



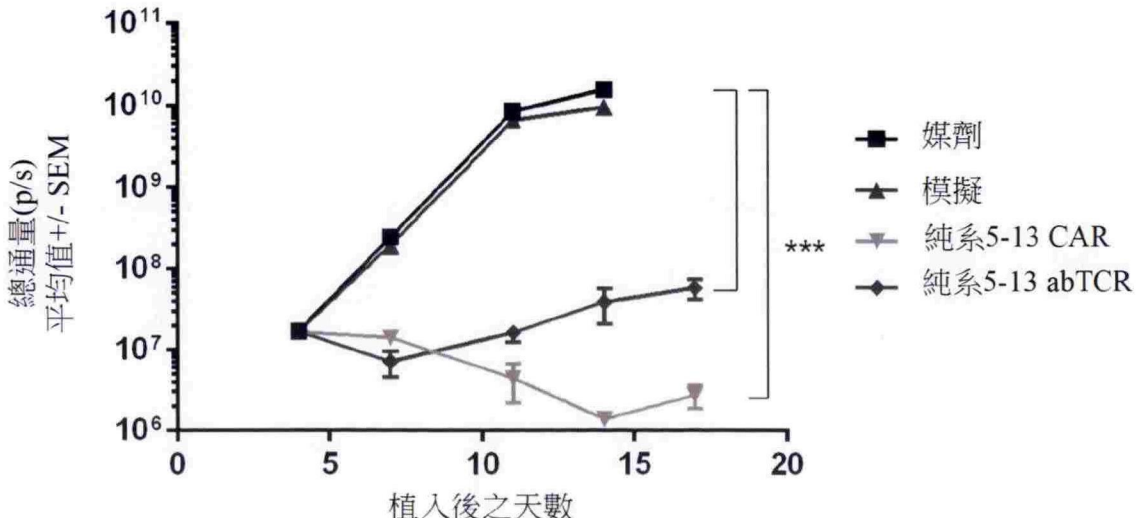
【圖37】



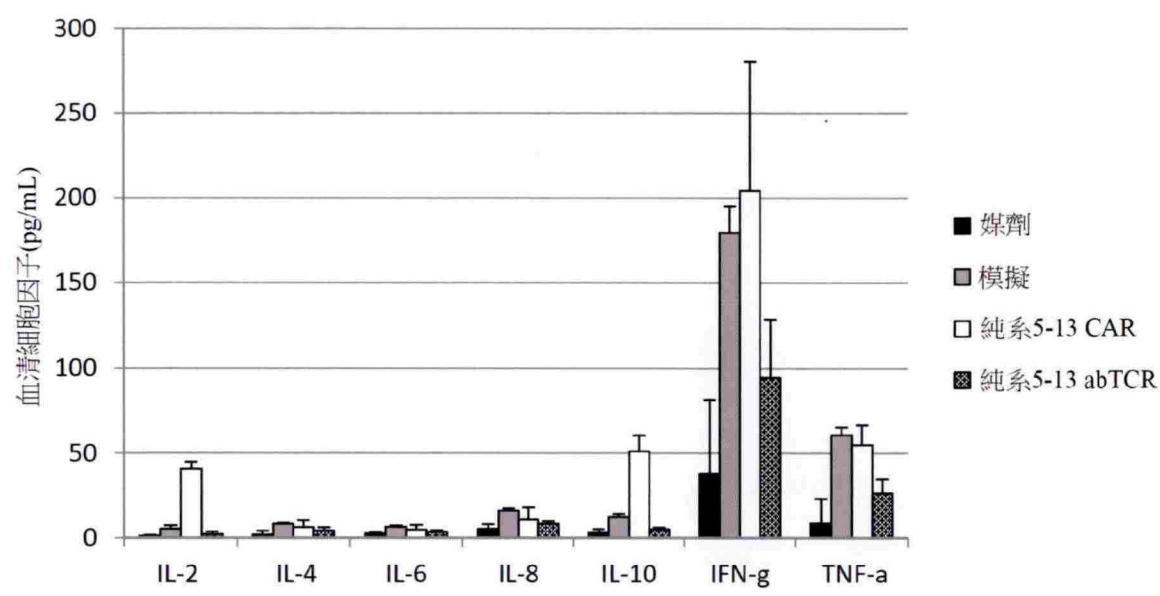
【圖38】



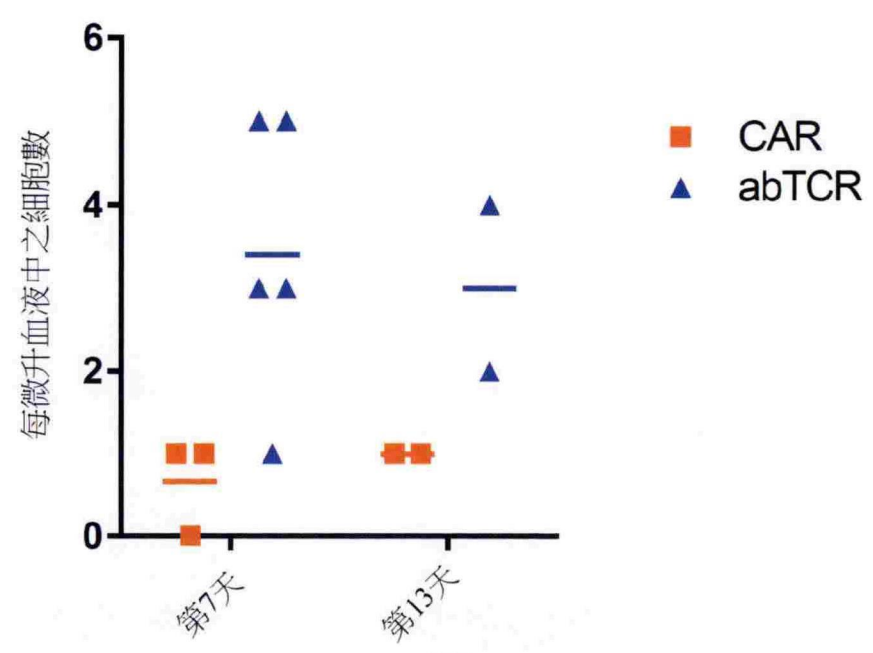
【圖39】



【圖40】

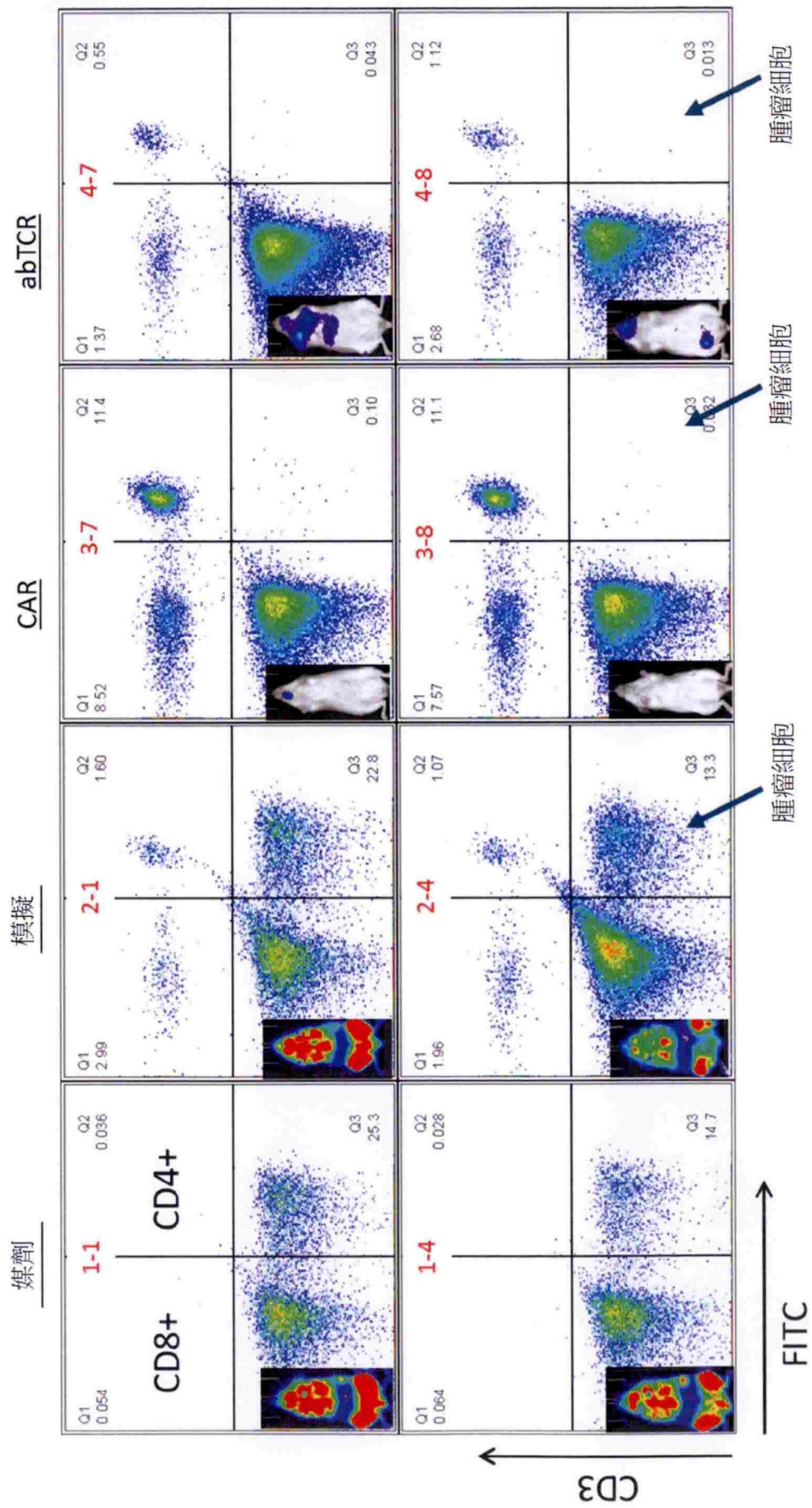


【圖41】



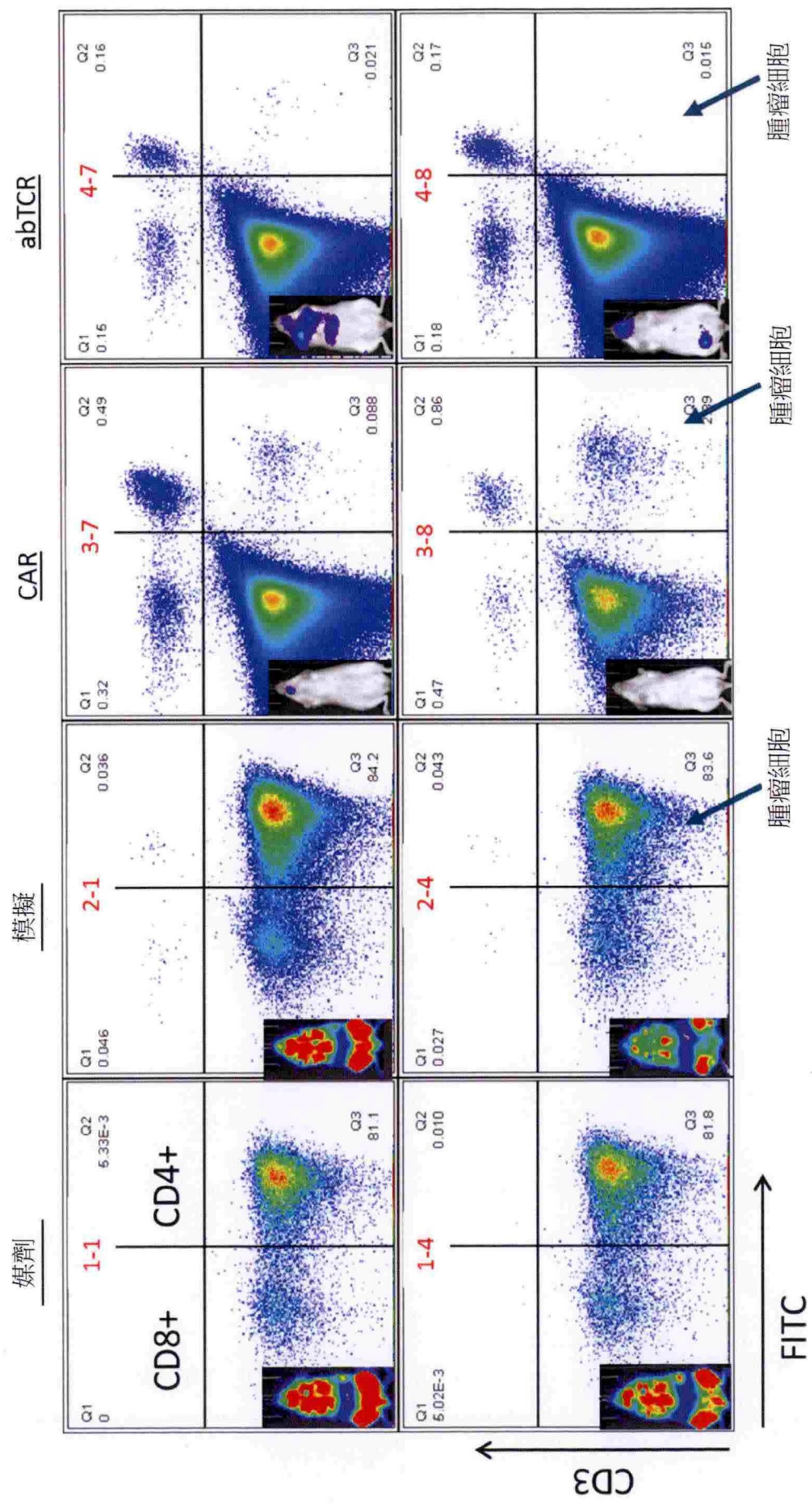
【圖42】

周邊血液



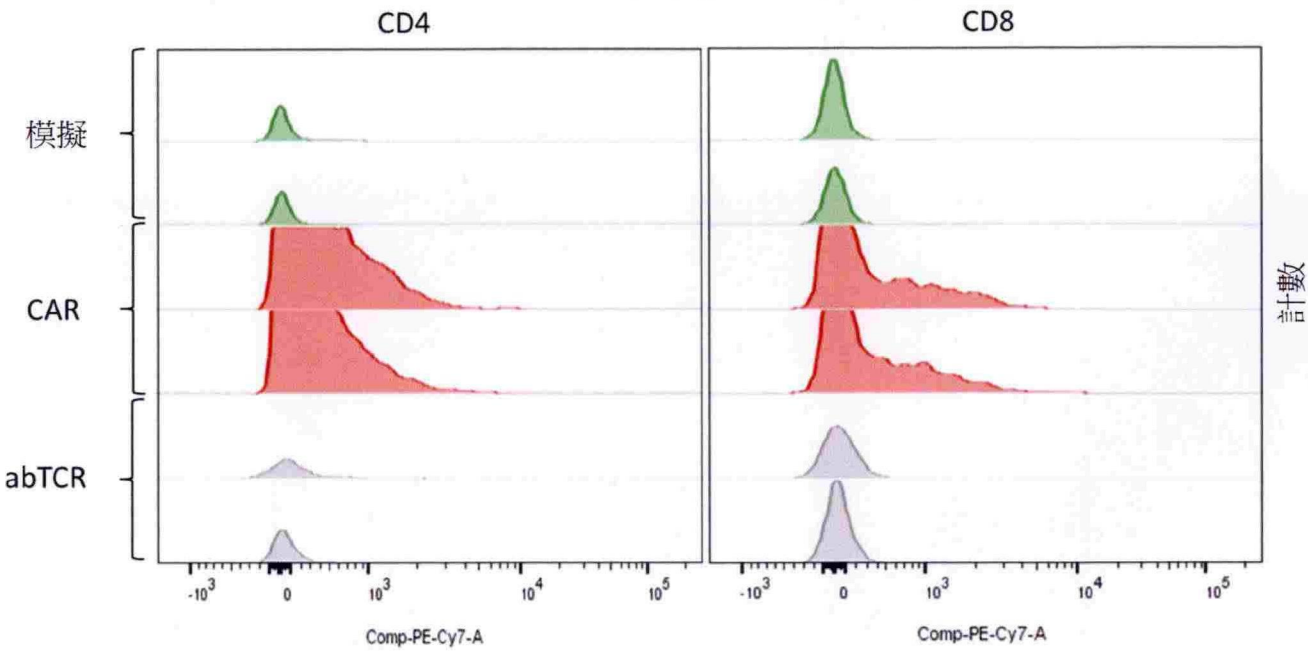
【圖43】

骨髓



【圖44】

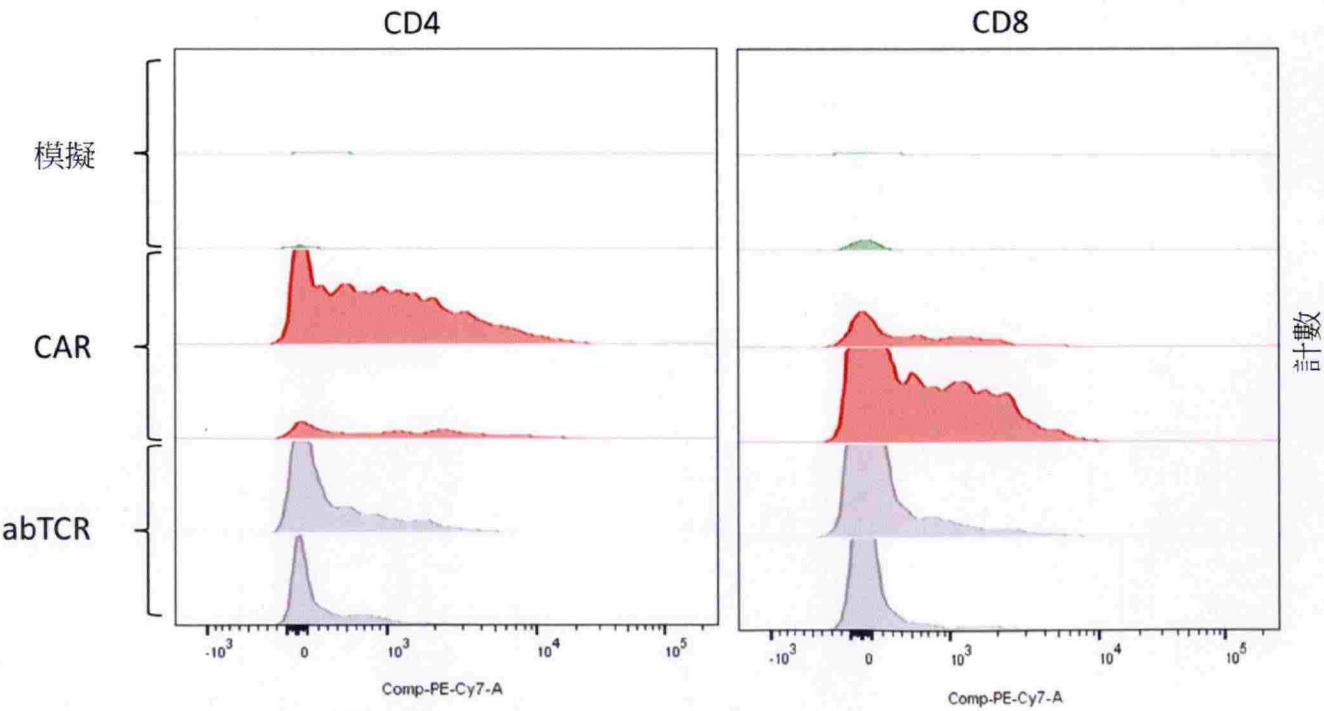
周邊血液，CD3+ T細胞



PD-1 →

【圖45】

骨髓，CD3+ T細胞



PD-1 →

【圖46】