(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 119546642 A
(43)申请公布日 2025.02.28

(21)申请号 202380045449.7
(22)申请日 2023.06.11
(30)优先权数据
2022115671 2022.06.09 RU
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2024.12.06
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/RU2023/050147 2023.06.11
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2023/239266 EN 2023.12.14
(71)申请人 拜奥卡德联合股份公司
地址 俄罗斯联邦圣彼得堡
(72)发明人 A·V·贝利亚斯尼科娃
O·L·基特曼诺娃
A·A·伊凡诺娃 V·Y·费里纳
A·S·萨维诺娃 D·V·莫洛佐夫
(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001
专利代理师 黄登高 彭昶
(51)Int.Cl.
C07K 16/30(2006.01)
C12N 15/13(2006.01)
C12N 15/63(2006.01)
C12N 5/0781(2006.01)
A61K 39/395(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)

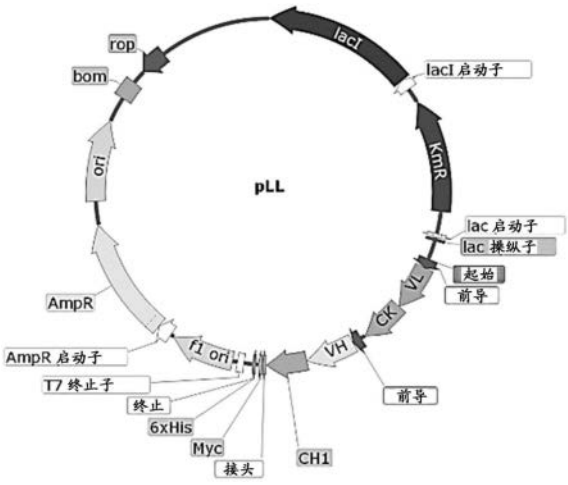
权利要求书10页 说明书38页
序列表（电子公布） 附图5页

(54)发明名称

特异性结合BCMA的单克隆抗体或其抗原结合片段及其用途

(57)摘要

本发明涉及生物技术和医药领域，具体涉及特异性结合BCMA的单克隆抗体或其抗原结合片段。本发明还涉及编码所述抗体的核酸、表达载体、宿主细胞及其生产方法、生产根据本发明的抗体的方法、包含根据本发明的抗体的药物组合物、包含根据本发明的抗体和其他治疗活性化合物的药物组合物、用于治疗BCMA介导的疾病或病症的方法、所述抗体或其药物组合物用于治疗BCMA介导的疾病或病症的用途、以及所述抗体和其他治疗活性化合物用于治疗BCMA介导的疾病或病症的用途。



CN 119546642 A

1.一种与BCMA特异性结合的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段,其包含:

(a)重链可变结构域,其包含:

(i)具有氨基酸序列SX$_1$X$_2$MS的CDR1,其中

X$_1$=S或G;

X$_2$=A、L或V;

(ii)具有氨基酸序列X$_3$YNGGSDRAGX$_4$X$_5$DSVX$_6$G的CDR2,其中

X$_3$=G或C;

X$_4$=F或Y;

X$_5$=A或T;

X$_6$=E或K;和

(iii)具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3;

和

(b)轻链可变结构域,其包含:

(i)具有氨基酸序列X$_7$GX$_8$X$_9$SNIGX$_{10}$X$_{11}$X$_{12}$X$_{13}$VX$_{14}$的CDR1,

其中

X$_7$=S或T;

X$_8$=S、G或T;

X$_9$=S、T、I或R;

X$_{10}$=O或A;

X$_{11}$=S、H、N、G或T;

X$_{12}$=N、R或Y;

X$_{13}$=T、A、I或D;

X$_{14}$=N或H;

(ii)具有氨基酸序列X$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$X$_{18}$RPS的CDR2,其中

X15=N、R、K、S或G;

X16=D、N、G、T或H;

X17=S、N或T;

X18=Q或N;

和

(iii)具有氨基酸序列X$_{19}$X$_{20}$WDX$_{21}$X$_{22}$X$_{23}$X$_{24}$X$_{25}$WX$_{26}$的CDR3,

其中

X$_{19}$=A或S;

X$_{20}$=A、S、T或V;

X$_{21}$=G、D、H或S;

X$_{22}$=S、D或R;

X$_{23}$=L或V;

X$_{24}$=N、T、R或S;

X$_{25}$=V、A、G或N;

X$_{26}$=M、V或L。

2.根据权利要求1所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述重链可变结构域包含具有选自下组的氨基酸序列的CDR1:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:3。

3.根据权利要求1所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述重链可变结构域包含具有选自下组的氨基酸序列的CDR2:SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5或SEQ ID NO:6。

4.根据权利要求1所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述轻链可变结构域包含具有选自下组的氨基酸序列的CDR1:SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14或SEQ ID NO:15。

5.根据权利要求1所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述轻链可变结构域包含具有选自下组的氨基酸序列的CDR2:SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23或SEQ ID NO:24。

6.根据权利要求1所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述轻链可变结构域包含具有选自下组的氨基酸序列的CDR3:SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34或SEQ ID NO:35。

7.根据权利要求1所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段,其包含重链可变结构域,所述重链可变结构域包含:

具有选自下组的氨基酸序列的CDR1:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:3;

具有选自下组的氨基酸序列的CDR2:SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5或SEQ ID NO:6;和

具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3。

8.根据权利要求7所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段,包含:

(i)重链可变结构域,包含:

具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的CDR1,

具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR2和

具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3;

(ii)重链可变结构域,包含:

具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的CDR1,

具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的CDR2和

具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3;

(iii)重链可变结构域,包含:

具有SEQ ID NO:3的氨基酸序列的CDR1,

具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR2和

具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3;

(iv)重链可变结构域,包含:

具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的CDR1,

具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR2和

具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3;或

(v)重链可变结构域,包含:

具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的CDR1,

具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的CDR2和

具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3。

9.根据权利要求1所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段,其包含轻链可变结构域,所述轻链可变结构域包含:

具有选自下组的氨基酸序列的CDR1:SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14或SEQ ID NO:15;

具有选自下组的氨基酸序列的CDR2:SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23或SEQ ID NO:24;和

具有选自下组的氨基酸序列的CDR3:SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34或SEQ ID NO:35。

10.根据权利要求9所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段,包含:

(i)轻链可变结构域,包含:

具有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的CDR1,

具有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的CDR2和

具有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的CDR3;

(ii)轻链可变结构域,包含:

具有SEQ ID NO:9的氨基酸序列的CDR1,

具有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR2和

具有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的CDR3;

(iii)轻链可变结构域,包含:

具有SEQ ID NO:10的氨基酸序列的CDR1,

具有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR2和

具有SEQ ID NO:27的氨基酸序列的CDR3;

(iv)轻链可变结构域,包含:

具有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的CDR1,

具有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的CDR2和

具有SEQ ID NO:28的氨基酸序列的CDR3;

(v)轻链可变结构域,包含:

具有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR1,

具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR2和

具有SEQ ID NO:29的氨基酸序列的CDR39;

(vi)轻链可变结构域,包含:

具有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR1,

具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR2和

具有SEQ ID NO:30的氨基酸序列的CDR3;

(vii)轻链可变结构域,包含:

具有SEQ ID NO:10的氨基酸序列的CDR1,

具有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的CDR2和

具有SEQ ID NO:31的氨基酸序列的CDR3;

(viii)轻链可变结构域,包含:

具有SEQ ID NO:13的氨基酸序列的CDR1,

具有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的CDR2和

具有SEQ ID NO:32的氨基酸序列的CDR3;

(ix)轻链可变结构域,包含:

具有SEQ ID NO:14的氨基酸序列的CDR1,

具有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的CDR2和

具有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的CDR3;

(x)轻链可变结构域,包含:

具有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的CDR1,

具有SEQ ID NO:24的氨基酸序列的CDR2和

具有SEQ ID NO:34的氨基酸序列的CDR3;或

(xi)轻链可变结构域,包含:

具有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDR1,

具有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR2和

具有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的CDR3。

11.根据权利要求1所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段,包含:

(a)重链可变结构域,包含:

具有选自下组的氨基酸序列的CDR1:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:3;

具有选自下组的氨基酸序列的CDR2:SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5或SEQ ID NO:6;和

具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3;和

(b)轻链可变结构域,包含:

具有选自下组的氨基酸序列的CDR1:SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14或SEQ ID NO:15;

具有选自下组的氨基酸序列的CDR2:SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23或SEQ ID NO:24;和

具有选自下组的氨基酸序列的CDR3:SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ IDNO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34或SEQ ID NO:35。

12.根据权利要求11所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段,包含:

(i)(a)重链可变结构域,包含:

具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的CDR1,

具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR2和

具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3;和

(b)轻链可变结构域,包含:

具有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的CDR1,

具有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的CDR2和

具有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的CDR3;

(ii)(a)重链可变结构域,包含:
具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的CDR1,
具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的CDR2和
具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3;和
(b)轻链可变结构域,包含:
具有SEQ ID NO:9的氨基酸序列的CDR1,
具有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR2和
具有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的CDR3;
(iii)(a)重链可变结构域,包含:
具有SEQ ID NO:3的氨基酸序列的CDR1,
具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR2和
具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3;和
(b)轻链可变结构域,包含:
具有SEQ ID NO:10的氨基酸序列的CDR1,
具有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR2和
具有SEQ ID NO:27的氨基酸序列的CDR3;
(iv)(a)重链可变结构域,包含:
具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的CDR1,
具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR2和
具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3;和
(b)轻链可变结构域,包含:
具有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的CDR1,
具有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的CDR2和
具有SEQ ID NO:28的氨基酸序列的CDR3;
(v)(a)重链可变结构域,包含:
具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的CDR1,
具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的CDR2和
具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3;和
(b)轻链可变结构域,包含:
具有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR1,
具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR2和
具有SEQ ID NO:29的氨基酸序列的CDR39;
(vi)(a)重链可变结构域,包含:
具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的CDR1,
具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的CDR2和
具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3;和
(b)轻链可变结构域,包含:
具有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR1,
具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR2和

具有SEQ ID NO:30的氨基酸序列的CDR3;
(vii)(a)重链可变结构域,包含:
具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的CDR1,
具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的CDR2和
具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3;和
(b)轻链可变结构域,包含:
具有SEQ ID NO:10的氨基酸序列的CDR1,
具有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的CDR2和
具有SEQ ID NO:31的氨基酸序列的CDR3;
(viii)(a)重链可变结构域,包含:
具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的CDR1,
具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的CDR2和
具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3,和
(b)轻链可变结构域,包含:
具有SEQ ID NO:13的氨基酸序列的CDR1,
具有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的CDR2和
具有SEQ ID NO:32的氨基酸序列的CDR3;
(ix)(a)重链可变结构域,包含:
具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的CDR1,
具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的CDR2和
具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3;和
(b)轻链可变结构域,包含:
具有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR1,
具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR2和
具有SEQ ID NO:30的氨基酸序列的CDR3;
(x)(a)重链可变结构域,包含:
具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的CDR1,
具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR2和
具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3;和
(b)轻链可变结构域,包含:
具有SEQ ID NO:14的氨基酸序列的CDR1,
具有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的CDR2和
具有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的CDR3;
(xi)(a)重链可变结构域,包含:
具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的CDR1,
具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR2和
具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3;和
(b)轻链可变结构域,包含:
具有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的CDR1,

具有SEQ ID NO:24的氨基酸序列的CDR2和

具有SEQ ID NO:34的氨基酸序列的CDR3;或

(xii)(a)重链可变结构域,包含:

具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的CDR1,

具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的CDR2和

具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3;和

(b)轻链可变结构域,包含:

具有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDR1,

具有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR2和

具有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的CDR3。

13.根据权利要求1所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述重链可变结构域包含选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42或SEQ ID NO:43。

14.根据权利要求1所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述轻链可变结构域包含选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:53或SEQ ID NO:54。

15.根据权利要求1所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段,其中:

(a)重链可变结构域包含选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42或SEQ ID NO:43;和

(b)轻链可变结构域包含选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:53或SEQ ID NO:54。

16.根据权利要求15所述的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段,其中:

(i)(a)重链可变结构域包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列,和

(b)轻链可变结构域包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列;

(ii)(a)重链可变结构域包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列,和

(b)轻链可变结构域包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列;

(iii)(a)重链可变结构域包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列,和

(b)轻链可变结构域包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列;

(iv)(a)重链可变结构域包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列,和

(b)轻链可变结构域包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列;

(v)(a)重链可变结构域包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列,和

(b)轻链可变结构域包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列;

(vi)(a)重链可变结构域包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列,和

(b)轻链可变结构域包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列;

(vii)(a)重链可变结构域包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列,和

(b)轻链可变结构域包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列;

(viii)(a)重链可变结构域包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列,和

(b)轻链可变结构域包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列;

(ix)(a)重链可变结构域包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列,和

(b)轻链可变结构域包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列;

(x)(a)重链可变结构域包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列,和

(b)轻链可变结构域包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列;

(xi)(a)重链可变结构域包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列,和

(b)轻链可变结构域包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列;或

(xii)(a)重链可变结构域包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列,和

(b)轻链可变结构域包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列。

17.根据权利要求1至16中任一项所述的分离的单克隆抗体,其中所述特异性结合BCMA的抗体是全长IgG抗体。

18.根据权利要求17所述的分离的单克隆抗体,其中所述全长IgG抗体是人IgG1、IgG2、IgG3或IgG4同种型。

19.根据权利要求18所述的分离的单克隆抗体,其中所述全长IgG抗体是人IgG1同种型。

20.根据权利要求19所述的分离的单克隆抗体,其中所述抗体包含根据CH2区中氨基酸的EU编号的突变L234A和L235A。

21.根据权利要求1所述的分离的单克隆抗体,其包含含有选自下组的氨基酸序列的重链:SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:61或SEQ ID NO:62。

22.根据权利要求1所述的分离的单克隆抗体,其包含含有选自下组的氨基酸序列的轻链:SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:71、SEQ ID NO:72或SEQ ID NO:73。

23.根据权利要求1所述的分离的单克隆抗体,包含:

(i)(a)包含选自下组的氨基酸序列的重链:SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:61或SEQ ID NO:62,以及

(b)包含选自下组的氨基酸序列的轻链:SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:71、SEQ IDNO:72或SEQ ID NO:73。

24.根据权利要求23所述的分离的单克隆抗体,包含:

(i)(a)包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列的重链,和

(b)包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列的轻链;

(ii)(a)包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列的重链,和

(b)包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列的轻链;

(iii)(a)包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列的重链,和

(b)包含SEQ ID NO:65的氨基酸序列的轻链;

(iv)(a)包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列的重链,和

(b)包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列的轻链;

(v)(a)包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的重链,和

(b)包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列的轻链;

(vi)(a)包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列的重链,和

(b)包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列的轻链;

(vii)(a)包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的重链,和

(b)包含SEQ ID NO:69的氨基酸序列的轻链;

(viii)(a)包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的重链,和

(b)包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列的轻链;

(ix)(a)包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的重链,和

(b)包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列的轻链,

(x)(a)包含SEQ ID NO:61的氨基酸序列的重链,和

(b)包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列的轻链;

(xi)(a)包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列的重链,和

(b)包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列的轻链;或

(xii)(a)包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的重链,和

(b)包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列的轻链。

25.一种分离的核酸,其编码根据权利要求1至24中任一项所述的抗体或其抗原结合片段。

26.根据权利要求25所述的分离的核酸,其中所述核酸是DNA。

27.一种表达载体,其包含根据权利要求25至26中任一项所述的核酸。

28.一种产生宿主细胞以产生根据权利要求1至24中任一项所述的抗体或其抗原结合片段的方法,包括通过根据权利要求27所述的载体进行细胞转化。

29.一种用于产生根据权利要求1至24中任一项所述的抗体或其抗原结合片段的宿主细胞,其包含根据权利要求25至26中任一项所述的核酸。

30.一种用于产生根据权利要求1至24中任一项所述的抗体或其抗原结合片段的方法,包括在足以产生所述抗体的条件下在生长培养基中培养根据权利要求29所述的宿主细胞,如有必要,随后分离并纯化所得抗体。

31.一种用于治疗BCMA介导的疾病或病症的药物组合物,其包含治疗有效量的根据权利要求1至24中任一项所述的抗体或其抗原结合片段以及一种或多种药学上可接受的赋形剂。

32.根据权利要求31所述的药物组合物,其中所述BCMA介导的疾病或病症选自:多发性骨髓瘤、慢性淋巴细胞白血病、B细胞急性淋巴细胞白血病、非霍奇金淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤。

33.一种用于治疗BCMA介导的疾病或病症的药物组合物,其包含根据权利要求1至24中任一项所述的抗体或其抗原结合片段以及至少一种其他治疗活性化合物。

34.根据权利要求33所述的药物组合物,其中所述BCMA介导的疾病或病症选自:多发性骨髓瘤、慢性淋巴细胞白血病、B细胞急性淋巴细胞白血病、非霍奇金淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤。

35.根据权利要求33至34中任一项所述的药物组合物,其中所述其他治疗活性化合物是抗体、小分子、激素治疗剂或其组合。

36.一种用于治疗BCMA介导的疾病或病症的方法,包括以治疗有效量向需要这种治疗的受试者施用根据权利要求1至24中任一项所述的抗体或其抗原结合片段或根据权利要求31至35中任一项所述的药物组合物。

37.根据权利要求36所述的用于治疗疾病或病症的方法,其中所述BCMA介导的疾病或病症选自:多发性骨髓瘤、慢性淋巴细胞白血病、B细胞急性淋巴细胞白血病、非霍奇金淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤。

38.一种用于治疗BCMA介导的疾病或病症的方法,包括以治疗有效量向需要这种治疗的受试者施用根据权利要求1至24中任一项所述的抗体或其抗原结合片段和至少一种其他治疗活性化合物。

39.根据权利要求38所述的用于治疗疾病或病症的方法,其中所述BCMA介导的疾病或病症选自:多发性骨髓瘤、慢性淋巴细胞白血病、B细胞急性淋巴细胞白血病、非霍奇金淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤。

40.根据权利要求38至39中任一项所述的用于治疗疾病或病症的方法,其中所述其他治疗活性化合物是抗体、小分子、激素治疗剂或其组合。

41.根据权利要求1至24中任一项所述的抗体或其抗原结合片段或根据权利要求31至35中任一项所述的药物组合物用于在需要治疗的受试者中治疗BCMA介导的疾病或病症的用途。

42.根据权利要求41所述的用途,其中所述BCMA介导的疾病或病症选自:多发性骨髓瘤、慢性淋巴细胞白血病、B细胞急性淋巴细胞白血病、非霍奇金淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤。

43.根据权利要求1至24中任一项所述的抗体或其抗原结合片段和至少一种其他治疗活性化合物用于治疗BCMA介导的疾病或病症的用途。

44.根据权利要求43所述的用途,其中所述BCMA介导的疾病或病症选自:多发性骨髓瘤、慢性淋巴细胞白血病、B细胞急性淋巴细胞白血病、非霍奇金淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤。

45.根据权利要求43所述的用途,其中所述其他治疗活性化合物是小分子、激素治疗剂或其任何组合。

特异性结合BCMA的单克隆抗体或其抗原结合片段及其用途

技术领域

[0001] 本发明涉及生物技术和医药领域,具体涉及特异性结合BCMA的单克隆抗体或其抗原结合片段。本发明还涉及编码所述抗体的核酸、表达载体、宿主细胞及其生产方法、生产根据本发明的抗体的方法、包含根据本发明的抗体的药物组合物、包含根据本发明的抗体和其他治疗活性化合物的药物组合物、用于治疗BCMA介导的疾病或病症的方法、所述抗体或其药物组合物用于治疗BCMA介导的疾病或病症的用途、以及所述抗体和其他治疗活性化合物用于治疗BCMA介导的疾病或病症的用途。

背景技术

[0002] B细胞成熟抗原(BCMA、TNFRSF17和CD269)是肿瘤坏死因子(TNF)受体超家族的成员。其天然配体是B细胞激活因子(BAFF;也称为BLyS或TALL-1、TNFSF13B)和增殖诱导配体(APRIL、TNFSF13、CD256),其参与调节体液免疫、B细胞发育和稳态的各个方面。然而,APRIL与BCMA的结合亲和力(10^{-9}M)明显高于BAFF(10^{-7}M)(Yu-Tzu Tai ET ALL,APRIL and BCMA promote human multiple myeloma growth and immunosuppression in the bone marrow microenvironment,Blood,2016,127,25,pp.3225-3236,https://doi.org/10.1182/blood-2016-01-691162)。

[0003] BCMA在B细胞分化的后期:在浆母细胞和浆细胞(浆细胞,PC)上表达。在多发性骨髓瘤(MM)中,与正常细胞相比,恶性浆细胞中BCMA的表达显著增加,并且BCMA的激活通过激活MEK/ERK、AKT、NFκB、JNK、p38和Elk-1支持浆细胞的生长和存活(Shih-Feng Cho ET ALL,Targeting B Cell Maturation Antigen(BCMA)in Multiple Myeloma:Potential Uses of BCMA-Based Immunotherapy,Front Immunol,2018,9,1821,https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6095983)。

[0004] BCMA是各种肿瘤疾病(例如白血病、淋巴瘤或多发性骨髓瘤)的免疫治疗产品的有前景的靶标,因为与正常浆细胞相比,该抗原的特征在于在恶性浆细胞上的丰度有限且表达增加。

[0005] 专利文献WO2012163805、WO2013072406、WO2014089335、WO2017143069描述了针对BCMA的多种抗体。

[0006] 迄今为止,世界上只有一种抗BCMA抗体作为与药品缀合的抗体的一部分已被批准用于治疗用途(Belantamab mafodotin)。与上述相关,需要特异性结合BCMA的新型抗体。

发明内容

[0007] 本发明组的作者已经开发了特异性结合BCMA并且具有与BCMA结合的高亲和力参数的抗体。

[0008] 定义和一般方法

[0009] 除非本文另外定义,否则与本发明相关使用的所有技术和科学术语将具有与本领域技术人员通常理解的相同含义。

[0010] 此外,除非上下文另有要求,否则单数术语应包括复数术语,并且复数术语应包括单数术语。通常,本文所述的细胞培养、分子生物学、免疫学、微生物学、遗传学、分析化学、有机合成化学、医学和药物化学以及蛋白质和核酸的杂交和化学的现有分类和方法是本领域技术人员所熟知的并且在本领域广泛使用。酶反应和纯化方法根据制造商的指南进行,如本领域常见的或如本文所述。

[0011] 本说明书中的术语"KD"是指亲和常数(或平衡常数),其由Kd与Ka的比率(即Kd/Ka)计算,并表示为摩尔浓度(M)。

[0012] "结合亲和力"通常是指分子(例如抗体)的单个结合位点与其结合配偶体(例如抗原)之间的非共价相互作用的总强度。除非另有说明,否则"结合亲和力"是指反映结合对成员(例如抗体和抗原)之间1:1相互作用的内在(特征性的、真实的)结合亲和力。分子X对其结合配偶体Y的亲和力通常可以用亲和常数(KD)表示。优选的Kd值是约200nM、150nM、100nM、60nM、50nM、40nM、30nM、20nM、10nM、8nM、6nM、4nM、2nM、1nM或更小。亲和力可以通过本领域已知的常用方法来测量,包括本说明书中描述的那些方法。低亲和力抗体通常缓慢地结合抗原并且倾向于容易解离,而高亲和力抗体通常更快地结合抗原并且倾向于保持结合更长时间。用于测量结合亲和力的多种方法是本领域已知的,这些方法中的任何一种都可以用于本发明的目的。

[0013] 术语"Kd"、"koff"或"kdis"是指结合分子与抗原之间的特定相互作用的解离速率常数。解离速率常数koff可以使用生物层干涉测量法来测量,例如使用Octet™系统。

[0014] 术语"Ka"、"kon"或"结合速率"是指缔合速率常数。

[0015] 术语"R^2"是指决定系数。

[0016] 术语"响应"是指抗体-抗原结合信号。

[0017] 术语"体外"是指在身体之外的人工条件下的生物实体、生物过程或生物反应。例如,体外生长的细胞应理解为在身体之外的环境中生长的细胞,例如在试管、培养瓶或微量滴定板中。

[0018] 术语"ED_{50}"(EC_{50})(50%有效剂量/浓度)是指产生50%生物效应(其可以包括细胞毒性)的制剂的浓度。

[0019] 如本说明书和所附权利要求书中所使用的,除非上下文另有规定,否则词语"包括"和"包含"或其变体,例如"包括"、"包括"、"包含"或"含有",应理解为暗示包括指定的整体或整体组,但不排除任何其他整体或整体组。

[0020] 抗体

[0021] 本发明涉及特异性结合BCMA(B细胞成熟抗原;也称为TNFRSF17和CD269)的单克隆抗体或其抗原结合片段。

[0022] 术语"单克隆抗体"或"mAb"是指作为个体克隆细胞群而合成和分离的抗体。

[0023] 本发明的抗体是重组抗体。

[0024] 术语"重组抗体"是指在包含编码抗体的核苷酸序列的细胞或细胞系中表达的抗体,其中所述核苷酸序列与自然界中的细胞不相关。

[0025] 一方面,本发明涉及特异性结合BCMA的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段,包含:

[0026] (a)重链可变结构域,包含:

[0027] (i)具有氨基酸序列SX_1X_2MS的CDR1,其中

[0028] X_1=S或G;

[0029] X_2=A、L或V;

[0030] (ii)具有氨基酸序列$X_3YNGGSDRAGX_4X_5DSVX_6G$的CDR2,其中

[0031] X_3=G或C;

[0032] X_4=F或Y;

[0033] X_5=A或T;

[0034] X_6=E或K;和

[0035] (iii)具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3;

[0036] 和

[0037] (b)轻链可变结构域,包含:

[0038] (i)具有氨基酸序列$X_7GX_8X_9SNIGX_{10}X_{11}X_{12}X_{13}VX_{14}$的CDR1,其中

[0039] X_7=S或T;

[0040] X_8=S、G或T;

[0041] X_9=S、T、I或R;

[0042] X_{10}=O或A;

[0043] X_{11}=S、H、N、G或T;

[0044] X_{12}=N、R或Y;

[0045] X_{13}=T、A、I或D;

[0046] X_{14}=N或H;

[0047] (ii)具有氨基酸序列$X_{15}X_{16}X_{17}X_{18}RPS$的CDR2,其中

[0048] X15=N、R、K、S或G;

[0049] X16=D、N、G、T或H;

[0050] X17=S、N或T;

[0051] X18=Q或N;

[0052] 和

[0053] (iii)具有氨基酸序列$X_{19}X_{20}WDX_{21}X_{22}X_{23}X_{24}X_{25}WX_{26}$的CDR3,其中

[0054] X_{19}=A或S;

[0055] X_{20}=A、S、T或V;

[0056] X_{21}=G、D、H或S;

[0057] X_{22}=S、D或R;

[0058] X_{23}=L或V;

[0059] X_{24}=N、T、R或S;

[0060] X_{25}=V、A、G或N;

[0061] X_{26}=M、V或L。

[0062] 用于描述根据本说明书的各种抗体的术语“分离的”是指已从表达该抗体的细胞或细胞培养物中鉴定并分离和/或再生的抗体。来自自然环境的杂质(污染成分)是通常干扰多肽的诊断或治疗用途的物质,并且可以包括酶、激素和其他蛋白质或非蛋白质溶质。分离的多肽通常通过至少一个纯化步骤来制备。

[0063] 本说明书中使用的术语“抗体”或“免疫球蛋白”(Ig)包括完整抗体。术语“抗体”是指包含通过二硫键互连的至少两条重(H)链和两条轻(L)链的糖蛋白。每条重链包含重链可变区(在本说明书中缩写为VH)和重链恒定区。每条轻链由轻链可变区(在本说明书中缩写为VL)和轻链恒定区组成。优选地,轻链是κ(κ)轻链,并且恒定结构域CL优选是Cκ(κ)。

[0064] 根据本发明的抗体可以是任何类别(例如,IgA、IgD、IgE、IgG和IgM,优选IgG)或亚类(例如,IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2,优选IgG1)。

[0065] VL和VH区可以进一步细分为称为互补决定区(CDR)的高变异区,散布在更保守的区域(称为框架区(FR))之间。每个VH和VL由3个CDR和4个FR组成,从氨基端到羧基端按以下顺序排列:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。重链和轻链的可变区含有与抗原相互作用的结合结构域。

[0066] 抗体的恒定区可以介导免疫球蛋白与宿主组织或因子的结合,包括免疫系统的各种细胞(例如效应细胞)和经典补体系统的第一组分(C1q)。

[0067] 本说明书中使用的术语抗体的“抗原结合部分”或“抗原结合片段”是指保留特异性结合抗原的能力的一种或多种抗体片段。已经表明,抗体的抗原结合功能可以由全长抗体的片段来执行。包括在术语抗体的“抗原结合部分”内的结合片段的实例包括(i)Fab片段,单价片段,由VL、VH、CL和CH1结构域组成;(ii)F(ab')2片段,包含通过铰链区二硫桥连接的两个Fab片段的二价片段;(iii)由VH和CH1结构域组成的Fd片段;(iv)由抗体单臂的VL和VH结构域组成的Fv片段;(v)dAb-片段(Ward et al.,(1989)Nature 341:544-546),其由VH/VHH结构域组成。此外,Fv片段的两个区域VL和VH由不同的基因编码,可以使用合成接头使用重组方法将它们连接起来,该接头能够将它们作为单个蛋白链接收,其中VL和VH区配对形成单价分子(称为单链Fv(scFv);参见例如Bird et al.(1988)Science242:423-426;和Huston et al.(1988)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 85:5879-5883)。假定这样的单链分子也包括在术语抗体的“抗原结合部分”内。使用本领域技术人员已知的常规技术产生此类抗体片段,并且以与完整抗体相同的方式筛选这些片段。

[0068] 本申请中使用的“Kabat编号方案”或“根据Kabat编号”是指对比抗体重链和轻链可变区中的其他氨基酸残基更具可变性(即高变)的氨基酸残基进行编号的系统(Kabat et al.Ann.N.Y.Acad.Sci.,190:382-93(1971);Kabat et al.Sequences of Proteins of Immunological Interest,Fifth Edition,U.S.Department of Health and Human Services,NIH Publication No.91-3242(1991))。

[0069] 本发明的“特异性结合”靶抗原的抗体是指以足够的亲和力结合抗原的抗体,使得该抗体可以用作靶向表达该抗原的蛋白质或细胞或组织的诊断剂和/或治疗剂,并与其他蛋白质发生轻微交叉反应。

[0070] 术语“特异性结合”特定多肽或特定靶多肽上的表位可以例如通过分子对靶的Kd来描述,所述Kd为至少约200nM、或至少约150nM、或至少约100nM,或至少约60nM,或至少约50nM,或至少约40nM,或至少约30nM,或至少约20nM,或至少约10nM,或至少约8nM,或至少约6nM,或至少约4nM,或至少约2nM,或至少约1nM,或更大。

[0071] 在一个实施方案中,术语“特异性结合”是指分子与特定多肽或特定多肽上的表位结合而基本上不与任何其他多肽或多肽上的表位结合的结合。

[0072] 在本发明的一些实施方案中,分离的单克隆抗体或其抗原结合片段包含重链可变

结构域,其包含具有选自下组的氨基酸序列的CDR1:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:3。

[0073] 在本发明的一些实施方案中,分离的单克隆抗体或其抗原结合片段包含重链可变结构域,其包含具有选自下组的氨基酸序列的CDR2:SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5或SEQ ID NO:6。

[0074] 在本发明的一些实施方案中,分离的单克隆抗体或其抗原结合片段包含轻链可变结构域,其包含具有选自下组的氨基酸序列的CDR1:SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14或SEQ ID NO:15。

[0075] 在本发明的一些实施方案中,分离的单克隆抗体或其抗原结合片段包含轻链可变结构域,其包含具有选自下组的氨基酸序列的CDR2:SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23或SEQ ID NO:24。

[0076] 在本发明的一些实施方案中,分离的单克隆抗体或其抗原结合片段包含轻链可变结构域,其包含具有选自下组的氨基酸序列的CDR3:SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34或SEQ ID NO:35。

[0077] 在本发明的一些实施方案中,分离的单克隆抗体或其抗原结合片段包含重链可变结构域,所述重链可变结构域包含:

[0078] 具有选自下组的氨基酸序列的CDR1:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:3;

[0079] 具有选自下组的氨基酸序列的CDR2:SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5或SEQ ID NO:6;

[0080] 和

[0081] 具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3。

[0082] 在本发明的一些实施方案中,分离的单克隆抗体或其抗原结合片段包含:

[0083] (i)重链可变结构域,包含:

[0084] 具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的CDR1,

[0085] 具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR2和

[0086] 具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3;

[0087] (ii)重链可变结构域,包含:

[0088] 具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的CDR1,

[0089] 具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的CDR2和

[0090] 具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3;

[0091] (iii)重链可变结构域,包含:

[0092] 具有SEQ ID NO:3的氨基酸序列的CDR1,

[0093] 具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR2和

[0094] 具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3;

[0095] (iv)重链可变结构域,包含:

[0096] 具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的CDR1,

[0097] 具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR2和

[0098] 具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3;

[0099] 或者

[0100] (v)重链可变结构域,包含:

[0101] 具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的CDR1,

[0102] 具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的CDR2和

[0103] 具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3。

[0104] 在本发明的一些实施方案中,分离的单克隆抗体或其抗原结合片段包含轻链可变结构域,所述轻链可变结构域包含:

[0105] 具有选自下组的氨基酸序列的CDR1:SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14或SEQ ID NO:15;

[0106] 具有选自下组的氨基酸序列的CDR2:SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23或SEQ ID NO:24;

[0107] 和

[0108] 具有选自下组的氨基酸序列的CDR3:SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34或SEQ ID NO:35。

[0109] 在本发明的一些实施方案中,分离的单克隆抗体或其抗原结合片段包含:

[0110] (i)轻链可变结构域,包含:

[0111] 具有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的CDR1,具有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的CDR2和具有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的CDR3;(ii)轻链可变结构域,包含:

[0112] 具有SEQ ID NO:9的氨基酸序列的CDR1,具有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR2和具有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的CDR3;(iii)轻链可变结构域,包含:

[0113] 具有SEQ ID NO:10的氨基酸序列的CDR1,具有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR2和具有SEQ ID NO:27的氨基酸序列的CDR3;(iv)轻链可变结构域,包含:

[0114] 具有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的CDR1,具有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的CDR2和具有SEQ ID NO:28的氨基酸序列的CDR3;(v)轻链可变结构域,包含:

[0115] 具有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR1,具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR2和具有SEQ ID NO:29的氨基酸序列的CDR3;(vi)轻链可变结构域,包含:

[0116] 具有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR1,具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR2和具有SEQ ID NO:30的氨基酸序列的CDR3;(vii)轻链可变结构域,包含:

[0117] 具有SEQ ID NO:10的氨基酸序列的CDR1,具有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的CDR2和具有SEQ ID NO:31的氨基酸序列的CDR3;(viii)轻链可变结构域,包含:

[0118] 具有SEQ ID NO:13的氨基酸序列的CDR1,

[0119] 具有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的CDR2和

[0120] 具有SEQ ID NO:32的氨基酸序列的CDR3;

[0121] (ix)轻链可变结构域,包含:

[0122] 具有SEQ ID NO:14的氨基酸序列的CDR1,

[0123] 具有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的CDR2和

[0124] 具有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的CDR3;

[0125] (x)轻链可变结构域,包含:

[0126] 具有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的CDR1,

[0127] 具有SEQ ID NO:24的氨基酸序列的CDR2和

[0128] 具有SEQ ID NO:34的氨基酸序列的CDR3;

[0129] 或者

[0130] (xi)轻链可变结构域,包含:

[0131] 具有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDR1,

[0132] 具有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR2和

[0133] 具有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的CDR3。

[0134] 在本发明的一些实施方案中,分离的单克隆抗体或其抗原结合片段包含:

[0135] (a)重链可变结构域,包含:

[0136] 具有选自下组的氨基酸序列的CDR1:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:3;

[0137] 具有选自下组的氨基酸序列的CDR2:SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5或SEQ ID NO:6;

[0138] 和

[0139] 具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3;和

[0140] (b)轻链可变结构域,包含:

[0141] 具有选自下组的氨基酸序列的CDR1:SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14或SEQ ID NO:15;

[0142] 具有选自下组的氨基酸序列的CDR2:SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23或SEQ ID NO:24;

[0143] 和

[0144] 具有选自下组的氨基酸序列的CDR3:SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34或SEQ ID NO:35。

[0145] 在本发明的一些实施方案中,分离的单克隆抗体或其抗原结合片段包含:

[0146] (i)(a)重链可变结构域,包含:

[0147] 具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的CDR1,

[0148] 具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR2和

[0149] 具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3;和

[0150] (b)轻链可变结构域,包含:

[0151] 具有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的CDR1,

[0152] 具有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的CDR2和

[0153] 具有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的CDR3;

[0154] (ii)(a)重链可变结构域,包含:

[0155] 具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的CDR1,

[0156] 具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的CDR2和

[0157] 具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3;和

[0158] (b)轻链可变结构域,包含:

[0159] 具有SEQ ID NO:9的氨基酸序列的CDR1,

[0160] 具有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR2和

[0161] 具有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的CDR3;

[0162] (iii)(a)重链可变结构域,包含:

[0163] 具有SEQ ID NO:3的氨基酸序列的CDR1,具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR2和具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3;和(b)轻链可变结构域,包含:

[0164] 具有SEQ ID NO:10的氨基酸序列的CDR1,具有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR2和具有SEQ ID NO:27的氨基酸序列的CDR3;(iv)(a)重链可变结构域,包含:

[0165] 具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的CDR1,具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR2和具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3;和(b)轻链可变结构域,包含:

[0166] 具有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的CDR1,具有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的CDR2和具有SEQ ID NO:28的氨基酸序列的CDR3;(v)(a)重链可变结构域,包含:

[0167] 具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的CDR1,具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的CDR2和具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3;和(b)轻链可变结构域,包含:

[0168] 具有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR1,具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR2和具有SEQ ID NO:29的氨基酸序列的CDR3;(vi)(a)重链可变结构域,包含:

[0169] 具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的CDR1,具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的CDR2和具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3;和(b)轻链可变结构域,包含:

[0170] 具有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR1,具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR2和具有SEQ ID NO:30的氨基酸序列的CDR3;(vii)(a)重链可变结构域,包含:

[0171] 具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的CDR1,具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的CDR2和具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3;和(b)轻链可变结构域,包含:

[0172] 具有SEQ ID NO:10的氨基酸序列的CDR1,具有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的CDR2和具有SEQ ID NO:31的氨基酸序列的CDR3;(viii)(a)重链可变结构域,包含:

[0173] 具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的CDR1,具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的CDR2和具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3,和(b)轻链可变结构域,包含:

[0174] 具有SEQ ID NO:13的氨基酸序列的CDR1,具有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的CDR2和具有SEQ ID NO:32的氨基酸序列的CDR3;(ix)(a)重链可变结构域,包含:

[0175] 具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的CDR1,具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的CDR2和具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3;和(b)轻链可变结构域,包含:

[0176] 具有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR1,具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR2和具有SEQ ID NO:30的氨基酸序列的CDR3;(x)(a)重链可变结构域,包含:

[0177] 具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的CDR1,

[0178] 具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR2和

[0179] 具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3;和

[0180] (b)轻链可变结构域,包含:

[0181] 具有SEQ ID NO:14的氨基酸序列的CDR1,

[0182] 具有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的CDR2和

[0183] 具有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的CDR3;

[0184] (xi)(a)重链可变结构域,包含:

[0185] 具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的CDR1,

[0186] 具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR2和

[0187] 具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3;和

[0188] (b)轻链可变结构域,包含:

[0189] 具有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的CDR1,

[0190] 具有SEQ ID NO:24的氨基酸序列的CDR2和

[0191] 具有SEQ ID NO:34的氨基酸序列的CDR3;

[0192] 或者

[0193] (xii)(a)重链可变结构域,包含:

[0194] 具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的CDR1,

[0195] 具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的CDR2和

[0196] 具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3;和

[0197] (b)轻链可变结构域,包含:

[0198] 具有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDR1,

[0199] 具有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR2和

[0200] 具有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的CDR3。

[0201] 在本发明的一些实施方案中,分离的单克隆抗体或其抗原结合片段包含重链可变结构域,其包含选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42或SEQ ID NO:43。

[0202] 在本发明的一些实施方案中,分离的单克隆抗体或其抗原结合片段包含轻链可变结构域,其包含选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:53或SEQ ID NO:54。

[0203] 在本发明的一些实施方案中,分离的单克隆抗体或其抗原结合片段包含:

[0204] (a)重链可变结构域,其包含选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42或SEQ ID NO:43;和

[0205] (b)轻链可变结构域,其包含选自下组的氨基酸序列:SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:48、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:53或SEQ ID NO:54。

[0206] 在本发明的一些实施方案中,分离的单克隆抗体或其抗原结合片段包含:

[0207] (i)(a)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的重链可变结构域,和

[0208] (b)包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列的轻链可变结构域;

[0209] (ii)(a)包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的重链可变结构域,和(b)包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列的轻链可变结构域;

[0210] (iii)(a)包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的重链可变结构域,和(b)包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列的轻链可变结构域;

[0211] (iv)(a)包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列的重链可变结构域,和(b)包含SEQ ID

NO:47的氨基酸序列的轻链可变结构域;

[0212] (v)(a)包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列的重链可变结构域,和(b)包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的轻链可变结构域;

[0213] (vi)(a)包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列的重链可变结构域,和(b)包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列的轻链可变结构域;

[0214] (vii)(a)包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列的重链可变结构域,和

[0215] (b)包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列的轻链可变结构域;

[0216] (viii)(a)包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列的重链可变结构域,和

[0217] (b)包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列的轻链可变结构域;

[0218] (ix)(a)包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列的重链可变结构域,和(b)包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列的轻链可变结构域;

[0219] (x)(a)包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列的重链可变结构域,和

[0220] (b)包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列的轻链可变结构域;

[0221] (xi)(a)包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的重链可变结构域,和(b)包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列的轻链可变结构域;

[0222] 或

[0223] (xii)(a)包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列的重链可变结构域,和

[0224] (b)包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列的轻链可变结构域。

[0225] 在本发明的一些实施方案中,特异性结合BCMA的分离的单克隆抗体是全长IgG抗体。

[0226] 在本发明的一些实施方案中,特异性结合BCMA的分离的单克隆抗体属于人IgG1、IgG2、IgG3或IgG4同种型。

[0227] 在本发明的一些实施方案中,特异性结合BCMA的分离的单克隆抗体属于人IgG1同种型。

[0228] 在本发明的一些实施方案中,分离的单克隆抗体包含根据抗体氨基酸的EU编号的CH2中的突变L234A和L235A(或根据Kabat的L247A和L248A)(Edelman G.M.et al.,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 63(1969)pp.78-85;Kabat,E.A.,et al.,Sequences of Proteins of Immunological Interest,5th ed.,Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD,(1991)。

[0229] 在本发明的一些实施方案中,分离的单克隆抗体包含含有选自下组的氨基酸序列的重链:SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:61或SEQ ID NO:62。

[0230] 在本发明的一些实施方案中,分离的单克隆抗体包含含有选自下组的氨基酸序列的轻链:SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:71、SEQ ID NO:72或SEQ ID NO:73。

[0231] 在本发明的一些实施方案中,分离的单克隆抗体包含:

[0232] (i)(a)包含选自下组的氨基酸序列的重链:SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:61或SEQ ID NO:62,和

[0233] (b)包含选自下组的氨基酸序列的轻链:SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64、SEQ ID

NO:65、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:71、SEQ ID NO:72或SEQ ID NO:73。

[0234] 在本发明的一些实施方案中,分离的单克隆抗体包含:

[0235] (i)(a)包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列的重链,和

[0236] (b)包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列的轻链;

[0237] (ii)(a)包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列的重链,和

[0238] (b)包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列的轻链;

[0239] (iii)(a)包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列的重链,和

[0240] (b)包含SEQ ID NO:65的氨基酸序列的轻链;

[0241] (iv)(a)包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列的重链,和

[0242] (b)包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列的轻链;

[0243] (v)(a)包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的重链,和

[0244] (b)包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列的轻链;

[0245] (vi)(a)包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列的重链,和

[0246] (b)包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列的轻链;

[0247] (vii)(a)包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的重链,和

[0248] (b)包含SEQ ID NO:69的氨基酸序列的轻链;

[0249] (viii)(a)包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的重链,和

[0250] (b)包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列的轻链;

[0251] (ix)(a)包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的重链,和

[0252] (b)包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列的轻链,

[0253] (x)(a)包含SEQ ID NO:61的氨基酸序列的重链,和

[0254] (b)包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列的轻链;

[0255] (xi)(a)包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列的重链,和

[0256] (b)包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列的轻链;

[0257] 或

[0258] (xii)(a)包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的重链,和

[0259] (b)包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列的轻链。

[0260] 在本发明的一些实施方案中,特异性结合BCMA的分离的单克隆抗体是抗体01-001。

[0261] 抗体01-001包含:

[0262] (a)包含SEQ ID NO:55的氨基酸序列的重链;和

[0263] (b)包含SEQ ID NO:63的氨基酸序列的轻链。

[0264] 抗体01-001包含:

[0265] (a)包含SEQ ID NO:36的氨基酸序列的重链可变结构域;

[0266] (b)包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列的轻链可变结构域。

[0267] 抗体01-001包含:

[0268] (a)重链可变结构域,包含:

[0269] (i)具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的CDR1(Kabat),

[0270] (ii)具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR2(Kabat),

[0271] (iii)具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3(Kabat),和

[0272] (b)轻链可变结构域,包含:

[0273] (i)具有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的CDR1(Kabat),

[0274] (ii)具有SEQ ID NO:16的氨基酸序列的CDR2(Kabat),

[0275] (iii)具有SEQ ID NO:25的氨基酸序列的CDR3(Kabat)。

[0276] 在本发明的一些实施方案中,特异性结合BCMA的分离的单克隆抗体是抗体01-006。

[0277] 抗体01-006包含:

[0278] (a)包含SEQ ID NO:56的氨基酸序列的重链;和

[0279] (b)包含SEQ ID NO:64的氨基酸序列的轻链。

[0280] 抗体01-006包含:

[0281] (a)包含SEQ ID NO:37的氨基酸序列的重链可变结构域;

[0282] (b)包含SEQ ID NO:45的氨基酸序列的轻链可变结构域。

[0283] 抗体01-006包含:

[0284] (a)重链可变结构域,包含:

[0285] (i)具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的CDR1(Kabat),

[0286] (ii)具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的CDR2(Kabat),

[0287] (iii)具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3(Kabat),和

[0288] (b)轻链可变结构域,包含:

[0289] (i)具有SEQ ID NO:9的氨基酸序列的CDR1(Kabat),

[0290] (ii)具有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR2(Kabat),

[0291] (iii)具有SEQ ID NO:26的氨基酸序列的CDR3(Kabat)。

[0292] 在本发明的一些实施方案中,特异性结合BCMA的分离的单克隆抗体是抗体01-016。

[0293] 抗体01-016包含:

[0294] (a)包含SEQ ID NO:57的氨基酸序列的重链;和

[0295] (b)包含SEQ ID NO:65的氨基酸序列的轻链。

[0296] 抗体01-016包含:

[0297] (a)包含SEQ ID NO:38的氨基酸序列的重链可变结构域;

[0298] (b)包含SEQ ID NO:46的氨基酸序列的轻链可变结构域。

[0299] 抗体01-016包含:

[0300] (a)重链可变结构域,包含:

[0301] (i)具有SEQ ID NO:3的氨基酸序列的CDR1(Kabat),

[0302] (ii)具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR2(Kabat),

[0303] (iii)具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3(Kabat),和

[0304] (b)轻链可变结构域,包含:

[0305] (i)具有SEQ ID NO:10的氨基酸序列的CDR1(Kabat),

[0306] (ii)具有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的CDR2(Kabat),

[0307] (iii)具有SEQ ID NO:27的氨基酸序列的CDR3(Kabat)。

[0308] 在本发明的一些实施方案中,特异性结合BCMA的分离的单克隆抗体是抗体01-021。

[0309] 抗体01-021包含:

[0310] (a)包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列的重链;和

[0311] (b)包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列的轻链。

[0312] 抗体01-021包含:

[0313] (a)包含SEQ ID NO:39的氨基酸序列的重链可变结构域;

[0314] (b)包含SEQ ID NO:47的氨基酸序列的轻链可变结构域。

[0315] 抗体01-021包含:

[0316] (a)重链可变结构域,包含:

[0317] (i)具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的CDR1(Kabat),

[0318] (ii)具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR2(Kabat),

[0319] (iii)具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3(Kabat),和

[0320] (b)轻链可变结构域,包含:

[0321] (i)具有SEQ ID NO:11的氨基酸序列的CDR1(Kabat),

[0322] (ii)具有SEQ ID NO:19的氨基酸序列的CDR2(Kabat),

[0323] (iii)具有SEQ ID NO:28的氨基酸序列的CDR3(Kabat)。

[0324] 在本发明的一些实施方案中,特异性结合BCMA的分离的单克隆抗体是抗体01-022。

[0325] 抗体01-022包含:

[0326] (a)包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的重链;和

[0327] (b)包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列的轻链。

[0328] 抗体01-022包含:

[0329] (a)包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列的重链可变结构域;

[0330] (b)包含SEQ ID NO:48的氨基酸序列的轻链可变结构域。

[0331] 抗体01-022包含:

[0332] (a)重链可变结构域,包含:

[0333] (i)具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的CDR1(Kabat),

[0334] (ii)具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的CDR2(Kabat),

[0335] (iii)具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3(Kabat),和

[0336] (b)轻链可变结构域,包含:

[0337] (i)具有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR1(Kabat),

[0338] (ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR2(Kabat),

[0339] (iii)具有SEQ ID NO:29的氨基酸序列的CDR3(Kabat)。

[0340] 在本发明的一些实施方案中,特异性结合BCMA的分离的单克隆抗体是抗体01-024。

[0341] 抗体01-024包含:

[0342] (a)包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列的重链;和

[0343] (b)包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列的轻链。

[0344] 抗体01-024包含:

[0345] (a)包含SEQ ID NO:41的氨基酸序列的重链可变结构域;

[0346] (b)包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列的轻链可变结构域。

[0347] 抗体01-024包含:

[0348] (a)重链可变结构域,包含:

[0349] (i)具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的CDR1(Kabat),

[0350] (ii)具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列的CDR2(Kabat),

[0351] (iii)具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3(Kabat),和

[0352] (b)轻链可变结构域,包含:

[0353] (i)具有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR1(Kabat),

[0354] (ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR2(Kabat),

[0355] (iii)具有SEQ ID NO:30的氨基酸序列的CDR3(Kabat)。

[0356] 在本发明的一些实施方案中,特异性结合BCMA的分离的单克隆抗体是抗体01-025。

[0357] 抗体01-025包含:

[0358] (a)包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的重链;和

[0359] (b)包含SEQ ID NO:69的氨基酸序列的轻链。

[0360] 抗体01-025包含:

[0361] (a)包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列的重链可变结构域;

[0362] (b)包含SEQ ID NO:50的氨基酸序列的轻链可变结构域。

[0363] 抗体01-025包含:

[0364] (a)重链可变结构域,包含:

[0365] (i)具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的CDR1(Kabat),

[0366] (ii)具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的CDR2(Kabat),

[0367] (iii)具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3(Kabat),和

[0368] (b)轻链可变结构域,包含:

[0369] (i)具有SEQ ID NO:10的氨基酸序列的CDR1(Kabat),

[0370] (ii)具有SEQ ID NO:21的氨基酸序列的CDR2(Kabat),

[0371] (iii)具有SEQ ID NO:31的氨基酸序列的CDR3(Kabat)。

[0372] 在本发明的一些实施方案中,特异性结合BCMA的分离的单克隆抗体是抗体01-026。

[0373] 抗体01-026包含:

[0374] (a)包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的重链;和

[0375] (b)包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列的轻链。

[0376] 抗体01-026包含:

[0377] (a)包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列的重链可变结构域;

[0378] (b)包含SEQ ID NO:51的氨基酸序列的轻链可变结构域。

[0379] 抗体01-026包含:

[0380] (a)重链可变结构域,包含:

[0381] (i)具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的CDR1(Kabat),

[0382] (ii)具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的CDR2(Kabat),

[0383] (iii)具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3(Kabat),和

[0384] (b)轻链可变结构域,包含:

[0385] (i)具有SEQ ID NO:13的氨基酸序列的CDR1(Kabat),

[0386] (ii)具有SEQ ID NO:22的氨基酸序列的CDR2(Kabat),

[0387] (iii)具有SEQ ID NO:32的氨基酸序列的CDR3(Kabat)。

[0388] 在本发明的一些实施方案中,特异性结合BCMA的分离的单克隆抗体是抗体01-027。

[0389] 抗体01-027包含:

[0390] (a)包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的重链;和

[0391] (b)包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列的轻链。

[0392] 抗体01-027包含:

[0393] (a)包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列的重链可变结构域;

[0394] (b)包含SEQ ID NO:49的氨基酸序列的轻链可变结构域。

[0395] 抗体01-027包含:

[0396] (a)重链可变结构域,包含:

[0397] (i)具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的CDR1(Kabat),

[0398] (ii)具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的CDR2(Kabat),

[0399] (iii)具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3(Kabat),和

[0400] (b)轻链可变结构域,包含:

[0401] (i)具有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的CDR1(Kabat),

[0402] (ii)具有SEQ ID NO:20的氨基酸序列的CDR2(Kabat),

[0403] (iii)具有SEQ ID NO:30的氨基酸序列的CDR3(Kabat)。

[0404] 在本发明的一些实施方案中,特异性结合BCMA的分离的单克隆抗体是抗体01-030。

[0405] 抗体01-030包含:

[0406] (a)包含SEQ ID NO:61的氨基酸序列的重链;和

[0407] (b)包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列的轻链。

[0408] 抗体01-030包含:

[0409] (a)包含SEQ ID NO:42的氨基酸序列的重链可变结构域;

[0410] (b)包含SEQ ID NO:52的氨基酸序列的轻链可变结构域。

[0411] 抗体01-030包含:

[0412] (a)重链可变结构域,包含:

[0413] (i)具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的CDR1(Kabat),

[0414] (ii)具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR2(Kabat),

[0415] (iii)具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3(Kabat),和

[0416] (b)轻链可变结构域,包含:

[0417] (i)具有SEQ ID NO:14的氨基酸序列的CDR1(Kabat),

[0418] (ii)具有SEQ ID NO:23的氨基酸序列的CDR2(Kabat),

[0419] (iii)具有SEQ ID NO:33的氨基酸序列的CDR3(Kabat)。

[0420] 在本发明的一些实施方案中,特异性结合BCMA的分离的单克隆抗体是抗体01-033。

[0421] 抗体01-033包含:

[0422] (a)包含SEQ ID NO:62的氨基酸序列的重链;和

[0423] (b)包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列的轻链。

[0424] 抗体01-033包含:

[0425] (a)包含SEQ ID NO:43的氨基酸序列的重链可变结构域;

[0426] (b)包含SEQ ID NO:53的氨基酸序列的轻链可变结构域。

[0427] 抗体01-033包含:

[0428] (a)重链可变结构域,包含:

[0429] (i)具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的CDR1(Kabat),

[0430] (ii)具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列的CDR2(Kabat),

[0431] (iii)具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3(Kabat),和

[0432] (b)轻链可变结构域,包含:

[0433] (i)具有SEQ ID NO:8的氨基酸序列的CDR1(Kabat),

[0434] (ii)具有SEQ ID NO:24的氨基酸序列的CDR2(Kabat),

[0435] (iii)具有SEQ ID NO:34的氨基酸序列的CDR3(Kabat)。

[0436] 在本发明的一些实施方案中,特异性结合BCMA的分离的单克隆抗体是抗体01-037。

[0437] 抗体01-037包含:

[0438] (a)包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的重链;和

[0439] (b)包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列的轻链。

[0440] 抗体01-037包含:

[0441] (a)包含SEQ ID NO:40的氨基酸序列的重链可变结构域;

[0442] (b)包含SEQ ID NO:54的氨基酸序列的轻链可变结构域。

[0443] 抗体01-037包含:

[0444] (a)重链可变结构域,包含:

[0445] (i)具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列的CDR1(Kabat),

[0446] (ii)具有SEQ ID NO:5的氨基酸序列的CDR2(Kabat),

[0447] (iii)具有SEQ ID NO:7的氨基酸序列的CDR3(Kabat),和

[0448] (b)轻链可变结构域,包含:

[0449] (i)具有SEQ ID NO:15的氨基酸序列的CDR1(Kabat),

[0450] (ii)具有SEQ ID NO:17的氨基酸序列的CDR2(Kabat),

[0451] (iii)具有SEQ ID NO:35的氨基酸序列的CDR3(Kabat)。

[0452] 核酸分子

[0453] 一方面,本发明涉及编码与BCMA特异性结合的任何一种上述抗体或其抗原结合片

段的核酸。

[0454] 在任一所述实施方案中,核酸分子可以是分离的。

[0455] 在本说明书中可互换使用的术语“核酸”、“核序列”、“核酸序列”、“多核苷酸”、“寡核苷酸”、“多核苷酸序列”和“核苷酸序列”是指核苷酸的精确序列,修饰或未修饰,决定核酸的片段或区域,含有或不含非天然核苷酸,以及是双链DNA或RNA、单链DNA或RNA、或所述DNA的转录产物。

[0456] 除非另有说明,否则术语核苷酸序列涵盖其互补序列。因此,因此,具有特定序列的核酸应被理解为包括具有其互补序列的其互补链的核酸。

[0457] “分离的”核酸分子是从至少一种核酸分子-杂质中鉴定和分离的核酸分子。分离的核酸分子不同于其在自然条件下发现的形式或设定。因此,分离的核酸分子不同于自然条件下细胞中存在的核酸分子。

[0458] 一方面,本发明涉及包含编码选自SEQ ID NO:1-73的氨基酸序列的核苷酸序列的核酸分子。核酸分子还可以包含所述核苷酸序列的任何组合。

[0459] 如本领域技术人员所理解的,由于遗传密码的冗余,多种不同的DNA序列可以编码根据本发明的抗体其片段(VH、VL、CDR等)的轻链或重链的氨基酸序列。产生编码同一氨基酸序列的这些替代DNA序列在本领域技术人员的技术范围内。此类变体DNA序列在本发明的范围内。

[0460] 在本发明的一些实施方案中,分离的核酸是DNA。

[0461] 本发明的核酸分子可以从产生特异性结合BCMA的单克隆抗体或其抗原结合片段的任何来源分离。在本发明的某些实施方案中,本发明的核酸分子可以通过化学合成的方式合成,而不是分离。

[0462] 在本发明的一些实施方案中,核酸是编码抗体01-001的重链可变结构域的氨基酸序列的核酸,并且包含具有SEQ ID NO:74的核苷酸序列。

[0463] 在本发明的一些实施方案中,核酸是编码抗体01-001的轻链可变结构域的氨基酸序列的核酸,并且包含具有SEQ ID NO:82的核苷酸序列。

[0464] 在本发明的一些实施方案中,核酸是编码抗体01-001的重链的氨基酸序列的核酸,并且包含具有SEQ ID NO:93的核苷酸序列。

[0465] 在本发明的一些实施方案中,核酸是编码抗体01-001的轻链的氨基酸序列的核酸,并且包含具有SEQ ID NO:101的核苷酸序列。

[0466] 在本发明的一些实施方案中,核酸是编码抗体01-006的重链可变结构域的氨基酸序列的核酸,并且包含具有SEQ ID NO:75的核苷酸序列。

[0467] 在本发明的一些实施方案中,核酸是编码抗体01-006的轻链可变结构域的氨基酸序列的核酸,并且包含具有SEQ ID NO:83的核苷酸序列。

[0468] 在本发明的一些实施方案中,核酸是编码抗体01-006的重链的氨基酸序列的核酸,并且包含具有SEQ ID NO:94的核苷酸序列。

[0469] 在本发明的一些实施方案中,核酸是编码抗体01-006的轻链的氨基酸序列的核酸,并且包含具有SEQ ID NO:102的核苷酸序列。

[0470] 在本发明的一些实施方案中,核酸是编码抗体01-016的重链可变结构域的氨基酸序列的核酸,并且包含具有SEQ ID NO:76的核苷酸序列。

[0471] 在本发明的一些实施方案中,核酸是编码抗体01-016的轻链可变结构域的氨基酸序列的核酸,并且包含具有SEQ ID NO:84的核苷酸序列。

[0472] 在本发明的一些实施方案中,核酸是编码抗体01-016的重链氨基酸序列的核酸,并且包含具有SEQ ID NO:95的核苷酸序列。

[0473] 在本发明的一些实施方案中,核酸是编码抗体01-016的轻链的氨基酸序列的核酸,并且包含具有SEQ ID NO:103的核苷酸序列。

[0474] 在本发明的一些实施方案中,核酸是编码抗体01-021的重链可变结构域的氨基酸序列的核酸,并且包含具有SEQ ID NO:77的核苷酸序列。

[0475] 在本发明的一些实施方案中,核酸是编码抗体01-021的轻链可变结构域的氨基酸序列的核酸,并且包含具有SEQ ID NO:85的核苷酸序列。

[0476] 在本发明的一些实施方案中,核酸是编码抗体01-021的重链的氨基酸序列的核酸,并且包含具有SEQ ID NO:96的核苷酸序列。

[0477] 在本发明的一些实施方案中,核酸是编码抗体01-021的轻链的氨基酸序列的核酸,并且包含具有SEQ ID NO:104的核苷酸序列。

[0478] 在本发明的一些实施方案中,核酸是编码抗体01-022的重链可变结构域的氨基酸序列的核酸,并且包含具有SEQ ID NO:78的核苷酸序列。

[0479] 在本发明的一些实施方案中,核酸是编码抗体01-022的轻链可变结构域的氨基酸序列的核酸,并且包含具有SEQ ID NO:86的核苷酸序列。

[0480] 在本发明的一些实施方案中,核酸是编码抗体01-022的重链的氨基酸序列的核酸,并且包含具有SEQ ID NO:97的核苷酸序列。

[0481] 在本发明的一些实施方案中,核酸是编码抗体01-022的轻链的氨基酸序列的核酸,并且包含具有SEQ ID NO:105的核苷酸序列。

[0482] 在本发明的一些实施方案中,核酸是编码抗体01-024的重链可变结构域的氨基酸序列的核酸,并且包含具有SEQ ID NO:79的核苷酸序列。

[0483] 在本发明的一些实施方案中,核酸是编码抗体01-024的轻链可变结构域的氨基酸序列的核酸,并且包含具有SEQ ID NO:87的核苷酸序列。

[0484] 在本发明的一些实施方案中,核酸是编码抗体01-024的重链的氨基酸序列的核酸,并且包含具有SEQ ID NO:98的核苷酸序列。

[0485] 在本发明的一些实施方案中,核酸是编码抗体01-024的轻链的氨基酸序列的核酸,并且包含具有SEQ ID NO:106的核苷酸序列。

[0486] 在本发明的一些实施方案中,核酸是编码抗体01-025的重链可变结构域的氨基酸序列的核酸,并且包含具有SEQ ID NO:78的核苷酸序列。

[0487] 在本发明的一些实施方案中,核酸是编码抗体01-025的轻链可变结构域的氨基酸序列的核酸,并且包含具有SEQ ID NO:88的核苷酸序列。

[0488] 在本发明的一些实施方案中,核酸是编码抗体01-025的重链的氨基酸序列的核酸,并且包含具有SEQ ID NO:97的核苷酸序列。

[0489] 在本发明的一些实施方案中,核酸是编码抗体01-025的轻链的氨基酸序列的核酸,并且包含具有SEQ ID NO:107的核苷酸序列。

[0490] 在本发明的一些实施方案中,核酸是编码抗体01-026的重链可变结构域的氨基酸

序列的核酸,并且包含具有SEQ ID NO:78的核苷酸序列。

[0491] 在本发明的一些实施方案中,核酸是编码抗体01-026的轻链可变结构域的氨基酸序列的核酸,并且包含具有SEQ ID NO:89的核苷酸序列。

[0492] 在本发明的一些实施方案中,核酸是编码抗体01-026的重链的氨基酸序列的核酸,并且包含具有SEQ ID NO:97的核苷酸序列。

[0493] 在本发明的一些实施方案中,核酸是编码抗体01-026的轻链的氨基酸序列的核酸,并且包含具有SEQ ID NO:108的核苷酸序列。

[0494] 在本发明的一些实施方案中,核酸是编码抗体01-027的重链可变结构域的氨基酸序列的核酸,并且包含具有SEQ ID NO:78的核苷酸序列。

[0495] 在本发明的一些实施方案中,核酸是编码抗体01-027的轻链可变结构域的氨基酸序列的核酸,并且包含具有SEQ ID NO:87的核苷酸序列。

[0496] 在本发明的一些实施方案中,核酸是编码抗体01-027的重链的氨基酸序列的核酸,并且包含具有SEQ ID NO:97的核苷酸序列。

[0497] 在本发明的一些实施方案中,核酸是编码抗体01-027的轻链的氨基酸序列的核酸,并且包含具有SEQ ID NO:106的核苷酸序列。

[0498] 在本发明的一些实施方案中,核酸是编码抗体01-030的重链可变结构域的氨基酸序列的核酸,并且包含具有SEQ ID NO:80的核苷酸序列。

[0499] 在本发明的一些实施方案中,核酸是编码抗体01-030的轻链可变结构域的氨基酸序列的核酸,并且包含具有SEQ ID NO:90的核苷酸序列。

[0500] 在本发明的一些实施方案中,核酸是编码抗体01-030的重链的氨基酸序列的核酸,并且包含具有SEQ ID NO:99的核苷酸序列。

[0501] 在本发明的一些实施方案中,核酸是编码抗体01-030的轻链的氨基酸序列的核酸,并且包含具有SEQ ID NO:109的核苷酸序列。

[0502] 在本发明的一些实施方案中,核酸是编码抗体01-033的重链可变结构域的氨基酸序列的核酸,并且包含具有SEQ ID NO:81的核苷酸序列。

[0503] 在本发明的一些实施方案中,核酸是编码抗体01-033的轻链可变结构域的氨基酸序列的核酸,并且包含具有SEQ ID NO:91的核苷酸序列。

[0504] 在本发明的一些实施方案中,核酸是编码抗体01-033的重链的氨基酸序列的核酸,并且包含具有SEQ ID NO:100的核苷酸序列。

[0505] 在本发明的一些实施方案中,核酸是编码抗体01-033的轻链的氨基酸序列的核酸,并且包含具有SEQ ID NO:110的核苷酸序列。

[0506] 在本发明的一些实施方案中,核酸是编码抗体01-037的重链可变结构域的氨基酸序列的核酸,并且包含具有SEQ ID NO:78的核苷酸序列。

[0507] 在本发明的一些实施方案中,核酸是编码抗体01-037的轻链可变结构域的氨基酸序列的核酸,并且包含具有SEQ ID NO:92的核苷酸序列。

[0508] 在本发明的一些实施方案中,核酸是编码抗体01-037的重链的氨基酸序列的核酸,并且包含具有SEQ ID NO:97的核苷酸序列。

[0509] 在本发明的一些实施方案中,核酸是编码抗体01-037的轻链的氨基酸序列的核酸,并且包含具有SEQ ID NO:111的核苷酸序列。

[0510] 核酸分子可用于表达特异性结合BCMA的单克隆抗体或其抗原结合片段。

[0511] 载体

[0512] 一方面,本发明涉及表达载体,其包含上述任一种核酸分子,其编码特异性结合BCMA的抗体或其部分(例如,重链和/或轻链结合结构域序列)的相应氨基酸序列。本发明涉及适合表达本文所述的任何一种核苷酸序列的载体。

[0513] 本文使用的术语“载体”是指能够转运与其连接的另一核酸的核酸分子。

[0514] 如本说明书中所使用的,术语“表达”被定义为由其启动子驱动的特定核苷酸序列的转录和/或翻译。

[0515] 在本发明的一些实施方案中,载体是质粒,即其中可以插入另外的DNA区段的环状双链DNA片段。

[0516] 在本发明的一些实施方案中,载体是病毒(表达)载体,其中可以将额外的DNA区段插入到病毒基因组中。

[0517] 在本发明的一些实施方案中,载体能够在它们被引入的宿主细胞中自主复制(例如,具有细菌复制起点位点的细菌载体和附加型载体)。在本发明的进一步的实施方案中,载体(例如非附加型载体)可以在引入宿主细胞后整合到宿主细胞的基因组中,并由此与宿主基因一起复制。此外,某些载体能够指导它们可操作地连接的基因的表达。此类载体在本文中称为“重组表达载体”(或简称为“表达载体”)。

[0518] 在本发明的一些实施方案中,表达载体包括质粒、逆转录病毒、腺病毒、腺相关病毒(AAV)、植物病毒例如花椰菜花叶病毒、烟草花叶病毒、粘粒、YAC等。DNA分子可插入载体中,使得载体内的转录和翻译控制序列发挥其调节DNA转录和翻译的预期功能。可以选择与所使用的表达宿主细胞相容的表达载体和表达控制序列。

[0519] 在本发明的一个实施方案中,可以将部分或完全编码第一和第二结合结构域的序列(例如,重链和轻链序列,其中结合结构域包含重链和轻链序列)的DNA分子引入单独的载体中。

[0520] 在一个实施方案中,将上述DNA分子的任意组合引入同一表达载体中。

[0521] 在本发明的一个实施方案中,可以通过标准方法将DNA分子引入表达载体中(例如,抗体和载体的基因片段上的互补限制性位点的连接,或者如果不存在限制性位点则平端连接)。

[0522] 在本发明的一些实施方案中,合适的载体是包含限制性位点的载体,使得任何VH或VL序列可以容易地插入和表达,如上所述。多聚腺苷酸化和转录终止可能发生在编码区下游的天然染色体位点。重组表达载体还可以编码促进抗体链从宿主细胞分泌的信号肽。抗体链基因可以被克隆到载体中,使得信号肽符合读框地连接至免疫球蛋白链的氨基末端。信号肽可以是免疫球蛋白信号肽或异源信号肽(即来自非免疫球蛋白蛋白质的信号肽)。

[0523] 在本发明的一些实施方案中,载体可以包含表达控制序列。本说明书中使用的术语“表达控制序列”是指实现其所插入的编码序列的表达和加工所必需的多核苷酸序列。本领域技术人员应当理解,表达载体的设计,包括表达控制序列的选择,可以取决于诸如待转化的宿主细胞类型的选择、所需的抗体表达水平等因素。表达控制序列包括适当的转录起始、终止、启动子和增强子序列;有效的RNA加工信号,例如剪接和多聚腺苷酸化信号;稳定

细胞质mRNA的序列;提高翻译效率的序列(即Kozak共有序列);增强蛋白质稳定性的序列;以及当需要时,增强蛋白质分泌的序列。这种表达控制序列的性质根据宿主生物体的不同而不同;在原核生物中,此类表达控制序列通常包括启动子、核糖体结合位点以及转录终止序列;在真核生物中,此类表达控制序列通常包括启动子和转录终止序列。用于哺乳动物的表达宿主细胞的优选表达控制序列包括确保哺乳动物细胞中高水平蛋白质表达的病毒元件,例如源自逆转录病毒LTR、巨细胞病毒(CMV)(例如CMV启动子/增强子)、猿病毒40(SV40)(例如SV40启动子/增强子)、腺病毒(例如主要晚期启动子腺病毒(AdMLP))、多瘤病毒的启动子和/或增强子和强哺乳动物启动子例如TTR启动子、天然免疫球蛋白启动子或肌动蛋白启动子。表达控制序列至少涵盖其存在对于表达和加工很重要的所有组分。

[0524] 在本发明的一些实施方案中,除了抗体链基因和表达控制序列之外,本发明的重组表达载体还可以携带另外的序列,例如调节载体在宿主细胞中的复制的序列(例如复制起点)和可选择标记基因。可选择标记基因有利于选择已引入载体的宿主细胞。

[0525] 宿主细胞

[0526] 一方面,本发明涉及用于产生宿主细胞以产生特异性结合BCMA的任何上述抗体或其抗原结合片段的方法,并且包括用上述载体转化细胞。

[0527] 一方面,本发明涉及用于产生特异性结合BCMA的任何上述抗体或其抗原结合片段的宿主细胞,其包含上述核酸中的任一种。

[0528] 本文使用的术语“宿主细胞”是指已导入重组表达载体的细胞。本发明涉及宿主细胞,其可以包含例如上述根据本发明的载体。本发明还涉及宿主细胞,其包含例如编码重链或其抗原结合部分的核苷酸序列、编码轻链或其抗原结合部分的核苷酸序列、或两者。应当理解,“宿主细胞”不仅指特定的受试细胞,还指此类细胞的后代。由于突变或环境影响可能会在后代中发生修饰,因此此类后代实际上可能与亲本细胞不同。然而,此类细胞仍包括在本文所用的术语“宿主细胞”的范围内。

[0529] 编码根据本发明的特异性结合BCMA的单克隆抗体或其抗原结合片段的核酸分子和包含这些核酸分子的载体可用于转染哺乳动物细胞、植物细胞、细菌细胞或酵母细胞。转染可以通过任何已知的用于将多核苷酸引入宿主细胞的方法来进行。将异源多核苷酸引入哺乳动物细胞的方法是本领域熟知的,包括葡聚糖介导的转染、阳离子聚合物-核酸复合物转染、磷酸钙沉淀、聚凝胺介导的转染、原生质体融合、将多核苷酸封装在脂质体中、和将DNA直接显微注射到细胞核中。另外,可以通过病毒(表达)载体将核酸分子引入哺乳动物细胞中。

[0530] 用作转化宿主的哺乳动物细胞系是本领域熟知的并且包括多种可用的永生化细胞系。这些包括例如中国仓鼠卵巢(CHO)细胞、NSO细胞、SP2细胞、HEK-293T细胞、FreeStyle 293细胞(Invitrogen)、NIH-3T3细胞、HeLa细胞、幼仓鼠肾(BHK)细胞、非洲绿猴肾细胞(COS)、人肝细胞癌细胞(例如Hep G2)、A549、SK-HEP1、HUH7、Hep-RG细胞和许多其他细胞系。通过确定哪些细胞系具有高表达水平并提供所产生的蛋白质的必要特征来选择细胞系。可以使用的其他细胞系是昆虫细胞系,例如Sf9或Sf21细胞。当将编码特异性结合BCMA的单克隆抗体或其抗原结合片段的重组表达载体引入哺乳动物宿主细胞中时,如下产生抗体或其片段:将宿主细胞培养足以允许抗体或其片段在宿主细胞中表达的时间段,或更优选地,将抗体或其片段分泌到宿主细胞生长的培养基中。可以使用标准蛋白质纯化技术从

培养基中分离特异性结合BCMA的单克隆抗体或其抗原结合片段。植物宿主细胞包括例如,烟草(Nicotiana)、拟南芥(Arabidopsis)、浮萍、玉米、小麦、马铃薯等。细菌宿主细胞包括埃希氏菌属(Escherichia)和链霉菌属(Streptomyces)物种。酵母宿主细胞包括粟酒裂殖酵母(Schizosaccharomyces pombe)、酿酒酵母(Saccharomyces cerevisiae)和巴斯德毕赤酵母(Pichia pastoris)。

[0531] 此外,可以使用许多已知技术来增强来自生产细胞系的特异性结合BCMA的单克隆抗体或其抗原结合片段的生产水平。例如,谷氨酰胺合成酶基因表达系统(GS系统)是在某些条件下增强表达的常用方法。

[0532] 来自不同细胞系的与BCMA特异性结合的单克隆抗体或其抗原结合片段可能具有彼此不同的糖基化谱。然而,由本文描述的核酸分子编码的或包含本文提供的氨基酸序列的与BCMA特异性结合的单克隆抗体或其抗原结合片段是本发明的一部分,无论结合分子的糖基化如何,并且一般而言,无论是否存在翻译后修饰。

[0533] 上述宿主细胞不涉及使用人胚胎产生的宿主细胞。

[0534] 上述宿主细胞不涉及通过修饰人种系细胞的遗传完整性而产生的宿主细胞。

[0535] 产生抗体的方法

[0536] 一方面,本发明涉及产生特异性结合BCMA的抗体或其抗原结合片段的方法,包括在足以产生所述抗体或其片段的条件下在生长培养基中培养上述宿主细胞,如果需要的话,然后分离并纯化所得抗体或其片段。

[0537] 药物组合物

[0538] 本发明的另一个方面是药物组合物,其包含特异性结合BCMA的根据本发明的单克隆抗体或其抗原结合片段作为活性成分(或作为唯一的活性成分)。

[0539] 一方面,本发明涉及一种用于治疗BCMA介导的疾病或病症的药物组合物,其包含治疗有效量的任何上述抗体或其抗原结合片段以及一种或多种药学上可接受的赋形剂。

[0540] “药物组合物”意指包含根据本发明的抗体和至少一种选自药学上可接受的和药理学上相容的填充剂、溶剂、稀释剂、载剂、助剂、分配剂和感应剂、递送剂的组分的组合物。

[0541] 术语“药学上可接受的”是指适合于在哺乳动物、优选在人类中施用的一种或多种相容的液体或固体组分。

[0542] 术语“赋形剂”在本文中用于描述除了根据本发明的抗体之外的任何成分。这些是无机或有机性质的物质,用于药品生产/制造,以便赋予药品必要的理化性质。

[0543] 在一些实施方案中,组合物旨在改善、预防或治疗可能由BCMA介导的疾病或病症。

[0544] 术语“BCMA介导的疾病或病症”是指与BCMA直接或间接相关的任何疾病或病症,包括疾病或病症的病因学、发展、进展、持续性或病理学。

[0545] “治疗”、“治疗法”和“疗法”是指减轻或消除生物病症和/或其至少一种伴随症状的方法。此外,本文提及的“治疗”包括提及治愈性、姑息性和预防性治疗。

[0546] 术语“病症”是指将受益于根据本发明的治疗的任何病况。该术语的定义包括慢性和急性病症或疾病,包括使哺乳动物易患所讨论的病症的那些病理状况。

[0547] “治疗有效量”是指在治疗期间施用的治疗剂的量,其将在一定程度上缓解所治疗的疾病的一种或多种症状。治疗有效量可根据多种因素而变化,例如所治疗的具体病况、患者的年龄、性别和体重,以及特异性结合BCMA的单克隆抗体或其抗原结合片段是否作为独

立单独治疗施用或与一种或多种另外的药物或治疗组合施用。

[0548] 一方面,治疗的受试者或患者是哺乳动物,优选人类受试者。所述受试者可以是任何年龄的雄性或雌性。

[0549] 本发明的药物组合物及其制备方法对于本领域技术人员来说无疑是显而易见的。药物组合物应当优选地按照GMP(良好生产规范)要求来制造。

[0550] 在药物组合物的一些实施方案中,其可以包含缓冲液组合物、张度剂(渗压剂或渗透剂)、稳定剂和/或增溶剂。

[0551] 根据本发明的药物组合物是稳定的组合物。

[0552] 如果活性剂在储存温度(例如2-8℃)的指定保质期内保持其物理稳定性和/或化学稳定性和/或生物活性,则药物组合物是“稳定的”。优选地,活性剂保留物理和化学稳定性以及生物活性。储存期限根据加速或自然老化条件下的稳定性试验结果进行调整。

[0553] 根据本发明的药物组合物适合作为无菌制剂进行肠胃外施用,旨在通过皮肤或粘膜屏障的破裂、通过注射、输注和植入绕过胃肠道而在受试者体内施用。特别地,考虑肠胃外施用尤其包括皮下、腹膜内、肌内、静脉内、动脉内、鞘内、心室内、尿道内、颅内、滑膜内、透皮注射或输注;和肾透析输注技术。也可以采用肿瘤内递送,例如肿瘤内注射。还考虑了区域灌注。

[0554] 在一些实施方案中,药物组合物静脉内施用。

[0555] 在一些实施方案中,静脉内施用通过使用输注、延长输注或长时间持续输注来进行。

[0556] 在一些实施方案中,药物组合物皮下施用。

[0557] 在一些实施方案中,通过使用皮下注射进行皮下施用。

[0558] 在一些实施方案中,药物组合物是可注射剂型。

[0559] 在一些实施方案中,可注射剂型是输注溶液。

[0560] 在一些实施方案中,可注射剂型是用于皮下施用的溶液。

[0561] 可注射制剂可以不受限制地以单位剂量形式制造,例如安瓿、小瓶、塑料容器、预填充注射器、自动注射装置。

[0562] 在一些实施方案中,药物组合物是以干燥形式提供的药物组合物,即粉末或颗粒形式,用于在施用之前用合适的溶剂(例如,无菌无热原水)重构。这种药物制剂可以通过例如冻干来制备,即本领域已知的冷冻干燥方法,并且其涉及冷冻产品,然后从冷冻材料中除去溶剂。

[0563] 在一些实施方案中,药物组合物是用于制备输注溶液的冻干物。

[0564] 在一些实施方案中,药物组合物是用于制备皮下施用溶液的冻干物。

[0565] 在一些实施方案中,药物组合物是用于制备输注溶液的浓缩物。

[0566] 在一些实施方案中,药物组合物是用于制备皮下施用溶液的浓缩物。

[0567] 一方面,本发明涉及药物组合物,其包含特异性结合BCMA的根据本发明的单克隆抗体或其抗原结合片段和至少一种其他治疗活性化合物。

[0568] 一方面,本发明涉及用于治疗BCMA介导的疾病或病症的药物组合物,其包含任何上述抗体或其抗原结合片段和至少一种其他治疗活性化合物。

[0569] 一方面,本发明涉及药物组合物,其包含任何上述抗体或其抗原结合片段以及进

一步至少一种其他治疗活性化合物。

[0570] 一方面,本发明涉及用于治疗BCMA介导的疾病或病症的药物组合物,其包含任何上述抗体或其抗原结合片段以及进一步至少一种其他治疗活性化合物。

[0571] 一方面,本发明涉及用于治疗BCMA介导的疾病或病症的药物组合物,其包含任何上述抗体或其抗原结合片段和至少一种其他治疗活性化合物,所述其他治疗活性化合物是抗体、小分子、激素治疗剂或其组合。

[0572] 在药物组合物的一些实施方案中,BCMA介导的疾病或病症选自:多发性骨髓瘤、慢性淋巴细胞白血病、B细胞急性淋巴细胞白血病、非霍奇金淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤。

[0573] 特异性结合BCMA的单克隆抗体或其抗原结合片段的治疗用途

[0574] 一方面,特异性结合BCMA的抗体或其抗原结合片段用于治疗由BCMA活性介导的病症。

[0575] 一方面,治疗的受试者或患者是哺乳动物,优选人类受试者。所述受试者可以是任何年龄的雄性或雌性。

[0576] 一方面,本发明涉及用于治疗BCMA介导的疾病或病症的方法,包括以治疗有效量向需要这种治疗的受试者施用任何上述抗体或其抗原结合片段或所述药物组合物。

[0577] 一方面,本发明涉及用于治疗BCMA介导的疾病或病症的方法,包括以治疗有效量向需要这种治疗的受试者施用任何上述抗体或其抗原结合片段以及至少一种其他治疗活性化合物。

[0578] 在治疗方法的一些实施方案中,BCMA介导的疾病或病症选自:多发性骨髓瘤、慢性淋巴细胞白血病、B细胞急性淋巴细胞白血病、非霍奇金淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤。

[0579] 在治疗方法的一些实施方案中,其他治疗活性化合物是小分子、激素治疗剂或其任何组合。

[0580] 一方面,本发明涉及上述抗体或其抗原结合片段或上述药物组合物用于在需要这种治疗的受试者中治疗BCMA介导的疾病或病症的用途。

[0581] 一方面,本发明涉及上述抗体或其抗原结合片段和至少一种其他治疗活性化合物用于治疗BCMA介导的疾病或病症的用途。

[0582] 在用途的一些实施方案中,BCMA介导的疾病或病症选自:多发性骨髓瘤、慢性淋巴细胞白血病、B细胞急性淋巴细胞白血病、非霍奇金淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤。

[0583] 在用途的一些实施方案中,其他治疗活性化合物是小分子、激素治疗剂或其任何组合。

[0584] 本文使用的涉及特异性结合BCMA的抗体或其抗原结合片段与一种或多种其他治疗剂的用途或方法预期意指、提及并包括以下:

[0585] 1)同时施用特异性结合BCMA的抗体或其抗原结合片段和治疗剂的此类组合至需要治疗的患者,此时此类组分一起配制成基本同时释放所述组分至所述患者的单一剂型,

[0586] 2)同时施用特异性结合BCMA的抗体或其抗原结合片段和治疗剂的此类组合至需要治疗的患者,此时此类组分彼此分开配制成基本同时被所述患者服用的单独剂型,由此所述组分基本同时释放至所述患者,

[0587] 3)序贯施用特异性结合BCMA的抗体或其抗原结合片段和治疗剂的此类组合至需要治疗的患者,此时此类组分彼此分开配制成在每次施用之间以明显的时间间隔被所述患

者在连续的时间服用的单独剂型,由此所述组分在明显不同时间释放至所述患者;和

[0588] 4)序贯施用特异性结合BCMA的抗体或其抗原结合片段和治疗剂的此类组合至需要治疗的患者,此时此类组分一起配制成以受控方式释放所述组分的单一剂型,由此它们在相同和/或不同的时间同时、连续或共同释放至所述患者,其中每个部分可通过相同或不同的途径施用。

[0589] 特异性结合BCMA的抗体或其抗原结合片段可在没有其它治疗性治疗的情况下,即作为独立疗法施用。

[0590] 在治疗方法或用途的一些实施方案中,特异性结合BCMA的抗体或抗原结合片段可以与蛋白酶体抑制剂组合施用。

[0591] 在治疗方法或用途的一些实施方案中,特异性结合BCMA的抗体或抗原结合片段可以与抗肿瘤免疫调节剂(例如来那度胺、泊马度胺)组合施用。

[0592] 在治疗方法或用途的一些实施方案中,特异性结合BCMA的抗体或抗原结合片段可以与细胞抑制化疗(环磷酰胺、依托泊苷等)组合施用。

[0593] 在治疗方法或用途的一些实施方案中,特异性结合BCMA的抗体或抗原结合片段可以与酪氨酸激酶抑制剂组合施用。

[0594] 在治疗方法或用途的一些实施方案中,特异性结合BCMA的抗体或抗原结合片段可以与BCL2抑制剂产品组合施用。

[0595] 在治疗方法或用途的一些实施方案中,特异性结合BCMA的抗体或抗原结合片段可以与输出蛋白1拮抗剂产品组合施用。

[0596] 在治疗方法或用途的一些实施方案中,特异性结合BCMA的抗体或抗原结合片段可以与糖皮质激素组合施用。

[0597] 在治疗方法或用途的一些实施方案中,特异性结合BCMA的抗体或抗原结合片段可以与抗肿瘤单克隆抗体(例如,达雷木单抗)组合施用。

[0598] 在治疗方法或用途的一些实施方案中,特异性结合BCMA的抗体或抗原结合片段可以与靶向疗法组合施用。

[0599] 在治疗方法或用途的一些实施方案中,特异性结合BCMA的抗体或抗原结合片段可以与对细胞因子(例如IL15SA、IL2)激动的单克隆抗体组合施用。

[0600] 在治疗方法或用途的一些实施方案中,特异性结合BCMA的抗体或抗原结合片段可以与拮抗细胞因子(例如抗IL6R、抗TNF)的单克隆抗体组合施用。

[0601] 在治疗方法或用途的一些实施方案中,特异性结合BCMA的抗体或抗原结合片段可以与G-CSF(粒细胞集落刺激因子)产品组合施用。

[0602] 在治疗方法或用途的一些实施方案中,特异性结合BCMA的抗体或抗原结合片段可以与造血干细胞移植复合施用。

[0603] 在治疗方法或用途的一些实施方案中,特异性结合BCMA的抗体或抗原结合片段可以与放射疗法复合施用。

[0604] 在治疗方法或用途的一些实施方案中,根据本发明的特异性结合BCMA的单克隆抗体或其抗原结合片段的合适剂量将在0.1至200mg/kg的范围内。

附图说明

[0605] 图1是带有可变结构域的遗传序列的表达载体的图谱。

[0606] 图2是带有可变结构域的遗传序列的表达载体的图谱。

[0607] 对于图1至2

[0608]

名称	定义
HpelB/LpelB/leader	信号前导肽
VH	抗体重链可变结构域基因
VK/VL	抗体轻链可变结构域基因
CK	CK (kappa) 轻链恒定结构域基因
CH1	人 IgG1 重链的第一恒定结构域基因

[0609]

6xHis	组氨酸序列
Myc	Myc 标签
STOP-LC, STOP-HC, STOP	终止密码子
START	起始密码子
ori	复制起点。在大肠杆菌细胞中起作用
AmpR	β-内酰胺酶基因，赋予氨苄青霉素抗性。能够在大肠杆菌细胞培养物中进行选择
KmR	卡那霉素抗性基因
lacI	乳糖阻遏子
linker	接头
RBS	核糖体结合位点
T7 promoter	T7 启动子
T7 terminator	T7 终止子
AmpR promoter	AmpR 启动子
lacI operator	乳糖操纵子操纵基因
lacI promoter	乳糖操纵子启动子
Rop	调节蛋白 Rop
f1_ori	噬菌体 f1 DNA 复制起点
Bom	在接合质粒存在的情况下负责质粒转移的区域。

[0610] 图3是带有抗体重链的遗传序列的载体图谱。

[0611] 图4是带有抗体轻链的遗传序列的载体图谱。

[0612] 对于图3至4

[0613]

名称	定义
CMV-promotor	真核 CMV 启动子
Leader	鼠 IgK 信号前导肽
VH	抗体重链可变结构域基因
VL	抗体轻链可变结构域基因
CK	CK(kappa)轻链恒定结构域基因
CH1	人 IgG1 重链的 CH1 恒定结构域
CH2LALA	具有 L234A 和 L235A 突变的人 IgG1 重链的 CH2 结构域
CH3	人 IgG1 重链的 CH3 恒定结构域
STOP	终止密码子

[0614]

PolyA	多聚腺苷酸化信号
EBV origin	EB 病毒复制的真核起点
Hinge	人 IgG1 铰链区
AmpR	β-内酰胺酶基因，赋予氨苄青霉素抗性，能够在大肠杆菌细胞培养物中进行选择
CMV_enhancer	巨细胞病毒增强子
Kozak	Kozak 共有序列
START	起始密码子
AmpR promoter	β-内酰胺酶基因启动子
Ori	高拷贝细菌复制起点

[0615] 图5是在蛋白A吸附剂上进行第一阶段纯化后,在变性非还原条件下,候选物01、06、016、021和022在7.5%聚丙烯酰胺凝胶中的电泳图。

[0616] M是分子量标记。

[0617] 1-候选物01。

[0618] 2-候选物06。

[0619] 3-候选物016。

[0620] 4-候选物021。

[0621] 5-候选物022。

[0622] 图6是在蛋白A吸附剂上进行第一阶段纯化后,在变性非还原条件下,候选物024、025、026、027、030、033和037在7.5%聚丙烯酰胺凝胶中的电泳图。

[0623] M是分子量标记。

[0624] 1-候选物024。

[0625] 2-候选物025。

[0626] 3-候选物026。

[0627] 4-候选物027。

[0628] 5-候选物030。

[0629] 6-候选物033。

[0630] 7-候选物037。

实施例

[0631] 提供以下实施例是为了更好地理解本发明。这些实施例仅用于说明的目的并且不应被解释为以任何方式限制本发明的范围。

[0632] 本说明书中引用的所有出版物、专利和专利申请均通过引用并入本文。尽管为了清楚理解的目的已经通过说明和示例的方式对前述发明进行了一些详细的描述,但是根据本发明的教导,对于本领域普通技术人员显而易见的是,可以进行某些改变和修改,而不脱离所附实施方案的精神或范围。

[0633] 材料和一般方法

[0634] 关于人免疫球蛋白轻链和重链的核苷酸序列的一般信息参见:Kabat,E.A.,et al.,Sequences of Proteins of Immunological Interest,5th ed.,Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD(1991)。抗体链的氨基酸根据EU编号进行编号(Edelman,G.M.,et al.,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 63(1969)78-85;Kabat,E.A.,et al.,Sequences of Proteins of Immunological Interest,5th ed.,Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD,(1991)。

[0635] 重组DNA技术

[0636] 使用标准方法操作DNA,如Sambrook,J.et al,Molecular cloning:A laboratory manual;Cold Spring Harbor Laboratory Press,Cold Spring Harbor,New York,1989所述。根据制造商的方案使用分子生物学试剂。

[0637] 基因合成

[0638] 所需的基因区段是由化学合成产生的寡核苷酸制备的。侧翼为单一限制性位点的300-1400bp长的基因区段通过寡核苷酸的退火和连接(包括PCR扩增)进行组装,然后通过限制性位点进行克隆。通过DNA测序确认了亚克隆基因片段的DNA序列。

[0639] DNA序列测定

[0640] DNA序列通过桑格测序确定。

[0641] DNA和蛋白质序列分析和序列数据管理

[0642] Unipro's UGENE suite version 1.29和SnapGene Viewer用于序列创建、绘图、分析、注释和说明。

[0643] 表达载体

[0644] 为了表达本申请材料中描述的抗体,应用了旨在用于在原核细胞(大肠杆菌)中表达抗体、在真核细胞(例如,在CHO细胞中)中瞬时表达的表达质粒的变体。除了抗体表达盒之外,载体还含有:允许所述质粒在大肠杆菌中复制的复制起点、赋予大肠杆菌对各种抗生素(例如氨苄青霉素、卡那霉素)抗性的基因。

[0645] 包含如下所述的所述抗体链的融合基因通过PCR和/或基因合成产生,并使用已知的重组方法和技术通过连接相应的核酸区段(例如使用相应载体中的独特限制性位点)来组装。通过DNA测序验证亚克隆的核酸序列。对于瞬时转染,通过从转化的大肠杆菌培养物中制备质粒来制备更大量的质粒。

[0646] 实施例1.在哺乳动物细胞悬浮培养物中生产重组抗原

[0647] 将人BCMA受体的胞外结构域序列(SEQ https://www.uniprot.org/uniprot/Q02223(1-54aa))克隆到pEE质粒中,用于在哺乳动物细胞中使用TEV-Fc、Avi-His、Avi-His-TEV-HSA标签通过SalI/NotI限制性位点生成蛋白质。在大肠杆菌细胞中培养所需量的质粒并使用Qiagen试剂盒进行纯化。

[0648] 抗原是在从中国仓鼠卵巢(CHO-T)细胞获得的已建立细胞系中产生的。在定轨培养箱摇床上的烧瓶中进行悬浮培养。为了表达靶抗原,使用线性聚乙烯亚胺转染细胞。转染后9天,通过0.5/0.22μm深床过滤器过滤将培养液与细胞分离。

[0649] 从培养液中分离出抗原BCMA-TEV-Fc,并使用带有蛋白A亲和层析吸附剂的柱进行纯化。将澄清的培养液通过用磷酸盐缓冲盐水(PBS,pH 7.4)平衡的柱。使用0.1M甘氨酸缓冲液(pH 2.5)洗脱结合的抗原。然后将所得靶蛋白透析到PBS(pH 7.4)中,添加DTT,将混合物通过0.22μm Millex GP过滤,转移到试管中并储存在-70°C下。从培养液中分离出BCMA-Avi-His、BCMA-Avi-His-TEV-HSA抗原,并使用Ni-NTA亲和层析柱进行纯化。将澄清的培养液通过用磷酸盐缓冲盐水(PBS,pH 7.4)平衡的柱。用补充有500mM咪唑(pH7.4)的PBS洗脱结合的抗原。然后将蛋白质透析到PBS中。此后,将蛋白质施加到凝胶过滤柱上。所得蛋白质通过0.22μmMillex GP过滤,转移至试管中并储存于-70℃。

[0650] 实施例2.抗体01-001、01-006、01-016、01-021、01-022、01-024、01-025、01-026、01-027、01-030、01-033、01-037的可变结构域基因克隆到表达质粒

[0651] 根据标准方案,使用限制性连接方法将抗体的可变结构域基因克隆到表达质粒pLL(图1)和pET22(图2)中。

[0652] 随后,将包含抗体片段的表达载体转化至大肠杆菌BL21-DE3和BL21-Gold菌株中,以使用自动化平台通过ELISA对来自展示文库的可变抗体片段与抗原的亲和力进行比较分析。

[0653] 实施例3.特异性结合人BCMA的抗体01-001、01-006、01-016、01-021、01-022、01-024、01-025、01-026、01-027、01-030、01-033、01-037的Fab和scFv的产生和初步分析

[0654] Fab和scFv根据标准技术生成:分别用含有scFv和Fab基因的表达载体转化大肠杆菌BL21-DE3和BL21-Gold细菌细胞,随后添加诱导剂触发lac操纵子的转录,从而同时培养所得转化体,引起scFv和Fab的表达,并将其输出到周质空间。然后进行ELISA以验证scFv和Fab与浓度为0.2μg/ml的底物固定抗原hBCMA-Avi-His/0.1M $NaHCO_3$(pH 9.0)的结合(抗原在4℃下固定过夜)。所有进一步的步骤均在室温下根据标准ELISA方案使用基于机器人系统的高通量自动化平台进行。每个步骤后用300μl/孔1x PBST进行清洗,重复3次。板上的非特异性结合位点用含1%脱脂牛奶的1x PBST封闭;洗涤后添加分析物(60μl/孔的大肠杆菌上清液)。使用过氧化物酶缀合的山羊抗Myc标签抗体(1:20000)检测免疫复合物。通过添加50μl底物溶液15分钟对底物显色混合物进行染色。使用25μl 1% H_2SO_4终止反应。颜色信号在450nm波长下测量。抗体结合水平与产生的信号成比例。在ELISA中针对非特异性结合测试颜色信号超过对照抗体信号的克隆。

[0655] 因此,抗体01-001、01-006、01-016、01-021、01-022、01-024、01-025、01-026、01-027、01-030、01-033、01-037的所有测试的Fab和scFv表现出与hBCMA-Avi-His的特异性结合。

[0656] 实施例4.抗体01-001、01-006、01-016、01-021、01-022、01-024、01-025、01-026、01-027、01-030、01-033、01-037的Fab和scFv与其他抗原的非特异性结合的分析

[0657] ELISA还用于分析所讨论的scFv和Fab与不同抗原的非特异性结合。如上所述进行分析,不同之处在于使用0.1M $NaHCO_3$(pH 9.0)中的hCD16-Avi-His-FLAG、cynoIL4R-Fc作为固定抗原(抗原在4℃下固定过夜)。hBCMA-Avi-His、恒河猴BCMA用作特异性结合的对照(抗原在4℃下固定过夜)。所有后续步骤均使用高通量自动化平台根据标准ELISA方案进行。

[0658] 抗体01-001、01-006、01-016、01-021、01-022、01-024、01-025、01-026、01-027、01-030、01-033、01-037的所有测试Fab和scFv表现出与hBCMA-Avi-His、恒河猴BCMA的特异性结合,并且不表现出与hCD16-Avi-His-FLAG和cynoIL4R-Fc的非特异性相互作用。

[0659] 实施例5.抗体01-001、01-006、01-016、01-021、01-022、01-024、01-025、01-026、01-027、01-030、01-033、01-037的Fab和scFv在ForteBio上的解离速率方面的分析

[0660] 使用FAB2G生物传感器(ForteBio)在ForteBio Octet RED 384系统上测量Fab。在(5±3)℃的温度条件下将Fab样品从上清液加载到传感器上16-18小时。加载后,将传感器转移至含有500mM NaCl的动力学缓冲溶液中(4.3mM Na_2HPO_4;500mM NaCl,1.5mM KH_2PO_4;2.7mM KCl;添加的Tween20的体积分数为0.1%;添加的BSA质量分数为0.1%;pH7.4),给定的缓冲溶液用于准备涉及Fab样品的所有后续实验步骤。测量在30℃下进行。传感器在动力学缓冲溶液中平衡至少10分钟,然后记录基线(60秒)。基线记录后,将带有固定Fab的传感器浸入含有分析物溶液(重组人抗原BCMA-Avi-His-TEV-HSA)的孔中,其中抗原-Fab复合物结合300秒。人BCMA浓度为391.2nM(30μg/ml)。然后检测动力学缓冲溶液中的复合物解离600秒。为了检查分析物和传感器(阴性对照)之间的非特异性相互作用,我们使用了不含候选Fab的传感器。在加载步骤中,将阴性对照传感器浸入不含Fab的上清液中,所有其他步骤与加载Fab样品的传感器所用的步骤类似。

[0661] scFv在Forte Bio Octert RED 384系统上使用SAX生物传感器(ForteBio)进行测量。为了进行测量,人BCMA以抗原/生物素摩尔比1:1.5进行生物素化。相互作用动力学分析在30℃下进行。使用动力学缓冲溶液(4.3mM Na_2HPO_4;136.9mM NaCl,1.5mM KH_2PO_4;2.7mM KCl;添加的Tween20的体积分数为0.1%;添加的BSA的质量分数为0.1%;pH7.4)进行分析。将生物素化的人BCMA加载到传感器上600秒,动力学缓冲溶液中抗原溶液的浓度为20μg/ml。记录基线120秒。基线记录后,将带有固定抗原的传感器浸入含有分析物溶液(候选scFv)的孔中,其中抗原-scFv复合物结合150秒(对于结合步骤,scFv样品用动力学缓冲溶液稀释至浓度为1200nM)。然后检测动力学缓冲溶液中抗原-scFv复合物的解离600秒。参考信号与候选传感图的记录同时记录,并在处理传感图时被减去。参考信号是在结合步骤中浸入无分析物的动力学缓冲溶液中的传感器的信号,所有其他步骤与记录测试信号的传感器类似。未加载抗原的传感器用于验证分析物(候选scFv)和传感器之间的非特异性相互作用。在加载步骤中,将阴性对照传感器浸入无抗原的钠动力学缓冲溶液中,并且所有其他步骤与用于加载抗原的传感器的步骤类似。

[0662] 使用Octet Data Analysis(版本9.0)软件并使用1:1相互作用模型分析结合曲线。抗体01-001、01-006、01-016、01-021、01-022、01-024、01-025、01-026、01-027、01-030、01-033、01-037的Fab和scFv的分析结果如表1所示。这些Fab和scFv进一步用于产生全长抗

体。

[0663] 表1-ForteBio Octet RED384上抗体01-001、01-006、01-016、01-021、01-022、01-024、01-025、01-026、01-027、01-030、01-033、01-037的Fab和scFv与人BCMA的相互作用动力学分析结果。

[0664]

候选物	响应*, nm	KD, M	Kon, 1/Ms	Kdis, 1/s	R^2
01-001 (Fab)	0.8314	104E-08	3.54E+04	3.67E-04	0.9919
01-006 (Fab)	0.2955	5.04E-09	4.45E+04	2.24E-04	0.9718
01-016 (Fab)	0.5322	8.46E-09	4.31E+04	3.65E-04	0.9876
01-021 (Fab)	0.641	3.93E-09	6.78E+04	2.66E-04	0.9765
01-022 (scFv)	0.1622	1.44E-08	7.11E+04	1.03E-03	0.9403
01-024 (scFv)	0.1739	1.50E-09	3.80E+05	5.70E-04	0.8803
01-025 (scFv)	0.1833	1.55E-08	8.26E+04	1.28E-03	0.9721
01-026 (scFv)	0.1148	5.96E-08	4.17E+04	2.48E-03	0.9843
01-027 (scFv)	0.1712	3.38E-09	2.84E+05	9.60E-04	0.8347
01-030 (scFv)	0.1721	8.42E-09	1.12E+05	9.39E-04	0.9351
01-033 (scFv)	0.1502	6.67E-09	1.12E+05	7.46E-04	0.9493
01-037 (scFv)	0.1931	1.34E-08	7.07E+04	9.49E-04	0.9486
Fab 的阴性对照**	0.0368				
scFv 的阴性对照***	≤ 0.0272				

*响应–结合步骤结束时达到的信号水平;

**Fab 的阴性对照–与人 BCMA 相互作用时未加载的 FAB2G 传感器的信号;

***scFv 的阴性对照–带有 scFv 样品溶液的未加载 SAX 传感器的信号; 对 scFv 形式的所有样品进行测量, 观察到的最高值为 0.0272nm。

[0665] 实施例6.用于合成全长抗体的基因构建体的产生

[0666] 通过标准技术进行克隆。我们用包含限制性位点的引物,产生了包含抗体01-001、01-006、01-016、01-021、01-022、01-024、01-025、01-026、01-027、01-030、01-033、01-037的重链和轻链可变结构域基因的PCR产物。重链可变结构域通过Sal1/Nhe1限制性位点克隆到载体pEE-HCLALA IgG1中(图3)。轻链可变结构域通过Sal1/BsiW1限制性位点克隆到载体pEE-CK中(图4)。所得基因构建体被转移以在CHO-T细胞系中瞬时产生蛋白质。

[0667] 实施例7.全长抗体的产生

[0668] 全长抗体01-001、01-006、01-016、01-021、01-022、01-024、01-025、01-026、01-027、01-030、01-033、01-037是在从中国仓鼠卵巢细胞(CHO-T)获得的已建立细胞系中使用瞬时转染以两次重复产生的。使用无血清培养基在定轨振荡生物反应器中进行悬浮培养。对于瞬时表达,使用线性聚乙烯亚胺以2-2.2×10^6个细胞/ml的浓度转染细胞。DNA/PEI比例为1:7。培养第10天,将细胞悬液在2000g下离心15分钟,并通过0.22μm过滤器过滤。

[0669] 使用机器人工作站通过亲和层析柱纯化抗体。用含有50mM NaPB(磷酸钠缓冲液)、150mM NaCl(pH 7.5)的缓冲液平衡柱,施加过滤后的含有抗体的培养液,然后用8倍体积的含有50mM NaPB的缓冲液,150mM NaCl和4体积的50mM NaPB(pH 7.5)洗涤柱。使用6倍柱体

积的50mM NaPB、100mM NaCl(pH 3)溶液洗脱蛋白质。所得样品用25μl 1M磷酸盐缓冲液(pH 8)中和。

[0670] 使用聚丙烯酰胺凝胶电泳和尺寸排阻HPLC来监测候选物的纯度。在变性非还原条件下在7.5%聚丙烯酰胺凝胶中进行电泳。蛋白质纯度由每泳道10μg蛋白质上样下的条带染色强度确定。电泳图如图5和图6所示。尺寸排阻HPLC在柱上进行,流动相为0.05M NaH_2PO_4、0.3M NaCl pH=7.0。

[0671] 实施例8.Forte Bio上全长抗体01-001、01-006、01-016、01-021、01-022、01-024、01-025、01-026、01-027、01-030、01-033、01-037与人BCMA的亲和力的测定

[0672] 研究抗体01-001、01-006、01-016、01-021、01-022、01-024、01-025、01-026、01-027、01-030、01-033、01-037与人BCMA的亲和力的实验在ForteBio Octet RED 384系统上进行。将浓度为20μg/ml的抗体固定到蛋白A生物传感器(ForteBio)的表面。分析在30℃下使用动力学缓冲溶液(4.3mM Na_2HPO_4;136.9mM NaCl,1.5mM KH_2 PO_4;2.7mM KCl;添加的Tween 20的体积分数为0.1%;添加的BSA的质量分数为0.1%;pH 7.4)进行。在动力学缓冲溶液中设定基线后,将带有固定抗体的传感器浸入含有分析物(BCMA)溶液的孔中,复合物在其中发生300秒的结合。对于每种测试抗体,记录浓度为10μg/ml(130.4nM)的人BCMA溶液的传感图和不含BCMA的动力学缓冲溶液的参考信号(参考传感图)。然后检测缓冲溶液中复合物的解离600秒。为了验证分析物与传感器(阴性对照)之间的非特异性相互作用,我们使用未加载抗体的传感器。在加载步骤中,将阴性对照传感器浸入不含抗体的乙酸钠缓冲液中,并且所有其他步骤与加载抗体的传感器所用的步骤类似。

[0673] 减去参考信号后,使用Octet Data Analysis(版本9.0)软件和使用1:1相互作用模型对结合曲线进行分析(表2)。

[0674] 表2-抗体/人BCMA相互作用的动力学常数。

[0675]

抗体	响应*, nm	KD, M	Kon, 1/Ms	Kdis, 1/s	R^2
01-001	1.0255	1.89E-09	8.37E+04	1.58E-04	0.9954
01-006	0.4332	5.16E-09	9.83E+04	5.08E-04	0.9851
01-016	1.0352	3.44E-09	8.05E+04	2.77E-04	0.9951
01-021	1.3325	2.15E-09	1.02E+05	2.18E-04	0.9924
01-022	0.6207	3.08E-09	1.05E+05	3.25E-04	0.9877
01-024	0.6046	5.34E-10	1.83E+05	9.77E-05	0.9973
01-025	0.5664	3.97E-09	8.15E+04	3.24E-04	0.9936
01-026	0.4853	6.20E-09	6.92E+04	4.29E-04	0.9936
01-027	0.6213	5.92E-10	1.80E+05	1.07E-04	0.9974
01-030	1.1529	1.82E-09	9.54E+04	1.73E-04	0.9946
01-033	1.0012	1.09E-09	9.95E+04	1.09E-04	0.9944
01-037	0.4618	2.91E-09	9.29E+04	2.70E-04	0.9842
阴性对照**	-0.0142				

[0676]

*响应–结合步骤结束时达到的信号水平;

**阴性对照–验证分析物(人 BCMA)与未加载抗体的传感器之间的非特异性相互作用。

[0677] 因此,所有测试抗BCMA抗体特异性结合人BCMA并且具有相对于人BCMA的高结合亲和力参数(表3)。

[0678] 实施例13.在Forte Bio系统上验证全长抗体01-001、01-006、01-016、01-021、01-022、01-024、01-025、01-026、01-027、01-030、01-033、01-037与恒河猴BCMA之间的相互作用。

[0679] 本实验旨在确认抗体01-001、01-006、01-016、01-021、01-022、01-024、01-025、01-026、01-027、01-030、01-033、01-037与恒河猴BCMA之间的相互作用。使用AR2G生物传感器(ForteBio)在ForteBio Octet RED384系统上验证了抗体与恒河猴BCMA之间的相互作用。实验包括以下步骤:激活传感器、将蛋白质加载到传感器上、淬灭未反应的激活基团、记录基线、记录分析物结合、记录解离。测量在30℃下进行。传感器在包含20mM EDC和10mM sNHS的水溶液中激活300秒。将恒河猴BCMA在pH 5.0的10mM乙酸钠缓冲溶液中加载到生物传感器表面,持续300s。加载蛋白浓度为10μg/ml。将传感器表面上未反应的活性中心在pH 8.5的1M乙醇胺水溶液中猝灭300秒(通过添加盐酸调节pH值)。为了验证分析物与传感器(阴性对照)之间的非特异性相互作用,我们使用了无抗原传感器(在加载步骤中,将传感器浸入pH 5.0的10mM乙酸钠缓冲溶液中;所有其他步骤与用于加载抗原的传感器类似)。实验的基线和所有后续步骤均在动力学缓冲溶液(4.3mM Na_2HPO_4;136.9mM NaCl,1.5mM KH_2PO_4;2.7mM KCl;添加的Tween 20的体积分数为0.1%;添加的BSA的质量分数为0.1%;pH 7.4)进行。在结合步骤(步骤持续时间为300秒),将恒河猴BCMA加载传感器浸入含有在动力学缓冲溶液中制备的分析物(测试抗体)溶液的孔中。分析物浓度为2.5μg/ml。在解离步骤中,将传感器浸入含有动力学缓冲液的孔中,其中记录基线。

[0680] 使用Octet Data Analysis(版本9.0)软件并使用1:1相互作用模型处理结合曲线。处理结果如表4所示(kdis值<1.0E-07(1/s)和相应的KD值<1.0E-12(M)意味着,在所应用的测量和处理技术的框架内,给定的样品显示超出了描述传感图的模型曲线的解离速率常数的灵敏度极限)。通过使用二价分析物(抗体),所得动力学常数值具有估计性质,并且只能用于比较样品。所有抗BCMA抗体均在结合步骤中表现出与恒河猴BCMA结合的信号,并在解离步骤中表现出缓慢的信号衰减,从而证实了与该抗原相互作用时的高亲合力。因此,所有测试的抗BCMA抗体均特异性结合恒河猴BCMA(表3)。

[0681] 表3-抗体-恒河猴BCMA结合传感图的处理结果。

[0682]

抗体	响应*, nm	KD, M	Kon, 1/Ms	Kdis, 1/s	R^2
01-001	1.7867	<1.0E-12	3.06E+05	<1.0E-07	0.9595
01-006	1.4718	2.83E-11	4.85E+05	1.37E-05	0.9998
01-016	1.8205	<1.0E-12	3.23E+05	<1.0E-07	0.9611
01-021	1.8126	<1.0E-12	3.54E+05	<1.0E-07	0.9489
01-022	1.8809	<1.0E-12	3.31E+05	<1.0E-07	0.9534
01-024	1.8102	7.32E-12	4.96E+05	3.63E-06	0.9997
01-025	1.2699	4.02E-12	5.92E+05	2.38E-06	0.9992
01-026	1.4956	<1.0E-12	4.91E+05	<1.0E-07	0.9994
01-027	0.6259	<1.0E-12	1.10E+06	<1.0E-07	0.9897
01-030	1.1718	<1.0E-12	8.22E+05	<1.0E-07	0.9928
01-033	1.3062	<1.0E-12	5.55E+05	<1.0E-07	0.9993
01-037	1.5779	<1.0E-12	5.27E+05	<1.0E-07	0.9997
阴性对照**	≤0.0150				

鉴于使用二价分析物(抗体)，常数 KD、Kon 和 Kdis 的给定值只能用于比较候选物；并且常数 Kdis 的值<1.0E-07 (1/s)以及相应的 KD <1.0E-12 (M)的值意味着，在所应用的测量和处理技术的框架内，给定的样品显示超出描述传感图的模型曲线的解离速率常数的灵敏度极限；

*响应——结合步骤结束时达到的信号水平；

**阴性对照——验证分析物(抗体)与未加载抗原的传感器之间的非特异性相互作用；对所有抗体样品进行测量，观察到的最高值为 0.0150 nm。

[0683] 实施例14.在Forte Bio系统上抗体01-001、01-006、01-016、01-021、01-022、01-024、01-025、01-026、01-027、01-030、01-033、01-037对APRIL与人BCMA之间相互作用的抑制的验证。

[0684] 该研究在使用AR2G生物传感器(ForteBio)的ForteBio Octet RED 384系统上进行。实验包括以下主要步骤:将人APRIL/TNFSF13抗原加载到传感器上,验证APRIL/TNFSF13抗原与人BCMA和测试抗体的混合物(预混物)的结合。将不含抗体的人BCMA溶液用作阳性对照。通过比较预混物信号(响应)和阳性对照信号来确定相互作用的抑制。

[0685] 传感器在包含20mM EDC和10mM sNHS的水溶液中激活300秒。将APRIL/TNFSF13抗原在pH5.0的10mM乙酸钠缓冲液中加载到生物传感器表面,持续900秒。APRIL/TNFSF13蛋白加载浓度为10μg/ml。为了验证分析物与传感器之间的非特异性相互作用,我们使用了无抗原传感器(在加载步骤中,将传感器浸入pH 5.0的乙酸钠缓冲液中;所有其他步骤与加载抗原的传感器所使用的步骤类似)。将传感器表面上未反应的活性中心在pH 8.5的1M乙醇胺水溶液(通过添加盐酸调节pH)中猝灭300s。猝灭步骤之后的所有实验步骤均在动力学缓冲液中进行:(4.3mM Na_2HPO_4;136.9mM NaCl,1.5mM KH_2PO_4;2.7mM KCl;添加的吐温20的体积分数为0.1%;添加BSA(牛血清白蛋白)的质量分数为0.1%;pH 7.4)。在结合步骤(步骤持续时间为300秒),将加载蛋白的传感器浸入含有分析物溶液的孔中。在动力学缓冲溶液中包含710nM测试抗体和71nM人BCMA的溶液用作结合步骤中的分析物。将含有浓度为71nM的

人BCMA的溶液(分析物)用作阳性对照。测量在30℃下进行。参考传感器经历了与用于记录分析物传感图的传感器一样的所有步骤,除了结合步骤-在结合步骤中,传感器浸入没有分析物的动力学缓冲液中(并行测量参考传感器信号,且记录主要传感图)。在处理传感图时,从分析信号中减去参考信号。

[0686] 使用ForteBio Octet Data Analysisn 9.0软件处理传感图。实验结果如表4所示。测试抗体01-001、01-006、01-016、01-021、01-022、01-024、01-025、01-026、01-027、01-030、01-033、01-037抑制加载到传感器上的APRIL/TNFSF13与人BCMA的结合。

[0687] 表4-抗体抑制APRIL/TNFSF13与人BCMA之间相互作用的验证结果。

[0688]

抗体	加载到传感器上的蛋白质	分析物(抗体+ 人 BCMA 预混物)	响应*, nm	注释
01-001	APRIL/TNFSF13	710 nM 01-001 和 71 nM BCMA	-0.0081	01-001 抑制 BCMA 与 APRIL/TNFSF13 的结合
01-006	APRIL/TNFSF13	710 nM 01-006 和 71 nM BCMA	0.0464	01-006 抑制 BCMA 与 APRIL/TNFSF13 的结合
01-016	APRIL/TNFSF13	710 nM 01-016 和 71 nM BCMA	-0.0062	01-016 抑制 BCMA 与 APRIL/TNFSF13 的结合
01-021	APRIL/TNFSF13	710 nM 01-021 和 71 nM BCMA	-0.0015	01-021 抑制 BCMA 与 APRIL/TNFSF13 的结合
01-022	APRIL/TNFSF13	710 nM 01-022 和 71 nM BCMA	0.013	01-022 抑制 BCMA 与 APRIL/TNFSF13 的结合
01-024	APRIL/TNFSF13	710 nM 01-024 和 71 nM BCMA	0.0151	01-024 抑制 BCMA 与 APRIL/TNFSF13 的结合
01-025	APRIL/TNFSF13	710 nM 01-025 和 71 nM BCMA	0.0259	01-025 抑制 BCMA 与 APRIL/TNFSF13 的结合
01-026	APRIL/TNFSF13	710 nM 01-026 和 71 nM BCMA	0.0111	01-026 抑制 BCMA 与 APRIL/TNFSF13 的结合

[0689]

01-027	APRIL/TNFSF13	710 nM 01-027 和 71 nM BCMA	0.017	01-027 抑制 BCMA 与 APRIL/TNFSF13 的结合
01-030	APRIL/TNFSF13	710 nM 01-030 和 71 nM BCMA	-0.0066	01-030 抑制 BCMA 与 APRIL/TNFSF13 的结合
01-033	APRIL/TNFSF13	710 nM 01-033 和 71 nM BCMA	-0.0078	01-033 抑制 BCMA 与 APRIL/TNFSF13 的结合
01-037	APRIL/TNFSF13	710 nM 01-037 和 71 nM BCMA	0.0304	01-037 抑制 BCMA 与 APRIL/TNFSF13 的结合
阳性对照***	APRIL/TNFSF13	71 nM BCMA	0.6588	阳性对照，证明 BCMA 与 APRIL/TNFSF13 结合，而不抑制抗体
阴性对照**	未加载传感器	71 nM BCMA	-0.0461	证明不存在分析物(71 nM BCMA)与不含 APRIL/TNFSF13 抗原的传感器的结合
*响应 – 结合步骤结束时达到的信号水平； **阴性对照 – 验证 BCMA(抗体)与不含抗原的传感器之间的非特异性相互作用； ***阳性对照 – 人 BCMA 与 APRIL/TNFSF13 的结合信号(响应)，无抑制抗体。				

[0690] 实施例15.通过流式细胞术分析抗BCMA抗体01-001、01-006、01-016、01-021、01-022、01-024、01-025、01-026、01-027、01-030、001-033、01-037与RPMI8226细胞表面上的人BCMA的结合。

[0691] 通过流式细胞术对其表面稳定表达BCMA受体的RPMI8226细胞系(多发性骨髓瘤)评价抗BCMA抗体01-001、01-006、01-016、01-021、01-022、01-024、01-025、01-026、01-027、01-030、01-033、01-037与细胞表面上的人BCMA结合的能力。

[0692] 将孔中的25,000个细胞在染色缓冲液(PBS+NaN_3+5% BSA)中于+4℃孵育30分钟，并连续稀释测试抗体。此后，用冷(+4℃)染色缓冲液洗涤细胞2次，并通过用藻红蛋白标记的抗人Fc二抗在+4℃下染色30分钟来检测结合的抗体。未引入抗体且仅具有二抗的孔用作对照。此后，用冷(+4℃)染色缓冲液洗涤细胞2次，并重悬于150μl冷(+4℃)染色缓冲液中。然后在流式细胞仪上分析样品。我们进行前向和侧向散射(FSC和SSC)门控来区分目标细胞群;此后，我们进行前向散射高度和前向散射面积(FSC-H和FSC-A)门控，以识别群体中的单个(单一)细胞。

[0693] 通过绘制四参数logistic回归模型计算EC_{50}的半有效浓度，数据如表5所示。

[0694] 表5-抗BCMA抗体与RPMI8226细胞表面结合时的ED_{50}。

[0695]

抗体	EC_{50}(μg/ml)
01-001	0.59
01-006	0.45
01-016	1.05
01-021	0.49
01-022	0.76
01-024	0.22
01-025	0.70
01-026	1.75
01-027	0.25
01-030	0.33
01-033	0.39
01-037	0.79

[0696] 结论:所得数据显示所有测试的抗体均与多发性骨髓瘤细胞表面的BCMA靶标结合。

[0697] 实施例16.通过流式细胞术分析BCMA阴性K562细胞表面上的抗BCMA抗体01-001、01-006、01-016、01-021、01-022、01-024、01-025、01-026、01-027、01-030、01-033、01-037的非特异性结合。

[0698] 通过流式细胞术对K562细胞系(慢性髓性白血病)评估抗BCMA抗体01-001、01-006、01-016、01-021、01-022、01-024、01-025、01-026、01-027、01-030、01-033、01-037的非特异性结合的存在,所述K562细胞系的特征在于其表面上不存在BCMA表达。

[0699] 将孔中的25,000个K562细胞与稀释的测试抗体一起在染色缓冲液(PBS+NaN_3+5%BSA)中在+4℃下孵育30分钟。此后,用冷(+4℃)染色缓冲液洗涤细胞2次,并通过用藻红蛋白标记的抗人Fc二抗在+4℃下染色30分钟来检测结合的抗体。未引入抗体且仅具有二抗的孔用作对照。此后,用冷(+4℃)染色缓冲液洗涤细胞2次,并重悬于150μl冷(+4℃)染色缓冲液中。然后在流式细胞仪上分析样品。我们进行前向和侧向散射(FSC和SSC)门控来区分目标细胞群;此后,我们进行前向散射高度和前向散射面积(FSC-H和FSC-A)门控,以识别群体中的单个(单一)细胞。

[0700] RPMI8226用作测试抗体与BCMA的细胞表面结合的阳性对照。样品制备与上述K562类似进行。

[0701] 通过比较K562和RPMI8226细胞系变体中相同浓度抗体的荧光信号水平来评估抗体的非特异性结合,数据显示在表6中。

[0702] 表6-抗BCMA抗体与K562(BCMA阴性系)和RPMI8226(BCMA阳性系)的细胞表面结合数据。

[0703]

抗体	荧光信号水平(样品/背景)	
	RPMI8226 ($BCMA^+$)	K562 ($BCMA^-$)
01-001	10.66	0.97
01-006	9.61	1.04
01-016	7.87	0.85
01-021	9.99	1.00
01-022	9.57	1.05
01-024	19.91	1.53
01-025	15.02	1.23
01-026	12.10	1.34

[0704]

01-027	19.11	1.53
01-030	16.46	1.13
01-033	14.66	1.13
01-037	11.68	1.21

[0705] 结论:结果显示所有测试的抗体均未表现出与BCMA阴性细胞系的非特异性结合。

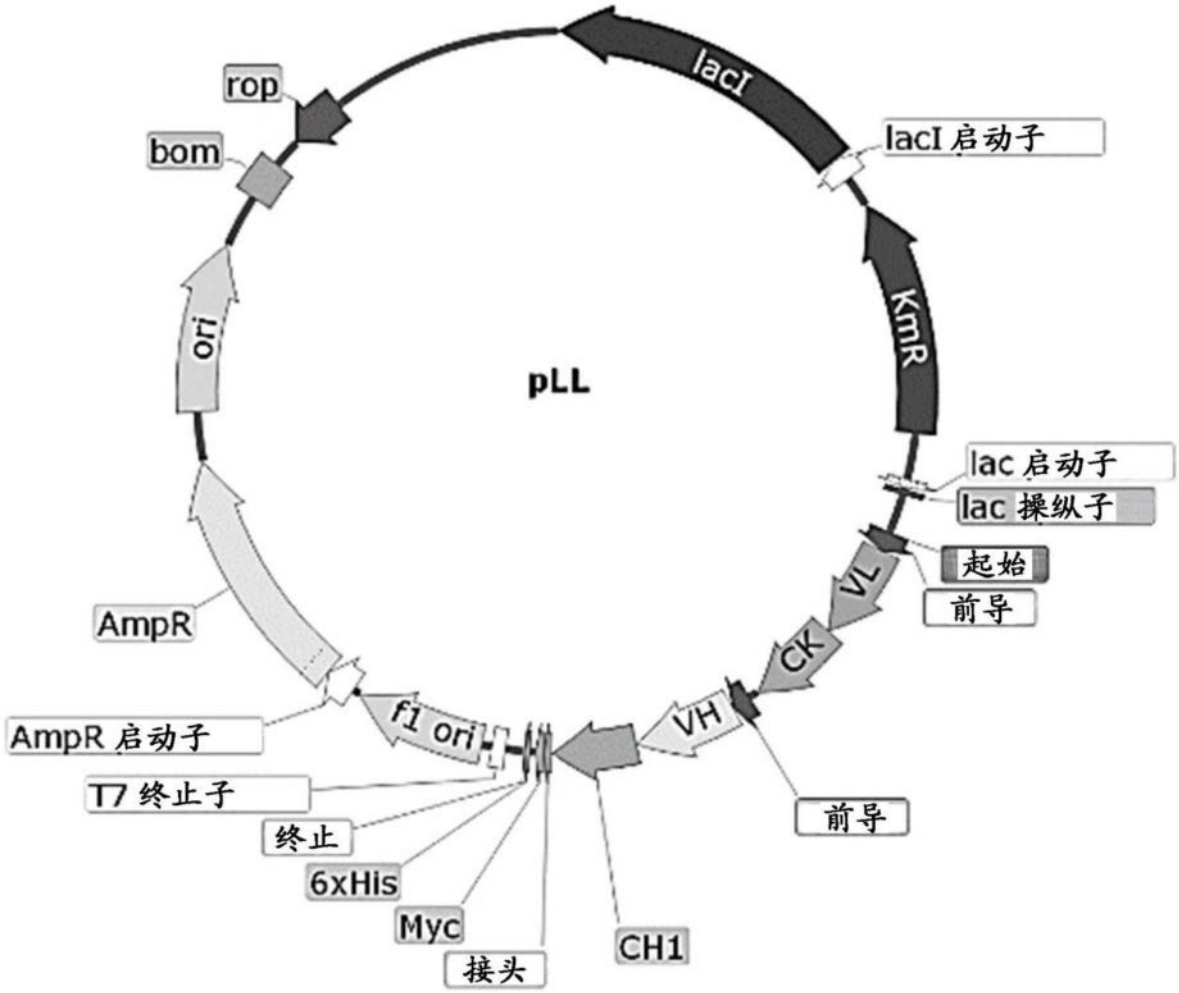

rop
bom
ori
AmpR
AmpR 启动子
T7 终止子
终止
6xHis
Myc
接头
f1 ori
pLL
lacI
lacI 启动子
KmR
lac 启动子
lac 操纵子
起始
前导
VL
CK
VH
前导
CH1

图1

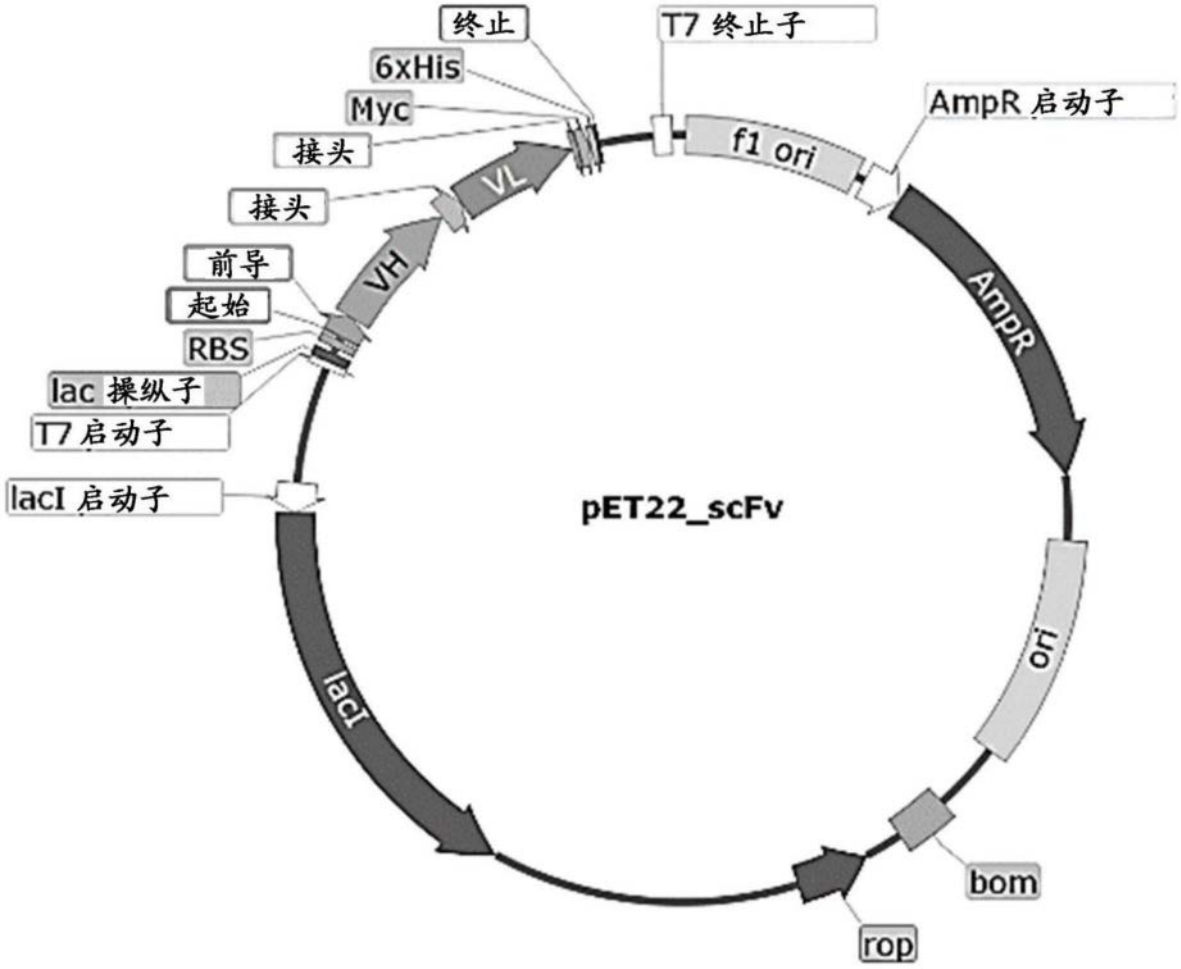

终止
6xHis
Myc
接头
接头
前导
起始
RBS
lac 操纵子
T7 启动子
lacI 启动子
T7 终止子
AmpR 启动子
f1 ori
VL
VH
AmpR
ori
bom
rop
lacI
pET22_scFv

图2

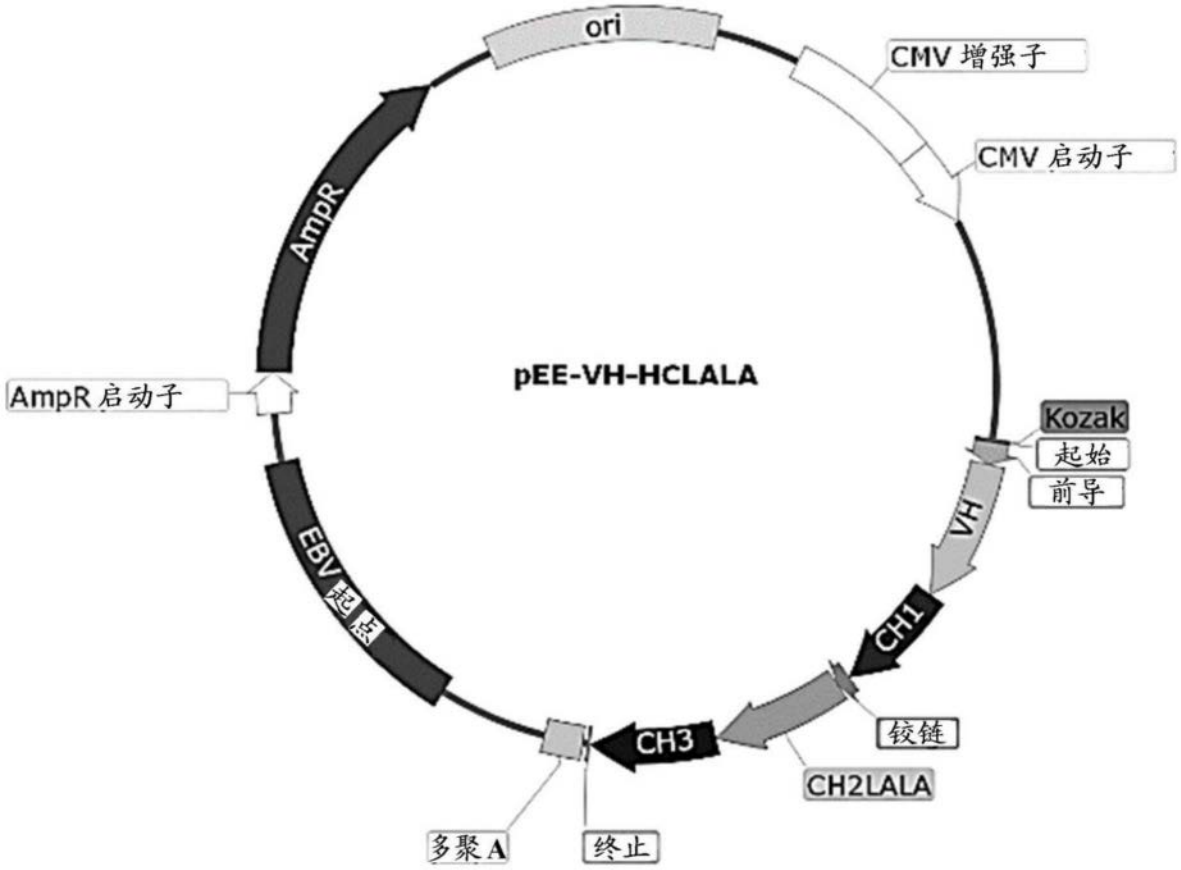

ori
CMV 增强子
CMV 启动子
AmpR
pEE-VH-HCLALA
AmpR 启动子
Kozak
起始
前导
VH
CH1
铰链
CH2LALA
CH3
EBV 起点
多聚A
终止

图3

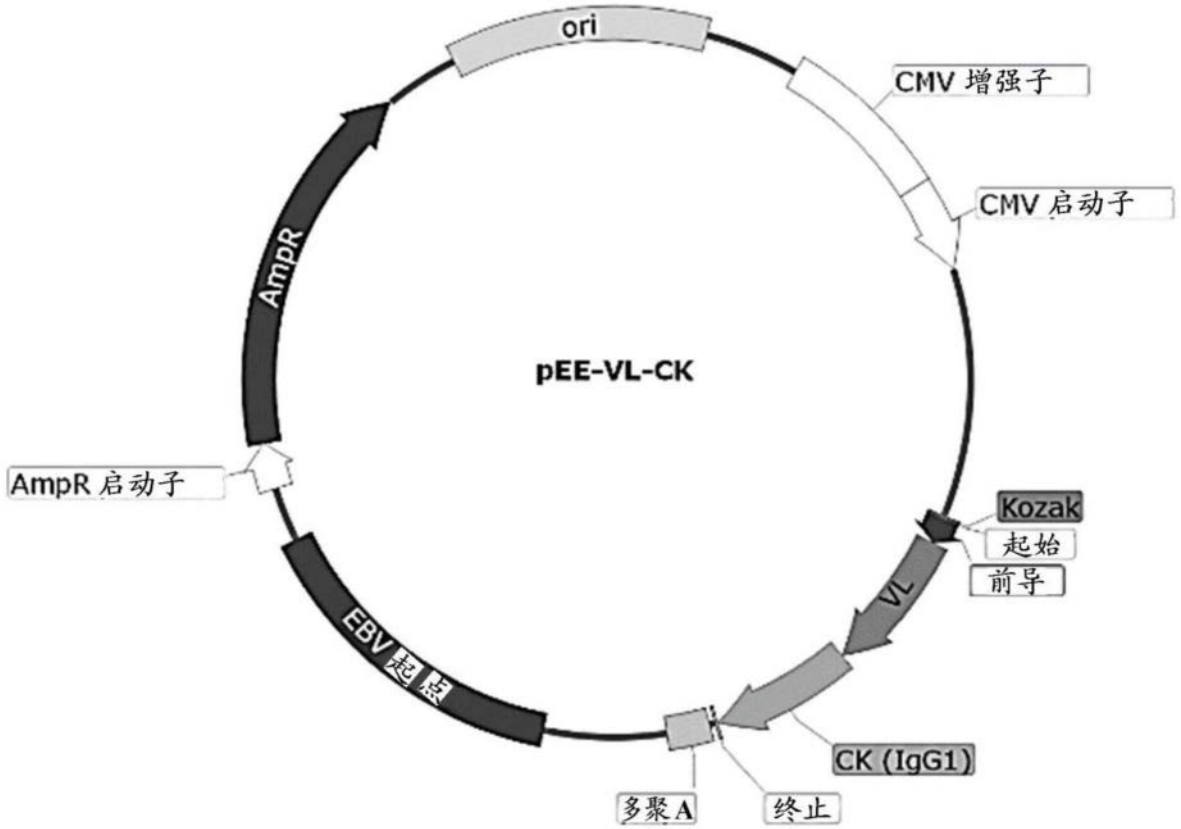

ori
CMV 增强子
CMV 启动子
AmpR
pEE-VL-CK
AmpR 启动子
Kozak
起始
前导
VL
EBV 起点
CK (IgG1)
多聚A
终止

图4

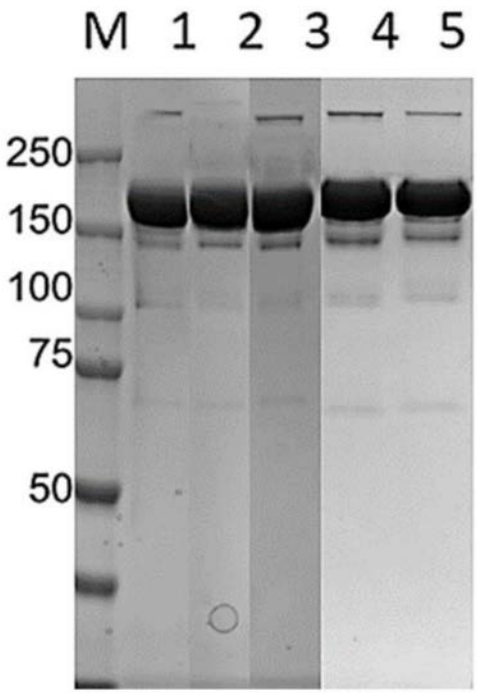

M 1 2 3 4 5
250
150
100
75
50

图5

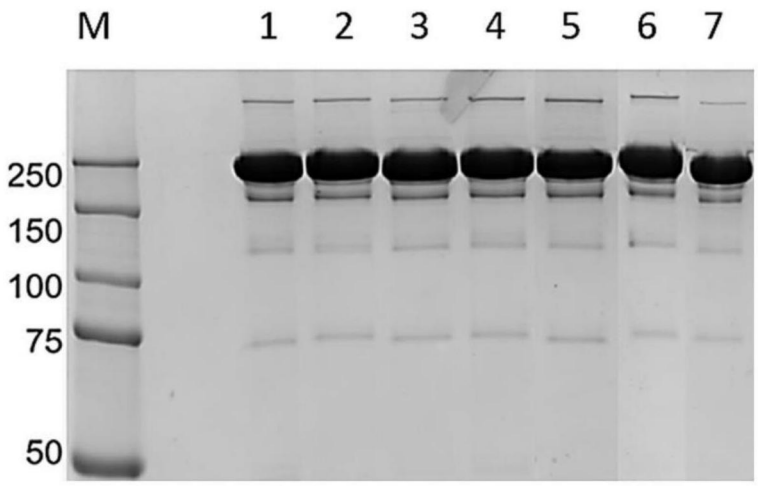


图6