(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 119661722 A
(43)申请公布日 2025.03.21

(21)申请号 202411853118.9
(22)申请日 2020.02.21
(30)优先权数据
62/808,646 2019.02.21 US
(62)分案原申请数据
202080030459.X 2020.02.21
(71)申请人 马伦戈治疗公司
地址 美国马萨诸塞州
(72)发明人 A·洛 尼迪·马尔霍特拉
马丹·卡特拉加达 谭申来
乔纳森·徐 B·E·瓦什
斯蒂芬妮·J·马奥科
彼得·马雷克 居尔坎·贡塔斯
(74)专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司 11262
专利代理师 王玉桂 武晶晶
(51)Int.Cl.
C07K 16/46(2006.01)
C07K 16/28(2006.01)
C12N 15/13(2006.01)
A61K 39/395(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)
A61P 35/02(2006.01)

权利要求书1页 说明书213页
序列表（电子公布） 附图63页

(54)发明名称

结合T细胞相关癌细胞的多功能分子及其用途

(57)摘要

公开了多功能分子,包括i)与T细胞受体β链恒定域1或T细胞受体β链恒定域2结合的抗原结合域;以及以下项中的一项、两项或全部:(ii)免疫细胞衔接物(例如,选自NK细胞衔接物、T细胞衔接物、B细胞衔接物、树突细胞衔接物或巨噬细胞衔接物);(iii)细胞因子分子或细胞因子抑制剂分子;(iv)死亡受体信号增强子;和/或(v)基质修饰部分。另外公开了编码所述多功能分子的核酸、产生上述分子的方法和使用上述分子治疗癌症的方法。

CN 119661722 A

1.一种多功能分子,包括:

(i)第一抗原结合域,其与T细胞受体β链恒定域1(TRBC1)或T细胞受体β链恒定域2(TRBC2)结合,和

(ii)第二抗原结合域,其与NKp30结合。

2.一种与TRBC1结合的抗体分子,包括表2-6和19的任一个中公开的一个或多个CDR、构架区、可变区或抗原结合域,或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列。

3.一种核酸分子,其编码权利要求1的多功能分子或权利要求2的抗体分子。

4.一种载体,例如,表达载体,其包括权利要求3的核酸分子。

5.一种细胞,其包括权利要求3的核酸分子或权利要求4的载体。

6.一种制备,例如,产生权利要求1的多功能分子或权利要求2的抗体分子的方法,包括在合适的条件下,例如,适合基因表达和/或同源二聚化或异源二聚化的条件下培养权利要求5的细胞。

7.一种药物组合物,其包括权利要求1的多功能分子或权利要求2的抗体分子以及药学上可接受的载剂、赋形剂或稳定剂。

8.一种治疗癌症的方法,包括向有需要的受试者施用权利要求1的多功能分子,其中所述多功能分子以有效治疗所述癌症的量施用。

9.一种治疗癌症,例如,淋巴瘤或白血病,例如,T细胞淋巴瘤或白血病的方法,包括:

响应于确定受试者具有表达包括TRBC1或TRBC2的T细胞受体的癌细胞,向所述受试者施用权利要求1的多功能分子,其中所述第一抗原结合域与所述TRBC1或TRBC2结合,其中所述多功能分子以有效治疗所述癌症的量施用。

10.一种识别需要使用权利要求1的多功能分子治疗癌症,例如,淋巴瘤或白血病,例如,T细胞淋巴瘤或白血病的受试者的方法,所述方法包括确定(例如,直接确定或间接确定,例如,获得关于以下的信息)受试者是否具有表达包括TRBC1或TRBC2的T细胞受体的癌细胞,其中:

响应于确定所述受试者具有表达包括TRBC1的T细胞受体的癌细胞,将所述受试者识别为使用包括与TRBC1结合的抗原结合域的多功能分子治疗的候选者,并且任选地将所述受试者识别为不是使用包括与TRBC2结合的抗原结合域的多功能分子治疗的候选者,或

响应于确定所述受试者具有表达包括TRBC2的T细胞受体的癌细胞,将所述受试者识别为使用包括与TRBC2结合的抗原结合域的多功能分子治疗的候选者,并且任选地将所述受试者识别为不是使用包括与TRBC1结合的抗原结合域的多功能分子治疗的候选者。

结合T细胞相关癌细胞的多功能分子及其用途

[0001] 本申请是申请日为2020年02月21日、申请号为202080030459.X、发明名称为“结合T细胞相关癌细胞的多功能分子及其用途”的中国专利申请(其对应PCT申请的申请日为2020年02月21日、申请号为PCT/US2020/019291)的分案申请。

[0002] 相关申请

[0003] 本申请要求于2019年2月21日提交的美国序列号62/808,646的优先权,其内容通过引用整体并入本文。

[0004] 序列表

[0005] 本申请包含以ASCII格式电子提交的序列表,并通过引用将其全部内容并入本文。所述ASCII副本创建于2020年2月19日,被命名为E2070-7022WO_SL.txt,大小为810,998字节。

背景技术

[0006] 淋巴瘤是由淋巴细胞引起的癌症。T细胞淋巴瘤(TCL)是源于T细胞的淋巴瘤;这些约占美国所有非霍奇金淋巴瘤的7％。TCL的常见亚型包括:外周T细胞淋巴瘤,非特指型(PTCLNOS)、间变性大细胞淋巴瘤(ALCL)、血管免疫母细胞性T细胞淋巴瘤(AITL)和皮肤T细胞淋巴瘤(CTCL)。每种类型的TCL均有其自身的病理和症状。鉴于对改善淋巴瘤(例如,TCL)治疗的持续需求,极需靶向淋巴瘤(例如,TCL)的新组合物和治疗。

发明内容

[0007] 本公开内容尤其涉及新型多特异性或多功能分子,包括(i)抗原结合域,其与淋巴瘤细胞(例如,T细胞)上的肿瘤抗原(例如,包括T细胞受体β链恒定域1(TRBC1)的T细胞受体或包括T细胞受体β链恒定域2(TRBC2)的T细胞受体)结合;以及以下项中的一项、两项或全部:(ii)免疫细胞衔接物(例如,选自NK细胞衔接物、T细胞衔接物、B细胞衔接物、树突细胞衔接物或巨噬细胞衔接物);(iii)细胞因子分子;和/或(iv)基质修饰部分。术语“多特异性”或“多功能”在本文中可互换使用。

[0008] 不希望受理论束缚,预期本文公开的多特异性或多功能分子将免疫细胞(例如,免疫效应细胞,选自NK细胞、T细胞、B细胞、树突细胞或巨噬细胞)靶向(例如,定位、桥接和/或激活)表达包括TRBC1或TRBC2的T细胞受体的靶细胞(例如,癌细胞(例如,淋巴瘤细胞)),并且/或者改变肿瘤基质,例如,改变癌症部位附近的肿瘤微环境。预期使用本文所述的多特异性分子增加免疫细胞的接近度和/或活性可增强对靶细胞(例如,癌细胞,例如,淋巴瘤细胞)的免疫应答,从而提供更有效的疗法(例如,更有效的癌症疗法)。不受理论束缚,对靶细胞(例如,癌细胞)的靶向、局部免疫应答被认为具有降低本文所述的多特异性分子的全身毒性的作用。此外,在靶癌细胞是T细胞(例如,表达包括TRBC1或TRBC2的T细胞受体的T细胞)的情况下,以较小程度靶向非癌性T细胞(例如,不靶向非癌性T细胞)的针对癌性T细胞群的靶向免疫应答被认为比全身性消除所有T细胞具有较低的有害作用。

[0009] 不希望受理论束缚,克隆来源的T细胞淋巴瘤对TRBC1或TRBC2呈阳性,但不是两者

均呈阳性。在TRBC1+T细胞恶性肿瘤的情况下,本文公开的抗TRBC1分子(例如,与TRBC1和NKp30结合的多功能分子)可以耗尽TRBC1+细胞,同时保留TRBC2+非恶性T细胞。类似地,在TRBC2+T细胞恶性肿瘤的情况下,本文公开的抗TRBC2分子(例如,与TRBC2和NKp30结合的多功能分子)可以耗尽TRBC2+细胞,同时保留TRBC1+非恶性T细胞。

[0010] 不希望受理论的束缚,在一些实施方案中,本文公开的多功能分子(例如,抗TRBC1/NKp30抗体)仅在存在表达TRBC1的细胞的情况下激活NK细胞。不希望受理论的束缚,在一些实施方案中,本文公开的多功能分子(例如,抗TRBC2/NKp30抗体)仅在存在表达TRBC2的细胞的情况下激活NK细胞。

[0011] 因此,本文特别提供包括上述部分的多特异性分子(例如,多特异性或多功能抗体分子)、编码所述多特异性分子的核酸、产生上述分子的方法和使用上述分子治疗癌症的方法。

[0012] 在一方面,本文提供了一种多功能分子,包括(i)第一抗原结合域,其与T细胞受体β链恒定域1(TRBC1)或T细胞受体β链恒定域2(TRBC2)结合,和(ii)第二抗原结合域,其与NKp30结合。

[0013] 在一些实施方案中,所述第一抗原结合域与TRBC1结合。在一些实施方案中,所述第一抗原结合域包括表2-6和19的任一个中公开的一个或多个CDR、构架区、可变区或抗原结合域,或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列。在一些实施方案中,所述第一抗原结合域包括VH,所述VH包括重链互补决定区1(VHCDR1)、VHCDR2和VHCDR3;以及VL,所述VL包括轻链互补决定区1(VLCDR1)、VLCDR2和VLCDR3,其中所述VHCDR1、VHCDR2和VHCDR3包括以下项的氨基酸序列:分别为SEQ ID NO:7346、7355和202;分别为SEQ ID NO:7346、201和202;分别为SEQ ID NO:7354、201和202;或分别为SEQ ID NO:7354、7355和202。在一些实施方案中,所述VLCDR1、VLCDR2和VLCDR3包括以下项的氨基酸序列:分别为SEQ ID NO:223、224和225;分别为SEQ ID NO:7367、224和225;分别为SEQ ID NO:223、7368和225;分别为SEQ ID NO:223、224和7369;或分别为SEQ ID NO:7367、7368和7369。在一些实施方案中,所述VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2和VLCDR3包括以下项的氨基酸序列:分别为SEQ ID NO:7346、7355、202、223、224和225;分别为SEQ ID NO:7346、201、202、223、224和225;分别为SEQ ID NO:7346、7355、202、7367、224和225;分别为SEQ ID NO:7346、7355、202、223、7368和225;分别为SEQ ID NO:7346、7355、202、223、224和7369;分别为SEQ ID NO:7346、7355、202、7367、7368和7369;分别为SEQ ID NO:7346、201、202、7367、224和225;分别为SEQ ID NO:7346、201、202、223、7368和225;分别为SEQ ID NO:7346、201、202、223、224和7369;分别为SEQ ID NO:7346、201、202、7367、7368和7369;分别为SEQ ID NO:7354、201、202、223、224和225;分别为SEQ ID NO:7354、201、202、7367、224和225;分别为SEQ ID NO:7354、201、202、223、7368和225;分别为SEQ ID NO:7354、201、202、223、224和7369;分别为SEQ ID NO:7354、201、202、7367、7368和7369;分别为SEQ ID NO:7354、7355、202、223、224和225;分别为SEQ ID NO:7354、7355、202、7367、224和225;分别为SEQ ID NO:7354、7355、202、223、7368和225;分别为SEQ ID NO:7354、7355、202、223、224和7369;或分别为SEQ ID NO:7354、7355、202、7367、7368和7369。在一些实施方案中,所述VH包括选自SEQ ID NO:7351、253、250-252、254、7343、7344、7350和7352的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)并且/或者所述VL包括选自SEQ ID NO:258、255-257、259、

260和7357-7360的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,所述VH和VL包括以下项的氨基酸序列:分别为SEQ ID NO:7351和258(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列);或分别为SEQ ID NO:253和258(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。

[0014] 在一些实施方案中,所述第一抗原结合域对包括TRBC1的T细胞受体的亲和力高于不包括TRBC1的T细胞受体,任选地其中所述第一抗原结合域与TRBC1之间结合的K_D不超过所述第一抗原结合域与不包括TRBC1的T细胞受体之间结合的K_D的40%、30%、20%、10%、1%、0.1%或0.01%。在一些实施方案中,所述第一抗原结合域对包括TRBC1的T细胞受体的亲和力高于包括TRBC2的T细胞受体,任选地其中所述第一抗原结合域与TRBC1之间的结合的K_D不超过所述第一抗原结合域与包括TRBC2的T细胞受体之间结合的K_D的40%、30%、20%、10%、1%、0.1%或0.01%。在一些实施方案中,所述第一抗原结合域与淋巴瘤细胞或淋巴细胞例如T细胞上的TRBC1的结合未明显激活淋巴瘤细胞或淋巴细胞例如T细胞(例如,如通过T细胞增殖、T细胞激活标志物(例如,CD69或CD25)的表达和/或细胞因子(例如TNFα和IFNγ)的表达所测量)。在一些实施方案中,所述多功能分子在不存在表达TRBC1的细胞的情况下不激活NK细胞或基本上不激活NK细胞。

[0015] 在一些实施方案中,所述第一抗原结合域与TRBC2结合。在一些实施方案中,所述第一抗原结合域对包括TRBC2的T细胞受体的亲和力高于不包括TRBC2的T细胞受体,任选地其中所述第一抗原结合域与TRBC2之间结合的K_D不超过所述第一抗原结合域与不包括TRBC2的T细胞受体之间结合的K_D的40%、30%、20%、10%、1%、0.1%或0.01%。在一些实施方案中,所述第一抗原结合域对包括TRBC2的T细胞受体的亲和力高于对包括TRBC1的T细胞受体的亲和力,任选地其中所述第一抗原结合域与TRBC2之间结合的K_D不超过所述第一抗原结合域与包括TRBC1的T细胞受体之间结合的K_D的40%、30%、20%、10%、1%、0.1%或0.01%。在一些实施方案中,所述第一抗原结合域与淋巴瘤细胞或淋巴细胞例如T细胞上的TRBC2的结合未明显激活淋巴瘤细胞或淋巴细胞例如T细胞(例如,如通过T细胞增殖、T细胞激活标志物(例如,CD69或CD25)的表达和/或细胞因子(例如TNFα和IFNγ)的表达所测量)。在一些实施方案中,所述多功能分子在不存在表达TRBC2的细胞的情况下不激活NK细胞或基本上不激活NK细胞。

[0016] 在一些实施方案中,所述第二抗原结合域包括表7-10、18和19的任一个中公开的一个或多个CDR、构架区、可变区或抗原结合域,或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列。在一些实施方案中,所述第二抗原结合域包括VH,所述VH包括重链互补决定区1(VHCDR1)、VHCDR2和VHCDR3;以及VL,所述VL包括轻链互补决定区1(VLCDR1)、VLCDR2和VLCDR3,其中所述第二抗原结合域的VHCDR1、VHCDR2和VHCDR3包括以下项的氨基酸序列:分别为SEQ ID NO:7313、6001和7315;分别为SEQ ID NO:7313、6001和6002;分别为SEQ ID NO:7313、6008和6009;分别为SEQ ID NO:7313、7385和7315;或分别为SEQ ID NO:7313、7318和6009。在一些实施方案中,所述第二抗原结合域的VLCDR1、VLCDR2和VLCDR3包括以下项的氨基酸序列:分别为SEQ ID NO:7326、7327和7329;分别为SEQ ID NO:6063、6064和7293;分别为SEQ ID NO:6070、6071和6072;或分别为SEQ ID NO:6070、6064和7321。在一些实施方案中,所述第二抗原结合域的VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2和VLCDR3包括以下项的氨基酸序列:分别为SEQ ID NO:7313、6001、7315、7326、7327和7329;分别为SEQ

ID NO:7313、6001、6002、6063、6064和7293;分别为SEQ ID NO:7313、6008、6009、6070、6071和6072;分别为SEQ ID NO:7313、7385、7315、6070、6064和7321;或分别为SEQ ID NO:7313、7318、6009、6070、6064和7321。在一些实施方案中,所述第二抗原结合域的VH包括选自SEQ ID NO:7302、7298、7300、7301、7303和7304的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)并且/或者所述第二抗原结合域的VL包括选自SEQ ID NO:7309、7305、7299、7306-7308的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,所述第二抗原结合域的VH包括选自SEQ ID NO:6121或6123-6128的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)并且/或者所述第二抗原结合域的VL包括选自SEQ ID NO:7294或6137-6141的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,所述第二抗原结合域的VH包括选自SEQ ID NO:6122或6129-6134的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)并且/或者所述第二抗原结合域的VL包括选自SEQ ID NO:6136或6142-6147的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,所述第二抗原结合域的VH和VL包括以下项的氨基酸序列:分别为SEQ ID NO:7302和7309(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列);或分别为SEQ ID NO:7302和7305(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,所述第二抗原结合域包括以下项的氨基酸序列:SEQ ID NO:7311或7310(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列);SEQ ID NO:6187或6188(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列);或SEQ ID NO:6189或6190(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。

[0017] 在一些实施方案中,所述多功能分子与TRBC1或TRBC2单价结合。在一些实施方案中,所述多功能分子包括图29A-29D中任一个所示的构型,任选地其中:(i)所述多功能抗体分子包括抗TRBC1Fab和抗NKp30 scFv,例如,包括图29A所示的构型;(ii)所述多功能抗体分子包括抗TRBC1 Fab和抗NKp30 Fab,例如,包括图29B所示的构型;(iii)所述多功能抗体分子包括抗NKp30 Fab和抗TRBC1scFv,例如,包括图29C所示的构型;或(iv)所述多功能抗体分子包括抗TRBC1 scFv和抗NKp30 scFv,例如,包括图29D所示的构型。在一些实施方案中,所述多功能分子包括图30A-30D中任一项所示的构型,任选地其中:(i)所述多功能抗体分子包括抗TRBC2 Fab和抗NKp30 scFv,例如,包括图30A所示的构型;(ii)所述多功能抗体分子包括抗TRBC2 Fab和抗NKp30 Fab,例如,包括图30B所示的构型;(iii)所述多功能抗体分子包括抗NKp30 Fab和抗TRBC2scFv,例如,包括图30C所示的构型;或(iv)所述多功能抗体分子包括抗TRBC2 scFv和抗NKp30 scFv,例如,包括图30D所示的构型。

[0018] 在一些实施方案中,本文公开的多功能分子进一步包括二聚化模块,所述二聚化模块包括一个或多个免疫球蛋白链恒定区(例如,Fc区),所述免疫球蛋白链恒定区包括以下项中的一项或多项:成对的腔-突起(“杵臼结构(knob-in-a hole)”)、静电相互作用或链交换。

[0019] 在一些实施方案中,所述多功能分子包括表2-6和19的任一个中公开的抗TRBC1氨基酸序列,或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列;和/或表7-10、18和19的任一个中公开的抗NKp30氨基酸序列,或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列。在一些实施方案中,所述多功能分子包括:(i)SEQ ID NO:7351(或与其具有至少85%、

90％、95％或99％同一性的序列)的抗TRBC1VH、SEQ ID NO:258(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)的抗TRBC1 VL、SEQ ID NO:7302(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)的抗NKp30 VH、和SEQ ID NO:7309(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)的抗NKp30 VL;(ii)SEQ ID NO:7351(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)的抗TRBC1 VH、SEQ ID NO:258(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)的抗TRBC1 VL、和SEQ ID NO:7311(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)的抗NKp30 scFv;或(iii)SEQ ID NO:7382、7380和7383(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)。在一些实施方案中,所述多功能分子包括:(i)SEQ ID NO:253(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)的抗TRBC1 VH、SEQ ID NO:258(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)的抗TRBC1 VL、SEQ ID NO:7302(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)的抗NKp30 VH、和SEQ ID NO:7309(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)的抗NKp30 VL;(ii)SEQ ID NO:253(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)的抗TRBC1 VH、SEQ ID NO:258(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)的抗TRBC1 VL、和SEQ ID NO:7311(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)的抗NKp30 scFv;或(iii)SEQ ID NO:7379、7380和7383(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)。在一些实施方案中,所述多功能分子包括:(i)SEQ ID NO:7351(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)的抗TRBC1 VH、SEQ ID NO:258(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)的抗TRBC1VL、SEQ ID NO:7302(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)的抗NKp30 VH、和SEQ ID NO:7305(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)的抗NKp30 VL);(ii)SEQ ID NO:7351(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)的抗TRBC1 VH、SEQ ID NO:258(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)的抗TRBC1 VL、和SEQ ID NO:7310(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)的抗NKp30 scFv;或(iii)SEQ ID NO:7382、7380和7384(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)。在一些实施方案中,所述多功能分子包括:(i)SEQ ID NO:253(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)的抗TRBC1 VH、SEQ ID NO:258(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)的抗TRBC1 VL、SEQ ID NO:7302(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)的抗NKp30 VH、和SEQ ID NO:7305(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)的抗NKp30 VL;(ii)SEQ ID NO:253(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)的抗TRBC1 VH、SEQ ID NO:258(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)的抗TRBC1 VL、和SEQ ID NO:7310(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)的抗NKp30 scFv;或(iii)SEQ ID NO:7379、7380和7384(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)。

[0020] 在一些实施方案中,所述多功能分子包括:重链恒定区变体,例如,Fc区变体,其包括导致对至少一种Fc受体的亲和力降低或消除的一个或多个突变,任选地其中所述一个或多个突变导致抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)、抗体依赖性细胞吞噬作用(ADCP)或补体依赖性细胞毒性(CDC)降低或消除。在一些实施方案中,所述Fc区变体包括表20中公开的一个或多个突变,任选地其中所述Fc区变体包括N297A突变。

[0021] 在一方面,本文提供了一种与TRBC1结合的抗体分子,包括表2-6和19的任一个中公开的一个或多个CDR、构架区、可变区或抗原结合域,或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列。

[0022] 在一方面,本文提供一种与NKp30结合的抗体分子,包括表7-10、18和19的任一个中公开的一个或多个CDR、构架区、可变区或抗原结合域,或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列。

[0023] 在一些实施方案中,所述抗体分子包括重链恒定区变体,例如,Fc区变体,其包括导致对至少一种Fc受体的亲和力降低或消除的一个或多个突变,任选地其中所述一个或多个突变导致抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)、抗体依赖性细胞吞噬作用(ADCP)或补体依赖性细胞毒性(CDC)降低或消除。在一些实施方案中,所述Fc区变体包括表20中公开的一个或多个突变,任选地其中所述Fc区变体包括N297A突变。

[0024] 在一方面,本文提供了一种核酸分子,其编码本文公开的多功能分子或本文公开的抗体分子。在一方面,本文提供了一种载体,例如,表达载体,其包括本文公开的核酸分子。在一方面,本文提供了一种细胞,其包括本文公开的核酸分子或本文公开的载体。在一方面,本文提供了一种药物组合物,其包括本文公开的多功能分子或本文公开的抗体分子以及药学上可接受的载剂、赋形剂或稳定剂。

[0025] 在一方面,本文提供了一种制备,例如,产生本文公开的多功能分子或本文公开的抗体分子的方法,包括在合适的条件下,例如,适合基因表达和/或同源二聚化或异源二聚化的条件下培养本文公开的细胞。

[0026] 在一方面,本文提供了一种治疗癌症的方法,包括向有需要的受试者施用本文公开的多功能分子或本文公开的抗体分子,其中所述多功能分子或抗体分子以有效治疗所述癌症的量施用。在一些实施方案中,所述方法进一步包括识别、评价或选择需要治疗的受试者,其中识别、评价或选择包括确定(例如,直接确定或间接确定,例如,获得关于以下的信息)受试者是否具有表达包括TRBC1或TRBC2的T细胞受体的癌细胞。在一些实施方案中,所述方法进一步包括:响应于确定受试者具有表达包括TRBC1的T细胞受体的癌细胞:任选地,选择所述受试者用多功能分子治疗,所述多功能分子包括与包括TRBC1的T细胞受体结合的抗原结合域;和施用包括与包括TRBC1的T细胞受体结合的抗原结合域的本文公开的多功能分子。在一些实施方案中,所述方法进一步包括:响应于确定受试者具有表达包括TRBC2的T细胞受体的癌细胞:任选地,选择所述受试者用多功能分子治疗,所述多功能分子包括与包括TRBC2的T细胞受体结合的抗原结合域;和施用包括与包括TRBC2的T细胞受体结合的抗原结合域的本文公开的多功能分子。

[0027] 在一方面,本文提供了一种治疗癌症,例如,淋巴瘤或白血病,例如,T细胞淋巴瘤或白血病的方法,包括:响应于确定受试者具有表达包括TRBC1的T细胞受体的癌细胞,向所述受试者施用本文公开的多功能分子,其中所述多功能分子的第一抗原结合域与TRBC1结合,其中所述多功能分子以有效治疗所述癌症的量施用。在一方面,本文提供了一种治疗癌症,例如,淋巴瘤或白血病,例如,T细胞淋巴瘤或白血病的方法,包括:响应于确定受试者具有表达包括TRBC2的T细胞受体的癌细胞,向所述受试者施用本文公开的多功能分子,其中所述多功能分子的第一抗原结合域与TRBC2结合,其中所述多功能分子以有效治疗所述癌症的量施用。

[0028] 在一方面,本文提供了一种识别需要使用本文公开的多功能分子治疗癌症,例如,淋巴瘤或白血病,例如,T细胞淋巴瘤或白血病的受试者的方法,所述方法包括确定(例如,直接确定或间接确定,例如,获得关于以下的信息)受试者是否具有表达包括TRBC1或TRBC2的T细胞受体的癌细胞,其中:

[0029] 响应于确定所述受试者具有表达包括TRBC1的T细胞受体的癌细胞,将所述受试者识别为使用包括与TRBC1结合的抗原结合域的多功能分子治疗的候选者,并且任选地将所述受试者识别为不是使用包括与TRBC2结合的抗原结合域的多功能分子治疗的候选者,或

[0030] 响应于确定所述受试者具有表达包括TRBC2的T细胞受体的癌细胞,将所述受试者识别为使用包括与TRBC2结合的抗原结合域的多功能分子治疗的候选者,并且任选地将所述受试者识别为不是使用包括与TRBC1结合的抗原结合域的多功能分子治疗的候选者。

[0031] 在一些实施方案中,所述方法进一步包括:

[0032] 响应于将所述受试者识别为使用包括与TRBC1结合的抗原结合域的多功能分子治疗的候选者,用(例如,向受试者施用)包括与TRBC1结合的抗原结合域的多功能分子治疗所述受试者,或

[0033] 响应于将所述受试者识别为使用包括与TRBC2结合的抗原结合域的多功能分子治疗的候选者,用(例如,向受试者施用)包括与TRBC2结合的抗原结合域的多功能分子治疗所述受试者。

[0034] 在上述方法的一些实施方案中,所述癌症是白血病或淋巴瘤。在一些实施方案中,所述癌症选自获得性免疫缺陷综合征(AIDS)相关淋巴瘤、血管免疫母细胞性T细胞淋巴瘤、成人T细胞白血病/淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、中枢神经系统(CNS)淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、淋巴母细胞性淋巴瘤、套细胞淋巴瘤(MCL)、外周T细胞淋巴瘤(PTCL)(例如,肝脾T细胞淋巴瘤(HSGDTCL)、皮下脂膜炎样T细胞淋巴瘤或肠病相关T细胞淋巴瘤)、转变型滤泡和转变型黏膜相关淋巴组织(MALT)淋巴瘤、皮肤T细胞淋巴瘤(蕈样真菌病和塞扎里综合征)、滤泡性淋巴瘤、淋巴浆细胞淋巴瘤/沃尔登斯特伦巨球蛋白血症、边缘区B细胞淋巴瘤、胃黏膜相关淋巴组织(MALT)淋巴瘤、慢性淋巴细胞白血病/小细胞淋巴细胞淋巴瘤(CLL/SLL)、结外T细胞/NK细胞淋巴瘤(鼻型)以及间变性大细胞淋巴瘤(例如,原发性皮肤间变性大细胞淋巴瘤或系统性间变性大细胞淋巴瘤)。在一些实施方案中,所述癌症是淋巴瘤,是外周T细胞淋巴瘤(PTCL)。

[0035] 在一方面,本发明提供了包括本文公开的多功能分子或抗体分子的组合物,用于治疗患有癌症的受试者的方法。

[0036] 因此,在一方面,本公开内容的特征在于多功能分子,包括:

[0037] (i)第一抗原结合域,其与T细胞受体β链恒定域1(TRBC1)或T细胞受体β链恒定域2(TRBC2)选择性结合,

[0038] 和

[0039] (ii)以下项中的一项、两项或全部:

[0040] (a)免疫细胞衔接物,其选自NK细胞衔接物(例如,与NKp30、NKp46、NKG2D或CD16结合的分子)、T细胞衔接物(例如,其与除CD3之外的T细胞抗原结合)、B细胞衔接物、树突细胞衔接物或巨噬细胞衔接物;

[0041] (b)细胞因子分子或细胞因子抑制剂分子;

[0042] (c)死亡受体信号衔接物;和

[0043] (d)基质修饰部分。

[0044] 在另一方面,本公开内容的特征在于一种多功能分子,包括:

[0045] (i)第一抗原结合域,其选择性靶向表达(例如,在细胞表面,例如,展示)包括T细胞受体β链恒定域1(TRBC1)的T细胞受体、TRBC1、包括T细胞受体β链恒定域2(TRBC2)的T细胞受体、或TRBC2的淋巴细胞,

[0046] 和

[0047] (ii)以下项中的一项、两项或全部:

[0048] (a)免疫细胞衔接物,其选自NK细胞衔接物(例如,与NKp30、NKp46、NKG2D或CD16结合的分子)、T细胞衔接物(例如,其与除CD3之外的T细胞抗原结合)、B细胞衔接物、树突细胞衔接物或巨噬细胞衔接物;

[0049] (b)细胞因子分子或细胞因子抑制剂分子;

[0050] (c)死亡受体信号衔接物;和

[0051] (c)基质修饰部分。

[0052] 在另一方面,本公开内容的特征在于一种多功能分子,包括:

[0053] (i)第一抗原结合域,其优先与淋巴瘤细胞(例如,T细胞)上的肿瘤抗原(例如,包括T细胞受体β链恒定域1(TRBC1)的T细胞受体、TRBC1、包括T细胞受体β链恒定域2(TRBC2)的T细胞受体、或TRBC2)结合,

[0054] 和

[0055] (ii)以下项中的一项、两项或全部:

[0056] (a)免疫细胞衔接物,其选自NK细胞衔接物(例如,与NKp30、NKp46、NKG2D或CD16结合的分子)、T细胞衔接物(例如,其与除CD3之外的T细胞抗原结合)、B细胞衔接物、树突细胞衔接物或巨噬细胞衔接物;

[0057] (b)细胞因子分子或细胞因子抑制剂分子;

[0058] (c)死亡受体信号衔接物;和

[0059] (d)基质修饰部分。

[0060] 在另一方面,本公开内容的特征在于一种抗体分子,例如,IgM抗体分子,包括:

[0061] (i)第一抗原结合域,其与T细胞受体β链恒定域1(TRBC1)或T细胞受体β链恒定域2(TRBC2)选择性结合,

[0062] 和

[0063] (ii)补体激活域,其激活补体途径,例如,通过结合C1q。

[0064] 在另一方面,本公开内容的特征在于一种抗体分子,包括:

[0065] 重链可变区(VH),所述重链可变区包括SEQ ID NO:215的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:216的VHFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:217的VHFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)和/或SEQ ID NO:218的VHFWR4氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列),以及

[0066] 轻链可变区(VL),所述轻链可变区包括SEQ ID NO:238的轻链构架区1(VLFWR1)氨

基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:239的VLFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:240的VLFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)和/或SEQ ID NO:241的VLFWR4氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)。

[0067] 在一些实施方案中,所述抗体分子或其片段包括VH,所述VH包括SEQ ID NO:253的氨基酸序列(或与其具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列),和/或VL,所述VL包括SEQ ID NO:258的氨基酸序列(或与其具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0068] 在另一方面,本公开内容的特征在于一种核酸分子,其编码本文公开的多功能分子。

[0069] 在另一方面,本公开内容的特征在于一种载体,例如,表达载体,其包括本文公开的核酸分子。

[0070] 在另一方面,本公开内容的特征在于一种宿主细胞,其包括本文公开的核酸分子或载体。

[0071] 在另一方面,本公开内容的特征在于一种制备,例如,产生本文公开的多功能分子的方法,包括在合适的条件下,例如,适合基因表达和/或同源二聚化或异源二聚化的条件下培养本文公开的宿主细胞。

[0072] 在另一方面,本公开内容的特征在于一种药物组合物,其包括本文公开的多功能分子。

[0073] 在另一方面,本公开内容的特征在于一种治疗癌症的方法,包括向有需要的受试者施用本文公开的多功能分子,其中所述多功能分子以有效治疗所述癌症的量施用。在一些实施方案中,所述癌症是T细胞恶性肿瘤,例如,T细胞淋巴瘤或T细胞白血病。在一些实施方案中,所述癌症选自:间变性大细胞淋巴瘤(ALCL);血管免疫母细胞性T细胞淋巴瘤;外周T细胞淋巴瘤(PTCL),非特指型(NOS);皮肤T细胞淋巴瘤(CTCL);NKT细胞淋巴瘤;塞扎里综合征;T急性淋巴细胞白血病或淋巴瘤;成人T细胞白血病或淋巴瘤;T幼淋巴细胞白血病;和T大颗粒白血病。在一些实施方案中,所述癌症是PTCL。在一些实施方案中,通过例如新鲜肿瘤组织的流式细胞术分析来分析TRBC亚型表达。在一些实施方案中,所述多功能分子与第二药剂联合使用。在一些实施方案中,所述第二药剂是组蛋白脱乙酰酶(HDAC)抑制剂,例如,罗米地辛(romidepsin)或贝立司他(belinostat)。在一些实施方案中,所述第二药剂是激酶或酶抑制剂。在一些实施方案中,所述第二药剂是PI3K抑制剂,例如,杜韦利西布(duvelisib)。在一些实施方案中,所述第二药剂是法呢基转移酶抑制剂,例如,替吡法尼(tipifarnib)。在一些实施方案中,所述第二药剂是SYK/JAK抑制剂,例如,赛度替尼(cerdulatinib)。在一些实施方案中,所述第二药剂是化疗。

[0074] 在一些实施方案中,第二药剂是

[0075] 在另一方面,本公开内容的特征在于一种识别需要使用本文公开的多功能分子治疗癌症的受试者的方法,所述方法包括确定(例如,直接确定或间接确定,例如,获得关于以下的信息)受试者是否具有表达包括TRBC1或TRBC2的T细胞受体的癌细胞,其中:

[0076] 响应于确定所述受试者具有表达包括TRBC1的T细胞受体的癌细胞,将所述受试者

识别为使用包括与TRBC1结合的抗原结合域的多功能分子治疗的候选者,并且任选地将所述受试者识别为不是使用包括与TRBC2结合的抗原结合域的多功能分子治疗的候选者,和

[0077] 响应于确定所述受试者具有表达包括TRBC2的T细胞受体的癌细胞,将所述受试者识别为使用包括与TRBC2结合的抗原结合域的多功能分子治疗的候选者,并且任选地将所述受试者识别为不是使用包括与TRBC1结合的抗原结合域的多功能分子治疗的候选者。

[0078] 在另一方面,本公开内容的特征在于一种评价需要治疗癌症,例如,淋巴瘤的受试者的方法,包括确定(例如,直接确定或间接确定,例如,获得关于以下的信息)受试者是否具有表达包括TRBC1或TRBC2的T细胞受体的癌细胞。

[0079] 任何上述多功能分子、核酸、载体、宿主细胞或方法的附加特征包括以下列举的实施方案中的一个或多个。

[0080] 本领域技术人员将认识到,或仅通过常规实验便能够确定本文所述的本发明的特定实施方案的许多等同方案。这些等同方案旨在由以下列举的实施方案涵盖。

[0081] 列举的实施方案

[0082] 1.一种多功能分子,包括:

[0083] (i)第一抗原结合域,其优先与淋巴瘤细胞(例如,T细胞)上的肿瘤抗原结合,其中所述肿瘤抗原是T细胞受体β链恒定域1(TRBC1)或T细胞受体β链恒定域2(TRBC2),

[0084] 和

[0085] (ii)以下项中的一项、两项或全部:

[0086] (a)免疫细胞衔接物,其选自NK细胞衔接物(例如,与NKp30、NKp46、NKG2D或CD16结合的分子)、T细胞衔接物、B细胞衔接物、树突细胞衔接物或巨噬细胞衔接物;

[0087] (b)细胞因子分子或细胞因子抑制剂分子;

[0088] (c)死亡受体信号衔接物;和

[0089] (d)基质修饰部分。

[0090] 1A.一种多功能分子,包括:

[0091] (i)第一抗原结合域,其与T细胞受体β链恒定域1(TRBC1)或T细胞受体β链恒定域2(TRBC2)选择性结合,

[0092] 和

[0093] (ii)以下项中的一项、两项或全部:

[0094] (a)免疫细胞衔接物,其选自NK细胞衔接物(例如,与NKp30、NKp46、NKG2D或CD16结合的分子)、与除CD3之外的T细胞抗原结合的T细胞衔接物、B细胞衔接物、树突细胞衔接物或巨噬细胞衔接物;

[0095] (b)细胞因子分子或细胞因子抑制剂分子;

[0096] (c)死亡受体信号衔接物;和

[0097] (d)基质修饰部分。

[0098] 2.一种多功能分子,包括:

[0099] (i)第一抗原结合域,其选择性靶向表达T细胞受体β链恒定域1(TRBC1)或T细胞受体β链恒定域2(TRBC2)的淋巴细胞,

[0100] 和

[0101] (ii)以下项中的一项、两项或全部:

[0102] (a)免疫细胞衔接物,其选自NK细胞衔接物(例如,与NKp30、NKp46、NKG2D或CD16结合的分子)、T细胞衔接物、B细胞衔接物、树突细胞衔接物或巨噬细胞衔接物;

[0103] (b)细胞因子分子或细胞因子抑制剂分子;

[0104] (c)死亡受体信号衔接物;和

[0105] (d)基质修饰部分。

[0106] 3.前述实施方案中任一项的多功能分子,其中所述多功能分子:

[0107] (i)与TRBC1或TRBC2的表位(例如,与本文所述的抗TRBC1或抗TRBC2抗体分子识别的表位相同或相似的表位)特异性结合;

[0108] (ii)显示与本文所述的抗TRBC1或抗TRBC2抗体分子相同或相似的结合亲和力或特异性,或两者;

[0109] (iii)抑制,例如,竞争性抑制本文所述的抗TRBC1或抗TRBC2抗体分子的结合;

[0110] (iv)与本文所述的抗TRBC1或抗TRBC2抗体分子结合相同或重叠的表位;或

[0111] (v)与本文所述的抗TRBC1或抗TRBC2抗体分子竞争结合和/或结合相同的表位。

[0112] 4.实施方案3的多功能分子,其中所述抗TRBC1或抗TRBC2抗体分子包括选自表2-5的一个或多个CDR、构架区、可变域、重链或轻链、或抗原结合域,或与其基本相同的序列。

[0113] 5.实施方案1-4中任一项的多功能分子,其中所述抗原或肿瘤抗原是TRBC1。

[0114] 6.实施方案1-4中任一项的多功能分子,其中所述抗原或肿瘤抗原是TRBC2。

[0115] 7.实施方案1-5中任一项的多功能分子,其中所述第一抗原结合域包括:

[0116] (i)重链可变区(VH),所述重链可变区包括SEQ ID NO:200的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:201的VHCDR2氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)和/或SEQ ID NO:202的VHCDR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列);和

[0117] (ii)轻链可变区(VL),所述轻链可变区包括SEQ ID NO:223的轻链互补决定区1(VLCDR1)氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:224的VLCDR2氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)和/或SEQ ID NO:225的VLCDR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)。

[0118] 8.实施方案7的多功能分子,其中所述第一抗原结合域包括:

[0119] (i)重链可变区(VH),所述重链可变区包括SEQ ID NO:200的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:201的VHCDR2氨基酸序列和/或SEQ ID NO:202的VHCDR3氨基酸序列,以及

[0120] (ii)轻链可变区(VL),所述轻链可变区包括SEQ ID NO:223的轻链互补决定区1(VLCDR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:224的VLCDR2氨基酸序列和/或SEQ ID NO:225的VLCDR3氨基酸序列。

[0121] 9.实施方案1-5、7或8中任一项的多功能分子,其中所述第一抗原结合域包括:

[0122] (1)重链可变区(VH),所述重链可变区包括SEQ ID NO:203的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:204的VHFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例

如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:205的VHFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、或SEQ ID NO:206的VHFWR4氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列),和/或

[0123] (2)轻链可变区(VL),所述轻链可变区包括SEQ ID NO:226的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:227的VLFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:228的VLFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、或SEQ ID NO:229的VLFWR4氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)。

[0124] 10.实施方案9的多功能分子,其中所述第一抗原结合域包括:

[0125] (1)重链可变区(VH),所述重链可变区包括SEQ ID NO:203的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:204的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:205的VHFWR3氨基酸序列、或SEQ ID NO:206的VHFWR4氨基酸序列,和/或

[0126] (2)轻链可变区(VL),所述轻链可变区包括SEQ ID NO:226的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:227的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:228的VLFWR3氨基酸序列、或SEQ ID NO:229的VLFWR4氨基酸序列。

[0127] 11.实施方案1-5或7-10中任一项的多功能分子,其中所述第一抗原结合域包括:

[0128] (i)VH,所述VH包括SEQ ID NO:250的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:250具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列),和/或

[0129] (ii)VL,所述VL包括SEQ ID NO:255的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:255具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0130] 12.实施方案1-5或7-11中任一项的多功能分子,其中所述第一抗原结合域包括重链,所述重链包括SEQ ID NO:6154、6155、6167或6168的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6154、6155、6167或6168具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0131] 13.实施方案1-5或7-12中任一项的多功能分子,其中所述第一抗原结合域包括轻链,所述轻链包括SEQ ID NO:6156或6169的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6156或6169具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0132] 14.实施方案1-5、7或8中任一项的多功能分子,其中所述第一抗原结合域包括重链可变区(VH),所述重链可变区包括SEQ ID NO:207的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:208的VHFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:209的VHFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、或SEQ ID NO:210的VHFWR4氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)。

[0133] 15.实施方案14的多功能分子,其中所述第一抗原结合域包括重链可变区(VH),所述重链可变区包括SEQ ID NO:207的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:208的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:209的VHFWR3氨基酸序列、或SEQ ID NO:210的VHFWR4氨基酸序列。

[0134] 16.实施方案1-5、7或8中任一项的多功能分子,其中所述第一抗原结合域包括重链可变区(VH),所述重链可变区包括SEQ ID NO:211的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:212的VHFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:213的VHFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、或SEQ ID NO:214的VHFWR4氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)。

[0135] 17.实施方案16的多功能分子,其中所述第一抗原结合域包括重链可变区(VH),所述重链可变区包括SEQ ID NO:211的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:212的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:213的VHFWR3氨基酸序列、或SEQ ID NO:214的VHFWR4氨基酸序列。

[0136] 18.实施方案1-5、7或8中任一项的多功能分子,其中所述第一抗原结合域包括重链可变区(VH),所述重链可变区包括SEQ ID NO:215的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:216的VHFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:217的VHFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、或SEQ ID NO:218的VHFWR4氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)。

[0137] 19.实施方案18的多功能分子,其中所述第一抗原结合域包括重链可变区(VH),所述重链可变区包括SEQ ID NO:215的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:216的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:217的VHFWR3氨基酸序列、或SEQ ID NO:218的VHFWR4氨基酸序列。

[0138] 20.实施方案1-5、7或8中任一项的多功能分子,其中所述第一抗原结合域包括重链可变区(VH),所述重链可变区包括SEQ ID NO:219的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:220的VHFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:221的VHFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、或SEQ ID NO:222的VHFWR4氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)。

[0139] 21.实施方案20的多功能分子,其中所述第一抗原结合域包括重链可变区(VH),所述重链可变区包括SEQ ID NO:219的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:220的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:221的VHFWR3氨基酸序列、或SEQ ID NO:222的VHFWR4氨基酸序列。

[0140] 22.实施方案1-5、7、8或14-21中任一项的多功能分子,其中所述第一抗原结合域包括轻链可变区(VL),所述轻链可变区包括SEQ ID NO:230的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:231的VLFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:232的VLFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、或SEQ ID NO:233的VLFWR4氨基酸序列(或与其具有

不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)。

[0141] 23.实施方案22的多功能分子,其中所述第一抗原结合域包括轻链可变区(VL),所述轻链可变区包括SEQ ID NO:230的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:231的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:232的VLFWR3氨基酸序列、或SEQ ID NO:233的VLFWR4氨基酸序列。

[0142] 24.实施方案1-5、7、8或14-21中任一项的多功能分子,其中所述第一抗原结合域包括轻链可变区(VL),所述轻链可变区包括SEQ ID NO:234的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:235的VLFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:236的VLFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、或SEQ ID NO:237的VLFWR4氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)。

[0143] 25.实施方案24的多功能分子,其中所述第一抗原结合域包括轻链可变区(VL),所述轻链可变区包括SEQ ID NO:234的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:235的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:236的VLFWR3氨基酸序列、或SEQ ID NO:237的VLFWR4氨基酸序列。

[0144] 26.实施方案1-5、7、8或14-21中任一项的多功能分子,其中所述第一抗原结合域包括轻链可变区(VL),所述轻链可变区包括SEQ ID NO:238的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:239的VLFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:240的VLFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、或SEQ ID NO:241的VLFWR4氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)。

[0145] 27.实施方案26的多功能分子,其中所述第一抗原结合域包括轻链可变区(VL),所述轻链可变区包括SEQ ID NO:238的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:239的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:240的VLFWR3氨基酸序列、或SEQ ID NO:241的VLFWR4氨基酸序列。

[0146] 28.实施方案1-5、7、8或14-21中任一项的多功能分子,其中所述第一抗原结合域包括轻链可变区(VL),所述轻链可变区包括SEQ ID NO:242的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:243的VLFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:244的VLFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、或SEQ ID NO:245的VLFWR4氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)。

[0147] 29.实施方案28的多功能分子,其中所述第一抗原结合域包括轻链可变区(VL),所述轻链可变区包括SEQ ID NO:242的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:243的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:244的VLFWR3氨基酸序列、或SEQ ID NO:245的VLFWR4氨基酸序列。

[0148] 30.实施方案1-5、7、8或14-21中任一项的多功能分子,其中所述第一抗原结合域

包括轻链可变区(VL),所述轻链可变区包括SEQ ID NO:246的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:247的VLFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:248的VLFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、或SEQ ID NO:249的VLFWR4氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)。

[0149] 31.实施方案30的多功能分子,其中所述第一抗原结合域包括轻链可变区(VL),所述轻链可变区包括SEQ ID NO:246的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:247的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:248的VLFWR3氨基酸序列、或SEQ ID NO:249的VLFWR4氨基酸序列。

[0150] 32.实施方案1-5、7或8中任一项的多功能分子,其中所述第一抗原结合域包括VH,所述VH包括SEQ ID NO:251的氨基酸序列(或与其具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0151] 33.实施方案1-5、7或8中任一项的多功能分子,其中所述第一抗原结合域包括VH,所述VH包括SEQ ID NO:252的氨基酸序列(或与其具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0152] 34.实施方案1-5、7或8中任一项的多功能分子,其中所述第一抗原结合域包括VH,所述VH包括SEQ ID NO:253的氨基酸序列(或与其具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0153] 35.实施方案1-5、7或8中任一项的多功能分子,其中所述第一抗原结合域包括VH,所述VH包括SEQ ID NO:254的氨基酸序列(或与其具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0154] 36.实施方案1-5、7、8或32-35中任一项的多功能分子,其中所述第一抗原结合域包括VL,所述VL包括SEQ ID NO:256的氨基酸序列(或与其具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0155] 37.实施方案1-5、7、8或32-35中任一项的多功能分子,其中所述第一抗原结合域包括VL,所述VL包括SEQ ID NO:257的氨基酸序列(或与其具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0156] 38.实施方案1-5、7、8或32-35中任一项的多功能分子,其中所述第一抗原结合域包括VL,所述VL包括SEQ ID NO:258的氨基酸序列(或与其具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0157] 39.实施方案1-5、7、8或32-35中任一项的多功能分子,其中所述第一抗原结合域包括VL,所述VL包括SEQ ID NO:259的氨基酸序列(或与其具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0158] 40.实施方案1-5、7、8或32-35中任一项的多功能分子,其中所述第一抗原结合域包括VL,所述VL包括SEQ ID NO:260的氨基酸序列(或与其具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0159] 41.实施方案1-5、7或8中任一项的多功能分子,其中所述第一抗原结合域包括:

[0160] (i)重链可变区(VH),所述重链可变区包括SEQ ID NO:215的重链构架区1

(VHFWR1)氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:216的VHFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:217的VHFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、或SEQ ID NO:218的VHFWR4氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列),和

[0161] (ii)轻链可变区(VL),所述轻链可变区包括SEQ ID NO:238的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:239的VLFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:240的VLFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、或SEQ ID NO:241的VLFWR4氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)。

[0162] 42.实施方案41的多功能分子,其中所述第一抗原结合域包括:

[0163] (i)重链可变区(VH),所述重链可变区包括SEQ ID NO:215的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:216的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:217的VHFWR3氨基酸序列、或SEQ ID NO:218的VHFWR4氨基酸序列,和

[0164] (ii)轻链可变区(VL),所述轻链可变区包括SEQ ID NO:238的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:239的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:240的VLFWR3氨基酸序列、或SEQ ID NO:241的VLFWR4氨基酸序列。

[0165] 43.实施方案41或42中任一项的多功能分子,其中所述第一抗原结合域包括:

[0166] (i)VH,所述VH包括SEQ ID NO:253的氨基酸序列(或与其具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列),和

[0167] (ii)VL,所述VL包括SEQ ID NO:258的氨基酸序列(或与其具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0168] 44.实施方案1-43中任一项的多功能分子,其中所述第一抗原结合域对包括TRBC1的T细胞受体的亲和力高于不包括TRBC1的T细胞受体,任选地其中所述第一抗原结合域与TRBC1之间结合的K_D不超过所述第一抗原结合域与不包括TRBC1的T细胞受体之间结合的K_D的40%、30%、20%、10%、1%、0.1%或0.01%。

[0169] 45.实施方案1-4或6中任一项的多功能分子,其中所述第一抗原结合域对包括TRBC2的T细胞受体的亲和力高于不包括TRBC2的T细胞受体,任选地其中所述第一抗原结合域与TRBC2之间结合的K_D不超过所述第一抗原结合域与不包括TRBC2的T细胞受体之间结合的K_D的40%、30%、20%、10%、1%、0.1%或0.01%。

[0170] 46.实施方案1-44中任一项的多功能分子,其中所述第一抗原结合域对包括TRBC1的T细胞受体的亲和力高于包括TRBC2的T细胞受体,任选地其中所述第一抗原结合域与TRBC1之间结合的K_D不超过所述第一抗原结合域与包括TRBC2的T细胞受体之间结合的K_D的40%、30%、20%、10%、1%、0.1%或0.01%。

[0171] 47.实施方案1-4、6或45中任一项的多功能分子,其中所述第一抗原结合域对包括TRBC2的T细胞受体的亲和力高于包括TRBC1的T细胞受体,任选地其中所述第一抗原结合域与TRBC2之间结合的K_D不超过第一抗原结合域与包括TRBC1的T细胞受体之间结合的K_D的40%、30%、20%、10%、1%、0.1%或0.01%。

[0172] 48.任何前述实施方案的多功能分子,其中所述第一抗原结合域与淋巴瘤细胞或淋巴细胞(例如,T细胞)上的TRBC1或TRBC2或者与淋巴瘤细胞(例如,T细胞)上的肿瘤抗原的结合不激活淋巴瘤细胞或淋巴细胞,例如,T细胞。

[0173] 49.任何前述实施方案的多功能分子,其中所述第一抗原结合域与淋巴瘤细胞或淋巴细胞(例如,T细胞)上的TRBC1或TRBC2或者与淋巴瘤细胞(例如,T细胞)上的肿瘤抗原的结合未明显激活淋巴瘤细胞或淋巴细胞例如T细胞(例如,如通过T细胞增殖、T细胞激活标志物(例如,CD69或CD25)的表达和/或细胞因子(例如TNFα和IFNγ)的表达所测量)。

[0174] 50.实施方案1或3-49中任一项的多功能分子,其中相比于非淋巴瘤细胞,所述多功能分子优先结合淋巴瘤细胞,任选地其中所述多功能分子与淋巴瘤细胞之间的结合比所述多功能分子与非淋巴瘤细胞之间的结合大超过10、20、30、40或50倍。

[0175] 51.实施方案2-47中任一项的多功能分子,其中:

[0176] (i)所述多功能分子与表达TRBC1的淋巴细胞之间的结合比所述多功能分子与不表达TRBC1的淋巴细胞之间的结合大超过10、20、30、40或50倍,或

[0177] (ii)所述多功能分子与表达TRBC2的淋巴细胞之间的结合比所述多功能分子与不表达TRBC2的淋巴细胞之间的结合大超过10、20、30、40或50倍。

[0178] 52.实施方案1-51中任一项的多功能分子,其中所述多功能分子包括免疫细胞衔接物,所述免疫细胞衔接物选自NK细胞衔接物、T细胞衔接物、B细胞衔接物、树突细胞衔接物或巨噬细胞衔接物。

[0179] 53.实施方案52的多功能分子,其中所述免疫细胞衔接物结合并激活免疫细胞,例如效应细胞。

[0180] 54.实施方案52的多功能分子,其中所述免疫细胞衔接物结合但不激活免疫细胞,例如效应细胞。

[0181] 55.实施方案52-54中任一项的多功能分子,其中所述免疫细胞衔接物是T细胞衔接物,例如,介导结合和激活T细胞的T细胞衔接物,或介导结合但不介导激活T细胞的T细胞衔接物。

[0182] 56.实施方案55的多功能分子,其中所述T细胞衔接物结合TCRα、TCRβ、TCRγ、TCRζ、ICOS、CD28、CD27、HVEM、LIGHT、CD40、4-1BB、OX40、DR3、GITR、CD30、TIM1、SLAM、CD2或CD226,例如,所述T细胞衔接物是抗TCRβ抗体分子。

[0183] 57.实施方案52-54中任一项的多功能分子,其中所述免疫细胞衔接物是NK细胞衔接物,例如,介导结合和激活NK细胞的NK细胞衔接物,或介导结合但不激活NK细胞的NK细胞衔接物。

[0184] 58.实施方案57的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物选自抗体分子(例如,抗原结合域)或配体,所述抗体分子或配体结合(例如,激活):NKp30、NKp40、NKp44、NKp46、NKG2D、DNAM1、DAP10、CD16(例如,CD16a、CD16b或两者)、CRTAM、CD27、PSGL1、CD96、CD100(SEMA4D)、NKp80、CD244(也称为SLAMF4或2B4)、SLAMF6、SLAMF7、KIR2DS2、KIR2DS4、KIR3DS1、KIR2DS3、KIR2DS5、KIR2DS1、CD94、NKG2C、NKG2E或CD160,例如,NK细胞衔接物是结合(例如,激活)NKp30的抗体分子或配体。

[0185] 59.实施方案57的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物是抗体分子,例如,抗原结合域。

[0186] 60.实施方案58或59中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物能够衔接NK细胞。

[0187] 61.实施方案57-60中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物是结合NKp30、NKp46、NKG2D或CD16的抗体分子,例如,抗原结合域。

[0188] 62.任何前述实施方案的多功能分子,其中所述多功能分子:

[0189] (i)特异性结合NKp30、NKp46、NKG2D或CD16的表位,例如,与被本文所述的抗NKp30、抗NKp46、抗NKG2D或抗CD16抗体分子识别的表位相同或相似的表位;

[0190] (ii)显示与本文所述的抗NKp30、抗NKp46、抗NKG2D或抗CD16抗体分子相同或相似的结合亲和力或特异性,或两者;

[0191] (iii)抑制,例如,竞争性抑制本文所述的抗NKp30、抗NKp46、抗NKG2D或抗CD16抗体分子的结合;

[0192] (iv)结合与本文所述的抗NKp30、抗NKp46、抗NKG2D或抗CD16抗体分子相同或重叠的表位;或

[0193] (v)竞争结合,和/或结合与本文所述的抗NKp30、抗NKp46、抗NKG2D或-CD16分子相同的表位。

[0194] 63.实施方案57-62中任一项的多功能分子,其中所述抗NKp30、抗NKp46、抗NKG2D或抗CD16抗体分子包括选自表7-10或15的一个或多个CDR、构架区、可变域、重链或轻链、或抗原结合域,或与其基本相同的序列。

[0195] 64.实施方案57-63中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物是结合NKp30的抗体分子,例如,抗原结合域。

[0196] 65.实施方案57-64中任一项的多功能分子,其中所述淋巴瘤细胞或淋巴细胞的裂解由NKp30介导。

[0197] 66.实施方案57-65中任一项的多功能分子,其中在淋巴瘤细胞上不存在肿瘤抗原或淋巴细胞上不存在TRBC1或TRBC2的情况下,当与NK细胞一起温育时,所述多功能分子不激活NK细胞。

[0198] 67.实施方案57-66中任一项的多功能分子,其中当所述NK细胞是表达NKp30的NK细胞并且:(1)淋巴瘤细胞上的肿瘤抗原也存在或(2)淋巴细胞上的TRBC1或TRBC2也存在时,所述多功能分子激活NK细胞。

[0199] 68.实施方案57-67中任一项的多功能分子,其中当所述NK细胞不是表达NKp30的NK细胞并且:(1)淋巴瘤细胞上的肿瘤抗原也存在或(2)淋巴细胞上的TRBC1或TRBC2也存在时,所述多功能分子不激活NK细胞。

[0200] 69.实施方案57-68中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括:

[0201] (i)重链可变区(VH),所述重链可变区包括SEQ ID NO:6000的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3或4个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6001的VHCDR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3或4个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)和/或SEQ ID NO:6002的VHCDR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3或4个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列),和

[0202] (ii)轻链可变区(VL),所述轻链可变区包括SEQ ID NO:6063的轻链互补决定区1(VLCDR1)氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、

SEQ ID NO:6064的VLCDR2氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)和/或SEQ ID NO:7293的VLCDR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)。

[0203] 70.实施方案69的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括:

[0204] (i)重链可变区(VH),所述重链可变区包括SEQ ID NO:6000的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6001的VHCDR2氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6002的VHCDR3氨基酸序列,和

[0205] (ii)轻链可变区(VL),所述轻链可变区包括SEQ ID NO:6063的轻链互补决定区1(VLCDR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6064的VLCDR2氨基酸序列和/或SEQ ID NO:7293的VLCDR3氨基酸序列。

[0206] 71.实施方案57-70中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括:

[0207] (1)重链可变区(VH),所述重链可变区包括SEQ ID NO:6003的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6004的VHFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6005的VHFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)或SEQ ID NO:6006的VHFWR4氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列),和/或

[0208] (2)轻链可变区(VL),所述轻链可变区包括SEQ ID NO:6066的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6067的VLFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:7292的VLFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)或

[0209] SEQ ID NO:6069的VLFWR4氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)。

[0210] 72.实施方案71的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括:

[0211] (1)重链可变区(VH),所述重链可变区包括SEQ ID NO:6003的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6004的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6005的VHFWR3氨基酸序列或SEQ ID NO:6006的VHFWR4氨基酸序列,和

[0212] (3)轻链可变区(VL),所述轻链可变区包括SEQ ID NO:6066的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6067的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:7292的VLFWR3氨基酸序列或SEQ ID NO:6069的VLFWR4氨基酸序列。

[0213] 73.实施方案57-72中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括:

[0214] (i)VH,所述VH包括SEQ ID NO:6121的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6121具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列),和/或

[0215] (ii)VL,所述VL包括SEQ ID NO:7294的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:7294具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0216] 74.实施方案57-73中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括重链,所述重链包括SEQ ID NO:6148或6149的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6148或6149具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0217] 75.实施方案57-74中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括轻链,所述轻链包括SEQ ID NO:6150的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6150具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0218] 76.实施方案57-75中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括重链,所述重链包括SEQ ID NO:6148或6149的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6148或6149具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列),和轻链,所述轻链包括SEQ ID NO:6150的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6150具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0219] 77.实施方案57-70中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括重链可变区(VH),所述重链可变区包括SEQ ID NO:6014的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6015的VHFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6016的VHFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列),或SEQ ID NO:6017的VHFWR4氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)。

[0220] 78.实施方案77的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括重链可变区(VH),所述重链可变区包括SEQ ID NO:6014的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6015的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6016的VHFWR3氨基酸序列、或SEQ ID NO:6017的VHFWR4氨基酸序列。

[0221] 79.实施方案78的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括VH,所述VH包括SEQ ID NO:6123的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6123具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0222] 80.实施方案57-70中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括重链可变区(VH),所述重链可变区包括SEQ ID NO:6018的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6019的VHFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6020的VHFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、或SEQ ID NO:6021的VHFWR4氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)。

[0223] 81.实施方案80的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括重链可变区(VH),所述重链可变区包括SEQ ID NO:6018的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6019的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6020的VHFWR3氨基酸序列、或SEQ ID NO:6021的VHFWR4氨基酸序列。

[0224] 82.实施方案81的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括VH,所述VH包括SEQ ID NO:6124的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6124具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0225] 83.实施方案57-70中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括重链可变区(VH),所述重链可变区包括SEQ ID NO:6022的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6023的

VHFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6024的VHFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、或SEQ ID NO:6025的VHFWR4氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)。

[0226] 84.实施方案83的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括重链可变区(VH),所述重链可变区包括SEQ ID NO:6022的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6023的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6024的VHFWR3氨基酸序列、或SEQ ID NO:6025的VHFWR4氨基酸序列。

[0227] 85.实施方案84的多功能分子,其中所述述NK细胞衔接物包括VH,所述VH包括SEQ ID NO:6125的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6125具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0228] 86.实施方案57-70中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括重链可变区(VH),所述重链可变区包括SEQ ID NO:6026的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6027的VHFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6028的VHFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、或SEQ ID NO:6029的VHFWR4氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)。

[0229] 87.实施方案86的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括重链可变区(VH),所述重链可变区包括SEQ ID NO:6026的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6027的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6028的VHFWR3氨基酸序列、或SEQ ID NO:6029的VHFWR4氨基酸序列。

[0230] 88.实施方案87的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括VH,所述VH包括SEQ ID NO:6126的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6126具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0231] 89.实施方案57-70中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括重链可变区(VH),所述重链可变区包括SEQ ID NO:6030的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6032的VHFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6033的VHFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、或SEQ ID NO:6034的VHFWR4氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)。

[0232] 90.实施方案89的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括重链可变区(VH),所述重链可变区包括SEQ ID NO:6030的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6032的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6033的VHFWR3氨基酸序列、或SEQ ID NO:6034的VHFWR4氨基酸序列。

[0233] 91.实施方案90的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括VH,所述VH包括SEQ ID NO:6127的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6127具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0234] 92.实施方案57-70中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括重链可变区(VH),所述重链可变区包括SEQ ID NO:6035的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6036的VHFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6037的VHFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、或SEQ ID NO:6038的VHFWR4氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)。

[0235] 93.实施方案92的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括重链可变区(VH),所述重链可变区包括SEQ ID NO:6035的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6036的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6037的VHFWR3氨基酸序列、或SEQ ID NO:6038的VHFWR4氨基酸序列。

[0236] 94.实施方案93的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括VH,所述VH包括SEQ ID NO:6128的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6128具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0237] 95.实施方案57-70或77-94中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括轻链可变区(VL),所述轻链可变区包括SEQ ID NO:6077的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6078的VLFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6079的VLFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、或SEQ ID NO:6080的VLFWR4氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)。

[0238] 96.实施方案95的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括轻链可变区(VL),所述轻链可变区包括SEQ ID NO:6077的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6078的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6079的VLFWR3氨基酸序列、或SEQ ID NO:6080的VLFWR4氨基酸序列。

[0239] 97.实施方案96的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括VL,所述VL包括SEQ ID NO:6137的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6137具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0240] 98.实施方案57-70或77-94中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括轻链可变区(VL),所述轻链可变区包括SEQ ID NO:6081的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6082的VLFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6083的VLFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、或SEQ ID NO:6084的VLFWR4氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)。

[0241] 99.实施方案98的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括轻链可变区(VL),所述轻链可变区包括SEQ ID NO:6081的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6082的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6083的VLFWR3氨基酸序列、或SEQ ID NO:6084的VLFWR4氨基酸序列。

[0242] 100.实施方案99的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括VL,所述VL包括SEQ ID NO:6138的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6138具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0243] 101.实施方案57-70或77-94中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括轻链可变区(VL),包括SEQ ID NO:6085的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6086的VLFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6087的VLFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、或SEQ ID NO:6088的VLFWR4氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)。

[0244] 102.实施方案101的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括轻链可变区(VL),所述轻链可变区包括SEQ ID NO:6085的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6086的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6087的VLFWR3氨基酸序列、或SEQ ID NO:6088的VLFWR4氨基酸序列。

[0245] 103.实施方案102的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括VL,所述VL包括SEQ ID NO:6139的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6139具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0246] 104.实施方案57-70或77-94中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括轻链可变区(VL),所述轻链可变区包括SEQ ID NO:6089的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6090的VLFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ IDNO:6091的VLFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、或SEQ ID NO:6092的VLFWR4氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)。

[0247] 105.实施方案104的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括轻链可变区(VL),所述轻链可变区包括SEQ ID NO:6089的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6090的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6091的VLFWR3氨基酸序列、或SEQ ID NO:6092的VLFWR4氨基酸序列。

[0248] 106.实施方案105的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括VL,所述VL包括SEQ ID NO:6140的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6140具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0249] 107.实施方案57-70或77-94中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括轻链可变区(VL),所述轻链可变区包括SEQ ID NO:6093的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6094的VLFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6095的VLFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、或SEQ ID NO:6096的VLFWR4氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)。

[0250] 108.实施方案107的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括轻链可变区(VL),所

述轻链可变区包括SEQ ID NO:6093的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6094的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6095的VLFWR3氨基酸序列、或SEQ ID NO:6096的VLFWR4氨基酸序列。

[0251] 109.实施方案108的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括VL,所述VL包括SEQ ID NO:6141的氨基酸序列(或与SEQ IDNO:6141具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0252] 110.实施方案57-68中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括:

[0253] (i)重链可变区(VH),所述重链可变区包括SEQ ID NO:6007的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6008的VHCDR2氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)和/或SEQ ID NO:6009的VHCDR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列),以及

[0254] (ii)轻链可变区(VL),所述轻链可变区包括SEQ ID NO:6070的轻链互补决定区1(VLCDR1)氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6071的VLCDR2氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)和/或SEQ ID NO:6072的VLCDR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)。

[0255] 111.实施方案110的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括:

[0256] (i)重链可变区(VH),所述重链可变区包括SEQ ID NO:6007的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6008的VHCDR2氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6009的VHCDR3氨基酸序列,以及

[0257] (ii)轻链可变区(VL),所述轻链可变区包括SEQ ID NO:6070的轻链互补决定区1(VLCDR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6071的VLCDR2氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6072的VLCDR3氨基酸序列。

[0258] 112.实施方案57-68、110或111中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括:

[0259] (1)重链可变区(VH),所述重链可变区包括SEQ ID NO:6010的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6011的VHFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6012的VHFWR3氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)或SEQ ID NO:6013的VHFWR4氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列),和/或

[0260] (2)轻链可变区(VL),所述轻链可变区包括SEQ ID NO:6073的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6074的VLFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6075的VLFWR3氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)或SEQ ID NO:6076的VLFWR4氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)

的序列)。

[0261] 113.实施方案112的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括:

[0262] (1)重链可变区(VH),所述重链可变区包括SEQ ID NO:6010的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6011的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6012的VHFWR3氨基酸序列或SEQ ID NO:6013的VHFWR4氨基酸序列,以及

[0263] (3)轻链可变区(VL),所述轻链可变区包括SEQ ID NO:6073的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6074的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6075的VLFWR3氨基酸序列或SEQ ID NO:6076的VLFWR4氨基酸序列。

[0264] 114.实施方案57-68或110-113中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括:

[0265] (i)VH,所述VH包括SEQ ID NO:6122的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6122具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列),和/或

[0266] (ii)VL,所述VL包括SEQ ID NO:6136的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6136具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0267] 115.实施方案57-68或110-114中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括重链,所述重链包括SEQ ID NO:6151或6152的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6151或6152具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0268] 116.实施方案57-68或110-115中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括轻链,所述轻链包括SEQ ID NO:6153的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6153具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0269] 117.实施方案57-68或110-116中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括重链,所述重链包括SEQ ID NO:6151或6152的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6151或6152具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列),和轻链,所述轻链包括SEQ ID NO:6153的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6153具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0270] 118.实施方案57-68、110或111中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括重链可变区(VH),所述重链可变区包括SEQ ID NO:6039的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6040的VHFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6041的VHFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、或SEQ ID NO:6042的VHFWR4氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)。

[0271] 119.实施方案118的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括重链可变区(VH),所述重链可变区包括SEQ ID NO:6039的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6040的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6041的VHFWR3氨基酸序列、或SEQ ID NO:6042的VHFWR4氨基酸序列。

[0272] 120.实施方案119的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括VH,所述VH包括SEQ ID NO:6129的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6129具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0273] 121.实施方案57-68、110或111中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括重链可变区(VH),所述重链可变区包括SEQ ID NO:6043的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6044的VHFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6045的VHFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、或SEQ ID NO:6046的VHFWR4氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)。

[0274] 122.实施方案121的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括重链可变区(VH),所述重链可变区包括SEQ ID NO:6043的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6044的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6045的VHFWR3氨基酸序列、或SEQ ID NO:6046的VHFWR4氨基酸序列。

[0275] 123.实施方案122的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括VH,所述VH包括SEQ ID NO:6130的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6130具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0276] 124.实施方案57-68、110或111中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括重链可变区(VH),所述重链可变区包括SEQ ID NO:6047的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6048的VHFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6049的VHFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、或SEQ ID NO:6050的VHFWR4氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)。

[0277] 125.实施方案124的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括重链可变区(VH),所述重链可变区包括SEQ ID NO:6047的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6048的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6049的VHFWR3氨基酸序列、或SEQ ID NO:6050的VHFWR4氨基酸序列。

[0278] 126.实施方案125的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括VH,所述括VH包括SEQ ID NO:6131的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6131具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0279] 127.实验方案57-68、110或111中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括重链可变区(VH),所述重链可变区包括SEQ ID NO:6051的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6052的VHFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6053的VHFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、或SEQ ID NO:6054的VHFWR4氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)。

[0280] 128.实施方案127的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括重链可变区(VH),所述重链可变区包括SEQ ID NO:6051的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6052的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6053的VHFWR3氨基酸序列、或SEQ ID NO:6054的VHFWR4氨基酸序列。

[0281] 129.实施方案128的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括VH,所述VH包括SEQ ID NO:6132的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6132具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0282] 130.实施方案57-68、110或111中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括重链可变区(VH),所述重链可变区包括SEQ ID NO:6055的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6056的VHFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6057的VHFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、或SEQ ID NO:6058的VHFWR4氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)。

[0283] 131.实施方案130的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括重链可变区(VH),所述重链可变区包括SEQ ID NO:6055的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6056的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6057的VHFWR3氨基酸序列、或SEQ ID NO:6058的VHFWR4氨基酸序列。

[0284] 132.实施方案131的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括VH,所述VH包括SEQ ID NO:6133的氨基酸序列(或与SEQ IDNO:6133具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0285] 133.实施方案57-68、110或111中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括重链可变区(VH),所述重链可变区包括SEQ ID NO:6059的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6060的VHFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6061的VHFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、或SEQ ID NO:6062的VHFWR4氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)。

[0286] 134.实施方案133的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括重链可变区(VH),所述重链可变区包括SEQ ID NO:6059的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6060的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6061的VHFWR3氨基酸序列、或SEQ ID NO:6062的VHFWR4氨基酸序列。

[0287] 135.实施方案134的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括VH,所述VH包括SEQ ID NO:6134的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6134具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0288] 136.实施方案57-68、110、111或118-135中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括轻链可变区(VL),所述轻链可变区包括SEQ ID NO:6097的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6098的VLFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6099的VLFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、或SEQ ID NO:6100的VLFWR4氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)。

[0289] 137.实施方案136的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括轻链可变区(VL),所

述轻链可变区包括SEQ ID NO:6097的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6098的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6099的VLFWR3氨基酸序列、或SEQ ID NO:6100的VLFWR4氨基酸序列。

[0290] 138.实施方案137的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括VL,所述VL包括SEQ ID NO:6142的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6142具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0291] 139.实施方案57-68、110、111或118-135中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括轻链可变区(VL),所述轻链可变区包括SEQ ID NO:6101的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6102的VLFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6103的VLFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、或SEQ ID NO:6104的VLFWR4氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)。

[0292] 140.实施方案139的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括轻链可变区(VL),所述轻链可变区包括SEQ ID NO:6101的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6102的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6103的VLFWR3氨基酸序列、或SEQ ID NO:6104的VLFWR4氨基酸序列。

[0293] 141.实施方案140的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括VL,所述VL包括SEQ ID NO:6143的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6143具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0294] 142.实施方案57-68、110、111或118-135中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括轻链可变区(VL),所述轻链可变区包括SEQ ID NO:6105的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6106的VLFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6107的VLFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、或SEQ ID NO:6108的VLFWR4氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)。

[0295] 143.实施方案142的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括轻链可变区(VL),所述轻链可变区包括SEQ ID NO:6105的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6106的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6107的VLFWR3氨基酸序列、或SEQ ID NO:6108的VLFWR4氨基酸序列。

[0296] 144.实施方案143的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括VL,所述VL包括SEQ ID NO:6144的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6144具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0297] 145.实施方案57-68、110、111或118-135中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括轻链可变区(VL),所述轻链可变区包括SEQ ID NO:6109的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6110的VLFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6111的VLFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过

1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、或SEQ ID NO:6112的VLFWR4氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)。

[0298] 146.实施方案145的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括轻链可变区(VL),所述轻链可变区包括SEQ ID NO:6109的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6110的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6111的VLFWR3氨基酸序列、或SEQ ID NO:6112的VLFWR4氨基酸序列。

[0299] 147.实施方案146的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括VL,所述VL包括SEQ ID NO:6145的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6145具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0300] 148.实施方案57-68、110、111或118-135中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括轻链可变区(VL),所述轻链可变区包括SEQ ID NO:6113的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6114的VLFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6115的VLFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、或SEQ ID NO:6116的VLFWR4氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)。

[0301] 149.实施方案148的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括轻链可变区(VL),所述轻链可变区包括SEQ ID NO:6113的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6114的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6115的VLFWR3氨基酸序列、或SEQ ID NO:6116的VLFWR4氨基酸序列。

[0302] 150.实施方案149的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括VL,所述VL包括SEQ ID NO:6146的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6146具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0303] 151.实施方案57-68、110、111或118-135中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括轻链可变区(VL),所述轻链可变区包括SEQ ID NO:6117的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6118的VLFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:6119的VLFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、或SEQ ID NO:6120的VLFWR4氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)。

[0304] 152.实施方案151的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括轻链可变区(VL),所述轻链可变区包括SEQ ID NO:6117的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6118的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6119的VLFWR3氨基酸序列、或SEQ ID NO:6120的VLFWR4氨基酸序列。

[0305] 153.实施方案152的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括VL,所述VL包括SEQ ID NO:6147的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6147具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0306] 154.实施方案57-60中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物是与NKp46结合的抗体分子,例如,抗原结合域。

[0307] 155.实施方案154的多功能分子,其中所述淋巴瘤细胞的裂解由NKp46介导。

[0308] 156.实施方案154或155中任一项的多功能分子,其中当在淋巴瘤细胞上不存在肿瘤抗原的情况下与NK细胞一起温育时,所述多功能分子不激活NK细胞。

[0309] 157.实施方案154-156中任一项的多功能分子,其中当NK细胞是表达NKp46的NK细胞并且淋巴瘤细胞上的肿瘤抗原也存在时,所述多功能分子激活NK细胞。

[0310] 158.实施方案154-157中任一项的多功能分子,其中当NK细胞不是表达NKp46的NK细胞并且淋巴瘤细胞上的肿瘤抗原也存在时,所述多功能分子不激活NK细胞。

[0311] 159.实施方案154-158中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括VH,所述VH包括SEQ ID NO:6182的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6182具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0312] 160.实施方案154-159中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括VL,所述VL包括SEQ ID NO:6183的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6183具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0313] 161.154-160的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括scFV,所述scFV包括SEQ ID NO:6181的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6181具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0314] 162.实施方案57-60中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物是与NKG2D结合的抗体分子,例如,抗原结合域。

[0315] 163.实施方案162的多功能分子,其中所述淋巴瘤细胞的裂解由NKG2D介导。

[0316] 164.实施方案162或163中任一项的多功能分子,其中当在淋巴瘤细胞上不存在肿瘤抗原的情况下与NK细胞一起温育时,所述多功能分子不激活NK细胞。

[0317] 165.实施方案162-164中任一项的多功能分子,其中当NK细胞是表达NKG2D的NK细胞并且淋巴瘤细胞上的肿瘤抗原也存在时,所述多功能分子激活NK细胞。

[0318] 166.实施方案162-165中任一项的多功能分子,其中当NK细胞不是表达NKG2D的NK细胞并且淋巴瘤细胞上的肿瘤抗原也存在时,所述多功能分子不激活NK细胞。

[0319] 167.实施方案162-166中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括VH,所述VH包括SEQ ID NO:6176的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6176具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0320] 168.实施方案162-167中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括VL,所述VL包括SEQ ID NO:6177的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6177具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0321] 169.实施方案162-168中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括scFV,所述scFV包括SEQ ID NO:6175的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6175具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0322] 170.实施方案162-166中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括VH,所述VH包括SEQ ID NO:6179的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6179具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0323] 171.实施方案162-166或170中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括VL,所述VL包括SEQ ID NO:6180的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6180具有至少约93%、95%

或99％序列同一性的氨基酸序列)。

[0324] 172.实施方案162-166、170或171中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括scFV,所述scFV包括SEQ ID NO:6178的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6178具有至少约93％、95％或99％序列同一性的氨基酸序列)。

[0325] 173.实施方案57-60中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物是与CD16结合的抗体分子,例如,抗原结合域。

[0326] 174.实施方案162的多功能分子,其中所述淋巴瘤细胞的裂解由CD16介导。

[0327] 175.实施方案173或174中任一项的多功能分子,其中当在淋巴瘤细胞上不存在肿瘤抗原的情况下与NK细胞一起温育时,所述多功能分子不激活NK细胞。

[0328] 176.实施方案173-175中任一项的多功能分子,其中当NK细胞是表达CD16的NK细胞并且淋巴瘤细胞上的肿瘤抗原也存在时,所述多功能分子激活NK细胞。

[0329] 177.实施方案173-176中任一项的多功能分子,其中当NK细胞不是表达CD16的NK细胞并且淋巴瘤细胞上的肿瘤抗原也存在时,所述多功能分子不激活NK细胞。

[0330] 178.实施方案173-177中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括VH,所述VH包括SEQ ID NO:6185的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6185具有至少约75％、80％、85％、90％、95％或99％序列同一性的氨基酸序列)。

[0331] 179.实施方案173-178中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括VL,所述VL包括SEQ ID NO:6186的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6186具有至少约93％、95％或99％序列同一性的氨基酸序列)。

[0332] 180.实施方案173-179中任一项的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括scFV,所述scFV包括SEQ ID NO:6184的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6184具有至少约93％、95％、99％序列同一性的氨基酸序列)。

[0333] 181.实施方案57的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物是配体,任选地,所述配体进一步包括免疫球蛋白恒定区,例如,Fc区。

[0334] 182.实施方案181的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物是NKp44或NKp46的配体,例如,病毒HA。

[0335] 183.实施方案181的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物是DAP10的配体,例如,NKG2D的共同受体。

[0336] 184.实施方案181的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物是CD16的配体,例如,CD16a/b配体,例如,进一步包括抗体Fc区的CD16a/b配体。

[0337] 185.实施方案52-54中任一项的多功能分子,其中所述免疫细胞衔接物介导与B细胞、巨噬细胞和/或树突细胞中的一种或多种的结合或介导B细胞、巨噬细胞和/或树突细胞中的一种或多种的激活,或两者。

[0338] 186.实施方案185的多功能分子,其中所述免疫细胞衔接物包括B细胞、巨噬细胞和/或树突细胞衔接物,其选自以下的一种或多种:CD40配体(CD40L)或CD70配体;与CD40或CD70结合的抗体分子;OX40的抗体分子;OX40配体(OX40L);Toll样受体激动剂(例如,TLR4,例如,组成型活性TLR4(caTLR4)或TLR9激动剂);41BB;CD2激动剂;CD47;或STING激动剂,或其组合。

[0339] 187.实施方案52-54中任一项的多功能分子,其中所述免疫细胞衔接物是B细胞衔

接物,例如,CD40L、OX40L或CD70配体,或结合OX40、CD40或CD70的抗体分子。

[0340] 188.实施方案52-54中任一项的多功能分子,其中所述免疫细胞衔接物是巨噬细胞衔接物,例如,CD2激动剂;CD40L;OX40L;与OX40、CD40或CD70结合的抗体分子;Toll样受体(TLR)激动剂(例如,TLR4,例如,组成型活性TLR4(caTLR4)或TLR9激动剂);CD47;或STING激动剂。

[0341] 189.实施方案52-54中任一项的多功能分子,其中所述免疫细胞衔接物是树突细胞衔接物,例如,CD2激动剂、OX40抗体、OX40L、41BB激动剂、Toll样受体激动剂或其片段(例如,TLR4,例如,组成型活性TLR4(caTLR4))、CD47激动剂或STING激动剂。

[0342] 190.实施方案188或189的多功能分子,其中所述STING激动剂包括环二核苷酸,例如,环二GMP(cdGMP)、环二AMP(cdAMP)或其组合,任选地,具有2',5'磷酯键或3',5'磷酯键,例如,其中所述STING激动剂与所述多功能分子共价偶联。

[0343] 191.实施方案1-51中任一项的多功能分子,其中所述多功能分子包括细胞因子分子。

[0344] 192.实施方案191的多功能分子,其中所述细胞因子分子选自白介素-2(IL-2)、白介素-7(IL-7)、白介素-12(IL-12)、白介素-15(IL-15)、白介素-18(IL-18)、白介素-21(IL-21)或干扰素γ,或其片段或变体,或任何上述细胞因子的组合。

[0345] 192A.实施方案192的多功能分子,其中所述细胞因子分子是白介素-2(IL-2)。

[0346] 193.实施方案191或192的多功能分子,其中所述细胞因子分子是单体或二聚体。

[0347] 194.实施方案191-193中任一项的多功能分子,其中所述细胞因子分子进一步包括受体二聚化域,例如,IL15Rα二聚化域。

[0348] 195.实施方案194的多功能分子,其中所述细胞因子分子(例如IL-15)和所述受体二聚化域(例如,IL15Rα二聚化域)不共价连接,例如,非共价缔合。

[0349] 196.实施方案1-51中任一项的多功能分子,其中所述多功能分子包括细胞因子抑制剂分子。

[0350] 197.实施方案196的多功能分子,其中所述细胞因子抑制剂分子是TGF-β抑制剂。

[0351] 198.实施方案196或197中任一项的多功能分子,其中所述TGF-β抑制剂抑制(例如,降低其活性):(i)TGF-β1;(ii)TGF-β2;(iii)TGF-β3;(iv)(i)和(ii);(v)(i)和(iii);(vi)(ii)和(iii);或(vii)(i)、(ii)和(iii)。

[0352] 199.实施方案196-198中任一项的多功能分子,其中所述TGF-β抑制剂包括能够抑制(例如,降低其活性)TGF-β的TGF-β受体的一部分(例如,TGF-β受体的胞外域),或其功能片段或变体。

[0353] 200.实施方案199的多功能分子,其中所述TGF-β抑制剂包括以下项的一部分:(i)TGFBR1;(ii)TGFBR2;(iii)TGFBR3;(iv)(i)和(ii);(v)(i)和(iii);(vi)(ii)和(iii);或(vii)(i)、(ii)和(iii)。

[0354] 201.实施方案196-200中任一项的多功能分子,其中所述TGF-β抑制剂包括选自表16的氨基酸序列,或与其具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列。

[0355] 202.实施方案1-51中任一项的多功能分子,其中所述多功能分子包括死亡受体信号衔接物,所述死亡受体信号衔接物选自TNF相关凋亡诱导配体(TRAIL)分子、死亡受体分子、或特异性结合死亡受体的抗原结合域。

[0356] 203.实施方案202的多功能分子,其中所述死亡受体信号衔接物激活淋巴瘤细胞(例如,T细胞)或者表达TRBC1或TRBC2的淋巴细胞中的死亡受体信号传导,例如,并且诱导所述细胞中的凋亡或细胞死亡。

[0357] 204.实施方案202或203中任一项的多功能分子,其中所述死亡受体信号衔接物不激活在非淋巴瘤细胞和不表达TRBC1或不表达TRBC2的淋巴细胞上的死亡受体信号传导。

[0358] 205.实施方案202-204中任一项的多功能分子,其中所述死亡受体信号衔接物包括TRAIL分子,例如,一种或多种TRAIL多肽或其片段。

[0359] 206.实施方案205的多功能分子,其中所述TRAIL分子特异性结合死亡受体4(DR4)或死亡受体5(DR5)。

[0360] 207.实施方案205或206中任一项的多功能分子,其中所述TRAIL分子包括截短TRAIL多肽,例如,相对于野生型TRAIL多肽。

[0361] 208.实施方案207的多功能分子,其中所述TRAIL分子至少包括对应于人TRAIL的氨基酸95-281的残基,例如,包括对应于人TRAIL的氨基酸95-281的残基的截短TRAIL分子。

[0362] 209.实施方案208的多功能分子,其中所述TRAIL分子包括截短TRAIL多肽,所述截短TRAIL多肽包括人TRAIL的氨基酸95-281,例如,并且不是人TRAIL的氨基酸1-94。

[0363] 210.实施方案207的多功能分子,其中所述TRAIL分子至少包括对应于人TRAIL的氨基酸122-281的残基,例如,包括对应于人TRAIL的氨基酸122-281的残基的截短TRAIL分子。

[0364] 211.实施方案210的多功能分子,其中所述TRAIL分子包括截短TRAIL多肽,所述截短TRAIL多肽包括人TRAIL的氨基酸122-281,例如,并且不是人TRAIL的氨基酸1-121。

[0365] 212.实施方案205-211中任一项的多功能分子,其中所述死亡受体信号衔接物包括一种、两种或三种TRAIL分子。

[0366] 213.实施方案202-204中任一项的多功能分子,其中所述死亡受体信号衔接物包括特异性结合死亡受体(例如死亡受体4(DR4)或死亡受体5(DR5))的抗原结合域。

[0367] 214.实施方案213的多功能分子,其中所述死亡受体信号衔接物包括一个、两个或三个特异性结合死亡受体的抗原结合域。

[0368] 215.实施方案213或214中任一项的多功能分子,其中特异性结合死亡受体的抗原结合域与DR5结合。

[0369] 216.实施方案213-215中任一项的多功能分子,其中特异性结合死亡受体的抗原结合域包括替加珠单抗(tigatuzumab)、曲齐妥单抗(drozitumab)或可那木单抗(conatumumab)。

[0370] 217.实施方案202-216中任一项的多功能分子,其中所述死亡受体信号衔接物包括选自表11的氨基酸序列,或与其具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列。

[0371] 218.实施方案202-217中任一项的多功能分子,其中所述死亡受体信号衔接物包括SEQ ID NO:6157的氨基酸序列,或与其具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列。

[0372] 219.实施方案202-217中任一项的多功能分子,其中所述死亡受体信号衔接物包括SEQ ID NO:6158的氨基酸序列,或与其具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序

列同一性的氨基酸序列。

[0373] 220.实施方案202-217中任一项的多功能分子,其中所述死亡受体信号衔接物包括SEQ ID NO:6159的氨基酸序列,或与其具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列。

[0374] 221.实施方案202-217中任一项的多功能分子,其中所述死亡受体信号衔接物包括SEQ ID NO:6160的氨基酸序列,或与其具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列。

[0375] 222.实施方案202-217中任一项的多功能分子,其中所述死亡受体信号衔接物包括SEQ ID NO:6161的氨基酸序列,或与其具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列。

[0376] 223.实施方案202-217中任一项的多功能分子,其中所述死亡受体信号衔接物包括SEQ ID NO:6162的氨基酸序列,或与其具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列。

[0377] 224.实施方案202-217中任一项的多功能分子,其中所述死亡受体信号衔接物包括SEQ ID NO:6163的氨基酸序列,或与其具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列。

[0378] 225.实施方案202-217中任一项的多功能分子,其中所述死亡受体信号衔接物包括SEQ ID NO:6164的氨基酸序列,或与其具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列。

[0379] 226.实施方案202-217中任一项的多功能分子,其中所述死亡受体信号衔接物包括SEQ ID NO:6165的氨基酸序列,或与其具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列。

[0380] 227.实施方案56的多功能分子,其中所述T细胞衔接物与TCRβ结合,例如,与TCRβV链(TCRBV)结合。

[0381] 228.实施方案227的多功能分子,其中所述T细胞衔接物包括与TCRβ结合(例如,并且在一些实施方案中将其激活)的抗原结合域(例如,抗体分子或其片段)。

[0382] 229.实施方案227或228中任一项的多功能分子,其中所述T细胞衔接物包括例如特异性结合人TCRβV链(TCRβV)的抗TCRβV抗体分子。

[0383] 230.实施方案227-229中任一项的多功能分子,其中所述T细胞衔接物不结合淋巴瘤细胞和表达TRBC1或TRBC2的淋巴细胞。

[0384] 231.实施方案227-229中任一项的多功能分子,其中所述T细胞衔接物能够结合淋巴瘤细胞或者表达TRBC1或TRBC2的淋巴细胞,或与淋巴瘤细胞或者表达TRBC1或TRBC2的淋巴细胞结合。

[0385] 232.实施方案227-231中任一项的多功能分子,其中所述T细胞衔接物不激活淋巴瘤细胞和表达TRBC1或TRBC2的淋巴细胞。

[0386] 233.实施方案227-232中任一项的多功能分子,其中所述T细胞衔接物包括特异性结合表12的TCRβV亚家族或亚家族成员的抗TCRβV抗体分子。

[0387] 234.实施方案233的多功能分子,其中所述抗TCRβV抗体分子特异性结合TCRβV6,例如,TCRβV6亚家族,其包括:TCRβV6-4*01、TCRβV6-4*02、TCRβV6-9*01、TCRβV6-8*01、TCRβ

V6-5*01、TCRβV6-6*02、TCRβV6-6*01、TCRβV6-2*01、TCRβV6-3*01或TCRβV6-1*01。

[0388] 235.实施方案234的多功能分子,其中所述抗TCRβV抗体分子包括表13中提供的一个或多个CDR、构架区、或可变重链区和/或可变轻链区,或与其具有至少约93%、95%或99%序列同一性的序列。

[0389] 236.实施方案233的多功能分子,其中所述抗TCRβV抗体分子特异性结合TCRβV12,例如,TCRβV12亚家族,其包括:TCRβV12-4*01、TCRβV12-3*01或TCRβV12-5*01。

[0390] 237.实施方案236的多功能分子,其中所述抗TCRβV抗体分子包括表14中提供的一个或多个CDR、构架区、或可变重链区和/或可变轻链区,或与其具有至少约93%、95%或99%序列同一性的序列。

[0391] 238.实施方案1-51中任一项的多功能分子,其中所述多功能分子包括基质修饰部分。

[0392] 239.实施方案238的多功能分子,其中所述基质修饰部分导致以下项中的一种或多种:减少基质或细胞外基质(ECM)组分的水平或产生;减少肿瘤纤维化;增加间质性肿瘤运输;改善肿瘤灌注;扩大肿瘤微脉管系统;降低肿瘤中的间质液压力(IFP);或减少或增强药剂(例如,癌症治疗剂或细胞疗法)进入肿瘤或肿瘤脉管系统的渗透或扩散。

[0393] 240.实施方案239的多功能分子,其中减少的基质或ECM组分选自糖胺聚糖或细胞外蛋白,或其组合。

[0394] 241.实施方案1-240中任一项的多功能分子,其中所述多功能分子包括:

[0395] (i)免疫细胞衔接物(例如,T细胞衔接物、NK细胞衔接物、B细胞衔接物、树突细胞衔接物或巨噬细胞衔接物)和细胞因子分子,

[0396] (ii)免疫细胞衔接物(例如,T细胞衔接物、NK细胞衔接物、B细胞衔接物、树突细胞衔接物或巨噬细胞衔接物)和细胞因子抑制剂分子,

[0397] (iii)免疫细胞衔接物(例如,T细胞衔接物、NK细胞衔接物、B细胞衔接物、树突细胞衔接物或巨噬细胞衔接物)和死亡受体信号衔接物,

[0398] (iv)免疫细胞衔接物(例如,T细胞衔接物、NK细胞衔接物、B细胞衔接物、树突细胞衔接物或巨噬细胞衔接物)和基质修饰部分,

[0399] (v)细胞因子分子和基质修饰部分,

[0400] (vi)细胞因子分子和死亡受体信号衔接物,

[0401] (vii)细胞因子抑制剂分子和基质修饰部分,

[0402] (viii)细胞因子抑制剂分子和死亡受体信号衔接物,

[0403] (ix)免疫细胞衔接物(例如,T细胞衔接物、NK细胞衔接物、B细胞衔接物、树突细胞衔接物或巨噬细胞衔接物)、细胞因子分子、死亡受体信号衔接物和基质修饰部分,或

[0404] (x)免疫细胞衔接物(例如,T细胞衔接物、NK细胞衔接物、B细胞衔接物、树突细胞衔接物或巨噬细胞衔接物)、细胞因子抑制剂分子、死亡受体信号衔接物和基质修饰部分。

[0405] 242.实施方案1-241中任一项的多功能分子,其中所述多功能分子包括以下构型:

[0406] A,B-[二聚化模块]-C,-D,其中:

[0407] (a)所述二聚化模块包括免疫球蛋白恒定域,例如,重链恒定区(例如,同源二聚体或异源二聚体重链恒定区,例如,Fc区)或免疫球蛋白可变区的恒定域(例如,Fab区);和

[0408] (b)A、B、C和D独立地为不存在;(i)优先与TRBC1或TRBC2结合的抗原结合域;(ii)

选自T细胞衔接物、NK细胞衔接物、B细胞衔接物、树突细胞衔接物或巨噬细胞衔接物的免疫细胞衔接物;(iii)细胞因子分子或细胞因子抑制剂分子;(iv)死亡受体信号衔接物;或(v)基质修饰部分,前提是:

[0409] A、B、C和D中的至少一个、两个或三个包括优先与TRBC1或TRBC2结合的抗原结合域,并且

[0410] 剩余的A、B、C和D中的任一个为不存在或者包括免疫细胞衔接物、细胞因子分子、细胞因子抑制剂分子、死亡受体信号衔接物或基质修饰部分中的一种。

[0411] 243.实施方案242的多功能分子,其中:

[0412] (1)A包括优先与包括TRBC1或TRBC2的T细胞受体结合的抗原结合域,并且B、C或D包括免疫细胞衔接物,例如,T细胞衔接物,例如,抗TCRβV抗体分子;

[0413] (2)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的抗原结合域,并且B、C或D包括免疫细胞衔接物,例如,NK细胞衔接物,例如,抗NKp30或抗NKp46抗体分子;

[0414] (3)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的抗原结合域,并且B、C或D包括细胞因子分子;

[0415] (4)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的抗原结合域,并且B、C或D包括细胞因子抑制剂分子;

[0416] (5)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的抗原结合域,并且B、C或D包括死亡受体信号衔接物;

[0417] (6)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的抗原结合域,并且B、C或D包括基质修饰部分;

[0418] (7)A包括与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,B包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第二抗原结合域,并且C或D包括免疫细胞衔接物,例如,T细胞衔接物,例如,抗TCRβV抗体分子;

[0419] (8)A包括与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,B包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第二抗原结合域,并且C或D包括免疫细胞衔接物,例如,NK细胞衔接物,例如,抗NKp30、抗NKp46、抗NKG2D或抗CD16抗体分子;

[0420] (9)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,B包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第二抗原结合域,并且C或D包括细胞因子分子;

[0421] (10)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,B包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第二抗原结合域,并且C或D包括细胞因子抑制剂分子;

[0422] (11)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,B包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第二抗原结合域,并且C或D包括死亡受体信号衔接物;

[0423] (12)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,B包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第二抗原结合域,并且C或D包括基质修饰部分;

[0424] (13)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,C包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第二抗原结合域,并且B或D包括免疫细胞衔接物,例如,T细胞衔接物,例如,抗TCRβV抗体分子;

[0425] (14)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,C包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第二抗原结合域,并且B或D包括免疫细胞衔接物,例如,NK细胞衔接物,例如,

抗NKp30、抗NKp46、抗NKG2D或抗CD16抗体分子；

[0426] (15)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,C包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第二抗原结合域,并且B或D包括细胞因子分子；

[0427] (16)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,C包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第二抗原结合域,并且B或D包括细胞因子抑制剂分子；

[0428] (17)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,C包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第二抗原结合域,并且B或D包括死亡受体信号衔接物；

[0429] (18)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,C包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第二抗原结合域,并且B或D包括基质修饰部分；

[0430] (19)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,并且B、C或D包括(a)免疫细胞衔接物,例如,NK细胞衔接物,例如,抗NKp30、抗NKp46、抗NKG2D或抗CD16抗体分子,和(b)细胞因子分子；

[0431] (20)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,并且B、C或D包括(a)免疫细胞衔接物,例如,NK细胞衔接物,例如,抗NKp30、抗NKp46、抗NKG2D或抗CD16抗体分子,和(b)细胞因子抑制剂分子；

[0432] (21)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,并且B、C或D包括(a)免疫细胞衔接物,例如,NK细胞衔接物,例如,抗NKp30、抗NKp46、抗NKG2D或抗CD16抗体分子,和(b)死亡受体信号衔接物；

[0433] (22)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,并且B、C或D包括(a)免疫细胞衔接物,例如,NK细胞衔接物,例如,抗NKp30、抗NKp46、抗NKG2D或抗CD16抗体分子,和(b)基质修饰部分；

[0434] (23)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,并且B、C或D包括(a)免疫细胞衔接物,例如,T细胞衔接物,例如,抗TCRβV抗体分子,和(b)细胞因子分子；

[0435] (24)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,并且B、C或D包括(a)免疫细胞衔接物,例如,T细胞衔接物,例如,抗TCRβV抗体分子,和(b)细胞因子抑制剂分子；

[0436] (25)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,并且B、C或D包括(a)免疫细胞衔接物,例如,T细胞衔接物,例如,抗TCRβV抗体分子,和(b)死亡受体信号衔接物；

[0437] (26)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,并且B、C或D包括(a)免疫细胞衔接物,例如,T细胞衔接物,例如,抗TCRβV抗体分子,和(b)基质修饰部分；

[0438] (27)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,并且B、C或D包括(a)细胞因子分子和(b)基质修饰部分；

[0439] (28)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,并且B、C或D包括(a)细胞因子分子和(b)死亡受体信号衔接物；

[0440] (29)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,并且B、C或D包括(a)细胞因子抑制剂分子和(b)基质修饰部分；

[0441] (30)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,并且B、C或D包括(a)细胞因子抑制剂分子和(b)死亡受体信号衔接物；

[0442] (31)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,并且B、C或D包括(a)死亡受体信号衔接物和(b)基质修饰部分；

[0443] (32)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,B包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第二抗原结合域,并且C或D包括(a)免疫细胞衔接物,例如,NK细胞衔接物,例如,抗NKp30、抗NKp46、抗NKG2D或抗CD16抗体分子,和(b)细胞因子分子;

[0444] (33)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,B包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第二抗原结合域,并且C或D包括(a)免疫细胞衔接物,例如,NK细胞衔接物,例如,抗NKp30、抗NKp46、抗NKG2D或抗CD16抗体分子,和(b)细胞因子抑制剂分子;

[0445] (34)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,B包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第二抗原结合域,并且C或D包括(a)免疫细胞衔接物,例如,NK细胞衔接物,例如,抗NKp30、抗NKp46、抗NKG2D或抗CD16抗体分子,和(b)死亡受体信号衔接物;

[0446] (35)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,B包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第二抗原结合域,并且C或D包括(a)免疫细胞衔接物,例如,NK细胞衔接物,例如,抗NKp30、抗NKp46、抗NKG2D或抗CD16抗体分子,和(b)基质修饰部分;

[0447] (36)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,B包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第二抗原结合域,并且C或D包括(a)免疫细胞衔接物,例如,T细胞衔接物,例如,抗TCRβV抗体分子,和(b)细胞因子分子;

[0448] (37)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,B包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第二抗原结合域,并且C或D包括(a)免疫细胞衔接物,例如,T细胞衔接物,例如,抗TCRβV抗体分子,和(b)细胞因子抑制剂分子;

[0449] (38)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,B包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第二抗原结合域,并且C或D包括(a)免疫细胞衔接物,例如,T细胞衔接物,例如,抗TCRβV抗体分子,和(b)死亡受体信号衔接物;

[0450] (39)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,B包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第二抗原结合域,并且C或D包括(a)免疫细胞衔接物,例如,T细胞衔接物,例如,抗TCRβV抗体分子,和(b)基质修饰部分;

[0451] (40)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,B包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第二抗原结合域,并且C或D包括(a)细胞因子分子和(b)基质修饰部分;

[0452] (41)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,B包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第二抗原结合域,并且C或D包括(a)细胞因子分子和(b)死亡受体信号衔接物;

[0453] (42)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,B包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第二抗原结合域,并且C或D包括(a)细胞因子抑制剂分子和(b)基质修饰部分;

[0454] (43)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,B包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第二抗原结合域,并且C或D包括(a)细胞因子抑制剂分子和(b)死亡受体信号衔接物;

[0455] (44)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,B包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第二抗原结合域,并且C或D包括(a)基质修饰部分和(b)死亡受体信号衔接物;

[0456] (45)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,C包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第二抗原结合域,并且B或D包括(a)免疫细胞衔接物,例如,NK细胞衔接物,例如,抗NKp30、抗NKp46、抗NKG2D或抗CD16抗体分子,和(b)细胞因子分子;

[0457] (46)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,C包括优先与TRBC1或

TRBC2结合的第二抗原结合域,并且B或D包括(a)免疫细胞衔接物,例如,NK细胞衔接物,例如,抗NKp30、抗NKp46、抗NKG2D或抗CD16抗体分子,和(b)细胞因子抑制剂分子;

[0458] (47)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,C包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第二抗原结合域,并且B或D包括(a)免疫细胞衔接物,例如,NK细胞衔接物,例如,抗NKp30、抗NKp46、抗NKG2D或抗CD16抗体分子,和(b)死亡受体信号衔接物;

[0459] (48)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,C包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第二抗原结合域,并且B或D包括(a)免疫细胞衔接物,例如,NK细胞衔接物,例如,抗NKp30、抗NKp46、抗NKG2D或抗CD16抗体分子,和(b)基质修饰部分;

[0460] (49)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,C包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第二抗原结合域,并且B或D包括(a)免疫细胞衔接物,例如,T细胞衔接物,例如,抗TCRβV抗体分子,和(b)细胞因子分子;

[0461] (50)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,C包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第二抗原结合域,并且B或D包括(a)免疫细胞衔接物,例如,T细胞衔接物,例如,抗TCRβV抗体分子,和(b)细胞因子抑制剂分子;

[0462] (51)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,C包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第二抗原结合域,并且B或D包括(a)免疫细胞衔接物,例如,T细胞衔接物,例如,抗TCRβV抗体分子,和(b)死亡受体信号衔接物;

[0463] (52)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,C包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第二抗原结合域,并且B或D包括(a)免疫细胞衔接物,例如,T细胞衔接物,例如,抗TCRβV抗体分子,和(b)基质修饰部分;

[0464] (53)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,C包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第二抗原结合域,并且B或D包括(a)细胞因子分子和(b)基质修饰部分;

[0465] (54)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,C包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第二抗原结合域,并且B或D包括(a)细胞因子分子和(b)死亡受体信号衔接物;

[0466] (55)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,C包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第二抗原结合域,并且B或D包括(a)细胞因子抑制剂分子和(b)基质修饰部分;

[0467] (56)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,C包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第二抗原结合域,并且B或D包括(a)细胞因子抑制剂分子和(b)死亡受体信号衔接物;或

[0468] (57)A包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第一抗原结合域,C包括优先与TRBC1或TRBC2结合的第二抗原结合域,并且B或D包括(a)基质修饰部分和(b)死亡受体信号衔接物。

[0469] 244.实施方案242或243的多功能分子,其中所述二聚化模块包括一个或多个免疫球蛋白链恒定区(例如,Fc区),所述免疫球蛋白链恒定区包括以下项中的一项或多项:成对的腔-突起(“杵臼结构”)、静电相互作用或链交换。

[0470] 245.实施方案244的多功能分子,其中所述一个或多个免疫球蛋白链恒定区(例如,Fc区)在例如人IgG1的Fc区的选自347、349、350、351、366、368、370、392、394、395、397、398、399、405、407或409中的一个或多个的位置处包括氨基酸置换,任选地其中所述一个或多个免疫球蛋白链恒定区(例如,Fc区)包括选自以下的氨基酸置换:T366S、L368A或Y407V(例如,对应于腔或臼),或T366W(例如,对应于突起或杵),或其组合。

[0471] 246.实施方案1-245中任一项的多功能分子,进一步包括接头,例如,在以下一项或多项之间的接头:抗原结合域与免疫细胞衔接物、抗原结合域与细胞因子分子、抗原结合域与基质修饰部分、免疫细胞衔接物与细胞因子分子、免疫细胞衔接物与基质修饰部分、细胞因子分子与基质修饰部分、抗原结合域与二聚化模块、免疫细胞衔接物与二聚化模块、细胞因子分子与二聚化模块、或基质修饰部分与二聚化模块。

[0472] 247.实施方案246的多功能分子,其中所述接头选自:可裂解接头、不可裂解接头、肽接头、柔性接头、刚性接头、螺旋接头或非螺旋接头。

[0473] 248.实施方案246或247的多功能分子,其中所述接头是肽接头。

[0474] 249.248的多功能分子,其中所述肽接头包括Gly和Ser。

[0475] 250.249的多功能分子,其中所述肽接头包括选自SEQ ID NO:7249-7252或75-78的氨基酸序列。

[0476] 251.一种多功能分子,包括:

[0477] (i)优先与TRBC1结合的第一抗原结合域,和

[0478] (ii)NK细胞衔接物,例如,抗NKp30抗体分子、抗NKp46抗体分子、抗NKG2D抗体分子或抗CD16抗体分子。

[0479] 252.实施方案251的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括抗NKp30抗体分子。

[0480] 254.实施方案251的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括抗NKp46抗体分子。

[0481] 255.实施方案251的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括抗NKG2D抗体分子。

[0482] 255A.实施方案251的多功能分子,其中所述NK细胞衔接物包括抗CD16抗体分子。

[0483] 256.一种多功能分子,包括:

[0484] (i)优先与TRBC1结合的第一抗原结合域,和

[0485] (ii)死亡受体信号衔接物。

[0486] 257.一种多功能分子,包括:

[0487] (i)优先与TRBC1结合的第一抗原结合域,和

[0488] (ii)T细胞衔接物,例如,与TCRβV链(TCRBV)结合的抗原结合域。

[0489] 259.一种多功能分子,包括:

[0490] (i)优先与TRBC1结合的第一抗原结合域,和

[0491] (ii)细胞因子抑制剂分子,例如,TGF-β抑制剂。

[0492] 262.实施方案1或3-261中任一项的多功能分子,其中所述多功能分子与TRBC1、TRBC2或肿瘤抗原单价结合。

[0493] 263.实施方案1或3-261中任一项的多功能分子,其中所述多功能分子与TRBC1、TRBC2或肿瘤抗原多价结合,例如,二价、三价、四价、五价、六价、七价、八价、九价或十价结合。

[0494] 264.实施方案2-261中任一项的多功能分子,其中所述多功能分子与TRBC1、TRBC2、或表达TRBC1或TRBC2的淋巴细胞单价结合。

[0495] 265.实施方案2-261中任一项的多功能分子,其中所述多功能分子与表达TRBC1或TRBC2的淋巴细胞多价结合,例如,二价、三价、四价、五价、六价、七价、八价、九价或十价结合。

[0496] 266.任何前述实施方案的多功能分子,其中所述多功能分子例如经由免疫细胞衔

接物与免疫细胞单价结合。

[0497] 267.实施方案1-265中任一项的多功能分子,其中所述多功能分子例如经由免疫细胞衔接物与免疫细胞多价结合,例如,二价、三价、四价、五价、六价、七价、八价、九价或十价结合。

[0498] 268.任何前述实施方案的多功能分子,进一步包括介导抗体依赖性细胞毒性(ADCC)的重链恒定区,例如,Fc区。

[0499] 268A.任何前述实施方案的多功能分子,进一步包括介导抗体依赖性细胞吞噬作用(ADCP)的重链恒定区,例如,Fc区。

[0500] 268B.实施方案268A的多功能分子,其中结合TRBC1或TRBC2的第一抗原结合域包括IgG2重链恒定区或免疫细胞衔接物、细胞因子抑制剂分子或死亡受体信号衔接物包括IgG2重链恒定区。

[0501] 269.任何前述实施方案的多功能分子,进一步包括介导补体依赖性细胞毒性(例如,经由C1q)的重链恒定区,例如,Fc区。

[0502] 269A.一种结合TRBC1的抗体分子,包括选自表2-5的一个或多个CDR、构架区、可变域、重链或轻链、或抗原结合域,或与其基本相同的序列。

[0503] 269B.实施方案269A的抗体分子,包括重链可变区(VH),所述重链可变区包括SEQ ID NO:215的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:216的VHFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:217的VHFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、或SEQ ID NO:218的VHFWR4氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)。

[0504] 269C.实施方案269A或269B中任一项的抗体分子,包括轻链可变区(VL),所述轻链可变区包括SEQ ID NO:238的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:239的VLFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:240的VLFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、或SEQ ID NO:241的VLFWR4氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)。

[0505] 269D.实施方案269A-269C中任一项的抗体分子,其中所述抗体分子包括VH,所述VH包括SEQ ID NO:253的氨基酸序列(或与其具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0506] 269E.实施方案269A-269D中任一项的抗体分子,其中所述抗体分子包括VL,所述VL包括SEQ ID NO:258的氨基酸序列(或与其具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0507] 270.一种核酸分子,其编码实施方案1-269E中任一项的多功能分子或抗体分子。

[0508] 271.一种载体,例如,表达载体,其包括实施方案270的核酸分子。

[0509] 272.一种宿主细胞,其包括实施方案270的核酸分子或实施方案271的载体。

[0510] 273.一种制备,例如,产生实施方案1-269E中任一项的多功能分子或抗体分子的

方法,包括在合适的条件下,例如,适合基因表达和/或同源二聚化或异源二聚化的条件下培养实施方案272的宿主细胞。

[0511] 274.一种药物组合物,其包括实施方案1-269中任一项的多功能分子和药学上可接受的载剂、赋形剂或稳定剂。

[0512] 275.一种治疗癌症的方法,包括向有需要的受试者施用实施方案1-269中任一项的多功能分子,其中所述多功能分子以有效治疗癌症的量施用。

[0513] 276.实施方案275的方法,进一步包括识别、评价或选择需要治疗的受试者,其中识别、评价或选择包括确定(例如,直接确定或间接确定,例如,获得关于以下的信息)受试者是否具有表达包括TRBC1或TRBC2的T细胞受体的癌细胞。

[0514] 277.实施方案276的方法,进一步包括,响应于确定受试者具有表达包括TRBC1的T细胞受体的癌细胞:

[0515] 任选地,选择所述受试者用多功能分子治疗,所述多功能分子包括与包括TRBC1的T细胞受体结合的抗原结合域,和

[0516] 施用包括与包括TRBC1的T细胞受体结合的抗原结合域的多功能分子。

[0517] 278.实施方案277的方法,进一步包括不施用包括与包括TRBC2的T细胞受体结合的抗原结合域的多功能分子。

[0518] 278A.一种治疗癌症,例如,淋巴瘤或白血病的方法,包括:

[0519] 响应于确定受试者具有表达包括TRBC1的T细胞受体的癌细胞,向有需要的受试者施用实施方案1-269中任一项的多功能分子,其中所述多功能分子以有效治疗所述癌症的量施用。

[0520] 279.实施方案276的方法,进一步包括,响应于确定受试者具有表达包括TRBC2的T细胞受体的癌细胞:

[0521] 任选地,选择所述受试者用多功能分子治疗,所述多功能分子包括与包括TRBC2的T细胞受体结合的抗原结合域,和

[0522] 施用包括与包括TRBC2的T细胞受体结合的抗原结合域的多功能分子。

[0523] 280.实施方案279的方法,进一步包括不施用包括与包括TRBC1的T细胞受体结合的抗原结合域的多功能分子。

[0524] 281.实施方案275-278中任一项的方法,其中所述受试者具有表达包括TRBC1的T细胞受体的癌细胞。

[0525] 282.实施方案275、276、279或280中任一项的方法,其中所述受试者具有表达包括TRBC2的T细胞受体的癌细胞。

[0526] 283.一种识别需要使用实施方案1-269E中任一项的多功能分子或抗体分子治疗癌症的受试者的方法,包括确定(例如,直接确定或间接确定,例如,获得关于以下的信息)受试者是否具有表达包括TRBC1或TRBC2的T细胞受体的癌细胞,其中:

[0527] 响应于确定所述受试者具有表达包括TRBC1的T细胞受体的癌细胞,将所述受试者识别为使用包括与TRBC1结合的抗原结合域的多功能分子治疗的候选者,并且任选地将所述受试者识别为不是使用包括与TRBC2结合的抗原结合域的多功能分子治疗的候选者,和

[0528] 响应于确定所述受试者具有表达包括TRBC2的T细胞受体的癌细胞,将所述受试者识别为使用包括与TRBC2结合的抗原结合域的多功能分子治疗的候选者,并且任选地将所

述受试者识别为不是使用包括与TRBC1结合的抗原结合域的多功能分子治疗的候选者。

[0529] 284.实施方案283的方法,进一步包括:

[0530] 响应于将所述受试者识别为使用包括与TRBC1结合的抗原结合域的多功能分子治疗的候选者,用(例如,向受试者施用)包括与TRBC1结合的抗原结合域的多功能分子治疗所述受试者,或

[0531] 响应于将所述受试者识别为使用包括与TRBC2结合的抗原结合域的多功能分子治疗的候选者,用(例如,向受试者施用)包括与TRBC2结合的抗原结合域的多功能分子治疗所述受试者。

[0532] 285.一种评价需要治疗癌症例如淋巴瘤的受试者的方法,包括确定(例如,直接确定或间接确定,例如,获得关于以下的信息)受试者是否具有表达包括TRBC1或TRBC2的T细胞受体的癌细胞。

[0533] 286.实施方案285的方法,进一步包括响应于所述评价,所述受试者用(例如,向受试者施用)包括与TRBC1结合的抗原结合域的多功能分子或包括与TRBC2结合的抗原结合域的多功能分子治疗。

[0534] 287.实施方案275-286中任一项的方法,其中所述癌症是血液学癌症。

[0535] 288.实施方案287的方法,其中所述血液癌症是白血病或淋巴瘤。

[0536] 289.实施方案288的方法,其中所述血液癌症选自白血病(例如,急性淋巴母细胞性白血病(ALL)、急性髓性白血病(AML)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、慢性髓细胞性白血病(CML)、毛细胞白血病、急性单核细胞白血病(AMoL)、慢性骨髓单核细胞性白血病(CMML)、幼年型骨髓单核细胞白血病(JMML)或大颗粒淋巴细胞白血病)、淋巴瘤(例如,艾滋病相关淋巴瘤、皮肤T细胞淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤(例如,经典霍奇金淋巴瘤或结节性淋巴细胞为主型霍奇金淋巴瘤)、蕈样真菌病、非霍奇金淋巴瘤(例如,B细胞非霍奇金淋巴瘤(例如,伯基特淋巴瘤、小淋巴细胞淋巴瘤(CLL/SLL)、弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、免疫母细胞性大细胞淋巴瘤、前体B淋巴母细胞性淋巴瘤或套细胞淋巴瘤)或T细胞非霍奇金淋巴瘤(蕈样真菌病、间变性大细胞淋巴瘤或前体T淋巴母细胞性淋巴瘤))、原发性中枢神经系统淋巴瘤、塞扎里综合征、沃尔登斯特伦巨球蛋白血症)、慢性骨髓增生性肿瘤、Langerhans细胞组织细胞增多症、多发性骨髓瘤/浆细胞瘤、骨髓增生异常综合征或骨髓增生异常/骨髓增生性肿瘤。

[0537] 290.实施方案288的方法,其中所述淋巴瘤选自获得性免疫缺陷综合征(AIDS)相关淋巴瘤、血管免疫母细胞性T细胞淋巴瘤、成人T细胞白血病/淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、中枢神经系统(CNS)淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、淋巴母细胞性淋巴瘤、套细胞淋巴瘤(MCL)、外周T细胞淋巴瘤(PTCL)(例如,肝脾T细胞淋巴瘤(HSGDTCL)、皮下脂膜炎样T细胞淋巴瘤或肠病相关T细胞淋巴瘤)、转变型滤泡和转变型黏膜相关淋巴组织(MALT)淋巴瘤、皮肤T细胞淋巴瘤(蕈样真菌病和塞扎里综合征)、滤泡性淋巴瘤、淋巴浆细胞淋巴瘤/沃尔登斯特伦巨球蛋白血症、边缘区B细胞淋巴瘤、胃黏膜相关淋巴组织(MALT)淋巴瘤、慢性淋巴细胞性白血病/小细胞淋巴细胞淋巴瘤(CLL/SLL)、结外T细胞/NK细胞淋巴瘤(鼻型)以及间变性大细胞淋巴瘤(例如,原发性皮肤间变性大细胞淋巴瘤或系统性间变性大细胞淋巴瘤)。

[0538] 291.实施方案275-286中任一项的方法,所述癌症是实体瘤癌症。

[0539] 292.实施方案275-291中任一项的方法,进一步包括施用第二治疗性治疗。

[0540] 293.实施方案292的方法,其中所述第二治疗性治疗包括治疗剂(例如,化疗剂、生物剂、激素疗法)、放射或手术。

[0541] 294.实施方案293的方法,其中所述治疗剂选自:化疗剂或生物剂。

[0542] 除非另有定义,否则本文所用的所有技术和科学术语具有与本发明所属领域的普通技术人员通常理解的相同含义。下面描述了合适的方法和材料,但类似于或等同于本文所述方法和材料的方法和材料均可以用于本发明的实践或测试中。本文提及的所有出版物、专利申请、专利和其他参考文献通过引用以其全文并入本文。在发生冲突的情况下,以包括定义的本说明书为准。此外,材料、方法和示例仅是说明性的,并不意图是限制性的。

[0543] 本发明的其他特征和优点将从以下详细描述和权利要求中显而易见。

附图说明

[0544] 图1A-1D是与TRBC1和NKp30结合的多特异性抗体(例如,双特异性抗体)的示例性形式和构型的示意图。图1A描绘了与抗NKp30 scFv融合的抗TRBC1抗体。抗TRBC1抗体包括两条重链和两条轻链。抗NKp30 scFv与抗TRBC1抗体的一条重链的N-末端融合。图1B描绘了包括抗TRBC1 Fab、抗NKp30 scFv和Fc二聚体的抗体分子。Fc二聚体包括两条Fc链。抗TRBC1 Fab重链的C-末端与一条Fc链的N-末端融合。抗NKp30 scFv与另一条Fc链的N-末端融合。图1C和1D描绘了与两个抗NKp30 scFv融合的抗TRBC1抗体。抗TRBC1抗体包括两条重链和两条轻链。如图1C所示,两个抗NKp30 scFv分别与抗TRBC1抗体的两条轻链的C-末端融合。如图1D所示,两个抗NKp30 scFv分别与抗TRBC1抗体的两条重链的N-末端融合。

[0545] 图2A-2F是包括与TRBC1和TRAIL分子(例如,三聚体、二聚体或单体TRAIL分子)结合的部分的抗体分子的示例性形式和构型的示意图。图2A和2D描绘了包括抗TRBC1 Fab、三聚体TRAIL分子和Fc二聚体的抗体分子。图2B和2E描绘了包括抗TRBC1 Fab、二聚体TRAIL分子和Fc二聚体的抗体分子。图2C和2F描绘了包括抗TRBC1 Fab、单体TRAIL分子和Fc二聚体的抗体分子。Fc二聚体包括两条Fc链。抗TRBC1 Fab重链的C-末端与一条Fc链的N-末端融合。三聚体、二聚体或单体TRAIL分子与另一条Fc链的N-末端融合。在一些实施方案中,图2A中描绘的抗体分子包括SEQ ID NO:6169、6167和6159的氨基酸序列。在一些实施方案中,图2B中描绘的抗体分子包括SEQ ID NO:6169、6167和6158的氨基酸序列。在一些实施方案中,图2C中描绘的抗体分子包括SEQ ID NO:6169、6167和6157的氨基酸序列。在一些实施方案中,然后图2D中描绘的抗体分子包括SEQ ID NO:6169、6167和6162的氨基酸序列。在一些实施方案中,图2E中描绘的抗体分子包括SEQ ID NO:6169、6167和6161的氨基酸序列。在一些实施方案中,图2F中描绘的抗体分子包括SEQ ID NO:6169、6167和6160的氨基酸序列。

[0546] 图3A和3B是与TRBC1和DR5结合的多特异性抗体(例如,双特异性抗体)的示例性形式和构型的示意图。图3A描绘了包括抗TRBC1 Fab、抗DR5 scFv和Fc二聚体的多特异性抗体(例如,双特异性抗体)。Fc二聚体包括两条Fc链。抗TRBC1 Fab重链的C-末端与一条Fc链的N-末端融合。抗DR5 scFv与另一条Fc链的N-末端融合。图3B描绘了与两个抗DR5 scFv融合的抗TRBC1抗体。抗TRBC1抗体包括两条重链和两条轻链。两个抗DR5 scFv分别与抗TRBC1抗体的两条轻链的C-末端融合。在一些实施方案中,图3A中描绘的多特异性抗体包括SEQ ID NO:6169、6167和6163的氨基酸序列。在一些实施方案中,图3B中描绘的多特异性抗体包括

SEQ ID NO:6170和6168的氨基酸序列。

[0547] 图4A-4B显示了H131来源的小鼠VH和VL构架1、CDR 1、构架2、CDR 2、构架3、CDR3和构架4区与其各自的人源化序列的比对。Kabat CDR以粗体显示,Chothia CDR以斜体显示,组合CDR以方框显示。回复突变的构架位置以双下划线显示。图4A显示了鼠H131(SEQ ID NO:1)和人源化H131(SEQ ID NO:9)的VH序列。图4B显示了鼠H131(SEQ ID NO:2)和人源化H131(SEQ ID NO:10和SEQ ID NO:11)的VL序列。

[0548] 图5A-5B显示了16G8来源的小鼠VH和VL构架1、CDR 1、构架2、CDR 2、构架3、CDR3和构架4区与其各自的人源化序列的比对。Kabat CDR以粗体显示,Chothia CDR以斜体显示,组合CDR以方框显示。回复突变的构架位置以双下划线显示。图5A显示了鼠16G8(SEQ ID NO:15)和人源化16G8(SEQ ID NO:23-25)的VH序列。图5B显示了鼠16G8(SEQ ID NO:16)和人源化16G8(SEQ ID NO:26-30)的VL序列。

[0549] 图6描绘了具有映射的相应抗体的TCRBV基因家族和亚家族的系统树。亚家族身份如下:亚家族A:TCRβV6;亚家族B:TCRβV10;亚家族C:TCRβV12;亚家族D:TCRβV5;亚家族E:TCRβV7;亚家族F:TCRβV11;亚家族G:TCRβV14;亚家族H:TCRβV16;亚家族I:TCRβV18;亚家族J:TCRβV9;亚家族K:TCRβV13;亚家族L:TCRβV4;亚家族M:TCRβV3;亚家族N:TCRβV2;亚家族O:TCRβV15;亚家族P:TCRβV30;亚家族Q:TCRβV19;亚家族R:TCRβV27;亚家族S:TCRβV28;亚家族T:TCRβV24;亚家族U:TCRβV20;亚家族V:TCRβV25;和亚家族W:TCRβV29亚家族。亚家族成员在本文标题为“TCR beta V(TCRβV)”的章节中详细描述。

[0550] 图7是显示JOVI.1和人源化JOVI.1与人TRBC1结合的图。

[0551] 图8是显示JOVI.1Fab(左)和人源化JOVI.1Fab与人TRBC1(右)结合的一组图。

[0552] 图9是显示NKp30抗体与NK92细胞结合的图。数据计算为AF747阳性群的百分比。

[0553] 图10是显示NKp30抗体对NK92细胞的激活的图。数据使用仓鼠抗NKp30 mAb生成。

[0554] 图11A-11E是抗TRBC1/NKp30抗体和对照分子的示意图。

[0555] 图12A-12B是显示抗体与表达Fcγ受体的THP1细胞结合的图。

[0556] 图13A-13D是显示与指定抗体温育后T细胞激活的图。图13A是显示分出的CD4+%的图。图13B是显示分出的CD8+%的图。图13C是显示CD4+的CD69-CD25+%的图。图13D是显示CD8+的CD69-CD25+%的图。

[0557] 图14A-14D是抗TRBC1/NKp30抗体的示意图。图14B和14D,“460”表示基于BIM0460的Fab;“578”表示基于BJM0578的Fab;“407”表示基于BJM0407的scFv(图18B)或Fab(图14D);“411”表示基于BJM0411的scFv(图18B)或Fab(图14D);而“N297A”表示该抗体在Fc区包括N297A突变。

[0558] 图15A-15D是显示指定抗体与NK细胞系KHYG-1(图15A)和TRBC1+Jurkat细胞(图15B)的结合的图。图15C是提供关于所测试抗体的信息的表格。图15D是提供与KHYG-1细胞或TRBC1+Jurkat细胞结合的EC50的表格。

[0559] 图16A-16C是显示在存在NK-92效应细胞的情况下杀伤TRBC1+靶细胞的图。靶细胞是TRBC1+Jurkat细胞(图16A)或H9细胞(图16B)。TRBC2+HPB-ALL细胞用作对照(图16C)。

[0560] 图17A-17C是显示在存在原代NK细胞的情况下杀伤TRBC1+靶细胞的图。靶细胞是TRBC1+Jurkat细胞(图17A)或H9细胞(图17B)。TRBC2+HPB-ALL细胞用作对照(图17C)。

[0561] 图18A-18C是显示在存在抗TRBC1/NKp30抗体的情况下与TRBC1+Jurkat细胞共培

养后的NK细胞激活的图。图18A显示了CD69+CD107a+NK细胞％。图18B显示了IFNγ的水平。图18C显示了TNFα的水平。

[0562] 图19A-19B是显示在存在或不存在TRBC1+Jurkat细胞的情况下由NK细胞产生的细胞因子水平的图。图19A显示了IFNγ的水平。图19B显示了TNFα的水平。

[0563] 图20是显示在存在TRBC1+Jurkat细胞的情况下由指定抗体诱导的NK细胞死亡％的图。

[0564] 图21A和21B分别是单臂抗TRBC1抗体和双特异性抗TRBC1/NKp30抗体的示意图。

[0565] 图22A-22D是显示在存在指定抗体的情况下NK细胞介导的TRBC1+PDX杀伤的图。

[0566] 图23是显示在存在指定抗体的情况下杀伤TRBC1+Jurkat细胞的一组图。检测的NK细胞从健康供体(上图)或PTCL患者(下图)分离。

[0567] 图24是显示在图23中所示的杀伤测定过程中NK细胞的激活的一组图。检测的NK细胞从健康供体(上图)或PTCL患者(下图)分离。

[0568] 图25A和25B是显示在存在指定抗体的情况下与Jurkat细胞共培养时NK细胞的IFNγ(图25A)或TNFα(图25B)分泌水平的一组图。检测的NK细胞从健康供体(上图)或PTCL患者(下图)分离。

[0569] 图26A-26C是在ELISA中测量与NKp30结合的图。图26A显示了B7-H6与NKp30的结合。图26B显示了BJM1042与NKp30的结合。图26C显示了在存在不同浓度的指示抗体的情况下B7-H6与NKp30的结合。

[0570] 图27A-27C是来自体内TRBC1+肿瘤研究的图。图27A显示了研究设计。图27B显示了指定处理下的肿瘤体积。图27C是显示处理后第3天肿瘤体积变化百分比的瀑布图。图27C从左至右显示以下处理组:无NK,PBS;无NK,TRBC1×NKp30;NK,PBS;NK,TRBC1;NK,NKp30;和NK+1mpk BJM1042。

[0571] 图28A-28B是来自体内TRBC2+肿瘤研究的图。图28A显示了研究设计。图28B显示了指定处理下的肿瘤体积。

[0572] 图29A-29D是抗TRBC1/NKp30抗体的示意图。

[0573] 图30A-30D是抗TRBC1/NKp30抗体的示意图。

具体实施方式

[0574] 本文公开的是多功能分子(本文也称为“多特异性分子”),其包括多个(例如,两个或更多个)功能(或结合特异性),包含(i)优先与TRBC1或TRBC2结合的抗原结合域,和(ii)以下项中的一种、两种或全部:(a)选自T细胞衔接物、NK细胞衔接物(例如,与NKp30、NKp46、NKG2D或CD16结合的分子)、B细胞衔接物、树突细胞衔接物或巨噬细胞衔接物的免疫细胞衔接物;(b)细胞因子分子;和(c)基质修饰部分。本文还公开了包括优先与TRBC1或TRBC2结合的抗原结合域的抗体分子。在一些实施方案中,与TRBC1或TRBC2结合的抗原结合域包括可见于表2-5中的序列或序列的一部分。在一些实施方案中,免疫细胞衔接物包括:包括可见于表7-10中的序列或序列的一部分的NK细胞衔接物。在一些实施方案中,抗原结合域包括可见于表2-5中的序列或序列的一部分,并且免疫细胞衔接物包括:包括可见于表7-10中的序列或序列的一部分的NK细胞衔接物。

[0575] 在实施方案中,多特异性或多功能分子是双特异性(或双功能)分子、三特异性(或

三功能)分子或四特异性(或四功能)分子。

[0576] 在一些实施方案中,多功能分子包括结合包括TRBC1的T细胞受体表面上的肿瘤抗原的抗原结合域,该多功能分子将免疫细胞(例如,经由免疫细胞衔接物)靶向至表现出包括TRBC1的T细胞受体的淋巴瘤细胞(例如,T细胞)。

[0577] 不受理论束缚,在存在例如在表面上表达包括TRBC1或TRBC2的T细胞受体的细胞(例如,癌细胞,例如,淋巴瘤细胞,例如,T细胞)的情况下,预期本文公开的多特异性或多功能分子会定位(例如,桥接)并且/或者激活免疫细胞(例如,选自T细胞、NK细胞、B细胞、树突细胞或巨噬细胞的免疫效应细胞)。预期在存在表达包括TRBC1或TRBC2的T细胞受体的细胞(例如,癌细胞,例如,淋巴瘤细胞,例如,T细胞)的情况下,使用本文所述的多特异性或多功能分子增加免疫细胞的接近度和/或活性会增强对靶细胞的免疫应答,从而提供更有效的疗法。

[0578] 不受理论束缚,认为T细胞通常不表达包括TRBC1的T细胞受体和包括TRBC2的T细胞受体。在一些实施方案中,通过利用对包括TRBC1的T细胞受体或包括TRBC2的T细胞受体具有特异性但对两种类型的T细胞受体不是同时具有特异性的多特异性或多功能分子,预期通常可以减轻增加免疫细胞对T细胞的接近度或活性的有害影响。以此方式,认为本文公开的多特异性或多功能分子的使用可以增加免疫细胞向癌细胞(例如,淋巴瘤细胞,例如,T细胞)的接近度或活性,而不必通常增加免疫细胞向T细胞的接近度或活性。

[0579] 公开了新型多功能(例如,多特异性)分子,包括(i)基质修饰部分和(ii)优先与淋巴瘤细胞(例如,T细胞)上的肿瘤抗原(例如,包括TRBC1的T细胞受体或包括TRBC2的T细胞受体)结合的抗原结合域。不受理论束缚,本文公开的多功能分子被认为尤其靶向(例如,定位于)癌症部位,并且改变肿瘤基质,例如,改变癌症部位附近的肿瘤微环境。多功能分子可以进一步包括以下项中的一种或两种:免疫细胞衔接物(例如,选自T细胞衔接物、NK细胞衔接物、B细胞衔接物、树突细胞衔接物或巨噬细胞衔接物中的一种、两种、三种或全部);和/或细胞因子分子。因此,本文尤其提供了包括上述部分的多功能例如多特异性分子、编码所述多特异性分子的核酸、产生上述分子的方法、和使用上述分子治疗癌症的方法。

[0580] 因此,本文尤其提供了包括上述部分的多特异性或多功能分子(例如,多特异性或多功能抗体分子)、编码所述多特异性分子的核酸、产生上述分子的方法、和使用上述分子治疗疾病或病症(例如,癌症)的方法。

[0581] 定义

[0582] 在一些实施方案中,多功能分子包括免疫细胞衔接物。“免疫细胞衔接物”是指结合和/或激活免疫细胞(例如,参与免疫应答的细胞)的一种或多种结合特异性。在实施方案中,免疫细胞选自T细胞、NK细胞、B细胞、树突细胞和/或巨噬细胞。免疫细胞衔接物可以是抗体分子、受体分子(例如,全长受体、受体片段或其融合体(例如,受体-Fc融合体))或配体分子(例如,全长配体、配体片段或其融合体(例如,配体-Fc融合体)),其结合至免疫细胞抗原(例如,T细胞、NK细胞抗原、B细胞抗原、树突细胞抗原和/或巨噬细胞抗原)。在实施方案中,免疫细胞衔接物特异性结合至靶免疫细胞,例如,优先结合至靶免疫细胞。例如,当免疫细胞衔接物是抗体分子时,它以小于约10nM的解离常数结合至免疫细胞抗原(例如,T细胞抗原、NK细胞抗原、B细胞抗原、树突细胞抗原和/或巨噬细胞抗原)。

[0583] 在一些实施方案中,多功能分子包括细胞因子分子。如本文所用,“细胞因子分子”

是指细胞因子的全长、片段或变体;还包括受体域,例如,细胞因子受体二聚体域的细胞因子;或细胞因子受体的激动剂,例如,针对细胞因子受体的抗体分子(例如,激动性抗体),其激发天然存在的细胞因子的至少一种活性。在一些实施方案中,细胞因子分子选自白介素2(IL-2)、白介素7(IL-7)、白介素12(IL-12)、白介素15(IL-15)、白介素-18(IL-18)、白介素-21(IL-21)或干扰素γ,或其片段或变体,或任何上述细胞因子的组合。细胞因子分子可以是单体或二聚体。在实施方案中,细胞因子分子可以进一步包括细胞因子受体二聚体域。在其他实施方案中,细胞因子分子是细胞因子受体的激动剂,例如,针对选自IL-15Ra或IL-21R的细胞因子受体的抗体分子(例如,激动性抗体)。

[0584] 如本文所用,在例如,抗体分子、细胞因子分子、受体分子中使用的术语"分子"包括全长的、天然存在的分子,以及变体,例如,功能变体(例如,其截短、片段、突变(例如,基本上相似的序列)或衍生形式),只要未修饰的(例如,天然存在的)分子的至少一种功能和/或活性得到保留。

[0585] 在一些实施方案中,多功能分子包括基质修饰部分。如本文所用,"基质修饰部分"是指能够改变,例如,降解基质组分的试剂,例如,蛋白质(例如,酶)。在实施方案中,基质的组分选自,例如,ECM组分,例如,糖胺聚糖,例如,乙酸透明质酸(也称为透明质酸或HA)、硫酸软骨素、软骨素、硫酸皮肤素、硫酸肝素、肝素、巢蛋白、生腱蛋白、聚集蛋白聚糖和硫酸角蛋白;或细胞外蛋白,例如,胶原蛋白、层粘连蛋白、弹性蛋白、纤维蛋白原、纤连蛋白和玻连蛋白。

[0586] 某些术语定义如下。

[0587] 如本文所用,冠词"一"和"一个"是指一个或超过一个(例如,至少一个)的冠词语法对象。当与术语"包括"一起使用时,术语"一"或"一个"的使用可以表示"一个",但也与"一个或多个"、"至少一个"和"一个或超过一个"的含义一致。

[0588] 如本文所用,"约"和"近似"通常是指在给定测量的性质或精度的情况下,所测量的量的可接受的误差程度。示例性误差程度在给定值范围的20%之内,通常在10%之内,更通常在5%之内。

[0589] 如本文所用,"抗体分子"是指包括至少一个免疫球蛋白可变域序列的蛋白质,例如,免疫球蛋白链或其片段。抗体分子包括抗体(例如,全长抗体)和抗体片段。在实施方案中,抗体分子包括全长抗体的抗原结合或功能片段,或全长免疫球蛋白链。例如,全长抗体是天然存在或通过正常免疫球蛋白基因片段重组过程形成的免疫球蛋白(Ig)分子(例如,IgG抗体)。在实施方案中,抗体分子是指免疫球蛋白分子的免疫活性的抗原结合部分,如抗体片段。抗体片段,例如,功能片段,是抗体的一部分,例如,Fab、Fab′、F(ab′)2、F(ab)2、可变片段(Fv)、域抗体(dAb)或单链可变片段(scFv)。功能性抗体片段与完整(例如,全长)抗体识别的相同抗原结合。术语"抗体片段"或"功能片段"还包括由可变区组成的分离的片段(如由重链和轻链的可变区组成的"Fv"片段),或重组单链多肽分子,其中轻链和重链可变区通过肽接头连接("scFv蛋白")。在一些实施方案中,抗体片段不包括无抗原结合活性的抗体部分,如Fc片段或单个氨基酸残基。示例性抗体分子包括全长抗体和抗体片段,例如,dAb(域抗体)、单链、Fab、Fab'和F(ab')2片段,以及单链可变片段(scFv)。

[0590] 如本文所用,"免疫球蛋白可变域序列"是指可以形成免疫球蛋白可变域的结构的氨基酸序列。例如,该序列可以包括天然存在的可变域的全部或部分氨基酸序列。例如,该

序列可以包括或可以不包括一个、两个或更多个N-或C-末端氨基酸,或可以包括与蛋白质结构的形成相容的其他改变。

[0591] 在实施方案中,抗体分子是单特异性的,例如,其包含对单个表位的结合特异性。在一些实施方案中,抗体分子是多特异性的,例如,其包含多个免疫球蛋白可变域序列,其中第一免疫球蛋白可变域序列对第一表位具有结合特异性,而第二免疫球蛋白可变域序列对第二表位具有结合特异性。在一些实施方案中,抗体分子是双特异性抗体分子。如本文所用,"双特异性抗体分子"是指对超过一个(例如,两个、三个、四个或更多个)表位和/或抗原具有特异性的抗体分子。

[0592] 如本文所用,"抗原"(Ag)是指可以引起免疫应答(例如涉及某些免疫细胞的激活和/或抗体生成)的分子。包括几乎所有蛋白质或肽在内的任何大分子均可以是抗原。抗原也可以源自基因组重组体或DNA。例如,包含编码能够引发免疫应答的蛋白质的核苷酸序列或部分核苷酸序列的任何DNA都编码"抗原"。在实施方案中,抗原不必仅由基因的全长核苷酸序列编码,抗原也不必由基因编码。在实施方案中,抗原可以被合成或者可以衍生自生物样品,例如组织样品,肿瘤样品、细胞或具有其他生物学组分的流体。如本文所用,"肿瘤抗原"或可互换地,"癌抗原"包括存在于癌(例如可以引发免疫应答的癌细胞或肿瘤微环境)上或与之相关的任何分子。如本文所用,"免疫细胞抗原"包括存在于可引起免疫应答的免疫细胞上或与之相关的任何分子。

[0593] 抗体分子的"抗原结合位点"或"结合部分"是指参与抗原结合的抗体分子例如免疫球蛋白(Ig)分子的一部分。在实施方案中,抗原结合位点由重(H)链和轻(L)链的可变(V)区的氨基酸残基形成。在重链和轻链的可变区内的三个高度分歧的序列段称为高变区,位于更保守的侧翼序列段(称为"构架区"(FR))之间。FR是天然存在于免疫球蛋白中的高变区之间并与其相邻的氨基酸序列。在实施方案中,在抗体分子中,轻链的三个高变区和重链的三个高变区在三维空间中相对于彼此布置以形成抗原结合表面,其与结合抗原的三维表面互补。每一个重链和轻链中的三个高变区称为"互补决定区"或"CDR"。构架区和CDR已经在例如Kabat,E.A.,等人,(1991)Sequences of Proteins of Immunological Interest,第五版,U.S.Department ofHealth and Human Services,NIH Publication No.91-3242和Chothia,C.等人,(1987)J.Mol.Biol.196:901-917中定义和描述。每条可变链(例如,可变重链和可变轻链)通常由三个CDR和四个FR组成,它们按以下氨基酸顺序从氨基末端到羧基末端排列:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3和FR4。

[0594] 如本文所用,"癌症"可以涵盖所有类型的致癌过程和/或癌性生长。在实施方案中,癌症包括原发性肿瘤以及转移组织或恶性转化的细胞、组织或器官。在实施方案中,癌症涵盖所有组织病理学和阶段,例如癌症的浸润性/严重性的阶段。在实施方案中,癌症包括复发性和/或耐药性癌症。术语"癌症"和"肿瘤"可以互换使用。例如,两个术语都包括实体瘤和液体瘤。如本文所用,术语"癌症"或"肿瘤"包括恶变前以及恶性癌症和肿瘤。

[0595] 如本文所用,"免疫细胞"是指在免疫系统中起作用以例如保护免受感染源和异物侵害的各种细胞中的任何一种。在实施方案中,该术语包括白细胞,例如嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞、淋巴细胞和单核细胞。固有的白细胞包括吞噬细胞(例如巨噬细胞、嗜中性粒细胞和树突细胞)、肥大细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞和天然杀伤细胞。固有白细胞通过经由接触来攻击更大的病原体或通过吞噬并杀死微生物来识别和消灭

病原体,并且是激活适应性免疫应答的介质。适应性免疫系统的细胞是特殊类型的白细胞,称为淋巴细胞。B细胞和T细胞是重要的淋巴细胞类型,它们来源于骨髓中的造血干细胞。B细胞参与体液免疫应答,而T细胞参与细胞介导的免疫应答。术语“免疫细胞”包括免疫效应细胞。

[0596] 如本文所用,术语“免疫效应细胞”是指参与免疫应答,例如,促进免疫效应子应答的细胞。免疫效应细胞的实例包括但不限于T细胞(例如α/βT细胞和γ/δT细胞)、B细胞、天然杀伤(NK)细胞、天然杀伤T(NK T)细胞和肥大细胞。

[0597] 术语“效应子功能”或“效应子应答”是指细胞的专有功能。T细胞的效应子功能例如可以是溶细胞活性或辅助活性,包括细胞因子的分泌。

[0598] 本发明的组合物和方法包括具有指定序列或与其基本相同或相似的序列(例如与指定序列至少80%、85%、90%、95%相同或更加相同的序列)的多肽和核酸。在氨基酸序列的上下文中,本文使用的术语“基本上相同”是指包含足够或最少数目的氨基酸残基的第一氨基酸,所述氨基酸残基与第二氨基酸序列中的比对氨基酸残基i)相同,或ii)具有保守置换,使得第一氨基酸序列和第二氨基酸序列可以具有共同的结构域和/或共同的功能活性。例如,氨基酸序列含有与参考序列(例如本文提供的序列)具有至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的同一性的共同结构域。

[0599] 在核苷酸序列的上下文中,本文使用的术语“基本上相同”是指第一核酸序列包含与第二核酸序列中的比对核苷酸相同的足够或最小数目的核苷酸,使得第一核苷酸序列和第二核苷酸序列编码具有共同功能活性的多肽,或编码共同的结构多肽结构域或共同的功能多肽活性的多肽。例如,与参考序列(例如本文提供的序列)具有至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的核苷酸序列。

[0600] 术语“变体”是指具有与参考氨基酸序列基本相同的氨基酸序列,或由基本相同的核苷酸序列编码的多肽。在一些实施方案中,变体是功能变体。

[0601] 术语“功能变体”是指具有与参考氨基酸序列基本相同的氨基酸序列,或由基本相同的核苷酸序列编码,并且能够具有参考氨基酸序列的一个或多个活性的多肽。

[0602] 如下进行序列之间的同源性或序列同一性(这些术语在本文中可互换使用)的计算。

[0603] 为了确定两个氨基酸序列或两个核酸序列的同一性百分比,出于最佳比较目的而对序列进行比对(例如,可以在第一和第二氨基酸或核酸序列中的一个或两个中引入空位,以供最佳比对,并且出于比较的目的可以忽略非同源序列)。在一个优选的实施方案中,出于比较的目的而比对的参考序列的长度为参考序列长度的至少30%,优选至少40%,更优选至少50%、60%,并且甚至更优选至少70%、80%、90%、100%。然后比较相应氨基酸位置或核苷酸位置的氨基酸残基或核苷酸。当第一序列中的位置被与第二序列中相应位置的相同氨基酸残基或核苷酸占据时,则分子在该位置是相同的(如本文所用,氨基酸或核酸的“同一性”等同于氨基酸酸或核酸“同源性”)。

[0604] 在考虑到需要将其引入以供两个序列进行最佳比对的空位的数目和每个空位的长度的情况下,两个序列之间的同一性百分比是由该序列共享的相同位置的数目的函数。

[0605] 可以使用数学算法来完成序列的比较和两个序列之间的同一性百分比的确定。在一个优选的实施方案中,使用Needleman和Wunsch((1970)J.Mol.Biol.48:444-453)算法

(已结合到GCG软件包中的GAP程序中(可从http://www.gcg.com获取)),使用Blossum 62矩阵或PAM250矩阵以及空位权重为16、14、12、10、8、6或4以及长度权重为1、2、3、4、5或6,来确定两个氨基酸序列之间的同一性百分比。在又一个优选的实施方案中,使用GCG软件包(可从http://www.gcg.com获得)中的GAP程序,使用NWSgapdna.CMP矩阵,空位权重为40、50、60、70或80以及长度权重为1、2、3、4、5或6,来确定两个核苷酸序列之间的同一性百分比。一组特别优选的参数(除非另有说明,否则应使用的一组参数)是Blossum 62评分矩阵,其空位罚分为12,空位延伸罚分为4,移码空位罚分为5。

[0606] 可以使用E.Meyers和W.Miller((1989)CABIOS,4:11-17)的算法(已结合至ALIGN程序(2.0版)中),使用PAM120权重残基表,空位长度罚分为12和空位罚分为4,来确定两个氨基酸或核苷酸序列之间的同一性百分比。

[0607] 本文所述的核酸和蛋白质序列可以用作“查询序列”以对公共数据库进行搜索,从而例如鉴定其他家族成员或相关序列。可以使用Altschul等人,(1990)J.Mol.Biol.215:403-10的NBLAST和XBLAST程序(2.0版)进行搜索。可以用NBLAST程序(评分=100,字长=12)进行BLAST核苷酸搜索,以获得与本发明的核酸分子同源的核苷酸序列。可以使用XBLAST程序(评分=50,字长=3)进行BLAST蛋白质搜索,以获得与本发明的蛋白质分子同源的氨基酸序列。为了获得用于比较目的的空位比对,可以利用Altschul等人,(1997)Nucleic Acids Res.25:3389-3402中描述的空位BLAST。使用BLAST和空位BLAST程序时,可以使用各个程序(例如XBLAST和NBLAST)的默认参数。参见http://www.ncbi.nlm.nih.gov。

[0608] 应当理解,本发明的分子可以具有另外的保守或非必需氨基酸置换,该置换对它们的功能没有实质性影响。

[0609] 术语“氨基酸”旨在涵盖所有分子,无论是天然的还是合成的,其既包括氨基官能团又包括酸官能团并且能够被包括在天然存在的氨基酸的聚合物中。示例性的氨基酸包括天然存在的氨基酸;类似物、衍生物和同类物;具有变异侧链的氨基酸类似物;以及前述的任一种的所有立体异构体。如本文所用,术语“氨基酸”包括D-或L-旋光异构体和拟肽。

[0610] “保守氨基酸置换”是其中氨基酸残基被具有相似侧链的氨基酸残基置换的一种置换。具有相似侧链的氨基酸残基家族已在本领域中定义。这些家族包括具有碱性侧链的氨基酸(例如赖氨酸、精氨酸、组氨酸)、具有酸性侧链的氨基酸(例如天冬氨酸、谷氨酸)、具有不带电荷的极性侧链的氨基酸(例如甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、半胱氨酸)、具有非极性侧链的氨基酸(例如丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、蛋氨酸、色氨酸)、具有β支链侧链的氨基酸(例如苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸)和具有芳香族侧链的氨基酸(例如酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸)。

[0611] 本文可互换使用的术语“多肽”、“肽”和“蛋白质”(如果是单链的话)是指任何长度的氨基酸的聚合物。该聚合物可以是直链或支链的,它可以包含修饰的氨基酸,并且可以被非氨基酸中断。该术语还涵盖已被修饰的氨基酸聚合物,所述修饰是例如,二硫键形成、糖基化、脂化、乙酰化、磷酸化或任何其他操作,例如与标记组分的缀合。多肽可以从天然来源中分离,可以通过重组技术从真核或原核宿主中产生,或者可以是合成方法的产物。

[0612] 术语“核酸”、“核酸序列”、“核苷酸序列”或“多核苷酸序列”和“多核苷酸”可互换使用。它们是指任何长度的核苷酸的聚合形式,即脱氧核糖核苷酸或核糖核苷酸或其类似物。多核苷酸可以是单链或双链的,并且如果是单链的,则可以是编码链或非编码(反义)

链。多核苷酸可以包含修饰的核苷酸,例如甲基化的核苷酸和核苷酸类似物。核苷酸的序列可以被非核苷酸组分中断。多核苷酸可在聚合后进一步被修饰,例如与标记组分缀合。核酸可以是重组多核苷酸,或者是基因组、cDNA、半合成或合成来源的多核苷酸,其不是天然存在的,或是以非天然的方式与另一多核苷酸连接。

[0613] 如本文所用,术语“分离的”是指从其来源或天然环境(例如,自然环境,如果其天然存在的话)中取出的材料。例如,存在于活体动物中的天然存在的多核苷酸或多肽是没有分离的,而是通过人为干预从天然系统中的某些或全部共存物质中分离的相同多核苷酸或多肽则是分离的。这样的多核苷酸可以是载体的一部分,并且/或者这样的多核苷酸或多肽可以是组合物的一部分,并且仍然是分离的,因为这样的载体或组合物不是其在自然界中发现的环境的一部分。

[0614] 下面进一步详细描述本发明的各个方面。整个说明书中阐述了其他定义。

[0615] 抗体分子

[0616] 在一个实施方案中,抗体分子与癌抗原,例如,肿瘤抗原或基质抗原结合。在一些实施方案中,癌抗原是,例如,哺乳动物(例如,人)癌抗原。在其他实施方案中,抗体分子与免疫细胞抗原,例如,哺乳动物(例如,人)免疫细胞抗原结合。例如,抗体分子特异性结合癌抗原或免疫细胞抗原上的表位,例如,线性或构象表位。

[0617] 在实施方案中,抗体分子是单特异性抗体分子并且结合单一表位。例如,具有多个免疫球蛋白可变域序列的单特异性抗体分子,其各自结合相同的表位。

[0618] 在实施方案中,抗体分子是多特异性或多功能抗体分子,例如,它包括多个免疫球蛋白可变域序列,其中该多个免疫球蛋白可变域序列的第一免疫球蛋白可变域序列对第一表位具有结合特异性,并且该多个免疫球蛋白可变域序列的第二免疫球蛋白可变域序列对第二表位具有结合特异性。在实施方案中,第一和第二表位在相同的抗原上,例如,相同的蛋白质(或多聚体蛋白质的亚基)。在实施方案中,第一和第二表位重叠。在实施方案中,第一和第二表位不重叠。在实施方案中,第一和第二表位在不同的抗原上,例如,不同的蛋白质(或多聚体蛋白质的不同亚基)。在实施方案中,多特异性抗体分子包括第三、第四或第五免疫球蛋白可变域。在实施方案中,多特异性抗体分子是双特异性抗体分子、三特异性抗体分子或四特异性抗体分子。

[0619] 在实施方案中,多特异性抗体分子是双特异性抗体分子。双特异性抗体对不超过两种抗原具有特异性。双特异性抗体分子的特征在于对第一表位具有结合特异性的第一免疫球蛋白可变域序列和对第二表位具有结合特异性的第二免疫球蛋白可变域序列。在实施方案中,第一和第二表位在相同的抗原上,例如,相同的蛋白质(或多聚体蛋白质的亚基)。在实施方案中,第一和第二表位重叠。在实施方案中,第一和第二表位不重叠。在实施方案中,第一和第二表位在不同的抗原上,例如,不同的蛋白质(或多聚体蛋白质的不同亚基)。在实施方案中,双特异性抗体分子包括对第一表位具有结合特异性的重链可变域序列和轻链可变域序列以及对第二表位具有结合特异性的重链可变域序列和轻链可变域序列。在实施方案中,双特异性抗体分子包括对第一表位具有结合特异性的半抗体和对第二表位具有结合特异性的半抗体。在实施方案中,双特异性抗体分子包括对第一表位具有结合特异性的半抗体或其片段以及对第二表位具有结合特异性的半抗体或其片段。在实施方案中,双特异性抗体分子包括对第一表位具有结合特异性的scFv或Fab或其片段,以及对第二表位

具有结合特异性的scFv或Fab或其片段。

[0620] 在实施方案中,抗体分子包括双抗体和单链分子,以及抗体的抗原结合片段(例如,Fab、F(ab')$_2$和Fv)。例如,抗体分子可包括重(H)链可变域序列(本文缩写为VH)和轻(L)链可变域序列(本文缩写为VL)。在实施方案中,抗体分子包括重链和轻链(在本文中称为半抗体)或由其组成。在另一实例中,抗体分子包括两个重(H)链可变域序列和两个轻(L)链可变域序列,从而形成两个抗原结合位点,例如Fab、Fab'、F(ab')$_2$、Fc、Fd、Fd'、Fv、单链抗体(例如,scFv)、单可变域抗体、双抗体(Dab)(二价和双特异性)、以及嵌合(例如,人源化)抗体,它们可以通过修饰完整抗体或使用重组DNA技术从头合成的抗体产生。这些功能性抗体片段保留了与它们各自的抗原或受体选择性结合的能力。抗体和抗体片段可以来自任何类别的抗体,包括但不限于,IgG、IgA、IgM、IgD和IgE,以及来自抗体的任何亚类(例如,IgG1、IgG2、IgG3和IgG4)。抗体分子的制备可以是单克隆的或多克隆的。抗体分子还可以是人抗体、人源化抗体、CDR移植的抗体、或体外产生的抗体。抗体可以具有选自,例如,IgG1、IgG2、IgG3或IgG4的重链恒定区。抗体还可以具有选自,例如,κ或λ的轻链。术语"免疫球蛋白"(Ig)在本文中与术语"抗体"可互换使用。

[0621] 抗体分子的抗原结合片段的实例包括:(i)Fab片段,由VL、VH、CL和CH1域组成的单价片段;(ii)F(ab')2片段,包括通过在铰链区的二硫键连接的两个Fab片段的二价片段;(iii)由VH和CH1域组成的Fd片段;(iv)由抗体单臂的VL和VH域组成的Fv片段,(v)由VH域组成的双抗体(dAb)片段;(vi)骆驼科或骆驼科源化(camelized)可变域;(vii)单链Fv(scFv),参见例如,Bird等人(1988)Science 242:423-426;和Huston等人(1988)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 85:5879-5883);(viii)单域抗体。这些抗体片段使用本领域技术人员已知的常规技术获得,并且以与完整抗体相同的方式筛选片段的效用。

[0622] 抗体分子包括完整分子及其功能片段。抗体分子的恒定区可经改变,例如,突变,以修饰抗体的特性(例如,增加或减少以下项中的一种或多种:Fc受体结合、抗体糖基化、半胱氨酸残基的数目、效应细胞功能或补体功能)。

[0623] 抗体分子还可以是单域抗体。单域抗体可以包括其互补决定区是单域多肽的一部分的抗体。实例包括但不限于,重链抗体、天然缺乏轻链的抗体、源自常规4链抗体的单域抗体、工程化抗体、和除源自抗体的那些之外的单域支架。单域抗体可以是任何本领域的抗体,或任何未来的单域抗体。单域抗体可以源自任何物种,包括但不限于小鼠、人、骆驼、美洲驼、鱼、鲨鱼、羊、兔和牛。根据本发明的另一方面,单域抗体是天然存在的单域抗体,称为缺乏轻链的重链抗体。例如,此类单域抗体公开于WO 9404678中。为清楚起见,该源自天然缺乏轻链的重链抗体的可变域在本文中称为VHH或纳米抗体,以区别于四链免疫球蛋白的常规VH。这种VHH分子可以源自在骆驼科物种中(例如,在骆驼、美洲驼、单峰驼、羊驼和原驼中)产生的抗体。除骆驼科外的其他物种可以产生天然缺乏轻链的重链抗体;此类VHH在本发明的范围内。

[0624] VH和VL区可以细分为高变区,称为"互补决定区"(CDR),其间散布更保守的区域,称为"构架区"(FR或FW)。

[0625] 构架区和CDR的范围已通过多种方法精确定义(参见,Kabat,E.A.,等人(1991)Sequences of Proteins of Immunological Interest,第五版,U.S.Department of Health and Human Services,NIH PublicationNo.91-3242;Chothia,C.等人(1987)

J.Mol.Biol.196:901-917;以及Oxford Molecular的AbM抗体建模软件使用的AbM定义。通常参见,例如,Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains.In:Antibody Engineering Lab Manual(编辑:Duebel,S.和Kontermann,R.,Springer-Verlag,Heidelberg)。

[0626] 如本文所用,术语“互补决定区”和“CDR”是指抗体可变区内的氨基酸序列,其赋予抗原特异性和结合亲和力。通常,每个重链可变区中有3个CDR(HCDR1、HCDR2、HCDR3),并且每个轻链可变区中有3个CDR(LCDR1、LCDR2、LCDR3)。

[0627] 给定CDR的精确氨基酸序列边界可以使用许多已知方案中的任何一种来确定,包括Kabat等人(1991),“Sequences of Proteins of Immunological Interest,”第5版Public Health Service,National Institutes of Health,Bethesda,MD(“Kabat”编号方案),Al-Lazikani等人,(1997)JMB 273,927-948(“Chothia”编号方案)。如本文所用,根据“Chothia”编号方案定义的CDR有时也称为“高变环”。

[0628] 例如,根据Kabat,重链可变域(VH)中的CDR氨基酸残基编号为31-35(HCDR1)、50-65(HCDR2)和95-102(HCDR3);而轻链可变域(VL)中的CDR氨基酸残基编号为24-34(LCDR1)、50-56(LCDR2)和89-97(LCDR3)。根据Chothia,VH中的CDR氨基酸编号为26-32(HCDR1)、52-56(HCDR2)和95-102(HCDR3);而VL中的氨基酸残基编号为26-32(LCDR1)、50-52(LCDR2)和91-96(LCDR3)。

[0629] 每个VH和VL通常包括三个CDR和四个FR,从氨基末端到羧基末端按以下顺序排列:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。

[0630] 抗体分子可以是多克隆或单克隆抗体。

[0631] 如本文所用,术语“单克隆抗体”或“单克隆抗体组合物”是指单分子组合物的抗体分子的制备物。单克隆抗体组合物对特定表位展示出单一结合特异性和亲和力。单克隆抗体可以通过杂交瘤技术或通过不使用杂交瘤技术的方法(例如重组方法)来制备。

[0632] 抗体可以重组产生,例如,通过噬菌体展示或通过组合方法产生。

[0633] 用于产生抗体的噬菌体展示和组合方法是本领域已知的(如描述于,例如,Ladner等人,美国专利号5,223,409;Kang等人,国际公开号WO 92/18619;Dower等人,国际公开号WO 91/17271;Winter等人,国际公开WO 92/20791;Markland等人,国际公开号WO92/15679;Breitling等人,国际公开WO 93/01288;McCafferty等人,国际公开号WO 92/01047;Garrard等人,国际公开号WO 92/09690;Ladner等人,国际公开号WO 90/02809;Fuchs等人,(1991)Bio/Technology 9:1370-1372;Hay等人,(1992)Hum Antibod Hybridomas3:81-85;Huse等人,(1989)Science 246:1275-1281;Griffths等人,(1993)EMBO J 12:725-734;Hawkins等人,(1992)J Mol Biol 226:889-896;Clackson等人,(1991)Nature 352:624-628;Gram等人,(1992)PNAS 89:3576-3580;Garrad等人,(1991)Bio/Technology 9:1373-1377;Hoogenboom等人,(1991)Nuc Acid Res 19:4133-4137;和Barbas等人,(1991)PNAS 88:7978-7982,所有这些的内容通过引用并入本文)。

[0634] 在一个实施方案中,抗体是完全人抗体(例如,在小鼠中制备的抗体,该抗体已经基因工程化以从人免疫球蛋白序列产生抗体),或非人抗体,例如,啮齿动物(小鼠或大鼠)、羊、灵长类动物(例如,猴)、骆驼抗体。优选地,非人抗体是啮齿动物(小鼠或大鼠抗体)。产生啮齿动物抗体的方法是本领域已知的。

[0635] 可以使用携带人免疫球蛋白基因的转基因小鼠而不是小鼠系统来产生人单克隆抗体。来自用目的抗原免疫接种的这些转基因小鼠的脾细胞用于产生杂交瘤,该杂交瘤分泌对来自人蛋白质的表位具有特异性亲和力的人mAb(参见,例如,Wood等人,国际申请WO 91/00906,Kucherlapati等人,PCT公开WO 91/10741;Lonberg等人,国际申请WO 92/03918;Kay等人,国际申请92/03917;Lonberg,N.等人,1994Nature 368:856-859;Green,L.L.等人,1994Nature Genet.7:13-21;Morrison,S.L.等人,1994Proc.Natl.Acad.Sci.USA 81:6851-6855;Bruggeman等人,1993Year Immunol 7:33-40;Tuaillon等人,1993PNAS 90:3720-3724;Bruggeman等人,1991Eur J Immunol 21:1323-1326)。

[0636] 抗体分子可以是其中可变区或其一部分(例如,CDR)是在非人生物体(例如,大鼠或小鼠)中产生的一种抗体分子。嵌合、CDR移植和人源化抗体在本发明范围内。在非人生物体(例如,大鼠或小鼠)中产生,然后在例如可变构架或恒定区中被修饰以降低在人体内的抗原性的抗体分子也在本发明范围内。

[0637] “有效人”蛋白质是基本上不引起中和抗体应答的蛋白质,例如,人抗鼠抗体(HAMA)应答。例如,如果抗体分子被重复施用,例如,在治疗慢性或复发性疾病时,HAMA在许多情况下可能有问题。HAMA应答可潜在使重复抗体施用无效,因为抗体从血清中的清除率增加(参见,例如,Saleh等人,Cancer Immunol.Immunother.,32:180-190(1990)),并且还因为潜在变态反应(参见,例如,LoBuglio等人,Hybridoma,5:5117-5123(1986))。

[0638] 嵌合抗体可以通过本领域已知的重组DNA技术产生(参见Robinson等人,国际专利公开PCT/US86/02269;Akira,等人,欧洲专利申请184,187;Taniguchi,M.,欧洲专利申请171,496;Morrison等人,欧洲专利申请173,494;Neuberger等人,国际申请WO 86/01533;Cabilly等人美国专利号4,816,567;Cabilly等人,欧洲专利申请125,023;Better等人(1988Science 240:1041-1043);Liu等人(1987)PNAS 84:3439-3443;Liu等人,1987,J.Immunol.139:3521-3526;Sun等人(1987)PNAS 84:214-218;Nishimura等人,1987,Canc.Res.47:999-1005;Wood等人(1985)Nature 314:446-449;和Shaw等人,1988,J.Natl Cancer Inst.80:1553-1559)。

[0639] 人源化或CDR移植的抗体将具有至少一个或两个但通常所有三个(免疫球蛋白重链和/或轻链的)接受体(recipient)CDR被供体CDR替换。抗体可以用非人CDR的至少一部分替换或仅部分CDR可以用非人CDR替换。仅需替换与抗原结合所需的CDR数目即可。优选地,供体将是啮齿动物抗体,例如大鼠或小鼠抗体,而接受体将是人构架或人共有构架。通常,提供CDR的免疫球蛋白称为“供体”,而提供构架的免疫球蛋白称为“受体(acceptor)”。在一个实施方案中,供体免疫球蛋白是非人的(例如,啮齿动物)。受体构架是天然存在的(例如,人)构架或共有构架,或与其具有约85%或更高,优选90%、95%、99%或更高同一性的序列。

[0640] 如本文所用,术语“共有序列”是指由相关序列家族中最常出现的氨基酸(或核苷酸)形成的序列(参见例如,Winnaker,From Genes to Clones(Verlagsgesellschaft,Weinheim,Germany 1987))。在蛋白质家族中,共有序列中的每个位置均被家族中该位置最常出现的氨基酸占据。如果两个氨基酸均等地出现,则二者均可被包括在共有序列中。“共有构架”是指在共有免疫球蛋白序列中的构架区。

[0641] 抗体分子可以通过本领域已知的方法人源化(参见例如,Morrison,S.L.,1985,

Science 229:1202-1207、Oi等人,1986,BioTechniques 4:214,和Queen等人US 5,585,089、US 5,693,761和US 5,693,762,所有这些的内容通过引用并入本文)。

[0642] 人源化或CDR移植的抗体分子可以通过CDR移植或CDR置换产生,其中免疫球蛋白链的一个、两个或所有CDR可以被替换。参见例如,美国专利5,225,539;Jones等人,1986Nature 321:552-525;Verhoeyan等人,1988Science 239:1534;Beidler等人,1988J.Immunol.141:4053-4060;Winter US 5,225,539,所有这些的内容通过引用明确并入本文。Winter描述了可用于制备本发明人源化抗体的CDR移植方法(英国专利申请GB 2188638A,1987年3月26日提交;Winter US 5,225,539),其内容通过引用明确并入。

[0643] 其中特定氨基酸已经被置换、缺失或添加的人源化抗体分子也在本发明的范围内。从供体选择氨基酸的标准描述于US 5,585,089,例如,US 5,585,089的第12-16栏,例如,US 5,585,089的第12-16栏,其内容通过引用并入本文。1992年12月23日公开的Padlan等人,EP 519596A1描述了用于人源化抗体的其他技术。

[0644] 抗体分子可以是单链抗体。单链抗体(scFV)可经工程化(参见,例如,Colcher,D.等人,(1999)Ann N Y Acad Sci 880:263-80;和Reiter,Y.(1996)Clin Cancer Res 2:245-52)。单链抗体可经二聚化或多聚化以产生对相同靶蛋白的不同表位具有特异性的多价抗体。

[0645] 在其他实施方案中,抗体分子具有选自以下的重链恒定区,例如,IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA1、IgA2、IgD和IgE的重链恒定区;特别地,选自,例如,IgG1、IgG2、IgG3和IgG4的(例如,人)重链恒定区。在另一个实施方案中,抗体分子具有选自以下的轻链恒定区,例如,κ或λ的(例如,人)轻链恒定区。恒定区可经改变,例如,突变,以修饰抗体的特性(例如,增加或减少以下项中的一种或多种:Fc受体结合、抗体糖基化、半胱氨酸残基的数目、效应细胞功能和/或补体功能)。在一个实施方案中,抗体具有:效应子功能;并且可以固定补体。在其他实施方案中,抗体不会;招募效应细胞;或固定补体。在另一个实施方案中,抗体结合Fc受体的能力降低或没有结合Fc受体的能力。例如,它是不支持与Fc受体结合的同种型或亚型、片段或其他突变体,例如,它具有被诱变或删除的Fc受体结合区。

[0646] 改变抗体恒定区的方法是本领域已知的。功能改变(例如对效应子配体(例如细胞上的FcR或补体的C1成分)的亲和力改变)的抗体,可以通过用不同的残基替换抗体恒定部分中的至少一个氨基酸残基来产生(参见例如EP 388,151A1,美国专利号5,624,821和美国专利号5,648,260,其全部内容通过引用并入本文)。可以描述相似类型的改变,如果其应用于鼠或其他物种,免疫球蛋白将减少或消除这些功能。

[0647] 抗体分子可以被衍生或连接至另一功能分子(例如,另一种肽或蛋白质)。如本文所用,“衍生的”抗体分子是已被修饰的一种抗体分子。衍生方法包括但不限于添加荧光部分、放射性核苷酸、毒素、酶或亲和配体例如生物素。因此,本发明的抗体分子旨在包括本文所述抗体的衍生形式和其他修饰形式,包括免疫粘附分子。例如,抗体分子可以被功能性地连接(通过化学偶联、遗传融合、非共价缔合或其他方式)至一个或多个其他分子实体,例如另一种抗体(例如,双特异性抗体或双抗体)、可检测试剂、细胞毒剂、药物试剂,和/或可介导抗体或抗体部分与另一种分子结合的蛋白质或肽(例如链霉亲和素核心区或多组氨酸标签)。

[0648] 一种类型的衍生抗体分子是通过交联两种或更多种抗体(相同或不同类型,例如

以产生双特异性抗体)而产生的。合适的交联剂包括异双功能的交联剂,具有两个被适当的间隔基隔开的不同的反应性基团(例如,间马来酰亚胺基苯甲酰基-N-羟基琥珀酰亚胺酯),或同双功能的交联剂(例如,辛二酸二琥珀酰亚胺酯)。此类接头可从Pierce Chemical Company,Rockford,Ill获得。

[0649] 多特异性或多功能抗体分子

[0650] 全文描述了本文定义的多特异性和多功能分子的示例性结构。在以下文献中进一步描述了示例性结构:Weidle U等人,(2013)The Intriguing Options of Multispecific Antibody Formats for Treatment of Cancer,Cancer Genomics&Proteomics 10:1-18(2013);以及Spiess C等人(2015)Alternative molecular formats and therapeutic applications for bispecific antibodies,Molecular Immunology 67:95-106;其全部内容通过引用并入本文。

[0651] 在实施方案中,多特异性抗体分子可包含超过一个的抗原结合位点,其中不同的位点对不同的抗原具有特异性。在实施方案中,多特异性抗体分子可以结合同一抗原上的超过一个(例如,两个或更多个)的表位。在实施方案中,多特异性抗体分子包含对靶细胞(例如癌细胞)具有特异性的抗原结合位点和对免疫效应细胞具有特异性的不同抗原结合位点。在一个实施方案中,多特异性抗体分子是双特异性抗体分子。双特异性抗体分子可分为五个不同的结构组:(i)双特异性免疫球蛋白G(BsIgG);(ii)附加有额外的抗原结合部分的IgG;(iii)双特异性抗体片段;(iv)双特异性融合蛋白;以及(v)双特异性抗体缀合物。

[0652] BsIgG是对每种抗原为单价的形式。示例性的BsIgG形式包括但不限于crossMab、DAF(二合一)、DAF(四合一)、DutaMab、DT-IgG、杵臼结构的常见LC、杵臼结构组装体、电荷对、Fab臂交换、SEEDbody、triomab、LUZ-Y、Fcab、κλ抗体、正交Fab。参见Spiess等人,Mol.Immunol.67(2015):95-106。示例性的BsIgG包括卡妥索单抗(catumaxomab)(Fresenius Biotech,Trion Pharma,Neopharm),其包含抗CD3臂和抗EpCAM臂;以及厄马索单抗(ertumaxomab)(Neovii Biotech,Fresenius Biotech),其靶向CD3和HER2。在一些实施方案中,BsIgG包含经工程化用于异源二聚化的重链。例如,可以使用“杵臼结构”策略、SEED平台、常见的重链(例如,在kλ抗体中)和使用异源二聚体Fc区来将重链工程化以进行异源二聚化。参见Spiess等人,Mol.Immunol.67(2015):95-106。用来避免BsIgG中同源二聚体的重链配对的策略包括杵臼结构、Duobody、azymetric、电荷对、HA-TF、SEEDbody和差异A蛋白亲和力。参见前一文献。BsIgG可以通过在不同宿主细胞中分别表达组分抗体并随后纯化/组装成BsIgG来产生。BsIgG也可以通过在单个宿主细胞中表达组分抗体来产生。可以使用亲和色谱法纯化BsIgG,例如使用A蛋白和连续的pH洗脱。

[0653] 附加有额外的抗原结合部分的IgG是双特异性抗体分子的另一种形式。例如,可以通过在单特异性IgG上(例如在重链或轻链的N-末端或C-末端)附加额外的抗原结合单元,将单特异性IgG工程化为具有双特异性。示例性的额外的抗原结合单元包括单域抗体(例如,可变重链或可变轻链)、工程化的蛋白支架和成对的抗体可变域(例如,单链可变片段或可变片段)。参见前一文献。附加的IgG形式的实例包括双可变域IgG(DVD-Ig)、IgG(H)-scFv、scFv-(H)IgG、IgG(L)-scFv、scFv-(L)IgG、IgG(L,H)-Fv、IgG(H)-V、V(H)-IgG、IgG(L)-V、V(L)-IgG、KIH IgG-scFab、2scFv-IgG、IgG-2scFv、scFv4-Ig、zybody和DVI-IgG(四合一)。参见Spiess等人,Mol.Immunol.67(2015):95-106。IgG-scFv的实例是MM-141

(Merrimack Pharmaceuticals),其结合IGF-1R和HER3。DVD-Ig的实例包括结合IL-1α和IL-1β的ABT-981(AbbVie);以及结合TNF和IL-17A的ABT-122(AbbVie)。

[0654] 双特异性抗体片段(BsAb)是缺乏一些或全部抗体恒定域的双特异性抗体分子的形式。例如,一些BsAb缺乏Fc区。在实施方案中,双特异性抗体片段包括通过肽接头连接的重链和轻链区,所述肽接头允许BsAb在单个宿主细胞中有效表达。示例性的双特异性抗体片段包括但不限于纳米抗体、纳米抗体-HAS、BiTE、双抗体、DART、TandAb、sc双抗体、sc双抗体-CH3、双抗体-CH3、三抗体(triple body)、微抗体、微体、TriBi微体、scFv-CH3 KIH、Fab-scFv、scFv-CH-CL-scFv、F(ab')2、F(ab')2-scFv2、scFv-KIH、Fab-scFv-Fc、四价HCAb、sc双抗体-Fc、双抗体-Fc、串联scFv-Fc和细胞内抗体。参见前一文献。例如,BiTE形式包括串联scFv,其中组分scFv与T细胞上的CD3和癌细胞上的表面抗原结合。

[0655] 双特异性融合蛋白包括与其他蛋白连接的抗体片段,例如,以增加额外的特异性和/或功能。双特异性融合蛋白的一个实例是immTAC,其包含与识别HLA呈递肽的亲和力成熟的T细胞受体连接的抗CD3 scFv。在实施方案中,对接锁定(dock-and-lock,DNL)方法可用于产生具有更高价态的双特异性抗体分子。而且,与白蛋白结合蛋白或人血清白蛋白的融合体可以延长抗体片段的血清半衰期。参见前一文献。

[0656] 在实施方案中,化学缀合,例如抗体和/或抗体片段的化学缀合,可用于产生BsAb分子。参见前一文献。示例性的双特异性抗体缀合物包括CovX体形式,其中低分子量药物在每个Fab臂或抗体或其片段中位点特异性地缀合至单个反应性赖氨酸。在实施方案中,缀合改善了低分子量药物的血清半衰期。示例性的CovX体是CVX-241(NCT01004822),其包含缀合至两个抑制VEGF或Ang2的短肽的抗体。参见前一文献。

[0657] 可以通过在宿主系统中重组表达例如至少一种或多种组分来产生抗体分子。示例性的宿主系统包括真核细胞(例如哺乳动物细胞,例如CHO细胞,或昆虫细胞,例如SF9或S2细胞)和原核细胞(例如,大肠杆菌)。双特异性抗体分子可以通过组分在不同宿主细胞中的单独表达以及随后的纯化/组装来产生。或者,可以通过在单个宿主细胞中表达组分来产生抗体分子。双特异性抗体分子的纯化可以通过各种方法进行,例如亲和色谱法,例如,使用A蛋白和连续的pH洗脱。在其他实施方案中,亲和标签可以用于纯化,例如含组氨酸的标签、myc标签或链霉亲和素标签。

[0658] CDR移植的支架

[0659] 在实施方案中,抗体分子是CDR移植的支架域。在实施方案中,支架域基于纤连蛋白域,例如纤连蛋白III型域。纤连蛋白III型(Fn3)域的整体折叠与最小的功能性抗体片段(抗体重链的可变域)的折叠紧密相关。Fn3的末尾有三个环;BC、DE和FG环的位置大致对应于抗体的VH域的CDR1、2和3的位置。Fn3没有二硫键;因此,与抗体及其片段不同,Fn3在还原条件下是稳定的(参见,例如,WO 98/56915;WO 01/64942;WO 00/34784)。可以修饰(例如,使用本文所述的CDR或高变环)或改变Fn3域,例如,以选择与本文所述的抗原/标志物/细胞结合的域。

[0660] 在实施方案中,支架域,例如折叠域,是基于抗体,例如通过从单克隆抗体的重链可变域中删除三条β链而产生的"微抗体"支架(参见,例如,Tramontano等人,1994,J Mol.Recognit.7:9;和Martin等人,1994,EMBO J.13:5303-5309)。"微抗体"可用于呈现两个高变环。在实施方案中,支架域是V样域(参见,例如,Coia等人,WO 99/45110)或是衍生自

tendamistatin的域,tendamistatin是由两个二硫键保持在一起的74残基的六链β片层夹心结构(例如参见McConnell和Hoess,1995,J Mol.Biol.250:460)。例如,可以修饰或改变(例如,使用CDR或高变环)tendamistatin的环,例如以选择与本文所述的标志物/抗原/细胞结合的域。另一个示例性的支架域是衍生自CTLA-4的胞外域的β-夹心结构(参见,例如,WO 00/60070)。

[0661] 其他示例性的支架域包括但不限于T细胞受体;MHC蛋白;胞外域(例如纤连蛋白III型重复序列,EGF重复序列);蛋白酶抑制剂(例如Kunitz域、大肠杆菌素、BPTI等);TPR重复序列;三叶(trifoil)结构;锌指域;DNA结合蛋白;特别是单体DNA结合蛋白;RNA结合蛋白;酶,例如蛋白酶(特别是灭活的蛋白酶),RNA酶;蛋白伴侣分子,例如硫氧还蛋白和热休克蛋白;以及细胞内信号传导域(例如SH2和SH3域)。参见,例如,US20040009530和US 7,501,121,其通过引用并入本文。

[0662] 在实施方案中,例如通过以下标准中的一个或多个来评估和选择支架域:(1)氨基酸序列,(2)几个同源域的序列,(3)3维结构,和/或(4)在pH、温度、盐度、有机溶剂、氧化剂浓度范围内的稳定性数据。在实施方案中,支架域是小的、稳定的蛋白质域,例如少于100、70、50、40或30个氨基酸的蛋白质。该域可以包括一个或多个二硫键或可以螯合金属,例如锌。

[0663] 基于抗体的融合体

[0664] 可以产生包含附着于抗体N或C末端的另外结合实体的多种形式。这些具有单链或二硫键稳定化的Fv或Fab的融合体导致产生对每种抗原具有二价结合特异性的四价分子。scFv和scFab与IgG的结合可产生可识别三种或更多种不同抗原的分子。

[0665] 抗体-Fab融合体

[0666] 抗体-Fab融合体是双特异性抗体,其包含与抗体重链的C末端融合的针对第一靶标的传统抗体和针对第二靶标的Fab。通常,抗体和Fab将具有共同的轻链。抗体融合体可以通过以下方式产生:(1)将靶标融合体的DNA序列工程化,以及(2)将靶标DNA转染到合适的宿主细胞中以表达融合蛋白。如Coloma,J.等人(1997)Nature Biotech 15:159所述,似乎抗体-scFv融合体可以通过CH3域的C末端与scFv的N末端之间的(Gly)-Ser接头连接。

[0667] 抗体-scFv融合体

[0668] 抗体-scFv融合体是双特异性抗体,其包含与抗体重链的C末端融合的传统抗体和具有独特特异性的scFv。scFv可以直接通过scFv重链或通过接头肽融合至C末端。抗体融合体可以通过以下方式产生:(1)将靶标融合体的DNA序列工程化,以及(2)将靶标DNA转染到合适的宿主细胞中以表达融合蛋白。如Coloma,J.等人(1997)Nature Biotech 15:159所述,似乎抗体-scFv融合体可以通过CH3域的C末端与scFv的N末端之间的(Gly)-Ser接头连接。

[0669] 可变域免疫球蛋白DVD

[0670] 一种相关的形式是双重可变域免疫球蛋白(DVD),其通过较短的接头序列由在V域N末端的第二个特异性位置的VH和VL域组成。

[0671] 其他示例性的多特异性抗体形式包括,例如在以下专利中描述的那些:US20160114057A1、US20130243775A1、US20140051833、US20130022601、US20150017187A1、US20120201746A1、US20150133638A1、US20130266568A1、US20160145340A1、

WO2015127158A1、US20150203591A1、US20140322221A1、US20130303396A1、US20110293613、US20130017200A1、US20160102135A1、WO2015197598A2、WO2015197582A1、US9359437、US20150018529、WO2016115274A1、WO2016087416A1、US20080069820A1、US9145588B、US7919257和US20150232560A1。采用完整抗体-Fab/scFab形式的示例性的多特异性分子包括在以下专利中描述的那些:US9382323B2、US20140072581A1、US20140308285A1、US20130165638A1、US20130267686A1、US20140377269A1、US7741446B2和WO1995009917A1。采用域交换形式的示例性的多特异性分子包括在以下专利中描述的那些:US20150315296A1、WO2016087650A1、US20160075785A1、WO2016016299A1、US20160130347A1、US20150166670、US8703132B2、US20100316645、US8227577B2、US20130078249。

[0672] 含Fc的实体(微抗体)

[0673] 含Fc的实体(也称为微抗体)可以通过将scFv与恒定重链域3的C末端(CH3-scFv)和/或与具有不同特异性的抗体的铰链区(scFv-铰链-Fc)融合而产生。也可以制备具有与IgG的CH3域的C末端融合的二硫键稳定化的可变域(无肽接头)的三价实体。

[0674] 含Fc的多特异性分子

[0675] 在一些实施方案中,本文公开的多特异性分子包括免疫球蛋白恒定区(例如,Fc区)。示例性的Fc区可以选自IgG1、IgG2、IgG3或IgG4的重链恒定区;更特别地,人IgG1、IgG2、IgG3或IgG4的重链恒定区。

[0676] 在一些实施方案中,免疫球蛋白链恒定区(例如,Fc区)被改变,例如突变,以增加或减少以下一项或多项:Fc受体结合、抗体糖基化、半胱氨酸残基数、效应细胞功能或补体功能。

[0677] 在其他实施方案中,第一免疫球蛋白链恒定区和第二免疫球蛋白链恒定区(例如,第一Fc区和第二Fc区)的界面被改变(例如使其突变),以例如相对于非工程化界面(例如天然存在的界面)增加或减少二聚化。例如,免疫球蛋白链恒定区(例如,Fc区)的二聚化可以通过为第一Fc区和第二Fc区的Fc界面提供以下一种或多种来增强:成对的突起-腔(“杵臼结构”)、静电相互作用或链交换,以使得例如相对于非工程化界面,异源多聚体与同源多聚体的比例更大。

[0678] 在一些实施方案中,多特异性分子包括在选自例如人IgG1的Fc区的347、349、350、351、366、368、370、392、394、395、397、398、399、405、407或409的一个或多个中的位置的成对的氨基酸置换。例如,免疫球蛋白链恒定区(例如,Fc区)可以包括选自以下的成对的氨基酸置换:T366S、L368A或Y407V(例如,对应于腔或臼)和T366W(例如,对应于突起或杵)。

[0679] 在其他实施方案中,多功能分子包括半衰期延长剂,例如人血清白蛋白,或针对人血清白蛋白的抗体分子。

[0680] 异源二聚化的抗体分子及其制备方法

[0681] 已经公开了产生多特异性抗体的各种方法来解决不正确的重链配对的问题。示例性方法描述如下。示例性的多特异性抗体形式和制备所述多特异性抗体的方法也公开于例如Speiss等人,Molecular Immunology 67(2015)95-106;和Klein等人,mAbs 4:6,653-663;2012年11月/12月中;其每一个的全部内容通过引用并入本文。

[0682] 异源二聚化的双特异性抗体基于天然IgG结构,其中两个结合臂识别不同的抗原。

通过强制重链异源二聚化,并结合将轻链(例如共有轻链)错配最小化的技术,来产生能够实现确定的单价(和同时的)抗原结合的IgG衍生形式。强制重链异源二聚化可以使用例如杵-臼结构或链交换工程化域(SEED)获得。

[0683] 杵臼结构

[0684] 杵臼结构在US 5,731,116、US 7,476,724和Ridgway,J.等人(1996)Prot.Engineering 9(7):617-621中描述,一般说来涉及:(1)使一种或两种抗体的CH3域突变以促进异源二聚化;和(2)在促进异源二聚化的条件下将突变的抗体组合。"杵"或"突起"通常是通过将亲本抗体中的小氨基酸替换为较大的氨基酸(例如T366Y或T366W)来生成的;"臼"或"腔"是通过将亲本抗体中的较大残基替换为较小氨基酸(例如,Y407T、T366S、L368A和/或Y407V)来生成的。

[0685] 对于包括Fc域的双特异性抗体,可以利用将特定突变引入重链的恒定区来促进Fc部分的正确异源二聚化。在Klein等人,(mAbs(2012)4:6,1-11)中综述了几种这样的技术,其内容通过引用整体并入本文。这些技术包括"杵臼结构"(KiH)法,该方法涉及将庞大的残基引入一条抗体重链的一个CH3域中。该庞大的残基配合到配对重链的另一个CH3域中的互补"臼"中,从而促进重链的正确配对(参见,例如,US7642228)。

[0686] 示例性的KiH突变包括"杵"重链中的S354C、T366W和"臼"重链中的Y349C、T366S、L368A、Y407V。表1提供了其他示例性的KiH突变,以及另外的可选的稳定化Fc半胱氨酸突变。

[0687] 表1.示例性的Fc KiH突变和可选的半胱氨酸突变

[0688]

位置	杵突变	臼突变
T366	T366W	T366S
L368	-	L368A
Y407	-	Y407V
另外的半胱氨酸突变,用于形成稳定的二硫桥		
位置	**杵 CH3**	**臼 CH3**
S354	S354C	-
Y349	-	Y349C

[0689] Igawa和Tsunoda提供了其他Fc突变,他们确定了一条链的CH3域中的3个带负电荷的残基,其与另一条链的CH3域中的3个带正电荷的残基配对。这些特定的带电荷残基对为:E356-K439、E357-K370、D399-K409,反之亦然。通过单独地或与新发现的二硫桥结合地在链A中引入以下三个突变中的至少两个:E356K、E357K和D399K,以及在链B中引入以下三个突变中的至少两个:K370E、K409D、K439E,能够促进非常有效的异源二聚化,同时抑制同源二聚化(Martens T等人,A novel one-armed antic-Met antibody inhibits glioblastoma growth in vivo.Clin Cancer Res 2006;12:6144-52;PMID:17062691)。Xencor基于结构计算和序列信息的组合定义了41个变体对,随后筛选了最大异源二聚化,定义了链A上的S364H、F405A(HA)和链B上的Y349T、T394F(TF)的组合(Moore GL等人,A novel bispecific

antibody format enables simultaneous bivalent and monovalent co-engagement of distinct target antigens.MAbs 2011;3:546-57;PMID:22123055)。

[0690] 促进多特异性抗体异源二聚化的其他示例性的Fc突变包括在以下参考文献中描述的那些,其各自内容通过引用并入本文:WO2016071377A1、US20140079689A1、US20160194389A1、US20160257763、WO2016071376A2、WO2015107026A1、WO2015107025A1、WO2015107015A1、US20150353636A1、US20140199294A1、US7750128B2、US20160229915A1、US20150344570A1、US8003774A1、US20150337049A1、US20150175707A1、US20140242075A1、US20130195849A1、US20120149876A1、US20140200331A1、US9309311B2、US8586713、US20140037621A1、US20130178605A1、US20140363426A1、US20140051835A1和US20110054151A1。

[0691] 稳定化半胱氨酸突变也已经与KiH和其他促进Fc异源二聚化的变体组合使用,参见例如US7183076。其他示例性半胱氨酸修饰包括,例如在US20140348839A1、US7855275B2和US9000130B2公开的那些。

[0692] 链交换工程化域(SEED)

[0693] 通过设计链交换工程化域(SEED)C(H)3异源二聚体来支持双特异性和不对称融合蛋白设计的异源二聚体Fc平台是已知的。人IgG和IgA C(H)3域的这些衍生物可形成互补的人SEED C(H)3异源二聚体,其由人IgA和IgG C(H)3序列的交替区段组成。当在哺乳动物细胞中表达时,所得的一对SEED C(H)3域优先缔合形成异源二聚体。SEEDbody(Sb)融合蛋白由[IgG1铰链]-C(H)2-[SEED C(H)3]组成,可以与一个或多个融合伴侣遗传连接(例如,参见Davis JH等人,SEEDbodies:fusion proteins based on strand exchange engineered domain(SEED)CH3 heterodimers in an Fc analogue platform for asymmetric binders or immunofusions and bispecific antibodies,Protein Eng Des Sel2010;23:195-202;PMID:20299542和US8871912。其每一个的内容通过引用并入本文)。

[0694] Duobody

[0695] 产生具有正确重链配对的双特异性抗体的“Duobody”技术是已知的。DuoBody技术涉及三个基本步骤,用于在生产后的交换反应中生成稳定的双特异性人IgG1抗体。第一步,使用标准的哺乳动物重组细胞系分别生产两个IgG1,每个IgG1在第三恒定(CH3)域中包含单个匹配的突变。随后,根据用于回收和纯化的标准方法来纯化这些IgG1抗体。在生产和(生产后的)纯化后,两个抗体在定制的实验室条件下重组,从而以非常高的产率(通常>95%)产生双特异性抗体产品(参见例如Labrijn等人,PNAS2013;110(13):5145-5150和Labrijn等人,Nature Protocols 2014;9(10):2450-63,其各自的内容通过引用并入本文)。

[0696] 静电相互作用

[0697] 公开了采用带电荷的氨基酸,使用CH3氨基酸变化而制备多特异性抗体的方法,使得同二聚体的形成在静电上是不利的。EP1870459和WO 2009089004描述了在宿主细胞中共表达不同抗体域时有利于异源二聚体形成的其他策略。在这些方法中,用带电荷的氨基酸替换两个CH3域中组成重链恒定域3(CH3)、CH3-CH3界面的一个或多个残基,使得同二聚体形成在静电上是不利的并且异源二聚化在静电上是有利的。在以下参考文献中描述了使用静电相互作用制备多特异性分子的其他方法,每个参考文献的内容通过引用并入本文,包

括US20100015133、US8592562B2、US9200060B2、US20140154254A1和US9358286A1。

[0698] 共有轻链

[0699] 需要避免轻链错配以产生双特异性IgG的均质制剂。其实现方式之一是通过使用共有轻链原理,即将共享一个轻链但仍具有不同特异性的两种结合物组合。增强由单体混合物形成期望的双特异性抗体的示例性方法是通过提供共有的可变轻链来与双特异性抗体的每个异聚可变重链区相互作用。产生具有共同轻链的双特异性抗体的组合物和方法公开于例如US7183076B2、US20110177073A1、EP2847231A1、WO2016079081A1和EP3055329A1中,其各自的内容通过引用并入本文。

[0700] CrossMab

[0701] 减少轻链错配的另一种选择是CrossMab技术,它通过交换一半双特异性抗体的Fab中的CH1和CL域来避免非特异性L链错配。这样的交错变体保留了结合特异性和亲和力,但是使两个臂如此不同,以至于防止了L链错配。CrossMab技术(如前述Klein等人中所概述)涉及重链和轻链之间的域互换,以促进正确配对的形成。简而言之,为了通过使用两个不同的轻链-重链对来构建可以结合两种抗原的双特异性IgG样CrossMab抗体,采用了两步式修饰过程。首先,使用异源二聚化方法(例如,杵臼(KiH)技术)将二聚化界面工程化到每个重链的C末端,以确保仅有效地形成了来自一个抗体(例如,抗体A)和第二抗体(例如抗体B)的两条不同重链的异源二聚体。接下来,交换一种抗体(抗体A)的恒定重链1域(CH1)和恒定轻链域(CL),同时使可变重链(VH)和可变轻链(VL)域保持如一。CH1和CL域的交换确保修饰的抗体(抗体A)轻链仅能与修饰的抗体(抗体A)重链有效地二聚化,而未修饰的抗体(抗体B)轻链仅能与未修饰的抗体(抗体B)的重链有效地二聚化;因此仅有效地形成期望的双特异性CrossMab(参见例如Cain,C.SciBX 4(28);doi:10.1038/scibx.2011.783,其内容通过引用并入本文)。

[0702] 共有重链

[0703] 增强由单体混合物形成期望的双特异性抗体的示例性方法是通过提供共有的可变重链来与双特异性抗体的每个异聚可变轻链区相互作用。产生具有共有重链的双特异性抗体的组合物和方法公开于例如US20120184716、US20130317200和US20160264685A1中,其各自的内容通过引用并入本文。

[0704] 氨基酸修饰

[0705] 产生具有正确的轻链配对的多特异性抗体的替代组合物和方法包括各种氨基酸修饰。例如,Zymeworks描述了在CH1和/或CL域中具有一个或多个氨基酸修饰,在VH和/或VL域中具有一个或多个氨基酸修饰,或其组合的杂二聚体,这些修饰是轻链和重链之间的界面的一部分,并在每条重链和所期望的轻链之间建立优先配对,使得当异源二聚体对的两条重链和两条轻链在细胞中共表达时,第一异源二聚体的重链优先与一条轻链而不是彼此配对(例如,参见WO2015181805)。其他示例性方法记载于WO2016026943(Argen-X)、US20150211001、US20140072581A1、US20160039947A1和US20150368352中。

[0706] λ/κ形式

[0707] 包括λ轻链多肽和κ轻链多肽的多特异性分子(例如,多特异性抗体分子)可用于允许异源二聚化。产生包含λ轻链多肽和κ轻链多肽的双特异性抗体分子的方法公开于2017年9月22日提交的PCT/US17/53053,其通过引用整体并入本文。

[0708] 在实施方案中,多特异性分子包含多特异性抗体分子,例如,具有两种结合特异性的抗体分子,例如,双特异性抗体分子。多特异性抗体分子包括:

[0709] 对第一表位具有特异性的λ轻链多肽1(LLCP1);

[0710] 对第一表位具有特异性的重链多肽1(HCP1);

[0711] 对第二表位具有特异性的κ轻链多肽2(KLCP2);以及

[0712] 对第二表位具有特异性的重链多肽2(HCP2)。

[0713] 如本文所用,术语"λ轻链多肽1(LLCP1)"是指包含足够的轻链(LC)序列的多肽,使得当与同源重链可变区结合时,可以介导与其表位的特异性结合以及与HCP1的复合。在一个实施方案中,LLCP1包含CH1区的全部或片段。在一个实施方案中,LLCP1包含LC-CDR1、LC-CDR2、LC-CDR3、FR1、FR2、FR3、FR4和CH1,或来自其中的足以介导其表位的特异性结合以及与HCP1的复合的序列。LLCP1与其HCP1一起对第一表位提供特异性(而KLCP2与其HCP2一起对第二表位提供特异性)。如本文其他地方所述,LLCP 1对HCP1的亲和力高于对HCP2的亲和力。

[0714] 如本文所用,术语"κ轻链多肽2(KLCP2)"是指包含足够的轻链(LC)序列的多肽,使得当与同源重链可变区结合时,可以介导与其表位的特异性结合以及与HCP2的复合。在一个实施方案中,LLCP1包含CH1区的全部或片段。在一个实施方案中,KLCP2包含LC-CDR1、LC-CDR2、LC-CDR3、FR1、FR2、FR3、FR4和CH1,或来自其中的足以介导其表位的特异性结合以及与HCP2的复合的序列。KLCP2与其HCP2一起为第二表位提供特异性(而LLCP 1及其HCP1为第一表位提供特异性)。

[0715] 如本文所用,术语"重链多肽1(HCP1)"是指包含足够的重链(HC)序列(例如,HC可变区序列)的多肽,使得当与同源LLCP 1结合时可以介导与其表位的特异性结合以及与HCP1的复合。在一个实施方案中,HCP1包含CH1区的全部或片段。在一个实施方案中,HCP1包含CH2和/或CH 3区的全部或片段。在一个实施方案中,HCP1包含HC-CDR1、HC-CDR2、HC-CDR3、FR1、FR2、FR3、FR4、CH1、CH2和CH3,或来自其中的足以实现以下各项的序列:(i)介导其表位的特异性结合以及与LLCP1的复合,(ii)如本文所述优先与LLCP1而非KLCP2复合;以及(iii)如本文所述优先与HCP2而非另一HCP1分子复合。HCP1与其LLCP1一起提供对第一表位的特异性(而KLCP2与其HCP2一起提供对第二表位的特异性)。

[0716] 如本文所用,术语"重链多肽2(HCP2)"是指包含足够的重链(HC)序列(例如,HC可变区序列)的多肽,使得当与同源LLCP 1结合时可以介导与其表位的特异性结合以及与HCP1的复合。在一个实施方案中,HCP2包含CH1区的全部或片段。在一个实施方案中,HCP2包含CH2和/或CH3区的全部或片段。在一个实施方案中,HCP1包含HC-CDR1、HC-CDR2、HC-CDR3、FR1、FR2、FR3、FR4、CH1、CH2和CH3,或来自其中的足以实现以下各项的序列:(i)介导其表位的特异性结合以及与KLCP2的复合,(ii)如本文所述优先与KLCP2而非LLCP1复合;和(iii)如本文所述优先与HCP1而非另一HCP2分子复合。HCP2与其KLCP2一起提供了对第二表位的特异性(而LLCP1与其HCP1一起提供了对第一表位的特异性)。

[0717] 在本文公开的多特异性抗体分子的一些实施方案中:LLCP1对HCP1的亲和力高于对HCP2的亲和力;并且/或者KLCP2对HCP2的亲和力高于对HCP1的亲和力。

[0718] 在实施方案中,LLCP1对HCP1的亲和力充分大于其对HCP2的亲和力,使得在预选条件下,例如在水性缓冲液中(例如在pH 7下)、在盐水中(例如在pH 7下),或在生理条件下,

至少75％、80％、90％、95％、98％、99％、99.5％或99.9％的多特异性抗体分子具有与HCP1复合或接合的LLCP1。

[0719] 在本文公开的多特异性抗体分子的一些实施方案中:HCP1对HCP2的亲和力大于对HCP1第二分子的亲和力;并且/或者HCP2对HCP1的亲和力大于对HCP2第二分子的亲和力。

[0720] 在实施方案中,HCP1对HCP2的亲和力充分大于其对第二HCP1分子的亲和力,使得在预选条件下,例如在水性缓冲液中(例如在pH 7下)、在盐水中(例如在pH 7下),或在生理条件下,至少75％、80％、90％、95％、98％、99％、99.5％或99.9％的多特异性抗体分子具有与HCP2复合或接合的HCP1。

[0721] 在另一方面,本文公开了用于制备或产生多特异性抗体分子的方法。该方法包括在(i)-(iv)缔合的条件下:

[0722] (i)提供第一重链多肽(例如,包含第一重链可变区(第一VH)、第一CH1、第一重链恒定区(例如,第一CH2、第一CH3或两者)中的一个、两个、三个或全部的重链多肽);

[0723] (ii)提供第二重链多肽(例如,包含第二重链可变区(第二VH)、第二CH1、第二重链恒定区(例如,第二CH2、第二CH3或两者)中的一个、两个、三个或全部的重链多肽);

[0724] (iii)提供优先与第一重链多肽(例如,第一VH)缔合的λ链多肽(例如λ轻可变区(VLλ)、λ轻恒定链(VLλ)或两者);和

[0725] (iv)提供优先与第二重链多肽(例如,第二VH)缔合的κ链多肽(例如κ轻可变区(VLκ)、κ轻恒定链(VLκ)或两者)。

[0726] 在实施方案中,第一重链和第二重链多肽形成增强异源二聚化的Fc界面。

[0727] 在实施方案中,将(i)-(iv)(例如,编码(i)-(iv)的核酸)引入单个细胞,例如单个哺乳动物细胞,例如CHO细胞中。在实施方案中,(i)-(iv)在细胞中表达。

[0728] 在实施方案中,将(i)-(iv)(例如,编码(i)-(iv)的核酸)引入不同的细胞,例如不同的哺乳动物细胞,例如两个或更多个CHO细胞中。在实施方案中,(i)-(iv)在细胞中表达。

[0729] 在一个实施方案中,该方法进一步包括例如使用λ特异性和/或κ特异性纯化,例如亲和色谱,纯化细胞表达的抗体分子。

[0730] 在实施方案中,该方法进一步包括评估细胞表达的多特异性抗体分子。例如,纯化的细胞表达的多特异性抗体分子可以通过本领域已知的技术(包括质谱法)进行分析。在一个实施方案中,将纯化的细胞表达的抗体分子裂解,例如用木瓜蛋白酶消化以产生Fab部分,并使用质谱法进行评估。

[0731] 在实施方案中,该方法以高产率,例如至少75％、80％、90％、95％、98％、99％、99.5％或99.9％,产生正确配对的κ/λ多特异性(例如双特异性)抗体分子。

[0732] 在其他实施方案中,多特异性(例如,双特异性)抗体分子包括:

[0733] (i)第一重链多肽(HCP1)(例如,包含第一重链可变区(第一VH)、第一CH1、第一重链恒定区(例如,第一CH2、第一CH3或两者)中的一个、两个、三个或全部的重链多肽),例如,其中HCP1与第一表位结合;

[0734] (ii)第二重链多肽(HCP2)(例如,包含第二重链可变区(第二VH)、第二CH1、第二重链恒定区(例如,第二CH2、第二CH3或两者)中的一个、两个、三个或全部的重链多肽),例如,其中HCP2与第二表位结合;

[0735] (iii)优先与第一重链多肽(例如,第一VH)缔合的λ轻链多肽(LLCP 1)(例如,λ轻

可变区(VL1)、λ轻恒定链(VL1)或两者),例如,其中LLCP1与第一表位结合;以及

[0736] (iv)优先与第二重链多肽(例如,第二VH)缔合的κ轻链多肽(KLCP2)(例如,κ轻可变区(VLk)、κ轻恒定链(VLk)或两者),例如其中KLCP2与第二表位结合。

[0737] 在实施方案中,第一重链和第二重链多肽形成增强异源二聚化的Fc界面。在实施方案中,多特异性抗体分子具有第一结合特异性和第二结合特异性,所述第一结合特异性包括杂合的VL1-CL1,其异源二聚化至与Fc恒定CH2-CH3域连接的第一重链可变区(具有杵修饰),而所述第二结合特异性包括杂合的VLk-CLk,其异源二聚化至与Fc恒定CH2-CH3域连接的第二重链可变区(具有臼修饰)。TRBC1和TRBC2抗原结合域

[0738] 本公开内容尤其提供了抗体分子,例如,多特异性(例如,双特异性、三特异性、四特异性)或多功能分子,其包括(例如,经工程化为含有)与淋巴瘤细胞(例如,T细胞)上的肿瘤抗原结合的一个或多个抗原结合域。在一些实施方案中,肿瘤抗原包括:包括TRBC1或TRBC2的T细胞受体。在一些实施方案中,抗原结合域优先与包括TRBC1的T细胞受体(例如,相对于包括TRBC2的T细胞受体)结合。在一些实施方案中,抗原结合域优先与包括TRBC2的T细胞受体(例如,相对于包括TRBC1的T细胞受体)结合。在一些实施方案中,多功能分子包括(例如,经工程化为含有)选择性靶向表达TRBC1或TRBC2的淋巴细胞的一个或多个抗原结合域。在一些实施方案中,抗原结合域选择性靶向表达包括TRBC1的T细胞受体或包括TRBC2的T细胞受体的淋巴细胞。

[0739] T细胞受体(TCR)是在淋巴细胞(特别是在T淋巴细胞(T细胞)上)的表面上发现的受体。TCR负责通过经由相关的CD3进行信号传导并激活T细胞,来识别由其他免疫细胞(例如,B细胞)上的主要组织相容性复合体(MHC)分子呈递的抗原片段。人的绝大多数TCR是包括α链和β链的异源二聚体。TCR的α和β链均包括可变区和恒定区。α和β链的可变区由不同的DNA元件(β链的V、D和J元件;α链的V和J元件)编码。这些元件之间的重组在很大程度上产生TCR抗原结合特异性的变化。TCRβ链恒定区选自两个不同的域,β恒定域1和β恒定域2。不希望受理论束缚,认为大多数包括β链的TCR包括包含β恒定域1或β恒定域2的β链,而不是同时包括恒定域1和恒定域2的β链。

[0740] 在一些实施方案中,本申请的多功能或多特异性分子或抗体分子包括与淋巴瘤细胞(例如,T细胞)上的肿瘤抗原(例如,包括TRBC1的T细胞受体、TRBC1、包括TRBC2的T细胞受体、或TRBC2)结合的抗原结合域。在一些实施方案中,本申请的多功能或多特异性分子或抗体分子包括选择性靶向表达包括TRBC1的T细胞受体、TRBC1、包括TRBC2的T细胞受体、或TRBC2的淋巴细胞的抗原结合域。虽然在最典型情况中呈递包括TRBC1或TRBC2的T细胞受体的淋巴细胞或淋巴瘤细胞是T细胞,但癌症导致许多非疾病表达模式的破坏。因此,在一些实施方案中,淋巴瘤细胞或淋巴细胞可能不是T细胞。在一些实施方案中,淋巴瘤细胞或淋巴细胞是B细胞。在一些实施方案中,淋巴瘤细胞或淋巴细胞是天然杀伤细胞。

[0741] 在一些实施方案中,抗原结合域(例如,第一抗原结合域)包括本领域已知的抗TRBC1抗体的任何CDR氨基酸序列、构架区(FWR)氨基酸序列、或可变区氨基酸序列。在一些实施方案中,CDR氨基酸序列、构架区(FWR)氨基酸序列、或可变区氨基酸序列选自JOVI.1。

[0742] 在一些实施方案中,与TRBC1结合的抗原结合域包括表2、表6或表3中公开的一个或多个CDR(例如,VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2和/或VLCDR3),或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列。在一些实施方案中,与TRBC1结合的抗原结合域包括

表2、表6或表3中公开的一个或多个构架区(例如,VHFWR1、VHFWR2、VHFWR3、VHFWR4、VLFWR1、VLFWR2、VLFWR3和/或VLFWR4),或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列。在一些实施方案中,与TRBC1结合的抗原结合域包括表4中公开的VH和/或VL,或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列。在一些实施方案中,与TRBC1结合的抗原结合域包括表5中公开的氨基酸序列,或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列。

[0743] 在一些实施方案中,与TRBC1结合的抗原结合域包括:包括重链互补决定区1(VHCDR1)、VHCDR2和VHCDR3的VH,以及包括轻链互补决定区1(VLCDR1)、VLCDR2和VLCDR3的VL。

[0744] 在一些实施方案中,VHCDR1、VHCDR2和VHCDR3分别包括SEQ ID NO:7346、7355和202的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,VHCDR1、VHCDR2和VHCDR3分别包括SEQ ID NO:7346、201和202的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,VHCDR1、VHCDR2和VHCDR3分别包括SEQ ID NO:7354、201和202的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,VHCDR1、VHCDR2和VHCDR3分别包括SEQ ID NO:7354、7355和202的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。

[0745] 在一些实施方案中,VLCDR1、VLCDR2和VLCDR3分别包括SEQ ID NO:223、224和225的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,VLCDR1、VLCDR2和VLCDR3分别包括SEQ ID NO:7367、224和225的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,VLCDR1、VLCDR2和VLCDR3分别包括SEQ ID NO:223、7368和225的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,VLCDR1、VLCDR2和VLCDR3分别包括SEQ ID NO:223、224和7369的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,VLCDR1、VLCDR2和VLCDR3分别包括SEQ ID NO:7367、7368和7369的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。

[0746] 在一些实施方案中,VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2和VLCDR3分别包括SEQ ID NO:7346、7355、202、223、224和225的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2和VLCDR3分别包括SEQ ID NO:7346、201、202、223、224和225的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2和VLCDR3包括以下项的氨基酸序列:分别为SEQ ID NO:7346、7355、202、7367、224和225(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列);分别为SEQ ID NO:7346、7355、202、223、7368和225(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列);分别为SEQ ID NO:7346、7355、202、223、224和7369(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列);分别为SEQ ID NO:7346、7355、202、7367、7368和7369(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列);分别为SEQ ID NO:7346、201、202、7367、224和225(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列);分别为SEQ ID NO:7346、201、202、223、7368和225(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列);分别为SEQ ID NO:7346、201、202、223、224和7369(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序

列);分别为SEQ ID NO:7346、201、202、7367、7368和7369(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列);分别为SEQ ID NO:7354、201、202、223、224和225(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列);分别为SEQ ID NO:7354、201、7367、224和225(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列);分别为SEQ ID NO:7354、201、202、223、7368和225(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列);分别为SEQ ID NO:7354、201、202、223、224和7369(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列);分别为SEQ ID NO:7354、201、202、7367、7368和7369(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列);分别为SEQ ID NO:7354、7355、202、223、224和225(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列);分别为SEQ ID NO:7354、7355、202、7367、224和225(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列);分别为SEQ ID NO:7354、7355、202、223、7368和225(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列);分别为SEQ ID NO:7354、7355、202、223、224和7369(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列);或分别为SEQ ID NO:7354、7355、202、7367、7368和7369(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。

[0747] 在一些实施方案中,VH包括选自以下项的氨基酸序列:SEQ ID NO:7351、253、250-252、254、7343、7344、7350和7352(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)并且/或者VL包括选自以下项的氨基酸序列:SEQ ID NO:258、255-257、259、260和7357-7360(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,VH和VL分别包括SEQ ID NO:7351和258的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,VH和VL分别包括SEQ ID NO:253和258的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。

[0748] 在一些实施方案中,与淋巴瘤细胞(例如,T细胞)上的肿瘤抗原(例如,包括TRBC1的T细胞受体、TRBC1、包括TRBC2的T细胞受体、或TRBC2)结合的抗原结合域(例如,第一抗原结合域)包括表2-6的任何CDR氨基酸序列、构架区(FWR)氨基酸序列、或可变区氨基酸序列。在一些实施方案中,与淋巴瘤细胞(例如,T细胞)上的肿瘤抗原(例如,包括TRBC1的T细胞受体、TRBC1、包括TRBC2的T细胞受体、或TRBC2)结合的抗原结合域(例如,第一抗原结合域)包括表5的重链和/或轻链氨基酸序列。在一些实施方案中,选择性靶向表达包括TRBC1的T细胞受体、TRBC1、包括TRBC2的T细胞受体、或TRBC2的淋巴细胞的抗原结合域(例如,第一抗原结合域)包括表2-6中公开的任何CDR氨基酸序列、构架区(FWR)氨基酸序列、或可变区氨基酸序列。在一些实施方案中,选择性靶向表达包括TRBC1的T细胞受体、TRBC1、包括TRBC2的T细胞受体、或TRBC2的淋巴细胞的抗原结合域(例如,第一抗原结合域)包括表5的重链和/或轻链氨基酸序列。与包括TRBC1的肿瘤抗原结合或选择性靶向表达TRBC1的淋巴细胞的抗原结合域可被称为靶向TRBC1(即,靶向TRBC1的抗原结合域)。域包括TRBC2的肿瘤抗原结合或选择性靶向表达TRBC2的淋巴细胞的抗原结合域可被称为靶向TRBC2(即,靶向TRBC2的抗原结合域)。

[0749] 在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括VH,所述VH包括SEQ ID NO:200的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3或4个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:201的VHCDR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3或4个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)和/或SEQ ID NO:202的VHCDR3氨基酸序列(或与其

具有不超过1、2、3或4个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)。在一些实施方案中,TRBC1抗原结合域包括VH,所述VH包括SEQ ID NO:200的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:201的VHCDR2氨基酸序列和/或SEQ ID NO:202的VHCDR3氨基酸序列。

[0750] 在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括VL,所述VL包括SEQ ID NO:223的轻链互补决定区1(VLCDR1)氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3或4个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:224的VLCDR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3或4个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)和/或SEQ ID NO:225的VLCDR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3或4个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)。在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括VL,所述VL包括SEQ ID NO:223的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:224的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:225的VLCDR3氨基酸序列。

[0751] 在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括VH,所述VH包括SEQ ID NO:203的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:204的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:205的VHFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:206的VHFWR4氨基酸序列。

[0752] 在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括VL,所述VL包括SEQ ID NO:226的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:227的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:228的VLFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:229的VLFWR4氨基酸序列。

[0753] 在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括VH,所述VH包括SEQ ID NO:203的VHFWR1氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:204的VHFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:205的VHFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或11个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)和/或SEQ ID NO:206的VHFWR4氨基酸序列。

[0754] 在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括VL,所述VL包括SEQ ID NO:226的VLFWR1氨基酸序列(或与其具有不超过1、2或3个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:227的VLFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:228的VLFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)和/或SEQ ID NO:229的VLFWR4氨基酸序列。

[0755] 在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括VH,所述VH包括SEQ ID NO:207的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:208的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:209的VHFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:210的VHFWR4氨基酸序列。

[0756] 在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括VH,所述VH包括SEQ ID NO:207的VHFWR1氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:208的VHFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:209的VHFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或11个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)和/或SEQ ID NO:210的VHFWR4氨基酸序列。

[0757] 在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括VH,所述VH包括SEQ ID NO:211的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:212的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:213的VHFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:214的VHFWR4氨基酸序列。

[0758] 在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括VH,所述VH包括SEQ ID NO:211的VHFWR1氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:212的VHFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:213的VHFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或11个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)和/或SEQ ID NO:214的VHFWR4氨基酸序列。

[0759] 在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括VH,所述VH包括SEQ ID NO:215的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:216的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:217的VHFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:218的VHFWR4氨基酸序列。

[0760] 在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括VH,所述VH包括SEQ ID NO:215的VHFWR1氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:216的VHFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:217的VHFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或11个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)和/或SEQ ID NO:218的VHFWR4氨基酸序列。

[0761] 在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括VH,所述VH包括SEQ ID NO:219的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:220的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:221的VHFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:222的VHFWR4氨基酸序列。

[0762] 在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括VH,所述VH包括SEQ ID NO:219的VHFWR1氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:220的VHFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:221的VHFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或11个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)和/或SEQ ID NO:222的VHFWR4氨基酸序列。

[0763] 在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括VL,所述VL包括SEQ ID NO:230的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:231的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:232的VLFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:233的VLFWR4氨基酸序列。

[0764] 在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括VL,所述VL包括SEQ ID NO:230的VLFWR1氨基酸序列(或与其具有不超过1、2或3个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:231的VLFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:232的VLFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)和/或SEQ ID NO:233的VLFWR4氨基酸序列。

[0765] 在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括VL,所述VL包括SEQ ID NO:234的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:235的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:236的VLFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:237的VLFWR4氨基酸序列。

[0766] 在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括VL,所述VL包括SEQ ID NO:234的VLFWR1氨基酸序列(或与其具有不超过1、2或3个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:235的VLFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:236的VLFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1个突变(例如,置换、添

加或缺失)的序列)和/或SEQ ID NO:237的VLFWR4氨基酸序列。

[0767] 在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括VL,所述VL包括SEQ ID NO:238的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:239的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:240的VLFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:241的VLFWR4氨基酸序列。

[0768] 在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括VL,所述VL包括SEQ ID NO:238的VLFWR1氨基酸序列(或与其具有不超过1、2或3个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:239的VLFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:240的VLFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)和/或SEQ ID NO:241的VLFWR4氨基酸序列。

[0769] 在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括VL,所述VL包括SEQ ID NO:242的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:243的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:244的VLFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:245的VLFWR4氨基酸序列。

[0770] 在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括VL,所述VL包括SEQ ID NO:242的VLFWR1氨基酸序列(或与其具有不超过1、2或3个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:243的VLFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:244的VLFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)和/或SEQ ID NO:245的VLFWR4氨基酸序列。

[0771] 在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括VL,所述VL包括SEQ ID NO:246的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:247的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:248的VLFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:249的VLFWR4氨基酸序列。

[0772] 在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括VL,所述VL包括SEQ ID NO:246的VLFWR1氨基酸序列(或与其具有不超过1、2或3个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:247的VLFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:248的VLFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)和/或SEQ ID NO:249的VLFWR4氨基酸序列。

[0773] 在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括VH,所述VH包括SEQ ID NO:250的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:250具有至少约77%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括VL,所述VL包括SEQ ID NO:255的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:255具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括VH,所述VH包括SEQ ID NO:250的氨基酸序列。在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括VL,所述VL包括SEQ ID NO:255的氨基酸序列。

[0774] 在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括VH,所述VH包括SEQ ID NO:250的氨基酸序列,和VL,所述VL包括SEQ ID NO:255的氨基酸序列。

[0775] 在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括VH,所述VH包括SEQ ID NO:251的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:251具有至少约77%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括VH,所述VH包括SEQ ID NO:251的氨基酸序列。

[0776] 在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括VH,所述VH包括SEQ ID NO:252

的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:252具有至少约77%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括VH,所述VH包括SEQ ID NO:252的氨基酸序列。

[0777] 在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括VH,所述VH包括SEQ ID NO:253的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:253具有至少约77%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括VH,所述VH包括SEQ ID NO:253的氨基酸序列。

[0778] 在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括VH,所述VH包括SEQ ID NO:254的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:254具有至少约77%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括VH,所述VH包括SEQ ID NO:254的氨基酸序列。

[0779] 在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括VL,所述VL包括SEQ ID NO:256的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:256具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括VL,所述VL包括SEQ ID NO:256的氨基酸序列。

[0780] 在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括VL,所述VL包括SEQ ID NO:257的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:257具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括VL,所述VL包括SEQ ID NO:257的氨基酸序列。

[0781] 在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括VL,所述VL包括SEQ ID NO:258的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:258具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括VL,所述VL包括SEQ ID NO:258的氨基酸序列。

[0782] 在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括VL,所述VL包括SEQ ID NO:259的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:259具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括VL,所述VL包括SEQ ID NO:259的氨基酸序列。

[0783] 在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括VL,所述VL包括SEQ ID NO:260的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:260具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括VL,所述VL包括SEQ ID NO:260的氨基酸序列。

[0784] 在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括重链,所述重链包括SEQ ID NO:6154的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6154具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括重链,所述重链包括SEQ ID NO:6154的氨基酸序列。

[0785] 在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括重链,所述重链包括SEQ ID NO:6155的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6155具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括重链,所述重链包括SEQ ID NO:6155的氨基酸序列。

[0786] 在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括轻链,所述轻链包括SEQ ID NO:6156的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6156具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括轻链,所述轻链包括SEQ IDNO:6156的氨基酸序列。

[0787] 在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括重链,所述重链包括SEQ ID NO:6167的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6167具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括重链,所述重链包括SEQ ID NO:6167的氨基酸序列。

[0788] 在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括重链,所述重链包括SEQ ID NO:6168的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6168具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括重链,所述重链包括SEQ ID NO:6168的氨基酸序列。

[0789] 在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括轻链,所述轻链包括SEQ ID NO:6169的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6169具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括轻链,所述轻链包括SEQ ID NO:6169的氨基酸序列。

[0790] 在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括重链,所述重链包括SEQ ID NO:6154的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6154具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列),和轻链,所述轻链包括SEQ ID NO:6156的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6156具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括重链,所述重链包括SEQ ID NO:6154的氨基酸序列,和轻链,所述轻链包括SEQ ID NO:6156的氨基酸序列。

[0791] 在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括重链,所述重链包括SEQ ID NO:6155的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6155具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列),和轻链,所述轻链包括SEQ ID NO:6156的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6156具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括重链,所述重链包括SEQ ID NO:6155的氨基酸序列,和轻链,所述轻链包括SEQ ID NO:6156的氨基酸序列。

[0792] 在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括重链,所述重链包括SEQ ID NO:6167的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6167具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列),和轻链,所述轻链包括SEQ ID NO:6169的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6169具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括重链,所述重链包括SEQ ID NO:6167的氨基酸序列,和轻链,所述轻链包括SEQ ID NO:6169的氨基酸序列。

[0793] 在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括重链,所述重链包括SEQ ID NO:6168的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6168具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列),和轻链,所述轻链包括SEQ ID NO:6169的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6169具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。在一些实施方案中,靶向TRBC1的抗原结合域包括重链,所述重链包括SEQ ID NO:6168的氨基酸序列,和包括轻链,所述轻链包括

SEQ ID NO:6169的氨基酸序列。

[0794] 表2.源自JOVI.1的TRBC1靶向抗原结合域的示例性重链CDR和FWR

[0795]

Ab ID	VHFWR1	VHCDR1	VHFWR2	VHCDR2	VHFWR3	VHCDR3	VHFWR4
mJOVI.1-H	EVRLQQSGPDLIKPGASVKMSCKASGYT (SEQ ID NO: 203)	FTGYVMH (SEQ ID NO: 200)	WVKQRPGQGLEWIG (SEQ ID NO: 204)	FINPYNDDIQSNERFRG (SEQ ID NO: 201)	KATLTSDKSSTTAYMELSSLTSEDSAVYYCAR (SEQ ID NO: 205)	GAGYNFDGAYRFFDF (SEQ ID NO: 202)	WGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 206)
h1JOVI.1-H	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYT (SEQ ID NO: 207)	FTGYVMH (SEQ ID NO: 200)	WVRQAPGQGLEWMG (SEQ ID NO: 208)	FINPYNDDIQSNERFRG (SEQ ID NO: 201)	RVTMTSDKSTTTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 209)	GAGYNFDGAYRFFDF (SEQ ID NO: 202)	WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 210)
h2JOVI.1-H	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYT (SEQ ID NO: 211)	FTGYVMH (SEQ ID NO: 200)	WVRQAPGQGLEWMG (SEQ ID NO: 212)	FINPYNDDIQSNERFRG (SEQ ID NO: 201)	WVTMTSDKSITTAYMELSRLRSDDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 213)	GAGYNFDGAYRFFDF (SEQ ID NO: 202)	WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 214)
h3JOVI.1-H	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYT (SEQ ID NO: 215)	FTGYVMH (SEQ ID NO: 200)	WVRQAPGQGLEWMG (SEQ ID NO: 216)	FINPYNDDIQSNERFRG (SEQ ID NO: 201)	RVTITSDKSTTTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 217)	GAGYNFDGAYRFFDF (SEQ ID NO: 202)	WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 218)
h4JOVI.1-H	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYT (SEQ ID NO: 219)	FTGYVMH (SEQ ID NO: 200)	WVRQAPGQRLEWMG (SEQ ID NO: 220)	FINPYNDDIQSNERFRG (SEQ ID NO: 201)	RVTITSDKSATTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 221)	GAGYNFDGAYRFFDF (SEQ ID NO: 202)	WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 222)

[0796] 表6.源自JOVI.1的TRBC1靶向抗原结合域的示例性重链CDR和FWR(根据Kabat编号方案)

[0797]

Ab ID	VHFWR1	VHCDR1	VHFWR2	VHCDR2	VHFWR3	VHCDR3	VHFWR4
mJOVI.1-H	EVRLQQSG PDLIKPGA SVKMSCKA SGYTFT (SEQ ID NO: 7370)	GYVMH (SEQ ID NO: 7346)	WVKQRPGQ GLEWIG (SEQ ID NO: 204)	FINPYNDD IQSNERFR G (SEQ ID NO: 201)	KATLTSDK SSTTAYME LSSLTSED SAVYYCAR (SEQ ID NO: 205)	GAGYNFDG AYRFFDF (SEQ ID NO: 202)	WGQGTTLT VSS (SEQ ID NO: 206)
h1JOVI.1-H	QVQLVQSG AEVKKPGA SVKVSCKA SGYTFT (SEQ ID NO: 7348)	GYVMH (SEQ ID NO: 7346)	WVRQAPGQ GLEWMG (SEQ ID NO: 208)	FINPYNDD IQSNERFR G (SEQ ID NO: 201)	RVTMTSDK STTTAYME LSSLRSED TAVYYCAR (SEQ ID NO: 209)	GAGYNFDG AYRFFDF (SEQ ID NO: 202)	WGQGTLVT VSS (SEQ ID NO: 210)
h2JOVI.1-H	QVQLVQSG AEVKKPGA SVKVSCKA SGYTFT (SEQ ID NO: 7348)	GYVMH (SEQ ID NO: 7346)	WVRQAPGQ GLEWMG (SEQ ID NO: 212)	FINPYNDD IQSNERFR G (SEQ ID NO: 201)	WVTMTSDK SITTAYME LSRLRSDD TAVYYCAR (SEQ ID NO: 213)	GAGYNFDG AYRFFDF (SEQ ID NO: 202)	WGQGTLVT VSS (SEQ ID NO: 214)
h3JOVI.1-H	QVQLVQSG AEVKKPGS SVKVSCKA SGYTFT (SEQ ID NO: 7345)	GYVMH (SEQ ID NO: 7346)	WVRQAPGQ GLEWMG (SEQ ID NO: 216)	FINPYNDD IQSNERFR G (SEQ ID NO: 201)	RVTITSDK STTTAYME LSSLRSED TAVYYCAR (SEQ ID NO: 217)	GAGYNFDG AYRFFDF (SEQ ID NO: 202)	WGQGTLVT VSS (SEQ ID NO: 218)
h4JOVI.1-H	QVQLVQSG AEVKKPGA SVKVSCKA SGYTFT (SEQ ID NO: 7348)	GYVMH (SEQ ID NO: 7346)	WVRQAPGQ RLEWMG (SEQ ID NO: 220)	FINPYNDD IQSNERFR G (SEQ ID NO: 201)	RVTITSDK SATTAYME LSSLRSED TAVYYCAR (SEQ ID NO: 221)	GAGYNFDG AYRFFDF (SEQ ID NO: 202)	WGQGTLVT VSS (SEQ ID NO: 222)
h5JOVI.1-H	QVQLVQSG AEVKKPGS SVKVSCKA SGYTFT (SEQ ID NO: 7345)	GYVMH (SEQ ID NO: 7346)	WVRQAPGQ GLEWMG (SEQ ID NO: 208)	FINPYNDD IQSNERFR G (SEQ ID NO: 201)	RVTITSDK STTTAYME LSSLRSED TAVYYCAR (SEQ ID NO: 217)	GAGYNFDG AYRFFDF (SEQ ID NO: 202)	WGQGTTVT VSS (SEQ ID NO: 7347)
h6JOVI.1-H	QVQLVQSG AEVKKPGA SVKVSCKA SGYTFT (SEQ ID NO: 7348)	GYVMH (SEQ ID NO: 7346)	WVRQAPGQ GLEWMG (SEQ ID NO: 208)	FINPYNDD IQSNERFR G (SEQ ID NO: 201)	RVTMTSDK SITTAYME LSRLRSDD TAVYYCAR (SEQ ID NO: 7349)	GAGYNFDG AYRFFDF (SEQ ID NO: 202)	WGQGTTVT VSS (SEQ ID NO: 7347)
H1 种系-VH	QVQLVQSG AEVKKPGS SVKVSCKA SGYTFS (SEQ ID NO: 7353)	GYAIS (SEQ ID NO: 7354)	WVRQAPGQ GLEWMG (SEQ ID NO: 208)	FINPYNDD IQSNERFR G (SEQ ID NO: 201)	RVTITSDK STTTAYME LSSLRSED TAVYYCAR (SEQ ID NO: 217)	GAGYNFDG AYRFFDF (SEQ ID NO: 202)	WGQGTLVT VSS (SEQ ID NO: 210)
H2 种系-VH	QVQLVQSG AEVKKPGS SVKVSCKA SGYTFT (SEQ ID NO: 7345)	GYVMH (SEQ ID NO: 7346)	WVRQAPGQ GLEWMG (SEQ ID NO: 208)	FIIPIFGT ANYAQKFQ G (SEQ ID NO: 7355)	RVTITSDK STTTAYME LSSLRSED TAVYYCAR (SEQ ID NO: 217)	GAGYNFDG AYRFFDF (SEQ ID NO: 202)	WGQGTLVT VSS (SEQ ID NO: 210)
H1/H2 种系-VH	QVQLVQSG AEVKKPGS SVKVSCKA SGYTFS (SEQ ID NO: 7353)	GYAIS (SEQ ID NO: 7354)	WVRQAPGQ GLEWMG (SEQ ID NO: 208)	FIIPIFGT ANYAQKFQ G (SEQ ID NO: 7355)	RVTITSDK STTTAYME LSSLRSED TAVYYCAR (SEQ ID NO: 217)	GAGYNFDG AYRFFDF (SEQ ID NO: 202)	WGQGTLVT VSS (SEQ ID NO: 210)

[0798] 表3.源自JOVI.1的TRBC1靶向抗原结合域的示例性轻链CDR和FWR

[0799]

Ab ID	FWR1	CDR1	FWR2	CDR2	FWR3	CDR3	FWR4
mJOVI.1-L	DVVMTQSP LSLPVSLG DQASISC (SEQ ID NO: 226)	RSSQRLVH SNGNTYLH (SEQ ID NO: 223)	WYLQKPGQ SPKLLIY (SEQ ID NO: 227)	RVSNRFP (SEQ ID NO: 224)	GVPDRFSG SGSGTDFT LKISRVEA EDLGIYFC (SEQ ID NO: 228)	SQSTHVPY T (SEQ ID NO: 225)	FGGGTKLE IK (SEQ ID NO: 229)
h1JOVI.1-L	DVVMTQSP LSLPVTPG EPASISC (SEQ ID NO: 230)	RSSQRLVH SNGNTYLH (SEQ ID NO: 223)	WYLQKPGQ SPQLLIY (SEQ ID NO: 231)	RVSNRFP (SEQ ID NO: 224)	GVPDRFSG SGSGTDFT LKISRVEA EDVGVYFC (SEQ ID NO: 232)	SQSTHVPY T (SEQ ID NO: 225)	FGGGTKVE IK (SEQ ID NO: 233)
h2JOVI.1-L	EVVMTQSP GTLSLSPG ERATLSC (SEQ ID NO: 234)	RSSQRLVH SNGNTYLH (SEQ ID NO: 223)	WYQQKPGQ APRLLIY (SEQ ID NO: 235)	RVSNRFP (SEQ ID NO: 224)	GIPDRFSG SGSGTDFT LTISRLEP EDFAVYFC (SEQ ID NO: 236)	SQSTHVPY T (SEQ ID NO: 225)	FGGGTKVE IK (SEQ ID NO: 237)
h3JOVI.1-L	DVVMTQSP LSLPVTLG QPASISC (SEQ ID NO: 238)	RSSQRLVH SNGNTYLH (SEQ ID NO: 223)	WYQQRPGQ SPRLLIY (SEQ ID NO: 239)	RVSNRFP (SEQ ID NO: 224)	GVPDRFSG SGSGTDFT LKISRVEA EDVGVYFC (SEQ ID NO: 240)	SQSTHVPY T (SEQ ID NO: 225)	FGGGTKVE IK (SEQ ID NO: 241)
h4JOVI.1-L	DVVMTQTP LSLPVTPG EPASISC (SEQ ID NO: 242)	RSSQRLVH SNGNTYLH (SEQ ID NO: 223)	WYLQKPGQ SPQLLIY (SEQ ID NO: 243)	RVSNRFP (SEQ ID NO: 224)	GVPDRFSG SGSGTDFT LKISRVEA EDVGVYFC (SEQ ID NO: 244)	SQSTHVPY T (SEQ ID NO: 225)	FGGGTKVE IK (SEQ ID NO: 245)
h5JOVI.1-L	DVVMTQTP LSLSVTPG QPASISC (SEQ ID NO: 246)	RSSQRLVH SNGNTYLH (SEQ ID NO: 223)	WYLQKPGQ SPQLLIY (SEQ ID NO: 247)	RVSNRFP (SEQ ID NO: 224)	GVPDRFSG SGSGTDFT LKISRVEA EDVGVYFC (SEQ ID NO: 248)	SQSTHVPY T (SEQ ID NO: 225)	FGGGTKVE IK (SEQ ID NO: 249)
L1 种系-VL	DVVMTQSP LSLPVTLG QPASISC (SEQ ID NO: 238)	RSSQSLVY SDGNTYH (SEQ ID NO: 7367)	WYQQRPGQ SPRLLIY (SEQ ID NO: 239)	RVSNRFP (SEQ ID NO: 224)	GVPDRFSG SGSGTDFT LKISRVEA EDVGVYFC (SEQ ID NO: 232)	SQSTHVPY T (SEQ ID NO: 225)	FGGGTKVE IK (SEQ ID NO: 233)
L2 种系-VL	DVVMTQSP LSLPVTLG QPASISC (SEQ ID NO: 238)	RSSQRLVH SNGNTYLH (SEQ ID NO: 223)	WYQQRPGQ SPRLLIY (SEQ ID NO: 239)	KVSNRDS (SEQ ID NO: 7368)	GVPDRFSG SGSGTDFT LKISRVEA EDVGVYFC (SEQ ID NO: 232)	SQSTHVPY T (SEQ ID NO: 225)	FGGGTKVE IK (SEQ ID NO: 233)
L3 种系-VL	DVVMTQSP LSLPVTLG QPASISC (SEQ ID NO: 238)	RSSQRLVH SNGNTYLH (SEQ ID NO: 223)	WYQQRPGQ SPRLLIY (SEQ ID NO: 239)	RVSNRFP (SEQ ID NO: 224)	GVPDRFSG SGSGTDFT LKISRVEA EDVGVYFC (SEQ ID NO: 232)	MQSTHWPY T (SEQ ID NO: 7369)	FGGGTKVE IK (SEQ ID NO: 233
L1/L2/L3 种系-VL	DVVMTQSP LSLPVTLG QPASISC (SEQ ID NO: 238)	RSSQSLVY SDGNTYH (SEQ ID NO: 7367)	WYQQRPGQ SPRLLIY (SEQ ID NO: 239)	KVSNRDS (SEQ ID NO: 7368)	GVPDRFSG SGSGTDFT LKISRVEA EDVGVYFC (SEQ ID NO: 232)	MQSTHWPY T (SEQ ID NO: 7369)	FGGGTKVE IK (SEQ ID NO: 233)

[0800] 表4.TRBC1靶向抗原结合域的示例性可变区

[0801]

SEQ ID NO	Ab ID	描述	序列
SEQ ID NO: 250	mJOVI.1-H	JOVI.1 重链可变区	EVRLQQSGPDLIKPGASVKMSCKASGYTFTGYVMHWVKQRPGQGLEWIGFINPYNDDIQSNERFRGKATLTSDKSSTTAYMELSSLTSEDSAVYYCARGAGYNFDGAYRFFDFWGQGTTLTVSS
SEQ ID NO: 251	h1JOVI.1-H	JOVI.1 重链可变区人源化变体 1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYVMHWVRQAPGQGLEWMGFINPYNDDIQSNERFRGRVTMTSDKSTTTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGAGYNFDGAYRFFDFWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 252	h2JOVI.1-H	JOVI.1 重链可变区人源化变体 2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYVMHWVRQAPGQGLEWMGFINPYNDDIQSNERFRGWVTMTSDKSITTAYMELSRLRSDDTAVYYCARGAGYNFDGAYRFFDFWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 253	h3JOVI.1-H	JOVI.1 重链可变区人源化变体 3	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTGYVMHWVRQAPGQGLEWMGFINPYNDDIQSNERFRGRVTITSDKSTTTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGAGYNFDGAYRFFDFWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 254	h4JOVI.1-H	JOVI.1 重链可变区人源化变体 4	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYVMHWVRQAPGQRLEWMGFINPYNDDIQSNERFRGRVTITSDKSATTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGAGYNFDGAYRFFDFWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 7343	h5JOVI.1-H	JOVI.1 重链可变区人源化变体 5	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTGYVMHWVRQAPGQGLEWMGFINPYNDDIQSNERFRGRVTITSDKSTTTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGAGYNFDGAYRFFDFWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 7344	h6JOVI.1-H	JOVI.1 重链可变区人源化变体 6	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYVMHWVRQAPGQGLEWMGFINPYNDDIQSNERFRGRVTMTSDKSITTAYMELSRLRSDDTAVYYCARGAGYNFDGAYRFFDFWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 7350	H1 种系-VH	JOVI.1 重链可变区人源化 H1	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSGYAISWVRQAPGQGLEWMGFINPYNDDIQSNERFRGRVTITSDKSTTTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGAGYNFDGAYRFFDFWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 7351	H2 种系-VH	JOVI.1 重链可变区人源化 H2	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTGYVMHWVRQAPGQGLEWMGFIIPIFGTANYAQKFQGRVTITSDKSTTTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGAGYNFDGAYRFFDFWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 7352	H1/H2 种系-VH	JOVI.1 重链可变区人源化 H1/H2	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSGYAISWVRQAPGQGLEWMGFIIPIFGTANYAQKFQGRVTITSDKSTTTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGAGYNFDGAYRFFDFWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 255	mJOVI.1-L	JOVI.1 轻链可变区	DVVMTQSPLSLPVSLGDQASISCRSSQRLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPKLLIYRVSNRFPGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGIYFCSQSTHVPYTFGGGTKLEIK
SEQ ID NO: 256	h1JOVI.1-L	JOVI.1 轻链可变区人源化变体 1	DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQRLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLIYRVSNRFPGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCSQSTHVPYTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 257	h2JOVI.1-L	JOVI.1 轻链可变区人源化变体 2	EVVMTQSPGTLSLSPGERATLSCRSSQRLVHSNGNTYLHWYQQKPGQAPRLLIYRVSNRFPGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYFCSQSTHVPYTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 258	h3JOVI.1-L	JOVI.1 轻链可变区人源化变体 3	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQRLVHSNGNTYLHWYQQRPGQSPRLLIYRVSNRFPGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCSQSTHVPYTFGGGTKVEIK

[0802]

SEQ ID NO: 259	h4JOVI.1-L	JOVI.1 轻链可变区人源化变体 4	DVVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQRLVHSNGNTYLHWY LQKPGQSPQLLIYRVSNRFPGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRV EAEDVGVYFCSQSTHVPYTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 260	h5JOVI.1-L	JOVI.1 轻链可变区人源化变体 5	DVVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQRLVHSNGNTYLHW YLQKPGQSPQLLIYRVSNRFPGVPDRFSGSGSGTDFTLKISR VEAEDVGVYFCSQSTHVPYTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 7357	L1 种系-VL	JOVI.1 轻链可变区人源化 L1	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYSDGNTYHWY QQRPGQSPRLLIYRVSNRFPGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRV EAEDVGVYFCSQSTHVPYTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 7358	L2 种系-VL	JOVI.1 轻链可变区人源化 L	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQRLVHSNGNTYLHW YQQRPGQSPRLLIYKVSNRDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISR VEAEDVGVYFCSQSTHVPYTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 7359	L3 种系-VL	JOVI.1 轻链可变区人源化 L	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQRLVHSNGNTYLHW YQQRPGQSPRLLIYRVSNRFPGVPDRFSGSGSGTDFTLKISR VEAEDVGVYFCMQSTHWPYTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 7360	L1/L2/L3 种系-VL	JOVI.1 轻链可变区人源化 L1/L2/L3	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYSDGNTYHWY QQRPGQSPRLLIYKVSNRDSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRV EAEDVGVYFCMQSTHWPYTFGGGTKVEIK

[0803] 表5.示例性TRBC1靶向抗原结合域/抗体分子

SEQ ID NO	Ab ID	描述	序列
SEQ ID NO: 6154	Ch(抗 TRBC1)HC N297A	抗 TRBC1 重链	EVRLQQSGPDLIKPGASVKMSCKASGYTFTGYVMHWVKQ RPGQGLEWIGFINPYNDDIQSNERFRGKATLTSDKSSTTAY MELSSLTSEDSAVYYCARGAGYNFDGAYRFFDFWGQGTT LTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREE MTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 6155	Ch(抗 TRBC1)HC	抗 TRBC1 重链	EVRLQQSGPDLIKPGASVKMSCKASGYTFTGYVMHWVKQ RPGQGLEWIGFINPYNDDIQSNERFRGKATLTSDKSSTTAY MELSSLTSEDSAVYYCARGAGYNFDGAYRFFDFWGQGTT LTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREE MTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 6156	Ch(抗 TRBC1) LC	抗 TRBC1 轻链，例如，LC Fab	DVVMTQSPLSLPVSLGDQASISCRSSQRLVHSNGNTYLHW YLQKPGQSPKLLIYRVSNRFPGVPDRFSGSGSGTDFTLKISR VEAEDLGIYFCSQSTHVPYTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC

	SEQ ID NO: 6191	Ch(抗TRBC1)HC	抗 TRBC1 重链，例如，HC Fab	EVRLQQSGPDLIKPGASVKMSCKASGYTFTGYVMHWVKQRPGQGLEWIGFINPYNDDIQSNERFRGKATLTSDKSSTTAYMELSSLTSEDSAVYYCARGAGYNFDGAYRFFDFWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC
	SEQ ID NO: 6167	a_hTRBC1_Jovi1_Hum5_VH-hCHIg_白_Cys-空白	抗 TRBC1 重链	METDTLLLWVLLLWVPGSTGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTGYVMHWVRQAPGQGLEWMGFINPYNDDIQSNERFRGRVTITSDKSTTTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGAGYNFDGAYRFFDFWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
[0805]	SEQ ID NO: 6168	a_hTRBC1_Jovi1_Hum5_VH-hCHIg-空白	抗 TRBC1 重链	METDTLLLWVLLLWVPGSTGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTGYVMHWVRQAPGQGLEWMGFINPYNDDIQSNERFRGRVTITSDKSTTTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGAGYNFDGAYRFFDFWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
	SEQ ID NO: 6169	a_hTRBC1_Jovi1_Hum3_VL-hCLIg_vk-空白	抗 TRBC1 轻链	METDTLLLWVLLLWVPGSTGDVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQRLVHSNGNTYLHWYQQRPGQSPRLLIYRVSNRFPGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCSQSTHVPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0806] 与TRBC1/TRBC2和NKp30结合的抗体分子

[0807] 在一些实施方案中,本公开内容的特征在于与TRBC1和NKp30结合的多功能抗体分子。在一些实施方案中,多功能抗体分子包括图29A-29D中任一个所示的构型。在一些实施方案中,多功能抗体分子包括抗TRBC1 Fab。在一些实施方案中,多功能抗体分子包括抗TRBC1 scFv。在一些实施方案中,多功能抗体分子包括抗NKp30 Fab。在一些实施方案中,多功能抗体分子包括抗NKp30 scFv。在一些实施方案中,多功能抗体分子包括抗TRBC1 Fab和抗NKp30 scFv,例如,包括图29A所示的构型。在一些实施方案中,多功能抗体分子包括抗TRBC1 Fab和抗NKp30 Fab,例如,包括图29B所示的构型。在一些实施方案中,多功能抗体分子包括抗NKp30 Fab和抗TRBC1 scFv,例如,包括图29C所示的构型。在一些实施方案中,多功能抗体分子包括抗TRBC1 scFv和抗NKp30 scFv,例如,包括图29D所示的构型。在一些实施方案中,多功能抗体分子包括本文公开的抗TRBC1抗原结合域。在一些实施方案中,多功能抗体分子包括本文公开的抗NKp30抗原结合域。

[0808] 在一些实施方案中,与TRBC1和NKp30结合的示例性多功能抗体分子在表19中公开。

[0809] 在一些实施方案中,多功能抗体分子包括SEQ ID NO:7351(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)的抗TRBC1VH、SEQ ID NO:258(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)的抗TRBC1 VL、SEQ ID NO:7302(或与其具有至少85%、

90％、95％或99％同一性的序列)的抗NKp30 VH、和SEQ ID NO:7309(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)的抗NKp30 VL。在一些实施方案中,抗TRBC1/NKp30抗体分子包括SEQ ID NO:7351(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)的抗TRBC1 VH、SEQ ID NO:258(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)的抗TRBC1 VL、和SEQ ID NO:7311(或序列具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)的NKp30 scFv。在一些实施方案中,抗TRBC1/NKp30抗体分子包括SEQ ID NO:7382、7380和7383(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)。

[0810] 在一些实施方案中,多功能抗体分子包括SEQ ID NO:253的抗TRBC1 VH(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)、SEQ ID NO:258的抗TRBC1 VL(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)、SEQ ID NO:7302的抗NKp30 VH(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)、和SEQ ID NO:7309的抗NKp30 VL(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)。在一些实施方案中,抗TRBC1/NKp30抗体分子包括SEQ ID NO:253的抗TRBC1 VH(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)、SEQ ID NO:258(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)的抗TRBC1 VL、和SEQ ID NO:7311(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)的抗NKp30 scFv。在一些实施方案中,抗TRBC1/NKp30抗体分子包括SEQ ID NO:7379、7380和7383(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)。

[0811] 在一些实施方案中,多功能抗体分子包括SEQ ID NO:7351的抗TRBC1 VH(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)、SEQ ID NO:258的抗TRBC1 VL(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)、SEQ ID NO:7302的抗NKp30 VH(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)、和SEQ ID NO:7305的抗NKp30 VL(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)。在一些实施方案中,抗TRBC1/NKp30抗体分子包括SEQ ID NO:7351的抗TRBC1 VH(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)、SEQ ID NO:258的抗TRBC1 VL(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)、和SEQ ID NO:7310的抗NKp30 scFv(或具有至少85％、90％、95％或99％的同一性)。在一些实施方案中,抗TRBC1/NKp30抗体分子包括SEQ ID NO:7382、7380和7384(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)。

[0812] 在一些实施方案中,多功能抗体分子包括SEQ ID NO:253的抗TRBC1 VH(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)、SEQ ID NO:258的抗TRBC1 VL(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)、SEQ ID NO:7302的抗NKp30 VH(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)、和SEQ ID NO:7305的抗NKp30 VL(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)。在一些实施方案中,抗TRBC1/NKp30抗体分子包括SEQ ID NO:253的抗TRBC1 VH(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)、SEQ ID NO:258的抗TRBC1 VL(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)、和SEQ ID NO:7310的抗NKp30 scFv(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)。在一些实施方案中,抗TRBC1/NKp30抗体分子包括SEQ ID NO:7379、7380和7384(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)。

[0813] 表19与TRBC1和NKp30结合的示例性抗体分子

[0814]

SEQ ID NO	描述	序列
BJM0772		
SEQ ID NO: 7379	抗 TRBC1 HC	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTGYVMHWVRQAPGQ GLEWMGFINPYNDDIQSNERFRGRVTITSDKSTTTAYMELSSLRSE DTAVYYCARGAGYNFDGAYRFFDFWGQGTLVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEP KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK
SEQ ID NO: 7380	抗 TRBC1 LC	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQRLVHSNGNTYLHWYQQRP GQSPRLLIYRVSNRFPGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVY FCSQSTHVPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 7381	抗 NKp30 15E1 scFv-Fc	QIQLQESGPGLVKPSQSLSLSCSVTGFSITTTGYHWNWIRQFPGKK LEWMGYIYSSGSTSYNPSLKSRFSITRDTSKNQFFLQLNSVTTEDT ATYYCARGDWHYFDYWGPGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSG GGGSSFTLTQPPLVSVAVGQVATITCSGEKLSDKYVHWYQQKPG RAPVMVIYENDRRPSGIPDQFSGSNSGNIASLTISKAQAGDEADYF CQFWDSTNSAVFGGGTQLTVLDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNRFTQKSLSLSPGK
BJM1042		

[0815]

SEQ ID NO: 7382	抗 TRBC1 HC	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTGYVMHWVRQAPGQ GLEWMGFIIPIFGTANYAQKFQGRVTITSDKSTTTAYMELSSLRSE DTAVYYCARGAGYNFDGAYRFFDFWGQGTLVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEP KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK
SEQ ID NO: 7380	抗 TRBC1 LC	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQRLVHSNGNTYLHWYQQRP GQSPRLLIYRVSNRFPGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVY FCSQSTHVPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 7383	抗 NKp30 人源化 15E1 scFv-Fc	EIQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSITTTGYHWNWVRQAPGK GLEWVGYIYSSGSTSYNPSLKSRFTISRDTSKNTFYLQMNSLRAED TAVYYCARGDWHYFDYWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS GGGGSDSVTTQSPLSLPVTLGQPASISCSGEKLSDKYVHWYQQRP GQSPRMLIYENDRRPSGVPDRFSGSNSGNDATLKISRVEAEDVGV YFCQFWDSTNSAVFGGGTKVEIKDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
BJM1052		
SEQ ID NO: 7379	抗 TRBC1 HC	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTGYVMHWVRQAPGQ GLEWMGFINPYNDDIQSNERFRGRVTITSDKSTTTAYMELSSLRSE DTAVYYCARGAGYNFDGAYRFFDFWGQGTLVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEP KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK
SEQ ID NO: 7380	抗 TRBC1 LC	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQRLVHSNGNTYLHWYQQRP GQSPRLLIYRVSNRFPGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVY FCSQSTHVPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0816]

SEQ ID NO: 7383	抗 NKp30 人源化 15E1 scFv-Fc	EIQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSITTTGYHWNWVRQAPGK GLEWVGYIYSSGSTSYNPSLKSRFTISRDTSKNTFYLQMNSLRAED TAVYYCARGDWHYFDYWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS GGGGSDSVTTQSPLSLPVTLGQPASISCSGEKLSDKYVHWYQQRP GQSPRMLIYENDRRPSGVPDRFSGSNSGNDATLKISRVEAEDVGV YFCQFWDSTNSAVFGGGTKVEIKDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
BJM1038		
SEQ ID NO: 7382	抗 TRBC1 HC	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTGYVMHWVRQAPGQ GLEWMGFIIPIFGTANYAQKFQGRVTITSDKSTTTAYMELSSLRSE DTAVYYCARGAGYNFDGAYRFFDFWGQGTLVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEP KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK
SEQ ID NO: 7380	抗 TRBC1 LC	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQRLVHSNGNTYLHWYQQRP GQSPRLLIYRVSNRFPGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVY FCSQSTHVPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 7384	抗 NKp30 人源化 15E1 scFv-Fc	EIQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSITTTGYHWNWVRQAPGK GLEWVGYIYSSGSTSYNPSLKSRFTISRDTSKNTFYLQMNSLRAED TAVYYCARGDWHYFDYWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS GGGGSSSETTQPPSVSVSPGQTASITCSGEKLSDKYVHWYQQKPG QSPVMVIYENDRRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYF CQFWDSTNSAVFGGGTQLTVLDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
BJM1048		
SEQ ID NO: 7379	抗 TRBC1 HC	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTGYVMHWVRQAPGQ GLEWMGFINPYNDDIQSNERFRGRVTITSDKSTTTAYMELSSLRSE DTAVYYCARGAGYNFDGAYRFFDFWGQGTLVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEP KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK

[0817]

SEQ ID NO: 7380	抗 TRBC1 LC	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQRLVHSNGNTYLHWYQQRP GQSPRLLIYRVSNRFPGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVY FCSQSTHVPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 7384	抗 NKp30 人源化 15 E1 scFv-Fc	EIQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSITTTGYHWNWVRQAPGK GLEWVGYIYSSGSTSYNPSLKSRFTISRDTSKNTFYLQMNSLRAED TAVYYCARGDWHYFDYWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS GGGGSSSETTQPPSVSVSPGQTASITCSGEKLSDKYVHWYQQKPG QSPVMVIYENDRRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYF CQFWDSTNSAVFGGGTQLTVLDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0818] 在一些实施方案中,本公开内容的特征在于与TRBC2和NKp30结合的多功能抗体分子。在一些实施方案中,多功能抗体分子包括图30A-30D中任一个所示的构型。在一些实施方案中,多功能抗体分子包括抗TRBC2 Fab。在一些实施方案中,多功能抗体分子包括抗TRBC2 scFv。在一些实施方案中,多功能抗体分子包括抗NKp30 Fab。在一些实施方案中,多功能抗体分子包括抗NKp30 scFv。在一些实施方案中,多功能抗体分子包括抗TRBC2 Fab和抗NKp30 scFv,例如,包括图30A所示的构型。在一些实施方案中,多功能抗体分子包括抗TRBC2 Fab和抗NKp30 Fab,例如,包括图30B所示的构型。在一些实施方案中,多功能抗体分子包括抗NKp30 Fab和抗TRBC2 scFv,例如,包括图30C所示的构型。在一些实施方案中,多功能抗体分子包括抗TRBC2 scFv和抗NKp30 scFv,例如,包括图30D所示的构型。在一些实施方案中,多功能抗体分子包括本文公开的抗TRBC2抗原结合域。在一些实施方案中,多功能抗体分子包括本文公开的抗NKp30抗原结合域。

[0819] 多功能抗体效应子功能和Fc变体

[0820] 在一些实施方案中,本文公开的多功能分子(例如,抗TRBC1/NKp30抗体分子或抗TRBC2/NKp30抗体分子)包括Fc区,例如,如本文所述。在一些实施方案中,Fc区是野生型Fc区,例如,野生型人Fc区。在一些实施方案中,Fc区包括变体,例如,在Fc区中包括至少一个氨基酸残基的添加、置换或缺失的Fc区,该添加、置换或缺失导致例如对至少一种Fc受体的亲和力降低或消除。

[0821] 抗体的Fc区与许多受体或配体(包括Fc受体(例如,Fcγ RI、Fcγ RIIA、Fcγ RIIIA)、补体蛋白C1q和其他分子(例如蛋白A和G))相互作用。这些相互作用对于包括以下各项的各种效应子功能和下游信号传导事件至关重要:抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)、抗体依赖性细胞吞噬作用(ADCP)和补体依赖性细胞毒性(CDC)。

[0822] 在一些实施方案中,包括变体Fc区的多功能分子(例如,抗TRBC1/NKp30抗体分子或抗TRBC2/NKp30抗体分子)对Fc受体(例如,本文所述的Fc受体)的亲和力已降低,例如,消除。在一些实施方案中,降低的亲和力是与具有野生型Fc区的其他方面相似的抗体比较。

[0823] 在一些实施方案中,包括变体Fc区的多功能分子(例如,抗TRBC1/NKp30抗体分子或抗TRBC2/NKp30抗体分子)具有以下一种或多种特性:(1)效应子功能降低(例如,ADCC、ADCP和/或CDC降低);(2)与一种或多种Fc受体的结合降低;和/或(3)与C1q补体的结合降低。在一些实施方案中,特性(1)-(3)中任一项或全部的降低是与具有野生型Fc区的其他方

面相似的抗体比较。

[0824] 在一些实施方案中,包括变体Fc区的多功能分子(例如,抗TRBC1/NKp30抗体分子或抗TRBC2/NKp30抗体分子)对人Fc受体(例如,FcγR I、FcγR II和/或FcγR III)具有降低的亲和力。在一些实施方案中,包括变体Fc区的多功能分子(例如,抗TRBC1/NKp30抗体分子或抗TRBC2/NKp30抗体分子)包括人IgG1区或人IgG4区。

[0825] 示例性Fc区变体在表20中提供并且还在Saunders O,(2019)Frontiers in Immunology;vol 10,article1296中公开,其全部内容通过引用并入本文。

[0826] 在一些实施方案中,多功能分子(例如,抗TRBC1/NKp30抗体分子或抗TRBC2/NKp30抗体分子)包括表20中公开的Fc区变体(例如,突变)的任何一种或全部,或任何组合。在一些实施方案中,多功能分子(例如,抗TRBC1/NKp30抗体分子或抗TRBC2/NKp30抗体分子)包括Asn297Ala(N297A)突变。在一些实施方案中,多功能分子(例如,抗TRBC1/NKp30抗体分子或抗TRBC2/NKp30抗体分子)包括Leu234Ala/Leu235Ala(LALA)突变。

[0827] 表20:示例性Fc修饰

[0828]

修饰或突变	改变的效应子功能
Leu235Glu	ADCC;
Leu234Ala/Leu235Ala (LALA)	ADCC; ADCP; CDC
Ser228Pro/Leu235Glu	
Leu234Ala/Leu235Ala/Pro329Gly	ADCP
Pro331Ser/Leu234Glu/Leu235Phe	CDC
Asp265Ala	ADCC, ADCP
Gly237Ala	ADCP
Glu318Ala	ADCP
Glu233Pro	
Gly236Arg/Leu328Arg	ADCC
His268Gln/Val309Leu/Ala330Ser/Pro331Ser	ADCC; ADCP; CDC
Val234Ala/Gly237Ala/Pro238Ser/ His268Ala/Val309Leu/Ala330Ser/Pro331Ser	ADCC; ADCP; CDC
Leu234Ala/L235Ala/Gly237Ala/P238Ser/ His268Ala/Ala330Ser/Pro331Ser	ADCC; CDC
Ala330Leu	CDC
Asp270Ala	CDC
Lys322Ala	CDC
Pro329Ala	CDC
Pro331Ala	CDC
Val264Ala	CDC
高甘露糖糖基化	CDC
Phe241Ala	CDC

[0829]

Asn297Ala 或 Gly 或 Gln	ADCC; ADCP; CDC
S228P/Phe234Ala/Leu235Ala	ADCC; CDC

[0830] 靶向TRBC1的抗体分子

[0831] 在另一方面,本公开内容的特征在于与TRBC1结合的抗体分子,例如,单克隆抗体分子或其片段。

[0832] 在一些实施方案中,与TRBC1结合的抗体分子或其片段包括表2、表6或表3中公开的一个或多个CDR(例如,VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2和/或VLCDR3),或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列。在一些实施方案中,与TRBC1结合的抗体分子或其片段包括表2、表6、或表3中公开的一个或多个构架区(例如,VHFWR1、VHFWR2、VHFWR3、

VHFWR4、VLFWR1、VLFWR2、VLFWR3和/或VLFWR4),或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列。在一些实施方案中,与TRBC1结合的抗体分子或其片段包括表4中公开的VH和/或VL,或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列。在一些实施方案中,与TRBC1结合的抗体分子或其片段包括表5中公开的氨基酸序列,或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列。

[0833] 在一些实施方案中,与TRBC1结合的抗体分子或其片段包括VH,所述VH包括重链互补决定区1(VHCDR1)、VHCDR2和VHCDR3;和VL,所述VL包括轻链互补决定区1(VLCDR1)、VLCDR2和VLCDR3。

[0834] 在一些实施方案中,VHCDR1、VHCDR2和VHCDR3分别包括SEQ ID NO:7346、7355和202的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,VHCDR1、VHCDR2和VHCDR3分别包括SEQ ID NO:7346、201和202的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,VHCDR1、VHCDR2和VHCDR3分别包括SEQ ID NO:7354、201和202的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,VHCDR1、VHCDR2和VHCDR3分别包括SEQ ID NO:7354、7355和202的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。

[0835] 在一些实施方案中,VLCDR1、VLCDR2和VLCDR3分别包括SEQ ID NO:223、224和225的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,VLCDR1、VLCDR2和VLCDR3分别包括SEQ ID NO:7367、224和225的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,VLCDR1、VLCDR2和VLCDR3分别包括SEQ ID NO:223、7368和225的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,VLCDR1、VLCDR2和VLCDR3分别包括SEQ ID NO:223、224和7369的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,VLCDR1、VLCDR2和VLCDR3分别包括SEQ ID NO:7367、7368和7369的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。

[0836] 在一些实施方案中,VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2和VLCDR3分别包括SEQ ID NO:7346、7355、202、223、224和225的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2和VLCDR3分别包括SEQ ID NO:7346、201、202、223、224和225的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2和VLCDR3包括以下项的氨基酸序列:分别为SEQ ID NO:7346、7355、202、7367、224和225(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列);分别为SEQ ID NO:7346、7355、202、223、7368和225(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列);分别为SEQ ID NO:7346、7355、202、223、224和7369(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列);分别为SEQ ID NO:7346、7355、202、7367、7368和7369(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列);分别为SEQ ID NO:7346、201、202、7367、224和225(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列);分别为SEQ ID NO:7346、201、202、223、7368和225(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列);分别为SEQ ID NO:7346、201、202、223、224和7369(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序

列);分别为SEQ ID NO:7346、201、202、7367、7368和7369(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列);分别为SEQ ID NO:7354、201、202、223、224和225(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列);分别为SEQ ID NO:7354、201、202、7367、224和225(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列);分别为SEQ ID NO:7354、201、202、223、7368和225(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列);分别为SEQ ID NO:7354、201、202、223、224和7369(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列);分别为SEQ ID NO:7354、201、202、7367、7368和7369(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列);分别为SEQ ID NO:7354、7355、202、223、224和225(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列);分别为SEQ ID NO:7354、7355、202、7367、224和225(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列);分别为SEQ ID NO:7354、7355、202、223、7368和225(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列);分别为SEQ ID NO:7354、7355、202、223、224和7369(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列);或分别为SEQ ID NO:7354、7355、202、7367、7368和7369(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。

[0837] 在一些实施方案中,VH包括选自SEQ ID NO:7351、253、250-252、254、7343、7344、7350和7352的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)并且/或者VL包括选自SEQ ID NO:258、255-257、259、260和7357-7360的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,VH和VL分别包括SEQ ID NO:7351和258的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,VH和VL分别包括SEQ ID NO:253和258的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。

[0838] 在一些实施方案中,抗体分子或其片段包括:

[0839] 重链可变区(VH),所述重链可变区包括SEQ ID NO:215的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:216的VHFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:217的VHFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)和/或SEQ ID NO:218的VHFWR4氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列),以及

[0840] 轻链可变区(VL),所述轻链可变区包括SEQ ID NO:238的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:239的VLFWR2氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)、SEQ ID NO:240的VLFWR3氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)和/或SEQ ID NO:241的VLFWR4氨基酸序列(或与其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变(例如,置换、添加或缺失)的序列)。

[0841] 在一些实施方案中,抗体分子或其片段包括VH,所述VH包括SEQ ID NO:200的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:201的VHCDR2氨基酸序列和/或SEQ ID NO:202的VHCDR3氨基酸序列。

[0842] 在一些实施方案中,抗体分子或其片段包括VL,所述VL包括SEQ ID NO:223的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:224的VLCDR2氨基酸序列、和SEQ ID NO:225的VLCDR3氨基

酸序列。

[0843] 在一些实施方案中,抗体分子或其片段包括VH,所述VH包括SEQ ID NO:253的氨基酸序列(或与其具有至少约75%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列);和/或VL,所述VL包括SEQ ID NO:258的氨基酸序列(或与其具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。在一些实施方案中,抗体分子或其片段包括与SEQ ID NO:253和/或258基本上同源的VH和/或VL。

[0844] 在另一方面,本公开内容的特征在于抗体分子,例如,IgM抗体分子,其包括:(i)与T细胞受体β链恒定域1(TRBC1)或T细胞受体β链恒定域2(TRBC2)选择性结合的第一抗原结合域,和(ii)(例如通过结合C1q)激活补体途径的补体激活域。在一些实施方案中,抗体分子,例如,IgM抗体分子,包括靶向TRBC1的抗原结合域。在一些实施方案中,抗体分子是IgM抗体分子,例如,其多聚化为四聚体、五聚体和/或六聚体并且能够激活补体途径。在一些实施方案中,IgM抗体分子包括靶向TRBC1的抗原结合域,其包括重链,该重链包括SEQ ID NO:6173的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6173具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。METDTLLLWVLLLWVPGSTGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTGYVMHWVRQAPGQGLEWMGFINPYNDDIQSNERFRGRVTITSDKSTTTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGAGYNFDGAYRFFDFWGQGTLVTVSSGSASAPTLFPLVSCENSPSDTSSVAVGCLAQDFLPDSITFSWKYKNNSDISSTRGFPSVLRGGKYAATSQVLLPSKDVMQGTDEHVVCKVQHPNGNKEKNVPLPVIAELPPKVSVFVPPRDGFFGNPRKSKLICQATGFSPRQIQVSWLREGKQVGSGVTTDQVQAEAKESGPTTYKVTSTLTIKESDWLGQSMFTCRVDHRGLTFQQNASSMCVPDQDTAIRVFAIPPSFASIFLTKSTKLTCLVTDLTTYDSVTISWTRQNGEAVKTHTNISESHPNATFSAVGEASICEDDWNSGERFTCTVTHTDLPSPLKQTISRPKGVALHRPDVYLLPPAREQLNLRESATITCLVTGFSPADVFVQWMQRGQPLSPEKYVTSAPMPEPQAPGRYFAHSILTVSEEEWNTGETYTCVVAHEALPNRVTERTVDKSTGKPTLYNVSLVMSDTAGTCY(SEQ ID NO:6173)。

[0845] 在一些实施方案中,IgM抗体分子包括靶向TRBC1的抗原结合域,其包括轻链,该轻链包含SEQ ID NO:6174的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6174具有至少约93%、95%、或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[0846] MKNHLLFWGVLAVFIKAVHVKAQEDERIVLVDNKCKCARITSRIIRSSEDPNEDIVERNIRIIVPLNNRENISDPTSPLRTRFVYHLSDLCKKCDPTEVELDNQIVTATQSNICDEDSATETCYTYDRNKCYTAVVPLVYGGETKMVETALTPDACYPD(SEQ ID NO:6174)。

[0847] 在一些实施方案中,IgM抗体分子包括靶向TRBC1的抗原结合域,其包括SEQ ID NO:6173和6174的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6173和6174具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)和本文(例如,在表3或4中)提供的轻链序列的氨基酸序列。

[0848] 在一些实施方案中,补体激活域包括能够结合C1q或被C1 q结合的抗体分子的一部分,例如,IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA1、IgA2、IgD或IgE的一部分。在一些实施方案中,补体激活域包括Ch2、Ch3或Ch4域。

[0849] 不希望受理论束缚,认为在靶细胞(例如,表达TRBC1或TRBC2的细胞,例如,表达TRBC1或TRBC2的淋巴细胞,例如,表达TRBC1或TRBC2的淋巴瘤细胞)附近的补体激活可诱导靶细胞死亡。在一些实施方案中,在本文所述的方法中使用抗体分子(例如,IgM抗体分子)或多功能分子诱导靶细胞的补体介导的细胞死亡。

[0850] 在另一方面,本公开内容的特征在于与TRBC1和NKp30结合的多特异性抗体分子

(例如,双特异性抗体分子)。在一些实施方案中,多特异性抗体分子包括一个或多个与TRBC1结合的部分,例如,一个或多个与TRBC1结合的Fab,例如,一个或两个与TRBC1结合的Fab。在一些实施方案中,多特异性抗体分子包一个或多个与NKp30结合的部分,例如,一个或多个与NKp30结合的scFv,例如,一个或两个与NKp30结合的scFv。在一些实施方案中,与TRBC1结合的部分包括本文公开的抗TRBC1序列,例如,包括表2-5中公开的CDR、VH、VL、重链或轻链序列,或与其具有至少70%、80%、90%、95%或99%同一性的序列。在一些实施方案中,与NKp30结合的部分包括本文公开的抗NKp30序列,例如,包括表7-10中公开的CDR、VH、VL、重链或轻链序列,或与其具有至少70%、80%、90%、95%或99%同一性的序列。

[0851] 在一些实施方案中,多特异性抗体分子包括图1A所示的构型。在一些实施方案中,多特异性抗体分子包括抗TRBC1抗体分子和抗NKp30抗体分子,例如,包括两条重链和两条轻链的抗TRBC1抗体分子,以及与抗TRBC1抗体的一条重链的N-末端融合的抗NKp30scFv。在一些实施方案中,抗TRBC1抗体的两条重链形成异源二聚体,例如,通过杵臼结构突变。在一些实施方案中,抗TRBC1抗体的两条重链包括N297A突变。在一些实施方案中,抗TRBC1抗体的两条重链不包括N297A突变。在一些实施方案中,多特异性抗体分子包括第一链、第二链、第三链和第四链,其中第一链包括抗TRBC1轻链可变区(VL)和轻链恒定区(CL);第二链包括抗NKp30 scFv、抗TRBC1重链可变区(VH)、CH1、CH2和CH3;第三链包括抗TRBC1 VH、CH1、CH2和CH3;而第四链包括抗TRBC1 VL和CL。

[0852] 在一些实施方案中,多特异性抗体分子包括图1B中所示的构型。在一些实施方案中,多特异性抗体分子包括抗TRBC1抗体分子和抗NKp30抗体分子。在一些实施方案中,多特异性抗体分子包括抗TRBC1 Fab、抗NKp30 scFv、和包括两条Fc链的Fc二聚体。在一些实施方案中,抗TRBC1 Fab重链的C-末端与一条Fc链的N-末端融合,并且抗NKp30 scFv与另一条Fc链的N-末端融合。在一些实施方案中,两条Fc链形成异源二聚体,例如,通过杵臼结构突变。在一些实施方案中,两条Fc链包括N297A突变。在一些实施方案中,两条Fc链不包括N297A突变。在一些实施方案中,多特异性抗体分子包括第一链、第二链和第三链,其中第一链包括抗TRBC1 VL和CL;第二链包括抗TRBC1 VH、CH1、CH2和CH3;而第三链包括抗NKp30 scFv、CH2和CH3。

[0853] 在一些实施方案中,多特异性抗体分子包括图1C所示的构型。在一些实施方案中,多特异性抗体分子包括抗TRBC1抗体分子和抗NKp30抗体分子,例如,包括两条重链和两条轻链的抗TRBC1抗体分子,以及分别与抗TRBC1抗体分子的两条轻链的C-端融合的两个抗NKp30 scFv。在一些实施方案中,抗TRBC1抗体的两条重链形成同源二聚体。在一些实施方案中,抗TRBC1抗体的两条重链包括N297A突变。在一些实施方案中,抗TRBC1抗体的两条重链不包括N297A突变。在一些实施方案中,多特异性抗体分子包括第一链、第二链、第三链和第四链,其中第一链包括抗TRBC1 VL、CL和抗NKp30scFv;第二链包括抗TRBC1 VH、CH1、CH2和CH3;第三链包括抗TRBC1 VH、CH1、CH2和CH3;而第四链包括抗TRBC1 VL、CL和抗NKp30 scFv。

[0854] 在一些实施方案中,多特异性抗体分子包括图1D所示的构型。在一些实施方案中,多特异性抗体分子包括抗TRBC1抗体分子和抗NKp30抗体分子,例如,包括两条重链和两条轻链的抗TRBC1抗体分子,以及分别与抗TRBC1抗体分子的两条重链的N-末端融合的两个抗NKp30 scFv。在一些实施方案中,抗TRBC1抗体的两条重链形成同源二聚体。在一些实施方

案中,抗TRBC1抗体的两条重链包括N297A突变。在一些实施方案中,抗TRBC1抗体的两条重链不包括N297A突变。在一些实施方案中,多特异性抗体分子包括第一链、第二链、第三链和第四链,其中第一链包括抗TRBC1 VL和CL;第二链包括抗NKp30 scFv、抗TRBC1 VH、CH1、CH2和CH3;第三链包括抗NKp30 scFv、抗TRBC1 VH、CH1、CH2和CH3;而第四链包括抗TRBC1 VL和CL。

[0855] 在另一方面,本公开内容的特征在于包括与TRBC1和TRAIL分子(例如,三聚体、二聚体或单体TRAIL分子)结合的部分的抗体分子。在一些实施方案中,抗体分子包括一个或多个与TRBC1结合的部分,例如,一个或多个与TRBC1结合的Fab,例如,一个与TRBC1结合的Fab。在一些实施方案中,与TRBC1结合的部分包括本文公开的抗TRBC1序列,例如,包括表2-5中公开的CDR、VH、VL、重链或轻链序列,或与其具有至少70%、80%、90%、95%或99%同一性的序列。在一些实施方案中,抗体分子包括TRAIL分子(例如,三聚体、二聚体或单体TRAIL分子)。在一些实施方案中,TRAIL的每个单体包括人TRAIL的氨基酸残基122-281,或与其具有至少70%、80%、90%、95%或99%同一性的序列。在一些实施方案中,TRAIL的每个单体包括人TRAIL的氨基酸残基95-281,或与其具有至少70%、80%、90%、95%或99%同一性的序列。

[0856] 在一些实施方案中,抗体分子包括图2A-2F中所示的构型。在一些实施方案中,抗体分子包括与TRBC1和三聚体、二聚体或单体TRAIL分子结合的部分,例如,包括抗TRBC1 Fab、三聚体、二聚体或单体TRAIL分子,以及包括两条Fc链的Fc二聚体。在一些实施方案中,两条Fc链形成异源二聚体,例如,通过杵臼结构突变。在一些实施方案中,两条Fc链包括N297A突变。在一些实施方案中,两条Fc链不包括N297A突变。在一些实施方案中,抗TRBC1 Fab的重链的C-末端与一条Fc链的N-末端融合。在一些实施方案中,三聚体、二聚体或单体TRAIL分子与另一Fc链的N-末端融合。在一些实施方案中,抗体分子包括第一链、第二链和第三链。在一些实施方案中,第一链包括抗TRBC1 VL和CL,例如,包括SEQ ID NO:6169的氨基酸序列,或与其具有至少70%、80%、90%、95%或99%同一性的序列。在一些实施方案中,第二链包括抗TRBC1 VH、CH1、CH2和CH3,例如,包括SEQ ID NO:6167的氨基酸序列,或与其具有至少70%、80%、90%、95%或99%同一性的序列。在一些实施方案中,第三链包括三聚体TRAIL分子、CH2和CH3,例如,包括SEQ ID NO:6159或6162的氨基酸序列,或与其具有至少70%、80%、90%、95%或99%同一性的序列。在一些实施方案中,第三链包括二聚体TRAIL分子、CH2和CH3,例如,包括SEQ ID NO:6158或6161的氨基酸序列,或与其具有至少70%、80%、90%、95%或99%同一性的序列。在一些实施方案中,第三链包括单体TRAIL分子、CH2和CH3,例如,包括SEQ ID NO:6157或6160的氨基酸序列,或与其具有至少70%、80%、90%、95%或99%同一性的序列。

[0857] 在另一方面,本公开内容的特征在于与TRBC1和DR5结合的多特异性抗体分子(例如,双特异性抗体分子)。在一些实施方案中,多特异性抗体分子包括一个或多个与TRBC1结合的部分,例如,一个或多个与TRBC1结合的Fab,例如,一个与TRBC1结合的Fab。在一些实施方案中,多特异性抗体分子包括一种或多种与DR5结合的部分,例如,一个或多个与DR5结合的scFv,例如,一个或两个与DR5结合的scFv。在一些实施方案中,与TRBC1结合的部分包括本文公开的抗TRBC1序列,例如,包括表2-5中公开的CDR、VH、VL、重链或轻链序列,或与其具有至少70%、80%、90%、95%或99%同一性的序列。在一些实施方案中,与DR5结合的部分

包括本文公开的抗DR5序列,例如,包括表11中公开的CDR、VH、VL、重链或轻链序列,或与其具有至少70%、80%、90%、95%或99%同一性的序列。

[0858] 在一些实施方案中,多特异性抗体分子包括图3A所示的构型。在一些实施方案中,多特异性抗体分子包括抗TRBC1 Fab、抗DR5scFv、和包括两条Fc链的Fc二聚体。在一些实施方案中,两条Fc链形成异源二聚体,例如,通过杵臼结构突变。在一些实施方案中,两条Fc链包括N297A突变。在一些实施方案中,两条Fc链不包括N297A突变。在一些实施方案中,抗TRBC1 Fab的重链的C-末端与一条Fc链的N-末端融合。在一些实施方案中,抗DR5 scFv与另一条Fc链的N-末端融合。在一些实施方案中,多特异性抗体分子包括第一链、第二链和第三链。在一些实施方案中,第一链包括抗TRBC1VL和CL,例如,包括SEQ ID NO:6169的氨基酸序列,或与其具有至少70%、80%、90%、95%或99%同一性的序列。在一些实施方案中,第二链包括抗TRBC1 VH、CH1、CH2和CH3,例如,包括SEQ ID NO:6167的氨基酸序列,或与其具有至少70%、80%、90%、95%或99%同一性的序列。在一些实施方案中,第三链包括抗DR5 scFv、CH2和CH3,例如,包括SEQ ID NO:6163的氨基酸序列,或与其具有至少70%、80%、90%、95%或99%同一性的序列。

[0859] 在一些实施方案中,多特异性抗体分子包括图3B所示的构型。在一些实施方案中,多特异性抗体分子包括抗TRBC1抗体分子和抗DR5抗体分子,例如,包括两条重链和两条轻链的抗TRBC1抗体分子,以及分别与抗TRBC1抗体的两条轻链的C-末端融合的两个抗DR5 scFv。在一些实施方案中,抗TRBC1抗体的两条重链包括N297A突变。在一些实施方案中,抗TRBC1抗体的两条重链不包括N297A突变。在一些实施方案中,多特异性抗体分子包括第一链、第二链、第三链和第四链。在一些实施方案中,第一链包括抗TRBC1 VL、CL和抗DR5 scFv,例如,包括SEQ ID NO:6170的氨基酸序列,或与其具有至少70%、80%、90%、95%或99%同一性的序列。在一些实施方案中,第二链包括抗TRBC1 VH、CH1、CH2和CH3,例如,包括SEQ ID NO:6168的氨基酸序列,或与其具有至少70%、80%、90%、95%或99%同一性的序列。在一些实施方案中,第四链包括抗TRBC1VH、CH1、CH2和CH3,例如,包括SEQ ID NO:6168的氨基酸序列,或与其具有至少70%、80%、90%、95%或99%同一性的序列。在一些实施方案中,第一链包括抗TRBC1 VL、CL和抗DR5 scFv,例如,包括SEQ ID NO:6170的氨基酸序列,或与其具有至少70%、80%、90%、95%或99%同一性的序列。

[0860] 本文公开的抗体分子的用途包括但不限于治疗本文公开的癌症(例如,表达TRBC1的癌症)的方法;识别、评价或选择本文公开的需要治疗的受试者的方法(例如,确定受试者是否具有表达TRBC1的癌细胞);以及实验室或诊断分析的方法(例如,包括检测TRBC1或TRBC1表达细胞的存在和/或水平的免疫分析)。

[0861] 细胞因子分子和细胞因子抑制剂分子

[0862] 细胞因子通常是影响细胞活性的多肽,例如,通过信号转导途径。因此,多特异性或多功能多肽的细胞因子是有用的并且可以与受体介导的信号传导相关联,该信号传导从细胞膜外传递信号以调节细胞内的应答。细胞因子是蛋白质信号传导化合物,是免疫应答的介质。它们控制许多不同的细胞功能,包括增殖、分化和细胞存活/凋亡;细胞因子还参与多种病理生理过程,包括病毒感染和自身免疫性疾病。细胞因子在各种刺激下由先天(单核细胞、巨噬细胞、树突细胞)和适应性(T细胞和B细胞)免疫系统的各种细胞合成。细胞因子可分为两类:促炎和抗炎。促炎细胞因子,包括IFNγ、IL-1、IL-6和TNF-α,主要来自先天免

疫细胞和Th1细胞。抗炎细胞因子,包括IL-10、IL-4、IL-13和IL-5,由Th2免疫细胞合成。

[0863] 本公开内容尤其提供了多特异性(例如,双特异性、三特异性、四特异性)或多功能分子,其包括,例如,经工程化为含有一种或多种细胞因子分子,例如,免疫调节(例如,促炎)细胞因子及其变体,例如,功能变体。因此,在一些实施方案中,细胞因子分子是白介素或变体,例如,其功能变体。在一些实施方案中,白介素是促炎白介素。在一些实施方案中,白介素选自白介素-2(IL-2)、白介素-12(IL-12)、白介素-15(IL-15)、白介素-18(IL-18)、白介素-21(IL-21)、白介素-7(IL-7)或干扰素γ。在一些实施方案中,细胞因子分子是促炎细胞因子。

[0864] 在某些实施方案中,细胞因子是单链细胞因子。在某些实施方案中,细胞因子是多链细胞因子(例如,细胞因子包括2条或更多条(例如,2条)多肽链。示例性多链细胞因子是IL-12。

[0865] 有用的细胞因子的实例包括但不限于,GM-CSF、IL-1α、IL-1β、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-10、IL-12、IL-21、IFN-α、IFN-β、IFN-γ、MIP-1α、MIP-1β、TGF-β、TNF-α和TNFβ。在一个实施方案中,多特异性或多功能多肽的细胞因子是选自GM-CSF、IL-2、IL-7、IL-8、IL-10、IL-12、IL-15、IL-21、IFN-α、IFN-γ、MIP-1α、MIP-1β和TGF-β的细胞因子。在一个实施方案中,多特异性或多功能多肽的细胞因子是选自IL-2、IL-7、IL-10、IL-12、IL-15、IFN-α和IFN-γ的细胞因子。在某些实施方案中,细胞因子经突变以去除N-和/或O-糖基化位点。糖基化的消除增加了在重组生产中可获得的产品的同质性。

[0866] 在一个实施方案中,多特异性或多功能多肽的细胞因子是IL-2。在具体的实施方案中,IL-2细胞因子可以引发一种或多种选自以下项的细胞应答:激活T淋巴细胞的增殖、激活T淋巴细胞的分化、细胞毒性T细胞(CTL)活性、激活B细胞的增殖、激活B细胞的分化、天然杀伤(NK)细胞的增殖、NK细胞的分化、激活T细胞或NK细胞的细胞因子分泌、以及NK/淋巴细胞激活的杀伤(LAK)抗肿瘤细胞毒性。在另一个具体的实施方案中,IL-2细胞因子是对IL-2受体α-亚基具有降低的结合亲和力的突变IL-2细胞因子。α-亚基(也称为CD25)与β-和γ-亚基(也分别称为CD122和CD132)一起形成异源三聚体高亲和力IL-2受体,而仅由β-和γ-亚基组成的二聚体受体称为中等亲和力IL-2受体。如通过引用以其全文并入本文中的PCT专利申请号PCT/EP2012/051991中所述,与野生型IL-2多肽相比,与IL-2受体的α-亚基结合降低的突变IL-2多肽在调节性T细胞中诱导IL-2信号传导的能力降低,在T细胞中诱导较少的激活诱导细胞死亡(AICD),并且在体内具有降低的毒性特征。在根据本发明的多特异性或多功能多肽中使用这种毒性降低的细胞因子特别有利,由于存在Fc域而具有长血清半衰期。在一个实施方案中,根据本发明的多特异性或多功能多肽的突变IL-2细胞因子包括至少一个氨基酸突变,与非突变的IL-2细胞因子相比,该氨基酸突变降低或消除突变IL-2细胞因子对IL-2受体的α亚基(CD25)的亲和力但保留了突变IL-2细胞因子对中等亲和力IL-2受体(由IL-2受体的β和γ亚基组成)的亲和力。在一个实施方案中,一个或多个氨基酸突变是氨基酸置换。在具体的实施方案中,突变IL-2细胞因子在选自对应于人IL-2的残基42、45和72的位置的一个、两个或三个位置处包括一个、两个或三个氨基酸置换。在更具体的实施方案中,突变IL-2细胞因子在对应于人IL-2的残基42、45和72的位置处包括三个氨基酸置换。在甚至更具体的实施方案中,突变IL-2细胞因子是包括氨基酸置换F42A、Y45A和L72G的人IL-2。在一个实施方案中,突变IL-2细胞因子在对应于人IL-2的位置3的位置处另

外包括氨基酸突变,其消除IL-2的O-糖基化位点。特别地,所述另外的氨基酸突变是用丙氨酸残基替换苏氨酸残基的氨基酸置换。可用于本发明的特定突变IL-2细胞因子在对应于人IL-2的残基3、42、45和72的位置处包括四个氨基酸置换。具体的氨基酸置换是T3A、F42A、Y45A和L72G。如PCT专利申请号PCT/EP2012/051991和所附实施例中所证明的,所述四重突变IL-2多肽(IL-2qm)未表现出对CD25有可检测的结合,在T细胞中诱导细胞凋亡的能力降低,在T.sub.reg细胞中诱导IL-2信号传导的能力降低,并且体内毒性特征降低。然而,它保留了激活效应细胞中IL-2信号传导、诱导效应细胞增殖和产生IFN-γ作为NK细胞的次级细胞因子的能力。

[0867] 根据以上实施方案中任一项的IL-2或突变IL-2细胞因子可以包括另外的突变,其进一步提供优势,例如表达或稳定性增加。例如,位置125的半胱氨酸可以被中性氨基酸例如丙氨酸替换,以避免形成二硫键桥接的IL-2二聚体。因此,在某些实施方案中,根据本发明的多特异性或多功能多肽的IL-2或突变IL-2细胞因子在对应于人IL-2的残基125的位置处包括另外的氨基酸突变。在一个实施方案中,所述另外的氨基酸突变是氨基酸置换C125A。

[0868] 在具体的实施方案中,多特异性或多功能多肽的IL-2细胞因子包括SEQ ID NO:7227[APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFAQSIISTLT]的多肽序列。在另一个具体的实施方案中,多特异性或多功能多肽的IL-2胞因子包括SEQ ID NO:7228[APASSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTAKFAMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNGAQSKNFHL]的多肽序列。

[0869] 在另一个实施方案中,多特异性或多功能多肽的细胞因子是IL-12。在具体的实施方案中,所述IL-12细胞因子是单链IL-12细胞因子。在甚至更具体的实施方案中,单链IL-12细胞因子包括SEQ ID NO:7229

[0870] [IWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGITWTLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTCHKGGEVLSHSLLLLHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWLTTISTDLTFSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAERVRGDNKEYEYSVECQEDSACPAAEESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSSFFIRDIIKPDPPKNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPDTWSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYYSSSWSEWASVPCSGGGGSGGGGSGGGGSRNLPVATPDPGMFPCLHHSQNLLRAVSNMLQKARQTLEFYPCTSEEIDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCLASRKTSFMMALCLSSIYEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEPDFYKTKIKLCILLHAFRIRAVTIDRVMSYLNAS]的多肽序列。在一个实施方案中,IL-12细胞因子可以引发选自以下项的一种或多种选细胞应答:NK细胞增殖、NK细胞分化、T细胞增殖和T细胞分化。

[0871] 在另一个实施方案中,多特异性或多功能多肽的细胞因子是IL-10。在具体的实施方案中,所述IL-10细胞因子是单链IL-10细胞因子。在甚至更具体的实施方案中,单链IL-10细胞因子包括SEQ ID NO:7230

[0872] [SPGQGTQSENSCTHFPGNLPNMLRDLRDAFSRVKTFFQMKDQLDNLLLKESLLEDFKGYLGCQALSEMIQFYLEEVMPQAENQDPDIKAHVNSLGENLKTLRLRLRRCHRFLPCENKSKAVEQVKNAFNKLQEKGIYKAMSEFDIFINYIEAYMTMKIRNGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSSPGQGTQSENSCTHFPGNLPNMLRDLRDAFSRVKTFFQMKDQLDNLLLKESLLEDFKGYLGCQALSEMIQFYLEEVMPQAENQDPDIKAHVNSLGENLKTLRLRLRRCI-IRFLP

CENKSKAVEQVKNAFNKLQEKGIYKAMSEFDIFINYIEAYMTMKIRN]的多肽序列。在另一个具体的实施方案中,IL-10细胞因子是单体IL-10细胞因子。在更具体的实施方案中,单体IL-10细胞因子包括SEQ ID NO:7231

[0873] [SPGQGTQSENSCTHFPGNLPNMLRDLRDAFSRVKTFFQMKDQLDNLLLKESLLEDFKGYLGCQALSEMIQFYLEEVMPQAENQDPDIKAHVNSLGENLKTLRLRLRRCI-IRFLPCENGGGSGGKSKAVEQVKNAFNKLQEKGIYKAMSEFDIFINYIEAYMTMKIRN]的多肽序列。在一个实施方案中,IL-10细胞因子可以引发选自以下项的一种或多种细胞应答:细胞因子分泌的抑制、抗原呈递细胞对抗原呈递的抑制、氧自由基释放的减少和T增殖细胞的抑制。根据本发明的多特异性或多功能多肽,其中细胞因子是IL-10,特别适用于下调炎症,例如用于治疗炎性病症。

[0874] 在另一个实施方案中,多特异性或多功能多肽的细胞因子是IL-15。在具体的实施方案中,所述IL-15细胞因子是对IL-15受体的α-亚基具有降低的结合亲和力的突变IL-15细胞因子。不希望受理论束缚,与野生型IL-15多肽相比,与IL-15受体α-亚基结合降低的突变IL-15多肽与全身的成纤维细胞结合的能力降低,导致药代动力学和毒性特征改善。使用毒性降低的细胞因子,如所述的突变IL-2和突变IL-15效应子部分,在根据本发明的多特异性或多功能多肽中特别有利,该多肽由于存在Fc域而具有较长的血清半衰期。在一个实施方案中,根据本发明的多特异性或多功能多肽的突变IL-15细胞因子包括至少一个氨基酸突变,与非突变的IL-15细胞因子相比,该突变降低或消除突变IL-15细胞因子对IL-15受体的α-亚基的亲和力,但保留突变IL-15细胞因子对中等亲和力IL-15/IL-2受体(由IL-15/IL-2受体的β-和γ-亚基组成)的亲和力。在一个实施方案中,氨基酸突变是氨基酸置换。在具体的实施方案中,突变IL-15细胞因子在对应于人IL-15的残基53的位置处包括氨基酸置换。在更具体的实施方案中,突变IL-15细胞因子是包括氨基酸置换E53A的人IL-15。在一个实施方案中,突变IL-15细胞因子在对应于人IL-15的位置79的位置处另外包括氨基酸突变,其消除IL-15的N-糖基化位点。特别地,所述另外的氨基酸突变是用丙氨酸残基替换天冬酰胺残基的氨基酸置换。在更具体的实施方案中,IL-15细胞因子包括SEQ ID NO:7232[NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLASGDASIHDTVENLIILANNSLSSNGAVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS]的多肽序列。在一个实施方案中,IL-15细胞因子可以引发选自以下项中的一种或多种细胞应答:激活T淋巴细胞的增殖、激活T淋巴细胞的分化、细胞毒性T细胞(CTL)活性、激活B细胞的增殖、激活B细胞的分化、天然杀伤(NK)细胞的增殖、NK细胞的分化、激活T细胞或NK细胞的细胞因子分泌、以及NK/淋巴细胞激活的杀伤(LAK)抗肿瘤细胞毒性。

[0875] 可用作多特异性或多功能多肽中的效应子部分的突变细胞因子分子可以使用本领域熟知的遗传或化学方法通过缺失、置换、插入或修饰来制备。遗传方法可包括编码DNA序列的位点特异性诱变、PCR、基因合成等。例如可以通过测序来验证正确的核苷酸变化。置换或插入可以涉及天然和非天然氨基酸残基。氨基酸修饰包括众所周知的化学修饰方法,例如添加或去除糖基化位点或碳水化合物附着等。

[0876] 在一个实施方案中,多特异性或多功能多肽的细胞因子,特别是单链细胞因子,是GM-CSF。在具体的实施方案中,GM-CSF细胞因子可以引起粒细胞、单核细胞或树突细胞的增殖和/或分化。在一个实施方案中,多特异性或多功能多肽的细胞因子,特别是单链细胞因子,是IFN-α。在具体的实施方案中,IFN-α细胞因子可以引发选自以下项的一种或多种细胞

应答:抑制病毒感染细胞中的病毒复制,和上调主要组织相容性复合物I(MHC I)的表达。在另一个具体的实施方案中,IFN-α细胞因子可以抑制肿瘤细胞的增殖。在一个实施方案中,多特异性或多功能多肽的细胞因子,特别是单链细胞因子,是IFNγ。在具体的实施方案中,IFN-γ细胞因子可以引发选自以下项的一种或多种细胞应答:巨噬细胞活性增加、MHC分子表达增加和NK细胞活性增加。在一个实施方案中,多特异性或多功能多肽的细胞因子,特别是单链细胞因子,是IL-7。在具体的实施方案中,IL-7细胞因子可以引起T和/或B淋巴细胞的增殖。在一个实施方案中,多特异性或多功能多肽的细胞因子,特别是单链细胞因子,是IL-8。在具体的实施方案中,IL-8细胞因子可以引发中性粒细胞的趋化性。在一个实施方案中,多特异性或多功能多肽的细胞因子,特别是单链细胞因子,是MIP-1α。在具体的实施方案中,MIP-1α细胞因子可以在单核细胞和T淋巴细胞中引发趋化性。在一个实施方案中,多特异性或多功能多肽的细胞因子,特别是单链细胞因子,是MIP-1β。在具体的实施方案中,MIP-1β细胞因子可以在单核细胞和T淋巴细胞中引发趋化性。在一个实施方案中,多特异性或多功能多肽的细胞因子,特别是单链细胞因子,是TGF-β。在具体的实施方案中,TGF-β细胞因子可以引发选自以下项的一种或多种细胞应答:单核细胞的趋化性、巨噬细胞的趋化性、激活巨噬细胞中IL-1表达的上调、和激活B细胞中IgA表达的上调。

[0877] 在一个实施方案中,本发明的多特异性或多功能多肽以比对照细胞因子大至少约1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9、9.5或10倍的解离常数(K_D)结合细胞因子受体。在另一个实施方案中,多特异性或多功能多肽以比包括两个或更多个效应子部分的相应多特异性或多功能多肽的K_D大至少2、3、4、5、6、7、8、9或10倍的K_D与细胞因子受体结合。在另一个实施方案中,多特异性或多功能多肽以比包括两种或更多种细胞因子的相应多特异性或多功能多肽的解离常数K_D大约10倍的解离常数K_D与细胞因子受体结合。

[0878] 在一些实施方案中,本文公开的多特异性分子包括细胞因子分子。在实施方案中,细胞因子分子包括细胞因子的全长、片段或变体;细胞因子受体域,例如,细胞因子受体二聚化域;或细胞因子受体的激动剂,例如,细胞因子受体的抗体分子(例如,激动性抗体)。

[0879] 在一些实施方案中,细胞因子分子选自IL-2、IL-12、IL-15、IL-18、IL-7、IL-21或干扰素γ,或其片段或变体,或任何上述细胞因子的组合。细胞因子分子可以是单体或二聚体。在实施方案中,细胞因子分子可进一步包括细胞因子受体二聚化域。

[0880] 在其他实施方案中,细胞因子分子是细胞因子受体的激动剂,例如,针对选自IL-15Ra或IL-21R的细胞因子受体的抗体分子(例如,激动性抗体)。

[0881] 在一个实施方案中,细胞因子分子是IL-15,例如,人IL-15(例如,包括氨基酸序列:

[0882] NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLLELQVISLESGDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS(SEQ ID NO:7017)、其片段、或与其基本相同的氨基酸序列(例如,与其具有95%至99.9%同一性,或与SEQ ID NO:7017的氨基酸序列具有至少一个氨基酸改变,但不超过五个、十个或十五个改变(例如,置换、缺失或插入,例如,保守置换))。

[0883] 在一些实施方案中,细胞因子分子包括受体二聚化域,例如,IL15Rα二聚化域。在一个实施方案中,IL15Rα二聚化域包括氨基酸序列:

[0884] MAPRRARGCRTLGLPALLLLLLLRPPATRGITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAG

TSSLTECVL(SEQ ID NO:7018)、其片段、或与其基本相同的氨基酸序列(例如,与其具有95%至99.9%同一性,或与SEQ ID NO:7018的氨基酸序列具有至少一个氨基酸改变,但不超过五个、十个或十五个改变(例如,置换、缺失或插入,例如,保守置换))。在一些实施方案中,多特异性分子的细胞因子分子(例如,IL-15)和受体二聚化域(例如,IL15Rα二聚化域)共价连接,例如,通过接头(例如,Gly-Ser接头,例如,包括氨基酸序列SGGSGGGGSGGGSGGGGSLQ(SEQ ID NO:7019)的接头)。在其他实施方案中,多特异性分子的细胞因子分子(例如,IL-15)和受体二聚化域(例如,IL15Rα二聚化域)不是共价连接的,例如,是非共价缔合的。

[0885] 在其他实施方案中,细胞因子分子是IL-2,例如,人IL-2(例如,包括氨基酸序列:

[0886] APTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMILNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLQCLEEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITFCQSIISTLT(SEQ ID NO:7020)、其片段、或与其基本相同的氨基酸序列(例如,与其具有95%至99.9%同一性,或与SEQ ID NO:7020的氨基酸序列具有至少一个氨基酸改变,但不超过五个、十个或十五个改变(例如,置换、缺失或插入,例如,保守置换))。

[0887] 在其他实施方案中,细胞因子分子是IL-18,例如,人IL-18(例如,包括氨基酸序列:

[0888] YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIISMYKDSQPRGMAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFQRSVPGHDNKMQFESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNED(SEQ ID NO:7021)、其片段、或与其基本相同的氨基酸序列(例如,与其具有95%至99.9%同一性,或与SEQ ID NO:7021的氨基酸序列具有至少一个氨基酸改变,但不超过五个、十个或十五个改变(例如,置换、缺失或插入,例如,保守置换))。

[0889] 在其他实施方案中,细胞因子分子是IL-21,例如,人IL-21(例如,包括以下氨基酸序列:

[0890] QGQDRHMIRMRQLIDIVDQLKNYVNDLVPEFLPAPEDVETNCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSIKKLKRKPPSTNAGRRQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLERFKSLLQKMIHQHLSSRTHGSEDS(SEQ ID NO:7022)、其片段、或与其基本相同的氨基酸序列(例如,与其具有95%至99.9%同一性,或与SEQ ID NO:7022的氨基酸序列具有至少一个氨基酸改变,但不超过五个、十个或十五个改变(例如,置换、缺失或插入,例如,保守置换))。

[0891] 在其他实施方案中,细胞因子分子是干扰素γ,例如,人干扰素γ(例如,包括氨基酸序列:

[0892] QDPYVKEAENLKKYFNAGHSDVADNGTLFLGILKNWKEESDRKIMQSQIVSFYFKLFKNFKDDQSIQKSVETIKEDMNVKFFNSNKKKRDDFEKLTNYSVTDLNVQRKAIHELIQVMAELSPAAKTGKRKRSQMLFRG(SEQ ID NO:7023)、其片段、或与其基本相同的氨基酸序列(例如,与其具有95%至99.9%同一性,或与SEQ ID NO:7023的氨基酸序列具有至少一个氨基酸改变,但不超过五个、十个或十五个改变(例如,置换、缺失或插入,例如,保守置换))。

[0893] TGF-β抑制剂

[0894] 本公开内容尤其进一步提供了多特异性(例如,双特异性、三特异性、四特异性)或多功能分子,其包括,例如,经工程化为含有一种或多种细胞因子抑制剂分子,例如,免疫调节(例如,促炎)细胞因子的抑制剂及其变体(例如,功能变体)。因此,在一些实施方案中,细胞因子抑制剂分子是TGF-β抑制剂。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂结合并抑制TGF-β,例

如,降低TGF-β的活性。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂抑制TGF-β1(例如,降低其活性)。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂抑制TGF-β2(例如,降低其活性)。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂抑制TGF-β3(例如,降低其活性)。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂抑制TGF-β1和TGF-β3(例如,降低其活性)。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂抑制TGF-β1、TGF-β2和TGF-β3(例如,降低其活性)。

[0895] 在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包括能够抑制TGF-β(例如,降低其活性)的TGF-β受体的部分(例如,TGF-β受体的胞外域),或其功能片段或变体。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包括TGFBR1多肽(例如,TGFBR1的胞外域或其功能变体)。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包括TGFBR2多肽(例如,TGFBR2的胞外域或其功能变体)。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包括TGFBR3多肽(例如,TGFBR3的胞外域或其功能变体)。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包括TGFBR1多肽(例如,TGFBR1的胞外域或其功能变体)和TGFBR2多肽(例如,TGFBR2的胞外域或其功能变体)。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包括TGFBR1多肽(例如,TGFBR1的胞外域或其功能变体)和TGFBR3多肽(例如,TGFBR3的胞外域或其功能变体)。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包括TGFBR2多肽(例如,TGFBR2的胞外域或其功能变体)和TGFBR3多肽(例如,TGFBR3的胞外域或其功能变体)。

[0896] 可用作TGF-β抑制剂的示例性TGF-β受体多肽已在US8993524、US9676863、US8658135、US20150056199、US20070184052和WO2017037634中公开,其全部内容通过引用并入本文。

[0897] 在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包括TGFBR1的胞外域或与其基本相同的序列(例如,与其具有至少80%、85%、90%或95%同一性的序列)。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包括SEQ ID NO:95的胞外域,或与其基本相同的序列(例如,与其具有至少80%、85%、90%或95%同一性的序列)。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包括SEQ ID NO:96的胞外域,或与其基本相同的序列(例如,与其具有至少80%、85%、90%或95%同一性的序列)。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包括SEQ ID NO:97的胞外域,或与其基本相同的序列(例如,与其具有至少80%、85%、90%或95%同一性的序列)。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包括SEQ ID NO:104的氨基酸序列,或与其基本相同的序列(例如,与其具有至少80%、85%、90%或95%同一性的序列)。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包括SEQ ID NO:105的氨基酸序列,或与其基本相同的序列(例如,与其具有至少80%、85%、90%或95%同一性的序列)。

[0898] 在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包括TGFBR2的胞外域或与其基本相同的序列(例如,与其具有至少80%、85%、90%或95%同一性的序列)。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包括SEQ ID NO:98的胞外域,或与其基本相同的序列(例如,与其具有至少80%、85%、90%或95%同一性的序列)。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包括SEQ ID NO:99的胞外域,或与其基本相同的序列(例如,与其具有至少80%、85%、90%或95%同一性的序列)。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包括SEQ ID NO:100的氨基酸序列,或与其基本相同的序列(例如,与其具有至少80%、85%、90%或95%同一性的序列)。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包括SEQ ID NO:101的氨基酸序列,或与其基本相同的序列(例如,与其具有至少80%、85%、90%或95%同一性的序列)。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包括SEQ ID NO:102的氨基酸序列,或与其基本相同的序列(例如,与其具有至少80%、85%、90%或95%同一性的序列)。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包括SEQ ID NO:103的氨基酸序列,或与其基本相同的序

列(例如,与其具有至少80％、85％、90％或95％同一性的序列)。

[0899] 在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包括TGFBR3的胞外域或与其基本相同的序列(例如,与其具有至少80％、85％、90％或95％同一性的序列)。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包括SEQ ID NO:106的胞外域,或与其基本相同的序列(例如,与其具有至少80％、85％、90％或95％同一性的序列)。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包括SEQ ID NO:107的胞外域,或与其基本相同的序列(例如,与其具有至少80％、85％、90％或95％同一性的序列)。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包括SEQ ID NO:108的氨基酸序列,或与其基本相同的序列(例如,与其具有至少80％、85％、90％或95％同一性的序列)。

[0900] 在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包括不超过一个TGF-β受体胞外域。在一些实施方案中,TGF-β抑制剂包括例如通过接头连接在一起的两个或更多个(例如,两个、三个、四个、五个或更多个)TGF-β受体胞外域。

[0901] 表16.TGF-β多肽或TGF-β受体多肽的示例性氨基酸序列

[0902]

SEQ ID NO	描述	氨基酸序列
SEQ ID NO: 92	未成熟人 TGF-β1 (P01137-1)	MPPSGLRLLLLLLPLLWLLVLTPGRPAAGLSTCKTIDMELVKRKRIE AIRGQILSKLRLASPPSQGEVPPGPLPEAVLALYNSTRDRVAGESAEP EPEPEADYYAKEVTRVLMVETHNEIYDKFKQSTHSIYMFFNTSELRE AVPEPVLLSRAELRLLRLKLKVEQHVELYQKYSNNSWRYLSNRLLA PSDSPEWLSFDVTGVVRQWLSRGGEIEGFRLSAHCSCDSRDNTLQV DINGFTTGRRGDLATIHGMNRPFLLLMATPLERAQHLQSSRHRRAL DTNYCFSSTEKNCCVRQLYIDFRKDLGWKWIHEPKGYHANFCLGP CPYIWSLDTQYSKVLALYNQHNPGASAAPCCVPQALEPLPIVYYVG RKPKVEQLSNMIVRSCKCS
SEQ ID NO: 117	人 TGF-β1 (P01137-1)	LSTCKTIDMELVKRKRIEAIRGQILSKLRLASPPSQGEVPPGPLPEAV LALYNSTRDRVAGESAEPEPEPEADYYAKEVTRVLMVETHNEIYDK FKQSTHSIYMFFNTSELREAVPEPVLLSRAELRLLRLKLKVEQHVEL YQKYSNNSWRYLSNRLLAPSDSPEWLSFDVTGVVRQWLSRGGEIE GFRLSAHCSCDSRDNTLQVDINGFTTGRRGDLATIHGMNRPFLLLM ATPLERAQHLQSSRHRRALDTNYCFSSTEKNCCVRQLYIDFRKDLG WKWIHEPKGYHANFCLGPCPYIWSLDTQYSKVLALYNQHNPGASA APCCVPQALEPLPIVYYVGRKPKVEQLSNMIVRSCKCS
SEQ ID NO: 93	未成熟人 TGF-β2 (P61812-1)	MHYCVLSAFLILHLVTVALSLSTCSTLDMDQFMRKRIEAIRGQILSK LKLTSPPEDYPEPEEVPPEVISIYNSTRDLLQEKASRRAAACERERSD EEYYAKEVYKIDMPPFFPSENAIPPTFYRPYFRIVRFDVSAMEKNAS NLVKAEFRVFRLQNPKARVPEQRIELYQILKSKDLTSPTQRYIDSKV VKTRAEGEWLSFDVTDAVHEWLHHKDRNLGFKISLHCPCCTFVPS NNYIIPNKSEELEARFAGIDGTSTYTSGDQKTIKSTRKKNSGKTPHLL LMLLPSYRLESQQTNRRKKRALDAAYCFRNVQDNCCLRPLYIDFKR DLGWKWIHEPKGYNANFCAGACPYLWSSDTQHSRVLSLYNTINPE ASASPCCVSQDLEPLTILYYIGKTPKIEQLSNMIVKSCKCS
SEQ ID NO: 118	人 TGF-β2 (P61812-1)	LSTCSTLDMDQFMRKRIEAIRGQILSKLKLTSPPEDYPEPEEVPPEVIS IYNSTRDLLQEKASRRAAACERERSDEEYYAKEVYKIDMPPFFPSEN AIPPTFYRPYFRIVRFDVSAMEKNASNLVKAEFRVFRLQNPKARVPE QRIELYQILKSKDLTSPTQRYIDSKVVKTRAEGEWLSFDVTDAVHE WLHHKDRNLGFKISLHCPCCTFVPSNNYIIPNKSEELEARFAGIDGTS TYTSGDQKTIKSTRKKNSGKTPHLLLMLLPSYRLESQQTNRRKKRA LDAAYCFRNVQDNCCLRPLYIDFKRDLGWKWIHEPKGYNANFCAG ACPYLWSSDTQHSRVLSLYNTINPEASASPCCVSQDLEPLTILYYIGK TPKIEQLSNMIVKSCKCS

SEQ ID NO: 94	未成熟人 TGF-β3 (P10600-1)	MKMHLQRALVVLALLNFATVSLSLSTCTTLDFGHIKKKRVEAIRGQ ILSKLRLTSPPEPTVMTHVPYQVLALYNSTRELLEEMHGEREEGCTQ ENTESEYYAKEIHKFDMIQGLAEHNELAVCPKGITSKVFRFNVSSVE KNRTNLFRAEFRVLRVPNPSSKRNEQRIELFQILRPDEHIAKQRYIGG KNLPTRGTAEWLSFDVTDTVREWLLRRESNLGLEISIHCPCHTFQPN GDILENIHEVMEIKFKGVDNEDDHGRGDLGRLKKQKDHHNPHLIL MMIPPHRLDNPGQGGQRKKRALDTNYCFRNLEENCCVRPLYIDFRQ DLGWKWVHEPKGYYANFCSGPCPYLRSADTTHSTVLGLYNTLNPE ASASPCCVPQDLEPLTILYYVGRTPKVEQLSNMVVKSCKCS
SEQ ID NO: 119	人 TGF-β3 (P10600-1)	LSTCTTLDFGHIKKKRVEAIRGQILSKLRLTSPPEPTVMTHVPYQVL ALYNSTRELLEEMHGEREEGCTQENTESEYYAKEIHKFDMIQGLAE HNELAVCPKGITSKVFRFNVSSVEKNRTNLFRAEFRVLRVPNPSSKR NEQRIELFQILRPDEHIAKQRYIGGKNLPTRGTAEWLSFDVTDTVRE WLLRRESNLGLEISIHCPCHTFQPNGDILENIHEVMEIKFKGVDNED DHGRGDLGRLKKQKDHHNPHLILMMIPPHRLDNPGQGGQRKKRAL DTNYCFRNLEENCCVRPLYIDFRQDLGWKWVHEPKGYYANFCSGP CPYLRSADTTHSTVLGLYNTLNPEASASPCCVPQDLEPLTILYYVGR TPKVEQLSNMVVKSCKCS
SEQ ID NO: 95	未成熟人 TGFBR1 同种型 1 (P36897-1)	MEAAVAAPRPRLLLLVLAAAAAAAAALLPGATALQCFCHLCTKDN FTCVTDGLCFVSVTETTDKVIHNSMCIAEIDLIPRDRPFVCAPSSKTG SVTTTYCCNQDHCNKIELPTTVKSSPGLGPVELAAVIAGPVCFVCISL MLMVYICHNRTVIHHRVPNEEDPSLDRPFISEGTTLKDLIYDMTTSG SGSGLPLLVQRTIARTIVLQESIGKGRFGEVWRGKWRGEEVAVKIFS SREERSWFREAEIYQTVMLRHENILGFIAADNKDNGTWTQLWLVSD YHEHGSLFDYLNRYTVTVEGMIKLALSTASGLAHLHMEIVGTQGKP AIAHRDLKSKNILVKKNGTCCIADLGLAVRHDSATDTIDIAPNHRVG TKRYMAPEVLDDSINMKHFESFKRADIYAMGLVFWEIARRCSIGGI HEDYQLPYYDLVPSDPSVEEMRKVVCEQKLRPNIPNRWQSCEALR
SEQ ID NO: 120	人 TGFBR1 同种型 1 (P36897-1)	LQCFCHLCTKDNFTCVTDGLCFVSVTETTDKVIHNSMCIAEIDLIPR DRPFVCAPSSKTGSVTTTYCCNQDHCNKIELPTTVKSSPGLGPVELA AVIAGPVCFVCISLMLMVYICHNRTVIHHRVPNEEDPSLDRPFISEGT TLKDLIYDMTTSGSGSGLPLLVQRTIARTIVLQESIGKGRFGEVWRG KWRGEEVAVKIFSSREERSWFREAEIYQTVMLRHENILGFIAADNK DNGTWTQLWLVSDYHEHGSLFDYLNRYTVTVEGMIKLALSTASGL AHLHMEIVGTQGKPAIAHRDLKSKNILVKKNGTCCIADLGLAVRHD SATDTIDIAPNHRVGTKRYMAPEVLDDSINMKHFESFKRADIYAMG LVFWEIARRCSIGGIHEDYQLPYYDLVPSDPSVEEMRKVVCEQKLRP NIPNRWQSCEALRVMAKIMRECWYANGAARLTALRIKKTLSQLSQ QEGIKM

[0903]

	SEQ ID NO: 96	未成熟人 TGFBR1 同种型 2 (P36897-2)	MEAAVAAPRPRLLLLVLAAAAAAAAALLPGATALQCFCHLCTKDN FTCVTDGLCFVSVTETTDKVIHNSMCIAEIDLIPRDRPFVCAPSSKTG SVTTTYCCNQDHCNKIELPTTGPFSVKSSPGLGPVELAAVIAGPVCF VCISLMLMVYICHNRTVIHHRVPNEEDPSLDRPFISEGTTLKDLIYD MTTSGSGSGLPLLVQRTIARTIVLQESIGKGRFGEVWRGKWRGEEV AVKIFSSREERSWFREAEIYQTVMLRHENILGFIAADNKDNGTWTQ LWLVSDYHEHGSLFDYLNRYTVTVEGMIKLALSTASGLAHLHMEI VGTQGKPAIAHRDLKSKNILVKKNGTCCIADLGLAVRHDSATDTIDI APNHRVGTKRYMAPEVLDDSINMKHFESFKRADIYAMGLVFWEIA RRCSIGGIHEDYQLPYYDLVPSDPSVEEMRKVVCEQKLRPNIPNRW QSCEALRVMAKIMRECWYANGAARLTALRIKKTLSQLSQQEGIKM
	SEQ ID NO: 121	人 TGFBR1 同种型 2 (P36897-2)	LQCFCHLCTKDNFTCVTDGLCFVSVTETTDKVIHNSMCIAEIDLIPR DRPFVCAPSSKTGSVTTTYCCNQDHCNKIELPTTGPFSVKSSPGLGP VELAAVIAGPVCFVCISLMLMVYICHNRTVIHHRVPNEEDPSLDRPFI SEGTTLKDLIYDMTTSGSGSGLPLLVQRTIARTIVLQESIGKGRFGEV WRGKWRGEEVAVKIFSSREERSWFREAEIYQTVMLRHENILGFIAA DNKDNGTWTQLWLVSDYHEHGSLFDYLNRYTVTVEGMIKLALST ASGLAHLHMEIVGTQGKPAIAHRDLKSKNILVKKNGTCCIADLGLA VRHDSATDTIDIAPNHRVGTKRYMAPEVLDDSINMKHFESFKRADI YAMGLVFWEIARRCSIGGIHEDYQLPYYDLVPSDPSVEEMRKVVCE QKLRPNIPNRWQSCEALRVMAKIMRECWYANGAARLTALRIKKTL SQLSQQEGIKM
[0904]	SEQ ID NO: 97	未成熟人 TGFBR1 同种型 3 (P36897-3)	MEAAVAAPRPRLLLLVLAAAAAAAAALLPGATALQCFCHLCTKDN FTCVTDGLCFVSVTETTDKVIHNSMCIAEIDLIPRDRPFVCAPSSKTG SVTTTYCCNQDHCNKIELPTTGLPLLVQRTIARTIVLQESIGKGRFGE VWRGKWRGEEVAVKIFSSREERSWFREAEIYQTVMLRHENILGFIA ADNKDNGTWTQLWLVSDYHEHGSLFDYLNRYTVTVEGMIKLALS TASGLAHLHMEIVGTQGKPAIAHRDLKSKNILVKKNGTCCIADLGL AVRHDSATDTIDIAPNHRVGTKRYMAPEVLDDSINMKHFESFKRAD IYAMGLVFWEIARRCSIGGIHEDYQLPYYDLVPSDPSVEEMRKVVC EQKLRPNIPNRWQSCEALRVMAKIMRECWYANGAARLTALRIKKT LSQLSQQEGIKM
	SEQ ID NO: 122	人 TGFBR1 同种型 3 (P36897-3)	LQCFCHLCTKDNFTCVTDGLCFVSVTETTDKVIHNSMCIAEIDLIPR DRPFVCAPSSKTGSVTTTYCCNQDHCNKIELPTTGLPLLVQRTIARTI VLQESIGKGRFGEVWRGKWRGEEVAVKIFSSREERSWFREAEIYQT VMLRHENILGFIAADNKDNGTWTQLWLVSDYHEHGSLFDYLNRYT VTVEGMIKLALSTASGLAHLHMEIVGTQGKPAIAHRDLKSKNILVK KNGTCCIADLGLAVRHDSATDTIDIAPNHRVGTKRYMAPEVLDDSI NMKHFESFKRADIYAMGLVFWEIARRCSIGGIHEDYQLPYYDLVPS DPSVEEMRKVVCEQKLRPNIPNRWQSCEALRVMAKIMRECWYAN GAARLTALRIKKTLSQLSQQEGIKM
	SEQ ID NO: 104	人 TGFBR1 片段 1	LQCFCHLCTKDNFTCVTDGLCFVSVTETTDKVIHNSMCIAEIDLIPR DRPFVCAPSSKTGSVTTTYCCNQDHCNKIELPTTVKSSPGLGPVEL

[0905]

SEQ ID NO: 105	人 TGFBR1 片段 2	ALQCFCHLCTKDNFTCVTDGLCFVSVTETTDKVIHNSMCIAEIDLIP RDRPFVCAPSSKTGSVTTTYCCNQDHCNKIEL
SEQ ID NO: 98	未成熟人 TGFBR2 同种型 B（短同种型） (P37173-1)	MGRGLLRGLWPLHIVLWTRIASTIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAV KFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPQEVCVAVWRKN DENITLETVCHDPKLPYHDFILEDAASPKCIMKEKKKPGETFFMCSC SSDECNDNIIFSEEYNTSNPDLLLVIFQVTGISLLPPLGVAISVIIIFYCY RVNRQQKLSSTWETGKTRKLMEFSEHCAIILEDDRSDISSTCANNIN HNTELLPIELDTLVGKGRFAEVYKAKLKQNTSEQFETVAVKIFPYEE YASWKTEKDIFSDINLKHENILQFLTAEERKTELGKQYWLITAFHAK GNLQEYLTRHVISWEDLRKLGSSLARGIAHLHSDHTPCGRPKMPIV HRDLKSSNILVKNDLTCCLCDFGLSLRLDPTLSVDDLANSGQVGTA RYMAPEVLESRMNLENVESFKQTDVYSMALVLWEMTSRCNAVGE VKDYEPPFGSKVREHPCVESMKDNVLRDRGRPEIPSFWLNHQGIQM VCETLTECWDHDPEARLTAQCVAERFSELEHLDRLSGRSCSEEKIPE DGSLNTTK
SEQ ID NO: 123	人 TGFBR2 同种型 B（短同种型） (P37173-1)	TIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSC MSNCSITSICEKPQEVCVAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILE DAASPKCIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNTSNPDLLL VIFQVTGISLLPPLGVAISVIIIFYCYRVNRQQKLSSTWETGKTRKLM EFSEHCAIILEDDRSDISSTCANNINHNTELLPIELDTLVGKGRFAEVY KAKLKQNTSEQFETVAVKIFPYEEYASWKTEKDIFSDINLKHENILQ FLTAEERKTELGKQYWLITAFHAKGNLQEYLTRHVISWEDLRKLGS SLARGIAHLHSDHTPCGRPKMPIVHRDLKSSNILVKNDLTCCLCDFG LSLRLDPTLSVDDLANSGQVGTARYMAPEVLESRMNLENVESFKQT DVYSMALVLWEMTSRCNAVGEVKDYEPPFGSKVREHPCVESMKD NVLRDRGRPEIPSFWLNHQGIQMVCETLTECWDHDPEARLTAQCV AERFSELEHLDRLSGRSCSEEKIPEDGSLNTTK
SEQ ID NO: 99	未成熟人 TGFBR2 同种型 A（长同种型） (P37173-2)	MGRGLLRGLWPLHIVLWTRIASTIPPHVQKSDVEMEAQKDEIICPSC NRTAHPLRHINNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSC MSNCSITSICEKPQEVCVAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILE DAASPKCIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNTSNPDLLL VIFQVTGISLLPPLGVAISVIIIFYCYRVNRQQKLSSTWETGKTRKLM EFSEHCAIILEDDRSDISSTCANNINHNTELLPIELDTLVGKGRFAEVY KAKLKQNTSEQFETVAVKIFPYEEYASWKTEKDIFSDINLKHENILQ FLTAEERKTELGKQYWLITAFHAKGNLQEYLTRHVISWEDLRKLGS SLARGIAHLHSDHTPCGRPKMPIVHRDLKSSNILVKNDLTCCLCDFG LSLRLDPTLSVDDLANSGQVGTARYMAPEVLESRMNLENVESFKQT DVYSMALVLWEMTSRCNAVGEVKDYEPPFGSKVREHPCVESMKD NVLRDRGRPEIPSFWLNHQGIQMVCETLTECWDHDPEARLTAQCV AERFSELEHLDRLSGRSCSEEKIPEDGSLNTTK

[0906]

SEQ ID NO: 124	人 TGFBR2 同种型 A（长同种型）(P37173-2)	TIPPHVQKSDVEMEAQKDEIICPSCNRTAHPLRHINNDMIVTDNNGA VKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPQEVCVAVWRK NDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDAASPKCIMKEKKKPGETFFMCS CSSDECNDNIIFSEEYNTSNPDLLLVIFQVTGISLLPPLGVAISVIIIFYC YRVNRQQKLSSTWETGKTRKLMEFSEHCAIILEDDRSDISSTCANNI NHNTELLPIELDTLVGKGRFAEVYKAKLKQNTSEQFETVAVKIFPYE EYASWKTEKDIFSDINLKHENILQFLTAEERKTELGKQYWLITAFHA KGNLQEYLTRHVISWEDLRKLGSSLARGIAHLHSDHTPCGRPKMPI VHRDLKSSNILVKNDLTCCLCDFGLSLRLDPTLSVDDLANSGQVGT ARYMAPEVLESRMNLENVESFKQTDVYSMALVLWEMTSRCNAVG EVKDYEPPFGSKVREHPCVESMKDNVLRDRGRPEIPSFWLNHQGIQ MVCETLTECWDHDPEARLTAQCVAERFSELEHLDRLSGRSCSEEKI PEDGSLNTTK
SEQ ID NO: 100	人 TGFBR2 片段 1（人 TGFBR2 同种型 B 的 ECD）	TIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSC MSNCSITSICEKPQEVCVAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILE DAASPKCIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNTSNPD
SEQ ID NO: 101	人 TGFBR2 片段 2	IPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMS NCSITSICEKPQEVCVAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDA ASPKCIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNTSNPD
SEQ ID NO: 102	人 TGFBR2 片段 3（人 TGFBR2 同种型 A 的 ECD）	TIPPHVQKSDVEMEAQKDEIICPSCNRTAHPLRHINNDMIVTDNNGA VKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPQEVCVAVWRK NDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDAASPKCIMKEKKKPGETFFMCS CSSDECNDNIIFSEEYNTSNPD
SEQ ID NO: 103	人 TGFBR2 片段 4	QLCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPQEVCVAVWRKNDEN ITLETVCHDPKLPYHDFILEDAASPKCIMKEKKKPGETFFMCSCSSD ECNDNIIF

[0907]

SEQ ID NO: 106	不成熟人 TGFBR3 同种型 1 (Q03167-1)	MTSHYVIAIFALMSSCLATAGPEPGALCELSPVSASHPVQALMESFT VLSGCASRGTTGLPQEVHVLNLRTAGQGPGQLQREVTLHLNPISSV HIHHKSVVFLLNSPHPLVWHLKTERLATGVSRLFLVSEGSVVQFSSA NFSLTAETEERNFPHGNEHLLNWARKEYGAVTSFTELKIARNIYIKV GEDQVFPPKCNIGKNFLSLNYLAEYLQPKAAEGCVMSSQPQNEEVHI IELITPNSNPYSAFQVDITIDIRPSQEDLEVVKNLILILKCKKSVNWVIK SFDVKGSLKIIAPNSIGFGKESERSMTMTKSIRDDIPSTQGNLVKWAL DNGYSPITSYTMAPVANRFHLRLENNAEEMGDEEVHTIPPELRILLDP GALPALQNPPIRGGEGQNGGLPFPFPDISRRVWNEEGEDGLPRPKDP VIPSIQLFPGLREPEEVQGSVDIALSVKCDNEKMIVAVEKDSFQASGY SGMDVTLLDPTCKAKMNGTHFVLESPLNGCGTRPRWSALDGVVYY NSIVIQVPALGDSSGWPDGYEDLESGDNGFPGDMDEGDASLFTRPEI VVFNCSLQQVRNPSSFQEQPHGNITFNMELYNTDLFLVPSQGVFSVP ENGHVYVEVSVTKAEQELGFAIQTCFISPYSNPDRMSHYTIIENICPKD ESVKFYSPKRVHFPIPQADMDKKRFSFVFKPVFNTSLLFLQCELTLCT KMEKHPQKLPKCVPPDEACTSLDASIIWAMMQNKKTFTKPLAVIHH EAESKEKGPSMKEPNPISPPIFHGLDTLTVMGIAFAAFVIGALLTGAL WYIYSHTGETAGRQQVPTSPPASENSSAAHSIGSTQSTPCSSSSTA
SEQ ID NO: 125	人 TGFBR3 同种型 1 (Q03167-1)	GPEPGALCELSPVSASHPVQALMESFTVLSGCASRGTTGLPQEVHVL NLRTAGQGPGQLQREVTLHLNPISSVHIHHKSVVFLLNSPHPLVWHL KTERLATGVSRLFLVSEGSVVQFSSANFSLTAETEERNFPHGNEHLLN WARKEYGAVTSFTELKIARNIYIKVGEDQVFPPKCNIGKNFLSLNYL AEYLQPKAAEGCVMSSQPQNEEVHIIELITPNSNPYSAFQVDITIDIRP SQEDLEVVKNLILILKCKKSVNWVIKSFDVKGSLKIIAPNSIGFGKESE RSMTMTKSIRDDIPSTQGNLVKWALDNGYSPITSYTMAPVANRFHLR LENNAEEMGDEEVHTIPPELRILLDPGALPALQNPPIRGGEGQNGGLP FPFPDISRRVWNEEGEDGLPRPKDPVIPSIQLFPGLREPEEVQGSVDIA LSVKCDNEKMIVAVEKDSFQASGYSGMDVTLLDPTCKAKMNGTHF VLESPLNGCGTRPRWSALDGVVYYNSIVIQVPALGDSSGWPDGYED LESGDNGFPGDMDEGDASLFTRPEIVVFNCSLQQVRNPSSFQEQPHG NITFNMELYNTDLFLVPSQGVFSVPENGHVYVEVSVTKAEQELGFAI QTCFISPYSNPDRMSHYTIIENICPKDESVKFYSPKRVHFPIPQADMDK KRFSFVFKPVFNTSLLFLQCELTLCTKMEKHPQKLPKCVPPDEACTSL DASIIWAMMQNKKTFTKPLAVIHHEAESKEKGPSMKEPNPISPPIFHG LDTLTVMGIAFAAFVIGALLTGALWYIYSHTGETAGRQQVPTSPPAS ENSSAAHSIGSTQSTPCSSSSTA

[0908]

SEQ ID NO: 107	不成熟人 TGFBR3 同种型 2 (Q03167-2)	MTSHYVIAIFALMSSCLATAGPEPGALCELSPVSASHPVQALMESFTV LSGCASRGTTGLPQEVHVLNLRTAGQGPGQLQREVTLHLNPISSVHI HHKSVVFLLNSPHPLVWHLKTERLATGVSRLFLVSEGSVVQFSSANF SLTAETEERNFPHGNEHLLNWARKEYGAVTSFTELKIARNIYIKVGE DQVFPPKCNIGKNFLSLNYLAEYLQPKAAEGCVMSSQPQNEEVHIIEL ITPNSNPYSAFQVDITIDIRPSQEDLEVVKNLILILKCKKSVNWVIKSFD VKGSLKIIAPNSIGFGKESERSMTMTKSIRDDIPSTQGNLVKWALDNG YSPITSYTMAPVANRFHLRLENNEEMGDEEVHTIPPELRILLDPGALP ALQNPPIRGGEGQNGGLPFPFPDISRRVWNEEGEDGLPRPKDPVIPSIQ LFPGLREPEEVQGSVDIALSVKCDNEKMIVAVEKDSFQASGYSGMD VTLLDPTCKAKMNGTHFVLESPLNGCGTRPRWSALDGVVYYNSIVI QVPALGDSSGWPDGYEDLESGDNGFPGDMDEGDASLFTRPEIVVFN CSLQQVRNPSSFQEQPHGNITFNMELYNTDLFLVPSQGVFSVPENGH VYVEVSVTKAEQELGFAIQTCFISPYSNPDRMSHYTIIENICPKDESVK FYSPKRVHFPIPQADMDKKRFSFVFKPVFNTSLLFLQCELTLCTKMEK HPQKLPKCVPPDEACTSLDASIIWAMMQNKKTFTKPLAVIHHEAESK EKGPSMKEPNPISPPIFHGLDTLTVMGIAFAAFVIGALLTGALWYIYS HTGETAGRQQVPTSPPASENSSAAHSIGSTQSTPCSSS STA
SEQ ID NO: 126	人 TGFBR3 同种型 2 (Q03167-2)	GPEPGALCELSPVSASHPVQALMESFTVLSGCASRGTTGLPQEVHVL NLRTAGQGPGQLQREVTLHLNPISSVHIHHKSVVFLLNSPHPLVWHL KTERLATGVSRLFLVSEGSVVQFSSANFSLTAETEERNFPHGNEHLLN WARKEYGAVTSFTELKIARNIYIKVGEDQVFPPKCNIGKNFLSLNYLA EYLQPKAAEGCVMSSQPQNEEVHIIELITPNSNPYSAFQVDITIDIRPSQ EDLEVVKNLILILKCKKSVNWVIKSFDVKGSLKIIAPNSIGFGKESERS MTMTKSIRDDIPSTQGNLVKWALDNGYSPITSYTMAPVANRFHLRLE NNEEMGDEEVHTIPPELRILLDPGALPALQNPPIRGGEGQNGGLPFPFP DISRRVWNEEGEDGLPRPKDPVIPSIQLFPGLREPEEVQGSVDIALSVK CDNEKMIVAVEKDSFQASGYSGMDVTLLDPTCKAKMNGTHFVLESP LNGCGTRPRWSALDGVVYYNSIVIQVPALGDSSGWPDGYEDLESGD NGFPGDMDEGDASLFTRPEIVVFNCSLQQVRNPSSFQEQPHGNITFN MELYNTDLFLVPSQGVFSVPENGHVYVEVSVTKAEQELGFAIQTCFI SPYSNPDRMSHYTIIENICPKDESVKFYSPKRVHFPIPQADMDKKRFSF VFKPVFNTSLLFLQCELTLCTKMEKHPQKLPKCVPPDEACTSLDASII WAMMQNKKTFTKPLAVIHHEAESKEKGPSMKEPNPISPPIFHGLDTL TVMGIAFAAFVIGALLTGALWYIYSHTGETAGRQQVPTSPPASENSS AAHSIGSTQSTPCSSSSTA

[0909]

SEQ ID NO: 108	人 TGFBR3 片段 1	GPEPGALCELSPVSASHPVQALMESFTVLSGCASRGTTGLPQEVHVL NLRTAGQGPGQLQREVTLHLNPISSVHIHHKSVVFLLNSPHPLVWHL KTERLATGVSRLFLVSEGSVVQFSSANFSLTAETEERNFPHGNEHLLN WARKEYGAVTSFTELKIARNIYIKVGEDQVFPPKCNIGKNFLSLNYL AEYLQPKAAEGCVMSSQPQNEEVHIIELITPNSNPYSAFQVDITIDIRP SQEDLEVVKNLILILKCKKSVNWVIKSFDVKGSLKIIAPNSIGFGKESE RSMTMTKSIRDDIPSTQGNLVKWALDNGYSPITSYTMAPVANRFHLR LENNAEEMGDEEVHTIPPELRILLDPGALPALQNPPIRGGEGQNGGLP FPFPDISRRVWNEEGEDGLPRPKDPVIPSIQLFPGLREPEEVQGSVDIA LSVKCDNEKMIVAVEKDSFQASGYSGMDVTLLDPTCKAKMNGTHF VLESPLNGCGTRPRWSALDGVVYYNSIVIQVPALGDSSGWPDGYED LESGDNGFPGDMDEGDASLFTRPEIVVFNCSLQQVRNPSSFQEQPHG NITFNMELYNTDLFLVPSQGVFSVPENGHVYVEVSVTKAEQELGFAI QTCFISPYSNPDRMSHYTIIENICPKDESVKFYSPKRVHFPIPQADMDK KRFSFVFKPVFNTSLLFLQCELTLCTKMEKHPQKLPKCVPPDEACTSL DASIIWAMMQNKKTFTKPLAVIHHEAESKEKGPSMKEPNPISPPIFHG LDTLTV
SEQ ID NO: 192	hCH1-hFc_白-3x4GS-TGFbR2	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVC TLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGXGGGGSGGGGSGGGGSIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVK FPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPQEVCVAVWRKND ENITLETVCHDPKLPYHDFILEDAASPKCIMKEKKKPGETFFMCSCS SDECNDNIIFSEEYNTSNPD，其中 X 是 K 或不存在
SEQ ID NO: 193	hCH1-hFc_杵-3x4GS-TGFbR2	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGXGGGGSGGGGSGGGGSIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVK FPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPQEVCVAVWRKND ENITLETVCHDPKLPYHDFILEDAASPKCIMKEKKKPGETFFMCSCS SDECNDNIIFSEEYNTSNPD，其中 X 是 K 或不存在

[0910]

SEQ ID NO: 194	hFc_白-3x4GS-TGFbR2	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREE MTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGXG GGGSGGGGSGGGGSIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFC DVRFSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPQEVCVAVWRKNDENITLETV CHDPKLPYHDFILEDAASPKCIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNI IFSEEYNTSNPD，其中 X 是 K 或不存在
SEQ ID NO: 195	hFc_杵-3x4GS-TGFbR2	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREE MTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGX GGGGSGGGGSGGGGSIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKF CDVRFSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPQEVCVAVWRKNDENITLET VCHDPKLPYHDFILEDAASPKCIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECND NIIFSEEYNTSNPD，其中 X 是 K 或不存在
SEQ ID NO: 196	TGFbR2-3x4GS-hCH1-hFc_白	IPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMS NCSITSICEKPQEVCVAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDA ASPKCIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNTSNPDGGGG SGGGGSGGGGSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGX，其中 X 是 K 或不存在
SEQ ID NO: 197	TGFbR2-3x4GS-hCH1-hFc_杵	IPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMS NCSITSICEKPQEVCVAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDA ASPKCIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNTSNPDGGGG SGGGGSGGGGSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGX，其中 X 是 K 或不存在
SEQ ID NO: 198	TGFbR2-3x4GS-hCLIg_vl	IPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMS NCSITSICEKPQEVCVAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDA ASPKCIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNTSNPDGGGG SGGGGSGGGGSGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPG AVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKS HRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

[0911]

SEQ ID NO: 199	TGFβR2-3x4GS-hCLIg_vk	IPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMS NCSITSICEKPQEVCVAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDA ASPKCIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNTSNPDGGGG SGGGGSGGGGSRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0912] 免疫细胞衔接物

[0913] 本文公开的多特异性或多功能分子的免疫细胞衔接物可以介导与免疫细胞(例如免疫效应细胞)的结合和/或激活。在一些实施方案中,免疫细胞选自T细胞、NK细胞、B细胞、树突细胞或巨噬细胞衔接物,或其组合。在一些实施方案中,免疫细胞衔接物选自T细胞衔接物、NK细胞衔接物、B细胞衔接物、树突细胞衔接物、或巨噬细胞衔接物中的一种、两种、三种或全部,或其组合。免疫细胞衔接物可以是免疫系统的激动剂。在一些实施方案中,免疫细胞衔接物可以是抗体分子、配体分子(例如,进一步包括免疫球蛋白恒定区,例如,Fc区的配体)、小分子、核苷酸分子。

[0914] 天然杀伤细胞衔接物

[0915] 天然杀伤(NK)细胞以独立于抗体的方式识别和破坏肿瘤和病毒感染的细胞。NK细胞的调节是通过激活和抑制NK细胞表面的受体来介导的。激活受体的一个家族是天然细胞毒性受体(NCR),其包括NKp30、NKp44和NKp46。NCR通过识别癌细胞上的硫酸乙酰肝素来启动肿瘤靶向。NKG2D是一种受体,可在激活的杀伤(NK)细胞上提供刺激性和共刺激性先天免疫应答,从而导致细胞毒活性。DNAM1是参与细胞毒性T淋巴细胞(CTL)和NK细胞介导的细胞间粘附、淋巴细胞信号传导、细胞毒性和淋巴因子分泌的受体。DAP10(也称为HCST)是一种跨膜衔接蛋白,可与KLRK1缔合形成淋巴样和髓样细胞中的激活受体KLRK1-HCST;该受体在触发针对表达细胞表面配体(例如MHC I类链相关的MICA和MICB)和U(任选地L1)6-结合蛋白(ULBP)的靶细胞的细胞毒性中起主要作用;KLRK1-HCST受体在针对肿瘤的免疫监视中起作用,并且是肿瘤细胞的细胞溶解所必需的;实际上,不表达KLRK1配体的黑色素瘤细胞逃脱了NK细胞介导的免疫监视。CD16是IgG Fc区的受体,它结合复合或聚集的IgG以及单体IgG,从而介导抗体依赖性的细胞毒性(ADCC)和其他抗体依赖性应答,例如吞噬作用。

[0916] 本公开内容尤其提供了多特异性(例如,双特异性,三特异性,四特异性)或多功能分子,其被工程化为包含一个或多个介导与NK细胞结合和/或激活NK细胞的NK细胞衔接物。因此,在一些实施方案中,NK细胞衔接物选自结合(例如激活)以下项的抗原结合域或配体:NKp30、NKp40、NKp44、NKp46、NKG2D、DNAM1、DAP10、CD16(例如,CD16a、CD16b或两者)、CRTAM、CD27、PSGL1、CD96、CD100(SEMA4D)、NKp80、CD244(也称为SLAMF4或2B4)、SLAMF6、SLAMF7、KIR2DS2、KIR2DS4、KIR3DS1、KIR2DS3、KIR2DS5、KIR2DS1、CD94、NKG2C、NKG2E或CD160。

[0917] 在一些实施方案中,NK细胞衔接物是与NKp30(例如,NKp30在NK细胞的表面存在,例如,表达或展示)结合的抗原结合域并且包含表7-10中公开的任何CDR氨基酸序列、构架区(FWR)氨基酸序列或可变区氨基酸序列。在一些实施方案中,NK细胞衔接物是与NKp30(例如,NKp30在NK细胞的表面存在,例如,表达或展示)结合的抗原结合域并且包含美国专利号6,979,546、美国专利号9,447,185、PCT申请号WO2015121383A1、PCT申请号WO2016110468A1、PCT申请号WO2004056392A1或美国申请公开号US20070231322A1中公开的任何CDR氨基酸序列、构架区(FWR)氨基酸序列或可变区氨基酸序列,其序列通过引用并入本文。在一些实施方案中,NK细胞衔接物的结合,例如,与NKp30结合的抗原结合域与NK细胞的结合激活NK细胞。与NKp30(例如,NKp30在NK细胞的表面存在,例如,表达或展示)结合的抗原结合域可被称为靶向NKp30、NK细胞或两者。

[0918] 在一些实施方案中,与NKp30结合的抗原结合域包括表7、表18或表8中公开的一个或多个CDR(例如,VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2和/或VLCDR3)或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列。在一些实施方案中,与NKp30结合的抗原结合域包括

表7、表18或表8中公开的一个或多个构架区(例如,VHFWR1、VHFWR2、VHFWR3、VHFWR4、VLFWR1、VLFWR2、VLFWR3和/或VLFWR4)或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列。在一些实施方案中,与NKp30结合的抗原结合域包括表9中公开的VH和/VL或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列。在一些实施方案中,与NKp30结合的抗原结合域包括表10中公开的氨基酸序列或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列。

[0919] 在一些实施方案中,与NKp30结合的抗原结合域包括VH,所述VH包含重链互补决定区1(VHCDR1)、VHCDR2和VHCDR3;以及VL,所述VL包含轻链互补决定区1(VLCDR1)、VLCDR2和VLCDR3。

[0920] 在一些实施方案中,VHCDR1、VHCDR2和VHCDR3分别包含SEQ ID NO:7313、6001和7315的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,VHCDR1、VHCDR2和VHCDR3分别包含SEQ ID NO:7313、6001和6002的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,VHCDR1、VHCDR2和VHCDR3分别包含SEQ ID NO:7313、6008和6009的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,VHCDR1、VHCDR2和VHCDR3分别包含SEQ ID NO:7313、7385和7315的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,VHCDR1、VHCDR2和VHCDR3分别包含SEQ ID NO:7313、7318和6009的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。

[0921] 在一些实施方案中,VLCDR1、VLCDR2和VLCDR3分别包含SEQ ID NO:7326、7327和7329的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,VLCDR1、VLCDR2和VLCDR3分别包含SEQ ID NO:6063、6064和7293的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,VLCDR1、VLCDR2和VLCDR3分别包含SEQ ID NO:6070、6071和6072的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,VLCDR1、VLCDR2和VLCDR3分别包含SEQ ID NO:6070、6064和7321的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。

[0922] 在一些实施方案中,VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2和VLCDR3分别包含SEQ ID NO:7313、6001、7315、7326、7327和7329的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2和VLCDR3分别包含SEQ ID NO:7313、6001、6002、6063、6064和7293的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2和VLCDR3分别包含SEQ ID NO:7313、6008、6009、6070、6071和6072的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2和VLCDR3分别包含SEQ ID NO:7313、7385、7315、6070、6064和7321的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。在一些实施方案中,VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2和VLCDR3分别包含SEQ ID NO:7313、7318、6009、6070、6064和7321的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。

[0923] 在一些实施方案中,VH包含选自SEQ ID NO:7298或7300-7304的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)并且/或者VL包含选自SEQ ID NO:7299

或7305-7309的氨基酸序列(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)。在一些实施方案中,VH和VL分别包含SEQ ID NO:7302和7305的氨基酸序列(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)。在一些实施方案中,VH和VL分别包含SEQ ID NO:7302和7309的氨基酸序列(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)。

[0924] 在一些实施方案中,VH包含选自SEQ ID NO:6121或6123-6128的氨基酸序列(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)并且/或者VL包含选自SEQ ID NO:7294或6137-6141的氨基酸序列(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)。在一些实施方案中,VH包含选自SEQ ID NO:6122或6129-6134的氨基酸序列(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)并且/或者VL包含选自SEQ ID NO:6136或6142-6147的氨基酸序列(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)。在一些实施方案中,VH和VL分别包含SEQ ID NO:7295和7296的氨基酸序列(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)。在一些实施方案中,VH和VL分别包含SEQ ID NO:7297和7296的氨基酸序列(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)。在一些实施方案中,VH和VL分别包含SEQ ID NO:6122和6136的氨基酸序列(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)。

[0925] 在一些实施方案中,与NKp30结合的抗原结合域包括SEQ ID NO:7310的氨基酸序列(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)。在一些实施方案中,与NKp30结合的抗原结合域包括SEQ ID NO:7311的氨基酸序列(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)。在一些实施方案中,与NKp30结合的抗原结合域包括SEQ ID NO:6187、6188、6189或6190的氨基酸序列(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)。

[0926] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6000的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6001的VHCDR2氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6002的VHCDR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)。在一些实施方案中,NKp30抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6000的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:6001的VHCDR2氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6002的VHCDR3氨基酸序列。

[0927] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,所述VL包含SEQ ID NO:6063的轻链互补决定区1(VLCDR1)氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6064的VLCDR2氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:7293的VLCDR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)。在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,所述VL包含SEQ ID NO:6063的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:6064的VLCDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:7293的VLCDR3氨基酸序列。

[0928] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6000的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6001的VHCDR2氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6002的VHCDR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列);以及VL,所述VL包含SEQ ID NO:6063的轻

链互补决定区1(VLCDR1)氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6064的VLCDR2氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:7293的VLCDR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)。在一些实施方案中,NKp30抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6000的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:6001的VHCDR2氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6002的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,所述VL包含SEQ ID NO:6063的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:6064的VLCDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:7293的VLCDR3氨基酸序列。

[0929] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6007的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6008的VHCDR2氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6009的VHCDR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)。在一些实施方案中,NKp30抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6007的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:6008的VHCDR2氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6009的VHCDR3氨基酸序列。

[0930] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,所述VL包含SEQ ID NO:6070的轻链互补决定区1(VLCDR1)氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6071的VLCDR2氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6072的VLCDR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)。在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,所述VL包含SEQ ID NO:6070的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:6071的VLCDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:6072的VLCDR3氨基酸序列。

[0931] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6007的重链互补决定区1(VHCDR1)氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6008的VHCDR2氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6009的VHCDR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列);以及VL,所述VL包含SEQ ID NO:6070的轻链互补决定区1(VLCDR1)氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6071的VLCDR2氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6072的VLCDR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3或4个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)。在一些实施方案中,NKp30抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6007的VHCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:6008的VHCDR2氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6009的VHCDR3氨基酸序列;以及VL,所述VL包含SEQ ID NO:6070的VLCDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:6071的VLCDR2氨基酸序列和SEQ ID NO:6072的VLCDR3氨基酸序列。

[0932] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6003的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6004的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6005的VHFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6006的VHFWR4氨基酸序列。

[0933] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,所述VL包含SEQ ID NO:6066的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6067的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:7292的VLFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6069的VLFWR4氨基酸序列。

[0934] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6003的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6004的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6005的VHFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6006的VHFWR4氨基酸序列;以及VL,所述VL包含SEQ ID NO:6066的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6067的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:7292的VLFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6069的VLFWR4氨基酸序列。

[0935] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6003的VHFWR1氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6004的VHFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6005的VHFWR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或11个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6006的VHFWR4氨基酸序列。

[0936] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,所述VL包含SEQ ID NO:6066的VLFWR1氨基酸序列(或具有不超过1、2或3个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6067的VLFWR2氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:7292的VLFWR3氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6069的VLFWR4氨基酸序列。

[0937] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6003的VHFWR1氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6004的VHFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6005的VHFWR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或11个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6006的VHFWR4氨基酸序列;以及VL,所述VL包含SEQ ID NO:6066的VLFWR1氨基酸序列(或具有不超过1、2或3个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6067的VLFWR2氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:7292的VLFWR3氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6069的VLFWR4氨基酸序列。

[0938] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6010的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6011的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6012的VHFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6013的VHFWR4氨基酸序列。

[0939] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,所述VL包含SEQ ID NO:6073的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6074的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6075的VLFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6076的VLFWR4氨基酸序列。

[0940] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6010的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6011的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6012的VHFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6013的VHFWR4氨基酸序列;以及VL,所述VL包含SEQ ID NO:6073的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6074的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6075的VLFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6076的VLFWR4氨基酸序列。

[0941] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6010的VHFWR1氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺

失的序列)、SEQ ID NO:6011的VHFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6012的VHFWR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或11个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6013的VHFWR4氨基酸序列。

[0942] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,所述VL包含SEQ ID NO:6073的VLFWR1氨基酸序列(或具有不超过1、2或3个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6074的VLFWR2氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6075的VLFWR3氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6076的VLFWR4氨基酸序列。

[0943] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6010的VHFWR1氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6011的VHFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6012的VHFWR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或11个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6013的VHFWR4氨基酸序列;以及VL,所述VL包含SEQ ID NO:6073的VLFWR1氨基酸序列(或具有不超过1、2或3个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6074的VLFWR2氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6075的VLFWR3氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6076的VLFWR4氨基酸序列。

[0944] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6014的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6015的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6016的VHFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6017的VHFWR4氨基酸序列。

[0945] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6014的VHFWR1氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6015的VHFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6016的VHFWR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或11个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6017的VHFWR4氨基酸序列。

[0946] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,所述VL包含SEQ ID NO:6077的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6078的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6079的VLFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6080的VLFWR4氨基酸序列。

[0947] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,所述VL包含SEQ ID NO:6077的VLFWR1氨基酸序列(或具有不超过1、2或3个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6078的VLFWR2氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6079的VLFWR3氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6080的VLFWR4氨基酸序列。

[0948] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6018的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6019的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6020的VHFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6021的VHFWR4氨基酸序列。

[0949] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6018的VHFWR1氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6019的VHFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6020的VHFWR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或11个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6021的VHFWR4氨基酸序列。

[0950] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,所述VL包含SEQ ID NO:6081的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6082的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6083的VLFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6084的VLFWR4氨基酸序列。

[0951] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,所述VL包含SEQ ID NO:6081的VLFWR1氨基酸序列(或具有不超过1、2或3个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6082的VLFWR2氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6083的VLFWR3氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6084的VLFWR4氨基酸序列。

[0952] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6022的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6023的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6024的VHFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6025的VHFWR4氨基酸序列。

[0953] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6022的VHFWR1氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6023的VHFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6024的VHFWR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或11个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6025的VHFWR4氨基酸序列。

[0954] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,所述VL包含SEQ ID NO:6085的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6086的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6087的VLFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6088的VLFWR4氨基酸序列。

[0955] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,所述VL包含SEQ ID NO:6085的VLFWR1氨基酸序列(或具有不超过1、2或3个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6086的VLFWR2氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6087的VLFWR3氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6088的VLFWR4氨基酸序列。

[0956] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6026的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6027的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6028的VHFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6029的VHFWR4氨基酸序列。

[0957] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6026的VHFWR1氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6027的VHFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6028的VHFWR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或11个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:

6029的VHFWR4氨基酸序列。

[0958] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,所述VL包含SEQ ID NO:6089的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6090的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6091的VLFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6092的VLFWR4氨基酸序列。

[0959] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,所述VL包含SEQ ID NO:6089的VLFWR1氨基酸序列(或具有不超过1、2或3个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6090的VLFWR2氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6091的VLFWR3氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6092的VLFWR4氨基酸序列。

[0960] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6030的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6032的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6033的VHFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6034的VHFWR4氨基酸序列。

[0961] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6030的VHFWR1氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6032的VHFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6033的VHFWR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或11个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6034的VHFWR4氨基酸序列。

[0962] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,所述VL包含SEQ ID NO:6093的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6094的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6095的VLFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6096的VLFWR4氨基酸序列。

[0963] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,所述VL包含SEQ ID NO:6093的VLFWR1氨基酸序列(或具有不超过1、2或3个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6094的VLFWR2氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6095的VLFWR3氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6096的VLFWR4氨基酸序列。

[0964] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6035的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6036的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6037的VHFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6038的VHFWR4氨基酸序列。

[0965] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6035的VHFWR1氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6036的VHFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6037的VHFWR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或11个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6038的VHFWR4氨基酸序列。

[0966] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6039的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6040的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6041的VHFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6042的VHFWR4氨基酸序列。

[0967] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6039

的VHFWR1氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6040的VHFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6041的VHFWR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或11个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6042的VHFWR4氨基酸序列。

[0968] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,所述VL包含SEQ ID NO:6097的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6098的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6099的VLFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6100的VLFWR4氨基酸序列。

[0969] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,所述VL包含SEQ ID NO:6097的VLFWR1氨基酸序列(或具有不超过1、2或3个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6098的VLFWR2氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6099的VLFWR3氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6100的VLFWR4氨基酸序列。

[0970] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6043的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6044的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6045的VHFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6046的VHFWR4氨基酸序列。

[0971] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6043的VHFWR1氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6044的VHFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6045的VHFWR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或11个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6046的VHFWR4氨基酸序列。

[0972] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,所述VL包含SEQ ID NO:6101的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6102的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6103的VLFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6104的VLFWR4氨基酸序列。

[0973] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,所述VL包含SEQ ID NO:6101的VLFWR1氨基酸序列(或具有不超过1、2或3个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6102的VLFWR2氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6103的VLFWR3氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6104的VLFWR4氨基酸序列。

[0974] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6047的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6048的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6049的VHFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6050的VHFWR4氨基酸序列。

[0975] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6047的VHFWR1氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6048的VHFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6049的VHFWR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或11个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6050的VHFWR4氨基酸序列。

[0976] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,所述VL包含SEQ ID NO:6105的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6106的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6107的VLFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6108的VLFWR4氨基酸序列。

[0977] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,所述VL包含SEQ ID NO:6105的VLFWR1氨基酸序列(或具有不超过1、2或3个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6106的VLFWR2氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6107的VLFWR3氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6108的VLFWR4氨基酸序列。

[0978] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6051的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6052的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6053的VHFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6054的VHFWR4氨基酸序列。

[0979] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6051的VHFWR1氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6052的VHFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6053的VHFWR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或11个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6054的VHFWR4氨基酸序列。

[0980] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,所述VL包含SEQ ID NO:6109的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6110的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6111的VLFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6112的VLFWR4氨基酸序列。

[0981] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,所述VL包含SEQ ID NO:6109的VLFWR1氨基酸序列(或具有不超过1、2或3个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6110的VLFWR2氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6111的VLFWR3氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6112的VLFWR4氨基酸序列。

[0982] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6055的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6056的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6057的VHFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6058的VHFWR4氨基酸序列。

[0983] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6055的VHFWR1氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6056的VHFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6057的VHFWR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或11个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6058的VHFWR4氨基酸序列。

[0984] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,所述VL包含SEQ ID NO:6113的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6114的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6115的VLFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6116的VLFWR4氨基酸序列。

[0985] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,所述VL包含SEQ ID NO:6113的VLFWR1氨基酸序列(或具有不超过1、2或3个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ

ID NO:6114的VLFWR2氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6115的VLFWR3氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6116的VLFWR4氨基酸序列。

[0986] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6059的重链构架区1(VHFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6060的VHFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6061的VHFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6062的VHFWR4氨基酸序列。

[0987] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6059的VHFWR1氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6060的VHFWR2氨基酸序列(或相对于其具有不超过1、2、3、4、5或6个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6061的VHFWR3氨基酸序列(或具有不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或11个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6062的VHFWR4氨基酸序列。

[0988] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,所述VL包含SEQ ID NO:6117的轻链构架区1(VLFWR1)氨基酸序列、SEQ ID NO:6118的VLFWR2氨基酸序列、SEQ ID NO:6119的VLFWR3氨基酸序列和/或SEQ ID NO:6120的VLFWR4氨基酸序列。

[0989] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,所述VL包含SEQ ID NO:6117的VLFWR1氨基酸序列(或具有不超过1、2或3个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6118的VLFWR2氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)、SEQ ID NO:6119的VLFWR3氨基酸序列(或具有不超过1个突变,例如,置换、添加或缺失的序列)和/或SEQ ID NO:6120的VLFWR4氨基酸序列。

[0990] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6148的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6148具有至少约77%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6149的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6149具有至少约77%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,所述VL包含SEQ ID NO:6150的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6150具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6148的氨基酸序列。在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6149的氨基酸序列。在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,所述VL包含SEQ ID NO:6150的氨基酸序列。

[0991] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6148的氨基酸序列;以及VL,所述VL包含SEQ ID NO:6150的氨基酸序列。在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6149的氨基酸序列;以及VL,所述VL包含SEQ ID NO:6150的氨基酸序列。

[0992] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6151的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6151具有至少约77%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6152的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6152具有至少约77%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,所述

VL包含SEQ ID NO:6153的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6153具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6151的氨基酸序列。在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6152的氨基酸序列。在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VL,所述VL包含SEQ ID NO:6153的氨基酸序列。

[0993] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6151的氨基酸序列;以及VL,所述VL包含SEQ ID NO:6153的氨基酸序列。在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括VH,所述VH包含SEQ ID NO:6152的氨基酸序列;以及VL,所述VL包含SEQ ID NO:6153的氨基酸序列。

[0994] 在一些实施方案中,靶向NKp30的抗原结合域包括scFv。在一些实施方案中,scFv包含选自SEQ ID NO:6187-6190的氨基酸序列,或与其具有至少约93%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列。

[0995] 表7.NKp30靶向抗原结合域的示例性重链CDR和FWR

[0996]

Ab ID	VHFWR1	VHCDR1	VHFWR2	VHCDR2	VHFWR3	VHCDR3	VHFWR4
9G1-HC	QIQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGFSIN (SEQ ID NO: 6003)	TGGYHWN (SEQ ID NO: 6000)	WIRQFPGKKLEWMG (SEQ ID NO: 6004)	YIYSSGSTSYNPSLKS (SEQ ID NO: 6001)	RISITRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCAR (SEQ ID NO: 6005)	GNWHYFDF (SEQ ID NO: 6002)	WGQGTMVTVSS (SEQ ID NO: 6006)
15H6-HC	QIQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGFSIN (SEQ ID NO: 6010)	TGGYHWN (SEQ ID NO: 6007)	WIRQFPGKKLEWMG (SEQ ID NO: 6011)	YIYSSGTTRYNPSLKS (SEQ ID NO: 6008)	RISITRDTSKNQFFLQLNSVTPEDTATYYCTR (SEQ ID NO: 6012)	GNWHYFDY (SEQ ID NO: 6009)	WGQGTLVAVSS (SEQ ID NO: 6013)
9G1-HC_1	QIQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSIN (SEQ ID NO: 6014)	TGGYHWN (SEQ ID NO: 6000)	WIRQPAGKGLEWIG (SEQ ID NO: 6015)	YIYSSGSTSYNPSLKS (SEQ ID NO: 6001)	RVTMSRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR (SEQ ID NO: 6016)	GNWHYFDF (SEQ ID NO: 6002)	WGQGTMVTVSS (SEQ ID NO: 6017)
9G1-HC_2	QIQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGFSIN (SEQ ID NO: 6018)	TGGYHWN (SEQ ID NO: 6000)	WIRQHPGKGLEWIG (SEQ ID NO: 6019)	YIYSSGSTSYNPSLKS (SEQ ID NO: 6001)	LVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR (SEQ ID NO: 6020)	GNWHYFDF (SEQ ID NO: 6002)	WGQGTMVTVSS (SEQ ID NO: 6021)
9G1-HC_3	EIQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSIN (SEQ ID NO: 6022)	TGGYHWN (SEQ ID NO: 6000)	WVRQAPGKGLEWVG (SEQ ID NO: 6023)	YIYSSGSTSYNPSLKS (SEQ ID NO: 6001)	RFTISRDTSKNTFYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 6024)	GNWHYFDF (SEQ ID NO: 6002)	WGQGTMVTVSS (SEQ ID NO: 6025)
9G1-HC_4	QIQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKVSGFSIN (SEQ ID NO: 6026)	TGGYHWN (SEQ ID NO: 6000)	WVRQAPGQGLEWMG (SEQ ID NO: 6027)	YIYSSGSTSYNPSLKS (SEQ ID NO: 6001)	RVTITRDTSTNTFYMELSSLRSEDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 6028)	GNWHYFDF (SEQ ID NO: 6002)	WGQGTMVTVSS (SEQ ID NO: 6029)
9G1-HC_5	EIQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSIN (SEQ ID NO: 6030)	TGGYHWN (SEQ ID NO: 6000)	WVRQAPGKGLEWVG (SEQ ID NO: 6032)	YIYSSGSTSYNPSLKS (SEQ ID NO: 6001)	RFTISRDTAKNSFYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 6033)	GNWHYFDF (SEQ ID NO: 6002)	WGQGTMVTVSS (SEQ ID NO: 6034)
9G1-HC_6	QIQLVQSGAEVKKPGASVKVS	TGGYHWN (SEQ ID NO: 6000)	WVRQAPGQGLEWMG (SEQ	YIYSSGSTSYNPSLKS (SEQ ID	RVTMTRDTSTNTFYMELSSLR	GNWHYFDF (SEQ ID NO:	WGQGTMVTVSS (SEQ ID

[0997]

	CKVSGFSIN (SEQ ID NO: 6035)		ID NO: 6036)	NO: 6001)	SEDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 6037)	6002)	NO: 6038)
15H6-HC_1	QIQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGFSIN (SEQ ID NO: 6039)	TGGYHWN (SEQ ID NO: 6007)	WIRQHPGKGLEWIG (SEQ ID NO: 6040)	YIYSSGTTRYNPSLKS (SEQ ID NO: 6008)	LVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR (SEQ ID NO: 6041)	GNWHYFDY (SEQ ID NO: 6009)	WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 6042)
15H6-HC_2	QIQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSIN (SEQ ID NO: 6043)	TGGYHWN (SEQ ID NO: 6007)	WIRQPAGKGLEWIG (SEQ ID NO: 6044)	YIYSSGTTRYNPSLKS (SEQ ID NO: 6008)	RVTMSRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR (SEQ ID NO: 6045)	GNWHYFDY (SEQ ID NO: 6009)	WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 6046)
15H6-HC_3	EIQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSIN (SEQ ID NO: 6047)	TGGYHWN (SEQ ID NO: 6007)	WVRQAPGKGLEWVG (SEQ ID NO: 6048)	YIYSSGTTRYNPSLKS (SEQ ID NO: 6008)	RFTISRDTSKNTFYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 6049)	GNWHYFDY (SEQ ID NO: 6009)	WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 6050)
15H6-HC_4	QIQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAVSGFSIN (SEQ ID NO: 6051)	TGGYHWN (SEQ ID NO: 6007)	WIRQAPGKGLEWVG (SEQ ID NO: 6052)	YIYSSGTTRYNPSLKS (SEQ ID NO: 6008)	RFTISRDTAKNSFYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 6053)	GNWHYFDY (SEQ ID NO: 6009)	WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 6054)
15H6-HC_5	QIQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGFSIN (SEQ ID NO: 6055)	TGGYHWN (SEQ ID NO: 6007)	WVRQAPGQGLEWMG (SEQ ID NO: 6056)	YIYSSGTTRYNPSLKS (SEQ ID NO: 6008)	RVTMTRDTSTNTFYMELSSLRSEDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 6057)	GNWHYFDY (SEQ ID NO: 6009)	WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 6058)
15H6-HC_6	EIQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGFSIN (SEQ ID NO: 6059)	TGGYHWN (SEQ ID NO: 6007)	WVQQAPGKGLEWMG (SEQ ID NO: 6060)	YIYSSGTTRYNPSLKS (SEQ ID NO: 6008)	RVTITRDTSTNTFYMELSSLRSEDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 6061)	GNWHYFDY (SEQ ID NO: 6009)	WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 6062)

[0998] 表18.NKp30靶向抗原结合域的示例性重链CDR和FWR(根据Kabat编号方案)

[0999]

Ab ID	VHFWR1	VHCDR1	VHFWR2	VHCDR2	VHFWR3	VHCDR3	VHFWR4
9G1-HC	QIQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGFSINTG (SEQ ID NO: 7317)	GYHWN (SEQ ID NO: 7313)	WIRQFPGKKLEWMG (SEQ ID NO: 6004)	YIYSSGSTSYNPSLKS (SEQ ID NO: 6001)	RISITRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCAR (SEQ ID NO: 6005)	GNWHYFDF (SEQ ID NO: 6002)	WGQGTMVTVSS (SEQ ID NO: 6006)
15H6-HC	QIQLQESG	GYHWN	WIRQFPGK	YIYSSGTT	RISITRDT	GNWHYFDY	WGQGTLVA

[1000]

	PGLVKPSQSLSLTCSVTGFSINTG (SEQ ID NO: 7317)	(SEQ ID NO: 7313)	KLEWMG (SEQ ID NO: 6011)	RYNPSLKS (SEQ ID NO: 6008)	SKNQFFLQLNSVTPEDTATYYCTR (SEQ ID NO: 6012)	(SEQ ID NO: 6009)	VSS (SEQ ID NO: 6013)
9G1-HC_1	QIQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSINTG (SEQ ID NO: 7371)	GYHWN (SEQ ID NO: 7313)	WIRQPAGKGLEWIG (SEQ ID NO: 6015)	YIYSSGSTSYNPSLKS (SEQ ID NO: 6001)	RVTMSRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR (SEQ ID NO: 6016)	GNWHYFDF (SEQ ID NO: 6002)	WGQGTMVTVSS (SEQ ID NO: 6017)
9G1-HC_2	QIQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGFSINTG (SEQ ID NO: 7372)	GYHWN (SEQ ID NO: 7313)	WIRQHPGKGLEWIG (SEQ ID NO: 6019)	YIYSSGSTSYNPSLKS (SEQ ID NO: 6001)	LVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR (SEQ ID NO: 6020)	GNWHYFDF (SEQ ID NO: 6002)	WGQGTMVTVSS (SEQ ID NO: 6021)
9G1-HC_3	EIQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSINTG (SEQ ID NO: 7373)	GYHWN (SEQ ID NO: 7313)	WVRQAPGKGLEWVG (SEQ ID NO: 6023)	YIYSSGSTSYNPSLKS (SEQ ID NO: 6001)	RFTISRDTSKNTFYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 6024)	GNWHYFDF (SEQ ID NO: 6002)	WGQGTMVTVSS (SEQ ID NO: 6025)
9G1-HC_4	QIQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKVSGFSINTG (SEQ ID NO: 7374)	GYHWN (SEQ ID NO: 7313)	WVRQAPGQGLEWMG (SEQ ID NO: 6027)	YIYSSGSTSYNPSLKS (SEQ ID NO: 6001)	RVTITRDTSTNTFYMELSSLRSEDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 6028)	GNWHYFDF (SEQ ID NO: 6002)	WGQGTMVTVSS (SEQ ID NO: 6029)
9G1-HC_5	EIQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSINTG (SEQ ID NO: 7375)	GYHWN (SEQ ID NO: 7313)	WVRQAPGKGLEWVG (SEQ ID NOL 6032)	YIYSSGSTSYNPSLKS (SEQ ID NO: 6001)	RFTISRDTAKNSFYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 6033)	GNWHYFDF (SEQ ID NO: 6002)	WGQGTMVTVSS (SEQ ID NO: 6034)
9G1-HC_6	QIQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGFSINTG (SEQ ID NO: 7376)	GYHWN (SEQ ID NO: 7313)	WVRQAPGQGLEWMG (SEQ ID NO: 6036)	YIYSSGSTSYNPSLKS (SEQ ID NO: 6001)	RVTMTRDTSTNTFYMELSSLRSEDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 6037)	GNWHYFDF (SEQ ID NO: 6002)	WGQGTMVTVSS (SEQ ID NO: 6038)
15H6-HC_1	QIQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGFSINTG (SEQ ID NO: 7372)	GYHWN (SEQ ID NO: 7313)	WIRQHPGKGLEWIG (SEQ ID NO: 6040)	YIYSSGTTRYNPSLKS (SEQ ID NO: 6008)	LVTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR (SEQ ID NO: 6041)	GNWHYFDY (SEQ ID NO: 6009)	WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 6042)
15H6-HC_2	QIQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSINTG (SEQ ID NO: 7371)	GYHWN (SEQ ID NO: 7313)	WIRQPAGKGLEWIG (SEQ ID NO: 6044)	YIYSSGTTRYNPSLKS (SEQ ID NO: 6008)	RVTMSRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAR (SEQ ID NO: 6045)	GNWHYFDY (SEQ ID NO: 6009)	WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 6046)

[1001]

15H6-HC_3	EIQLLESG GGLVQPGG SLRLSCAV SGFSINTG (SEQ ID NO: 7373)	GYHWN (SEQ ID NO: 7313)	WVRQAPGK GLEWVG (SEQ ID NO: 6048)	YIYSSGTT RYNPSLKS (SEQ ID NO: 6008)	RFTISRDT SKNTFYLQ MNSLRAED TAVYYCAR (SEQ ID NO: 6049)	GNWHYFDY (SEQ ID NO: 6009)	WGQGTLVT VSS (SEQ ID NO: 6050)
15H6-HC_4	QIQLVESG GGLVKPGG SLRLSCAV SGFSINTG (SEQ ID NO: 7377)	GYHWN (SEQ ID NO: 7313)	WIRQAPGK GLEWVG (SEQ ID NO: 6052)	YIYSSGTT RYNPSLKS (SEQ ID NO: 6008)	RFTISRDT AKNSFYLQ MNSLRAED TAVYYCAR (SEQ ID NO: 6053)	GNWHYFDY (SEQ ID NO: 6009)	WGQGTLVT VSS (SEQ ID NO: 6054)
15H6-HC_5	QIQLVQSG AEVKKPGA SVKVSCKV SGFSINTG (SEQ ID NO: 7376)	GYHWN (SEQ ID NO: 7313)	WVRQAPGQ GLEWMG (SEQ ID NO: 6056)	YIYSSGTT RYNPSLKS (SEQ ID NO: 6008)	RVTMTRDT STNTFYME LSSLRSED TAVYYCAR (SEQ ID NO: 6057)	GNWHYFDY (SEQ ID NO: 6009)	WGQGTLVT VSS (SEQ ID NO: 6058)
15H6-HC_6	EIQLVQSG AEVKKPGA TVKISCKV SGFSINTG (SEQ ID NO: 7378)	GYHWN (SEQ ID NO: 7313)	WVQQAPGK GLEWMG (SEQ ID NO: 6060)	YIYSSGTT RYNPSLKS (SEQ ID NO: 6008)	RVTITRDT STNTFYME LSSLRSED TAVYYCAR (SEQ ID NO: 6061)	GNWHYFDY (SEQ ID NO: 6009)	WGQGTLVT VSS (SEQ ID NO: 6062)
9D9-HC	QIQLQESG PGLVKPSQ SLSLSCSV TGFSINTG (SEQ ID NO: 7312)	GYHWN (SEQ ID NO: 7313)	WIRQFPGK KVEWMG (SEQ ID NO: 7314)	YIYSSGTT KYNPSLKS (SEQ ID NO: 7385)	RISITRDT SKNQFFLQ LNSVTTED TATYYCAR (SEQ ID NO: 6005)	GDWHYFDY (SEQ ID NO: 7315)	WGQGTMVA VSS (SEQ ID NO: 7316)
3A12-HC	QIQLQESG PGLVKPSQ SLSLTCSV TGFSINTG (SEQ ID NO: 7317)	GYHWN (SEQ ID NO: 7313)	WIRQFPGK KLEWMG (SEQ ID NO: 6004)	YIYSSGST RYNPSLKS (SEQ ID NO: 7318)	RFSITRDT SKNQFFLQ LNSVTTED TATYYCTR (SEQ ID NO: 7319)	GNWHYFDY (SEQ ID NO: 6009)	WGQGTLVA VSS (SEQ ID NO: 6013)
12D10-HC	QIQLQESG PGLVKPSQ SLSLTCSV TGFSINTG (SEQ ID NO: 7317)	GYHWN (SEQ ID NO: 7313)	WIRQFPGK KLEWMG (SEQ ID NO: 6004)	YIYSSGTT RYNPSLKS (SEQ ID NO: 6008)	RISITRDT SKNQFFLQ LNSVTPED TATYYCTR (SEQ ID NO: 6012)	GNWHYFDY (SEQ ID NO: 6009)	WGQGTLVA VSS (SEQ ID NO: 6013)
15E1-HC	QIQLQESG PGLVKPSQ SLSLSCSV TGFSITTT (SEQ ID NO: 7322)	GYHWN (SEQ ID NO: 7313)	WIRQFPGK KLEWMG (SEQ ID NO: 6004)	YIYSSGST SYNPSLKS (SEQ ID NO: 6001)	RFSITRDT SKNQFFLQ LNSVTTED TATYYCAR (SEQ ID NO: 7323)	GDWHYFDY (SEQ ID NO: 7315)	WGPGTMVT VSS (SEQ ID NO: 7324)
15E1_人源化变体_VH1	QIQLQESG PGLVKPSQ TLSLTCTV SGFSITTT (SEQ ID NO:	GYHWN (SEQ ID NO: 7313)	WIRQHPGK GLEWIG (SEQ ID NO: 6019)	YIYSSGST SYNPSLKS (SEQ ID NO: 6001)	LVTISRDT SKNQFSLK LSSVTAAD TAVYYCAR (SEQ ID NO:	GDWHYFDY (SEQ ID NO: 7315)	WGQGTMVT VSS (SEQ ID NO: 6006)

	7330)				6020)		
15E1_人源化变体_VH2	QIQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAVSGFSITTT (SEQ ID NO: 7331)	GYHWN (SEQ ID NO: 7313)	WIRQAPGKGLEWVG (SEQ ID NO: 6052)	YIYSSGSTSYNPSLKS (SEQ ID NO: 6001)	RFTISRDTAKNSFYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 6033)	GDWHYFDY (SEQ ID NO: 7315)	WGQGTMVTVSS (SEQ ID NO: 6006)
15E1_人源化变体_VH3	EIQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSITTT (SEQ ID NO: 7332)	GYHWN (SEQ ID NO: 7313)	WVRQAPGKGLEWVG (SEQ ID NO: 6023)	YIYSSGSTSYNPSLKS (SEQ ID NO: 6001)	RFTISRDTSKNTFYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 6024)	GDWHYFDY (SEQ ID NO: 7315)	WGQGTMVTVSS (SEQ ID NO: 6006)
15E1_人源化变体_VH4	EIQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSITTT (SEQ ID NO: 7333)	GYHWN (SEQ ID NO: 7313)	WVRQAPGKGLEWVG (SEQ ID NO: 6023)	YIYSSGSTSYNPSLKS (SEQ ID NO: 6001)	RFTISRDTAKNSFYLQMNSLRAEDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 6033)	GDWHYFDY (SEQ ID NO: 7315)	WGQGTMVTVSS (SEQ ID NO: 6006)
15E1_人源化变体_VH5	QIQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGFSITTT (SEQ ID NO: 7334)	GYHWN (SEQ ID NO: 7313)	WVRQAPGQGLEWMG (SEQ ID NO: 6027)	YIYSSGSTSYNPSLKS (SEQ ID NO: 6001)	RVTMTRDTSTNTFYMELSSLRSEDTAVYYCAR (SEQ ID NO: 6037)	GDWHYFDY (SEQ ID NO: 7315)	WGQGTMVTVSS (SEQ ID NO: 6006)

[1002]

[1003] 表8.NKp30靶向抗原结合域的示例性轻链CDR和FWR

Ab ID	VLFWR1	VLCDR1	VLFWR2	VLCDR2	VLFWR3	VLCDR3	VLFWR4
9G1-LC	SYTLTQPPLLSVALGHKATITC (SEQ ID NO: 6066)	SGERLSDKYVH (SEQ ID NO: 6063)	WYQQKPGRAPVMVIY (SEQ ID NO: 6067)	ENDKRPS (SEQ ID NO: 6064)	GIPDQFSGSNSGNIATLTISKAQAGYEADYYC (SEQ ID NO: 7292)	QSWDSTNSAV (SEQ ID NO: 7293)	FGSGTQLTVL (SEQ ID NO: 6069)
15H6-LC	SYTLTQPPSLSVAPGQKATIIC (SEQ ID NO: 6073)	SGENLSDKYVH (SEQ ID NO: 6070)	WYQQKPGRAPVMVIY (SEQ ID NO: 6074)	ENEKRPS (SEQ ID NO: 6071)	GIPDQFSGSNSGNIATLTISKAQPGSEADYYC (SEQ ID NO: 6075)	HYWESINSVV (SEQ ID NO: 6072)	FGSGTHLTVL (SEQ ID NO: 6076)
9G1-LC_1	QSVTTQPPSVSGAPGQRVTISC (SEQ ID NO: 6077)	SGERLSDKYVH (SEQ ID NO: 6063)	WYQQLPGTAPKMLIY (SEQ ID NO: 6078)	ENDKRPS (SEQ ID NO: 6064)	GVPDRFSGSNSGNSASLAITGLQAEDEADYYC (SEQ ID NO: 6079)	QSWDSTNSAV (SEQ ID NO: 7293)	FGGGTQLTVL (SEQ ID NO: 6080)
9G1-LC_2	QSVTTQPPSASGTPGQRVTISC (SEQ ID NO: 6081)	SGERLSDKYVH (SEQ ID NO: 6063)	WYQQLPGTAPKMLIY (SEQ ID NO: 6082)	ENDKRPS (SEQ ID NO: 6064)	GVPDRFSGSNSGNSASLAISGLQSEDEADYYC (SEQ ID NO: 6083)	QSWDSTNSAV (SEQ ID NO: 7293)	FGGGTQLTVL (SEQ ID NO: 6084)

[1004]

[1005]

9G1-LC_3	QSVTTQPPSASGTPGQRVTISC (SEQ ID NO: 6085)	SGERLSDKYVH (SEQ ID NO: 6063)	WYQQLPGTAPKMLIY (SEQ ID NO: 6086)	ENDKRPS (SEQ ID NO: 6064)	GVPDRFSGSNSGNSASLAISGLRSEDEADYYC (SEQ ID NO: 6087)	QSWDSTNSAV (SEQ ID NO: 7293)	FGGGTQLTVL (SEQ ID NO: 6088)
9G1-LC_4	SSETTQPHSVSVATAQMARITC (SEQ ID NO: 6089)	SGERLSDKYVH (SEQ ID NO: 6063)	WYQQKPGQDPVMVIY (SEQ ID NO: 6090)	ENDKRPS (SEQ ID NO: 6064)	GIPERFSGSNPGNTATLTISRIEAGDEADYYC (SEQ ID NO: 6091)	QSWDSTNSAV (SEQ ID NO: 7293)	FGGGTQLTVL (SEQ ID NO: 6092)
9G1-LC_5	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO: 6093)	SGERLSDKYVH (SEQ ID NO: 6063)	WYQQKPGKAPKMLIY (SEQ ID NO: 6094)	ENDKRPS (SEQ ID NO: 6064)	GVPSRFSGSNSGNEATLTISSLQPDDFATYYC (SEQ ID NO: 6095)	QSWDSTNSAV (SEQ ID NO: 7293)	FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 6096)
15H6-LC_1	QYVLTQPPSASGTPGQRVTISC (SEQ ID NO: 6097)	SGENLSDKYVH (SEQ ID NO: 6070)	WYQQLPGTAPKMLIY (SEQ ID NO: 6098)	ENEKRPS (SEQ ID NO: 6071)	GVPDRFSGSNSGNSASLAISGLQSEDEADYYC (SEQ ID NO: 6099)	HYWESINSVV (SEQ ID NO: 6072)	FGEGTELTVL (SEQ ID NO: 6100)
15H6-LC_2	QYVLTQPPSASGTPGQRVTISC (SEQ ID NO: 6101)	SGENLSDKYVH (SEQ ID NO: 6070)	WYQQLPGTAPKMLIY (SEQ ID NO: 6102)	ENEKRPS (SEQ ID NO: 6071)	GVPDRFSGSNSGNSASLAISGLRSEDEADYYC (SEQ ID NO: 6103)	HYWESINSVV (SEQ ID NO: 6072)	FGEGTELTVL (SEQ ID NO: 6104)
15H6-LC_3	SYELTQPPSVSVSPGQTASITC (SEQ ID NO: 6105)	SGENLSDKYVH (SEQ ID NO: 6070)	WYQQKPGQSPVMVIY (SEQ ID NO: 6106)	ENEKRPS (SEQ ID NO: 6071)	GIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYC (SEQ ID NO: 6107)	HYWESINSVV (SEQ ID NO: 6072)	FGEGTELTVL (SEQ ID NO: 6108)
15H6-LC_4	DYVLTQSPLSLPVTPGEPASISC (SEQ ID NO: 6109)	SGENLSDKYVH (SEQ ID NO: 6070)	WYLQKPGQSPQMLIY (SEQ ID NO: 6110)	ENEKRPS (SEQ ID NO: 6071)	GVPDRFSGSNSGNDATLKISRVEAEDVGVYYC (SEQ ID NO: 6111)	HYWESINSVV (SEQ ID NO: 6072)	FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 6112)
15H6-LC_5	AYQLTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO: 6113)	SGENLSDKYVH (SEQ ID NO: 6070)	WYQQKPGKAPKMLIY (SEQ ID NO: 6114)	ENEKRPS (SEQ ID NO: 6071)	GVPSRFSGSNSGNDATLTISSLQPEDFATYYC (SEQ ID NO: 6115)	HYWESINSVV (SEQ ID NO: 6072)	FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 6116)
15H6-LC_6	EYVLTQSPATLSVSPGERATLSC (SEQ ID NO: 6117)	SGENLSDKYVH (SEQ ID NO: 6070)	WYQQKPGQAPRMLIY (SEQ ID NO: 6118)	ENEKRPS (SEQ ID NO: 6071)	GIPARFSGSNSGNEATLTISSLQSEDFAVYYC (SEQ	HYWESINSVV (SEQ ID NO: 6072)	FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 6120)

[1006]

					ID NO: 6119)		
9D9-LC	SYTLTQPP LVSVALG QKATIIC (SEQ ID NO: 7320)	SGENLSD KYVH (SEQ ID NO: 6070)	WYQQKP GRAPVM VIY (SEQ ID NO: 6067)	ENDKRPS (SEQ ID NO: 6064)	GIPDQFSG SNSGNIAT LTISKAQ AGYEADY YC (SEQ ID NO: 7292)	HCWDSTN SAV (SEQ ID NO: 7321)	FGSGTHL TVL (SEQ ID NO: 6076)
3A12-LC	SYTLTQPP LVSVALG QKATIIC (SEQ ID NO: 7320)	SGENLSD KYVH (SEQ ID NO: 6070)	WYQQKP GRAPVM VIY (SEQ ID NO: 6067)	ENDKRPS (SEQ ID NO: 6064)	GIPDQFSG SNSGNIAT LTISKAQ AGYEADY YC (SEQ ID NO: 7292)	HCWDSTN SAV (SEQ ID NO: 7321)	FGSGTHL TVL (SEQ ID NO: 6076)
12D10-LC	SYTLTQPP SLSVAPG QKATIIC (SEQ ID NO: 6073)	SGENLSD KYVH (SEQ ID NO: 6070)	WYQQKP GRAPVM VIY (SEQ ID NO: 6074)	ENEKRPS (SEQ ID NO: 6071)	GIPDQFSG SNSGNIAT LTISKAQP GSEADYY C (SEQ ID NO: 6075)	HYWESIN SVV (SEQ ID NO: 6072)	FGSGTHL TVL (SEQ ID NO: 6076)
15E1-LC	SFTLTQPP LVSVAVG QVATITC (SEQ ID NO: 7325)	SGEKLSD KYVH (SEQ ID NO: 7326)	WYQQKP GRAPVM VIY (SEQ ID NO: 6067)	ENDRRPS (SEQ ID NO: 7327)	GIPDQFSG SNSGNIAS LTISKAQ AGDEADY FC (SEQ ID NO: 7328)	QFWDSTN SAV (SEQ ID NO: 7329)	FGGGTQL TVL (SEQ ID NO: 6080)
15E1_人源化变体_VL1	SSETTQPP SVSVSPG QTASITC (SEQ ID NO: 7335)	SGEKLSD KYVH (SEQ ID NO: 7326)	WYQQKP GQSPVMV IY (SEQ ID NO: 6106)	ENDRRPS (SEQ ID NO: 7327)	GIPERFSG SNSGNTA TLTISGTQ AMDEAD YFC (SEQ ID NO: 7336)	QFWDSTN SAV (SEQ ID NO: 7329)	FGGGTQL TVL (SEQ ID NO: 6080)
15E1_人源化变体_VL2	SSETTQPH SVSVATA QMARITC (SEQ ID NO: 6089)	SGEKLSD KYVH (SEQ ID NO: 7326)	WYQQKP GQDPVM VIY (SEQ ID NO: 6090)	ENDRRPS (SEQ ID NO: 7327)	GIPERFSG SNPGNTA TLTISRIE AGDEADY FC (SEQ ID NO: 7337)	QFWDSTN SAV (SEQ ID NO: 7329)	FGGGTQL TVL (SEQ ID NO: 6080)
15E1_人源化变体_VL3	QSVTTQP PSASGTP GQRVTIS C (SEQ ID NO: 6081)	SGEKLSD KYVH (SEQ ID NO: 7326)	WYQQLP GTAPKML IY (SEQ ID NO: 6078)	ENDRRPS (SEQ ID NO: 7327)	GVPDRFS GSNSGNS ASLAISGL RSEDEAD YFC (SEQ ID NO: 7338)	QFWDSTN SAV (SEQ ID NO: 7329)	FGGGTQL TVL (SEQ ID NO: 6080)
15E1_人源化变体_VL4	QSVTTQP PSVSGAP GQRVTIS C (SEQ ID NO: 6077)	SGEKLSD KYVH (SEQ ID NO: 7326)	WYQQLP GTAPKML IY (SEQ ID NO: 6078)	ENDRRPS (SEQ ID NO: 7327)	GVPDRFS GSNSGNS ASLAITGL QAEDEAD YFC (SEQ ID NO: 7339)	QFWDSTN SAV (SEQ ID NO: 7329)	FGGGTQL TVL (SEQ ID NO: 6080)
15E1_人源化变体_VL5	DSVTTQS PLSLPVTL GQPASISC (SEQ ID	SGEKLSD KYVH (SEQ ID NO: 7326)	WYQQRP GQSPRML IY (SEQ ID NO: 7341)	ENDRRPS (SEQ ID NO: 7327)	GVPDRFS GSNSGND ATLKISRV EAEDVGV	QFWDSTN SAV (SEQ ID NO: 7329)	FGGGTKV EIK (SEQ ID NO: 233)

[1007]

	NO: 7340)				YFC (SEQ ID NO: 7342)		

[1008] 表9.NKp30靶向抗原结合域的示例性可变区

[1009]

SEQ ID NO	Ab ID	说明	序列
SEQ ID NO: 6121	9G1-HC	9G1 重链可变区	QIQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGFSINTGGYH WNWIRQFPGKKLEWMGYIYSSGSTSYNPSLKSRI SITRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCARGNW HYFDFWGQGTMVTVSS
SEQ ID NO: 6122	15H6-HC	15H6 重链可变区	QIQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGFSINTGGYH WNWIRQFPGKKLEWMGYIYSSGTTRYNPSLKSR ISITRDTSKNQFFLQLNSVTPEDTATYYCTRGNW HYFDYWGQGTLVAVSS
SEQ ID NO: 6123	9G1-HC_1	9G1 重链可变区人源化变体 1	QIQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSINTGGYH WNWIRQPAGKGLEWIGYIYSSGSTSYNPSLKSRV TMSRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGN WHYFDFWGQGTMVTVSS
SEQ ID NO: 6124	9G1-HC_2	9G1 重链可变区人源化变体 2	QIQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGFSINTGGYH WNWIRQHPGKGLEWIGYIYSSGSTSYNPSLKSLV TISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGNW HYFDFWGQGTMVTVSS
SEQ ID NO: 6125	9G1-HC_3	9G1 重链可变区人源化变体 3	EIQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSINTGGY HWNWVRQAPGKGLEWVGYIYSSGSTSYNPSLKS RFTISRDTSKNTFYLQMNSLRAEDTAVYYCARG NWHYFDFWGQGTMVTVSS
SEQ ID NO: 6126	9G1-HC_4	9G1 重链可变区人源化变体 4	QIQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKVSGFSINTGGY HWNWVRQAPGQGLEWMGYIYSSGSTSYNPSLK SRVTITRDTSTNTFYMELSSLRSEDTAVYYCARG NWHYFDFWGQGTMVTVSS
SEQ ID NO: 6127	9G1-HC_5	9G1 重链可变区人源化变体 5	EIQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSINTGGY HWNWVRQAPGKGLEWVGYIYSSGSTSYNPSLKS RFTISRDTAKNSFYLQMNSLRAEDTAVYYCARG NWHYFDFWGQGTMVTVSS
SEQ ID NO: 6128	9G1-HC_6	9G1 重链可变区人源化变体 6	QIQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGFSINTGGY HWNWVRQAPGQGLEWMGYIYSSGSTSYNPSLK SRVTMTRDTSTNTFYMELSSLRSEDTAVYYCAR GNWHYFDFWGQGTMVTVSS
SEQ ID NO: 6129	15H6-HC_1	15H6 重链可变区人源化变体 1	QIQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGFSINTGGYH WNWIRQHPGKGLEWIGYIYSSGTTRYNPSLKSLV TISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGNW HYFDYWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 6130	15H6-HC_2	15H6 重链可变区人源化变体 2	QIQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSINTGGYH WNWIRQPAGKGLEWIGYIYSSGTTRYNPSLKSR VTMSRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGN WHYFDYWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 6131	15H6-HC_3	15H6 重链可变区人源化变	EIQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSINTGGY HWNWVRQAPGKGLEWVGYIYSSGTTRYNPSLK SRFTISRDTSKNTFYLQMNSLRAEDTAVYYCARG

[1010]

		体 3	NWHYFDYWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 6132	15H6-HC_4	15H6 重链可变区人源化变体 4	QIQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAVSGFSINTGGY HWNWIRQAPGKGLEWVGYIYSSGTTRYNPSLKS RFTISRDTAKNSFYLQMNSLRAEDTAVYYCARG NWHYFDYWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 6133	15H6-HC_5	15H6 重链可变区人源化变体 5	QIQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGFSINTGGY HWNWVRQAPGQGLEWMGYIYSSGTTRYNPSLK SRVTMTRDTSTNTFYMELSSLRSEDTAVYYCAR GNWHYFDYWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 6134	15H6-HC_6	15H6 重链可变区人源化变体 6	EIQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGFSINTGGY HWNWVQQAPGKGLEWMGYIYSSGTTRYNPSLK SRVTITRDTSTNTFYMELSSLRSEDTAVYYCARG NWHYFDYWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 7294	9G1-LC	9G1 轻链可变区	SYTLTQPPLLSVALGHKATITCSGERLSDKYVHW YQQKPGRAPVMVIYENDKRPSGIPDQFSGSNSGN IATLTISKAQAGYEADYYCQSWDSTNSAVFGSGT QLTVL
SEQ ID NO: 6136	15H6-LC	15H6 轻链可变区	SYTLTQPPSLSVAPGQKATIICSGENLSDKYVHW YQQKPGRAPVMVIYENEKRPSGIPDQFSGSNSGN IATLTISKAQPGSEADYYCHYWESINSVVFGSGT HLTVL
SEQ ID NO: 6137	9G1-LC_1	9G1 轻链可变区人源化变体 1	QSVTTQPPSVSGAPGQRVTISCSGERLSDKYVHW YQQLPGTAPKMLIYENDKRPSGVPDRFSGSNSGN SASLAITGLQAEDEADYYCQSWDSTNSAVFGGG TQLTVL
SEQ ID NO: 6138	9G1-LC_2	9G1 轻链可变区人源化变体 2	QSVTTQPPSASGTPGQRVTISCSGERLSDKYVHW YQQLPGTAPKMLIYENDKRPSGVPDRFSGSNSGN SASLAISGLQSEDEADYYCQSWDSTNSAVFGGG TQLTVL
SEQ ID NO: 6139	9G1-LC_3	9G1 轻链可变区人源化变体 3	QSVTTQPPSASGTPGQRVTISCSGERLSDKYVHW YQQLPGTAPKMLIYENDKRPSGVPDRFSGSNSGN SASLAISGLRSEDEADYYCQSWDSTNSAVFGGGT QLTVL
SEQ ID NO: 6140	9G1-LC_4	9G1 轻链可变区人源化变体 4	SSETTQPHSVSVATAQMARITCSGERLSDKYVH WYQQKPGQDPVMVIYENDKRPSGIPERFSGSNP GNTATLTISRIEAGDEADYYCQSWDSTNSAVFGG GTQLTVL
SEQ ID NO: 6141	9G1-LC_5	9G1 轻链可变区人源化变体 5	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCSGERLSDKYVH WYQQKPGKAPKMLIYENDKRPSGVPSRFSGSNS GNEATLTISSLQPDDFATYYCQSWDSTNSAVFGQ GTKVEIK
SEQ ID NO: 6142	15H6-LC_1	15H6 轻链可变区人源化变体 1	QYVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGENLSDKYVHW YQQLPGTAPKMLIYENEKRPSGVPDRFSGSNSGN SASLAISGLQSEDEADYYCHYWESINSVVFGEGT ELTVL
SEQ ID NO: 6143	15H6-LC_2	15H6 轻链可变区人源化变体 2	QYVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGENLSDKYVHW YQQLPGTAPKMLIYENEKRPSGVPDRFSGSNSGN SASLAISGLRSEDEADYYCHYWESINSVVFGEGT ELTVL

[1011]

SEQ ID NO: 6144	15H6-LC_3	15H6 轻链可变区人源化变体 3	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGENLSDKYVHW YQQKPGQSPVMVIYENEKRPSGIPERFSGSNSGN TATLTISGTQAMDEADYYCHYWESINSVVFGEG TELTVL
SEQ ID NO: 6145	15H6-LC_4	15H6 轻链可变区人源化变体 4	DYVLTQSPLSLPVTPGEPASISCSGENLSDKYVH WYLQKPGQSPQMLIYENEKRPSGVPDRFSGSNS GNDATLKISRVEAEDVGVYYCHYWESINSVVFG QGTKVEIK
SEQ ID NO: 6146	15H6-LC_5	15H6 轻链可变区人源化变体 5	AYQLTQSPSSLSASVGDRVTITCSGENLSDKYVH WYQQKPGKAPKMLIYENEKRPSGVPSRFSGSNS GNDATLTISSLQPEDFATYYCHYWESINSVVFGQ GTKVEIK
SEQ ID NO: 6147	15H6-LC_6	15H6 轻链可变区人源化变体 6	EYVLTQSPATLSVSPGERATLSCSGENLSDKYVH WYQQKPGQAPRMLIYENEKRPSGIPARFSGSNSG NEATLTISSLQSEDFAVYYCHYWESINSVVFGQG TKVEIK
SEQ ID NO: 7295	9D9-HC	9D9 重链可变区	QIQLQESGPGLVKPSQSLSLSCSVTGFSINTGGYH WNWIRQFPGKKVEWMGYIYSSGTTKYNPSLKSR ISITRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCARGDW HYFDYWGQGTMVAVSS
SEQ ID NO: 7296	9D9-LC	9D9 轻链可变区	SYTLTQPPLVSVALGQKATIICSGENLSDKYVHW YQQKPGRAPVMVIYENDKRPSGIPDQFSGSNSGN IATLTISKAQAGYEADYYCHCWDSTNSAVFGSG THLTVL
SEQ ID NO: 7297	3A12-HC	3A12 重链可变区	QIQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGFSINTGGYH WNWIRQFPGKKLEWMGYIYSSGSTRYNPSLKSR FSITRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCTRGNW HYFDYWGQGTLVAVSS
SEQ ID NO: 7296	3A12-LC	3A12 轻链可变区	SYTLTQPPLVSVALGQKATIICSGENLSDKYVHW YQQKPGRAPVMVIYENDKRPSGIPDQFSGSNSGN IATLTISKAQAGYEADYYCHCWDSTNSAVFGSG THLTVL
SEQ ID NO: 6122	12D10-HC	12D10 重链可变区	QIQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGFSINTGGYH WNWIRQFPGKKLEWMGYIYSSGTTRYNPSLKSR ISITRDTSKNQFFLQLNSVTPEDTATYYCTRGNW HYFDYWGQGTLVAVSS
SEQ ID NO: 6136	12D10-LC	12D10 轻链可变区	SYTLTQPPSLSVAPGQKATIICSGENLSDKYVHW YQQKPGRAPVMVIYENEKRPSGIPDQFSGSNSGN IATLTISKAQPGSEADYYCHYWESINSVVFGSGT HLTVL
SEQ ID NO: 7298	15E1-HC	15E1 重链可变区	QIQLQESGPGLVKPSQSLSLSCSVTGFSITTTGYH WNWIRQFPGKKLEWMGYIYSSGSTSYNPSLKSR FSITRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCARGDW HYFDYWGPGTMVTVSS
SEQ ID NO: 7299	15E1-LC	15E1 轻链可变区	SFTLTQPPLVSVAVGQVATITCSGEKLSDKYVHW YQQKPGRAPVMVIYENDRRPSGIPDQFSGSNSGN IASLTISKAQAGDEADYFCQFWDSTNSAVFGGGT QLTVL
SEQ ID NO: 7300	15E1_人源化变	15E1 重链可变区人源化变	QIQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGFSITTTGYH WNWIRQHPGKGLEWIGYIYSSGSTSYNPSLKSLV TISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGDW

[1012]

	体_VH1	体 1	HYFDYWGQGTMVTVSS
SEQ ID NO: 7301	15E1_人源化变体_VH2	15E1 重链可变区人源化变体 2	QIQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAVSGFSITTTGY HWNWIRQAPGKGLEWVGYIYSSGSTSYNPSLKS RFTISRDTAKNSFYLQMNSLRAEDTAVYYCARG DWHYFDYWGQGTMVTVSS
SEQ ID NO: 7302	15E1_人源化变体_VH3 (BJM0407 VH 和 BJM0411 VH)	15E1 重链可变区人源化变体 3	EIQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSITTTGYH WNWVRQAPGKGLEWVGYIYSSGSTSYNPSLKSR FTISRDTSKNTFYLQMNSLRAEDTAVYYCARGD WHYFDYWGQGTMVTVSS
SEQ ID NO: 7303	15E1_人源化变体_VH4	15E1 重链可变区人源化变体 4	EIQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSITTTGYH WNWVRQAPGKGLEWVGYIYSSGSTSYNPSLKSR FTISRDTAKNSFYLQMNSLRAEDTAVYYCARGD WHYFDYWGQGTMVTVSS
SEQ ID NO: 7304	15E1_人源化变体_VH5	15E1 重链可变区人源化变体 5	QIQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGFSITTTGY HWNWVRQAPGQGLEWMGYIYSSGSTSYNPSLK SRVTMTRDTSTNTFYMELSSLRSEDTAVYYCAR GDWHYFDYWGQGTMVTVSS
SEQ ID NO: 7305	15E1_人源化变体_VL1 (BJM0407 VL)	15E1 轻链可变区人源化变体 1	SSETTQPPSVSVSPGQTASITCSGEKLSDKYVHW YQQKPGQSPVMVIYENDRRPSGIPERFSGSNSGN TATLTISGTQAMDEADYFCQFWDSTNSAVFGGG TQLTVL
SEQ ID NO: 7306	15E1_人源化变体_VL2	15E1 轻链可变区人源化变体 2	SSETTQPHSVSVATAQMARITCSGEKLSDKYVH WYQQKPGQDPVMVIYENDRRPSGIPERFSGSNPG NTATLTISRIEAGDEADYFCQFWDSTNSAVFGGG TQLTVL
SEQ ID NO: 7307	15E1_人源化变体_VL3	15E1 轻链可变区人源化变体 3	QSVTTQPPSASGTPGQRVTISCSGEKLSDKYVHW YQQLPGTAPKMLIYENDRRPSGVPDRFSGSNSGN SASLAISGLRSEDEADYFCQFWDSTNSAVFGGGT QLTVL
SEQ ID NO: 7308	15E1_人源化变体_VL4	15E1 轻链可变区人源化变体 4	QSVTTQPPSVSGAPGQRVTISCSGEKLSDKYVHW YQQLPGTAPKMLIYENDRRPSGVPDRFSGSNSGN SASLAITGLQAEDEADYFCQFWDSTNSAVFGGG TQLTVL
SEQ ID NO: 7309	15E1_人源化变体_VL5 (BJM0411 VL)	15E1 轻链可变区人源化变体 5	DSVTTQSPLSLPVTLGQPASISCSGEKLSDKYVH WYQQRPGQSPRMLIYENDRRPSGVPDRFSGSNS GNDATLKISRVEAEDVGVYFCQFWDSTNSAVFG GGTKVEIK

[1013] 表10.示例性NKp30靶向抗原结合域/抗体分子

[1014]

SEQ ID NO	Ab ID	说明	序列
SEQ ID NO: 6148	Ch(抗NKp30 9G1)HC N297A	9G1 重链	QIQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGFSINTGGYHWN WIRQFPGKKLEWMGYIYSSGSTSYNPSLKSRISITRDT SKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCARGNWHYFDFWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLS CAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK
SEQ ID NO: 6149	Ch(抗NKp30 9G1)HC	9G1 重链	QIQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGFSINTGGYHWN WIRQFPGKKLEWMGYIYSSGSTSYNPSLKSRISITRDT SKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCARGNWHYFDFWGQ GTMVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLS CAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK
SEQ ID NO: 6150	Ch(抗NKp30 9G1)LC	9G1 轻链	SYTLTQPPLLSVALGHKATITCSGERLSDKYVHWYQQ KPGRAPVMVIYENDKRPSGIPDQFSGSNSGNIATLTIS KAQAGYEADYYCQSWDSTNSAVFGSGTQLTVLGQP KANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTV AWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTP EQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
SEQ ID NO: 6151	Ch(抗NKp30 15H6)HC N297A	15H6 重链	QIQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGFSINTGGYHWN WIRQFPGKKLEWMGYIYSSGTTRYNPSLKSRISITRDT SKNQFFLQLNSVTPEDTATYYCTRGNWHYFDYWGQ GTLVAVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLS CAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK
SEQ ID NO: 6152	Ch(抗NKp30 15H6)HC (白)	15H6 重链	QIQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGFSINTGGYHWN WIRQFPGKKLEWMGYIYSSGTTRYNPSLKSRISITRDT SKNQFFLQLNSVTPEDTATYYCTRGNWHYFDYWGQ GTLVAVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE

			VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLS CAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK
SEQ ID NO: 6153	Ch(抗 NKp30 15H6)LC	15H6 轻链	SYTLTQPPSLSVAPGQKATIICSGENLSDKYVHWYQQ KPGRAPVMVIYENEKRPSGIPDQFSGSNSGNIATLTIS KAQPGSEADYYCHYWESINSVVFGSGTHLTVLGQPK ANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVA WKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPE QWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
SEQ ID NO: 6187	抗 NKp30 9G1 scFv (VH-VL)	VH 至 VL 取向的 9G1 的仓鼠抗 NKp30 scFv	QIQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGFSINTGGYHWN WIRQFPGKKLEWMGYIYSSGSTSYNPSLKSRISITRDT SKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCARGNWHYFDFWGQ GTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSSYTLTQPP LLSVALGHKATITCSGERLSDKYVHWYQQKPGRAPV MVIYENDKRPSGIPDQFSGSNSGNIATLTISKAQAGYE ADYYCQSWDSTNSAVFGSGTQLTVL
SEQ ID NO: 6188	抗 NKp30 9G1 scFv (VL-VH)	VL 至 VH 取向的 9G1 的仓鼠抗 NKp30 scFv	SYTLTQPPLLSVALGHKATITCSGERLSDKYVHWYQQ KPGRAPVMVIYENDKRPSGIPDQFSGSNSGNIATLTIS KAQAGYEADYYCQSWDSTNSAVFGSGTQLTVLGGG GSGGGGSGGGGSGGGGSQIQLQESGPGLVKPSQSLSL TCSVTGFSINTGGYHWNWIRQFPGKKLEWMGYIYSS GSTSYNPSLKSRISITRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTAT YYCARGNWHYFDFWGQGTMVTVSS
SEQ ID NO: 6189	抗 NKp30 15H6 scFv (VH-VL)	VH 至 VL 取向的 15H6 的仓鼠抗 NKp30 scFv	QIQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGFSINTGGYHWN WIRQFPGKKLEWMGYIYSSGTTRYNPSLKSRISITRDT SKNQFFLQLNSVTPEDTATYYCTRGNWHYFDYWGQ GTLVAVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSSYTLTQPP SLSVAPGQKATIICSGENLSDKYVHWYQQKPGRAPV MVIYENEKRPSGIPDQFSGSNSGNIATLTISKAQPGSE ADYYCHYWESINSVVFGSGTHLTVL
SEQ ID NO: 6190	抗 NKp30 15H6 scFv (VL-VH)	VL 至 VH 取向的 15H6 的仓鼠抗 NKp30 scFv	SYTLTQPPSLSVAPGQKATIICSGENLSDKYVHWYQQ KPGRAPVMVIYENEKRPSGIPDQFSGSNSGNIATLTIS KAQPGSEADYYCHYWESINSVVFGSGTHLTVLGGGG SGGGGSGGGGSGGGGSQIQLQESGPGLVKPSQSLSLT CSVTGFSINTGGYHWNWIRQFPGKKLEWMGYIYSSG TTRYNPSLKSRISITRDTSKNQFFLQLNSVTPEDTATY YCTRGNWHYFDYWGQGTLVAVSS
SEQ ID NO: 7310	BJM0859 λ scFv		EIQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSITTTGYHWN WVRQAPGKGLEWVGYIYSSGSTSYNPSLKSRFTISRD TSKNTFYLQMNSLRAEDTAVYYCARGDWHYFDYW GQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSSSETTQ PPSVSVSPGQTASITCSGEKLSDKYVHWYQQKPGQSP VMVIYENDRRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMD EADYFCQFWDSTNSAVFGGGTQLTVL
SEQ ID NO: 7311	BJM0860 κ scFv		EIQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSITTTGYHWN WVRQAPGKGLEWVGYIYSSGSTSYNPSLKSRFTISRD TSKNTFYLQMNSLRAEDTAVYYCARGDWHYFDYW GQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDSVTT QSPLSLPVTLGQPASISCSGEKLSDKYVHWYQQRPGQ SPRMLIYENDRRPSGVPDRFSGSNSGNDATLKISRVEA EDVGVYFCQFWDSTNSAVFGGGTKVEIK

[1015]

[1016] 在一些实施方案中,NK细胞衔接物是与NKp46(例如,NKp46在NK细胞的表面存在,例如,表达或展示)结合的抗原结合域并且包含表15中公开的任何CDR氨基酸序列、构架区(FWR)氨基酸序列或可变区氨基酸序列。在一些实施方案中,NK细胞衔接物的结合,例如,与NKp46结合的抗原结合域与NK细胞的结合激活NK细胞。与NKp46(例如,NKp46在NK细胞的表面存在,例如,表达或展示)结合的抗原结合域可被称为靶向NKp46、NK细胞或两者。

[1017] 在一些实施方案中,NK细胞衔接物是与NKG2D(例如,NKG2D在NK细胞的表面存在,

例如,表达或展示)结合的抗原结合域并且包含表15中公开的任何CDR氨基酸序列、构架区(FWR)氨基酸序列或可变区氨基酸序列。在一些实施方案中,NK细胞衔接物的结合,例如,与NKG2D结合的抗原结合域与NK细胞的结合激活NK细胞。与NKG2D(例如,NKG2D在NK细胞的表面存在,例如,表达或展示)结合的抗原结合域可被称为靶向NKG2D、NK细胞或两者。

[1018] 在一些实施方案中,NK细胞衔接物是与CD16(例如,CD16在NK细胞的表面存在,例如,表达或展示)结合的抗原结合域并且包含表15中公开的任何CDR氨基酸序列、构架区(FWR)氨基酸序列或可变区氨基酸序列。在一些实施方案中,NK细胞衔接物的结合,例如,与CD16结合的抗原结合域与NK细胞的结合激活NK细胞。与CD16(例如,CD16在NK细胞的表面存在,例如,表达或展示)结合的抗原结合域可被称为靶向CD16、NK细胞或两者。

[1019] 表15.NKp46、NKG2D或CD16靶向抗原结合域的示例性可变区

[1020]

SEQ ID NO	Ab ID	说明	序列
SEQ ID NO: 6175	NKG2D_ 1scFV	结合 NKG2D 的 scFV	QVHLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSDDSISSYYWSWIR QPPGKGLEWIGHISYSGSANYNPSLKSRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCANWDDAFNIWGQGTMV TVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSL SPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIY GASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYY CQQYGSSPWTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 6176	NKG2D_1 VH	结合 NKG2D 的 VH	QVHLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSDDSISSYYWSWIR QPPGKGLEWIGHISYSGSANYNPSLKSRVTISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTAVYYCANWDDAFNIWGQGTMV TVSS

[1021]

SEQ ID NO: 6177	NKG2D_1 VL	结合 NKG2D 的 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQ QKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIS RLEPEDFAVYYCQQYGSSPWTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 6178	NKG2D_ 2scFV	结合 NKG2D 的 scFV	EVQLVQSGAEVKEPGESLKISCKNSGYSFTNYWVGW VRQMPGKGLEWMGIIYPGDSDTRYSPSFQGQVTISAD KSINTAYLQWSSLKASDTAMYYCGRLTMFRGIIIGYF DYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEI VLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQK PGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSL EPEDFAVYYCQQRSNWPWTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 6179	NKG2D_2 VH	结合 NKG2D 的 VH	EVQLVQSGAEVKEPGESLKISCKNSGYSFTNYWVGW VRQMPGKGLEWMGIIYPGDSDTRYSPSFQGQVTISAD KSINTAYLQWSSLKASDTAMYYCGRLTMFRGIIIGYF DYWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 6180	NKG2D_2 VL	结合 NKG2D 的 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISS LEPEDFAVYYCQQRSNWPWTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 6181	NKp46sc FV	结合 NKp46 的 scFV	QVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTDYVINW GKQRSGQGLEWIGEIYPGSGTNYYNEKFKAKATLTA DKSSNIAYMQLSSLTSEDSAVYFCARRGRYGLYAMD YWGQGTSVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ MTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQQKP DGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTINNL EQEDIATYFCQQGNTRPWTFGGGTKLEIK
SEQ ID NO: 6182	NKp46VH	结合 NKp46 的 VH	QVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTDYVINW GKQRSGQGLEWIGEIYPGSGTNYYNEKFKAKATLTA DKSSNIAYMQLSSLTSEDSAVYFCARRGRYGLYAMD YWGQGTSVTVSS
SEQ ID NO: 6183	NKp46VL	结合 NKp46 的 VL	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQ QKPDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTI NNLEQEDIATYFCQQGNTRPWTFGGGTKLEIK
SEQ ID NO: 6184	CD16scF V	结合 CD16 的 scFV	EVQLVESGG GVVRPGGSLR LSCAASGFTF DDYGMSWVRQ APGKGLEWVS GINWNGGSTG YADSVKGRFT ISRDNAKNSL YLQMNSLRAE DTAVYYCARG RSLLFDYWGQ GTLVTVSRGG GGSGGGGSGG GGSSELTQDP AVSVALGQTV RITCQGDSLR SYYASWYQQK PGQAPVLVIY GKNNRPSGIP DRFSGSSSGN TASLTITGAQ AEDEADYYCN SRDSSGNHVV FGGGTKLTVL
SEQ ID NO: 6185	CD16VH	结合 CD16 的 VH	EVQLVESGG GVVRPGGSLR LSCAASGFTF DDYGMSWVRQ APGKGLEWVS GINWNGGSTG YADSVKGRFT ISRDNAKNSL YLQMNSLRAE DTAVYYCARG RSLLFDYWGQ GTLVTVSR
SEQ ID NO: 6186	CD16VL	结合 CD16 的 VL	SSELTQDP AVSVALGQTVRITCQGDSLR SYYASWYQQK PGQAPVLVIY GKNNRPSGIP DRFSGSSSGNTASLTITGAQ AEDEADYYCN SRDSSGNHVV FGGGTKLTVL

[1022] 在一个实施方案中,NK细胞衔接物是NKp30的配体,例如B7-6,例如,包含以下氨基酸序列:

[1023] DLKVEMMAGGTQITPLNDNVTIFCNIFYSQPLNITSMGITWFWKSLTFDKEVKVFEFFGDHQEAFRPG AIVSPWRLKSGDASLRLPGIQLEEAGEYRCEVVVTPLKAQGTVQLEVVASPASRLLLDQVGMKENEDKYMCESSGF YPEAINITWEKQTQKFPHPIEISEDVITGPTIKNMDGTFNVTSCLKLNSSQEDPGTVYQCVVRHASLHTPLRSNFT LTAARHSLSETEKTDNFS(SEQ ID NO:7233),其片段,或与其基本相同(例如,与其95%至99.9%相同,或相对于SEQ ID NO:7233的氨基酸序列具有至少一个氨基酸改变,但不超过五个、十个或十五个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换))的氨基酸序列。

[1024] 在其他实施方案中,NK细胞衔接物是NKp44或NKp46的配体,即病毒HA。病毒血凝素(HA)是病毒表面的糖蛋白。HA蛋白允许病毒通过唾液酸糖部分与细胞膜结合,唾液酸糖部分有助于病毒膜与细胞膜融合(参见例如,Eur J Immunol.2001年9月;31(9):2680-9“Recognition of viral hemagglutinins by NKp44 but not by NKp30”;以及Nature.2001年2月22日;409(6823):1055-60“Recognition of haemagglutinins on virus-infected cells by NKp46 activates lysis by human NK cells”,其各自的内容均通过引用并入本文)。

[1025] 在其他实施方案中,NK细胞衔接物是选自MICA、MICB或ULBP1的NKG2D配体,例如,其中:

[1026] (i)MICA包含氨基酸序列:

[1027] EPHSLRYNLTVLSWDGSVQSGFLTEVHLDGQPFLRCDRQKCRAKPQGQWAEDVLGNKTWDRETRDLTGNGKDLRMTLAHIKDQKEGLHSLQEIRVCEIHEDNSTRSSQHFYYDGELFLSQNLETKEWTMPQSSRAQTLAMNVRNFLKEDAMKTKTHYHAMHADCLQELRRYLKSGVVLRRTVPPMVNVTRSEASEGNITVTCRASGFYPWNITLSWRQDGVSLSHDTQQWGDVLPDGNGTYQTWVATRICQGEEQRFTCYMEHSGNHSTHPVPSGKVLVLQSHW(SEQ ID NO:7234),其片段,或与其基本相同(例如,与其95%至99.9%相同,或相对于SEQ ID NO:7234的氨基酸序列具有至少一个氨基酸改变,但不超过五个、十个或十五个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换))的氨基酸序列;(ii)MICB包含氨基酸序列:

[1028] AEPHSLRYNLMVLSQDESVQSGFLAEGHLDGQPFLRYDRQKRRAKPQGQWAEDVLGAKTWDTETEDLTENGQDLRRTLTHIKDQKGGLHSLQEIRVCEIHEDSSTRGSRHFYYDGELFLSQNLETQESTVPQSSRAQTLAMNVTNFWKEDAMKTKTHYRAMQADCLQKLQRYLKSGVAIRRTVPPMVNVTCSEVSEGNITVTCRASSFYPRNITLTWRQDGVSLSHNTQQWGDVLPDGNGTYQTWVATRIRQGEEQRFTCYMEHSGNHGTHPVPSGKVLVLQSQRTD(SEQ ID NO:7235),其片段,或与其基本相同(例如,与其95%至99.9%相同,或相对于SEQ ID NO:7235的氨基酸序列具有至少一个氨基酸改变,但不超过五个、十个或十五个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换))的氨基酸序列;或者(iii)ULBP1包含氨基酸序列:

[1029] GWVDTHCLCYDFIITPKSRPEPQWCEVQGLVDERPFLHYDCVNHKAKAFASLGKKVNVTKTWEEQTETLRDVVDFLKGQLLDIQVENLIPIEPLTLQARMSCEHEAHGHGRGSWQFLFNGQKFLLFDSNNRKWTALHPGAKKMTEKWEKNRDVTMFFQKISLGDCKMWLEEFLMYWEQMLDPTKPPSLAPG(SEQ ID NO:7236),其片段,或与其基本相同(例如,与其95%至99.9%相同,或相对于SEQ ID NO:7236的氨基酸序列具有至少一个氨基酸改变,但不超过五个、十个或十五个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换))的氨基酸序列。

[1030] 在其他实施方案中,NK细胞衔接物是选自NECTIN2或NECL5的DNAM1配体,例如,其中:

[1031] (i)NECTIN2包含氨基酸序列:

[1032] QDVRVQVLPEVRGQLGGTVELPCHLLPPVPGLYISLVTWQRPDAPANHQNVAAFHPKMGPSFPSPKPGSERLSFVSAKQSTGQDTEAELQDATLALHGLTVEDEGNYTCEFATFPKGSVRGMTWLRVIAKPKNQAEAQKVTFSQDPTTVALCISKEGRPPARISWLSSLDWEAKETQVSGTLAGTVTVTSRFTLVPSGRADGVTVTCKVEHESFEEPALIPVTLSVRYPPEVSISGYDDNWYLGRTDATLSCDVRSNPEPTGYDWSTTSGTFPTSAVAQGSQLVIHAVDSLFNTTFVCTVTNAVGMGRAEQVIFVRETPNTAGAGATGG(SEQ ID NO:7237),其片段,或与其基本相同(例如,与其95%至99.9%相同,或相对于SEQ ID NO:7237的氨基酸序列具有至少一个氨基酸改

变,但不超过五个、十个或十五个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换))的氨基酸序列;或者

[1033] (ii)NECL5包含氨基酸序列:

[1034] WPPPGTGDVVVQAPTQVPGFLGDSVTLPCYLQVPNMEVTHVSQLTWARHGESGSMAVFHQTQGPSYSESKRLEFVAARLGAELRNASLRMFGLRVEDEGNYTCLFVTFPQGSRSVDIWLRVLAKPQNTAEVQKVQLTGEPVPMARCVSTGGRPPAQITWHSDLGGMPNTSQVPGFLSGTVTVTSLWILVPSSQVDGKNVTCKVEHESFEKPQLLTVNLTVYYPPEVSISGYDNNWYLGQNEATLTCDARSNPEPTGYNWSTTMGPLPPFAVAQGAQLLIRPVDKPINTTLICNVTNALGARQAELTVQVKEGPPSEHSGISRN(SEQ ID NO:7238),其片段,或与其基本相同(例如,与其95%至99.9%相同,或相对于SEQ ID NO:7238的氨基酸序列具有至少一个氨基酸改变,但不超过五个、十个或十五个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换))的氨基酸序列。

[1035] 在其他实施方案中,NK细胞衔接物是DAP10的配体,该配体是NKG2D的衔接子(参见例如Proc Natl Acad Sci U S A.2005年5月24日;102(21):7641-7646;和Blood,2011年9月15日,第118卷第11期,其各自的全部内容通过引用并入本文。

[1036] 在其他实施方案中,NK细胞衔接物是CD 16的配体,该配体是CD16a/b配体,例如,进一步包含抗体Fc区的CD16a/b配体(参见,例如,Front Immunol.2013;4:76讨论了抗体如何使用Fc通过CD16触发NK细胞,其全部内容并入本文)。

[1037] 在其他实施方案中,NK细胞衔接物是CRTAM的配体,即NECL2,例如其中NECL2包含氨基酸序列:

[1038] QNLFTKDVTVIEGEVATISCQVNKSDDSVIQLLNPNRQTIYFRDFRPLKDSRFQLLNFSSSELKVSLTNVSISDEGRYFCQLYTDPPQESYTTITVLVPPRNLMIDIQKDTAVEGEEIEVNCTAMASKPATTIRWFKGNTELKGKSEVEEWSDMYTVTSQLMLKVHKEDDGVPVICQVEHPAVTGNLQTQRYLEVQYKPQVHIQMTYPLQGLTREGDALELTCEAIGKPQPVMVTWVRVDDEMPQHAVLSGPNLFINNLNKTDNGTYRCEASNIVGKAHSDYMLYVYDPPTTIPPPTTTTTTTTTTTTILTIITDSRAGEEGSIRAVDH(SEQ ID NO:7239),其片段,或与其基本相同(例如,与其95%至99.9%相同,或相对于SEQ ID NO:7239的氨基酸序列具有至少一个氨基酸改变,但不超过五个、十个或十五个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换))的氨基酸序列。

[1039] 在其他实施方案中,NK细胞衔接物是CD27的配体,即CD70,例如,其中CD70包含氨基酸序列:

[1040] QRFAQAQQQLPLESLGWDVAELQLNHTGPQQDPRLYWQGGPALGRSFLHGPELDKGQLRIHRDGIYMVHIQVTLAICSSTTASRHHPTTLAVGICSPASRSISLLRLSFHQGCTIASQRLTPLARGDTLCTNLTGTLLPSRNTDETFFGVQWVRP(SEQ ID NO:7240),其片段,或与其基本相同(例如,与其95%至99.9%相同,或相对于SEQ ID NO:7240的氨基酸序列具有至少一个氨基酸改变,但不超过五个、十个或十五个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换))的氨基酸序列。

[1041] 在其他实施方案中,NK细胞衔接物是PSGL1的配体,即L-选择蛋白(CD62L),例如,其中L-选择蛋白包含氨基酸序列:

[1042] WTYHYSEKPMNWQRARRFCRDNYTDLVAIQNKAEIEYLEKTLPFSRSYYWIGIRKIGGIWTWVGTNKSLTEEAENWGDGEPNNKKNKEDCVEIYIKRNKDAGKWNDDACHKLKAALCYTASCQPWSCSGHGECVEIINNYTCNCDVGYYGPQCQFVIQCEPLEAPELGTMDCTHPLGNFSFSSQCAFSCSEGTNLTGIEETTCGPFGNWSSPEPTCQVIQCEPLSAPDLGIMNCSHPLASFSFTSACTFICSEGTELIGKKKTICESSGIWSNPSPICQKLDKSFSMIKEGDYN

(SEQ ID NO:7241),其片段,或与其基本相同(例如,与其95%至99.9%相同,或相对于SEQ ID NO:7241的氨基酸序列具有至少一个氨基酸改变,但不超过五个、十个或十五个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换))的氨基酸序列。

[1043] 在其他实施方案中,NK细胞衔接物是CD96的配体,即NECL5,例如其中NECL5包含氨基酸序列:

[1044] WPPPGTGDVVVQAPTQVPGFLGDSVTLPCYLQVPNMEVTHVSQLTWARHGESGSMAVFHQTQGPSYSESKRLEFVAARLGAELRNASLRMFGLRVEDEGNYTCLFVTFPQGSRSVDIWLRVLAKPQNTAEVQKVQLTGEPVPMARCVSTGGRPPAQITWHSDLGGMPNTSQVPGFLSGTVTVTSLWILVPSSQVDGKNVTCKVEHESFEKPQLLTVNLTVYYPPEVSISGYDNNWYLGQNEATLTCDARSNPEPTGYNWSTTMGPLPPFAVAQGAQLLIRPVDKPINTTLICNVTNALGARQAELTVQVKEGPPSEHSGISRN(SEQ ID NO:7238),其片段,或与其基本相同(例如,与其95%至99.9%相同,或相对于SEQ ID NO:7238的氨基酸序列具有至少一个氨基酸改变,但不超过五个、十个或十五个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换))的氨基酸序列。

[1045] 在其他实施方案中,NK细胞衔接物是CD 100(SEMA4D)的配体,即CD72,其中CD72包含氨基酸序列:

[1046] RYLQVSQQLQQTNRVLEVTNSSLRQQLRLKITQLGQSAEDLQGSRRELAQSQEALQVEQRAHQAAEGQLQACQADRQKTKETLQSEEQQRRALEQKLSNMENRLKPFFTCGSADTCCPSGWIMHQKSCFYISLTSKNWQESQKQCETLSSKLATFSEIYPQSHSYYFLNSLLPNGGSGNSYWTGLSSNKDWKLTDDTQRTRTYAQSSKCNKVHKTWSWWTLESESCRSSLPYICEMTAFRFPD(SEQ ID NO:7242),其片段,或与其基本相同(例如,与其95%至99.9%相同,或相对于SEQ ID NO:7242的氨基酸序列具有至少一个氨基酸改变,但不超过五个、十个或十五个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换))的氨基酸序列。

[1047] 在其他实施方案中,NK细胞衔接物是NKp80的配体,即CLEC2B(AICL),例如其中CLEC2B(AICL)包含氨基酸序列:KLTRDSQSLCPYDWIGFQNKCYYFSKEEGDWNSSKYNCSTQHADLTIIDNIEEMNFLRRYKCSSDHWIGLKMAKNRTGQWVDGATFTKSFGMRGSEGCAYLSDDGAATARCYTERKWICRKRIH(SEQ ID NO:7243),其片段,或与其基本相同(例如,与其95%至99.9%相同,或相对于SEQ ID NO:7243的氨基酸序列具有至少一个氨基酸改变,但不超过五个、十个或十五个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换))的氨基酸序列。

[1048] 在其他实施方案中,NK细胞衔接物是CD244的配体,即CD48,例如,其中CD48包含氨基酸序列:QGHLVHMTVVSGSNVTLNISESLPENYKQLTWFYTFDQKIVEWDSRKSKYFESKFKGRVRLDPQSGALYISKVQKEDNSTYIMRVLKKTGNEQEWKIKLQVLDPVPKPVIKIEKIEDMDDNCYLKLSCVIPGESVNYTWYGDKRPFPKELQNSVLETTLMPHNYSRCYTCQVSNSVSSKNGTVCLSPPCTLARS(SEQ ID NO:7244),其片段,或与其基本相同(例如,与其95%至99.9%相同,或相对于SEQ ID NO:7244的氨基酸序列具有至少一个氨基酸改变,但不超过五个、十个或十五个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换))的氨基酸序列。

[1049] 在一些实施方案中,NK细胞衔接物是病毒血凝素(HA),HA是在流感病毒表面上发现的糖蛋白。它负责使病毒与膜上带有唾液酸的细胞,例如上呼吸道中的细胞或红细胞结合。HA具有至少18种不同的抗原。这些亚型被命名为H1至H18。NCR可以识别病毒蛋白。已经证明NKp46能够与流感的HA和副粘病毒(包括仙台病毒和新城疫病毒)的HA-NA相互作用。除了NKp46,NKp44也可以在功能上与不同流感亚型的HA相互作用。

[1050] 死亡受体信号衔接物

[1051] 死亡受体,例如,死亡受体4和5(DR4和DR5,也分别称为TRAIL-R1和TRAIL-R2)是在正常人体组织中广泛表达的三聚体I型跨膜蛋白。死亡受体的激活导致细胞内信号传导,从而诱导细胞死亡。TNF相关凋亡诱导配体(TRAIL)(也称为Apo2L)是三聚体蛋白,其与死亡受体结合,激活死亡受体的细胞死亡诱导信号传导(Amarante-Mendes and Griffith.Pharmacol Ther.2015Nov;155:117-31)。

[1052] 本公开内容尤其提供了多特异性(例如,双特异性、三特异性、四特异性)或多功能分子,其经工程化以包括一种或多种死亡受体信号衔接物,所述死亡受体信号衔接物在靶细胞(例如,肿瘤抗原呈递细胞(例如,癌细胞,例如,淋巴瘤细胞),或表达TRBC1或TRBC2的淋巴细胞)上介导与死亡受体的结合和/或死亡受体信号传导的激活。因此,在一些实施方案中,死亡受体信号衔接物包括一种或多种TRAIL多肽或其片段(TRAIL分子)、一种或多种死亡受体或其片段(死亡受体分子)、或一种或多种特异性结合死亡受体(例如,并激活死亡受体信号传导)的抗原结合域。不希望受理论束缚,认为可以激活靶细胞上的死亡受体信号传导的死亡受体信号衔接物可以诱导靶细胞,例如靶疾病细胞,例如,靶癌细胞的死亡。

[1053] 死亡受体信号衔接物可以包含来自或衍生于本领域技术人员已知的TRAIL和死亡受体变化形式的TRAIL分子和/或死亡受体分子。在一些实施方案中,死亡受体信号衔接物包含人的TRAIL分子或死亡受体分子。在一些实施方案中,死亡受体信号衔接物包含小鼠的TRAIL分子或死亡受体分子。在一些实施方案中,死亡受体信号衔接物包含哺乳动物的TRAIL分子或死亡受体分子。在一些实施方案中,死亡受体信号衔接物包含(例如,相对于野生型的TRAIL分子或死亡受体分子)截短的TRAIL分子或死亡受体分子。

[1054] 在一些实施方案中,死亡受体信号衔接物包含截短的TRAIL分子,其包含至少与人TRAIL的氨基酸95-281对应的残基,例如,包含与人TRAIL的氨基酸95-281对应的残基的截短的TRAIL分子。在一些实施方案中,死亡受体信号衔接物包含截短的TRAIL分子,其包含人TRAIL的95-281的残基。

[1055] 在一些实施方案中,死亡受体信号衔接物包含截短的TRAIL分子,其包含至少与人TRAIL的氨基酸122-281对应的残基,例如,包含与人TRAIL的氨基酸122-281对应的残基的截短的TRAIL分子。在一些实施方案中,死亡受体信号衔接物包含截短的TRAIL分子,其包含人TRAIL的122-281的残基。

[1056] 在一些实施方案中,死亡受体信号衔接物包含一个、两个或三个TRAIL分子(例如,死亡受体信号衔接物分别是单体的、二聚体的或三聚体的TRAIL分子)。在一些实施方案中,死亡受体信号衔接物包含一个、两个或三个死亡受体分子(例如,死亡受体信号衔接物分别是单体的、二聚体的或三聚体的死亡受体分子)。在一些实施方案中,死亡受体信号衔接物包含与死亡受体(例如,一个或多个死亡受体,例如,相同或不同的死亡受体)特异性结合的一个、两个或三个抗原结合域。

[1057] 在一些实施方案中,死亡受体信号衔接物包含选自表11的氨基酸序列(或与选自表11的序列具有至少约77%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[1058] 在一些实施方案中,死亡受体信号衔接物包含SEQ ID NO:6157的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6157具有至少约77%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[1059] 在一些实施方案中,死亡受体信号衔接物包含SEQ ID NO:6158的氨基酸序列(或

与SEQ ID NO:6158具有至少约77％、80％、85％、90％、95％或99％序列同一性的氨基酸序列)。

[1060] 在一些实施方案中,死亡受体信号衔接物包含SEQ ID NO:6159的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6159具有至少约77％、80％、85％、90％、95％或99％序列同一性的氨基酸序列)。

[1061] 在一些实施方案中,死亡受体信号衔接物包含SEQ ID NO:6160的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6160具有至少约77％、80％、85％、90％、95％或99％序列同一性的氨基酸序列)。

[1062] 在一些实施方案中,死亡受体信号衔接物包含SEQ ID NO:6161的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6161具有至少约77％、80％、85％、90％、95％或99％序列同一性的氨基酸序列)。

[1063] 在一些实施方案中,死亡受体信号衔接物包含SEQ ID NO:6162的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6162具有至少约77％、80％、85％、90％、95％或99％序列同一性的氨基酸序列)。

[1064] 在一些实施方案中,死亡受体信号衔接物包含SEQ ID NO:6163的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6163具有至少约77％、80％、85％、90％、95％或99％序列同一性的氨基酸序列)。

[1065] 在一些实施方案中,死亡受体信号衔接物包含SEQ ID NO:6164的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6164具有至少约77％、80％、85％、90％、95％或99％序列同一性的氨基酸序列)。

[1066] 在一些实施方案中,死亡受体信号衔接物包含SEQ ID NO:6165的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6165具有至少约77％、80％、85％、90％、95％或99％序列同一性的氨基酸序列)。

[1067] 在一些实施方案中,死亡受体信号衔接物包括在与本公开内容的多功能分子的另一组分相同的多肽链上,例如,死亡受体信号衔接物与优先结合淋巴瘤细胞(例如,T细胞)上的肿瘤抗原(其中肿瘤抗原是T细胞受体β链恒定域1(TRBC1)或T细胞受体β链恒定域2(TRBC2))的第一抗原结合域的重链和/或轻链、选择性靶向表达T细胞受体β链恒定域1(TRBC1)或T细胞受体β链恒定域2(TRBC2)的淋巴细胞的第一抗原结合域的重链和/或轻链、免疫细胞衔接物、细胞因子分子或基质修饰部分被包含在相同的多肽链上,例如,作为融合蛋白。在一些实施方案中,多功能分子包括融合蛋白,该融合蛋白包括死亡受体信号衔接物和第一抗原结合域的轻链,该第一抗原结合域优先结合淋巴瘤细胞(例如,T细胞)上的肿瘤抗原,其中肿瘤抗原是T细胞受体β链恒定域1(TRBC1)或T细胞受体β链恒定域2(TRBC2)。在一些实施方案中,多功能分子包括融合蛋白,该融合蛋白包括死亡受体信号衔接物和第一抗原结合域的轻链,该第一抗原结合域选择性靶向表达T细胞受体β链恒定域1(TRBC1)或T细胞受体β链恒定域2(TRBC2)的淋巴细胞。

[1068] 在一些实施方案中,包括死亡受体信号衔接物和靶向TRBC1的第一抗原结合域的轻链的融合蛋白包括SEQ ID NO:6170的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6170具有至少约77％、80％、85％、90％、95％或99％序列同一性的氨基酸序列)。

[1069] 在一些实施方案中,包括死亡受体信号衔接物和靶向TRBC1的第一抗原结合域的

轻链的融合蛋白包括SEQ ID NO:6171的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6171具有至少约77%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[1070] 在一些实施方案中,包括死亡受体信号衔接物和靶向TRBC1的第一抗原结合域的轻链的融合蛋白包括SEQ ID NO:6172的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6172具有至少约77%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[1071] 在一些实施方案中,多功能分子包括融合蛋白,该融合蛋白包括死亡受体信号衔接物和靶向TRBC1的第一抗原结合域的轻链以及靶向TRBC1的第一抗原结合域的重链,该轻链包括SEQ ID NO:6170的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6170具有至少约77%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列),该重链包括SEQ ID NO:6167的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6167具有至少约77%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。在一些实施方案中,多功能分子包括融合蛋白,该融合蛋白包括死亡受体信号衔接物和靶向TRBC1的第一抗原结合域的轻链以及靶向TRBC1的第一抗原结合域的重链,该轻链包括SEQ ID NO:6170的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6170具有至少约77%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列),该重链包括SEQ ID NO:6168的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6168具有至少约77%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[1072] 在一些实施方案中,多功能分子包括融合蛋白,该融合蛋白包括死亡受体信号衔接物和靶向TRBC1的第一抗原结合域的轻链以及靶向TRBC1的第一抗原结合域的重链,该轻链包括SEQ ID NO:6171的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6171具有至少约77%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列),该重链包括SEQ ID NO:6167的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6167具有至少约77%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。在一些实施方案中,多功能分子包括融合蛋白,该融合蛋白包括死亡受体信号衔接物和靶向TRBC1的第一抗原结合域的轻链以及靶向TRBC1的第一抗原结合域的重链,该轻链包括SEQ ID NO:6171的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6171具有至少约77%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列),该重链包括SEQ ID NO:6168的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6168具有至少约77%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[1073] 在一些实施方案中,多功能分子包括融合蛋白,该融合蛋白包括死亡受体信号衔接物和靶向TRBC1的第一抗原结合域的轻链以及靶向TRBC1的第一抗原结合域的重链,该轻链包括SEQ ID NO:6172的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6172具有至少约77%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列),该重链包括SEQ ID NO:6167的氨基酸序列(或具与SEQ ID NO:6167有至少约77%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。在一些实施方案中,多功能分子包括融合蛋白,该融合蛋白包括死亡受体信号衔接物和靶向TRBC1的第一抗原结合域的轻链以及靶向TRBC1的第一抗原结合域的重链,该轻链包括SEQ ID NO:6172的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6172具有至少约77%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列),该重链包括SEQ ID NO:6168的氨基酸序列(或与SEQ ID NO:6168具有至少约77%、80%、85%、90%、95%或99%序列同一性的氨基酸序列)。

[1074] 表11.示例性死亡受体信号衔接物

[1075]

SEQ ID NO	参考 ID	说明	序列
SEQ ID NO: 6157	单体_hTRAIL_aa122_281-hFc_杵_Cys-空白	包含残基 122-281 的单体人 TRAIL	METDTLLLWVLLLWVPGSTGDYKDDDDKGGGGS GTGGAAAHITGTRGRSNTLSSPNSKNEKALGRKINS WESSRSGHSFLSNLHLRNGELVIHEKGFYYIYSQTY FRFQEEIKENTKNDKQMVQYIYKYTSYPDPILLMKS ARNSCWSKDAEYGLYSIYQGGIFELKENDRIFVSVT NEHLIDMDHEASFFGAFAVSGSGNGTSNGTSGSSG GDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTK NQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 6158	二聚体_hTRAIL_aa122_281-hFc_杵_Cys-空白	包含残基 122-281 的二聚体人 TRAIL	METDTLLLWVLLLWVPGSTGDYKDDDDKGGGGS GTGGAAAHITGTRGRSNTLSSPNSKNEKALGRKINS WESSRSGHSFLSNLHLRNGELVIHEKGFYYIYSQTY FRFQEEIKENTKNDKQMVQYIYKYTSYPDPILLMKS ARNSCWSKDAEYGLYSIYQGGIFELKENDRIFVSVT NEHLIDMDHEASFFGAFAVSGAAAHITGTRGRSNT LSSPNSKNEKALGRKINSWESSRSGHSFLSNLHLRN GELVIHEKGFYYIYSQTYFRFQEEIKENTKNDKQM VQYIYKYTSYPDPILLMKSARNSCWSKDAEYGLYS IYQGGIFELKENDRIFVSVTNEHLIDMDHEASFFGAF AVSGSGNGTSNGTSGSSGGDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG K
SEQ ID NO: 6159	三聚体_hTRAIL_aa122_281-hFc_杵_Cys-空白	包含残基 122-281 的三聚体人 TRAIL	METDTLLLWVLLLWVPGSTGDYKDDDDKGGGGS GTGGAAAHITGTRGRSNTLSSPNSKNEKALGRKINS WESSRSGHSFLSNLHLRNGELVIHEKGFYYIYSQTY FRFQEEIKENTKNDKQMVQYIYKYTSYPDPILLMKS ARNSCWSKDAEYGLYSIYQGGIFELKENDRIFVSVT NEHLIDMDHEASFFGAFAVSGAAAHITGTRGRSNT LSSPNSKNEKALGRKINSWESSRSGHSFLSNLHLRN GELVIHEKGFYYIYSQTYFRFQEEIKENTKNDKQM VQYIYKYTSYPDPILLMKSARNSCWSKDAEYGLYS IYQGGIFELKENDRIFVSVTNEHLIDMDHEASFFGAF AVSGAAAHITGTRGRSNTLSSPNSKNEKALGRKINS WESSRSGHSFLSNLHLRNGELVIHEKGFYYIYSQTY FRFQEEIKENTKNDKQMVQYIYKYTSYPDPILLMKS ARNSCWSKDAEYGLYSIYQGGIFELKENDRIFVSVT NEHLIDMDHEASFFGAFAVSGSGNGTSNGTSGSSG GDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTK NQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 6160	单体_hTRAIL_95-281-hFc_杵	包含残基 95-281 的单体人 TRAIL	METDTLLLWVLLLWVPGSTGTSEETISTVQEKQQN ISPLVRERGPQRVAAHITGTRGRSNTLSSPNSKNEK ALGRKINSWESSRSGHSFLSNLHLRNGELVIHEKGF YYIYSQTYFRFQEEIKENTKNDKQMVQYIYKYTSY PDPILLMKSARNSCWSKDAEYGLYSIYQGGIFELKE NDRIFVSVTNEHLIDMDHEASFFGAFLVGGGGGSG

[1076]

[1077]

	_Cys- 空白		GGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRE EMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 6161	二聚体_hTRAIL_95-281-hFc_杵_Cys- 空白	包含残基 95-281 的二聚体人 TRAIL	METDTLLLWVLLLWVPGSTGTSEETISTVQEKQQN ISPLVRERGPQRVAAHITGTRGRSNTLSSPNSKNEK ALGRKINSWESSRSGHSFLSNLHLRNGELVIHEKGF YYIYSQTYFRFQEEIKENTKNDKQMVQYIYKYTSY PDPILLMKSARNSCWSKDAEYGLYSIYQGGIFELKE NDRIFVSVTNEHLIDMDHEASFFGAFLVGGGGGSG GGGSGTSEETISTVQEKQQNISPLVRERGPQRVAAH ITGTRGRSNTLSSPNSKNEKALGRKINSWESSRSGH SFLSNLHLRNGELVIHEKGFYYIYSQTYFRFQEEIKE NTKNDKQMVQYIYKYTSYPDPILLMKSARNSCWS KDAEYGLYSIYQGGIFELKENDRIFVSVTNEHLIDM DHEASFFGAFLVGGGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
SEQ ID NO: 6162	三聚体_hTRAIL_95-281-hFc_杵_Cys- 空白	包含残基 95-281 的三聚体人 TRAIL	METDTLLLWVLLLWVPGSTGTSEETISTVQEKQQN ISPLVRERGPQRVAAHITGTRGRSNTLSSPNSKNEK ALGRKINSWESSRSGHSFLSNLHLRNGELVIHEKGF YYIYSQTYFRFQEEIKENTKNDKQMVQYIYKYTSY PDPILLMKSARNSCWSKDAEYGLYSIYQGGIFELKE NDRIFVSVTNEHLIDMDHEASFFGAFLVGGGGGSG GGGSGTSEETISTVQEKQQNISPLVRERGPQRVAAH ITGTRGRSNTLSSPNSKNEKALGRKINSWESSRSGH SFLSNLHLRNGELVIHEKGFYYIYSQTYFRFQEEIKE NTKNDKQMVQYIYKYTSYPDPILLMKSARNSCWS KDAEYGLYSIYQGGIFELKENDRIFVSVTNEHLIDM DHEASFFGAFLVGGGGGSGGGGSGTSEETISTVQE KQQNISPLVRERGPQRVAAHITGTRGRSNTLSSPNS KNEKALGRKINSWESSRSGHSFLSNLHLRNGELVIH EKGFYYIYSQTYFRFQEEIKENTKNDKQMVQYIYK YTSYPDPILLMKSARNSCWSKDAEYGLYSIYQGGIF ELKENDRIFVSVTNEHLIDMDHEASFFGAFLVGGG GGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLP PCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 6163	a_hDR5_替加组单抗_scFv_VH_VL-	对 DR5 特异性的抗原结合域，即替加组单抗	METDTLLLWVLLLWVPGSTGEVQLVESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFTFSSYVMSWVRQAPGKGLEWV ATISSGGSYTYYPDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQM NSLRAEDTAVYYCARRGDSMITTDYWGQGTLVTV SSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSA SVGDRVTITCKASQDVGTAVAWYQQKPGKAPKLLI

[1078]

	hFc_杵_Cys-空白		YWASTRHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQYSSYRTFGQGTKVEIKGGGGSGGGGSDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVS LWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 6164	a_hDR5_曲齐妥单抗_scFv_VH_VL-hFc_杵_Cys	对DR5特异性的抗原结合域，即曲齐妥单抗	METDTLLLWVLLLWVPGSTGEVQLVQSGGGVERP GGSLRLSCAASGFTFDDYAMSWVRQAPGKGLEWV SGINWQGGSTGYADSVKGRVTISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKILGAGRGWYFDYWGKGT TVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSSELTQDPAV SVALGQTVRITCSGDSLRSYYASWYQQKPGQAPVL VIYGANNRPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDE ADYYCNSADSSGNHVVFGGGTKLTVLGGGGSGGG GSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMT KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 6165	a_hDR5_可那木单抗_scFv_VH_VL-hFc_杵_Cys	对DR5特异性的抗原结合域，即可那木单抗	METDTLLLWVLLLWVPGSTGQVQLQESGPGLVKP SQTLSLTCTVSGGSISSGDYFWSWIRQLPGKGLEWI GHIHNSGTTYYNPSLKSRVTISVDTSKKQFSLRLSS VTAADTAVYYCARDRGGDYYYGMDVWGQGTTV TVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTL SLSPGERATLSCRASQGISRSYLAWYQQKPGQAPSL LIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFA VYYCQQFGSSPWTFGQGTKVEIKRGGGGSGGGGS DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKN QVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 6170	a_hTRBC1_Jovi1_Hum1_VL-hCLIg_vk-a_hDR5_替加组单抗_scFv_VH_VL	对DR5特异性的抗原结合域，即具有抗TRBC1轻链的替加组单抗	METDTLLLWVLLLWVPGSTGDVVMTQSPLSLPVTPG EPASISCRSSQRLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLI YRVSNRFPGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YFCSQSTHVPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSGGGGSGGGGSEV QLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYVMSWVR QAPGKGLEWVATISSGGSYTYYPDSVKGRFTISRDNA KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRGDSMITTDYWG QGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQS PSSLSASVGDRVTITCKASQDVGTAVAWYQQKPGKA PKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQYSSYRTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 6171	a_hTRBC1_Jovi1_Hum1	对DR5特异性的抗原结合域，即具	METDTLLLWVLLLWVPGSTGDVVMTQSPLSLPVTPG EPASISCRSSQRLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPQLLI YRVSNRFPGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV

	VL-hCLIg_vk-a_hDR5_可那木单抗_scFv_VH_VL	有抗TRBC1轻链的曲齐妥单抗	YFCSQSTHVPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSGGGGSGGGGSQV QLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGDYFWSWIR QLPGKGLEWIGHIHNSGTTYYNPSLKSRVTISVDTSK KQFSLRLSSVTAADTAVYYCARDRGGDYYYGMDVW GQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQ SPGTLSLSPGERATLSCRASQGISRSYLAWYQQKPGQ APSLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPE DFAVYYCQQFGSSPWTFGQGTKVEIKR	
[1079]	SEQ ID NO: 6172	a_hTRBC1_Jovi1_Hum1_VL-hCLIg_vk-a_hDR5_曲齐妥单抗_scFv_VH_VL	对DR5特异性的抗原结合域，即具有抗TRBC1轻链的可那木单抗	METDTLLLWVLLLWVPGSTGDVVMTQSPLSLPVTP GEPASISCRSSQRLVHSNGNTYLHWYLQKPGQSPQL LIYRVSNRFPGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDV GVYFCSQSTHVPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSGGGGSGG GGSEVQLVQSGGGVERPGGSLRLSCAASGFTFDDYA MSWVRQAPGKGLEWVSGINWQGGSTGYADSVKGR VTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKILGA GRGWYFDYWGKGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS GGGGSSELTQDPAVSVALGQTVRITCSGDSLRSYYA SWYQQKPGQAPVLVIYGANNRPSGIPDRFSGSSSGN TASLTITGAQAEDEADYYCNSADSSGNHVVFGGGT KLTVL

[1080] T细胞衔接物

[1081] 本公开内容尤其提供了多特异性(例如,双、三、四特异性)或多功能分子,其被工程化以包含介导与T细胞结合和/或激活的一个或多个T细胞衔接物。因此,在一些实施方案中,T细胞衔接物选自与以下一种或多种结合(并且例如在一些实施方案中进行激活)的抗原结合域或配体:CD3、TCRα、TCRβ、TCRγ、TCRζ、ICOS、CD28、CD27、HVEM、LIGHT、CD40、4-4BB、OX40、DR3、GITR、CD30、TIM1、SLAM、CD2或CD226。在其他实施方案中,T细胞衔接物选自与以下一种或多种结合但不进行激活的抗原结合域或配体:CD3、TCRα、TCRβ、TCRγ、TCRζ、ICOS、CD28、CD27、HVEM、LIGHT、CD40、4-4BB、OX40、DR3、GITR、CD30、TIM1、SLAM、CD2或CD226。

[1082] TCRβV抗原结合域

[1083] 在一些实施方案中,T细胞衔接物是结合(例如,并且在一些实施方案中激活)TCRβ的抗原结合域(例如,抗体分子或其片段)。本公开内容尤其提供了结合(例如,特异性结合)人TCRβV链(TCRβV)的抗体分子及其片段,该人TCRβV链(TCRβV)是例如TCRβV基因家族,例如,TCRβV亚家族,例如,如本文所述。TCRβV家族和亚家族是本领域已知的,例如,如Yassai等人,(2009)Immunogenetics61(7)pp:493-502;Wei S.和Concannon P.(1994)Human Immunology41(3)pp:201-206所述。本文所述的抗体可以是重组抗体,例如,重组非鼠抗体,例如,重组人或人源化抗体。在本公开内容中,TCRβV和TCRBV可互换使用。

[1084] 在一些实施方案中,本公开内容提供了包括与人TCRβV(例如,TCRβV家族,例如,基因家族)结合的抗TCRβV抗体分子的T细胞衔接物。在一些实施方案中,TCRBV基因家族包括一个或多个亚家族,例如,如本文所述,例如,在图6中。在一些实施方案中,TCRβV基因家族包括亚家族,该亚家族包括:TCRβV6亚家族、TCRβV10亚家族、TCRβV12亚家族、TCRβV5亚家族、TCRβV7亚家族、TCRβV11亚家族、TCRβV14亚家族、TCRβV16亚家族、TCRβV18亚家族、TCRβV9亚家族、TCRβV13亚家族、TCRβV4亚家族、TCRβV3亚家族、TCRβV2亚家族、TCRβV15亚家族、TCRβV30亚家族、TCRβV19亚家族、TCRβV27亚家族、TCRβV28亚家族、TCRβV24亚家族、TCRβV20

亚家族、TCRβV25亚家族、或TCRβV29亚家族。.

[1085] 在一些实施方案中,TCRβV6亚家族也称为TCRβV13.1。在一些实施方案中,TCRβV6亚家族包括:TCRβV6-4*01、TCRβV6-4*02、TCRβV6-9*01、TCRβV6-8*01、TCRβV6-5*01、TCRβV6-6*02、TCRβV6-6*01、TCRβV6-2*01、TCRβV6-3*01或TCRβV6-1*01。在一些实施方案中,TCRβV6包括TCRβV6-5*01。在一些实施方案中,TCRβCR6,例如,TCR,施方6-5*01,由SEQ ID NO:1和/或SEQ ID NO:2识别,例如,结合。在一些实施方案中,TCR例如,6,例如,TCR,如V6-5*01,由SEQ ID NO:9和/或SEQ ID NO:10识别,例如,结合。在一些实施方案中,TCRβV6由SEQ ID NO:9和/或SEQ ID NO:11识别,例如,结合。

[1086] 在一些实施方案中,TCRβV10亚家族也称为TCRβV12。在一些实施方案中,TCRβV10亚家族包括:TCRβV10-1*01、TCRβV10-1*02、TCRβV10-3*01或TCRβV10-2*01。

[1087] 在一些实施方案中,TCRβV12亚家族也称为TCRβV8.1。在一些实施方案中,TCRβV12亚家族包括:TCRβV12-4*01、TCRβV12-3*01或TCRβV12-5*01。在一些实施方案中,TCRβV12由SEQ ID NO:15和/或SEQ ID NO:16识别,例如,结合。在一些实施方案中,TCRβV12由SEQ ID NO:23-25中的任一个和/或SEQ ID NO:26-30中的任一个识别,例如,结合。

[1088] 在一些实施方案中,TCRβV5亚家族选自:TCRβV5-5*01、TCRβV5-6*01、TCRβV5-4*01、TCRβV5-8*01、TCRβV5-1*01。

[1089] 在一些实施方案中,TCRβV7亚家族包括TCRβV7-7*01、TCRβV7-6*01、TCRβV7-8*02、TCRβV7-4*01、TCRβV7-2*02、TCRβV7-2*03、TCRβV7-2*01、TCRβV7-3*01、TCRβV7-9*03或TCRβV7-9*01。

[1090] 在一些实施方案中,TCRβV11亚家族包括:TCRβV11-1*01、TCRβV11-2*01或TCRβV11-3*01。

[1091] 在一些实施方案中,TCRβV14亚家族包括TCRβV14*01。

[1092] 在一些实施方案中,TCRβV16亚家族包括TCRβV16*01。

[1093] 在一些实施方案中,TCRβV18亚家族包括TCRβV18*01。

[1094] 在一些实施方案中,TCRβV9亚家族包括TCRβV9*01或TCRβV9*02。

[1095] 在一些实施方案中,TCRβV13亚家族包括TCRβV13*01。

[1096] 在一些实施方案中,TCRβV4亚家族包括TCRβV4-2*01、TCRβV4-3*01或TCRβV4-1*01。

[1097] 在一些实施方案中,TCRβV3亚家族包括TCRβV3-1*01。

[1098] 在一些实施方案中,TCRβV2亚家族包括TCRβV2*01。

[1099] 在一些实施方案中,TCRβV15亚家族包括TCRβV15*01。

[1100] 在一些实施方案中,TCRβV30亚家族包括TCRβV30*01或TCRβV30*02。

[1101] 在一些实施方案中,TCRβV19亚家族包括TCRβV19*01或TCRβV19*02。

[1102] 在一些实施方案中,TCRβV27亚家族包括TCRβV27*01。

[1103] 在一些实施方案中,TCRβV28亚家族包括TCRβV28*01。

[1104] 在一些实施方案中,TCRβV24亚家族包括TCRβV24-1*01。

[1105] 在一些实施方案中,TCRβV20亚家族包括TCRβV20-1*01或TCRβV20-1*02。

[1106] 在一些实施方案中,TCRβV25亚家族包括TCRβV25-1*01。

[1107] 在一些实施方案中,TCRβV29亚家族包括TCRβV29-1*01。

[1108] 表12:TCRβV亚家族和亚家族成员列表

[1109]

参照图 6	亚家族	亚家族成员
A	TCRβ V6 *还称为:* *TCR VB 13.1*	TCRβ V6-4*01、TCRβ V6-4*02、TCRβ V6-9*01、TCRβ V6-8*01、TCRβ V6-5*01、TCRβ V6-6*02、TCRβ V6-6*01、TCRβ V6-2*01、TCRβ V6-3*01 或 TCRβ V6-1*01.
B	TCRβ V10 *还称为:* *TCRβ V12*	TCRβ V10-1*01、TCRβ V10-1*02、TCRβ V10-3*01 或 TCRβ V10-2*01
C	TCRβ V12 *还称为:* *TCRβ V8.1*	TCRβ V12-4*01、TCRβ V12-3*01、或 TCRβ V12-5*01
D	TCRβ V5	TCRβ V5-5*01、TCRβ V5-6*01、TCRβ V5-4*01、TCRβ V5-8*01、TCRβ V5-1*01
E	TCRβ V7	TCRβ V7-7*01、TCRβ V7-6*01、TCRβ V7-8*02、TCRβ V7-4*01、TCRβ V7-2*02、TCRβ V7-2*03、TCRβ V7-2*01、TCRβ V7-3*01、TCRβ V7-9*03 或 TCRβ V7-9*01
F	TCRβ V11	TCRβ V11-1*01、TCRβ V11-2*01 或 TCRβ V11-3*01
G	TCRβ V14	TCRβ V14*01
H	TCRβ V16	TCRβ V16*01

[1110]

I	TCRβ V18	TCRβ V18*01
J	TCRβ V9	TCRβ V9*01 或 TCRβ V9*02
K	TCRβ V13	TCRβ V13*01
L	TCRβ V4	TCRβ V4-2*01、TCRβ V4-3*01 或 TCRβ V4-1*01
M	TCRβ V3	TCRβ V3-1*01
N	TCRβ V2	TCRβ V2*01
O	TCRβ V15	TCRβ V15*01
P	TCRβ V30	TCRβ V30*01 或 TCRβ V30*02
Q	TCRβ V19	TCRβ V19*01 或 TCRβ V19*02
R	TCRβ V27	TCRβ V27*01.
S	TCRβ V28	TCRβ V28*01.
T	TCRβ V24	TCRβ V24-1*01
U	TCRβ V20	TCRβ V20-1*01 或 TCRβ V20-1*02
V	TCRβ V25	TCRβ V25-1*01
W	TCRβ V29	TCRβ V29-1*01

[1111] 抗TCRβV抗体

[1112] 在一方面,本公开内容提供了一种抗TCRβV抗体分子,其与人TCRβV(例如,TCRβV基因家族,例如,TCRβV亚家族中的一个或多个,例如,如本文所述,例如,在图6中)结合。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子与选自以下的一个或多个TCRβV亚家族结合:TCRβV6亚家族、TCRβV10亚家族、TCRβV12亚家族、TCRβV5亚家族、TCRβV7亚家族、TCRβV11亚家族、TCRβV14亚家族、TCRβV16亚家族、TCRβV18亚家族、TCRβV9亚家族、TCRβV13亚家族、TCRβV4亚家族、TCRβV3亚家族、TCRβV2亚家族、TCRβV15亚家族、TCRβV30亚家族、TCRβV19亚家族、TCRβV27亚家族、TCRβV28亚家族、TCRβV24亚家族、TCRβV20亚家族、TCRβV25亚家族、或TCRβV29亚家族。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子与TCRβV6结婚,包括:TCRβV6-4*01、TCRβV6-4*02、TCRβV6-9*01、TCRβV6-8*01、TCRβV6-5*01、TCRβV6-6*02、TCRβV6-6*01、TCRβV6-2*01、

TCRβV6-3*01或TCRβV6-1*01。在一些实施方案中,TCRβV6亚家族包括TCRβV6-5*01。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子与TCRβV10亚家族结合,包括:TCRβV10-1*01、TCRβV10-1*02、TCRβV10-3*01或TCRβV10-2*01。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子与TCRβV12亚家族结合,包括:TCRβV12-4*01、TCRβV12-3*01或TCRβV12-5*01。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子与TCRβV5亚家族结合,包括:TCRβV5-5*01、TCRβV5-6*01、TCRβV5-4*01、TCRβV5-8*01、TCRβV5-1*01。

[1113] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子不结合TCRβV12,或以小于(例如,小于约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或约2、5或10倍)如美国专利5,861,155中所述的16G8鼠抗体或其人源化形式的亲和力和/或结合特异性的亲和力和/或结合特异性结合至TCRβV12。

[1114] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子以大于(例如,大于约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或约2、5或10倍)如美国专利5,861,155所述的16G8鼠抗体或其人源化形式的亲和力和/或结合特异性的亲和力和/或结合特异性结合至TCRβV12。

[1115] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子以大于(例如,大于约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或约2、5或10倍)如美国专利5,861,155所述的16G8鼠抗体或其人源化形式的亲和力和/或结合特异性的亲和力和/或结合特异性结合至除TCRβV12以外的TCRβV区(例如,如本文所述的TCRβV区,例如,TCRβV6亚家族(例如,TCRβV6-5*01))。

[1116] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子不结合TCRβV5-5*01或TCRβV5-1*01,或以小于(例如,小于约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或约2、5或10倍)如美国专利5,861,155所述的TM23鼠抗体或其人源化形式的亲和力和/或结合特异性的亲和力和/或结合特异性结合至TCRβV5-5*01或TCRβV5-1*01。

[1117] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子以大于(例如,大于约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或约2、5或10倍)如美国专利5,861,155所述的TM23鼠抗体或其人源化形式的亲和力和/或结合特异性的亲和力和/或结合特异性结合至TCRβV5-5*01或TCRβV5-1*01。

[1118] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子以大于(例如,大于约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或约2、5或10倍)如美国专利5,861,155所述的TM23鼠抗体或其人源化形式的亲和力和/或结合特异性的亲和力和/或结合特异性结合至除TCRβV5-5*01或TCRβV5-1*01以外的TCRβV区(例如,如本文所述的TCRβV区,例如,TCRβV6亚家族(例如,TCRβV6-5*01))。

[1119] 抗TCRβV6抗体

[1120] 因此,在一方面,本公开内容提供了与人TCRβV6,例如,TCRβV6亚家族结合的抗TCRβV抗体分子,该TCRβV6亚家族包括:TCRβV6-4*01、TCRβV6-4*02、TCRβV6-9*01、TCRβV6-8*01、TCRβV6-5*01、TCRβV6-6*02、TCRβV6-6*01、TCRβV6-2*01、TCRβV6-3*01或TCRβV6-1*01。在一些实施方案中,TCRβV6亚家族包括TCRβV6-5*01。

[1121] 在一些实施方案中,TCRβV6-5*01由SEQ ID NO:43的核酸序列,或与其具有85%、90%、95%、99%或更高同一性的序列编码。

[1122] SEQ ID NO:43

[1123] ATGAGCATCGGCCTCCTGTGCTGTGCAGCCTTGTCTCTCCTGTGGGCAGGTCCAGTGAATGCTGGTGTC

ACTCAGACCCCAAAATTCCAGGTCCTGAAGACAGGACAGAGCATGACACTGCAGTGTGCCCAGGATATGAACCATGA
ATACATGTCCTGGTATCGACAAGACCCAGGCATGGGGCTGAGGCTGATTCATTACTCAGTTGGTGCTGGTATCACTG
ACCAAGGAGAAGTCCCCAATGGCTACAATGTCTCCAGATCAACCACAGAGGATTTCCCGCTCAGGCTGCTGTCGGCT
GCTCCCTCCCAGACATCTGTGTACTTCTGTGCCAGCAGTTACTC

[1124] 在一些实施方案中,TCRβV6-5*01包含SEQ ID NO:44的氨基酸序列,或与其具有85%、90%、95%、99%或更高同一性的氨基酸序列。

[1125] SEQ ID NO:44

[1126] MSIGLLCCAALSLLWAGPVNAGVTQTPKFQVLKTGQSMTLQCAQDMNHEYMSWYRQDPGMGLRLIHYSV
GAGITDQGEVPNGYNVSRSTTEDFPLRLLSAAPSQTSVYFCASSY

[1127] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子是非鼠抗体分子,例如人或人源化抗体分子。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子是人抗体分子。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子是人源化抗体分子。

[1128] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子是分离的或重组的。

[1129] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如抗TCRβV6-5*01)抗体分子,包括来自本文所述抗体(例如选自BHM1709或BHM1710的抗体,或表13中所述的抗体,或由表13中的核苷酸序列编码的抗体,或与前述序列中任何序列基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列)的至少一个抗原结合区。

[1130] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如抗TCRβV6-5*01)抗体分子,包括来自本文所述抗体(例如选自BHM1709或BHM1710的抗体,或表13中所述的抗体,或由表13中的核苷酸序列编码的抗体,或与前述序列中任何序列基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列)的至少一个、两个、三个或四个可变区。

[1131] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如抗TCRβV6-5*01)抗体分子,包括来自本文所述抗体(例如选自BHM1709或BHM1710的抗体,或表13中所述的抗体,或由表13中的核苷酸序列编码的抗体,或与前述序列中任何序列基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列)的至少一个或两个重链可变区。

[1132] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如抗TCRβV6-5*01)抗体分子,包括来自本文所述抗体(例如选自BHM1709或BHM1710的抗体,或表13中所述的抗体,或由表13中的核苷酸序列编码的抗体,或与前述序列中任何序列基本相同(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)的序列)的至少一个或两个轻链可变区。

[1133] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子,包括IgG4(例如人IgG4)的重链恒定区。在又一个实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子包括IgG1(例如人IgG1)的重链恒定区。在一个实施方案中,重链恒定区包含表17中列出的氨基序列或与其基本上相同(例如,至少80%、

85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。

[1134] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子,包括κ轻链恒定区,例如人κ轻链恒定区。在一个实施方案中,轻链恒定区包含表17中列出的氨基序列或与其基本上相同(例如,至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列。

[1135] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如抗TCRβV6-5*01)抗体分子,包括来自本文所述抗体(例如选自BHM1709或BHM1710的抗体,或表13中所述的抗体,或由表13中的核苷酸序列编码的抗体,或与前述序列中任何序列基本相同(例如,至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列)的重链可变区(VH)的至少一个、两个或三个互补决定区(CDR)。

[1136] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如抗TCRβV6-5*01)抗体分子,包括来自包含表13所示氨基酸序列或由表13所示核苷酸序列编码的氨基酸序列的重链可变区的至少一个、两个或三个CDR(或所有CDR)。在一个实施方案中,相对于表13中所示的氨基酸序列,或由表13中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列,一个或多个CDR(或所有CDR)具有1、2、3、4、5、6个或更多个改变,例如氨基酸置换或缺失。

[1137] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子,包括来自本文所述抗体(例如选自BHM1709或BHM1710的抗体,或表13中所述的抗体,或由表13中的核苷酸序列编码的抗体,或与前述序列中任何序列基本相同(例如,至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同)的序列)的轻链可变区的至少一个、两个或三个互补决定区(CDR)。

[1138] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如抗TCRβV6-5*01)抗体分子,包括来自包含表13所示氨基酸序列或由表13所示核苷酸序列编码的氨基酸序列的轻链可变区的至少一个、两个或三个CDR(或所有CDR)。在一个实施方案中,相对于表13中所示的氨基酸序列,或由表13中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列,一个或多个CDR(或所有CDR)具有1、2、3、4、5、6个或更多个改变,例如氨基酸置换或缺失。

[1139] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如抗TCRβV6-5*01)抗体分子,包括来自包含表13所示氨基酸序列或由表13所示核苷酸序列编码的氨基酸序列的重链可变区和轻链可变区的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR(或所有CDR)。在一个实施方案中,相对于表13中所示的氨基酸序列,或由表13中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列,一个或多个CDR(或所有CDR)具有1、2、3、4、5、6个或更多个改变,例如氨基酸置换或缺失。

[1140] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子,包括来自本文所述抗体(例如选自BHM1709或BHM1710的抗体,或表13中所述的抗体,或由表13中的核苷酸序列编码的抗体)的所有六个CDR,或密切相关的CDR,例如相同CDR或具有至少一个氨基酸改变但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换)的CDR。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子可以包括本文所述的任何CDR。

[1141] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子包括来自本文所述抗体(例如选自BHM1709或BHM1710的抗体,或表13中所述的抗体,或

与前述序列中任何序列基本相同的序列(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同))的重链可变区的根据Kabat等人的至少一个、两个或三个CDR(例如,根据表13所列的Kabat定义的至少一个、两个或三个CDR);或相对于表13中所示的根据Kabat等人的一个、两个或三个CDR具有至少一个氨基酸改变,但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换)的至少一个、两个或三个CDR。

[1142] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子包括来自本文所述抗体(例如选自BHM1709或BHM1710的抗体,或表13中所述的抗体,或与前述序列中任何序列基本相同的序列(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同))的轻链可变区的根据Kabat等人的至少一个、两个或三个CDR(例如,根据表13所列的Kabat定义的至少一个、两个或三个CDR);或相对于表13中所示的根据Kabat等人的一个、两个或三个CDR具有至少一个氨基酸改变,但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换)的至少一个、两个或三个CDR。

[1143] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子包括来自本文所述抗体(例如选自BHM1709或BHM1710的抗体,或表13中所述的抗体,或由表13中的核苷酸序列编码的抗体;或与前述序列中任何序列基本相同的序列(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同))的重链可变区和轻链可变区的根据Kabat等人的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR(例如,根据表13所列的Kabat定义的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR);或相对于表13中所示的根据Kabat等人的一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR具有至少一个氨基酸改变,但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换)的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR。

[1144] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子包括来自本文所述抗体(例如选自BHM1709或BHM1710的抗体,或表13中所述的抗体,或由表13中的核苷酸序列编码的抗体;或与前述序列中任何序列基本相同的序列(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同))的重链可变区和轻链可变区的根据Kabat等人的所有六个CDR(例如,根据表13所列的Kabat定义的所有六个CDR);或相对于表13中所示的根据Kabat等人的所有六个CDR具有至少一个氨基酸改变,但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换)的所有六个CDR。在一个实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子可以包括本文所述的任何CDR。

[1145] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子,包括至少一个、两个或三个具有与本文所述抗体(例如选自BHM1709或BHM1710的抗体)的相应高变环相同的规范结构的高变环,例如与本文所述抗体的重链和/或轻链可变域的至少环1和/或环2具有相同的规范结构。高变环规范结构的描述参见,例如Chothia等人,(1992)J.Mol.Biol.227:799-817;Tomlinson等人,(1992)J.Mol.Biol.227:776-798。这些结构可以通过查看这些参考文献中描述的表来确定。

[1146] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子包括来自本文所述抗体(例如选自BHM1709或BHM1710的抗体,或表13中所述的抗体,或与前述序列中任何序列基本相同的序列(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、

98％、99％或更加相同))的重链可变区的根据Chothia等人所述的至少一个、两个或三个CDR(例如,根据表13所列的Chothia定义的至少一个、两个或三个CDR);或相对于表13中所示的根据Chothia等人的一个、两个或三个CDR具有至少一个氨基酸改变,但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换)的至少一个、两个或三个CDR。

[1147] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子包括来自本文所述抗体(例如选自BHM1709或BHM1710的抗体,或表13中所述的抗体,或与前述序列中任何序列基本相同的序列(例如,至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同))的轻链可变区的根据Chothia等人所述的至少一个、两个或三个CDR(例如,根据表13所列的Chothia定义的至少一个、两个或三个CDR);或相对于表13中所示的根据Chothia等人的一个、两个或三个CDR具有至少一个氨基酸改变,但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换)的至少一个、两个或三个CDR。

[1148] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子包括来自本文所述抗体(例如选自BHM1709或BHM1710的抗体,或表13中所述的抗体,或由表13中的核苷酸序列编码的抗体;或与前述序列中任何序列基本相同的序列(例如,至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同))的重链可变区和轻链可变区的根据Chothia等人所述的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR(例如,根据表13所列的Chothia定义的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR);或相对于表13中所示的根据Chothia等人的一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR具有至少一个氨基酸改变,但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换)的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR。

[1149] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子包括来自本文所述抗体(例如选自BHM1709或BHM1710的抗体,或表13中所述的抗体,或由表13中的核苷酸序列编码的抗体;或与前述序列中任何序列基本相同的序列(例如,至少80％、85％、90％、92％、95％、97％、98％、99％或更加相同))的重链可变区和轻链可变区的根据Chothia等人所述的所有六个CDR(例如,根据表13所列的Chothia定义的所有六个CDR);或相对于表13中所示的根据Chothia等人的所有六个CDR具有至少一个氨基酸改变,但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换)的所有六个CDR。在一个实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子可以包括本文所述的任何CDR。

[1150] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子包括根据Kabat等人、Chothia等人定义或如表13所述的CDR或高变环的组合。

[1151] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子可包含根据Kabat和Chothia定义的CDR或高变环的任何组合。

[1152] 在一些实施方案中,如表13列出的组合的CDR是包括Kabat CDR和Chothia CDR的CDR。

[1153] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子包括CDR或高变环的组合,其被标识为表13中的组合的CDR。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子可包含根据表13中所述的“组合的”CDR的CDR或高变环的任何组合。

[1154] 在一个实施方案中,例如在包含可变区、CDR(例如组合的CDR、ChothiaCDR或KabatCDR)或本文在例如表13中提及的其他序列的实施方案中,抗体分子是单特异性抗体分子、双特异性抗体分子、二价抗体分子、双互补位抗体分子,或包含抗体的抗原结合片段(例如,半抗体或半抗体的抗原结合片段)的抗体分子。在某些实施方案中,抗体分子包括多特异性分子,例如双特异性分子,例如,如本文所述的。

[1155] 在一个实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子包括:

[1156] (i)SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:10或SEQ ID NO:11的轻链互补决定区1(LC CDR1)、轻链互补决定区2(LC CDR2)和轻链互补决定区3(LC CDR3)的一个、两个或全部,和/或

[1157] (ii)SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:9的重链互补决定区1(HC CDR1)、重链互补决定区2(HC CDR2)和重链互补决定区3(HC CDR3)的一个、两个或全部。

[1158] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子包括SEQ ID NO:2的LC CDR1、LC CDR2和LC CDR3,以及SEQ ID NO:1的HC CDR1、HC CDR2和HC CDR3。

[1159] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子包括SEQ ID NO:10的LC CDR1、LC CDR2和LC CDR3,以及SEQ ID NO:9的HC CDR1、HC CDR2和HC CDR3。

[1160] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子包括SEQ ID NO:11的LC CDR1、LC CDR2和LC CDR3,以及SEQ ID NO:9的HC CDR1、HC CDR2和HC CDR3。

[1161] 在一个实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子包括:

[1162] (i)SEQ ID NO:6的LC CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:7的LC CDR2氨基酸序列,或SEQ ID NO:8的LC CDR3氨基酸序列;和/或

[1163] (ii)SEQ ID NO:3的HC CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:4的HC CDR2氨基酸序列,或SEQ ID NO:5的HC CDR3氨基酸序列。

[1164] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子包括:

[1165] (i)轻链可变区(VL),所述轻链可变区包含SEQ ID NO:6的LC CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:7的LC CDR2氨基酸序列,或SEQ ID NO:8的LC CDR3氨基酸序列;和/或

[1166] (ii)重链可变区(VH),所述重链可变区包含SEQ ID NO:3的HC CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:4的HC CDR2氨基酸序列,或SEQ ID NO:5的HC CDR3氨基酸序列。

[1167] 在一个实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子包括:

[1168] (i)SEQ ID NO:51的LC CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:52的LC CDR2氨基酸序列,或SEQ ID NO:53的LC CDR3氨基酸序列;和/或

[1169] (ii)SEQ ID NO:45的HC CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:46的HC CDR2氨基酸序列,或SEQ ID NO:47的HC CDR3氨基酸序列。

[1170] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体

分子包括：

[1171] (i)轻链可变区(VL),所述轻链可变区包含SEQ ID NO:51的LC CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:52的LC CDR2氨基酸序列,或SEQ ID NO:53的LC CDR3氨基酸序列;和/或

[1172] (ii)重链可变区(VH),所述重链可变区包含SEQ ID NO:45的HC CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:46的HC CDR2氨基酸序列,或SEQ ID NO:47的HC CDR3氨基酸序列。

[1173] 在一个实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子包括：

[1174] (i)SEQ ID NO:54的LC CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:55的LC CDR2氨基酸序列,或SEQ ID NO:56的LC CDR3氨基酸序列;和/或

[1175] (ii)SEQ ID NO:48的HC CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的HC CDR2氨基酸序列,或SEQ ID NO:50的HC CDR3氨基酸序列。

[1176] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子包括：

[1177] (i)轻链可变区(VL),所述轻链可变区包含SEQ ID NO:54的LC CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:55的LC CDR2氨基酸序列,或SEQ ID NO:56的LC CDR3氨基酸序列;和/或

[1178] (ii)重链可变区(VH),所述重链可变区包含SEQ ID NO:48的HC CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:49的HC CDR2氨基酸序列,或SEQ ID NO:50的HC CDR3氨基酸序列。

[1179] 在一个实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子的轻链或重链可变构架(例如包括至少FR1、FR2、FR3和任选FR4的区域)可以选自：

[1180] (a)轻链或重链可变构架,包括至少80％、85％、87％、90％、92％、93％、95％、97％、98％或100％的来自人轻链或重链可变构架的氨基酸残基,例如来自人成熟抗体、人种系序列或人共有序列的轻链或重链可变构架残基;(b)轻链或重链可变构架,包括20％至80％、40％至60％、60％至90％或70％至95％的来自人轻链或重链可变构架的氨基酸残基,例如来自人成熟抗体、人种系序列或人共有序列的轻链或重链可变构架残基;(c)非人构架(例如,啮齿动物构架);或(d)已被修饰的非人构架,例如去除抗原或细胞毒性决定簇,例如去免疫或部分人源化的非人构架。在一个实施方案中,轻链或重链可变构架区(特别是FR1、FR2和/或FR3)包括与人种系基因的VL或VH区段的构架相同或至少70％、75％、80％、85％、87％、88％、90％、92％、94％、95％、96％、97％、98％、99％相同的轻链或重链可变构架序列。

[1181] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子,包含重链可变域,其相对于BHM1709或BHM1710的氨基酸序列,例如整个可变区(例如图4A所示的区域)中的FR区的氨基酸序列,或在SEQ ID NO:9中的氨基酸序列具有至少一个、两个、三个、四个、五个、六个、七个、十个、十五个、二十个或更多个改变(例如氨基酸置换或缺失)。

[1182] 备选地,或与本文所述的重链置换组合,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子轻链可变域,其包含相对于BHM1709或BHM1710的氨基酸序列,例如整个可变区(例如图4B所示)中的FR区的氨基酸序列,或在SEQ ID NO:10或SEQ ID NO:11中的氨基酸序列具有至少一个、两个、三个、四个、五个、六个、七个、十个、十五个、二十个或更多个氨基酸改变(例如氨基酸置换或缺失)。

[1183] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子,包括如图4A所示的一个、两个、三个或四个重链构架区,或与其基本上相同的序列。

[1184] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子,包括如图4B所示的一个、两个、三个或四个轻链构架区,或与其基本上相同的序列。

[1185] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子,包括例如如图4B所示的BHM1709或BHM1710的轻链构架区1。

[1186] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子,包括例如如图4B所示的BHM1709或BHM1710的轻链构架区2。

[1187] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子,包括例如如图4B所示的BHM1709或BHM1710的轻链构架区3。

[1188] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子,包括例如如图4B所示的BHM1709或BHM1710的轻链构架区4。

[1189] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子,包含轻链可变域,其包含构架区,例如构架区1(FR1),所述构架区包括改变,例如根据Kabat编号在位置10处的置换(例如,保守置换)。在一些实施方案中,FR1在位置10处包含苯丙氨酸,例如丝氨酸至苯丙氨酸置换。在一些实施方案中,置换是相对于人种系轻链构架区序列而言的。

[1190] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子,包含轻链可变域,其包含构架区,例如构架区2(FR2),所述构架区包括改变,例如根据Kabat编号在本文公开的位置处的置换(例如,保守置换)。在一些实施方案中,FR2在位置36处包含组氨酸,例如根据Kabat编号在位置36处的置换,例如酪氨酸至组氨酸的置换。在一些实施方案中,FR2在位置46处包含丙氨酸,例如根据Kabat编号在位置46处的置换,例如精氨酸至丙氨酸的置换。在一些实施方案中,置换是相对于人种系轻链构架区序列而言的。

[1191] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子,包含轻链可变域,其包含构架区,例如构架区3(FR3),所述构架区包括改变,例如根据Kabat编号在本文公开的位置处的置换(例如,保守置换)。在一些实施方案中,FR3在位置87处包含苯丙氨酸,例如根据Kabat编号在位置87处的置换,例如酪氨酸至苯丙氨酸的置换。在一些实施方案中,置换是相对于人种系轻链构架区序列而言的。

[1192] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子包括轻链可变域,所述轻链可变域包括:(a)构架区1(FR1),其在位置10处包含苯丙氨酸,例如根据Kabat编号在位置10处的置换,例如丝氨酸至苯丙氨酸置换;(b)构架区2(FR2),其在位置36处包含组氨酸,例如根据Kabat编号在位置36处的置换,例如酪氨酸至组氨酸的置换,以及在位置46处包含丙氨酸,例如根据Kabat编号在位置46处的置换,例如精氨酸至丙氨酸的置换;和(c)构架区3(FR3),其在位置87处包含苯丙氨酸,例如根据Kabat编号在位置87处的置换,例如酪氨酸至苯丙氨酸的置换,例如,如SEQ ID NO:10的氨基酸序列所示。在一些实施方案中,置换是相对于人种系轻链构架区序列而言的。

[1193] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子包括轻链可变域,所述轻链可变域包括:(a)构架区2(FR2),其在位置36处包含组氨酸,例如根据Kabat编号在位置36处的置换,例如酪氨酸至组氨酸置换,以及在位置46处包含丙

氨酸,例如根据Kabat编号在位置46处的置换,例如精氨酸至丙氨酸的置换;和(b)构架区3(FR3),其在位置87处包含苯丙氨酸,例如根据Kabat编号在位置87处的置换,例如酪氨酸至苯丙氨酸的置换,例如,如SEQ ID NO:11的氨基酸序列所示。在一些实施方案中,置换是相对于人种系轻链构架区序列而言的。

[1194] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子包括轻链可变域,所述轻链可变域包括:(a)构架区1(FR1),其包括根据Kabat编号在本文公开的一个或多个(例如全部)位置处的改变,例如置换(例如保守置换);(b)构架区2(FR2),其包括根据Kabat编号在本文公开的一个或多个(例如全部)位置处的改变,例如置换(例如保守置换);以及(c)构架区3(FR3),其包括根据Kabat编号在本文公开的一个或多个(例如全部)位置处的改变,例如置换(例如保守置换)。在一些实施方案中,置换是相对于人种系轻链构架区序列而言的。

[1195] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子,包括例如如图4A所示的BHM1709或BHM1710的重链构架区1。

[1196] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子,包括例如如图4A所示的BHM1709或BHM1710的重链构架区2。

[1197] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子,包括例如如图4A所示的BHM1709或BHM1710的重链构架区3。

[1198] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子,包括例如如图4A所示的BHM1709或BHM1710的重链构架区4。

[1199] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子,包含重链可变域,其包含构架区,例如构架区3(FR3),所述构架区包括改变,例如根据Kabat编号在本文公开的位置处的置换(例如,保守置换)。在一些实施方案中,FR3在位置73处包含苏氨酸,例如根据Kabat编号在位置73处的置换,例如谷氨酸至苏氨酸的置换。在一些实施方案中,FR3在位置94处包含甘氨酸,例如根据Kabat编号在位置94处的置换,例如精氨酸至甘氨酸的置换。在一些实施方案中,置换是相对于人种系重链构架区序列而言的。

[1200] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子,包含重链可变域,其包含构架区,例如构架区3(FR3),所述构架区在位置73处包含苏氨酸,例如根据Kabat编号在位置73处的置换,例如谷氨酸至苏氨酸的置换,以及在位置94处包含甘氨酸,例如根据Kabat编号在位置94处的置换,例如精氨酸至甘氨酸的置换,例如,如SEQ ID NO:10的氨基酸序列所示。

[1201] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子,包括BHM1709或BHM1710的重链构架区1-4,例如SEQ ID NO:9或如图4A和图4B所示。

[1202] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子,包括BHM1709的轻链构架区1-4,例如SEQ ID NO:10或如图4A和图4B所示。

[1203] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子,包括BHM1710的轻链构架区1-4,例如SEQ ID NO:11或如图4A和图4B所示。

[1204] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子,包括BHM1709的重链构架区1-4(例如SEQ ID NO:9);和BHM1709的轻链构架区1-4(例如SEQ ID NO:10),或如图4A和4B所示。

[1205] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子,包括BHM1710的重链构架区1-4(例如SEQ ID NO:9);和BHM1710的轻链构架区1-4(例如SEQ ID NO:11),或如图4A和4B所示。

[1206] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子的重链或轻链可变域或两者包含氨基酸序列,其与本文公开的氨基酸基本相同,例如与本文所述抗体(例如,选自BHM1709或BHM1710的抗体,或如表13所述的抗体,或由表13的核苷酸序列编码的抗体)的可变区至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同;或与本文所述抗体的可变区相差至少1或5个残基,但相差少于40、30、20或10个残基。

[1207] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子,包含至少一个、两个、三个或四个抗原结合区(例如,可变区),该抗原结合区具有表13所列的氨基酸序列或与其基本相同的序列(例如,序列与其至少约85%、90%、95%、99%或更加相同,或与表13中所示序列相差不超过1、2、5、10或15个氨基酸残基)。在另一实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子,包括由具有表13所列的核苷酸序列或与其基本相同的序列(例如,序列与其至少约85%、90%、95%、99%或更加相同,或与表13中所示序列相差不超过3、6、15、30或45个核苷酸)的核酸编码的VH和/或VL域。

[1208] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子包括:

[1209] VH域,所述VH域包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列、与SEQ ID NO:9的氨基酸序列至少约85%、90%、95%、99%或更加相同的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:9的氨基酸序列相差不超过1、2、5、10或15个氨基酸残基的氨基酸序列;和/或

[1210] VL域,所述VL域包含SEQ ID NO:10的氨基酸序列、与SEQ ID NO:10的氨基酸序列至少约85%、90%、95%、99%或更加相同的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:10的氨基酸序列相差不超过1、2、5、10或15个氨基酸残基的氨基酸序列。

[1211] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子包括:

[1212] VH域,所述VH域包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列、与SEQ ID NO:9的氨基酸序列至少约85%、90%、95%、99%或更加相同的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:9的氨基酸序列相差不超过1、2、5、10或15个氨基酸残基的氨基酸序列;和/或

[1213] VL域,所述VL域包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列、与SEQ ID NO:11的氨基酸序列至少约85%、90%、95%、99%或更加相同的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:11的氨基酸序列相差不超过1、2、5、10或15个氨基酸残基的氨基酸序列。

[1214] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子是完整的抗体或其片段(例如,Fab、$F(ab')_2$、Fv或单链Fv片段(scFv))。在实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子是单克隆抗体或具有单一特异性的抗体。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如抗TCRβV6-5*01)抗体分子,也可以是人源化的、嵌合的、骆驼的、鲨鱼的或体外产生的抗体分子。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子是人源化抗

体分子。抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子的重链和轻链可以是全长的(例如,抗体可以包括至少一条,优选两条完整的重链,以及至少一条,优选两条完整的轻链)或可以包含抗原结合片段(例如Fab、F(ab')$_2$、Fv、单链Fv片段、单域抗体、双抗体(dAb)、二价抗体,或双特异性抗体或其片段、其单域变体或骆驼抗体)。

[1215] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子为多特异性分子,例如双特异性分子的形式,例如如本文所述。

[1216] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子,具有选自例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA1、IgA2、IgD和IgE的重链恒定区的重链恒定区(Fc)。在一些实施方案中,Fc区选自IgG1、IgG2、IgG3和IgG4的重链恒定区。在一些实施方案中,Fc区选自IgG1或IgG2(例如人IgG1或IgG2)的重链恒定区。在一些实施方案中,重链恒定区是人IgG1。

[1217] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子,具有选自例如κ或λ,优选κ(例如人κ)的轻链恒定区的轻链恒定区。在一个实施方案中,恒定区被改变,例如使其突变,以修饰抗TCRβV抗体分子例如抗TCRβV6(例如抗TCRβV6-5*01)抗体分子的性质(例如增加或减少以下一项或多项:Fc受体结合、抗体糖基化、半胱氨酸残基数、效应细胞功能或补体功能)。例如,相对于例如人IgG1,恒定区在位置296(M至Y)、298(S至T)、300(T至E)、477(H至K)和478(N至F)处发生突变,以改变Fc受体结合(例如突变位置对应于SEQ ID NO:212或214的位置132(M至Y)、134(S至T)、136(T至E)、313(H至K)和314(N至F);或SEQ ID NO:215、216、217或218的位置135(M至Y)、137(S至T)、139(T至E)、316(H至K)和317(N至F))。表13:鼠、嵌合和人源化抗体分子的氨基酸和核苷酸序列。抗体分子包括鼠mAb H131和人源化mAb H131克隆BHM1709和BHM1710。显示了重链和轻链CDR的氨基酸,以及重链和轻链可变区及重链和轻链的氨基酸和核苷酸序列。

[1218]

H131(鼠)		
SEQ ID NO: 3	HC CDR1(组合)	GYSFTTYYIH
SEQ ID NO: 4	HC CDR2(组合)	WFFPGSGNIKYNEKFKG
SEQ ID NO: 5	HC CDR3(组合)	SYYSYDVLDY
SEQ ID NO: 45	HC CDR1 (Kabat)	TYYIH
SEQ ID NO: 46	HC CDR2 (Kabat)	WFFPGSGNIKYNEKFKG
SEQ ID NO: 47	HC CDR3 (Kabat)	SYYSYDVLDY
SEQ ID NO: 48	HC CDR1 (Chothia)	GYSFTTY
SEQ ID NO: 49	HC CDR2 (Chothia)	FPGSGN
SEQ ID NO: 50	HC CDR3 (Chothia)	SYYSYDVLDY

SEQ ID NO: 1	VH	QVQLQQSGPELVKPGTSVKISCKASGYSFTTYYI HWVKQRPGQGLEWIGWFFPGSGNIKYNEKFKG KATLTADTSSSTAYMQLSSLTSEESAVYFCAGS YYSYDVLDYWGHGTTLTVSS
SEQ ID NO: 6	LC CDR1（组合）	KASQNVGINVV
SEQ ID NO: 7	LC CDR2（组合）	SSSHRYS
SEQ ID NO: 8	LC CDR3（组合）	QQFKSYPLT
SEQ ID NO: 51	LC CDR1 (Kabat)	KASQNVGINVV
SEQ ID NO: 52	LC CDR2 (Kabat)	SSSHRYS
SEQ ID NO: 53	LC CDR3 (Kabat)	QQFKSYPLT
SEQ ID NO: 54	LC CDR1 (Chothia)	KASQNVGINVV
SEQ ID NO: 55	LC CDR2 (chothia)	SSSHRYS
SEQ ID NO: 56	LC CDR3 (chothia)	QQFKSYPLT
SEQ ID NO: 2	VL	DILMTQSQKFMSTSLGDRVSVSCKASQNVGINV VWHQQKPGQSPKALIYSSSHRYSGVPDRFTGSG SGTDFTLTINNVQSEDLAEYFCQQFKSYPLTFGA GTKLELK

[1219]

BHM1709（人源化）		
SEQ ID NO: 3	HC CDR1（组合）	GYSFTTYYIH
SEQ ID NO: 4	HC CDR2（组合）	WFFPGSGNIKYNEKFKG
SEQ ID NO: 5	HC CDR3（组合）	SYYSYDVLDY
SEQ ID NO: 9	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYSFTTY YIHWVRQAPGQGLEWMGWFFPGSGNIKYNEKF KGRVTITADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCA GSYYSYDVLDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 12	DNA VH	CAGGTGCAGCTGGTTCAGTCTGGCGCCGAAGT GAAGAAACCTGGCTCCTCCGTGAAGGTGTCCT GCAAGGCTTCCGGCTACTCCTTCACCACCTAC TACATCCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGACA AGGATTGGAATGGATGGGCTGGTTCTTCCCCG GCTCCGGCAACATCAAGTACAACGAGAAGTT CAAGGGCCGCGTGACCATCACCGCCGACACC TCTACCTCTACCGCCTACATGGAACTGTCCAG CCTGAGATCTGAGGACACCGCCGTGTACTACT GCGCCGGCTCCTACTACTCTTACGACGTGCTG GATTACTGGGGCCAGGGCACCACAGTGACAG TGTCCTCT

[1220]

SEQ ID NO: 6	LC CDR1（组合）	KASQNVGINVV
SEQ ID NO: 7	LC CDR2（组合）	SSSHRYS
SEQ ID NO: 8	LC CDR3（组合）	QQFKSYPLT
SEQ ID NO: 10	VL	DIQMTQSPSFLSASVGDRVTITCKASQNVGINVV WHQQKPGKAPKALIYSSSHRYSGVPSRFSGSGS GTEFTLTISSLQPEDFATYFCQQFKSYPLTFGQG TKLEIK
SEQ ID NO: 13	DNA VL	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTTCCT GTCCGCCTCTGTGGGCGACAGAGTGACCATCA CATGCAAGGCCTCTCAGAACGTGGGCATCAA CGTCGTGTGGCACCAGCAGAAGCCTGGCAAG GCTCCTAAGGCTCTGATCTACTCCTCCAGCCA CCGGTACTCTGGCGTGCCCTCTAGATTTTCCG GCTCTGGCTCTGGCACCGAGTTTACCCTGACA ATCTCCAGCCTGCAGCCTGAGGACTTCGCCAC CTACTTTTGCCAGCAGTTCAAGAGCTACCCTC TGACCTTTGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAAT CAAG
BHM1710（人源化）		
SEQ ID NO: 3	HC CDR1（组合）	GYSFTTYYIH
SEQ ID NO: 4	HC CDR2（组合）	WFFPGSGNIKYNEKFKG
SEQ ID NO: 5	HC CDR3（组合）	SYYSYDVLDY
SEQ ID NO: 9	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYSFTTY YIHWVRQAPGQGLEWMGWFFPGSGNIKYNEKF KGRVTITADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCA GSYYSYDVLDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 12	DNA VH	CAGGTGCAGCTGGTTCAGTCTGGCGCCGAAGT GAAGAAACCTGGCTCCTCCGTGAAGGTGTCCT GCAAGGCTTCCGGCTACTCCTTCACCACCTAC TACATCCACTGGGTCCGACAGGCCCCTGGACA AGGATTGGAATGGATGGGCTGGTTCTTCCCCG GCTCCGGCAACATCAAGTACAACGAGAAGTT CAAGGGCCGCGTGACCATCACCGCCGACACC TCTACCTCTACCGCCTACATGGAACTGTCCAG CCTGAGATCTGAGGACACCGCCGTGTACTACT GCGCCGGCTCCTACTACTCTTACGACGTGCTG GATTACTGGGGCCAGGGCACCACAGTGACAG TGTCCTCT
SEQ ID NO: 6	LC CDR1（组合）	KASQNVGINVV
SEQ ID NO: 7	LC CDR2（组合）	SSSHRYS
SEQ ID NO: 8	LC CDR3（组合）	QQFKSYPLT

[1221]

SEQ ID NO: 11	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVGINVV WHQQKPGKVPKALIYSSSHRYSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDVATYFCQQFKSYPLTFGQG TKLEIK
SEQ ID NO: 14	DNA VL	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCTCT GTCCGCCTCTGTGGGCGACAGAGTGACCATCA CATGCAAGGCCTCTCAGAACGTGGGCATCAA CGTCGTGTGGCACCAGCAGAAACCTGGCAAG GTGCCCAAGGCTCTGATCTACTCCTCCAGCCA CAGATACTCCGGCGTGCCCTCTAGATTCTCCG GCTCTGGCTCTGGCACCGACTTTACCCTGACA ATCTCCAGCCTGCAGCCTGAGGACGTGGCCAC CTACTTTTGCCAGCAGTTCAAGAGCTACCCTC TGACCTTTGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAAT CAAG

[1222] 抗TCRβV12抗体

[1223] 因此,在一方面,本公开内容提供了与人TCRβV12,例如,TCRβV12亚家族结合的抗TCRβV抗体分子,所述TCRβV12亚家族包括:TCRβV12-4*01,TCRβV12-3*01或TCRβV12-5*01。在一些实施方案中,TCRβV12亚家族包括TCRβV12-4*01。在一些实施方案中,TCRβV12亚家族包括TCRβV12-3*01。

[1224] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子是非鼠抗体分子,例如人或人源化抗体分子。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子是人抗体分子。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子是人源化抗体分子。

[1225] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子是分离的或重组的。

[1226] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子,包含来自本文所述抗体(例如,表14中所述抗体,或由表14中的核苷酸序列编码的抗体,或与前述序列中任何序列基本相同的序列(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同))的至少一个抗原结合区,例如可变区或其抗原结合片段。

[1227] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子,包含来自本文所述抗体(例如,表14中所述抗体,或由表14中的核苷酸序列编码的抗体,或与前述序列中任何序列基本相同的序列(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同))的至少一个、两个、三个或四个可变区。

[1228] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子,包含来自本文所述抗体(例如,表14中所述抗体,或由表14中的核苷酸序列编码的抗体,或与前述序列中任何序列基本相同的序列(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同))的至少一个或两个重链可变区。

[1229] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子,包含来自本文所述抗体(例如,表14中所述抗体,或由表14中的核苷酸序列编码的抗体,或与前述序列中任何序列基本相同的序列(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同))的至少一个或两个轻链可变区。

[1230] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子,包含IgG4(例如人IgG4)的重链恒定区。在另一实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子,包

含IgG1(例如人IgG1)的重链恒定区。在一个实施方案中,重链恒定区包含表17中列出的氨基酸序列,或与其基本上相同的序列(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)。

[1231] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子,包括κ轻链恒定区,例如人κ轻链恒定区。在一个实施方案中,轻链恒定区包含表17中列出的氨基酸序列,或与其基本上相同的序列(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同)。

[1232] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子,包含来自本文所述抗体(例如,表14中所述抗体,或由表14中的核苷酸序列编码的抗体,或与前述序列中任何序列基本相同的序列(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同))的重链可变区的至少一个、两个或三个互补决定区(CDR)。

[1233] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子,包括来自包含表14中所示的氨基酸序列,或由表14中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列的重链可变区的至少一个、两个或三个CDR(或所有CDR)。在一个实施方案中,相对于表14中所示的氨基酸序列,或由表14中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列,一个或多个CDR(或所有CDR)具有1、2、3、4、5、6个或更多个改变,例如氨基酸置换或缺失。

[1234] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子,包含来自本文所述抗体(例如,表14中所述抗体,或由表14中的核苷酸序列编码的抗体,或与前述序列中任何序列基本相同的序列(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同))的轻链可变区的至少一个、两个或三个互补决定区(CDR)。

[1235] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子,包括来自包含表14中所示的氨基酸序列,或由表14中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列的轻链可变区的至少一个、两个或三个CDR(或所有CDR)。在一个实施方案中,相对于表14中所示的氨基酸序列,或由表14中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列,一个或多个CDR(或所有CDR)具有1、2、3、4、5、6个或更多个改变,例如氨基酸置换或缺失。

[1236] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子,包括来自包含表14中所示的氨基酸序列,或由表14中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列的重链可变区和轻链可变区的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR(或所有CDR)。在一个实施方案中,相对于表14中所示的氨基酸序列,或由表14中所示的核苷酸序列编码的氨基酸序列,一个或多个CDR(或所有CDR)具有1、2、3、4、5、6个或更多个改变,例如氨基酸置换或缺失。

[1237] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括来自本文所述抗体(例如表14中所述的抗体,或由表14中的核苷酸序列编码的抗体)的所有六个CDR,或密切相关的CDR,例如相同CDR或具有至少一个氨基酸改变但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换)的CDR。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子可以包括本文所述的任何CDR。

[1238] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括来自本文所述抗体(例如如表14中所述选择的抗体,或与前述序列中任何序列基本相同的序列(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同))的重链可变区的根据Kabat等人的至少一个、两个或三个CDR(例如,根据表14所列的Kabat定义的至少一个、两个

或三个CDR);或相对于表14中所示的根据Kabat等人的一个、两个或三个CDR具有至少一个氨基酸改变,但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换)的至少一个、两个或三个CDR。

[1239] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括来自本文所述抗体(例如表14中所述的抗体,或与前述序列中任何序列基本相同的序列(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同))的轻链可变区的根据Kabat等人的至少一个、两个或三个CDR(例如,根据表14所列的Kabat定义的至少一个、两个或三个CDR);或相对于表14中所示的根据Kabat等人的一个、两个或三个CDR具有至少一个氨基酸改变,但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换)的至少一个、两个或三个CDR。

[1240] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括来自本文所述抗体(例如表14中所述的抗体,或由表14中的核苷酸序列编码的抗体;或与前述序列中任何序列基本相同的序列(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同))的重链可变区和轻链可变区的根据Kabat等人的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR(例如,根据表14所列的Kabat定义的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR);或相对于表14中所示的根据Kabat等人的一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR具有至少一个氨基酸改变,但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换)的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR。

[1241] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括来自本文所述抗体(例如表14中所述的抗体,或由表14中的核苷酸序列编码的抗体;或与前述序列中任何序列基本相同的序列(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同))的重链可变区和轻链可变区的根据Kabat等人的所有六个CDR(例如,根据表14所列的Kabat定义的所有六个CDR);或相对于表14中所示的根据Kabat等人的所有六个CDR具有至少一个氨基酸改变,但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换)的所有六个CDR。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子可以包括本文所述的任何CDR。

[1242] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括至少一个、两个或三个具有与本文所述抗体(例如表14中所述的抗体)的相应高变环相同的规范结构的高变环,例如与本文所述抗体的重链和/或轻链可变域的至少环1和/或环2具有相同的规范结构。高变环规范结构的描述参见,例如Chothia等人,(1992)J.Mol.Biol.227:799-817;Tomlinson等人,(1992)J.Mol.Biol.227:776-798。这些结构可以通过查看这些参考文献中描述的表来确定。

[1243] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括来自本文所述抗体(例如表14中所述选择的抗体,或与前述序列中任何序列基本相同的序列(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同))的重链可变区的根据Chothia等人的至少一个、两个或三个CDR(例如,根据表14所列的Chothia定义的至少一个、两个或三个CDR);或相对于表14中所示的根据Chothia等人的一个、两个或三个CDR具有至少一个氨基酸改变,但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换)的至少一个、两个或三个CDR。

[1244] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括来自本文所述抗体(例如表14中所述的抗体,或与前述序列中任何序列基本相同的序列(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同))的轻链可变区的根据Chothia等人的至少一个、两个或三个CDR(例如,根据表14所列的Chothia定义的至少一个、两个或三个CDR);或相对于表14中所示的根据Chothia等人的一个、两个或三个CDR具有至少一个氨基酸改变,但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换)的至少一个、两个或三个CDR。

[1245] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括来自本文所述抗体(例如表14中所述的抗体,或由表14中的核苷酸编码的抗体;或与前述序列中任何序列基本相同的序列(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同))的重链可变区和轻链可变区的根据Chothia等人的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR(例如,根据表14所列的Chothia定义的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR);或相对于表14中所示的根据Chothia等人的一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR具有至少一个氨基酸改变,但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换)的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR。

[1246] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括来自本文所述抗体(例如表14中所述的抗体,或由表14中的核苷酸序列编码的抗体;或与前述序列中任何序列基本相同的序列(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同))的重链可变区和轻链可变区的根据Chothia等人的所有六个CDR(例如,根据表14所列的Kabat定义的所有六个CDR);或相对于表14中所示的根据Chothia等人的所有六个CDR具有至少一个氨基酸改变,但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换)的所有六个CDR。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子可以包括本文所述的任何CDR。

[1247] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括来自本文所述抗体(例如表14中所述选择的抗体,或与前述序列中任何序列基本相同的序列(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同))的重链可变区的根据组合的CDR的至少一个、两个或三个CDR(例如,根据表14所列的组合的CDR定义的至少一个、两个或三个CDR);或相对于表14中所示的根据组合的CDR的一个、两个或三个CDR具有至少一个氨基酸改变,但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换)的至少一个、两个或三个CDR。

[1248] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括来自本文所述抗体(例如表14中所述的抗体,或与前述序列中任何序列基本相同的序列(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同))的轻链可变区的根据组合的CDR的至少一个、两个或三个CDR(例如,根据表14所列的组合的CDR定义的至少一个、两个或三个CDR);或相对于表14中所示的根据组合的CDR的一个、两个或三个CDR具有至少一个氨基酸改变,但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换)的至少一个、两个或三个CDR。

[1249] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括来自本文所述抗体(例如表14中所述的抗体,或由表14中的核苷酸编码的抗体;或与前述序列中任何序

列基本相同的序列(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同))的重链可变区和轻链可变区的根据组合的CDR的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR(例如,根据表14所列的组合的CDR定义的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR);或相对于表14中所示的根据组合的CDR的一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR具有至少一个氨基酸改变,但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换)的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR。

[1250] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括来自本文所述抗体(例如表14中所述的抗体,或由表14中的核苷酸序列编码的抗体;或与前述序列中任何序列基本相同的序列(例如,至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同))的重链可变区和轻链可变区的根据组合的CDR的所有六个CDR(例如,根据表14所列的组合的CDR定义的所有六个CDR);或相对于表14中所示的根据组合的CDR的所有六个CDR具有至少一个氨基酸改变,但不超过两个、三个或四个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换)的所有六个CDR。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子可以包括本文所述的任何CDR。

[1251] 在一些实施方案中,表13中所列出的组合的CDR为包括Kabat CDR和Chothia CDR的CDR。

[1252] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括CDR或高变环的组合,其被标识为表13中的组合的CDR。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子,可以包含CDR或高变环的任何组合,如表13中所述的"组合的"CDR。

[1253] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括根据Kabat等人和Chothia等人定义的或如表13所述的CDR或高变环的组合。

[1254] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子,可以包含根据Kabat和Chothia定义的CDR或高变环的任何组合。

[1255] 在一个实施方案中,例如在包含可变区、CDR(例如组合的CDR、ChothiaCDR或Kabat CDR)或本文在例如表14中提及的其他序列的实施方案中,抗体分子是单特异性抗体分子、双特异性抗体分子、二价抗体分子、双互补位抗体分子,或包含抗体的抗原结合片段(例如,半抗体或半抗体的抗原结合片段)的抗体分子。在某些实施方案中,抗体分子包括多特异性分子,例如双特异性分子,例如,如本文所述的。

[1256] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括:

[1257] (i)SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29或SEQ ID NO:30的轻链互补决定区1(LC CDR1)、轻链互补决定区2(LC CDR2)和轻链互补决定区3(LC CDR3)中的一个、两个或全部,和/或

[1258] (ii)SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24或SEQ ID NO:25的重链互补决定区1(HC CDR1)、重链互补决定区2(HC CDR2)和重链互补决定区3(HC CDR3)中的一个、两个或全部。

[1259] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括:

[1260] (i)SEQ ID NO:20的LC CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:21的LC CDR2氨基酸序列,或SEQ ID NO:22的LC CDR3氨基酸序列;和/或

[1261] (ii)SEQ ID NO:17的HC CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:18的HC CDR2氨基酸序列,

或SEQ ID NO:19的HC CDR3氨基酸序列。

[1262] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括:

[1263] (i)轻链可变区(VL),所述轻链可变区包含SEQ ID NO:20的LC CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:21的LC CDR2氨基酸序列,和SEQ ID NO:2的LC CDR3氨基酸序列;和/或

[1264] (ii)重链可变区(VH),所述重链可变区包含SEQ ID NO:17的HC CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:18的HC CDR2氨基酸序列,和SEQ ID NO:19的HC CDR3氨基酸序列。

[1265] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括:

[1266] (i)SEQ ID NO:63的LC CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:64的LC CDR2氨基酸序列,或SEQ ID NO:65的LC CDR3氨基酸序列;和/或

[1267] (ii)SEQ ID NO:57的HC CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:58的HC CDR2氨基酸序列,或SEQ ID NO:59的HC CDR3氨基酸序列。

[1268] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括:

[1269] (i)轻链可变区(VL),所述轻链可变区包含SEQ ID NO:63的LC CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:64的LC CDR2氨基酸序列,或SEQ ID NO:65的LC CDR3氨基酸序列;和/或

[1270] (ii)重链可变区(VH),所述重链可变区包含SEQ ID NO:57的HC CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:58的HC CDR2氨基酸序列,或SEQ ID NO:59的HC CDR3氨基酸序列。

[1271] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括:

[1272] (i)SEQ ID NO:66的LC CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:67的LC CDR2氨基酸序列,或SEQ ID NO:68的LC CDR3氨基酸序列;和/或

[1273] (ii)SEQ ID NO:60的HC CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:61的HC CDR2氨基酸序列,或SEQ ID NO:62的HC CDR3氨基酸序列。

[1274] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括:

[1275] (i)轻链可变区(VL),所述轻链可变区包含SEQ ID NO:63的LC CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:64的LC CDR2氨基酸序列,或SEQ ID NO:65的LC CDR3氨基酸序列;和/或

[1276] (ii)重链可变区(VH),所述重链可变区包含SEQ ID NO:57的HC CDR1氨基酸序列、SEQ ID NO:58的HC CDR2氨基酸序列,或SEQ ID NO:59的HC CDR3氨基酸序列。

[1277] 在一个实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子的轻链或重链可变构架(例如包括至少FR1、FR2、FR3和任选FR4的区域)可以选自:(a)轻链或重链可变构架,包括至少80%、85%、87%、90%、92%、93%、95%、97%、98%或100%的来自人轻链或重链可变构架的氨基酸残基,例如来自人成熟抗体、人种系序列或人共有序列的轻链或重链可变构架残基;(b)轻链或重链可变构架,包括20%至80%、40%至60%、60%至90%或70%至95%的来自人轻链或重链可变构架的氨基酸残基,例如来自人成熟抗体、人种系序列或人共有序列的轻链或重链可变构架残基;(c)非人构架(例如,啮齿动物构架);或(d)已被修饰的非人构架,例如去除抗原或细胞毒性决定簇,例如去免疫或部分人源化的非人构架。在一个实施方案中,轻链或重链可变构架区(特别是FR1、FR2和/或FR3)包括与人种系基因的VL或VH区段的构架相同或至少70%、75%、80%、85%、87%、88%、90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%、99%相同的轻链或重链可变构架序列。

[1278] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子,包含重链可变域,其相对于表14所述氨基酸序列,例如整个可变区(例如图5A和5B所示)中的FR区的氨基

酸序列,或在SEQ ID NO:23-25中的氨基酸序列具有至少一个、两个、三个、四个、五个、六个、七个、十个、十五个、二十个或更多个改变(例如氨基酸置换或缺失)。

[1279] 备选地,或与本文所述的重链置换组合,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子,包含轻链可变域,其相对于本文所述抗体的氨基酸序列,例如整个可变区(例如图5A和5B所示)中的FR区的氨基酸序列,或在SEQ ID NO:26-30中的氨基酸序列具有至少一个、两个、三个、四个、五个、六个、七个、十个、十五个、二十个或更多个氨基酸改变(例如氨基酸置换或缺失)。

[1280] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括如图5A所示的一个、两个、三个或四个重链构架区,或与其基本上相同的序列。

[1281] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括如图5B所示的一个、两个、三个或四个轻链构架区,或与其基本上相同的序列。

[1282] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括例如如图5B所示的轻链构架区1。

[1283] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括例如如图5B所示的轻链构架区2。

[1284] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括例如如图5B所示的轻链构架区3。

[1285] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括例如如图5B所示的轻链构架区4。

[1286] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括轻链,其包含构架区,例如构架区1(FR1),所述构架区包括改变,例如根据Kabat编号在本文公开的一个或多个(例如所有)位置处的置换(例如,保守置换)。在一些实施方案中,FR1在位置1处包含天冬氨酸,例如根据Kabat编号在位置1处的置换,例如丙氨酸至天冬氨酸置换。在一些实施方案中,FR1在位置2处包含天冬酰胺,例如根据Kabat编号在位置2处的置换,例如异亮氨酸至天冬酰胺置换、丝氨酸至天冬酰胺置换或酪氨酸至天冬酰胺置换。在一些实施方案中,FR1在位置4处包含亮氨酸,例如根据Kabat编号在位置4处的置换,例如蛋氨酸至亮氨酸置换。

[1287] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括轻链,其包含构架区,例如构架区1(FR1),所述构架区包括根据Kabat编号在位置1处的置换,例如丙氨酸至天冬氨酸置换;根据Kabat编号在位置2处的置换,例如异亮氨酸至天冬酰胺置换、丝氨酸至天冬酰胺置换或酪氨酸至天冬酰胺置换;和根据Kabat编号在位置4处的置换,例如蛋氨酸至亮氨酸置换。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括轻链,其包含构架区,例如构架区1(FR1),所述构架区包括根据Kabat编号在位置1处的置换,例如丙氨酸至天冬氨酸置换;和根据Kabat编号在位置2处的置换,例如异亮氨酸至天冬酰胺置换、丝氨酸至天冬酰胺置换或酪氨酸至天冬酰胺置换。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括轻链,其包含构架区,例如构架区1(FR1),所述构架区包括根据Kabat编号在位置1处的置换,例如丙氨酸至天冬氨酸置换;和根据Kabat编号在位置4处的置换,例如蛋氨酸至亮氨酸置换。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括轻链,其包含构架区,例如构架区1(FR1),所述构架区包括根据Kabat编

号在位置2处的置换,例如异亮氨酸至天冬酰胺置换、丝氨酸至天冬酰胺置换或酪氨酸至天冬酰胺置换;和根据Kabat编号在位置4处的置换,例如蛋氨酸至亮氨酸置换。在一些实施方案中,置换是相对于人种系轻链构架区序列而言的。

[1288] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括轻链,其包含构架区,例如构架区3(FR3),所述构架区包括改变,例如根据Kabat编号在本文公开的一个或多个(例如所有)位置处的置换(例如,保守置换)。在一些实施方案中,FR3在位置66处包含甘氨酸,例如根据Kabat编号在位置66处的置换,例如赖氨酸至甘氨酸置换,或丝氨酸至甘氨酸置换。在一些实施方案中,FR3在位置69处包含天冬酰胺,例如根据Kabat编号在位置69处的置换,例如酪氨酸至天冬酰胺置换。在一些实施方案中,FR3在位置71处包含酪氨酸,例如根据Kabat编号在位置71处的置换,例如苯丙氨酸至酪氨酸置换,或丙氨酸至酪氨酸置换。

[1289] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括轻链,其包含构架区,例如构架区3(FR3),所述构架区包括根据Kabat编号在位置66处的置换,例如赖氨酸至甘氨酸置换,或丝氨酸至甘氨酸置换;和根据Kabat编号在位置69处的置换,例如酪氨酸至天冬酰胺置换。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括轻链,其包含构架区,例如构架区3(FR3),所述构架区包括根据Kabat编号在位置66处的置换,例如赖氨酸至甘氨酸置换,或丝氨酸至甘氨酸置换;和根据Kabat编号在位置71处的置换,例如苯丙氨酸至酪氨酸置换,或丙氨酸至酪氨酸置换。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括轻链,其包含构架区,例如构架区3(FR3),所述构架区包括根据Kabat编号在位置69处的置换,例如酪氨酸至天冬酰胺置换;和根据Kabat编号在位置71处的置换,例如苯丙氨酸至酪氨酸置换,或丙氨酸至酪氨酸置换。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括轻链,其包含构架区,例如构架区3(FR3),所述构架区包括根据Kabat编号在位置66处的置换,例如赖氨酸至甘氨酸置换,或丝氨酸至甘氨酸置换;根据Kabat编号在位置69处的置换,例如酪氨酸至天冬酰胺置换;和根据Kabat编号在位置71处的置换,例如苯丙氨酸至酪氨酸置换,或丙氨酸至酪氨酸置换。在一些实施方案中,置换是相对于人种系轻链构架区序列而言的。

[1290] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括轻链,所述轻链包含构架区1(FR1),其包括根据Kabat编号在位置2处的置换,例如异亮氨酸至天冬酰胺置换;以及构架区3(FR3),其包括根据Kabat编号在位置69处的置换,例如苏氨酸至天冬酰胺置换和根据Kabat编号在位置71处的置换,例如苯丙氨酸至酪氨酸置换,例如如SEQ ID NO:26的氨基酸序列所示。在一些实施方案中,置换是相对于人种系轻链构架区序列而言的。

[1291] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括轻链,所述轻链包含:(a)构架区1(FR1),其包括根据Kabat编号在位置1处的置换,例如丙氨酸至天冬氨酸置换,以及根据Kabat编号在位置2处的置换,例如异亮氨酸至天冬酰胺置换;和(b)构架区3(FR3),其包括根据Kabat编号在位置69处的置换,例如苏氨酸至天冬酰胺置换,以及根据Kabat编号在位置71处的置换,例如苯丙氨酸至酪氨酸置换,例如如SEQ ID NO:27的氨基酸序列所示。在一些实施方案中,置换是相对于人种系轻链构架区序列而言的。

[1292] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括轻链,所述轻

链包含:(a)构架区1(FR1),其包括根据Kabat编号在位置2处的置换,例如丝氨酸至天冬酰胺置换,以及根据Kabat编号在位置4处的置换,例如蛋氨酸至亮氨酸置换;和(b)构架区3(FR3),其包括根据Kabat编号在位置69处的置换,例如苏氨酸至天冬酰胺置换,以及根据Kabat编号在位置71处的置换,例如苯丙氨酸至酪氨酸置换,例如如SEQ ID NO:28的氨基酸序列所示。在一些实施方案中,置换是相对于人种系轻链构架区序列而言的。

[1293] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括轻链,所述轻链包含:(a)构架区1(FR1),其包括根据Kabat编号在位置2处的置换,例如丝氨酸至天冬酰胺置换;以及(b)构架区3(FR3),其包括根据Kabat编号在位置66处的置换,例如赖氨酸至甘氨酸置换;根据Kabat编号在位置69处的置换,例如苏氨酸至天冬酰胺置换,以及根据Kabat编号在位置71处的置换,例如丙氨酸至酪氨酸置换,例如如SEQ ID NO:29的氨基酸序列所示。在一些实施方案中,置换是相对于人种系轻链构架区序列而言的。

[1294] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括轻链,所述轻链包含:(a)构架区1(FR1),其包括根据Kabat编号在位置2处的置换,例如酪氨酸至天冬酰胺置换;以及(b)构架区3(FR3),其包括根据Kabat编号在位置66处的置换,例如丝氨酸至甘氨酸置换;根据Kabat编号在位置69处的置换,例如苏氨酸至天冬酰胺置换;和根据Kabat编号在位置71处的置换,例如丙氨酸至酪氨酸置换,例如如SEQ ID NO:29的氨基酸序列所示。在一些实施方案中,置换是相对于人种系轻链构架区序列而言的。

[1295] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括轻链可变域,所述轻链可变域包含:(a)构架区1(FR1),其包括根据Kabat编号的在本文公开的一个或多个(例如全部)位置处的改变,例如置换(例如保守置换);和(b)构架区3(FR3),其包括根据Kabat编号的在本文公开的一个或多个(例如全部)位置处的改变,例如置换(例如保守置换)。在一些实施方案中,置换是相对于人种系轻链构架区序列而言的。

[1296] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括例如如图5A所示的重链构架区1。

[1297] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括例如如图5A所示的重链构架区2。

[1298] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括例如如图5A所示的重链构架区3。

[1299] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括例如如图5A所示的重链构架区4。

[1300] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括例如如图5A所示的重链构架区1-4,例如SEQ ID NO:20-23。

[1301] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括例如如图5B所示的轻链构架区1-4,例如SEQ ID NO:26-30。

[1302] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括重链构架区1-4,例如SEQ ID NO:23-25;和轻链构架区1-4,例如SEQ ID NO:26-30,或图5A和5B所示的那些。

[1303] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子的重链或轻链可变域或两者包含氨基酸序列,其与本文公开的氨基酸基本相同,例如与本文所述抗体(例

如,表14所述的抗体,或由表14的核苷酸序列编码的抗体)的可变区至少80%、85%、90%、92%、95%、97%、98%、99%或更加相同;或与本文所述抗体的可变区相差至少1或5个残基,但相差少于40、30、20或10个残基。

[1304] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包含至少一个、两个、三个或四个具有表14所列的氨基酸序列或与其基本相同的序列(例如,序列与其至少约85%、90%、95%、99%或更加相同,或与表14中所示序列相差不超过1、2、5、10或15个氨基酸残基)的抗原结合区(例如,可变区)。在另一实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子,包括由具有表14所列的核苷酸序列或与其基本相同的序列(例如,序列与其至少约85%、90%、95%、99%或更加相同,或与表14中所示序列相差不超过3、6、15、30或45个核苷酸)的核酸编码的VH和/或VL域。

[1305] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括:

[1306] VH域,所述VH域包含选自以下的氨基酸序列:SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24或SEQ ID NO:25的氨基酸序列、与SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24或SEQ ID NO:25的氨基酸序列至少约85%、90%、95%、99%或更加相同的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24或SEQ ID NO:25的氨基酸序列相差不超过1、2、5、10或15个氨基酸残基的氨基酸序列;和/或

[1307] VL域,所述VL域包含选自以下的氨基酸序列:SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29或SEQ ID NO:30的氨基酸序列、与SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29或SEQ ID NO:30的氨基酸序列至少约85%、90%、95%、99%或更加相同的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29或SEQ ID NO:30的氨基酸序列相差不超过1、2、5、10或15个氨基酸残基的氨基酸序列。

[1308] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括:

[1309] VH域,所述VH域包含:SEQ ID NO:23的氨基酸序列、与SEQ ID NO:23的氨基酸序列至少约85%、90%、95%、99%或更加相同的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:23的氨基酸序列相差不超过1、2、5、10或15个氨基酸残基的氨基酸序列;和

[1310] VL域,所述VL域包含:SEQ ID NO:26的氨基酸序列、与SEQ ID NO:26的氨基酸序列至少约85%、90%、95%、99%或更加相同的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:26的氨基酸序列相差不超过1、2、5、10或15个氨基酸残基的氨基酸序列。

[1311] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括:

[1312] VH域,所述VH域包含:SEQ ID NO:23的氨基酸序列、与SEQ ID NO:23的氨基酸序列至少约85%、90%、95%、99%或更加相同的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:23的氨基酸序列相差不超过1、2、5、10或15个氨基酸残基的氨基酸序列;和

[1313] VL域,所述VL域包含:SEQ ID NO:27的氨基酸序列、与SEQ ID NO:27的氨基酸序列至少约85%、90%、95%、99%或更加相同的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:27的氨基酸序列相差不超过1、2、5、10或15个氨基酸残基的氨基酸序列。

[1314] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括:

[1315] VH域,所述VH域包含:SEQ ID NO:23的氨基酸序列、与SEQ ID NO:23的氨基酸序列至少约85%、90%、95%、99%或更加相同的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:23的氨基酸序列相差不超过1、2、5、10或15个氨基酸残基的氨基酸序列;和

[1316] VL域,所述VL域包含:SEQ ID NO:28的氨基酸序列、与SEQ ID NO:28的氨基酸序列

至少约85％、90％、95％、99％或更加相同的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:28的氨基酸序列相差不超过1、2、5、10或15个氨基酸残基的氨基酸序列。

[1317] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括:

[1318] VH域,所述VH域包含:SEQ ID NO:23的氨基酸序列、与SEQ ID NO:23的氨基酸序列至少约85％、90％、95％、99％或更加相同的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:23的氨基酸序列相差不超过1、2、5、10或15个氨基酸残基的氨基酸序列;和

[1319] VL域,所述VL域包含:SEQ ID NO:29的氨基酸序列、与SEQ ID NO:29的氨基酸序列至少约85％、90％、95％、99％或更加相同的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:29的氨基酸序列相差不超过1、2、5、10或15个氨基酸残基的氨基酸序列。

[1320] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括:

[1321] VH域,所述VH域包含:SEQ ID NO:23的氨基酸序列、与SEQ ID NO:23的氨基酸序列至少约85％、90％、95％、99％或更加相同的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:23的氨基酸序列相差不超过1、2、5、10或15个氨基酸残基的氨基酸序列;和

[1322] VL域,所述VL域包含:SEQ ID NO:30的氨基酸序列、与SEQ ID NO:30的氨基酸序列至少约85％、90％、95％、99％或更加相同的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:30的氨基酸序列相差不超过1、2、5、10或15个氨基酸残基的氨基酸序列。

[1323] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括:

[1324] VH域,所述VH域包含:SEQ ID NO:24的氨基酸序列、与SEQ ID NO:24的氨基酸序列至少约85％、90％、95％、99％或更加相同的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:24的氨基酸序列相差不超过1、2、5、10或15个氨基酸残基的氨基酸序列;和

[1325] VL域,所述VL域包含:SEQ ID NO:26的氨基酸序列、与SEQ ID NO:26的氨基酸序列至少约85％、90％、95％、99％或更加相同的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:26的氨基酸序列相差不超过1、2、5、10或15个氨基酸残基的氨基酸序列。

[1326] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括:

[1327] VH域,所述VH域包含:SEQ ID NO:24的氨基酸序列、与SEQ ID NO:24的氨基酸序列至少约85％、90％、95％、99％或更加相同的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:24的氨基酸序列相差不超过1、2、5、10或15个氨基酸残基的氨基酸序列;和

[1328] VL域,所述VL域包含:SEQ ID NO:27的氨基酸序列、与SEQ ID NO:27的氨基酸序列至少约85％、90％、95％、99％或更加相同的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:27的氨基酸序列相差不超过1、2、5、10或15个氨基酸残基的氨基酸序列。

[1329] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括:

[1330] VH域,所述VH域包含:SEQ ID NO:24的氨基酸序列、与SEQ ID NO:24的氨基酸序列至少约85％、90％、95％、99％或更加相同的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:24的氨基酸序列相差不超过1、2、5、10或15个氨基酸残基的氨基酸序列;和

[1331] VL域,所述VL域包含:SEQ ID NO:28的氨基酸序列、与SEQ ID NO:28的氨基酸序列至少约85％、90％、95％、99％或更加相同的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:28的氨基酸序列相差不超过1、2、5、10或15个氨基酸残基的氨基酸序列。

[1332] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括:

[1333] VH域,所述VH域包含:SEQ ID NO:24的氨基酸序列、与SEQ ID NO:24的氨基酸序列

至少约85％、90％、95％、99％或更加相同的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:24的氨基酸序列相差不超过1、2、5、10或15个氨基酸残基的氨基酸序列;和

[1334] VL域,所述VL域包含:SEQ ID NO:29的氨基酸序列、与SEQ ID NO:29的氨基酸序列至少约85％、90％、95％、99％或更加相同的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:29的氨基酸序列相差不超过1、2、5、10或15个氨基酸残基的氨基酸序列。

[1335] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括:

[1336] VH域,所述VH域包含:SEQ ID NO:24的氨基酸序列、与SEQ ID NO:24的氨基酸序列至少约85％、90％、95％、99％或更加相同的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:24的氨基酸序列相差不超过1、2、5、10或15个氨基酸残基的氨基酸序列;和

[1337] VL域,所述VL域包含:SEQ ID NO:30的氨基酸序列、与SEQ ID NO:30的氨基酸序列至少约85％、90％、95％、99％或更加相同的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:30的氨基酸序列相差不超过1、2、5、10或15个氨基酸残基的氨基酸序列。

[1338] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括:

[1339] VH域,所述VH域包含:SEQ ID NO:25的氨基酸序列、与SEQ ID NO:25的氨基酸序列至少约85％、90％、95％、99％或更加相同的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:25的氨基酸序列相差不超过1、2、5、10或15个氨基酸残基的氨基酸序列;和

[1340] VL域,所述VL域包含:SEQ ID NO:26的氨基酸序列、与SEQ ID NO:26的氨基酸序列至少约85％、90％、95％、99％或更加相同的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:26的氨基酸序列相差不超过1、2、5、10或15个氨基酸残基的氨基酸序列。

[1341] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括:

[1342] VH域,所述VH域包含:SEQ ID NO:25的氨基酸序列、与SEQ ID NO:25的氨基酸序列至少约85％、90％、95％、99％或更加相同的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:25的氨基酸序列相差不超过1、2、5、10或15个氨基酸残基的氨基酸序列;和

[1343] VL域,所述VL域包含:SEQ ID NO:27的氨基酸序列、与SEQ ID NO:27的氨基酸序列至少约85％、90％、95％、99％或更加相同的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:27的氨基酸序列相差不超过1、2、5、10或15个氨基酸残基的氨基酸序列。

[1344] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括:

[1345] VH域,所述VH域包含:SEQ ID NO:25的氨基酸序列、与SEQ ID NO:25的氨基酸序列至少约85％、90％、95％、99％或更加相同的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:25的氨基酸序列相差不超过1、2、5、10或15个氨基酸残基的氨基酸序列;和

[1346] VL域,所述VL域包含:SEQ ID NO:28的氨基酸序列、与SEQ ID NO:28的氨基酸序列至少约85％、90％、95％、99％或更加相同的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:28的氨基酸序列相差不超过1、2、5、10或15个氨基酸残基的氨基酸序列。

[1347] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括:

[1348] VH域,所述VH域包含:SEQ ID NO:25的氨基酸序列、与SEQ ID NO:25的氨基酸序列至少约85％、90％、95％、99％或更加相同的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:25的氨基酸序列相差不超过1、2、5、10或15个氨基酸残基的氨基酸序列;和

[1349] VL域,所述VL域包含:SEQ ID NO:29的氨基酸序列、与SEQ ID NO:29的氨基酸序列至少约85％、90％、95％、99％或更加相同的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:29的氨基酸序列

相差不超过1、2、5、10或15个氨基酸残基的氨基酸序列。

[1350] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子包括:

[1351] VH域,所述VH域包含:SEQ ID NO:25的氨基酸序列、与SEQ ID NO:25的氨基酸序列至少约85%、90%、95%、99%或更加相同的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:25的氨基酸序列相差不超过1、2、5、10或15个氨基酸残基的氨基酸序列;和

[1352] VL域,所述VL域包含:SEQ ID NO:30的氨基酸序列、与SEQ ID NO:30的氨基酸序列至少约85%、90%、95%、99%或更加相同的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:30的氨基酸序列相差不超过1、2、5、10或15个氨基酸残基的氨基酸序列。

[1353] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子是完整的抗体或其片段(例如,Fab、F(ab')$_2$、Fv或单链Fv片段(scFv))。在实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV6(例如,抗TCRβV6-5*01)抗体分子是单克隆抗体或具有单一特异性的抗体。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子也可以是人源化的、嵌合的、骆驼的、鲨鱼的或体外产生的抗体分子。在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子是人源化抗体分子。抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子的重链和轻链可以是全长的(例如,抗体可以包括至少一条,优选两条完整的重链,以及至少一条,优选两条完整的轻链)或可以包含抗原结合片段(例如Fab、F(ab')$_2$、Fv、单链Fv片段、单域抗体、双抗体(dAb)、二价抗体,或双特异性抗体或其片段、其单域变体或骆驼抗体)。

[1354] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子为多特异性分子,例如双特异性分子的形式,例如,如本文所述的。

[1355] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子具有选自例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA1、IgA2、IgD和IgE的重链恒定区的重链恒定区(Fc)。在一些实施方案中,Fc区选自IgG1、IgG2、IgG3和IgG4的重链恒定区。在一些实施方案中,Fc区选自IgG1或IgG2(例如人IgG1或IgG2)的重链恒定区。在一些实施方案中,重链恒定区是人IgG1。

[1356] 在一些实施方案中,抗TCRβV抗体分子,例如抗TCRβV12抗体分子具有选自例如κ或λ,优选κ(例如人κ)的轻链恒定区的轻链恒定区。在一个实施方案中,恒定区被改变,例如使其突变,以修饰抗TCRβV抗体分子例如抗TCRβV12抗体分子的性质(例如增加或减少以下一项或多项:Fc受体结合、抗体糖基化、半胱氨酸残基数、效应细胞功能或补体功能)。例如,恒定区在位置296(M至Y)、298(S至T)、300(T至E)、477(H至K)和478(N至F)处发生突变,以改变Fc受体结合(例如突变位置对应于SEQ ID NO:212或214的位置132(M至Y)、134(S至T)、136(T至E)、313(H至K)和314(N至F);或SEQ ID NO:215、216、217或218的位置135(M至Y)、137(S至T)、139(T至E)、316(H至K)和317(N至F))。

[1357] 表14:鼠和人源化抗体分子的氨基酸和核苷酸序列。抗体分子包括鼠mAb 16G8和人源化mAb 16G8。显示了重链和轻链CDR的氨基酸,以及重链和轻链可变区及重链和轻链的氨基酸和核苷酸序列。

[1358]

16G8(鼠)		
SEQ ID NO: 17	HC CDR1(组合)	GFTFSNFGMH
SEQ ID NO: 18	HC CDR2(组合)	YISSGSSTIYYADTLKG
SEQ ID NO: 19	HC CDR3(组合)	RGEGAMDY

[1359]

SEQ ID NO: 57	HC CDR1 (Kabat)	NFGMH
SEQ ID NO: 58	HC CDR2 (Kabat)	YISSGSSTIYYADTLKG
SEQ ID NO: 59	HC CDR3 (Kabat)	RGEGAMDY
SEQ ID NO: 60	HC CDR1 (Chothia)	GFTFSNF
SEQ ID NO: 61	HC CDR2 (Chothia)	SSGSST
SEQ ID NO: 62	HC CDR3 (Chothia)	RGEGAMDY
SEQ ID NO: 15	VH	DVQLVESGGGLVQPGGSRKLSCAASGF TFSNFGMHWVRQAPDKGLEWVAYISS GSSTIYYADTLKGRFTISRDNPKNTLFL QMTSLRSEDTAMYYCARRGEGAMDY WGQGTSVTVSS
SEQ ID NO: 20	LC CDR1（组合）	RASSSVNYIY
SEQ ID NO: 21	LC CDR2（组合）	YTSNLAP
SEQ ID NO: 22	LC CDR3（组合）	QQFTSSPFT
SEQ ID NO: 63	LC CDR1 (Kabat)	RASSSVNYIY
SEQ ID NO: 64	LC CDR2 (Kabat)	YTSNLAP
SEQ ID NO: 65	LC CDR3 (Kabat)	QQFTSSPFT
SEQ ID NO: 66	LC CDR1 (Chothia)	RASSSVNYIY
SEQ ID NO: 67	LC CDR2 (Chothia)	YTSNLAP
SEQ ID NO: 68	LC CDR3 (Chothia)	QQFTSSPFT
SEQ ID NO: 16	VL	ENVLTQSPAIMSASLGEKVTMSCRASSS VNYIYWYQQKSDASPKLWIYYTSNLAP GVPTRFSGSGSGNSYSLTISSMEGEDAA TYYCQQFTSSPFTFGSGTKLEIK
16G8 人源化 HC-1		
SEQ ID NO: 17	HC CDR1（组合）	GFTFSNFGMH
SEQ ID NO: 18	HC CDR2（组合）	YISSGSSTIYYADTLKG
SEQ ID NO: 19	HC CDR3（组合）	RGEGAMDY
SEQ ID NO: 23	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGF TFSNFGMHWVRQAPGKGLEWVSYISSG SSTIYYADTLKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARRGEGAMDYW GQGTTVTVSS

[1360]

SEQ ID NO: 31	DNA VH	GAGGTGCAGCTGGTTGAATCTGGCGG AGGATTGGTTCAGCCTGGCGGCTCTCT GAGACTGTCTTGTGCCGCTTCTGGCTT CACCTTCTCCAACTTCGGCATGCACTG GGTCCGACAGGCCCCTGGAAAAGGAC TGGAATGGGTGTCCTACATCTCCTCCG GCTCCTCCACCATCTACTACGCTGACA CCCTGAAGGGCAGATTCACCATCTCT CGGGACAACGCCAAGAACTCCCTGTA CCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCG AGGACACCGCCGTGTACTACTGTGCT AGAAGAGGCGAGGGCGCCATGGATTA TTGGGGCCAGGGAACCACAGTGACCG TGTCTAGC
16G8 人源化 HC-2		
SEQ ID NO: 17	HC CDR1（组合）	GFTFSNFGMH
SEQ ID NO: 18	HC CDR2（组合）	YISSGSSTIYYADTLKG
SEQ ID NO: 19	HC CDR3（组合）	RGEGAMDY
SEQ ID NO: 24	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGF TFSNFGMHWVRQAPGKGLEWVSYISSG SSTIYYADTLKGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARRGEGAMDYW GQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 32	DNA VH	GAGGTGCAGCTGGTTGAATCTGGCGG AGGATTGGTTCAGCCTGGCGGCTCTCT GAGACTGTCTTGTGCCGCTTCTGGCTT CACCTTCTCCAACTTCGGCATGCACTG GGTCCGACAGGCCCCTGGAAAAGGAC TGGAATGGGTGTCCTACATCTCCTCCG GCTCCTCCACCATCTACTACGCTGACA CCCTGAAGGGCAGATTCACCATCAGC CGGGACAACTCCAAGAACACCCTGTA CCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCCG AGGACACCGCCGTGTACTACTGTGCT AGAAGAGGCGAGGGCGCCATGGATTA TTGGGGCCAGGGAACCACAGTGACCG TGTCTAGC
16G8 人源化 HC-3		
SEQ ID NO: 17	HC CDR1（组合）	GFTFSNFGMH
SEQ ID NO: 18	HC CDR2（组合）	YISSGSSTIYYADTLKG
SEQ ID NO: 19	HC CDR3（组合）	RGEGAMDY

[1361]

SEQ ID NO: 25	VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGF TFSNFGMHWVRQAPGKGLEWVAYISS GSSTIYYADTLKGRFTISRDNSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCARRGEGAMDY WGQGTTVTVSS
SEQ ID NO: 33	DNA VH	CAGGTGCAGCTGGTGGAATCTGGTGG CGGAGTTGTGCAGCCTGGCAGATCCC TGAGACTGTCTTGTGCCGCCTCTGGCT TCACCTTCTCCAACTTCGGCATGCACT GGGTCCGACAGGCCCCTGGAAAAGGA TTGGAGTGGGTCGCCTACATCTCCTCC GGCTCCTCCACCATCTACTACGCTGAC ACCCTGAAGGGCAGATTCACCATCAG CCGGGACAACTCCAAGAACACCCTGT ACCTGCAGATGAACTCCCTGAGAGCC GAGGACACCGCCGTGTACTACTGTGC TAGAAGAGGCGAGGGCGCCATGGATT ATTGGGGCCAGGGAACCACAGTGACC GTGTCTAGC
16G8 人源化 LC-1		
SEQ ID NO: 20	LC CDR1（组合）	RASSSVNYIY
SEQ ID NO: 21	LC CDR2（组合）	YTSNLAP
SEQ ID NO: 22	LC CDR3（组合）	QQFTSSPFT
SEQ ID NO: 26	VL	DNQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASSS VNYIYWYQQKPGKAPKLLIYYTSNLAP GVPSRFSGSGSGNEYTLTISSLQPEDFAT YYCQQFTSSPFTFGQGTKLEIK
SEQ ID NO: 34	DNA VL	GATAACCAGCTGACCCAGTCTCCTAG CTTCCTGTCTGCCTCTGTGGGCGACAG AGTGACAATTACCTGCCGGGCCTCCT CCTCCGTGAACTACATCTACTGGTATC AGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCTAAG CTGCTGATCTACTACACCTCCAATCTG GCCCCTGGCGTGCCCTCTAGATTTTCC GGATCTGGCTCCGGCAACGAGTATAC CCTGACAATCTCCAGCCTGCAGCCTG AGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAG CAGTTCACCTCCTCTCCATTCACCTTT GGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATCAA A
16G8 人源化 LC-2		
SEQ ID NO: 20	LC CDR1（组合）	RASSSVNYIY
SEQ ID NO: 21	LC CDR2（组合）)	YTSNLAP
SEQ ID NO: 22	LC CDR3（组合）	QQFTSSPFT

[1362]

SEQ ID NO: 27	VL	DNQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASSS VNYIYWYQQKPGKAPKLLIYYTSNLAP GVPSRFSGSGSGNDYTLTISSLQPEDFAT YYCQQFTSSPFTFGQGTKLEIK
SEQ ID NO: 35	DNA VL	ATAACCAGCTGACCCAGTCTCCTTCCA GCCTGTCTGCTTCTGTGGGCGACAGA GTGACAATTACCTGCCGGGCCTCCTCC TCCGTGAACTACATCTACTGGTATCAG CAGAAGCCCGGCAAGGCCCCTAAGCT GCTGATCTACTACACCTCCAATCTGGC CCCTGGCGTGCCCTCTAGATTTTCCGG ATCTGGCTCCGGCAACGACTATACCC TGACAATCTCCAGCCTGCAGCCTGAG GACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCA GTTCACCTCCTCTCCATTCACCTTTGG CCAGGGCACCAAGCTGGAAATCAAA
16G8 人源化 LC-3		
SEQ ID NO: 20	LC CDR1（组合）	RASSSVNYIY
SEQ ID NO: 21	LC CDR2（组合）)	YTSNLAP
SEQ ID NO: 22	LC CDR3（组合）	QQFTSSPFT
SEQ ID NO: 28	VL	ENVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASSS VNYIYWYQQKPGQAPRLLIYYTSNLAP GIPARFSGSGSGNEYTLTISSLQSEDFAV YYCQQFTSSPFTFGQGTKLEIK
SEQ ID NO: 36	DNA VL	GAGAATGTGCTGACCCAGTCTCCTGC CACACTGTCTGTTAGCCCTGGCGAGA GAGCTACCCTGAGCTGCAGAGCCTCT TCCTCCGTGAACTACATCTACTGGTAT CAGCAGAAGCCCGGCCAGGCTCCTAG ACTGCTGATCTACTACACCTCCAATCT GGCCCCTGGCATCCCTGCCAGATTTTC CGGATCTGGCTCCGGCAACGAGTATA CCCTGACCATCTCCAGCCTGCAGTCCG AGGACTTTGCTGTGTACTATTGCCAGC AGTTCACAAGCAGCCCTTTCACCTTTG GCCAGGGCACCAAGCTGGAAATCAAA
16G8 人源化 LC-4		
SEQ ID NO: 20	LC CDR1（组合）	RASSSVNYIY
SEQ ID NO: 21	LC CDR2（组合）)	YTSNLAP
SEQ ID NO: 22	LC CDR3（组合）	QQFTSSPFT

[1363]

SEQ ID NO: 29	VL	QNVLTQPPSASGTPGQRVTISCRASSSV NYIYWYQQLPGTAPKLLIYYTSNLAPG VPDRFSGSGSGNSYSLAISGLRSEDEAD YYCQQFTSSPFTFGTGTKVTVL
SEQ ID NO: 37	DNA VL	CAGAATGTGCTGACCCAACCTCCTTCC GCCTCTGGCACACCTGGACAGAGAGT GACAATCTCCTGCCGGGCCTCCTCCTC CGTGAACTACATCTACTGGTATCAGC AGCTGCCCGGCACCGCTCCTAAACTG CTGATCTACTACACCTCCAATCTGGCC CCTGGCGTGCCCGATAGATTTTCCGG ATCTGGCTCCGGCAACTCCTACAGCCT GGCTATCTCTGGCCTGAGATCTGAGG ACGAGGCCGACTACTACTGCCAGCAG TTCACCTCCTCTCCATTCACCTTTGGC ACCGGCACCAAAGTGACAGTTCTT
16G8 人源化 LC-5		
SEQ ID NO: 20	LC CDR1（组合）	RASSSVNYIY
SEQ ID NO: 21	LC CDR2（组合）	YTSNLAP
SEQ ID NO: 22	LC CDR3（组合）	QQFTSSPFT
SEQ ID NO: 30	VL	SNELTQPPSVSVSPGQTARITCRASSSVN YIYWYQQKSGQAPVLVIYYTSNLAPGIP ERFSGSGSGNMYTLTISGAQVEDEADY YCQQFTSSPFTFGTGTKVTVL
SEQ ID NO: 38	DNA VL	TCTAATGAGCTGACCCAGCCTCCTTCC GTGTCCGTGTCTCCTGGACAGACCGC CAGAATTACCTGCCGGGCCTCCTCCTC CGTGAACTACATCTACTGGTATCAGC AGAAGTCCGGCCAGGCTCCTGTGCTC GTGATCTACTACACCTCCAATCTGGCC CCTGGCATCCCTGAGAGATTCTCCGG ATCTGGCTCCGGCAACATGTACACCC TGACCATCTCTGGCGCCCAGGTGGAA GATGAGGCCGACTACTACTGCCAGCA GTTCACCTCCTCTCCATTCACCTTTGG CACCGGCACCAAAGTGACAGTTCTT

[1364] 表17.人IgG重链和人κ轻链的恒定区氨基酸序列

[1365]

人κ恒定区 SEQ ID NO: 39	LC	RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSG NSQESVTEQD SKDSTYSLSS TLTLSKADYE KHKVYACEVT HQGLSSPVTK SFNRGEC
IgG4 (S228P) 突	HC	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSW

[1366]

变恒定区(EU 编号) SEQ ID NO: 40		NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYT CNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS LG
IgG1 野生型 SEQ ID NO: 41	HC	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK
IgG1 (N297A)突变恒定区(EU 编号) SEQ ID NO: 42	HC	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK

[1367] B细胞、巨噬细胞和树突细胞衔接物

[1368] 宽泛地说,B细胞(也称为B淋巴细胞)是淋巴细胞亚型的一种白细胞。它们通过分泌抗体在适应性免疫系统的体液免疫成分中起作用。此外,B细胞呈递抗原(它们也被分类为专业抗原呈递细胞(APC))并分泌细胞因子。巨噬细胞是一种白细胞,通过吞噬作用吞噬并消化细胞碎片、异物、微生物、癌细胞。除吞噬作用外,它们在非特异性防御(先天免疫)中起重要作用,并通过募集其他免疫细胞(如淋巴细胞)来帮助启动特异性防御机制(适应性免疫)。例如,它们作为T细胞的抗原呈递者很重要。除了增加炎症和刺激免疫系统外,巨噬细胞还起重要的抗炎作用,并且可以通过释放细胞因子来降低免疫应答。树突细胞(DC)是抗原呈递细胞,作用于处理抗原物质并将其在细胞表面呈递给免疫系统的T细胞。

[1369] 本公开内容尤其提供了多特异性(例如,双、三、四特异性)或多功能分子,其包括例如经工程化以包含一种或多种介导与B细胞、巨噬细胞和/或树突细胞的结合和/或激活的B细胞、巨噬细胞和/或树突细胞衔接物。

[1370] 因此,在一些实施方案中,免疫细胞衔接物包括选自以下的一种或多种的B细胞、巨噬细胞和/或树突细胞衔接物:CD40配体(CD40L)或CD70配体;与CD40或CD70结合的抗体分子;针对OX40的抗体分子;OX40配体(OX40L);Toll样受体的激动剂(例如,如本文所述,例如TLR4,例如组成型活性TLR4(caTLR4),或TLR9激动剂);41BB;CD2;CD47;或STING激动剂,或其组合。

[1371] 在一些实施方案中,B细胞衔接物是CD40L、OX40L或CD70配体,或与OX40,CD40或CD70结合的抗体分子。

[1372] 在一些实施方案中,巨噬细胞衔接物是CD2激动剂。在一些实施方案中,巨噬细胞衔接物是与以下结合的抗原结合域:CD40L或与CD40结合的抗原结合域或配体、Toll样受体(TLR)激动剂(例如,如本文所述),例如TLR9或TLR4(例如caTLR4(组成型活性TLR4))、CD47或STING激动剂。在一些实施方案中,STING激动剂是环二核苷酸,例如环二GMP(cdGMP)或环

二AMP(cdAMP)。在一些实施方案中,STING激动剂是生物素化的。

[1373] 在一些实施方案中,树突细胞衔接物是CD2激动剂。在一些实施方案中,树突细胞衔接物是与以下一种或多种结合的配体、受体激动剂或抗体分子:OX40L、41BB、TLR激动剂(例如,如本文所述)(例如TLR9激动剂、TLR4(例如caTLR4(组成型活性TLR4))、CD47或STING激动剂。在一些实施方案中,STING激动剂是环二核苷酸,例如环二GMP(cdGMP)或环二AMP(cdAMP)。在一些实施方案中,STING激动剂是生物素化的。

[1374] 在其他实施方案中,免疫细胞衔接物介导与B细胞、巨噬细胞和/或树突细胞中的一个或多个的结合或激活。示例性的B细胞、巨噬细胞和/或树突细胞衔接物可以选自以下一种或多种:CD40配体(CD40L)或CD70配体;与CD40或CD70结合的抗体分子;针对OX40的抗体分子;OX40配体(OX40L);Toll样受体激动剂(例如TLR4,例如组成型活性TLR4(caTLR4)或TLR9激动剂);41BB激动剂;CD2;CD47;或STING激动剂,或其组合。

[1375] 在一些实施方案中,B细胞衔接物选自CD40L、OX40L或CD70配体或与OX40、CD40或CD70结合的抗体分子中的一种或多种。

[1376] 在其他实施方案中,巨噬细胞衔接物选自以下一种或多种:CD2激动剂;CD40L;OX40L;与OX40、CD40或CD70结合的抗体分子;Toll样受体激动剂或其片段(例如TLR4,例如组成型活性TLR4(caTLR4));CD47激动剂;或STING激动剂。

[1377] 在其他实施方案中,树突细胞衔接物选自以下一种或多种:CD2激动剂、OX40抗体、OX40L、41BB激动剂、Toll样受体激动剂或其片段(例如TLR4,例如组成型活性TLR4(caTLR4))、CD47激动剂或STING激动剂。

[1378] 在一个实施方案中,OX40L包含氨基酸序列:

[1379] QVSHRYPRIQSIKVQFTEYKKEKGFILTSQKEDEIMKVQNNSVIINC DGFYLISLKGYFSQEVNISL HYQKDEEPLFQLKKVRSVNSLMVASLTYKDKVYLNVTTDNTSLDDFHVNGGELILIHQNPGEFCVL(SEQ IDNO:7245),其片段,或与其基本相同(例如,与其95%至99.9%相同,或对SEQ ID NO:7245的氨基酸序列具有至少一个氨基酸改变,但不超过5、10或15个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换))的氨基酸序列。

[1380] 在另一个实施方案中,CD40L包含氨基酸序列:

[1381] MQKGDQNPQIAAHVISEASSKTTSVLQWAEKGYYTMSNNLVTLENGKQLTVKRQGLYYIYAQVTFCSN REASSQAPFIASLCLKSPGRFERILLRAANTHSSAKPCGQQSIHLGGVFELQPGASVFVNVTDPSQVSHGTGFTSF GLLKL(SEQ ID NO:7246),其片段,或与其基本相同(例如,与其95%至99.9%相同,或对SEQ ID NO:7246的氨基酸序列具有至少一个氨基酸改变,但不超过5、10或15个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换))的氨基酸序列。

[1382] 在其他实施方案中,STING激动剂包含环二核苷酸,例如环二GMP(cdGMP)、环二AMP(cdAMP)或其组合,任选地具有2',5'或3',5'磷酸酯键。

[1383] 在一个实施方案中,免疫细胞衔接物包括41BB配体,例如,其包含氨基酸序列:

[1384] ACPWAVSGARASPGSAASPRLREGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAG VSLTGGLSYKEDTKELVVAKAGVYYVFFQLELRRVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEAR NSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGATVLGLFRVTPEIPAGLPSPRSE(SEQ ID NO:7247),其片段,或与其基本相同(例如,与其95%至99.9%相同,或对SEQ ID NO:7247的氨基酸序列具有至少一个氨基酸改变,但不超过5、10或15个改变(例如,置换、缺失或插入,例

如保守置换))的氨基酸序列。

[1385] Toll样受体

[1386] Toll样受体(TLR)是进化保守的受体,是果蝇属Toll蛋白的同源物,可识别被称为病原体相关微生物模式(PAMP)(仅由微生物病原体表达)或与危险相关的分子模式(DAMP)(从坏死或垂死细胞释放的内源性分子)的高度保守的结构基序。PAMP包括各种细菌细胞壁组分,例如脂多糖(LPS)、肽聚糖(PGN)和脂肽,以及鞭毛蛋白、细菌DNA和病毒双链RNA。DAMP包括细胞内蛋白(例如热激蛋白)以及来自细胞外基质的蛋白质片段。相应的PAMP或DAMP对TLR的刺激会引发信号级联反应,从而导致转录因子(例如AP-1、NF-κB和干扰素调节因子(IRF))的激活。TLR发出的信号导致多种细胞反应,包括干扰素(IFN)、促炎性细胞因子和效应细胞因子的产生,它们指导适应性免疫应答。TLR与多种炎症和免疫疾病有关,并在癌症中起作用(Rakoff-Nahoum S.和Medzhitov R.,2009.Toll-like receptors and cancer, Nat Revs Cancer 9:57-63)。

[1387] TLR是I型跨膜蛋白,其特征在于含有富含亮氨酸的重复序列(LRR)的胞外域和含有称为Toll/IL-1受体(TIR)域的保守区域的胞质尾区。已鉴定出十个人类TLR和十二个鼠TLR,人类中为TLR1至TLR10,小鼠中为TLR1至TLR9、TLR11、TLR12和TLR13,TLR10的同源物是假基因。TLR2对于识别革兰氏阳性细菌中的多种PAMP,包括细菌脂蛋白、脂甘露聚糖和脂磷壁酸至关重要。TLR3与病毒衍生的双链RNA有关。TLR4主要被脂多糖激活。TLR5检测细菌鞭毛蛋白,而对未甲基化的CpG DNA的应答则需要TLR9。最后,TLR7和TLR8识别小的合成抗病毒分子,据报道单链RNA是其天然配体。据报道,TLR11识别来自尿道致病性大肠杆菌和鼠弓形虫的抑制蛋白样蛋白质。TLR彼此异源二聚化的能力显然可以扩展TLR的全部特异性。例如,对二酰化脂蛋白的应答需要TLR2和TLR6的二聚体,而TLR2和TLR1相互作用以识别三酰化脂蛋白。TLR的特异性还受到各种衔接子和辅助分子的影响,例如MD-2和CD 14,它们响应于LPS而与TLR4形成复合物。

[1388] TLR信号传导由至少两个不同的途径组成:导致炎症细胞因子产生的MyD88依赖性途径,以及与IFN-β刺激和树突细胞成熟相关的MyD88非依赖性途径。除TLR3以外,MyD88依赖性途径是除TLR3以外的所有TLR共有的(Adachi O.等人,1998.Targeted disruption of the MyD88 gene results in loss of IL-1-and IL-18-mediated function,Immunity.9(1):143-50)。通过PAMP或DAMP激活后,TLR异源或同源二聚化通过胞质TIR域诱导衔接蛋白的募集。各个TLR通过使用不同的衔接分子诱导不同的信号传导响应。TLR4和TLR2信号传导需要衔接子TIRAP/Mal,该衔接子参与MyD 88依赖性途径。TLR3以MyD88非依赖性方式通过衔接子TRIF/TICAM-1触发对双链RNA的应答的IFN-β产生。TRAM/TIC AM-2是参与MyD 88非依赖性途径的另一个衔接分子,其功能被限制于TLR4途径。

[1389] TLR3、TLR7、TLR8和TLR9识别病毒核酸并诱导I型IFN。根据激活的TLR,导致I型IFN诱导的信号传导机制不同。它们涉及干扰素调节因子IRF——已知在抗病毒防御、细胞生长和免疫调节中起关键作用的转录因子亚家族。三个IRF(IRF3、IRF5和IRF7)充当病毒介导的TLR信号传导的直接转导物。TLR3和TLR4激活IRF3和IRF7,而TLR7和TLR8激活IRF5和IRF7(Doyle S.等人,2002.IRF3 mediates TLR3/TLR4-specific antiviral gene program, Immunity.17(3):251-63)。此外,已显示由TLR9配体CpG-A刺激的I型IFN产生是由PI(3)K和mTOR介导的(Costa-Mattioli M.和Sonenberg N.2008.RAPping production of type I

interferon in pDCs through mTOR,Nature Immunol.9:1097-1099)

[1390] TLR-9

[1391] TLR9识别DNA分子中未甲基化的CpG序列。与细菌基因组或病毒DNA相比,CpG位点在脊椎动物基因组上相对较少(约1%)。TLR9由免疫系统的许多细胞表达,例如B淋巴细胞、单核细胞、天然杀伤(NK)细胞和浆细胞样树突细胞。TLR9在内体区室中细胞内表达,并通过与富含CpG基序的DNA结合来提醒免疫系统有病毒和细菌感染。TLR9信号导致激活引发促炎症反应的细胞,从而导致产生细胞因子,如I型干扰素和IL-12。

[1392] TLR激动剂

[1393] TLR激动剂可以激动一种或多种TLR,例如人TLR-1、2、3、4、5、6、7、8、9或10中的一种或多种。在一些实施方案中,本文所述的辅助剂是TLR激动剂。在一些实施方案中,TLR激动剂特异性地激动人TLR-9。在一些实施方案中,TLR-9激动剂是CpG部分。如本文所用,CpG部分是线性的二核苷酸,具有序列:5'—C—磷酸盐—G—3',即,仅被一个磷酸盐分开的胞嘧啶和鸟嘌呤。

[1394] 在一些实施方案中,CpG部分包含至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30或更多个CpG二核苷酸。在一些实施方案中,CpG部分由1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个CpG二核苷酸组成。在一些实施方案中,CpG部分具有1-5、1-10、1-20、1-30、1-40、1-50、5-10、5-20、5-30、10-20、10-30、10-40或10-50个CpG二核苷酸。

[1395] 在一些实施方案中,TLR-9激动剂是合成的ODN(寡脱氧核苷酸)。CpG ODN是短的合成的单链DNA分子,在特定的序列环境中包含未甲基化的CpG二核苷酸(CpG基序)。与基因组细菌DNA中发现的天然磷酸二酯(PO)骨架相反,CpG ODN具有部分或完全硫代磷酸酯(PS)骨架。CpG ODN主要分为三类:A、B和C类,它们的免疫刺激活性不同。CpG-ODN的特征是PO中心含CpG回文基序和PS修饰的3'多聚鸟苷酸(poly-G)串(string)。它们诱导pDC产生大量IFN-α,但是是TLR9依赖性NF-κB信号传导和促炎性细胞因子(例如IL-6)产生的较弱刺激物。CpG-B ODN包含具有一个或多个CpG二核苷酸的完整PS骨架。它们强烈激活B细胞和TLR9依赖性NF-κB信号传导,但微弱刺激IFN-α分泌。CpG-C ODN结合了A类和B类的特征。它们包含完整的PS骨架和含CpG的回文基序。C类CpG ODN诱导pDC产生大量的IFN-α并刺激B细胞。

[1396] 基质修饰部分

[1397] 实体瘤具有模仿正常组织的独特结构,并包含两个不同但相互依存的区室:实质(赘生性细胞)和赘生性细胞诱导并分散于其中的基质。所有肿瘤都具有基质,需要基质来提供营养支持和清除废物。在肿瘤以细胞悬液(例如白血病、腹水肿瘤)生长的情况下,血浆充当基质(Connolly JL等人,Tumor Structure and Tumor Stroma Generation,载于:Kufe DW等人编辑的Holland-Frei Cancer Medicine,第六版,Hamilton:BC Decker;2003中)。基质包括多种细胞类型,包括成纤维细胞/肌纤维母细胞、神经胶质细胞、上皮细胞、脂肪、血管、平滑肌和免疫细胞,以及细胞外基质(ECM)和细胞外分子(Li Hanchen等人,J of Cellular Biochemistry 101:805-815(2007)中的Tumor Microenvironment:The Role of the Tumor Stroma in Cancer)。

[1398] 本文所述的基质修饰部分包括能够降解基质组分的部分,该基质组分是例如ECM组分,例如糖胺聚糖,例如乙酰透明质酸(也称为透明质酸或HA)、硫酸软骨素、软骨素、硫酸

皮肤素、硫酸肝素、肝素、巢蛋白、生腱蛋白、聚集蛋白聚糖和硫酸角蛋白;或细胞外蛋白,例如胶原蛋白、层粘连蛋白、弹性蛋白、纤维蛋白原、纤连蛋白和玻连蛋白。

[1399] 基质修饰酶

[1400] 在一些实施方案中,基质修饰部分是酶。例如,基质修饰部分可包括但不限于透明质酸酶、胶原酶、软骨素酶、基质金属蛋白酶(例如,巨噬细胞金属弹性蛋白酶)。

[1401] 透明质酸酶

[1402] 透明质酸酶是在整个动物界中发现的一组中性和酸性的活性酶。透明质酸酶在底物特异性和作用机理方面有所不同。透明质酸酶一般分为三类:(1)哺乳动物型透明质酸酶(EC 3.2.1.35),它们是内切-β-N-乙酰基己糖苷酶,四糖和六糖为主要终产物。它们同时具有水解和转糖苷酶活性,并且可以降解乙酰透明质酸和硫酸软骨素;(2)细菌透明质酸酶(EC 4.2.99.1)降解乙酰透明质酸,并在不同程度上降解硫酸软骨素和硫酸皮肤素。它们是内切-β-N-乙酰基己糖胺酶,通过β消除反应起作用,主要产生二糖终产物;(3)来自水蛭、其他寄生虫和甲壳类的透明质酸酶(EC 3.2.1.36)是内切β-葡糖醛酸糖苷酶,可通过水解β1-3键产生四糖和六糖终产物。

[1403] 哺乳动物的透明质酸酶可以进一步分为两组:(1)中性活性酶和(2)酸性活性酶。人类基因组中有六个透明质酸酶样基因:HYAL1、HYAL2、HYAL3、HYAL4、HYALP1和PH20/SPAM1。HYALP1是假基因,尚未显示HYAL3具有针对任何已知底物的酶活性。HYAL4是一种软骨素酶,对乙酰透明质酸缺乏活性。HYAL1是原型酸活性酶,PH20是原型中性活性酶。酸性活性透明质酸酶(例如HYAL1和HYAL2)在中性pH下缺乏催化活性。例如,HYAL1在pH超过4.5的条件下在体外没有催化活性(Frost和Stern,“A Microtiter-Based Assay for Hyaluronidase Activity Not Requiring Specialized Reagents”,Analytical Biochemistry,第251卷,第263-269页(1997)。HYAL2是一种在体外具有非常低的特异性活性的酸性活性酶。

[1404] 在一些实施方案中,透明质酸酶是哺乳动物透明质酸酶。在一些实施方案中,透明质酸酶是重组人透明质酸酶。在一些实施方案中,透明质酸酶是中性活性透明质酸酶。在一些实施方案中,透明质酸酶是中性活性的可溶性透明质酸酶。在一些实施方案中,透明质酸酶是重组PH20中性活性酶。在一些实施方案中,透明质酸酶是重组PH20中性活性的可溶性酶。在一些实施方案中,透明质酸酶是糖基化的。在一些实施方案中,透明质酸酶具有至少一种N-连接的聚糖。重组透明质酸酶可以使用本领域技术人员已知的常规方法例如US7767429来生产,其全部内容通过引用并入本文。

[1405] 在一些实施方案中,透明质酸酶是rHuPH20(也称为Hylenex®;目前由Halozyme制造;在2005年被FDA批准(参见例如Scodeller P(2014)Hyaluronidase and other Extracellular Matrix Degrading Enzymes for Cancer Therapy:New Uses and Nano-Formulations.J Carcinog Mutage5:178;US7767429;US8202517;US7431380;US8450470;US8772246;US8580252,其各自的全部内容通过引用并入本文)。rHuPH20由基因改造的CHO细胞产生,该细胞含有编码人透明质酸酶PH20的可溶性片段的DNA质粒。在一些实施方案中,透明质酸酶是糖基化的。在一些实施方案中,透明质酸酶具有至少一种N-连接的聚糖。重组透明质酸酶可以使用本领域技术人员已知的常规方法例如US7767429来生产,其全部内容通过引用并入本文。在一些实施方案中,rHuPH20具有与以下氨基酸序列至少95%(例

如,至少96%、97%、98%、99%、100%)相同的序列LNFRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDMSLFSFIGSPRINATGQGVTIFYVDRLGYYPYIDSITGVTVNGGIPQKISLQDHLDKAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNVQLSLTEATEKAKQEFEKAGKDFLVETIKLGKLLRPNHLWGYYLFPDCYNHHYKKPGYNGSCFNVEIKRNDDLSWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQDELVYTFGETVALGASGIVIWGTLSIMRSMKSCLLLDNYMETILNPYIINVTLAAKMCSQVLCQEQGVCIRKNWNSSDYLHLNPDNFAIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADVKDTDAVDVCIADGVCIDAFLKPPMETEEPQIFYNASPSTLS(SEQ ID NO:7248)。

[1406] 在本文提供的任何方法中,抗乙酰透明质酸试剂可以是降解乙酰透明质酸的试剂或可以是抑制乙酰透明质酸合成的试剂。例如,抗乙酰透明质酸试剂可以是乙酰透明质酸降解酶。在另一个实例中,抗乙酰透明质酸试剂为抑制乙酰透明质酸合成的试剂。例如,抗乙酰透明质酸试剂是抑制乙酰透明质酸合成的试剂,例如针对HA合酶的有义或反义核酸分子,或者是小分子药物。例如,抗乙酰透明质酸试剂是4-甲基伞形酮(MU)或其衍生物,或来氟米特或其衍生物。这样的衍生物包括例如4-甲基伞形酮(MU)的衍生物,即6,7-二羟基-4-甲基香豆素或5,7-二羟基-4-甲基香豆素。

[1407] 在本文提供的方法的其他实例中,乙酰透明质酸降解酶是透明质酸酶。在一些实例中,乙酰透明质酸降解酶是PH20透明质酸酶或其截短形式,该截短形式缺乏C末端糖基磷脂酰肌醇(GPI)附着位点或GPI附着位点的一部分。在特定的实例中,透明质酸酶是选自人、猴、牛、绵羊、大鼠、小鼠或豚鼠的PH20的PH20。例如,乙酰透明质酸降解酶是具有中性活性并被N-糖基化的人PH20透明质酸酶,并且选自(a)为全长PH20或为PH20的C末端截短形式的透明质酸酶多肽,其中截短形式至少包含SEQ ID NO:7248的氨基酸残基36-464,例如36-481、36-482、36-483,其中全长PH20具有SEQ ID NO:7248所示的氨基酸序列;或(b)包含的氨基酸序列与SEQ ID NO:7248所示的氨基酸序列的多肽或截短形式具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多的序列同一性的透明质酸酶多肽;或(c)包含氨基酸置换的(a)或(b)的透明质酸酶多肽,其中该透明质酸酶多肽具有的氨基酸序列与SEQ ID NO:7248所示的多肽或其相应的截短形式具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多的序列同一性。在示例性实例中,乙酰透明质酸降解酶是PH20,其包含称为rHuPH20的组成。

[1408] 在其他实例中,抗乙酰透明质酸试剂是乙酰透明质酸降解酶,其通过缀合至聚合物而被修饰。聚合物可以是PEG,抗乙酰透明质酸试剂是PEG化的乙酰透明质酸降解酶。因此,在本文提供的方法的一些实例中,乙酰透明质酸降解酶通过缀合至聚合物而被修饰。例如,乙酰透明质酸降解酶缀合至PEG,因此乙酰透明质酸降解酶被PEG化。在示例性的实例中,乙酰透明质酸降解酶是PEG化的PH20酶(PEGPH20)。在本文提供的方法中,皮质类固醇可以是糖皮质激素,选自可的松、地塞米松、氢化可的松、甲泼尼龙、泼尼松龙和泼尼松。

[1409] 软骨素酶

[1410] 软骨素酶是在整个动物界中发现的一种酶,其通过内切糖苷酶反应降解糖胺聚糖,特别是软骨素和硫酸软骨素。在一些实施方案中,软骨素酶是哺乳动物软骨素酶。在一些实施方案中,软骨素酶是重组人软骨素酶。在一些实施方案中,软骨素酶是HYAL4。其他示例性的软骨素酶包括软骨素酶ABC(衍生自普通变形杆菌(Proteus vulgaris);日本专利申

请公开号6-153947;T.Yamagata等人,J.Biol.Chem.,243,1523(1968);S.Suzuki等人,J.Biol.Chem.,243,1543(1968))、软骨素酶AC(衍生自肝素黄杆菌(Flavobacterium heparinum);T.Yamagata等人,J.Biol.Chem.,243,1523(1968))、软骨素酶AC II(衍生自金黄节杆菌(Arthrobacter aurescens);K.Hiyama和S.Okada,J.Biol.Chem.,250,1824(1975);K.Hiyama和S.Okada,J.Biochem.(Tokyo),80,1201(1976))、透明质酸酶ACIII(衍生自黄杆菌属种(Flavobacterium sp.)Hpl02;Hirofumi Miyazono等人,Seikagaku,61,1023(1989))、软骨素酶B(衍生自肝素黄杆菌;Y.M.Michelacci和C.P.Dietrich,Biochem.Biophys.Res.Commun.,56,973(1974);Y.M.Michelacci和C.P.Dietrich,Biochem.J.,151,121(1975);Kenichi Maeyama等人,Seikagaku,57,1189(1985))、软骨素酶C(衍生自黄杆菌属种Hp102;Hirofumi Miyazono等人,Seikagaku,61,1023(1939))等。

[1411] 基质金属蛋白酶

[1412] 基质金属蛋白酶(MMP)是锌依赖性内肽酶,是参与细胞外基质(ECM)降解的主要蛋白酶。MMP能够降解各种细胞外分子和许多生物活性分子。已在人体中鉴定出二十四个MMP基因,根据域排布和底物偏好可将其分为六类:胶原酶(MMP-1、-8和-13)、明胶酶(MMP-2和MMP-9)、基质溶素(MMP-3、-10和-11)、基质溶解因子(MMP-7和MMP-26)、膜类型(MT)-MMP(MMP-14、-15、-16、-17、-24和-25)和其他(MMP-12、-19、-20、-21、-23、-27和-28)。在一些实施方案中,基质修饰部分是人重组MMP(例如,MMP-1、-2、-3、-4、-5、-6、-7、-8、-9、10、-11、-12、-13、-14、15、-15、-17、-18、-19、20、-21、-22、-23或-24)。

[1413] 胶原酶

[1414] 三种哺乳动物胶原酶(MMP-1、-8和-13)是能够裂解胶原细胞外基质的主要分泌的内肽酶。除了纤维胶原,胶原酶还可以裂解其他几种基质和非基质蛋白,包括生长因子。胶原酶被合成为非活性的替代形式,一旦被激活,其活性就会被金属蛋白酶、TIMP的特异性组织抑制剂以及非特异性蛋白酶抑制剂所抑制(Ala-aho R等人,Biochimie.Collagenases in cancer.2005年3月-4月;87(3-4):273-86)。在一些实施方案中,基质修饰部分是胶原酶。在一些实施方案中,胶原酶是人重组胶原酶。在一些实施方案中,胶原酶是MMP-1。在一些实施方案中,胶原酶是MMP-8。在一些实施方案中,胶原酶是MMP-13。

[1415] 巨噬细胞金属弹性蛋白酶

[1416] 巨噬细胞金属弹性蛋白酶(MME),也称为MMP-12,是MMP基质溶素亚组的成员,催化可溶和不可溶弹性蛋白以及多种基质和非基质底物的水解,包括IV型胶原蛋白、纤连蛋白、层粘连蛋白、玻连蛋白、巢蛋白、乙酰肝素和硫酸软骨素(ErjaKerkelä等人,Journal of Investigative Dermatology(2000)114,1113-1119;doi:10.1046/j.1523-1747.2000.00993)。在一些实施方案中,基质修饰部分是MME。在一些实施方案中,MME是人重组MME。在一些实施方案中,MME是MMP-12。

[1417] 其他基质修饰部分

[1418] 在一些实施方案中,基质修饰部分引起以下一种或多种:降低基质或细胞外基质(ECM)组分的水平或产生;减少肿瘤纤维化;增加间质肿瘤的运输;改善肿瘤灌注;扩大肿瘤微血管;降低肿瘤中的间质液压(IFP);或减少或增强诸如癌症治疗剂或细胞疗法的药剂向肿瘤或肿瘤脉管系统的渗透或扩散。

[1419] 在一些实施方案中,降低的基质或ECM组分选自糖胺聚糖或细胞外蛋白,或其组

合。在一些实施方案中,糖胺聚糖选自乙酰透明质酸(也称为透明质酸或HA)、硫酸软骨素、软骨素、硫酸皮肤素、肝素、硫酸肝素、巢蛋白、生腱蛋白、聚集蛋白聚糖和硫酸角蛋白。在一些实施方案中,细胞外蛋白选自胶原蛋白、层粘连蛋白、弹性蛋白、纤维蛋白原、纤连蛋白或玻连蛋白。在一些实施方案中,基质修饰部分包括降解肿瘤基质或细胞外基质(ECM)的酶分子。在一些实施方案中,酶分子选自透明质酸酶分子、胶原酶分子、软骨素酶分子、基质金属蛋白酶分子(例如,巨噬细胞金属弹性蛋白酶)或上述任何一种的变体(例如,片段)。术语"酶分子"包括酶的全长、片段或变体,例如保留天然存在的酶的至少一种功能性质的酶变体。

[1420] 在一些实施方案中,基质修饰部分降低了透明质酸的水平或产生。在其他实施方案中,基质修饰部分包含乙酰透明质酸降解酶、抑制乙酰透明质酸合成的试剂或抗透明质酸的抗体分子。

[1421] 在一些实施方案中,乙酰透明质酸降解酶是透明质酸酶分子,例如其全长或其变体(例如,其片段)。在一些实施方案中,乙酰透明质酸降解酶在中性或酸性pH,例如约4-5的pH中具有活性。在一些实施方案中,透明质酸酶分子是哺乳动物透明质酸酶分子,例如重组人透明质酸酶分子,例如其全长或变体(例如其片段,例如截短形式)。在一些实施方案中,透明质酸酶分子选自HYAL1、HYAL2或PH-20/SPAM1,或其变体(例如,其截短形式)。在一些实施方案中,截短形式缺乏C末端糖基磷脂酰肌醇(GPI)附着位点或GPI附着位点的一部分。在一些实施方案中,透明质酸酶分子被糖基化,例如包含至少一种N-连接的聚糖。

[1422] 在一些实施方案中,透明质酸酶分子包含氨基酸序列:LNFRAPPVIPNVPFLWAWNAPSEFCLGKFDEPLDMSLFSFIGSPRINATGQGVTIFYVDRLGYYPYIDSITGVTVNGGIPQKISLQDHLDKAKKDITFYMPVDNLGMAVIDWEEWRPTWARNWKPKDVYKNRSIELVQQQNVQLSLTEATEKAKQEFEKAGKDFLVETIKLGKLLRPNHLWGYYLFPDCYNHHYKKPGYNGSCFNVEIKRNDDLSWLWNESTALYPSIYLNTQQSPVAATLYVRNRVREAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQDELVYTFGETVALGASGIVIWGTLSIMRSMKSCLLLDNYMETILNPYIINVTLAAKMCSQVLCQEQGVCIRKNWNSSDYLHLNPDNFAIQLEKGGKFTVRGKPTLEDLEQFSEKFYCSCYSTLSCKEKADVKDTDAVDVCIADGVCIDAFLKPPMETEEPQIFYNASPSTLS(SEQ ID NO:7256),或其片段,或与其基本相同(例如,与其95%至99.9%相同,或对SEQ ID NO:7256的氨基酸序列具有至少一个氨基酸改变,但不超过5、10或15个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换)的氨基酸序列。

[1423] 在一些实施方案中,透明质酸酶分子包括:

[1424] (i)SEQ ID NO:7256的36-464的氨基酸序列;

[1425] (ii)PH20的36-481、36-482或36-483的氨基酸序列,其中PH20具有SEQ ID NO:7256所示的氨基酸序列;或者

[1426] (iii)与SEQ ID NO:7256所示的氨基酸序列的多肽或截短形式具有至少95%至100%序列同一性的氨基酸序列;或者

[1427] (iv)对SEQ ID NO:7256所示的氨基酸序列具有30、20、10、5或更少的氨基酸置换的氨基酸序列。在一些实施方案中,透明质酸酶分子包含与SEQ ID NO:7256的氨基酸序列至少95%(例如,至少95%、96%、97%、98%、99%、100%)相同的氨基酸序列。在一些实施方案中,透明质酸酶分子由与SEQ ID NO:7256的核苷酸序列至少95%(例如,至少96%、97%、98%、99%、100%)相同的核苷酸序列编码。

[1428] 在一些实施方案中,透明质酸酶分子是PH20,例如rHuPH20。在一些实施方案中,透明质酸酶分子是HYAL1并包含氨基酸序列:FRGPLLPNRPFTTVWNANTQWCLERHGVDVDVSVFDVVANPGQTFRGPDMTIFYSSQGTYPYYTPTGEPVFGGLPQNASLIAHLARTFQDILAAIPAPDFSGLAVIDWEAWRPRWAFNWDTKDIYRQRSRALVQAQHPDWPAPQVEAVAQDQFQGAARAWMAGTLQLGRALRPRGLWGFYGFPDCYNYDFLSPNYTGQCPSGIRAQNDQLGWLWGQSRALYPSIYMPAVLEGTGKSQMYVQHRVAEAFRVAVAAGDPNLPVLPYVQIFYDTTNHFLPLDELEHSLGESAAQGAAGVVLWVSWENTRTKESCQAIKEYMDTTLGPFILNVTSGALLCSQALCSGHGRCVRRTSHPKALLLLNPASFSIQLTPGGGPLSLRGALSLEDQAQMAVEFKCRCYPGWQAPWCERKSMW(SEQ ID NO:7253),或其片段,或与其基本相同(例如,与其95%至99.9%相同,或对SEQ ID NO:7253的氨基酸序列具有至少一个氨基酸改变,但不超过5、10或10个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换))的氨基酸序列。

[1429] 在一些实施方案中,乙酰透明质酸降解酶,例如透明质酸酶分子,进一步包含聚合物,例如缀合至聚合物,例如PEG。在一些实施方案中,乙酰透明质酸降解酶是PEG化的PH20酶(PEGPH20)。在一些实施方案中,乙酰透明质酸降解酶,例如透明质酸酶分子,进一步包含免疫球蛋白链恒定区(例如Fc区),该免疫球蛋白链恒定区选自例如IgG1、IgG2、IgG3和IgG4的重链恒定区,更具体而言,人IgG1、IgG2、IgG3或IgG4的重链恒定区。在一些实施方案中,免疫球蛋白恒定区(例如Fc区)与乙酰透明质酸降解酶例如透明质酸酶分子连接,例如共价连接。在一些实施方案中,改变免疫球蛋白链恒定区(例如Fc区),例如使其突变,以增加或减少以下一种或多种:Fc受体结合、抗体糖基化、半胱氨酸残基数、效应细胞功能或补体功能。在一些实施方案中,乙酰透明质酸降解酶,例如透明质酸酶分子形成二聚体。

[1430] 在一些实施方案中,基质修饰部分包含乙酰透明质酸合成例如HA合酶的抑制剂。在一些实施方案中,抑制剂包含针对HA合酶的有义或反义核酸分子或为小分子药物。在一些实施方案中,抑制剂是4-甲基伞形酮(MU)或其衍生物(例如6,7-二羟基-4-甲基香豆素或5,7-二羟基-4-甲基香豆素)或来氟米特或其衍生物。

[1431] 在一些实施方案中,基质修饰部分包含针对透明质酸的抗体分子。

[1432] 在一些实施方案中,基质修饰部分包含胶原酶分子,例如哺乳动物胶原酶分子,或其变体(例如,片段)。在一些实施方案中,胶原酶分子是胶原酶分子IV,例如,包含以下氨基酸序列:

[1433] YNFFPRKPKWDKNQITYRIIGYTPDLDPETVDDAFARAFQVWSDVTPLRFSRIHDGEADIMINFGRWEHGDGYPFDGKDGLLAHAFAPGTGVGGDSHFDDDELWTLGEGQVVRVKYGNADGEYCKFPFLFNGKEYNSCTDTGRSDGFLWCSTTYNFEKDGKYGFCPHEALFTMGGNAEGQPCKFPFRFQGTSYDSCTTEGRTDGYRWCGTTEDYDRDKKYGFCPETAMSTVGGNSEGAPCVFPFTFLGNKYESCTSAGRSDGKMWCATTANYDDDRKWGFCPDQGYSLFLVAAHEFGHAMGLEHSQDPGALMAPIYTYTKNFRLSQDDIKGIQELYGASPDIDLGTGPTPTLGPVTPEICKQDIVFDGIAQIRGEIFFFKDRFIWRTVTPRDKPMGPLLVATFWPELPEKIDAVYEAPQEEKAVFFAGNEYWIYSASTLERGYPKPLTSLGLPPDVQRVDAAFNWSKNKKTYIFAGDKFWRYNEVKKKMDPGFPKLIADAWNAIPDNLDAVVDLQGGGHSYFFKGAYYLKLENQSLKSVKFGSIKSDWLGC(SEQ ID NO:7254),其片段,或与其基本相同(例如,与其95%至99.9%相同,或对SEQ ID NO:7254的氨基酸序列具有至少一个氨基酸改变,但不超过5、10或15个改变(例如,置换、缺失或插入,例如保守置换))的氨基酸序列。

[1434] 接头

[1435] 本文公开的多特异性或多功能分子可以进一步包括接头,例如,在以下一种或多

种之间的接头:抗原结合域和细胞因子分子、抗原结合域和免疫细胞衔接物、抗原结合域和基质修饰部分、细胞因子分子和免疫细胞衔接物、细胞因子分子和基质修饰部分、免疫细胞衔接物和基质修饰部分、抗原结合域和免疫球蛋白链恒定区、细胞因子分子和免疫球蛋白链恒定区、免疫细胞衔接物和免疫球蛋白链恒定区,或基质修饰部分和免疫球蛋白链恒定区。在实施方案中,接头选自:可裂解的接头、不可裂解的接头、肽接头、柔性接头、刚性接头、螺旋接头或非螺旋接头,或其组合。

[1436] 在一个实施方案中,多特异性分子可包括一个、两个、三个或四个接头,例如肽接头。在一个实施方案中,肽接头包括Gly和Ser。在一些实施方案中,肽接头选自GGGGS(SEQ ID NO:7249);GGGGSGGGGS(SEQ ID NO:7250);GGGGSGGGGSGGGGS(SEQ ID NO:7251);和DVPSGPGGGGGSGGGGS(SEQ ID NO:7252)。在一些实施方案中,肽接头是接头的A(EAAAK)nA(SEQ ID NO:7255)家族(例如,如Protein Eng.(2001)14(8):529-532)所述)。这些是刚性螺旋接头,n范围为2-5。在一些实施方案中,肽接头选自AEAAAKEAAAKAAA(SEQ ID NO:75);AEAAAKEAAAKEAAAKAAA(SEQ ID NO:76);AEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKAAA(SEQ ID NO:77);和AEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKAAA(SEQ ID NO:78)。

[1437] 核酸

[1438] 还公开了编码前述多特异性或多功能分子的核酸。

[1439] 在某些实施方案中,本发明的特征在于核酸,其包含编码如本文所述的抗体分子的重链和轻链可变区和CDR或高变环的核苷酸序列。例如,本发明的特征在于分别编码选自本文公开的一种或多种抗体分子的抗体分子的重链和轻链可变区的第一核酸和第二核酸。核酸可包含如本文表中所列的核苷酸序列,或与其基本相同(例如,与其至少约85%、90%、95%、99%或更加相同的序列)或与本文表中所示的序列相差不超过3、6、15、30或45个核苷酸的序列。

[1440] 在某些实施方案中,核酸可包含编码来自重链可变区的至少一个、两个或三个CDR或高变环的核苷酸序列,所述重链可变区具有如本文表中所列的氨基酸序列或与其基本同源的序列(例如,与其至少约85%、90%、95%、99%或更加相同,和/或具有一个或多个置换,例如保守置换的序列)。在其他实施方案中,核酸可包含编码来自轻链可变区的至少一个、两个或三个CDR或高变环的核苷酸序列,所述轻链可变区具有如本文表中所列的氨基酸序列,或与其基本同源的序列(例如,与其至少约85%、90%、95%、99%或更加相同,和/或具有一个或多个置换,例如保守置换)的序列。在又一个实施方案中,核酸可以包含编码来自重链可变区和轻链可变区的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR或高变环的核苷酸序列,所述重链可变区和轻链可变区具有本文表中所列的氨基酸序列,或与其基本同源的序列(例如,与其至少约85%、90%、95%、99%或更加相同,和/或具有一个或多个置换,例如保守置换的序列)。

[1441] 在某些实施方案中,核酸可以包含编码来自重链可变区的至少一个、两个或三个CDR或高变环的核苷酸序列,所述重链可变区具有如本文表中所列的核苷酸序列,与其基本同源的序列(例如,与其至少约85%、90%、95%、99%或更加相同,和/或能够在本文描述的严格条件下杂交的序列)。在另一个实施方案中,核酸可以包含编码来自轻链可变区的至少一个、两个或三个CDR或高变环的核苷酸序列,所述轻链可变区具有如本文表中所列的核苷酸序列,或与其基本同源的序列(例如,与其至少约85%、90%、95%、99%或更加相同,和/

或能够在本文描述的严格条件下杂交的序列)。在另一个实施方案中,核酸可以包含编码来自重链可变区和轻链可变区的至少一个、两个、三个、四个、五个或六个CDR或高变环的核苷酸序列,所述重链可变区和轻链可变区具有本文表中所列的核苷酸序列,或与其基本同源的序列(例如,与其至少约85%、90%、95%、99%或更加相同,和/或能够在本文描述的严格条件下杂交的序列)。

[1442] 在某些实施方案中,核酸可以包含编码本文公开的细胞因子分子、免疫细胞衔接物或基质修饰部分的核苷酸序列。

[1443] 在另一方面,本申请的特征在于含有本文所述核酸的宿主细胞和载体。核酸可以存在于同一宿主细胞或不同的宿主细胞中的单个载体或不同载体中,如下文更详细地描述。

[1444] 载体

[1445] 本文还提供了载体,其包含编码本文所述的多特异性或多功能分子的核苷酸序列。在一个实施方案中,载体包含编码本文所述的多特异性或多功能分子的核苷酸。在一个实施方案中,载体包含本文所述的核苷酸序列。载体包括但不限于病毒、质粒、粘粒、λ噬菌体或酵母人工合成染色体(YAC)。

[1446] 可以采用许多载体系统。例如,一类载体利用来自动物病毒的DNA元件,所述动物病毒例如牛乳头瘤病毒、多瘤病毒、腺病毒、牛痘病毒、杆状病毒、逆转录病毒(Rous肉瘤病毒、MMTV或MOMLV)或SV40病毒。另一类载体利用来自RNA病毒(例如西门利克森林病毒、东方马脑炎病毒和黄病毒)的RNA元件。

[1447] 另外,可以通过引入一种或多种允许选择转染的宿主细胞的标记来选择DNA被稳定整合到其染色体中的细胞。例如,标记可以向营养缺陷宿主提供质子移变、杀生物剂抗性(例如抗生素)或对重金属如铜的抗性等。可选择的标记基因可以直接连接到要表达的DNA序列,或可以通过共转化引入相同的细胞。mRNA的最佳合成可能还需要其他元件。这些元件可能包括剪接信号,以及转录启动子、增强子和终止信号。

[1448] 一旦准备好用于表达的表达载体或包含DNA序列的构建体,就可以将表达载体转染或引入合适的宿主细胞中。可以采用多种技术来实现这一点,例如,原生质体融合、磷酸钙沉淀、电穿孔、逆转录病毒转导、病毒转染、基因枪、基于脂质的转染或其他常规技术。在原生质体融合的情况下,将细胞在培养基中生长并筛选适当的活性。

[1449] 用于培养所得转染细胞和用于回收产生的抗体分子的方法和条件是本领域技术人员已知的,并且基于本说明书,可以根据所使用的特定表达载体和哺乳动物宿主细胞进行改变或优化。

[1450] 细胞

[1451] 另一方面,本申请的特征在于含有本文所述核酸的宿主细胞和载体。核酸可以存在于同一宿主细胞或不同宿主细胞中的单个载体或不同载体中。宿主细胞可以是真核细胞,例如,哺乳动物细胞、昆虫细胞、酵母细胞或原核细胞,例如,大肠杆菌。例如,哺乳动物细胞可以是培养的细胞或细胞系。示例性的哺乳动物细胞包括淋巴细胞细胞系(例如,NSO)、中国仓鼠卵巢细胞(CHO)、COS细胞、卵母细胞和来自转基因动物的细胞,例如,乳腺上皮细胞。

[1452] 本发明还提供了包含编码本文所述抗体分子的核酸的宿主细胞。

[1453] 在一个实施方案中,对宿主细胞进行遗传工程化以包含编码抗体分子的核酸。

[1454] 在一个实施方案中,通过使用表达盒对宿主细胞进行遗传工程化。短语“表达盒”是指核苷酸序列,其能够影响基因在与此类序列相容的宿主中的表达。这样的盒可以包括启动子,具有或没有内含子的可读框以及终止信号。也可以使用对影响表达所必需或有帮助的其他因素,例如可诱导的启动子。

[1455] 本发明还提供了包含本文所述载体的宿主细胞。

[1456] 该细胞可以是但不限于真核细胞、细菌细胞、昆虫细胞或人细胞。合适的真核细胞包括但不限于Vero细胞、HeLa细胞、COS细胞、CHO细胞、HEK293细胞、BHK细胞和MDCKII细胞。合适的昆虫细胞包括但不限于Sf9细胞。

[1457] 用途和联合治疗

[1458] 本文所述的方法包括通过使用本文所述的多特异性分子,例如使用本文所述的药物组合物来治疗受试者的癌症。还提供了用于减轻或改善受试者的癌症症状的方法,以及用于抑制癌症生长和/或杀伤一种或多种癌细胞的方法。在实施方案中,本文所述的方法在被施用本文所述的物质或本文所述的药物组合物的受试者中减小肿瘤的大小和/或减少癌细胞的数目。

[1459] 在实施方案中,癌症是血液学癌症。在实施方案中,血液学癌症是白血病或淋巴瘤。如本文所用,“血液学癌症”是指造血或淋巴组织的肿瘤,例如,影响血液、骨髓或淋巴结的肿瘤。示例性的血液学恶性肿瘤包括但不限于白血病(例如,急性淋巴母细胞白血病(ALL)、急性髓性白血病(AML)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、慢性髓细胞性白血病(CML)、毛细胞白血病、急性单核细胞白血病(AMoL)、慢性骨髓单核细胞性白血病(CMML)、少年骨髓单核细胞白血病(JMML)或巨粒淋巴细胞白血病)、淋巴瘤(例如艾滋病相关淋巴瘤、皮肤T细胞淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤(例如经典霍奇金淋巴瘤或结节性淋巴细胞为主的霍奇金淋巴瘤)、蕈样真菌病、非霍奇金淋巴瘤(例如B细胞非霍奇金淋巴瘤(例如伯基特淋巴瘤、小淋巴细胞淋巴瘤(CLL/SLL)、弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、免疫母细胞性大细胞淋巴瘤、前体B淋巴母细胞性淋巴瘤或套细胞淋巴瘤)或T细胞非霍奇金淋巴瘤(蕈样真菌病、退行性大细胞淋巴瘤或前体T淋巴母细胞性淋巴瘤))、原发性中枢神经系统淋巴瘤、塞扎里综合征、沃尔登斯特伦巨球蛋白血症)、慢性骨髓增生性肿瘤、郎格汉斯细胞组织细胞增多症、多发性骨髓瘤/浆细胞赘生物、骨髓增生异常综合征或骨髓增生异常/骨髓增生性赘生物。

[1460] 在实施方案中,癌症是实体癌。示例性的实体癌包括但不限于卵巢癌、直肠癌、胃癌、睾丸癌、肛门区域癌、子宫癌、结肠癌、直肠癌、肾细胞癌、肝癌、非小细胞癌肺癌、小肠癌、食道癌、黑色素瘤、卡波济氏肉瘤、内分泌系统癌、甲状腺癌、甲状旁腺癌、肾上腺癌、骨癌、胰腺癌、皮肤癌、头或颈癌、皮肤或眼内恶性黑色素瘤、子宫癌、脑干神经胶质瘤、垂体腺瘤、表皮样癌、子宫颈鳞状细胞癌、输卵管癌、子宫内膜癌、阴道癌、软组织肉瘤、尿道癌、外阴癌、阴茎癌、膀胱癌、肾癌或输尿管癌、肾盂癌、脊柱轴肿瘤、中枢神经系统(CNS)赘生物、原发性中枢神经系统淋巴瘤、肿瘤血管生成、所述癌症的转移性病变,或其组合。

[1461] 在某些实施方案中,癌症是上皮细胞的、间充质细胞的或血液系统的恶性肿瘤。在某些实施方案中,所治疗的癌症是实体瘤(例如类癌、癌或肉瘤)、软组织肿瘤(例如血红素恶性肿瘤)和转移性病变,例如本文公开的任何癌症的转移性病变。在一个实施方案中,所治疗的癌症是纤维化或增生性实体瘤,例如具有以下一种或多种的肿瘤:有限的肿瘤灌注、

压缩的血管、纤维化的肿瘤间质或增加的间质液压力。在一个实施方案中,实体瘤选自胰腺癌(例如,胰腺腺癌或胰腺导管腺癌)、乳腺癌、结肠癌、结直肠癌、肺癌(例如,小细胞肺癌(SCLC)或非小细胞肺癌)(NSCLC))、皮肤癌、卵巢癌、肝癌、食管癌、子宫内膜癌、胃癌、头颈癌、肾癌或前列腺癌中的一种或多种。

[1462] 癌症的实例包括但不限于癌、淋巴瘤、母细胞瘤、肉瘤和白血病或淋巴样恶性肿瘤。此类癌症的更具体实例如下所示并包括:鳞状细胞癌(例如上皮鳞状细胞癌)、肺癌(包括小细胞肺癌、非小细胞肺癌、肺腺癌和肺鳞癌)、腹膜癌、肝细胞癌、胃癌(包括胃肠癌)、胰腺癌、胶质母细胞瘤、宫颈癌、卵巢癌、肝癌、膀胱癌、肝细胞瘤、乳腺癌、结肠癌、直肠癌、结直肠癌、子宫内膜癌或子宫癌、唾液腺癌、肾癌、前列腺癌、外阴癌、甲状腺癌、肝癌、肛门癌、阴茎癌以及头颈癌。术语"癌症"包括原发性恶性细胞或肿瘤(例如,其细胞未迁移至受试者体内除原始恶性肿瘤或肿瘤的部位以外的部位的那些)和继发性恶性细胞或肿瘤(例如,由恶性细胞或肿瘤细胞向不同于原始肿瘤部位的继发性部位的迁移引起的那些)。

[1463] 癌症或恶性肿瘤的其他实例包括但不限于:儿童急性淋巴母细胞性白血病、急性淋巴母细胞性白血病、急性淋巴细胞性白血病、急性髓性白血病、肾上腺皮质癌、成人(原发性)肝细胞癌、成人(原发性)肝癌、成人急性淋巴细胞性白血病、成人急性髓性白血病、成人霍奇金病、成人霍奇金淋巴瘤、成人淋巴细胞性白血病、成人非霍奇金淋巴瘤、成人原发性肝癌、成人软组织肉瘤、与艾滋病相关的淋巴瘤、与艾滋病相关的恶性肿瘤、肛门癌、星细胞瘤、胆管癌、膀胱癌、骨癌、脑干神经胶质瘤、脑瘤、乳腺癌、肾盂和输尿管癌、中枢神经系统(原发性)淋巴瘤、中枢神经系统淋巴瘤、小脑星形细胞瘤、大脑星形细胞瘤、宫颈癌、儿童(原发性)肝细胞癌、儿童(原发性)肝癌、儿童急性淋巴母细胞性白血病、儿童急性髓性白血病、儿童脑干神经胶质瘤、儿童小脑星形细胞瘤、儿童大脑星形细胞瘤、儿童颅外生殖细胞瘤、儿童霍奇金病、儿童霍奇金淋巴瘤、儿童下丘脑和视觉通路神经胶质瘤、儿童淋巴母细胞性白血病、儿童髓母细胞瘤、儿童非霍奇金淋巴瘤、儿童松果体和幕上原始神经外胚层肿瘤、儿童原发性肝癌、儿童横纹肌肉瘤、儿童软组织肉瘤、儿童视觉通路和下丘脑神经胶质瘤、慢性淋巴细胞性白血病、慢性髓细胞性白血病、结肠癌、皮肤T细胞淋巴瘤、内分泌胰腺胰岛细胞癌、子宫内膜癌、室管膜瘤、上皮样癌、食管癌、尤文肉瘤及相关肿瘤、外分泌胰腺癌、颅外生殖细胞瘤、性腺外生殖细胞瘤、肝外胆管癌、眼癌、女性乳腺癌、高歇病、胆囊癌、胃癌、胃肠道类癌、胃肠道肿瘤、生殖细胞肿瘤、妊娠滋养细胞肿瘤、多毛细胞白血病、头颈癌、肝细胞癌、霍奇金病、霍奇金淋巴瘤、高丙种球蛋白血症、下咽癌、肠癌、眼内黑素瘤、胰岛细胞癌、胰岛细胞胰腺癌、卡波济氏肉瘤、肾癌、喉癌、唇和口腔癌、肝癌、肺癌、淋巴组织增生性病症、巨球蛋白血症、男性乳腺癌、恶性间皮瘤、恶性胸腺瘤、髓母细胞瘤、黑素瘤、间皮瘤、转移性隐匿性原发性鳞状颈癌、转移性原发性鳞状颈癌、转移性鳞状颈癌、多发性骨髓瘤、多发性骨髓瘤/浆细胞赘生物、骨髓增生异常综合征、髓细胞性白血病、髓性白血病、骨髓增生性病症、鼻腔和鼻窦癌、鼻咽癌、神经母细胞瘤、妊娠期非霍奇金淋巴瘤、非黑素瘤皮肤癌、非小细胞肺癌、隐匿性原发性转移性鳞状颈癌、口咽癌、骨/恶性纤维肉瘤、骨肉瘤/恶性纤维组织细胞瘤、骨肉瘤/骨恶性纤维组织细胞瘤、卵巢上皮瘤、卵巢生殖细胞肿瘤、卵巢低恶性潜能肿瘤、胰腺癌、副蛋白血症、紫癜、甲状旁腺癌、阴茎癌、嗜铬细胞瘤、垂体瘤、浆细胞赘生物/多发性骨髓瘤、原发性中枢神经系统淋巴瘤、原发性肝癌、前列腺癌、直肠癌、肾细胞癌、肾盂和输尿管癌、视网膜母细胞瘤、横纹肌肉瘤、涎腺癌、结节病肉瘤、塞扎里

综合征、皮肤癌、小细胞肺癌、小肠癌、软组织肉瘤、鳞状颈癌、胃癌、幕上原始神经外胚层和松果体肿瘤、T细胞淋巴瘤、睾丸癌、胸腺瘤、甲状腺癌、肾盂和输尿管移行细胞癌、肾盂和输尿管移行癌、滋养细胞瘤、输尿管和肾盂细胞癌、尿道癌、子宫癌、子宫肉瘤、阴道癌、视觉通路和下丘脑神经胶质瘤、外阴癌、沃尔登斯特伦巨球蛋白血症、肾母细胞瘤以及位于上文所列器官系统中的除瘤形成以外的任何其他过度增生性疾病。

[1464] 在其他实施方案中,如上所述和本文所述的多特异性分子用于治疗过度增殖性病症,例如过度增殖性结缔组织病症(例如过度增殖性纤维化疾病)。在一个实施方案中,过度增殖性纤维化疾病是多系统的或器官特异性的。示例性的过度增生性纤维化疾病包括但不限于多系统性病症(例如系统性硬化病、多灶性纤维硬化、骨髓移植受者中的硬皮病移植物抗宿主病、肾源性系统性纤维化、硬皮病)和器官特异性病症(例如眼、肺、肝脏、心脏、肾脏、胰腺、皮肤和其他器官的纤维化)。在其他实施方案中,病症选自肝硬化或结核病。在其他实施方案中,病症是麻风病。

[1465] 在实施方案中,以适合于待治疗或预防的疾病的方式施用多特异性分子(或药物组合物)。施用的量和频率取决于患者的病情、患者疾病的类型和严重性等因素。适当的剂量可以通过临床试验确定。例如,当指示"有效量"或"治疗量"时,医师可以通过考虑肿瘤大小的个体差异、感染或转移的程度、受试者的年龄、体重和状况来确定要施用的药物组合物(或多特异性分子)的精确量。在实施方案中,本文描述的药物组合物可以以10^4至10^9个细胞/kg体重的剂量施用,例如10^5至10^6个细胞/kg体重,包括在这些范围内的所有整数值。在实施方案中,本文所述的药物组合物可以以这些剂量多次施用。在实施方案中,本文所述的药物组合物可以使用在免疫疗法中所述的输注技术来施用(参见例如Rosenberg等人,New Eng.J.of Med.319:1676,1988)。

[1466] 在实施方案中,癌症是骨髓增生性赘生物,例如原发性或特发性骨髓纤维化(ML)、原发性血小板增多症(ET)、真性红细胞增多症(PV)或慢性髓细胞性白血病(CML)。在实施方案中,癌症是骨髓纤维化。在实施方案中,受试者患有骨髓纤维化。在实施方案中,受试者具有钙网蛋白突变,例如本文公开的钙网蛋白突变。在实施方案中,受试者不具有JAK2-V617L突变。在实施方案中,受试者具有JAK2-V617L突变。在实施方案中,受试者具有MPL突变。在实施方案中,受试者不具有MPL突变。

[1467] 在实施方案中,癌症是实体癌。示例性的实体癌包括但不限于卵巢癌、直肠癌、胃癌、睾丸癌、肛门区域癌、子宫癌、结肠癌、直肠癌、肾细胞癌、肝癌、非小细胞癌肺癌、小肠癌、食管癌、黑素瘤、卡波济氏肉瘤、内分泌系统癌、甲状腺癌、甲状旁腺癌、肾上腺癌、骨癌、胰腺癌、皮肤癌、头或颈癌、皮肤或眼内恶性黑素瘤、子宫癌、脑干神经胶质瘤、垂体腺瘤、表皮样癌、子宫颈鳞状细胞癌、输卵管癌、子宫内膜癌、阴道癌、软组织肉瘤、尿道癌、外阴癌、阴茎癌、膀胱癌、肾癌或输尿管癌、肾盂癌、脊柱轴肿瘤、中枢神经系统(CNS)赘生物、原发性中枢神经系统淋巴瘤、肿瘤血管生成、所述癌症的转移性病变,或其组合。

[1468] 在实施方案中,将多特异性分子或药物组合物肠胃外施用于受试者。在实施方案中,将细胞经静脉内、皮下、肿瘤内、结节内、肌内、皮内或腹膜内施用给受试者。在一些实施方案中,将细胞直接施用(例如注射)到肿瘤或淋巴结中。在实施方案中,细胞以输注(例如,如Rosenberg等人,New Eng.J.of Med.319:1676,1988)或静脉推注的形式施用。在实施方案中,细胞以以可注射的储库型长效制剂形式施用。

[1469] 在实施方案中,受试者是哺乳动物。在实施方案中,受试者是人、猴、猪、狗、猫、牛、绵羊、山羊、兔、大鼠或小鼠。在实施方案中,受试者是人。在实施方案中,所述受试者是儿科受试者,例如小于18岁,例如小于17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2、1岁或更小的年龄。在实施方案中,受试者是成年人,例如,至少18岁,例如,至少19、20、21、22、23、24、25、25-30、30-35、35-40、40-50、50-60、60-70、70-80或80-90岁。

[1470] 联合疗法

[1471] 本文公开的多特异性或多功能分子可以与第二治疗剂或程序结合使用。

[1472] 在实施方案中,在受试者被诊断出患有癌症之后,例如在从受试者消除癌症之前,施用/执行多特异性或多功能分子和第二治疗剂或程序。在实施方案中,同时或并行施用/执行多特异性或多功能分子和第二治疗剂或程序。例如,当开始第二治疗的递送时仍在进行一种治疗的递送,例如,在治疗的施用上存在重叠。在其他实施方案中,顺序地施用/执行多特异性或多功能分子和第二治疗剂或程序。例如,一种治疗的递送在另一治疗的递送开始之前停止。

[1473] 在实施方案中,联合疗法可以比单独使用任一药剂的单一疗法产生更有效的治疗。在实施方案中,第一治疗和第二治疗的联合比单独的第一治疗或第二治疗更有效(例如,导致症状和/或癌细胞的更大减少)。

[1474] 在实施方案中,与作为单一疗法施用时通常达到相似效果所需的第一或第二治疗剂量相比,联合疗法允许使用更低剂量的第一治疗或第二治疗。在实施方案中,联合疗法具有部分加和作用、完全加和作用或大于加和作用。

[1475] 在一个实施方案中,将多特异性或多功能分子与疗法例如癌症疗法(例如,抗癌剂、免疫疗法、光动力疗法(PDT)、手术和/或辐射中的一种或多种)联合施用。术语“化学疗法”、“化疗剂”和“抗癌剂”在本文中可互换使用。多特异性或多功能分子和治疗例如癌症治疗的施用可以顺序(有或没有重叠)或同时进行。多特异性或多功能分子的施用在治疗(例如癌症治疗)过程中可以是连续或间歇的。本文所述的某些疗法可用于治疗癌症和非癌性疾病。例如,使用本文所述的方法和组合物,可以在癌性和非癌性病况(例如,结核病)中提高PDT的功效(例如,在Agostinis,P.等人,(2011)CA Cancer J.Clin.61:250-281中综述)。

[1476] 抗癌疗法

[1477] 在其他实施方案中,多特异性或多功能分子与低分子量或小分子量化疗剂联合施用。示例性的低分子量或小分子量化疗剂包括但不限于:13-顺式-维A酸(异维A酸,ACCUTANE®)、2-CdA(2-氯脱氧腺苷,克拉屈滨,LEUSTATIN™)、5-阿扎胞苷(阿扎胞苷,VIDAZA®)、5-氟尿嘧啶(5-FU,氟尿嘧啶,ADRUCIL®)、6-巯嘌呤(6-MP,巯嘌呤,PURINETHOL®)、6-TG(6-硫鸟嘌呤,硫鸟嘌呤,THIOGUANINE TABLOID®)、abraxane(紫杉醇蛋白结合型)、放线菌素D(放线菌素,COSMEGEN®)、阿利维A酸(PANRETIN®)、全反式维A酸(ATRA,维A酸,VESANOID®)、六甲蜜胺(六甲基三聚氰胺,HMM,HEXALEN®)、氨甲蝶呤(甲氨蝶呤,甲氨蝶呤钠,MTX,TREXALL™,RHEUMATREX®)、氨磷汀(ETHYOL®)、阿糖胞嘧啶(Ara-C,阿糖胞苷,CYTOSAR-U®)、三氧化二砷(TRISENOX®)、天冬酰胺酶(欧文氏菌L-天冬酰

胺酶,L-天冬酰胺酶,ELSPAR®, KIDROLASE®)、BCNU(卡莫司汀,BiCNU®)、苯达莫司汀(TREANDA®)、贝沙罗汀(TARGRETIN®)、博来霉素(BLENOXANE®)、白消安(BUSMLFEX®, MYLERAN®)、甲基四氢叶酸钙(嗜橙菌因子,亚叶酸,甲基四氢叶酸)、喜树碱-11(CPT-11,伊立替康,CAMPTOSAR®)、卡培他滨(XELODA®)、卡铂(PARAPLATIN®)、卡莫司汀胶囊(带有卡莫司汀植入物的prolifeprospan 20,GLIADEL®胶囊)、CCI-779(坦罗莫司,TORISEL®)、CCNU(洛莫司汀,CeeNU)、CDDP(顺铂,PLATINOL®,PLATINOL-AQ®)、苯丁酸氮芥(留可然)、环磷酰胺(CYTOXAN®,NEOSAR®)、达卡巴嗪(DIC,DTIC,咪唑羧酰胺,DTIC-DOME®)、道诺霉素(柔红霉素,盐酸柔红霉素,盐酸红比霉素,CERUBIDINE®)、地西他滨(DACOGEN®)、右雷佐生(ZINECARD®)、DHAD(米托蒽醌,NOVANTRONE®)、多西紫杉醇(TAXOTERE®)、多柔比星(ADRIAMYCIN®, RUBEX®)、表柔比星(ELLENCE™)、雌莫司汀(EMCYT®)、依托泊苷(VP-16,依托泊苷磷酸盐,TOPOSAR®,VEPESID®, ETOPOPHOS®)、氟尿苷(FUDR®)、氟达拉滨(FLUDARA®)、氟尿嘧啶(奶油)(CARAC™,EFUDEX®,FLUOROPLEX®)、吉西他滨(GEMZAR®)、羟基脲(HYDREA®,DROXIA™,MYLOCEL™)、伊达比星(IDAMYCIN®)、异环磷酰胺(IFEX®)、伊沙匹隆(IXEMPRA™)、LCR(醛基长春碱,长春新碱,VCR,ONCOVIN®, VINCASARPFS®)、L-PAM(L-溶肉瘤素,美法仑,苯丙氨酸氮芥,ALKERAN®)、二氯甲基二乙胺(盐酸二氯甲基二乙胺,氮芥,氮芥子气,MUSTARGEN®)、美司钠(MESNEX™)、丝裂霉素(丝裂霉素-C,MTC,MUTAMYCIN®)、奈拉滨(ARRANON®)、奥沙利铂(ELOXATIN™)、紫杉醇(TAXOL®,ONXAL™)、培门冬酶(PEG-L-天冬酰胺酶,ONCOSPAR®)、PEMETREXED(ALIMTA®)、喷司他丁(NIPENT®)、丙卡巴肼(MATMLANE®)、链脲菌素(ZANOSAR®)、替莫唑胺(TEMODAR®)、替尼泊苷(VM-26,VUMON®)、TESPA(硫代磷酰胺,塞替派,TSPA,THIOPLEX®)、托泊替康(HYCAMTIN®)、长春碱(硫酸长春碱,长春花碱,VLB,ALKABAN-AQ®,VELBAN®)、长春瑞滨(酒石酸长春瑞滨,NAVELBINE®)和伏立诺他(ZOLINZA®)

[1478] 在另一个实施方案中,多特异性或多功能分子与生物制剂联合施用。可用于治疗癌症的生物制剂是本领域已知的,并且本发明的结合分子可以例如与此类已知的生物制剂联合施用。例如,FDA已批准以下用于治疗乳腺癌的生物制剂:HERCEPTIN®(曲妥珠单抗,Genentech Inc.,South San Francisco,Calif.;在HER2阳性乳腺癌中具有抗肿瘤活性的人源化单克隆抗体);FASLODEX®(氟维司群,AstraZeneca Pharmaceuticals,

LP,Wilmington,Del.;用于治疗乳腺癌的雌激素受体拮抗剂);ARIMIDEX®(阿那曲唑,AstraZeneca Pharmaceuticals,LP;可阻断制造雌激素所需的芳香酶的非甾体芳香酶抑制剂);Aromasin®(依西美坦,Pfizer Inc.,New York,N.Y.;用于治疗乳腺癌的不可逆的甾族芳香酶灭活剂);FEMARA®(来曲唑,Novartis Pharmaceuticals,East Hanover,N.J.;FDA批准用于治疗乳腺癌的非甾体芳香酶抑制剂);和NOLVADEX®(他莫昔芬,AstraZeneca Pharmaceuticals,LP;FDA批准用于治疗乳腺癌的非甾体抗雌激素药)。可以与本发明的结合分子联合的其他生物制剂包括:AVASTIN®(贝伐单抗,Genentech Inc.;第一种经FDA批准的旨在抑制血管生成的疗法);和ZEVALIN®(替伊莫单抗,Biogen Idee,Biogen Idec,Cambridge,Mass.;目前批准用于治疗B细胞淋巴瘤的放射性标记的单克隆抗体)。

[1479] 此外,FDA已批准以下用于治疗结直肠癌的生物制剂:AVASTIN®;ERBITUX®(西妥昔单抗,ImClone Systems Inc.,New York,N.Y.和Bristol-Myers Squibb,New York,N.Y.;是针对表皮生长因子受体(EGFR)的单克隆抗体);GLEEVEC®(甲磺酸伊马替尼;一种蛋白激酶抑制剂);和ERGAMISOL®(盐酸左旋咪唑,Janssen Pharmaceutica Products,LP,Titusville,N.J.;一种免疫调节剂,1990年被FDA批准在Dukes C期结肠癌患者手术切除后,与5-氟尿嘧啶联合用作辅助治疗)。

[1480] 对于肺癌的治疗,示例性的生物制剂包括TARCEVA®(盐酸厄洛替尼,OSIPharmaceuticals Inc.,Melville,N.Y.;设计为靶向人表皮生长因子受体1(HER1)途径的小分子)。

[1481] 对于多发性骨髓瘤的治疗,示例性的生物制剂包括VELCADE®万珂(硼替佐米,Millennium Pharmaceuticals,Cambridge Mass.;一种蛋白酶体抑制剂)。其他生物制剂包括THALIDOMID®(沙利度胺,Clegene Corporation,Warren,N.J.;一种免疫调节剂,似乎具有多种作用,包括抑制骨髓瘤细胞的生长和存活以及抗血管生成的能力)。

[1482] 另外的示例性癌症治疗性抗体包括但不限于3F8,阿巴伏单抗(abagovomab)、阿德木单抗(adecatumumab)、阿夫土珠单抗(afutuzumab)、培化阿珠单抗(alacizumab pegol)、阿仑珠单抗(alemtuzumab)(CAMPATH®, MABCAMPATH®)、喷替酸阿妥莫单抗(altumomab pentetate)(HYBRI-CEAKER®)、马安莫单抗(anatumomab mafenatox)、安芦珠单抗(anrukinzumab)(IMA-638)、阿泊珠单抗(apolizumab)、阿西莫单抗(arcitumomab)(CEA-SCAN®)、巴维昔单抗(bavituximab)、贝妥莫单抗(bectumomab)(LYMPHOSCAN®)、贝利木单抗(belimumab)(BENLYSTA®、LYMPHOSTAT-B®)、贝索单抗(besilesomab)(SCINTIMUN®)、贝伐珠单抗(bevacizumab)(AVASTIN®)、比伐单抗美登素(bivatuzumab mertansine)、兰妥莫单抗(blinatumomab)、布仁妥昔单抗维度丁(brentuximab vedotin)、莫坎妥珠单抗美登素(cantuzumab mertansine)、卡罗单抗喷地肽(capromab pendetide)(PROSTASCINT®)、卡妥索单抗(catumaxomab)(REMOVAB®)、CC49、西妥昔

单抗(cetuximab)(C225,ERBITUX®)、泊西他珠单抗(citatuzumabbogatox)、西妥木单抗(cixutumumab)、泰坦-克利妥珠单抗(clivatuzumab tetraxetan)、可那木单抗、达西珠单抗(dacetuzumab)、地舒单抗(denosumab)(PROLIA®)、地莫单抗(detumomab)、依美昔单抗(ecromeximab)、依屈洛单抗(edrecolomab)(PANOREX®)、依洛珠单抗(elotuzumab)、西依匹莫单抗(epitumomab cituxetan)、依帕珠单抗(epratuzumab)、厄马索单抗(ertumaxomab)(REXOMUN®)、埃达珠单抗(etaracizumab)、法利珠单抗(farletuzumab)、芬妥木单抗(figitumumab)、夫苏木单抗(fresolimumab)、加利昔单抗(galiximab)、吉姆单抗奥佐米星(gemtuzumab ozogamicin)(MYLOTARG®)、吉瑞昔单抗(girentuximab)、glembatumumab vedotin、伊莫单抗(ibritumomab)(替伊莫单抗(ibritumomab tiuxetan),ZEVALIN®)、伊戈伏单抗(igovomab)(INDIMACIS-125®)、英妥木单抗(intetumumab)、伊珠单抗奥加米星(inotuzumab ozogamicin)、伊匹木单抗(ipilimumab)、伊妥木单抗(iratumumab)、拉贝珠单抗(labetuzumab)(CEA-CIDE®)、来沙木单抗(lexatumumab)、林妥珠单抗(lintuzumab)、鲁卡木单抗(lucatumumab)、鲁昔单抗(lumiliximab)、马帕木单抗(mapatumumab)、马妥珠单抗(matuzumab)、米拉珠单抗(milatuzumab)、明瑞莫单抗(minretumomab)、米妥莫单抗(mitumomab)、他那可单抗(nacolomab tafenatox)、他那莫单抗(naptumomab estafenatox)、奈昔木单抗(necitumumab)、尼妥珠单抗(nimotuzumab)(THERACIM®,THERALOC®)、巯诺莫单抗(nofetumomab merpentan)(VERLUMA®)、奥法木单抗(ofatumumab)(ARZERRA®)、奥拉单抗(olaratumab)、莫奥珠单抗(oportuzumab monatox)、奥戈伏单抗(oregovomab)(OVAREX®)、帕木单抗(panitumumab)(VECTIBIX®)、培妥莫单抗(pemtumomab)(THERAGYN®)、培妥珠单抗(pertuzumab)(OMNITARG®)、平妥莫单抗(pintumomab)、普立木单抗(pritumumab)、雷莫芦单抗(ramucirumab)、雷珠单抗(ranibizumab)(LUCENTIS®)、利妥木单抗(rilotumumab)、利妥昔单抗(rituximab)(MABTHERA®,RITUXAN®)、罗妥木单抗(robatumumab)、沙妥莫单抗喷地肽(satumomab pendetide)、西罗珠单抗(sibrotuzumab)、司妥昔单抗(siltuximab)、松妥珠单抗(sontuzumab)、他珠单抗(tacatuzumab tetraxetan)(AFP-CIDE®)、帕他莫单抗(taplitumomab paptox)、替妥莫单抗(tenatumomab)、TGN1412、替昔木单抗(Ticilimumab)(曲美木单抗(tremelimumab))、替加珠单抗、TNX-650、托西莫单抗(tositumomab)(BEXXAR®)、曲妥珠单抗(trastuzumab)(HERCEPTIN®)、曲美木单抗、西莫白介素单抗(tucotuzumab celmoleukin)、维妥珠单抗(veltuzumab)、伏洛昔单抗(volociximab)、伏妥木单抗(votumumab)(HUMASPECT®)、扎芦木单抗(zalutumumab)(HUMAX-EGFR®)和扎木单抗(zanolimumab)(HUMAX-CD4®)。

[1483] 在其他实施方案中,多特异性或多功能分子与病毒癌症治疗剂联合施用。示例性的病毒癌症治疗剂包括但不限于牛痘病毒(vvDD-CDSR)、表达癌胚抗原的麻疹病毒、重组牛痘病毒(TK-缺失加GM-CSF)、塞内卡谷病毒001、新城病毒、柯萨奇A21病毒、GL-ONC1、表达

EBNA1 C末端/LMP2嵌合蛋白的重组修饰痘苗安卡拉疫苗、表达癌胚抗原的麻疹病毒、G207溶瘤病毒、表达p53的修饰痘苗病毒安卡拉疫苗、OncoVEX GM-CSF修饰的单纯疱疹1病毒、鸡痘病毒疫苗载体、重组牛痘前列腺特异性抗原疫苗、人乳头瘤病毒16/18L1病毒样颗粒/AS04疫苗、MVA-EBNA1/LMP2注射液疫苗、四价HPV疫苗、四价人乳头瘤病毒(6、11、16、18型)重组疫苗(GARDASIL®)、重组鸡痘-CEA(6D)/TRICOM疫苗、重组牛痘-CEA(6D)-TRICOM疫苗、重组修饰牛痘安卡拉-5T4疫苗、重组鸡痘-TRICOM疫苗、溶瘤性疱疹病毒NV1020、HPV L VLP疫苗V504、人乳头瘤病毒二价(16和18型)疫苗(CERVARIX®)、单纯疱疹病毒HF10、Ad5CMV-p53基因、重组牛痘DF3/MUC1疫苗、重组牛痘-MUC-1疫苗、重组牛痘-TRICOM疫苗、ALVAC MART-1疫苗、表达人前脑啡肽原(NP2)的复制缺陷型单纯疱疹病毒I型(HSV-1)载体、野生型呼肠孤病毒、呼肠孤病毒3Dearing(REOLYSIN®)、溶瘤病毒HSV1716、基于重组修饰牛痘安卡拉(MVA)的编码爱泼斯坦-巴尔病毒靶抗原的疫苗、重组鸡痘-前列腺特异性疫苗抗原疫苗、重组牛痘前列腺特异性抗原疫苗、重组牛痘B7.1疫苗、rAd-p53基因、Ad5-δ24RGD、HPV疫苗580299、JX-594(胸苷激酶缺失的牛痘病毒加GM-CSF)、HPV-16/18L1/AS04、鸡痘病毒疫苗载体、牛痘酪氨酸酶疫苗、MEDI-517HPV-16/18VLP AS04疫苗、含有单纯疱疹病毒的胸苷激酶的腺病毒载体TK99UN、HspE7、FP253/氟达拉滨、ALVAC(2)黑色素瘤多抗原治疗疫苗、ALVAC-hB7.1、金丝雀痘-hIL-12黑色素瘤疫苗、Ad-REIC/Dkk-3、rAd-IFN SCH 721015、TIL-Ad-INFg、Ad-ISF35和柯萨奇病毒A21(CVA21,CAVATAK®)。

[1484] 在其他实施方案中,多特异性或多功能分子与纳米药物联合施用。示例性的癌症纳米药物包括但不限于ABRAXANE®(紫杉醇结合的白蛋白纳米颗粒)、CRLX101(CPT与线性环糊精基聚合物缀合)、CRLX288(将多西紫杉醇与可生物降解的聚合物聚(乳酸-共-乙醇酸)缀合)、阿糖胞苷脂质体(脂质体Ara-C,DEPOCYT™)、柔红霉素脂质体(DAUNOXOME®)、多柔比星脂质体(DOXIL®,CAELYX®)、胶囊化的柔红霉素柠檬酸脂质体(DAUNOXOME®)和PEG抗VEGF适体。

[1485] 在一些实施方案中,多特异性或多功能分子与紫杉醇或紫杉醇制剂,例如TAXOL®,结合蛋白质的紫杉醇(例如ABRAXANE®))联合施用。示例性的紫杉醇制剂包括但不限于结合纳米颗粒白蛋白的紫杉醇(由Abraxis Bioscience销售的ABRAXANE®)、二十二碳六烯酸结合的紫杉醇(DHA-紫杉醇,Taxoprexin,由Protarga销售)、聚谷氨酸结合的紫杉醇(PG-紫杉醇,聚谷紫杉醇,CT-2103,XYOTAX,由Cell Therapeutic销售)、肿瘤激活的前药(TAP)、ANG105(与紫杉醇的三个分子结合的Angiopep-2,由ImmunoGen销售)、紫杉醇-EC-1(与识别erbB 2的肽EC-1结合的紫杉醇;参见Li等人,Biopolymers(2007)87:225-230)和葡萄糖缀合的紫杉醇(例如2'-紫杉醇甲基2-葡萄糖吡喃葡萄糖基琥珀酸酯,参见Liu等人,Bioorganic&Medicinal Chemistry Letters(2007)17:617-620)。

[1486] 用于治疗癌症的示例性的RNAi和反义RNA试剂包括但不限于CALAA-01、siG12D LODER(Local Drug EluteR)和ALN-VSP02。

[1487] 其他癌症治疗剂包括但不限于细胞因子(例如,阿地白介素(IL-2,白介素-2,PROLEUKIN®)、α干扰素(IFN-α,干扰素α,INTRON® A(干扰素α-2b)、

ROFERON-A®(干扰素α-2a))、依泊汀α(PROCRIT®)、非格司亭(G-CSF,粒细胞-集落刺激因子,NEUPOGEN®)、GM-CSF(粒细胞巨噬细胞集落刺激因子,沙格司亭,LEUKINE™)、IL-11(白介素-11,奥普瑞白介素,NEUMEGA®)、干扰素α-2b(PEG缀合物)(PEG干扰素,PEG-INTRON™)和培非司亭(NEMLASTA™))、激素治疗剂(例如,氨鲁米特(CYTADREN®)、阿那曲唑(ARIMIDEX®)、比卡鲁胺(CASODEX®)、依西美坦(AROMASIN®)、氟甲睾酮(HALOTESTIN®)、氟他胺(EMLEXIN®)、氟维司群(FASLODEX®)、戈舍瑞林(ZOLADEX®)、来曲唑(FEMARA®)、亮丙瑞林(ELIGARD™,LUPRON®,LUPRONDEPOT®,VIADUR™)、甲地孕酮(醋酸甲地孕酮,MEGACE®)、尼鲁米特(ANANDRON®,NILANDRON®)、奥曲肽(醋酸奥曲肽,SANDOSTATIN®,SANDOSTATIN LAR®)、雷洛昔芬(EVISTA®)、罗米司亭(NPLATE®)、他莫昔芬(NOVALDEX®)和托瑞米芬(FARESTON®))、磷脂酶A2抑制剂(例如阿那格雷(AGRYLIN®))、生物应答调节剂(例如BCG(THERACYS®,TICE®)和达贝汀α(ARANESP®))、靶向治疗剂(例如硼替佐米(VELCADE®)、达沙替尼(SPRYCEL™)、地尼白介素(ONTAK®)、厄洛替尼(TARCEVA®)、依维莫司(AFINITOR®)、吉非替尼(IRESSA®)、甲磺酸伊马替尼(STI-571,GLEEVEC™)、拉帕替尼(TYKERB®)、索拉非尼(NEXAVAR®)和SU11248(舒尼替尼,SUTENT®))、免疫调制和抗血管生成剂(例如CC-5013(来那度胺,REVLIMID®)和沙利度胺(THALOMID®))、糖皮质激素(例如可的松(氢化可的松,氢化可的松磷酸钠、氢化可的松琥珀酸钠,ALA-CORT®,HYDROCORT ACETATE®,氢化可的松磷酸LANACORT®,SOLU-CORTEF®)、地卡特隆(地塞米松,醋酸地塞米松,磷酸地塞米松,DEXASONE®,DIODEX®,HEXADROL®,MAXIDEX®)、甲泼尼龙(6-甲基泼尼松龙,醋酸甲泼尼龙,甲泼尼龙琥珀酸钠,DURALONE®,MEDRALONE®,MEDROL®,M-PREDNISOL®,SOLU-MEDROL®)、泼尼松龙(DELTA-CORTEF®,ORAPRED®,PEDIAPRED®,PRELONE®)和泼尼松(DELTASONE®,LIQUID PRED®,METICORTEN®,ORASONE®))和双膦酸盐(例如帕米膦酸二钠(AREDIA®)和唑来膦酸(ZOMETA®))。

[1488] 在一些实施方案中,多特异性或多功能分子与酪氨酸激酶抑制剂(例如受体酪氨酸激酶(RTK)抑制剂)联合使用。示例性的酪氨酸激酶抑制剂包括但不限于表皮生长因子(EGF)途径抑制剂(例如表皮生长因子受体(EGFR)抑制剂),血管内皮生长因子(VEGF)途径抑制剂(例如针对VEGF的抗体、VEGF阱、血管内皮生长因子受体(VEGFR)抑制剂(例如VEGFR-

1抑制剂、VEGFR-2抑制剂、VEGFR-3抑制剂)),血小板衍生的生长因子(PDGF)途径抑制剂(例如,血小板衍生的生长因子受体(PDGFR)抑制剂(例如,PDGFR-β抑制剂)),RAF-1抑制剂,KIT抑制剂和RET抑制剂。在一些实施方案中,与AHCM试剂联合使用的抗癌剂选自:阿昔替尼(AG013736)、波舒替尼(SKI-606)、西地尼布(RECENTINTM,AZD2171)、达沙替尼(SPRYCEL®,BMS-354825)、厄洛替尼(TARCEVA®)、吉非替尼(IRESSA®)、伊马替尼(Gleevec®、CGP57148B,STI-571)、拉帕替尼(TYKERB®,TYVERB®)、来妥替尼(CEP-701)、奈拉替尼(HKI-272)、尼洛替尼(TASIGNA®)、司马尼布(司马沙尼(semaxinib),SU5416)、舒尼替尼(SUTENT®,SU11248)、托西尼布(PALLADIA®)、凡他尼布(ZACTIMA®,ZD6474)、伐拉尼布(PTK787,PTK/ZK)、曲妥珠单抗(HERCEPTIN®)、贝伐珠单抗(AVASTIN®)、利妥昔单抗(RITUXAN®)、西妥昔单抗(ERBITUX®)、帕木单抗(VECTIBIX®)、雷珠单抗(Lucentis®)、尼洛替尼(TASIGNA®)、索拉非尼(NEXAVAR®)、阿仑珠单抗(CAMPATH®)、吉姆单抗奥佐米星(MYLOTARG®)、ENMD-2076、PCI-32765、AC220、度维替尼(TKI258,CHIR-258)、BIBW 2992(TOVOKTM)、SGX523、PF-04217903、PF-02341066、PF-299804、BMS-777607、ABT-869、MP470、BIBF 1120(VARGATEF®)、AP24534、JNJ-26483327、MGCD265、DCC-2036、BMS-690154、CEP-11981、替沃扎尼(tivozanib)(AV-951)、OSI-930、MM-121、XL-184、XL-647、XL228、AEE788、AG-490、AST-6、BMS-599626、CUDC-101、PD153035、培利替尼(EKB-569)、凡他尼布(凡德他尼(zactima))、WZ3146、WZ4002、WZ8040、ABT-869(利尼伐尼(linifanib))、AEE788、AP24534(泊那替尼)、AV-951(替沃扎尼(tivozanib))、阿昔替尼、BAY 73-4506(瑞戈非尼)、丙氨酸布立尼布(BMS-582664)、布立尼布(brivanib)(BMS-540215)、西地尼布(AZD2171)、CHIR-258(度维替尼)、CP 673451、CYC116、E7080、Ki8751、马赛替尼(AB1010)、MGCD-265、二磷酸莫替沙尼(motesanib diphosphate)(AMG-706)、MP-470、OSI-930、盐酸帕唑帕尼、PD173074、甲苯磺酸索拉非尼(Bay 43-9006)、SU 5402、TSU-68(SU6668)、伐拉尼布、XL880(GSK1363089,EXEL-2880)。选定的酪氨酸激酶抑制剂选自舒尼替尼、厄洛替尼、吉非替尼或索拉非尼。在一个实施方案中,酪氨酸激酶抑制剂是舒尼替尼。

[1489] 在一个实施方案中,多特异性或多功能分子与抗血管生成剂,或血管靶向剂或血管破坏剂中的一种或多种联合施用。示例性的抗血管生成剂包括但不限于VEGF抑制剂(例如,抗VEGF抗体(例如贝伐珠单抗);VEGF受体抑制剂(例如伊曲康唑);细胞增殖素和/或内皮细胞迁移的抑制剂(例如,羧酰胺基三唑,TNP-470);血管生成刺激剂的抑制剂(例如,舒拉明)等。血管靶向剂(VTA)或血管破坏剂(VDA)被设计成损害癌症肿瘤的脉管系统(血管),引起中心性坏死(在例如Thorpe,P.E.(2004)Clin.Cancer Res.第10卷:415-427中概述)。VTA可以是小分子。示例性的小分子VTA包括但不限于微管失稳药物(例如康普瑞汀A-4磷酸二钠(CA4P)、ZD6126、AVE8062、Oxi 4503);和伐地美生(ASA404)

[1490] 免疫检查点抑制剂

[1491] 在其他实施方案中,本文所述的方法包括免疫检查点抑制剂与多特异性或多功能

分子联合使用。该方法可用于体内治疗方案。

[1492] 在实施方案中,免疫检查点抑制剂抑制检查点分子。示例性的检查点分子包括但不限于CTLA4、PD1、PD-L1、PD-L2、TIM3、LAG3、CD160、2B4、CD80、CD86、B7-H3(CD276)、B7-H4(VTCN1)、HVEM(TNFRSF14或CD270)、BTLA、KIR、MHC I类、MHC II类、GAL9、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1和A2aR。参见,例如,Pardoll.Nat.Rev.Cancer 12.4(2012):252-64,通过引用并入本文。

[1493] 在实施方案中,免疫检查点抑制剂是PD-1抑制剂,例如,抗PD-1抗体,例如纳武利尤单抗(Nivolumab)、派姆单抗(Pembrolizumab)或匹地利珠单抗(Pidilizumab)。纳武利尤单抗(也称为MDX-1106、MDX-1106-04、ONO-4538或BMS-936558)是特异性抑制PD1的完全人IgG4单克隆抗体。参见,例如,US 8,008,449和WO2006/121168。派姆单抗(也称为帕博利珠单抗(Lambrolizumab)、MK-3475、MK03475、SCH-900475或KEYTRUDA®;Merck)是与PD-1结合的人源化IgG4单克隆抗体。参见,例如Hamid,O.等人,(2013)New England Journal of Medicine 369(2):134-44、US 8,354,509和WO2009/114335。匹地利珠单抗(也称为CT-011或Cure Tech)是与PD1结合的人源化IgG1k单克隆抗体。参见,例如,WO2009/101611。在一个实施方案中,PD-1的抑制剂是具有与纳武利尤单抗、派姆单抗或匹地利珠单抗的序列基本相同或相似的序列(例如,与其至少85%、90%、95%或更加相同的序列)的抗体分子。另外的抗PD1抗体,例如AMP 514(Amplimmune),在例如US 8,609,089、US2010028330和/或US20120114649中描述。

[1494] 在一些实施方案中,PD-1抑制剂是免疫粘附素,例如包含与恒定区(例如,免疫球蛋白的Fc区)融合的PD-1配体(例如PD-L1或PD-L2)的细胞外/PD-1结合部分的免疫粘附素。在实施方案中,PD-1抑制剂是AMP-224(B7-DCIg,例如,在WO2011/066342和WO2010/027827中所述),一种阻断B7-H1与PD-1之间的相互作用的PD-L2 Fc融合可溶性受体。

[1495] 在实施方案中,免疫检查点抑制剂是PD-L1抑制剂,例如,抗体分子。在一些实施方案中,PD-L1抑制剂是YW243.55.S70、MPDL3280A、MEDI-4736、MSB-0010718C或MDX-1105。在一些实施方案中,抗PD-L1抗体是MSB0010718C(也称为A09-246-2;Merck Serono),其是与PD-L1结合的单克隆抗体。例如在WO2013/079174中描述了示例性的人源化抗PD-L1抗体。在一个实施方案中,PD-L1抑制剂是抗PD-L1抗体,例如YW243.55.S70。YW243.55.S70抗体描述于例如WO 2010/077634中。在一个实施方案中,PD-L1抑制剂是MDX-1105(也称为BMS-936559),其描述于例如WO2007/005874中。在一个实施方案中,PD-L1抑制剂是MDPL3280A(Genentech/Roche),其是针对PD-L1的人Fc优化的IgG1单克隆抗体。参见例如美国专利号7,943,743和美国公开号20120039906。在一个实施方案中,PD-L1的抑制剂是具有与YW243.55.S70、MPDL3280A、MEDI-4736、MSB-0010718C或MDX-1105的序列基本相同或相似的序列(例如,与其至少85%、90%、95%或更加相同的序列)的抗体分子。

[1496] 在实施方案中,免疫检查点抑制剂是PD-L2抑制剂,例如AMP-224(其是阻断PD1和B7-H1之间相互作用的PD-L2 Fc融合可溶性受体)。参见例如WO2010/027827和WO2011/066342。

[1497] 在一个实施方案中,免疫检查点抑制剂是LAG-3抑制剂,例如,抗LAG-3抗体分子。在实施方案中,抗LAG-3抗体是BMS-986016(也称为BMS986016;Bristol-Myers Squibb)。BMS-986016和其他人源化抗LAG-3抗体描述于例如US2011/0150892、WO2010/019570和

WO2014/008218中。

[1498] 在实施方案中,免疫检查点抑制剂是TIM-3抑制剂,例如,抗TIM3抗体分子,例如描述于美国专利号8,552,156、WO 2011/155607、EP 2581113和美国公开号2014/044728中。

[1499] 在实施方案中,免疫检查点抑制剂是CTLA-4抑制剂,例如,抗CTLA-4抗体分子。示例性的抗CTLA4抗体包括曲美木单抗(来自辉瑞的IgG2单克隆抗体,以前称为提昔单抗(ticilimumab),CP-675,206);和伊匹木单抗(也称为MDX-010,CAS号477202-00-9)。其他示例性的抗CTLA-4抗体描述于例如美国专利号5,811,097中。

[1500] 本发明提供了包括但不限于以下实施方式:

[1501] 1.一种多功能分子,包括:

[1502] (i)第一抗原结合域,其与T细胞受体β链恒定域1(TRBC1)或T细胞受体β链恒定域2(TRBC2)结合,和

[1503] (ii)第二抗原结合域,其与NKp30结合。

[1504] 2.根据实施方式1所述的多功能分子,其中所述第一抗原结合域与TRBC1结合。

[1505] 3.根据实施方式2所述的多功能分子,其中所述第一抗原结合域包括表2-6和19的任一个中公开的一个或多个CDR、构架区、可变区或抗原结合域,或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列。

[1506] 4.根据实施方式2或3所述的多功能分子,其中所述第一抗原结合域包括VH,所述VH包括重链互补决定区1(VHCDR1)、VHCDR2和VHCDR3;以及VL,所述VL包括轻链互补决定区1(VLCDR1)、VLCDR2和VLCDR3,其中所述VHCDR1、VHCDR2和VHCDR3包括以下项的氨基酸序列:

[1507] 分别为SEQ ID NO:7346、7355和202;

[1508] 分别为SEQ ID NO:7346、201和202;

[1509] 分别为SEQ ID NO:7354、201和202;或

[1510] 分别为SEQ ID NO:7354、7355和202。

[1511] 5.根据实施方式4所述的多功能分子,其中所述VLCDR1、VLCDR2和VLCDR3包括以下项的氨基酸序列:

[1512] 分别为SEQ ID NO:223、224和225;

[1513] 分别为SEQ ID NO:7367、224和225;

[1514] 分别为SEQ ID NO:223、7368和225;

[1515] 分别为SEQ ID NO:223、224和7369;或

[1516] 分别为SEQ ID NO:7367、7368和7369。

[1517] 6.根据实施方式4或5所述的多功能分子,其中所述VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2和VLCDR3包括以下项的氨基酸序列:

[1518] 分别为SEQ ID NO:7346、7355、202、223、224和225;

[1519] 分别为SEQ ID NO:7346、201、202、223、224和225;

[1520] 分别为SEQ ID NO:7346、7355、202、7367、224和225;

[1521] 分别为SEQ ID NO:7346、7355、202、223、7368和225;

[1522] 分别为SEQ ID NO:7346、7355、202、223、224和7369;

[1523] 分别为SEQ ID NO:7346、7355、202、7367、7368和7369;

[1524] 分别为SEQ ID NO:7346、201、202、7367、224和225;

[1525] 分别为SEQ ID NO:7346、201、202、223、7368和225;

[1526] 分别为SEQ ID NO:7346、201、202、223、224和7369;

[1527] 分别为SEQ ID NO:7346、201、202、7367、7368和7369;

[1528] 分别为SEQ ID NO:7354、201、202、223、224和225;

[1529] 分别为SEQ ID NO:7354、201、202、7367、224和225;

[1530] 分别为SEQ ID NO:7354、201、202、223、7368和225;

[1531] 分别为SEQ ID NO:7354、201、202、223、224和7369;

[1532] 分别为SEQ ID NO:7354、201、202、7367、7368和7369;

[1533] 分别为SEQ ID NO:7354、7355、202、223、224和225;

[1534] 分别为SEQ ID NO:7354、7355、202、7367、224和225;

[1535] 分别为SEQ ID NO:7354、7355、202、223、7368和225;

[1536] 分别为SEQ ID NO:7354、7355、202、223、224和7369;或

[1537] 分别为SEQ ID NO:7354、7355、202、7367、7368和7369。

[1538] 7.根据实施方式4-6中任一项所述的多功能分子,其中所述VH包括选自SEQ ID NO:7351、253、250-252、254、7343、7344、7350和7352的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)并且/或者所述VL包括选自SEQ ID NO:258、255-257、259、260和7357-7360的氨基酸序列(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。

[1539] 8.根据实施方式4-7中任一项所述的多功能分子,其中所述VH和VL包括以下项的氨基酸序列:

[1540] 分别为SEQ ID NO:7351和258(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列);或

[1541] 分别为SEQ ID NO:253和258(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。

[1542] 9.根据实施方式2-8中任一项所述的多功能分子,其中:

[1543] (i)所述第一抗原结合域对包括TRBC1的T细胞受体的亲和力高于不包括TRBC1的T细胞受体,任选地其中所述第一抗原结合域与TRBC1之间结合的K_D不超过所述第一抗原结合域与不包括TRBC1的T细胞受体之间结合的K_D的40%、30%、20%、10%、1%、0.1%或0.01%;

[1544] (ii)所述第一抗原结合域对包括TRBC1的T细胞受体的亲和力高于包括TRBC2的T细胞受体,任选地其中所述第一抗原结合域与TRBC1之间的结合的K_D不超过所述第一抗原结合域与包括TRBC2的T细胞受体之间结合的K_D的40%、30%、20%、10%、1%、0.1%或0.01%;

[1545] (iii)所述第一抗原结合域与淋巴瘤细胞或淋巴细胞例如T细胞上的TRBC1的结合未明显激活所述淋巴瘤细胞或淋巴细胞例如T细胞(例如,如通过T细胞增殖、T细胞激活标志物(例如,CD69或CD25)的表达和/或细胞因子(例如TNFα和IFNγ)的表达所测量)。

[1546] 10.根据实施方式1所述的多功能分子,其中所述第一抗原结合域与TRBC2结合。

[1547] 11.根据实施方式10所述的多功能分子,其中:

[1548] (i)所述第一抗原结合域对包括TRBC2的T细胞受体的亲和力高于不包括TRBC2的T细胞受体,任选地其中所述第一抗原结合域与TRBC2之间结合的K_D不超过所述第一抗原结

合域与不包括TRBC2的T细胞受体之间结合的K_D的40％、30％、20％、10％、1％、0.1％或0.01％；

[1549] (ii)所述第一抗原结合域对包括TRBC2的T细胞受体的亲和力高于对包括TRBC1的T细胞受体的亲和力,任选地其中所述第一抗原结合域与TRBC2之间结合的K_D不超过所述第一抗原结合域与包括TRBC1的T细胞受体之间结合的K_D的40％、30％、20％、10％、1％、0.1％或0.01％;或

[1550] (iii)所述第一抗原结合域与淋巴瘤细胞或淋巴细胞例如T细胞上的TRBC2的结合未明显激活所述淋巴瘤细胞或淋巴细胞例如T细胞(例如,如通过T细胞增殖、T细胞激活标志物(例如,CD69或CD25)的表达和/或细胞因子(例如TNFα和IFNγ)的表达所测量)。

[1551] 12.根据实施方式1-11中任一项所述的多功能分子,其中所述第二抗原结合域包括表7-10、18和19的任一个中公开的一个或多个CDR、构架区、可变区或抗原结合域,或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列。

[1552] 13.根据实施方式1-12中任一项所述的多功能分子,其中所述第二抗原结合域包括VH,所述VH包括重链互补决定区1(VHCDR1)、VHCDR2和VHCDR3;以及VL,所述VL包括轻链互补决定区1(VLCDR1)、VLCDR2和VLCDR3,其中所述第二抗原结合域的VHCDR1、VHCDR2和VHCDR3包括以下项的氨基酸序列：

[1553] 分别为SEQ ID NO:7313、6001和7315;

[1554] 分别为SEQ ID NO:7313、6001和6002;

[1555] 分别为SEQ ID NO:7313、6008和6009;

[1556] 分别为SEQ ID NO:7313、7385和7315;或

[1557] 分别为SEQ ID NO:7313、7318和6009。

[1558] 14.根据实施方式13所述的多功能分子,其中所述第二抗原结合域的VLCDR1、VLCDR2和VLCDR3包括以下项的氨基酸序列：

[1559] 分别为SEQ ID NO:7326、7327和7329;

[1560] 分别为SEQ ID NO:6063、6064和7293;

[1561] 分别为SEQ ID NO:6070、6071和6072;或

[1562] 分别为SEQ ID NO:6070、6064和7321。

[1563] 15.根据实施方式13或14所述的多功能分子,其中所述第二抗原结合域的VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2和VLCDR3包括以下项的氨基酸序列：

[1564] 分别为SEQ ID NO:7313、6001、7315、7326、7327和7329;

[1565] 分别为SEQ ID NO:7313、6001、6002、6063、6064和7293;

[1566] 分别为SEQ ID NO:7313、6008、6009、6070、6071和6072;

[1567] 分别为SEQ ID NO:7313、7385、7315、6070、6064和7321;或

[1568] 分别为SEQ ID NO:7313、7318、6009、6070、6064和7321。

[1569] 16.根据实施方式13-15中任一项所述的多功能分子,其中：

[1570] (i)所述第二抗原结合域的VH包括选自SEQ ID NO:7302、7298、7300、7301、7303和7304的氨基酸序列(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)并且/或者所述第二抗原结合域的VL包括选自SEQ ID NO:7309、7305、7299、7306-7308的氨基酸序列(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)；

[1571] (ii)所述第二抗原结合域的VH包括选自SEQ ID NO:6121或6123-6128的氨基酸序列(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)并且/或者所述第二抗原结合域的VL包括选自SEQ ID NO:7294或6137-6141的氨基酸序列(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列);或

[1572] (iii)所述第二抗原结合域的VH包括选自SEQ ID NO:6122或6129-6134的氨基酸序列(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)并且/或者所述第二抗原结合域的VL包括选自SEQ ID NO:6136或6142-6147的氨基酸序列(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)。

[1573] 17.根据实施方式13-16中任一项所述的多功能分子,其中所述第二抗原结合域的VH和VL包括以下项的氨基酸序列:

[1574] 分别为SEQ ID NO:7302和7309(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列);或

[1575] 分别为SEQ ID NO:7302和7305(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)。

[1576] 18.根据实施方式13-17中任一项所述的多功能分子,其中所述第二抗原结合域包括以下项的氨基酸序列:

[1577] SEQ ID NO:7311或7310(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列);

[1578] SEQ ID NO:6187或6188(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列);或

[1579] SEQ ID NO:6189或6190(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)。

[1580] 19.根据实施方式1-18中任一项所述的多功能分子,其中所述多功能分子与TRBC1或TRBC2单价结合。

[1581] 20.根据实施方式1-19中任一项所述的多功能分子,其中所述多功能分子包括图29A-29D中任一个所示的构型,任选地其中:

[1582] (i)所述多功能抗体分子包括抗TRBC1 Fab和抗NKp30 scFv,例如,包括图29A所示的构型;

[1583] (ii)所述多功能抗体分子包括抗TRBC1 Fab和抗NKp30 Fab,例如,包括图29B所示的构型;

[1584] (iii)所述多功能抗体分子包括抗NKp30 Fab和抗TRBC1 scFv,例如,包括图29C所示的构型;或

[1585] (iv)所述多功能抗体分子包括抗TRBC1 scFv和抗NKp30 scFv,例如,包括图29D所示的构型。

[1586] 21.根据实施方式1-19中任一项所述的多功能分子,其中所述多功能分子包括图30A-30D中任一项所示的构型,任选地其中:

[1587] (i)所述多功能抗体分子包括抗TRBC2 Fab和抗NKp30 scFv,例如,包括图30A所示的构型;

[1588] (ii)所述多功能抗体分子包括抗TRBC2 Fab和抗NKp30 Fab,例如,包括图30B所示的构型;

[1589] (iii)所述多功能抗体分子包括抗NKp30 Fab和抗TRBC2 scFv,例如,包括图30C所

示的构型;或

[1590] (iv)所述多功能抗体分子包括抗TRBC2 scFv和抗NKp30 scFv,例如,包括图30D所示的构型。

[1591] 22.根据实施方式1-21中任一项所述的多功能分子,进一步包括二聚化模块,所述二聚化模块包括一个或多个免疫球蛋白链恒定区(例如,Fc区),所述免疫球蛋白链恒定区包括以下项中的一项或多项:成对的腔-突起("杵臼结构")、静电相互作用或链交换。

[1592] 23.根据实施方式1-22中任一项所述的多功能分子,包括表2-6和19的任一个中公开的抗TRBC1氨基酸序列,或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列;和/或表7-10、18和19的任一个中公开的抗NKp30氨基酸序列,或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列。

[1593] 24.根据实施方式1-23中任一项所述的多功能分子,包括:

[1594] (i)SEQ ID NO:7351(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)的抗TRBC1 VH、SEQ ID NO:258(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)的抗TRBC1 VL、SEQ ID NO:7302(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)的抗NKp30 VH、和SEQ ID NO:7309(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)的抗NKp30 VL;

[1595] (ii)SEQ ID NO:7351(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)的抗TRBC1 VH、SEQ ID NO:258(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)的抗TRBC1 VL、和SEQ ID NO:7311(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)的抗NKp30 scFv;或

[1596] (iii)SEQ ID NO:7382、7380和7383(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。

[1597] 25.根据实施方式1-23中任一项所述的多功能分子,包括:

[1598] (i)SEQ ID NO:253(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)的抗TRBC1 VH、SEQ ID NO:258(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)的抗TRBC1 VL、SEQ ID NO:7302(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)的抗NKp30 VH、和SEQ ID NO:7309(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)的抗NKp30 VL;

[1599] (ii)SEQ ID NO:253(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)的抗TRBC1 VH、SEQ ID NO:258(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)的抗TRBC1 VL、和SEQ ID NO:7311(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)的抗NKp30 scFv;或

[1600] (iii)SEQ ID NO:7379、7380和7383(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)。

[1601] 26.根据实施方式1-23中任一项所述的多功能分子,包括:

[1602] (i)SEQ ID NO:7351(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)的抗TRBC1 VH、SEQ ID NO:258(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)的抗TRBC1 VL、SEQ ID NO:7302(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)的抗NKp30 VH、和SEQ ID NO:7305(或与其具有至少85%、90%、95%或99%同一性的序列)的抗

NKp30 VL;

[1603] (ii)SEQ ID NO:7351(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)的抗TRBC1 VH、SEQ ID NO:258(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)的抗TRBC1 VL、和SEQ ID NO:7310(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)的抗NKp30 scFv;或

[1604] (iii)SEQ ID NO:7382、7380和7384(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)。

[1605] 27.根据实施方式1-23中任一项所述的多功能分子,包括:

[1606] (i)SEQ ID NO:253(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)的抗TRBC1 VH、SEQ ID NO:258(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)的抗TRBC1 VL、SEQ ID NO:7302(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)的抗NKp30 VH、和SEQ ID NO:7305(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)的抗NKp30 VL;

[1607] (ii)SEQ ID NO:253(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)的抗TRBC1 VH、SEQ ID NO:258(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)的抗TRBC1 VL、和SEQ ID NO:7310(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)的抗NKp30 scFv;或

[1608] (iii)SEQ ID NO:7379、7380和7384(或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列)。

[1609] 28.一种与TRBC1结合的抗体分子,包括表2-6和19的任一个中公开的一个或多个CDR、构架区、可变区或抗原结合域,或与其具有至少85％、90％、95％或99％同一性的序列。

[1610] 29.根据实施方式1-27中任一项所述的多功能分子或实施方式28所述的抗体分子,进一步包括重链恒定区变体,例如,Fc区变体,其包括导致对至少一种Fc受体的亲和力降低或消除的一个或多个突变,任选地其中所述一个或多个突变导致抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)、抗体依赖性细胞吞噬作用(ADCP)或补体依赖性细胞毒性(CDC)降低或消除。

[1611] 30.根据实施方式29所述的多功能分子或抗体分子,其中所述Fc区变体包括表20中公开的一个或多个突变,任选地其中所述Fc区变体包括N297A突变。

[1612] 31.一种核酸分子,其编码实施方式1-27、29或30中任一项的多功能分子或实施方式28-30中任一项的抗体分子。

[1613] 32.一种载体,例如,表达载体,其包括实施方式31的核酸分子。

[1614] 33.一种细胞,其包括实施方式31的核酸分子或实施方式32的载体。

[1615] 34.一种制备,例如,产生实施方式1-27、29或30中任一项的多功能分子或实施方式28-30中任一项的抗体分子的方法,包括在合适的条件下,例如,适合基因表达和/或同源二聚化或异源二聚化的条件下培养实施方式33的细胞。

[1616] 35.一种药物组合物,其包括实施方式1-27、29或30中任一项的多功能分子或实施方式28-30中任一项的抗体分子以及药学上可接受的载剂、赋形剂或稳定剂。

[1617] 36.一种治疗癌症的方法,包括向有需要的受试者施用实施方式1-27、29或30中任一项的多功能分子,其中所述多功能分子以有效治疗所述癌症的量施用。

[1618] 37.根据实施方式36所述的方法,进一步包括识别、评价或选择需要治疗的受试者,其中识别、评价或选择包括确定(例如,直接确定或间接确定,例如,获得关于以下的信息)受试者是否具有表达包括TRBC1或TRBC2的T细胞受体的癌细胞。

[1619] 38.根据实施方式37所述的方法,进一步包括,响应于确定受试者具有表达包括TRBC1的T细胞受体的癌细胞:

[1620] 任选地,选择所述受试者用多功能分子治疗,所述多功能分子包括与包括TRBC1的T细胞受体结合的抗原结合域,和

[1621] 施用包括与包括TRBC1的T细胞受体结合的抗原结合域的多功能分子。

[1622] 39.一种治疗癌症,例如,淋巴瘤或白血病,例如,T细胞淋巴瘤或白血病的方法,包括:

[1623] 响应于确定受试者具有表达包括TRBC1的T细胞受体的癌细胞,向所述受试者施用实施方式1-27、29或30中任一项的多功能分子,其中所述第一抗原结合域与TRBC1结合,其中所述多功能分子以有效治疗所述癌症的量施用。

[1624] 40.一种治疗癌症,例如,淋巴瘤或白血病,例如,T细胞淋巴瘤或白血病的方法,包括:

[1625] 响应于确定受试者具有表达包括TRBC2的T细胞受体的癌细胞,向所述受试者施用实施方式1-27、29或30中任一项的多功能分子,其中所述第一抗原结合域与TRBC2结合,其中所述多功能分子以有效治疗所述癌症的量施用。

[1626] 41.一种识别需要使用实施方式1-27、29或30中任一项的多功能分子治疗癌症,例如,淋巴瘤或白血病,例如,T细胞淋巴瘤或白血病的受试者的方法,所述方法包括确定(例如,直接确定或间接确定,例如,获得关于以下的信息)受试者是否具有表达包括TRBC 1或TRBC2的T细胞受体的癌细胞,其中:

[1627] 响应于确定所述受试者具有表达包括TRBC1的T细胞受体的癌细胞,将所述受试者识别为使用包括与TRBC1结合的抗原结合域的多功能分子治疗的候选者,并且任选地将所述受试者识别为不是使用包括与TRBC2结合的抗原结合域的多功能分子治疗的候选者,或

[1628] 响应于确定所述受试者具有表达包括TRBC2的T细胞受体的癌细胞,将所述受试者识别为使用包括与TRBC2结合的抗原结合域的多功能分子治疗的候选者,并且任选地将所述受试者识别为不是使用包括与TRBC1结合的抗原结合域的多功能分子治疗的候选者。

[1629] 42.根据实施方式41所述的方法,进一步包括:

[1630] 响应于将所述受试者识别为使用包括与TRBC1结合的抗原结合域的多功能分子治疗的候选者,用(例如,向受试者施用)包括与TRBC1结合的抗原结合域的多功能分子治疗所述受试者,或

[1631] 响应于将所述受试者识别为使用包括与TRBC2结合的抗原结合域的多功能分子治疗的候选者,用(例如,向受试者施用)包括与TRBC2结合的抗原结合域的多功能分子治疗所述受试者。

[1632] 43.根据实施方式36-42中任一项所述的方法,其中所述癌症是白血病或淋巴瘤。

[1633] 44.根据实施方式36-43中任一项所述的方法,其中所述癌症选自获得性免疫缺陷综合征(AIDS)相关淋巴瘤、血管免疫母细胞性T细胞淋巴瘤、成人T细胞白血病/淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、中枢神经系统(CNS)淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、淋巴母细胞性淋

巴瘤、套细胞淋巴瘤(MCL)、外周T细胞淋巴瘤(PTCL)(例如,肝脾T细胞淋巴瘤(HSGDTCL)、皮下脂膜炎样T细胞淋巴瘤或肠病相关T细胞淋巴瘤)、转变型滤泡和转变型黏膜相关淋巴组织(MALT)淋巴瘤、皮肤T细胞淋巴瘤(蕈样真菌病和塞扎里综合征)、滤泡性淋巴瘤、淋巴浆细胞淋巴瘤/沃尔登斯特伦巨球蛋白血症、边缘区B细胞淋巴瘤、胃黏膜相关淋巴组织(MALT)淋巴瘤、慢性淋巴细胞性白血病/小细胞淋巴细胞淋巴瘤(CLL/SLL)、结外T细胞/NK细胞淋巴瘤(鼻型)以及间变性大细胞淋巴瘤(例如,原发性皮肤间变性大细胞淋巴瘤或系统性间变性大细胞淋巴瘤)。

[1634] 45.根据实施方式36-43中任一项所述的方法,其中所述癌症是淋巴瘤,是外周T细胞淋巴瘤(PTCL)。

[1635] 援引并入

[1636] 本文提及的所有出版物和专利均通过引用以其全文并入本文,如每个单独的出版物或专利被具体地且单独地指示为通过引用而并入。

[1637] 实施例

[1638] 实施例1:对亚美尼亚仓鼠进行免疫接种以产生抗NKp30抗体

[1639] 简而言之,用完全弗氏佐剂中的人NKp30蛋白的胞外域对亚美尼亚仓鼠进行免疫接种,并在第14天和第28天用不完全弗氏佐剂(IFA)中的NKp30加强两次。在第56天施予在IFA中的再次加强,并在三天后收获动物。收集脾脏并与P3X63Ag8.653鼠骨髓瘤细胞系融合。以0.9x 10^5个细胞/孔将125ul置于96孔板中并饲喂125μl的I-20+2ME+HAT(IMDM(4g/L葡萄糖)),其中补充有20%胎牛血清、4mM L-谷氨酰胺、1mM丙酮酸钠、50U青霉素、50μg链霉素和50μM 2-ME,不存在或存在HAT或HT以用于选择,并且在第7、11天和此后所需的时间饲喂杂交瘤克隆因子(最终1%)。在融合后大约2周(细胞汇合约50%),收集上清液并测定结合。

[1640] 实施例2:NKp30 mAb的杂交瘤筛选

[1641] 筛选前用BG160(hNKp30细胞抗原)转染Expi293细胞18小时。筛选当天,将转染的细胞稀释至0.05x10^6/mL,并添加抗亚美尼亚仓鼠Fc Alexa Fluor 488至终浓度为0.4ug/mL。将50uL(2,500个细胞)该混合物添加到384孔板的每个孔中。使用相同密度带有二抗的未转染293细胞作为阴性对照。将5uL杂交瘤上清液添加到细胞混合物中,并将板在37℃下温育1小时。然后将板在Mirrorball上成像。鉴定阳性克隆并通过连续稀释来亚克隆以获得克隆选择的杂交瘤。使用相同方案再次确认后,收获杂交瘤细胞并回收相应的重链和轻链序列。将DNA亚克隆到pcDNA3.4中以用于随后表达相应抗体并进行进一步验证。

[1642] 实施例3:NKp30抗体与NK92细胞的结合

[1643] 用含有0.5% BSA和0.1%叠氮化钠(染色缓冲液)的PBS洗涤NK-92细胞,并以200,000个细胞/孔添加到96孔V型底的板中。将仓鼠NKp30抗体以2.0倍连续稀释添加到细胞,并在室温下温育1小时。将板用染色缓冲液洗涤两次。以1:100的稀释度(1.4mg/ml的原液)添加与AF647缀合的抗仓鼠Fc的二抗(Jackson,127-605-160),并在4℃下与细胞温育30分钟,然后用染色缓冲液洗涤。随后将细胞在室温下用4%多聚甲醛固定10分钟。在CytoFLEX LS(Beckman Coulter)上读取该板。将数据计算为AF747阳性群体的百分比(图9)。

[1644] 实施例4:使用NK92细胞系测量NKp30抗体活性的生物测定

[1645] 将NKp30抗体在PBS中进行三倍连续稀释,并于2-8℃下在平底96孔板中温育过夜。

将板在PBS中洗涤两次,并将40,000个NK-92细胞添加至含有IL-2的生长培养基中。在收集上清液之前,将板在37℃、5% CO2的加湿培养箱中温育16-24小时。按照MSD测定说明书测量上清液中的IFNγ水平(图10)。将从与仓鼠同种型IgG一起温育的细胞收集的上清液用作阴性对照,并将来自与NKp30单克隆抗体(R&D,克隆210847)一起温育的细胞的上清液用作阳性对照。使用仓鼠抗NKp30 mAB生成数据。

[1646] 实施例5:测量人源化JOVI.1变体与人TRBC1的结合的ELISA

[1647] 进行ELISA测定以测定人源化JOVI.1变体与人TRBC1的结合。微孔板分别用1ug/mL的100μL每种JOVI.1变体包被,并用2%BSA封闭。将hTRBC1、BIM0444的系列稀释液(7个点,5倍稀释,100nM至6.4pM)以100μL/孔转移到包被和封闭的板,并在室温下温育1小时。将板洗涤3次并与抗组氨酸标签Fc辣根过氧化物酶缀合物一起温育30分钟,然后添加HRP底物TMB。将板显色5分钟,用1M HCL终止并在450nm波长下读数。ELISA数据显示抗TRBC1mAb(二价)与人TRBC1的直接结合(图7)。

[1648] 实施例6:测量人源化JOVI.1变体与人TRBC1的结合的测定

[1649] 进行Octet测定以检查JOVI.1人源化变体的结合。蛋白A生物传感器在25℃的PBS中平衡。将传感器负载在PBS中的20μg/mL hTRBC1、BIM0444以响应1.5nM,然后连续稀释JOVI1.1 fab、BIM0446和BIM0460(7个点,2倍稀释,50nM至0.78nM)。

[1650] 进一步的Octet参数包括:

[1651] 基线:在PBS中30秒

[1652] 负载:20秒至响应1.5nM

[1653] 基线:60秒

[1654] 缔合:60秒

[1655] 解离:在PBS中60秒

[1656] Octet数据显示抗TRBC1 Fab与hTRBC1的结合(图8)。hTRBC1被传感器尖端捕获并浸入含有不同浓度单价Fab的溶液中。

[1657] 实施例7:人源化抗NKp30抗体的产生和表征

[1658] 选择一系列仓鼠抗NKp30抗体。这些抗体显示与人NKp30和食蟹猴NKp30结合并诱导NK-90细胞产生IFNγ(数据未显示)。示例性的仓鼠抗NKp30抗体15E1、9G1、15H6、9D9、3A12和12D10的VH和VL序列公开于表9。基于15E1、9G1和15H6的示例性人源化抗NKp30抗体的VH和VL序列也公开于表9。这些抗体的Kabat CDR公开于表18和表8。

[1659] 选择两个基于15E1的人源化构建体。第一构建体BJM0407是Fab,包含含有SEQ ID NO:7302的氨基酸序列的重链可变区以及含有SEQ ID NO:7305的氨基酸序列的λ轻链可变区。其对应的scFv构建体BJM0859包含SEQ ID NO:7310的氨基酸序列。第二构建体BJM0411是Fab,包含含有SEQ ID NO:7302的氨基酸序列的重链可变区以及含有SEQ ID NO:7309的氨基酸序列的κ轻链可变区。其对应的scFv构建体BJM0860包含SEQ ID NO:7311的氨基酸序列。BJM0407和BJM0411显示出相当的生物物理特性,例如对NKp30的结合亲和力和热稳定性。scFv构建体BJM0859和BJM0860也显示出相当的生物物理特性。

[1660] 实施例8:人源化抗TRBC1抗体的产生和表征

[1661] 将鼠抗TRBC1抗体JOVI.1人源化,产生许多人源化变体。示例性人源化变体的VH和VL序列在表4中公开。选择一种人源化变体BIM0460,其包括:包含SEQ ID NO:253的氨基酸

序列的VH和包含SEQ ID NO:258的氨基酸序列的VL。BIM0460进一步通过种系修饰,产生许多种系变体。示例性种系变体的VH和VL序列也在表4中公开。选择一种种系变体BJM0578,其包括:包含括SEQ ID NO:7351的氨基酸序列的VH和包含SEQ ID NO:258的氨基酸序列的VL。这些人源化和种系化变体的Kabat CDR在表6和表3中公开。BIM0460显示以17nM的亲和力与人TRBC1结合。BJM0578显示以110nM的亲和力与人TRBC1结合。

[1662] 实施例9:细胞因子分泌和T细胞激活剖析

[1663] 本实施例探讨了ADCC失效形式是否更适合于结合TRBC1和NKp30的抗体。在板包被时或在Fc衔接时在溶液中的JOVI.1衔接诱导T细胞增殖和激活(数据未显示)。这可能是对治疗T细胞淋巴瘤患者,例如,外周T细胞淋巴瘤(PTCL)患者的不利因素。

[1664] 产生了五个构建体,如图11A-11E所示。BJM1052是包含抗TRBC1 Fab(基于BIM0460)和抗NKp30 scFv(基于BJM0407)的双特异性抗体(图11A)。BJM1052包含SEQ ID NO:7379(抗TRBC1HC)、SEQ ID NO:7380(抗TRBC1 LC)和SEQ ID NO:7383(抗NKp30 scFv-Fc)的氨基酸序列。BJM1052在其Fc区包含N297A突变。BJM1042是包含抗TRBC1 Fab(基于BJM0578)和抗NKp30 scFv(基于BJM0407)的双特异性抗体(图11B)。BJM1042包含SEQ ID NO:7382(抗TRBC1 HC)、SEQ ID NO:7380(抗TRBC1 LC)和SEQ ID NO:7383(抗NKp30 scFv-Fc)的氨基酸序列。BJM1042在其Fc区包括N297A突变。BJM0889是包含抗TRBC1 Fab(基于BIM0460)的单臂抗体(图11C)。BJM1083是包含抗TRBC1 Fab(基于BJM0578)的单臂抗体(图11D)。BJM0889和BJM1083在Fc区均包含N297A突变。BJM1053与BJM1052相似,不同之处在于BJM1053具有ADCC有效的Fc区。

[1665] 如图12A和12B所示,Fc能使抗体BJM1053和hIgG1与表达Fc γ受体的THP1细胞结合,而N297A突变抗体(BJM1052、BJM1042和BJM0889)未显示出显著的结合。

[1666] 为了检测具有N297A突变(Fc失效)的抗体是否更安全,将100、10或1nM的抗TRBC1/NKp30抗体和对照分子溶液添加至PBMC,并在第1天和第5天测量T细胞增殖。Fc失效的抗体BJM1052和BJM1042显示出比Fc有效的抗体BJM1053更少的淋巴细胞聚集(数据未显示)。在第5天,用BJM1052和BJM1042处理的PBMC中T细胞激活显著降低,如增殖T细胞的百分比(图13A和13B)以及CD69-CD25+T细胞的百分比(图13C和13D)所证明的。

[1667] 实施例10:与TRBC1和NKp30的体外结合

[1668] 产生多种构建体,如图14A-14D所示。图14A所示的是包含抗TRBC1 Fab(基于BIM0460或BJM0578)和抗NKp30 scFv(基于BJM0407或BJM0411)的双特异性抗体。双特异性抗体在其Fc区可具有或不具有N297A突变。图14B中列出的分子具有图14A所示的构型。

[1669] 图14C显示了包含抗TRBC1 Fab(基于BIM0460或BJM0578)和抗NKp30 Fab(基于BJM0407或BJM0411)的双特异性抗体。双特异性抗体在其Fc区可具有或不具有N297A突变。图14D中列出的分子具有图14C所示的构型。

[1670] 所有检测的抗TRBC1/NKp30抗体均表现出与NK细胞系KHYG-1(图15A和15D)以及TRBC1+Jurkat细胞(图15B和15D)的结合。

[1671] 实施例11:TRBC1+细胞系的体外细胞溶解

[1672] 在本实施例中,检测了抗TRBC1/NKp30抗体在存在NK细胞的情况下诱导杀伤表达TRBC1的细胞的能力。本实施例中检测的抗体显示在图11A-11E中。

[1673] 在第一项研究中,NK-92效应细胞与CFSE标记的靶细胞以5:1的比例培养4小时。使

用流式细胞术并对死亡的靶细胞进行门控来测量靶细胞裂解。在存在NK-92效应细胞的情况下,抗TRBC1/NKp30双特异性抗体BJM1052和BJM1042诱导杀伤TRBC1+Jurkat细胞(图16A)和H9细胞(图16B),但不诱导杀伤TRBC2+HPB-ALL细胞(图16C)。

[1674] 在第二项研究中,原代NK细胞与CFSE标记的靶细胞以5:1的比例培养4小时。对于H9细胞,使用10:1的E:T比。使用流式细胞术测量靶细胞裂解。在存在原代NK细胞的情况下,抗TRBC1/NKp30双特异性抗体BJM1052和BJM1042诱导杀伤TRBC1+Jurkat细胞(图17A)和H9细胞(图17B),但不诱导杀伤TRBC2+HPB-ALL细胞(图17C)

[1675] 在第三项研究中,NK细胞和靶细胞在存在抗TRBC1/NKp30抗体BJM1052和BJM1042的情况下共培养4小时,收集上清液,并使用MSD测量细胞因子水平。靶细胞裂解与NK细胞激活相关,如CD69+CD107a+NK细胞的百分比(图18A)、IFNγ分泌(图18B)和TNFα分泌(图18C)所证明的。

[1676] 下一项研究检查了抗TRBC1/NKp30抗体BJM1052和BJM1042是否在没有靶细胞的情况下激活NK细胞。在没有靶细胞的情况下,将原代NK细胞与50nM的抗体温育4小时,然后收集上清液以测量IFNγ和TNFα水平。如图19A和19B所示,由抗TRBC1/NKp30抗体介导的NK细胞激活需要NK细胞和靶细胞两者的存在。

[1677] 最后,抗TRBC1/NKp30抗体BJM1052和BJM1042在存在靶细胞的情况下不诱导NK细胞死亡(图20)。

[1678] 实施例12:患者来源的TRBC1+PDX的选择性体外细胞溶解

[1679] T细胞淋巴瘤的常见亚型包括:外周T细胞淋巴瘤,非特指型(PTCL-NOS);间变性大细胞淋巴瘤(ALCL);血管免疫母细胞性T细胞淋巴瘤(AITL);和皮肤T细胞淋巴瘤(CTCL)。T细胞淋巴瘤的不常见亚型包括:成人T细胞白血病/淋巴瘤(ATLL);T细胞淋巴母细胞性淋巴瘤;肝脾γ-δT细胞淋巴瘤;肠病型T细胞淋巴瘤;鼻NK/T细胞淋巴瘤;治疗相关的T细胞淋巴瘤。在从健康供体分离的PBMC和从PTCL患者分离的PBMC中观察到类似的TRBC1频率和表达(数据未显示)。

[1680] 两个患者来源的异种移植(PDX)样品经检测为TRBC1阳性:PDX3来源于急性淋巴细胞白血病(T-ALL)患者,而PDX6来源于原发性皮肤CD30+T细胞淋巴增殖性病症(CTCL)患者。

[1681] 将图21A和21B中显示的抗体用于功能性杀伤测定。BJM0145是单臂抗TRBC1抗体。BJM0773是双特异性抗体,包含抗TRBC1Fab和抗NKp30 scFv。PDX样品用CFSE标记,并在存在BJM0145或BJM0773(0.01-10nM)的情况下,与原代NK细胞或KHYG1细胞以5:1的E:T比培养5小时。使用以下计算来测量特异性杀伤:

[1682] 死亡的经处理(PDX+NK)%-死亡PDX%

[1683] 100%(最大杀伤)-死亡PDX%

[1684] 如图22A-22D所示,抗TRBC1/NKp30抗体BJM0773有效杀伤TRBC1阳性PDX3和PDX6。单臂抗TRBC1抗体BJM0145由于ADCC而在原代NK细胞存在时表现出弱杀伤(图22A和22C),但在KHYG1细胞(CD16缺陷型NK细胞)存在时则未表现出杀伤(图22B和22D)。单臂抗TRBC1抗体或双特异性抗TRBC1/NKp30抗体不杀伤TRBC1阴性PDX(数据未显示)。

[1685] 实施例13:使用来自PTCL患者的NK细胞对TRBC1+Jurkat细胞的体外细胞溶解

[1686] 本实施例检验了在分离自PTCL患者的NK细胞存在的情况下,抗TRBC1/NKp30抗体是否可以介导对TRBC1+靶细胞的杀伤。

[1687] NK细胞和NKp30+NK细胞在PTCL患者的PBMC中以正常比例存在(数据未显示)。通过阴性选择从PTCL患者和健康供体的PBMC中富集NK细胞,然后与200U/ml IL-2温育过夜。第二天,在存在10nM抗体的情况下,将NK细胞与Jurkat细胞共培养4小时。

[1688] 如图23所示,PTCL患者来源的NK细胞在存在抗TRBC1/NKp30抗体BJM1042的情况下杀伤TRBC1+Jurkat细胞。NK细胞在杀伤试验期间被激活,如CD69+CD107+NK细胞的百分比所证明的(图24)。双特异性抗TRBC1/NKp30抗体BJM1052和BJM1042比单臂抗TRBC1抗体FJM0889诱导更高水平的IFNγ (图25A)和TNFα(图25B)。

[1689] 实施例14:与B7-H6(NKp30的天然配体)的竞争

[1690] NKp30的天然配体包括B7-H6、pp65、BAT3和BAG6。B7-H6存在于许多癌细胞系和原代癌细胞(例如,T细胞和B细胞淋巴瘤、白血病和黑色素瘤)中。膜结合的B7-H6可以介导原代人NK细胞的激活和靶细胞的杀伤。另一方面,可溶性B7-H6存在于血清或肿瘤微环境中,可以抑制抗NKp30 mAb的结合,下调NKp30表达,并抑制NKp30介导的激活和靶细胞杀伤。

[1691] 本实施例检查了双特异性抗TRBC1/NKp30抗体是否与B7-H6竞争结合NKp30。

[1692] 如图26A和26B所示,双特异性抗TRBC1/NKp30抗体BJM1042与NKp30的结合比B7-H6更强。在竞争测定中,将B7H6(4μg/ml,约143nM)和不同浓度的抗体(BJM1042、抗NKp30或抗NKp46)同时添加到NKp30包被的ELISA板。如图26C所示,B7H6结合信号随竞争抗体浓度的增加而减弱。BJM1042与B7-H6竞争结合NKp30,达到与阳性对照抗NKp30抗体相似的水平(图26C)。阴性对照抗NKp46抗体不干扰B7-H6与NKp30的结合,表明在该ELISA中观察到的干扰是特异性的(图26C)。

[1693] 实施例15:TRBC1细胞系衍生模型的体内杀伤

[1694] 本实施例在体内模型中检查抗TRBC1/NKp30抗体BJM1042的抗肿瘤活性。

[1695] 在第0天,将H9肿瘤细胞皮下植入NOG-IL-15小鼠。肿瘤植入后16天,小鼠被移植体外扩增的原代NK细胞。NK植入后两周(肿瘤植入后31天),将小鼠按肿瘤体积随机分组,并给予1mg/kg BJM1042或相关对照。暴露于测试物后每天测量肿瘤体积和体重。

[1696] 抗TRBC1/NKp30抗体BJM1042在移植有原代NK细胞的NOG IL-15小鼠中诱导皮下H9肿瘤的消退(图27B和27C)。BJM1042在不存在NK细胞的情况下也抑制肿瘤生长,但与在存在NK细胞的情况下的处理相比抑制程度较小(图27B和27C)。使用抗TRBC1对照抗体BJM1083观察到类似结果(图27B和27C)。

[1697] 实施例16:针对TRBC1的体内特异性

[1698] 在本实施例中,在原代NK细胞移植的NOG-IL-15小鼠中使用表达TRBC2的HPB-ALL异种移植物来评价BJM1042的特异性。

[1699] 在第0天,NOG-IL-15小鼠皮下植入5e6个TRBC2+HPB-ALL细胞。肿瘤植入后12天,小鼠被移植2e6个体外扩增的原代NK细胞。NK植入后2天(肿瘤植入后14天),将小鼠按肿瘤体积随机分组并给予0.5mg/kg BJM1042或相关对照。小鼠每周接受两次治疗处理。每周两次通过卡尺定量肿瘤体积。每周测量体重两次。

[1700] 针对表达TRBC1的H9和Jurkat肿瘤诱导消退的抗TRBC1/NKp30抗体BJM1042不影响表达TRBC2的HPB-ALL肿瘤的生长(图28B)。这些分子在使用的剂量下的耐受性良好,未导致体重减轻或任何其他明显的副作用(数据未显示)。

[1701] 实施例17:抗TRBC1/NKp30抗体的生物物理分析

[1702] 分析了抗TRBC1/NKp 30抗体BJM1042和BJM1052的生物物理特性。BJM1042和BJM1052表现出高稳定性和低聚集倾向。BJM1042和BJM1052显示保留与FcRn的结合和减少或可忽略不计的与Fc γ 受体的结合。

[1703] 等同方案

[1704] 本领域技术人员将认识到或能够仅使用常规实验来确定本文描述的本发明的特定实施方案的许多等同方案。此类等同方案旨在被以下权利要求涵盖。

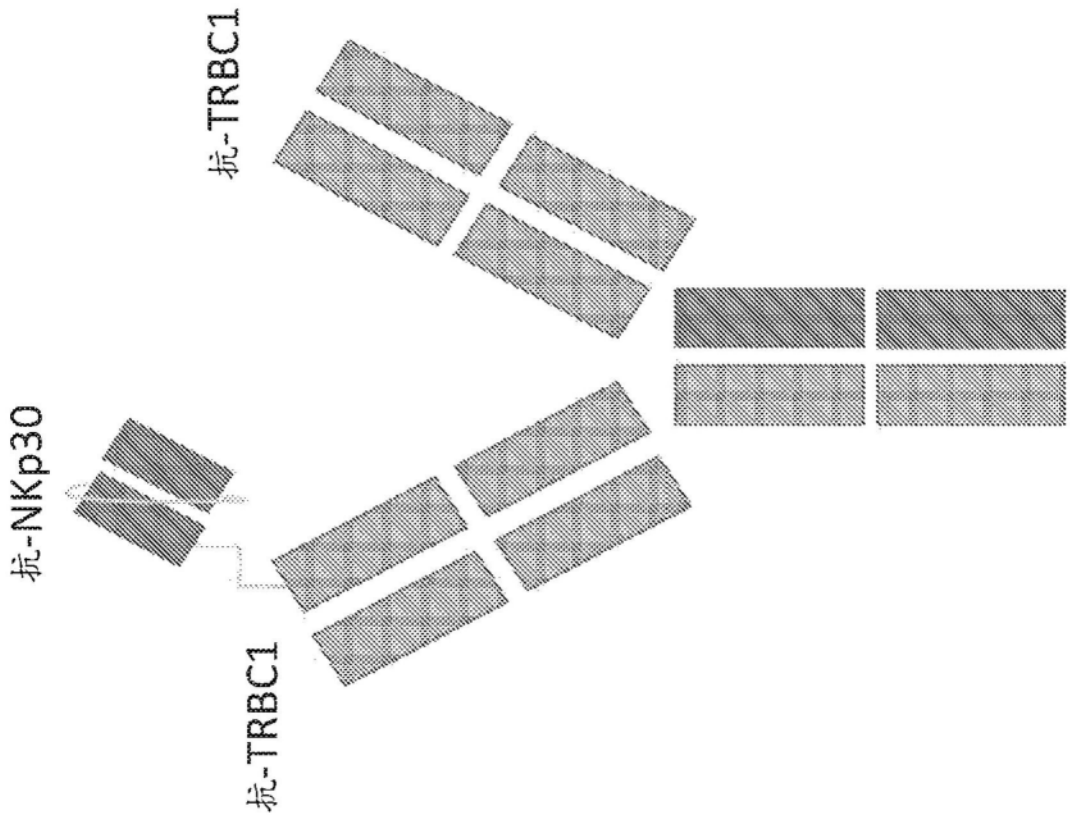


图1A

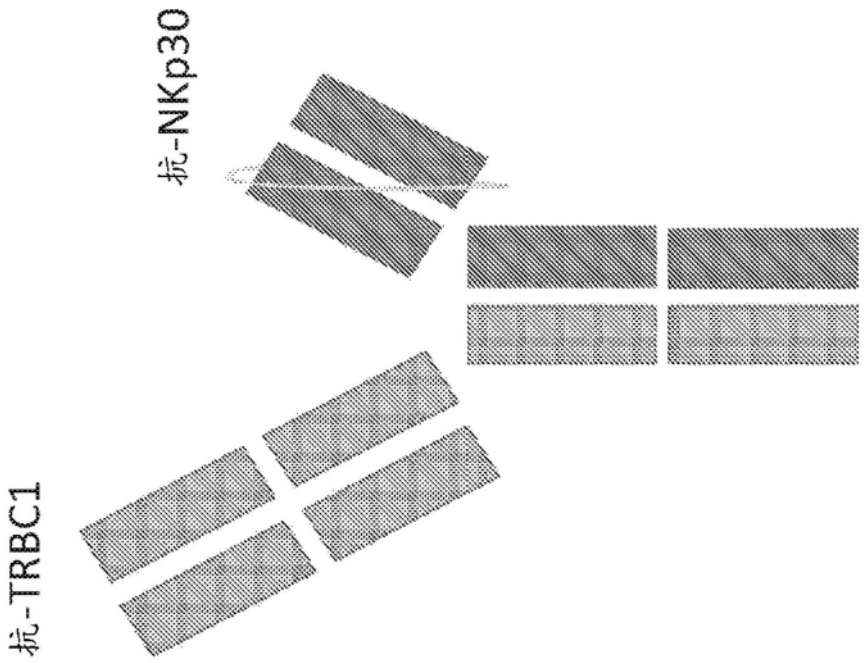


图1B

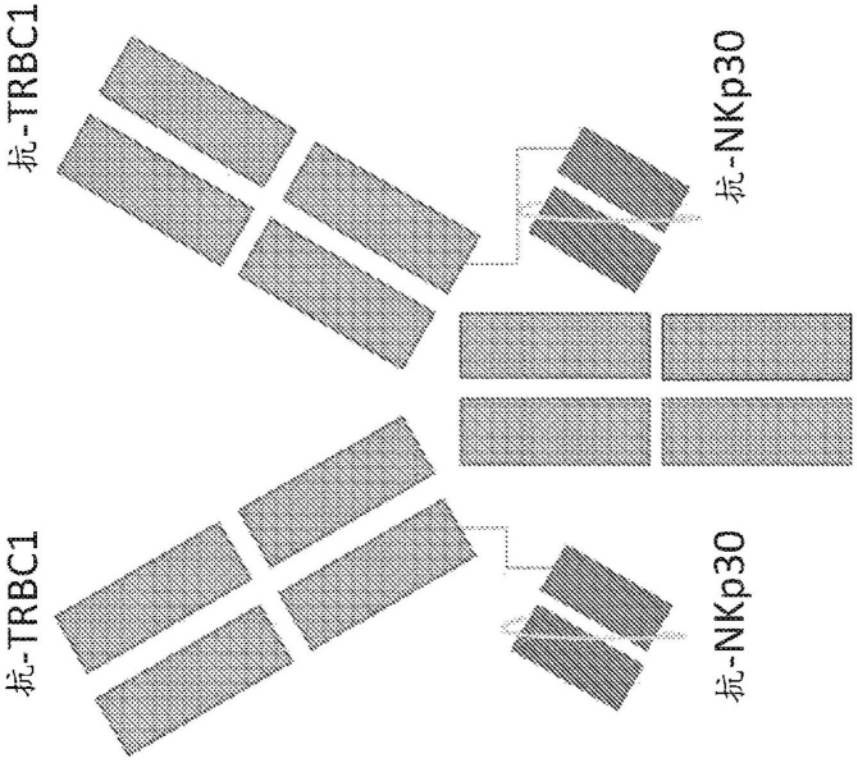


图1C

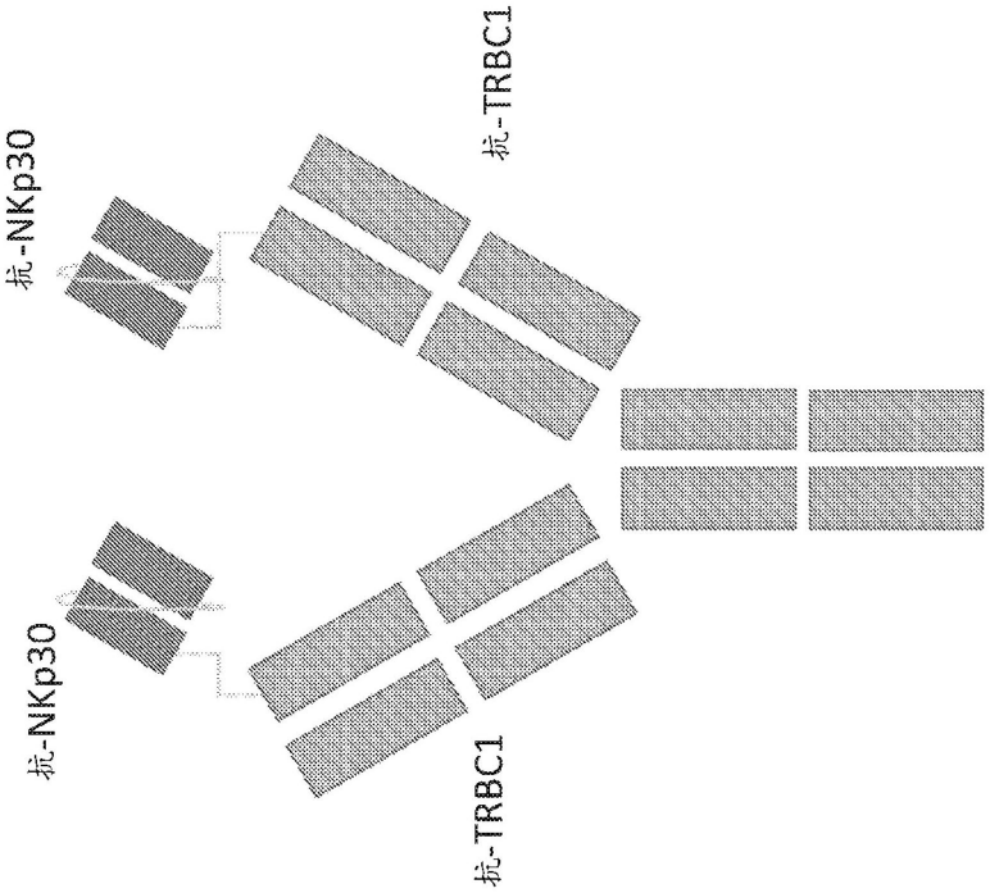


图1D

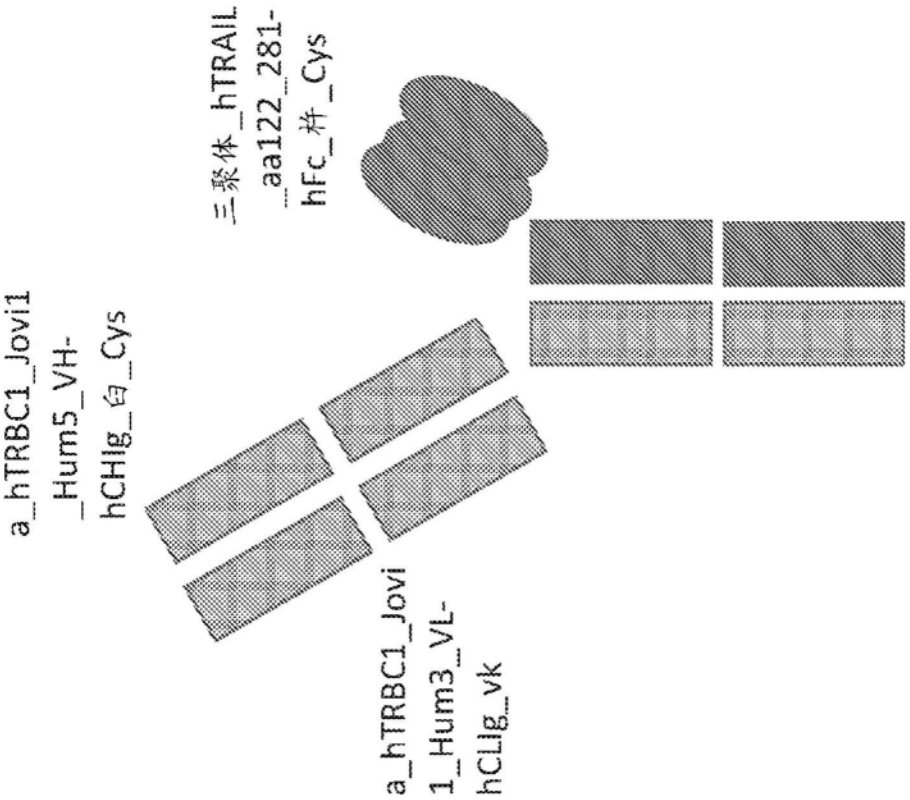

三聚体_hTRAIL
_aa122_281-
hFc_杵_Cys
a_hTRBC1_Jovi1
_Hum5_VH-
hCHIg_臼_Cys
a_hTRBC1_Jovi
1_Hum3_VL-
hCLIg_vk

图2A

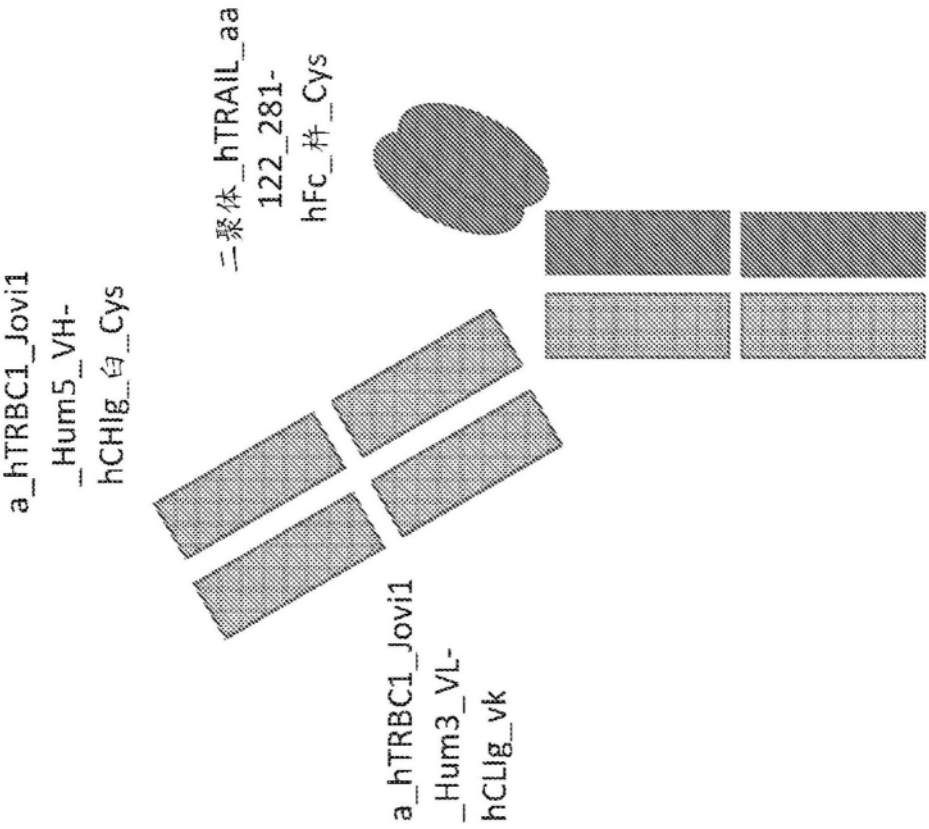

二聚体_hTRAIL_aa
122_281-
hFc_杵_Cys
a_hTRBC1_Jovi1
_Hum5_VH-
hCHIg_白_Cys
a_hTRBC1_Jovi1
_Hum3_VL-
hCLIg_vk

图2B

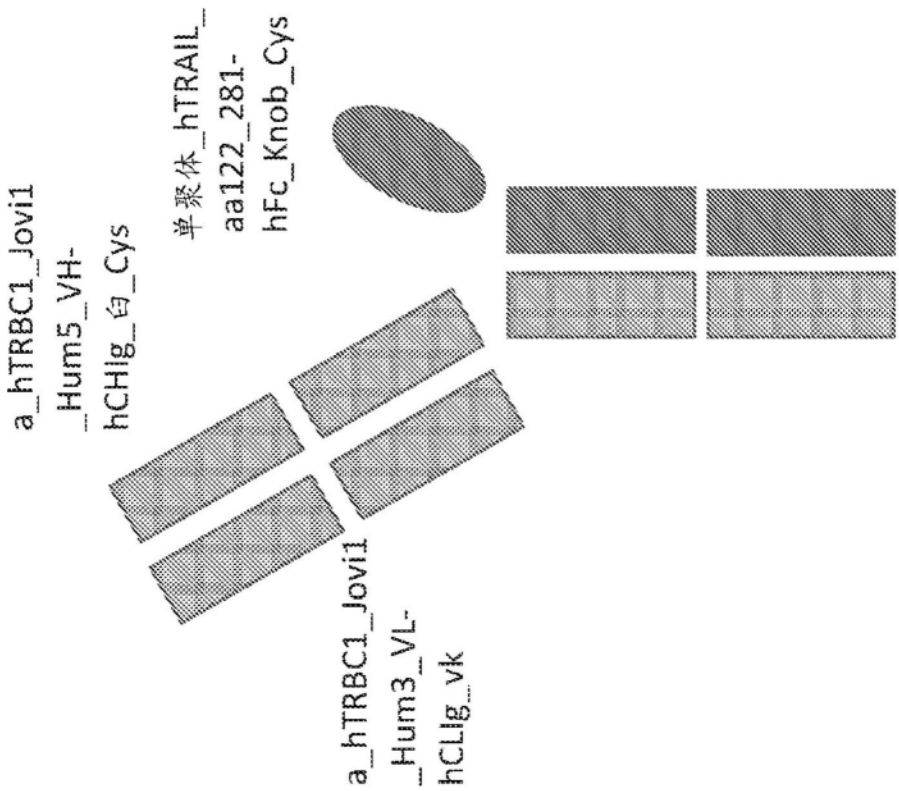

a_hTRBC1_Jovi1
_Hum5_VH-
hCHIg_白_Cys
单聚体_hTRAIL_
aa122_281-
hFc_Knob_Cys
a_hTRBC1_Jovi1
_Hum3_VL-
hCLIg_vk

图2C

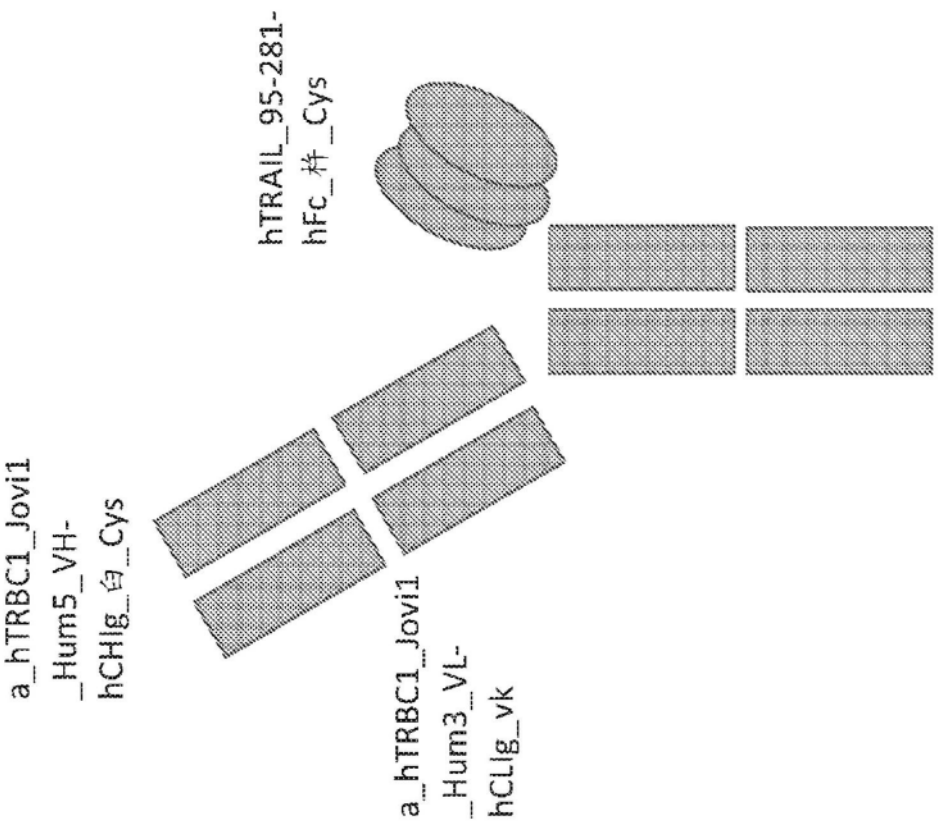

hTRAIL_95-281-
hFc_杵_Cys
a_hTRBC1_Jovi1
_Hum5_VH-
hCHIg_臼_Cys
a_hTRBC1_Jovi1
_Hum3_VL-
hCLIg_vk

图2D

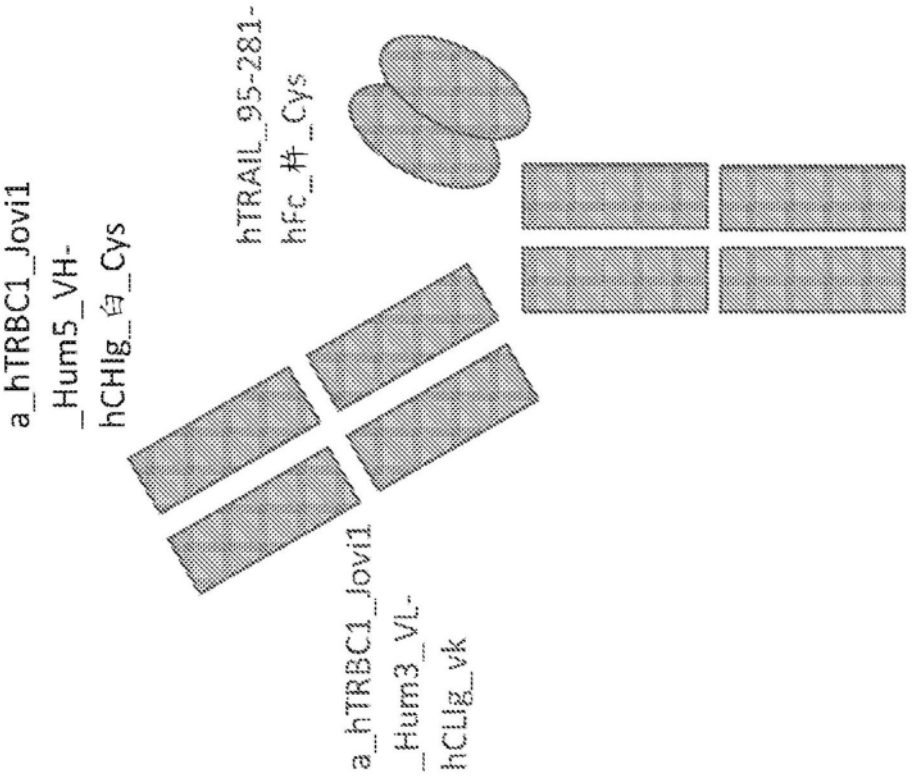

hTRAIL_95-281-
hFc_杵_Cys
a_hTRBC1_Jovi1
_Hum5_VH-
hCHIg_臼_Cys
a_hTRBC1_Jovi1
_Hum3_VL-
hCLIg_vk

图2E

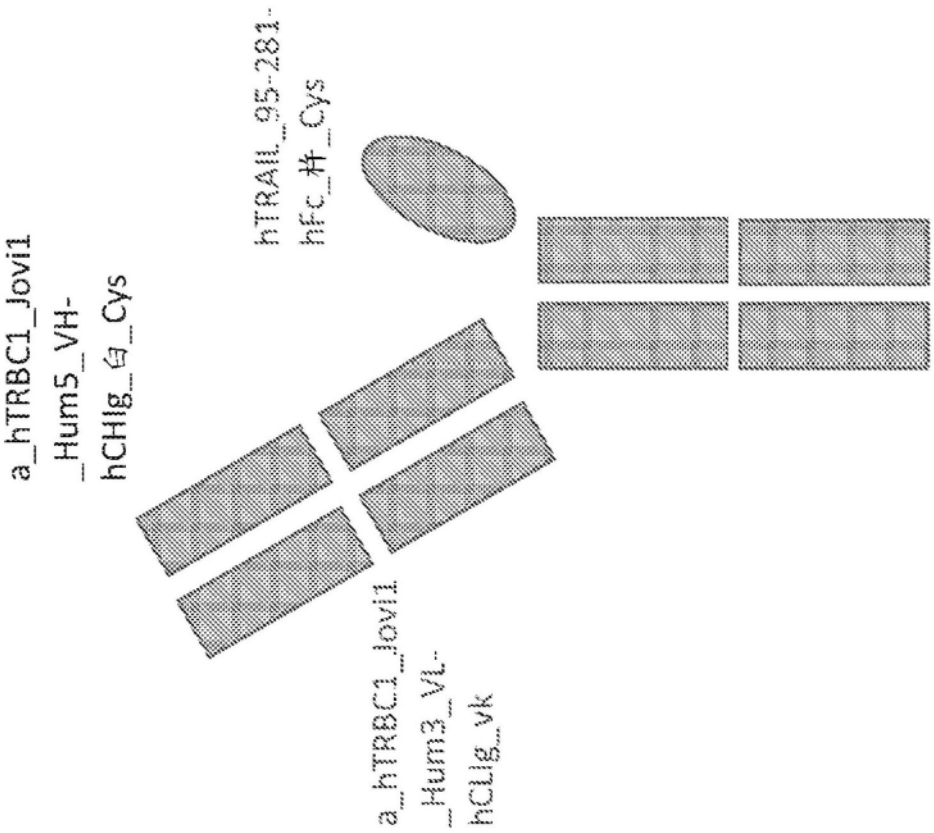

hTRAIL_95-281-
hFc_杵_Cys
a_hTRBC1_Jovi1
_Hum5_VH-
hCHIg_臼_Cys
a_hTRBC1_Jovi1
_Hum3_VL-
hCLIg_vk

图2F

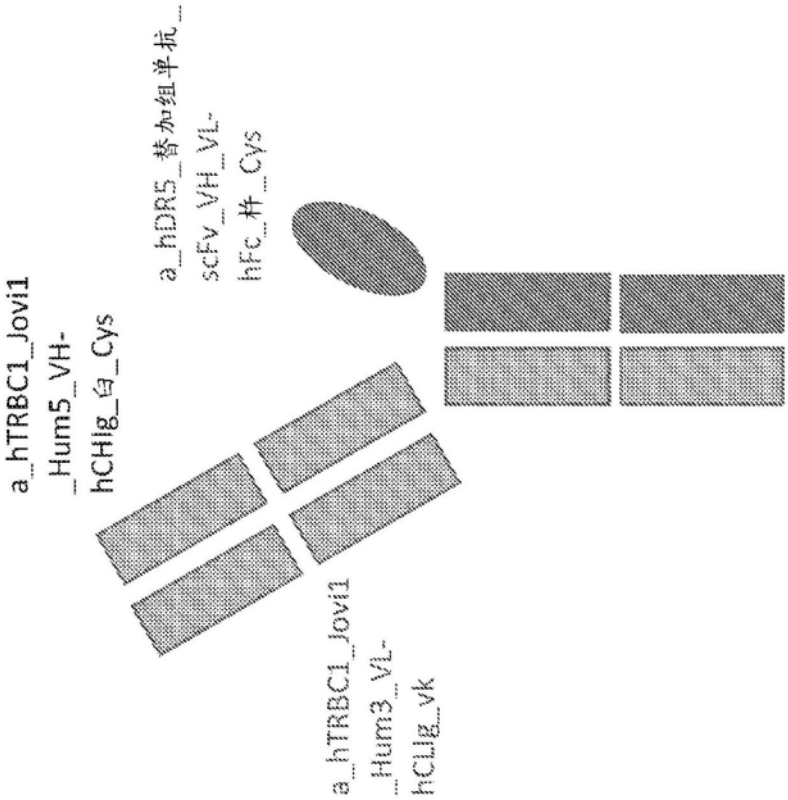

a_hTRBC1_Jovi1
_Hum5_VH-
hCHIg_白_Cys
a_hDR5_替加组单抗_
scFv_VH_VL-
hFc_杵_Cys
a_hTRBC1_Jovi1
_Hum3_VL-
hCLIg_vk

图3A

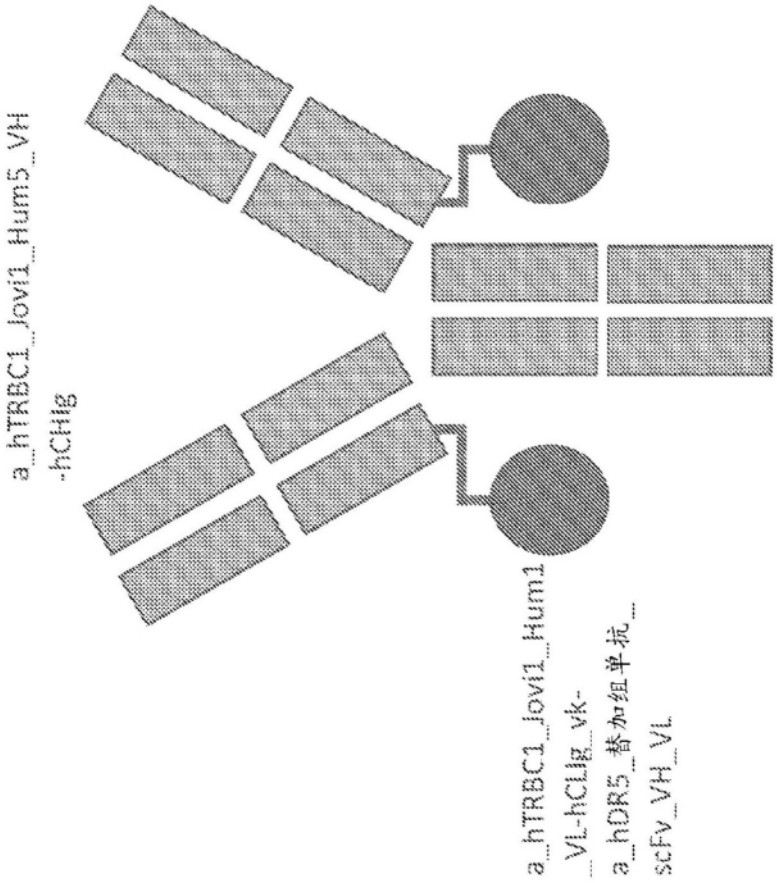

a_hTRBC1_Jovi1_Hum5_VH
-hCHIg
a_hTRBC1_Jovi1_Hum1
_VL-hCLIg_vk-
a_hOR5_替加组单抗_
scFv_VH_VL

图3B

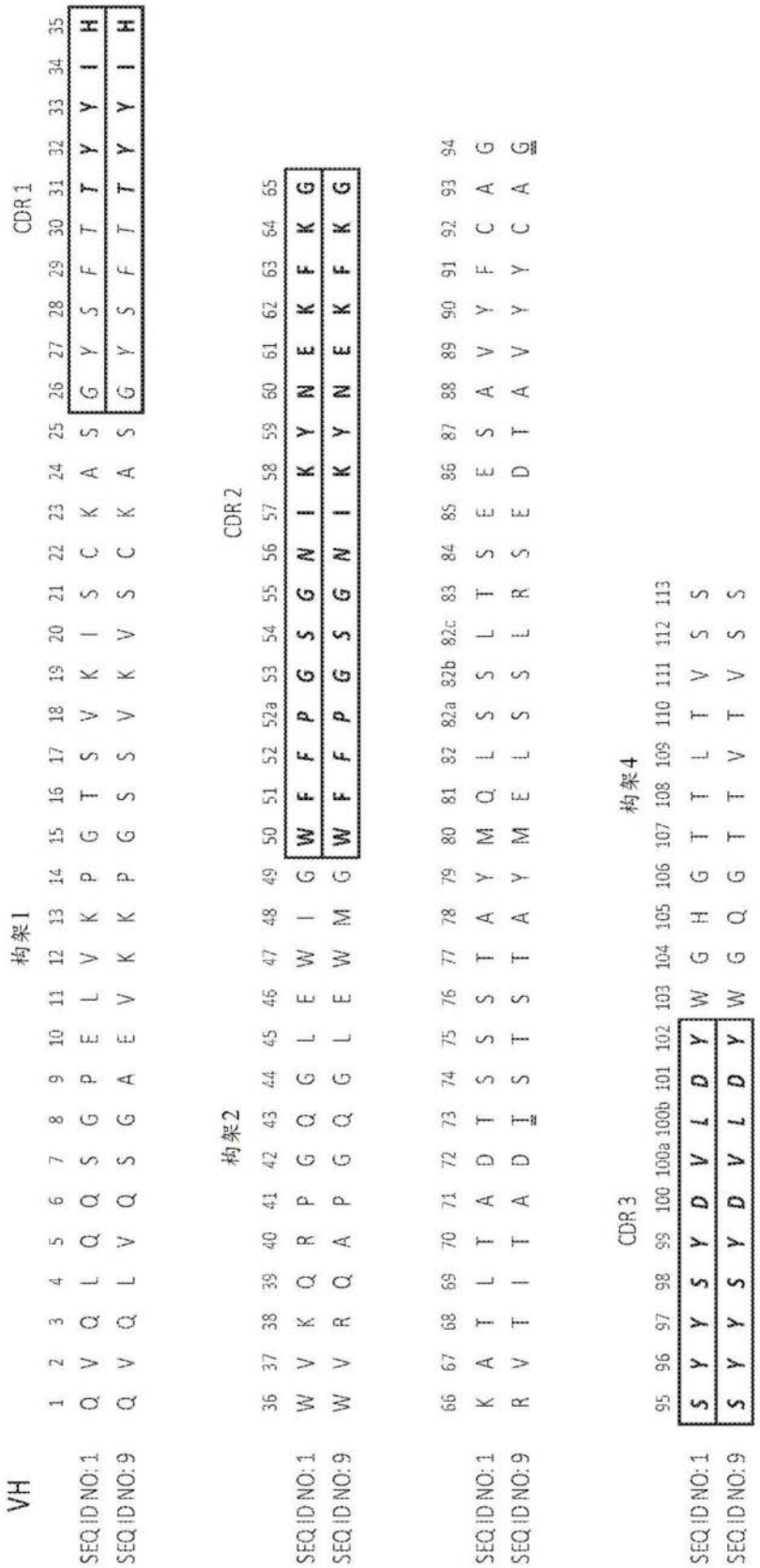


图4A

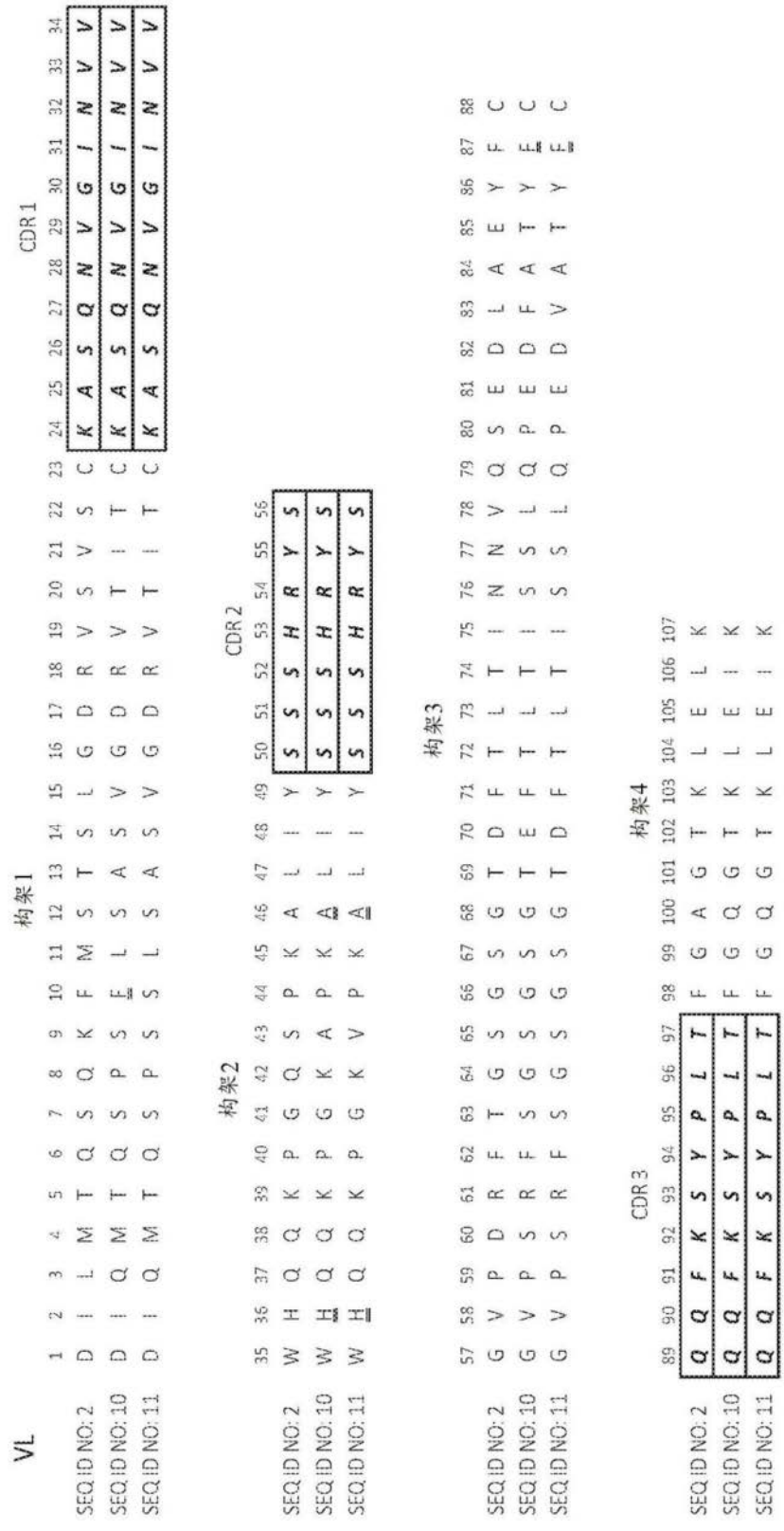

VL
构架1
CDR1
构架2
CDR2
构架3
CDR3
构架4
SEQ ID NO: 2
SEQ ID NO: 10
SEQ ID NO: 11

图4B

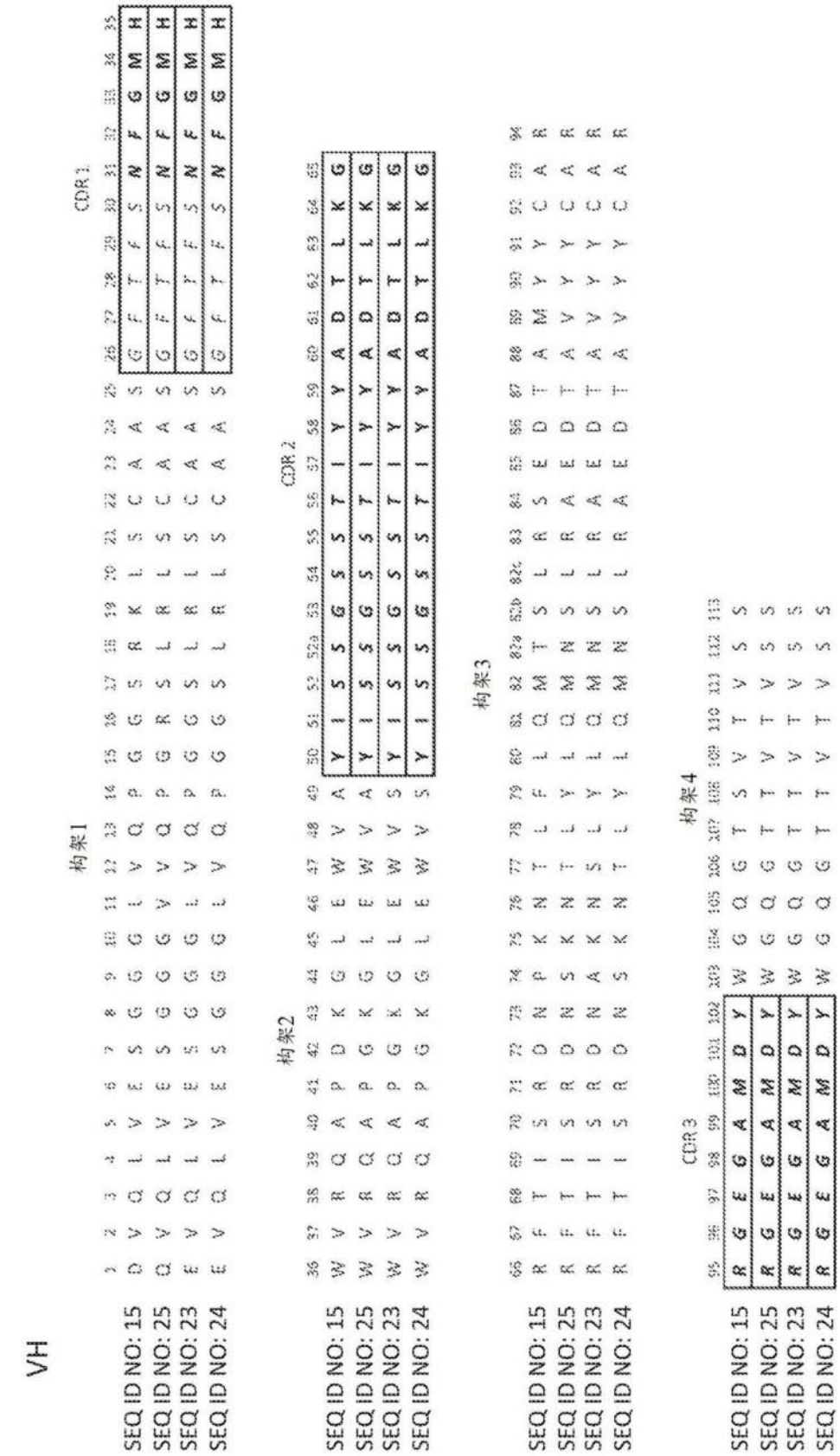

VH
构架1
CDR1
构架2
CDR2
构架3
构架4
CDR3
SEQ ID NO: 15
SEQ ID NO: 25
SEQ ID NO: 23
SEQ ID NO: 24

图5A

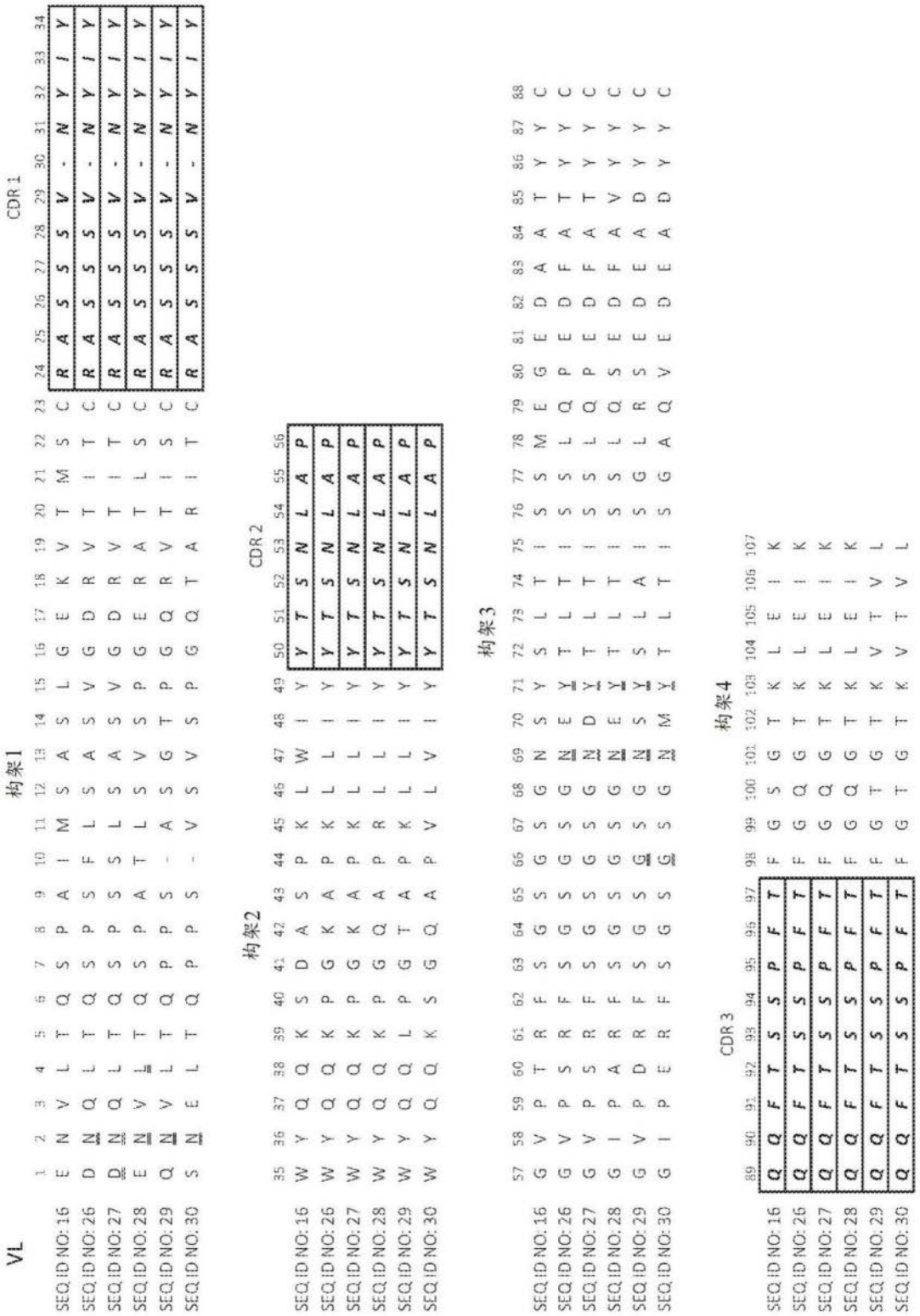

VL
构架1
CDR 1
构架2
CDR 2
构架3
构架4
CDR 3
SEQ ID NO: 16
SEQ ID NO: 26
SEQ ID NO: 27
SEQ ID NO: 28
SEQ ID NO: 29
SEQ ID NO: 30

图5B

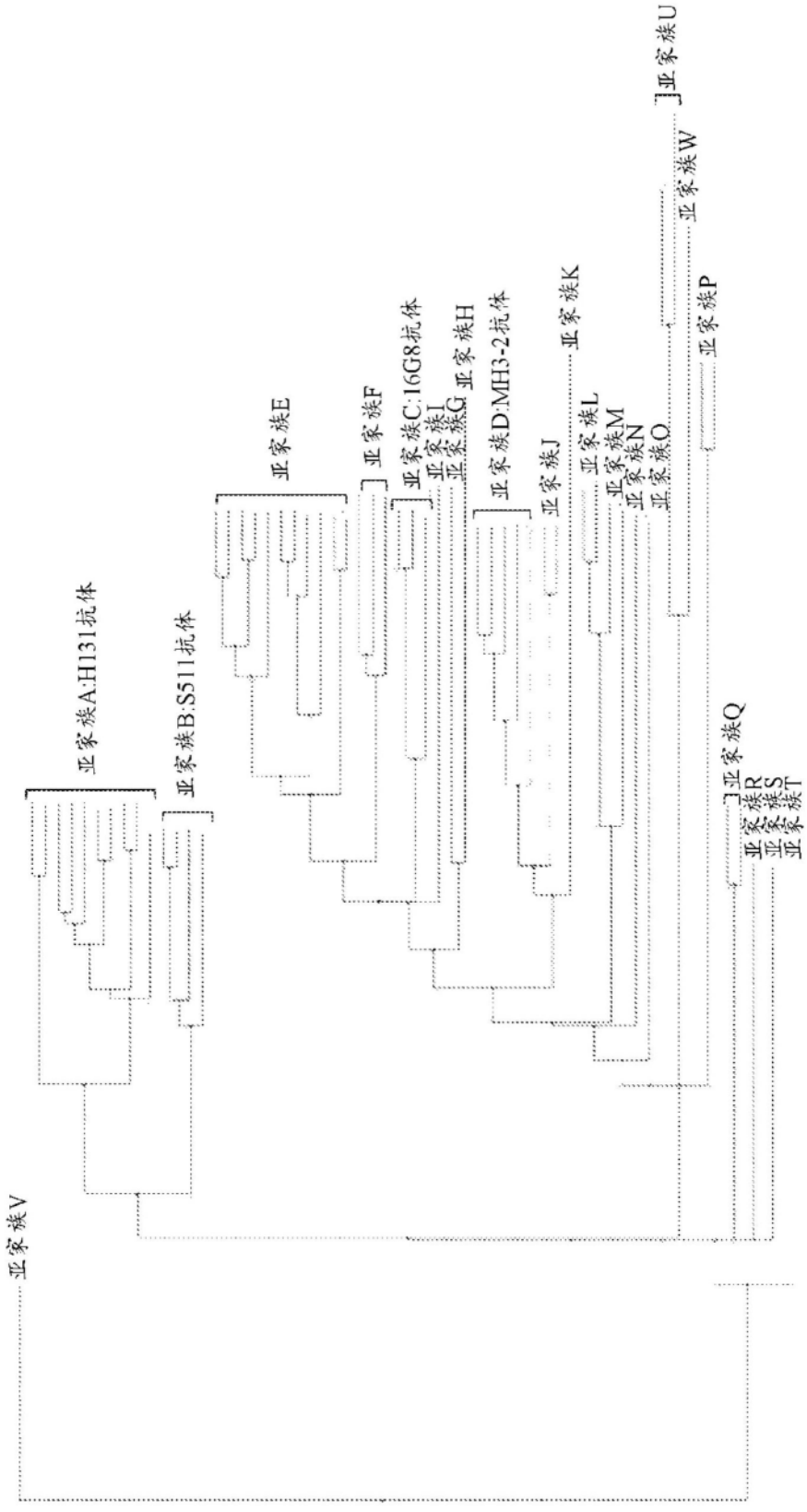

亚家族A:H131抗体
亚家族B:S511抗体
亚家族E
亚家族F
亚家族C:16G8抗体
亚家族I
亚家族G
亚家族H
亚家族D:MH3-2抗体
亚家族J
亚家族K
亚家族L
亚家族M
亚家族N
亚家族O
亚家族U
亚家族W
亚家族P
亚家族Q
亚家族R
亚家族S
亚家族T
亚家族V

图6

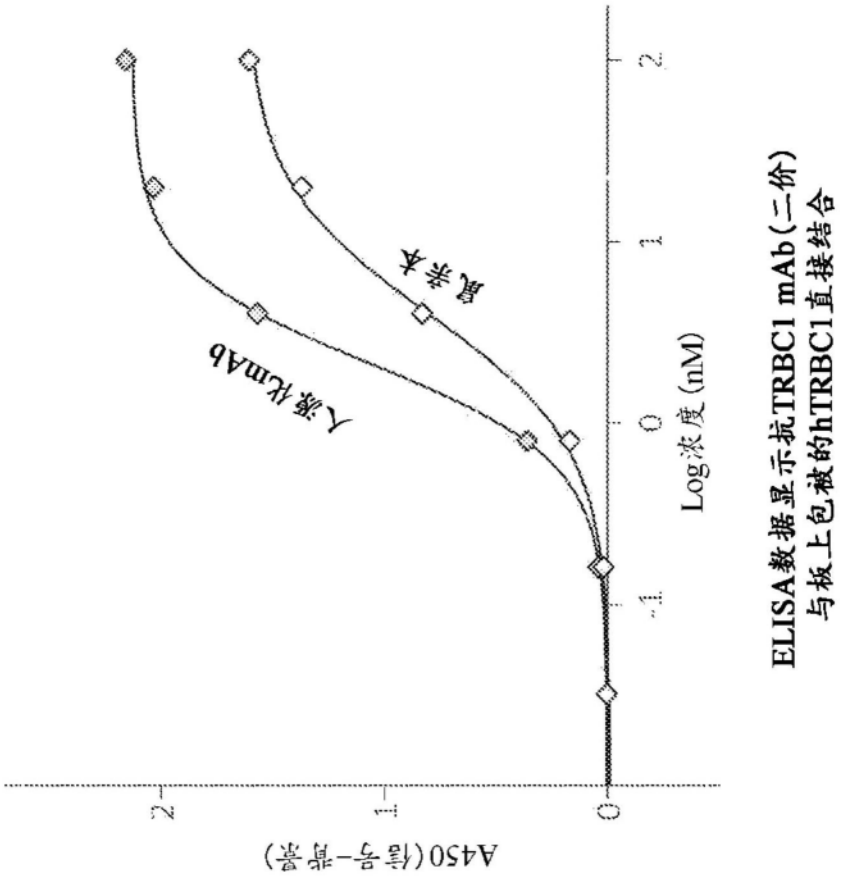
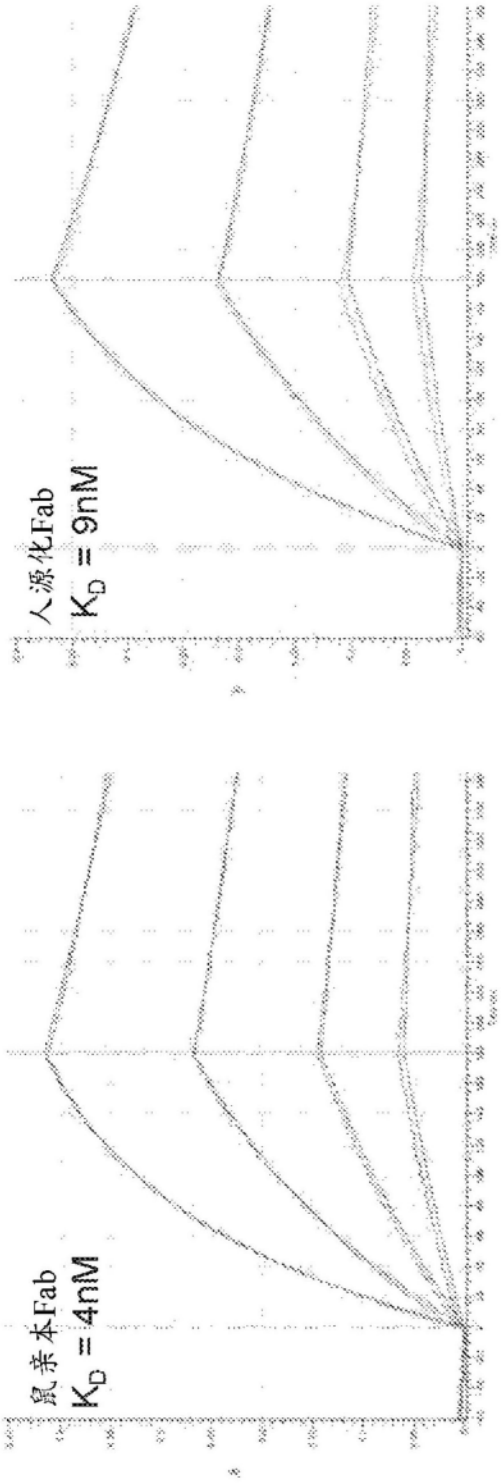

ELISA数据显示抗TRBC1 mAb(二价)
与板上包被的hTRBC1直接结合
A450(信号-背景)
Log浓度(nM)
人源化mAb
鼠杂交

图7



Octet数据显示抗TRBC1 Fab与hTRBC1的结合。
hTRBC1被传感器尖端捕获并浸入含有不同浓度单价Fab的溶液中

图8

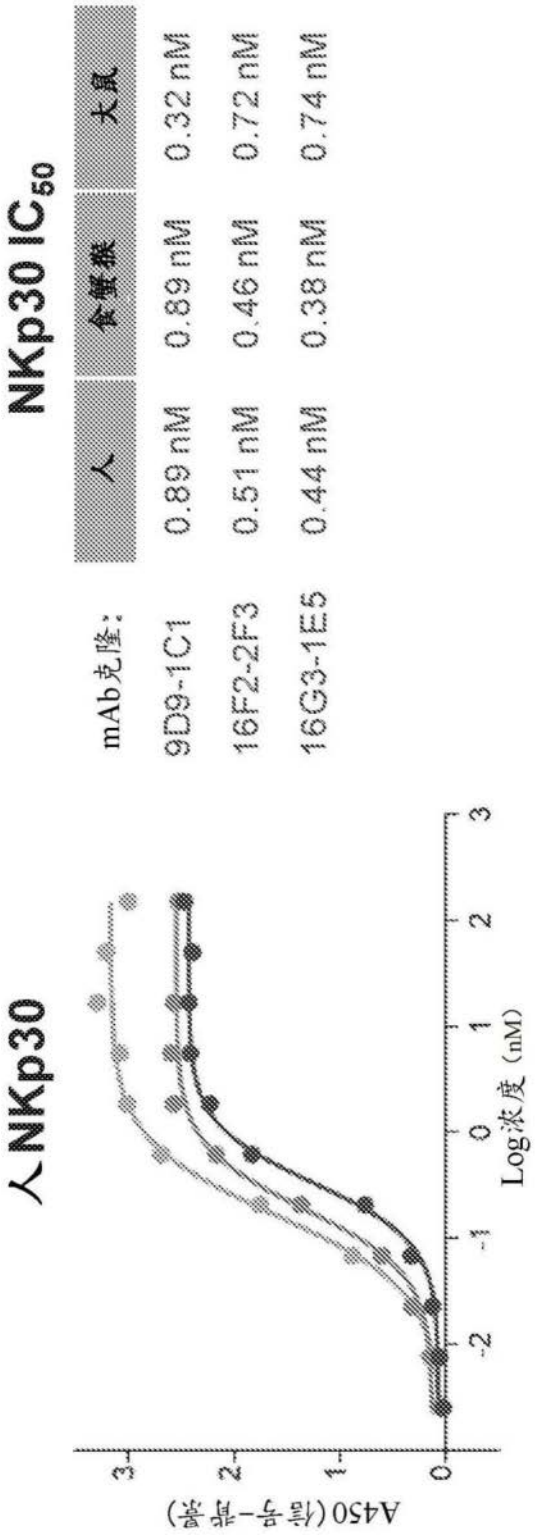

NKp30 IC50
mAb克隆:
人
食蟹猴
大鼠
9D9-1C1
0.89 nM
0.89 nM
0.32 nM
16F2-2F3
0.51 nM
0.46 nM
0.72 nM
16G3-1E5
0.44 nM
0.38 nM
0.74 nM
人NKp30
A450(信号-背景)
Log浓度(nM)

图9

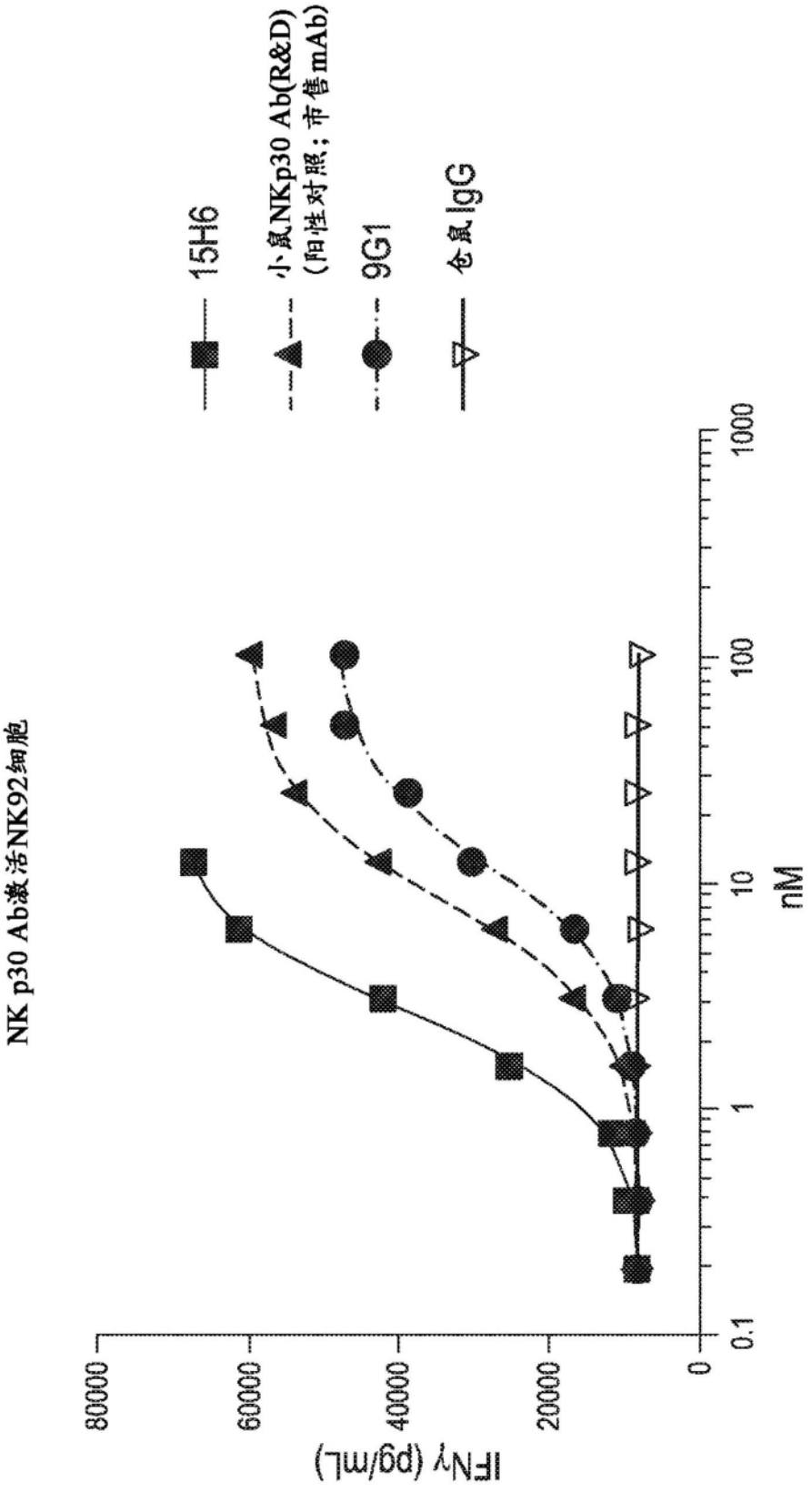

NK p30 Ab激活NK92细胞
15H6
小鼠NKp30 Ab(R&D)
(阳性对照；市售mAb)
9G1
仓鼠IgG
IFNγ (pg/mL)
80000
60000
40000
20000
0
0.1
1
10
100
1000
nM

图10

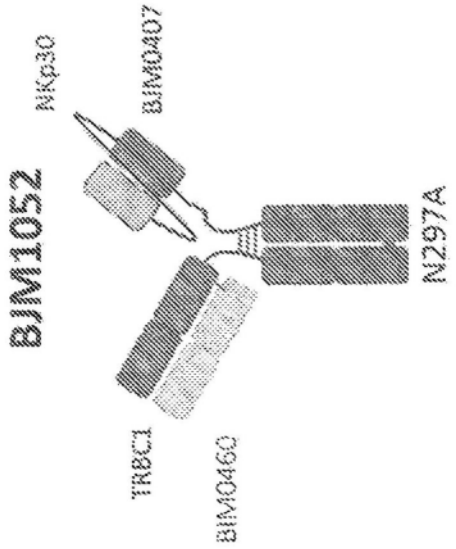


图11A

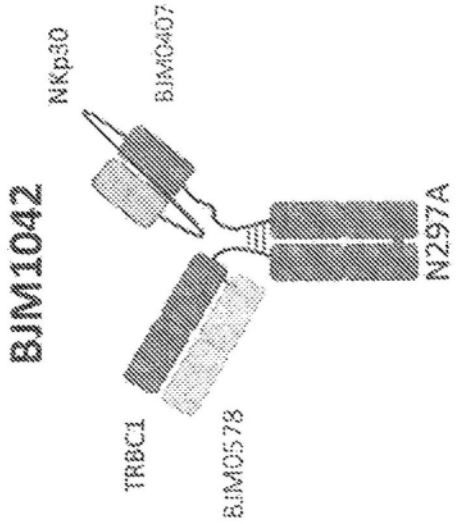


图11B

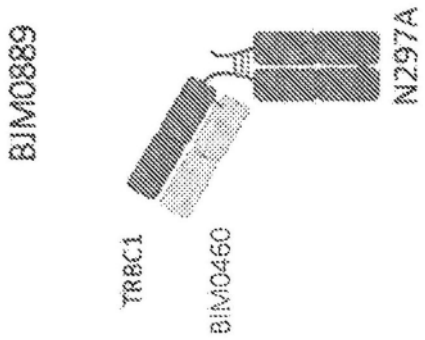


图11C

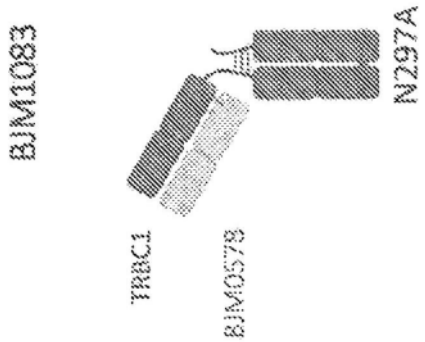

BJM1083
N297A
TRBC1
BJM0578

图11D

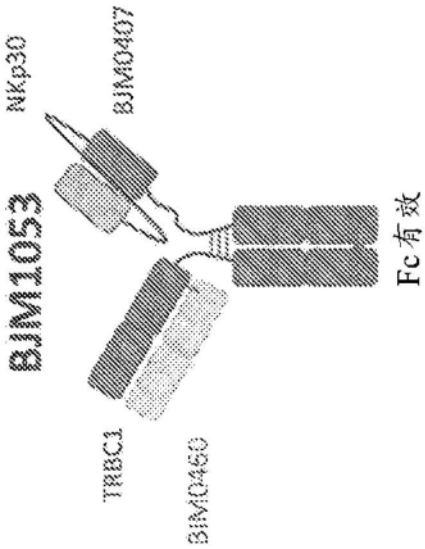

NKp30
BJM0407
BJM1053
Fc有效
TRBC1
BJM0460

图11E

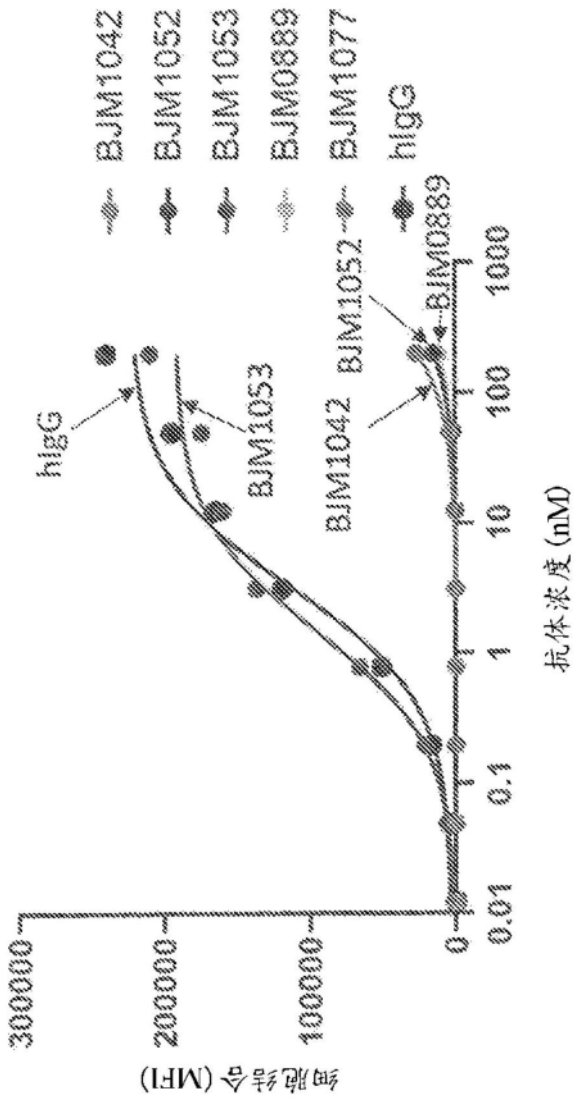

BJM1042
BJM1052
BJM1053
BJM0889
BJM1077
hIgG
BJM0889
BJM1052
BJM1053
hIgG
BJM1042
1000
100
10
1
0.1
0.01
0
抗体浓度(nM)
300000
200000
100000
细胞结合(MFI)

图12A

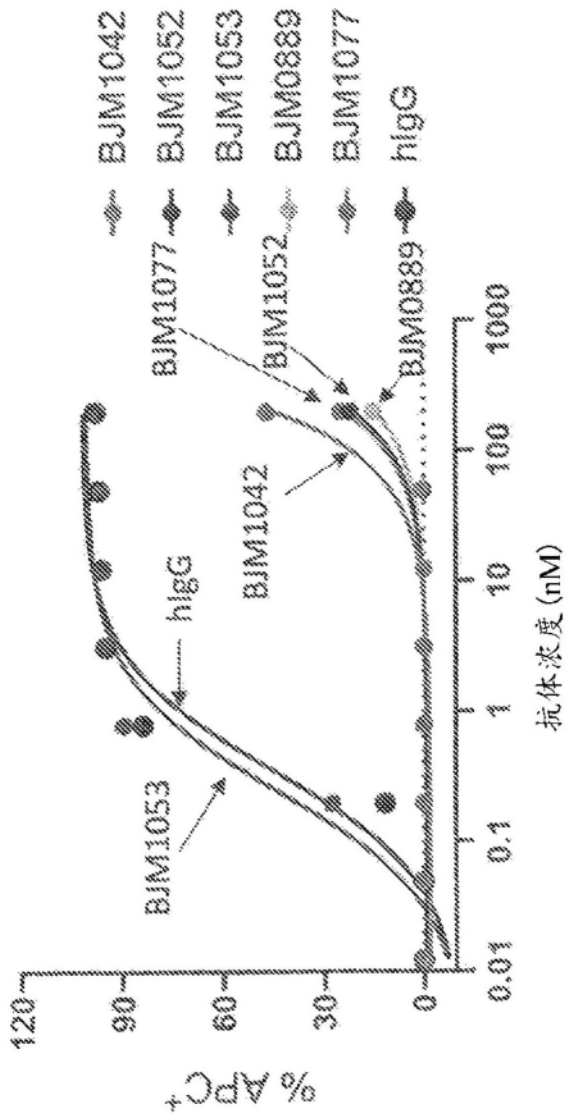

BJM1042
BJM1052
BJM1053
BJM0889
BJM1077
hIgG
BJM1077
BJM1052
BJM0889
hIgG
BJM1042
BJM1053
% APC+
120
90
60
30
0
0.01
0.1
1
10
100
1000
抗体浓度(nM)

图12B

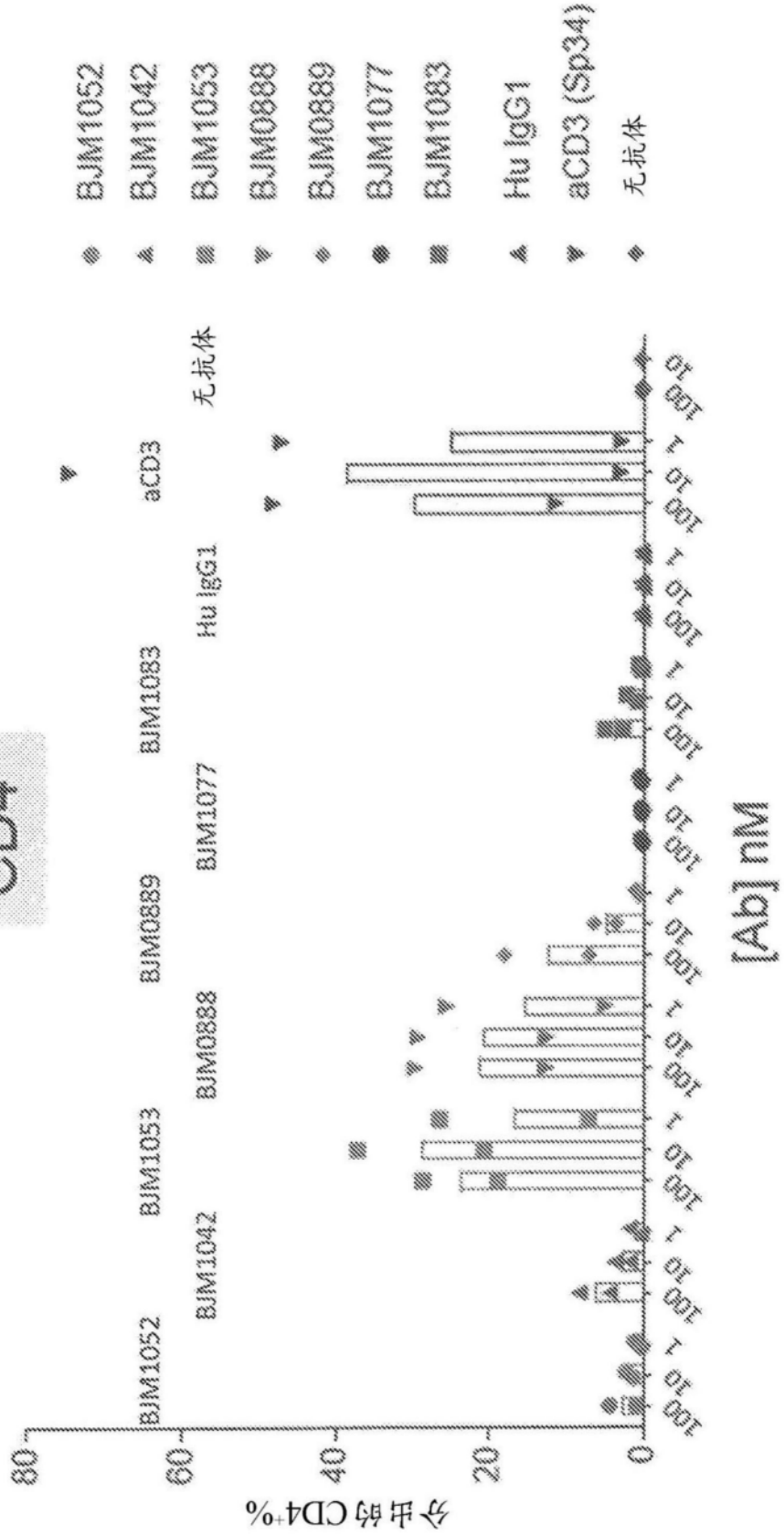

CD4
BJM1052
BJM1042
BJM1053
BJM0888
BJM0889
BJM1077
BJM1083
Hu IgG1
aCD3 (Sp34)
无抗体
分出的 CD4+%
[Ab] nM

图13A

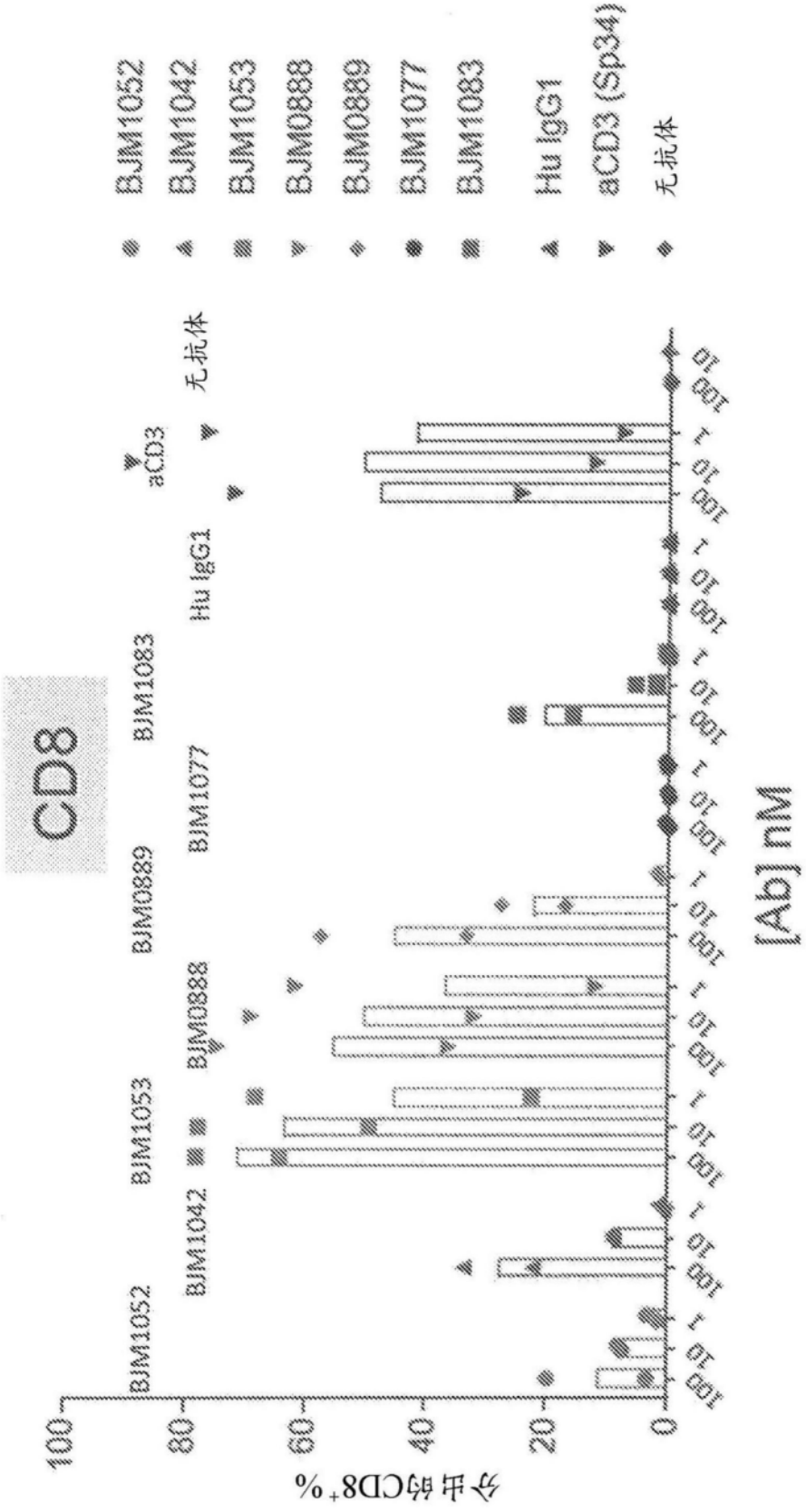

CD8
BJM1052
BJM1042
BJM1053
BJM0888
BJM0889
BJM1077
BJM1083
Hu IgG1
aCD3 (Sp34)
无抗体
aCD3
分出的CD8+%
100
80
60
40
20
0
[Ab] nM

图13B

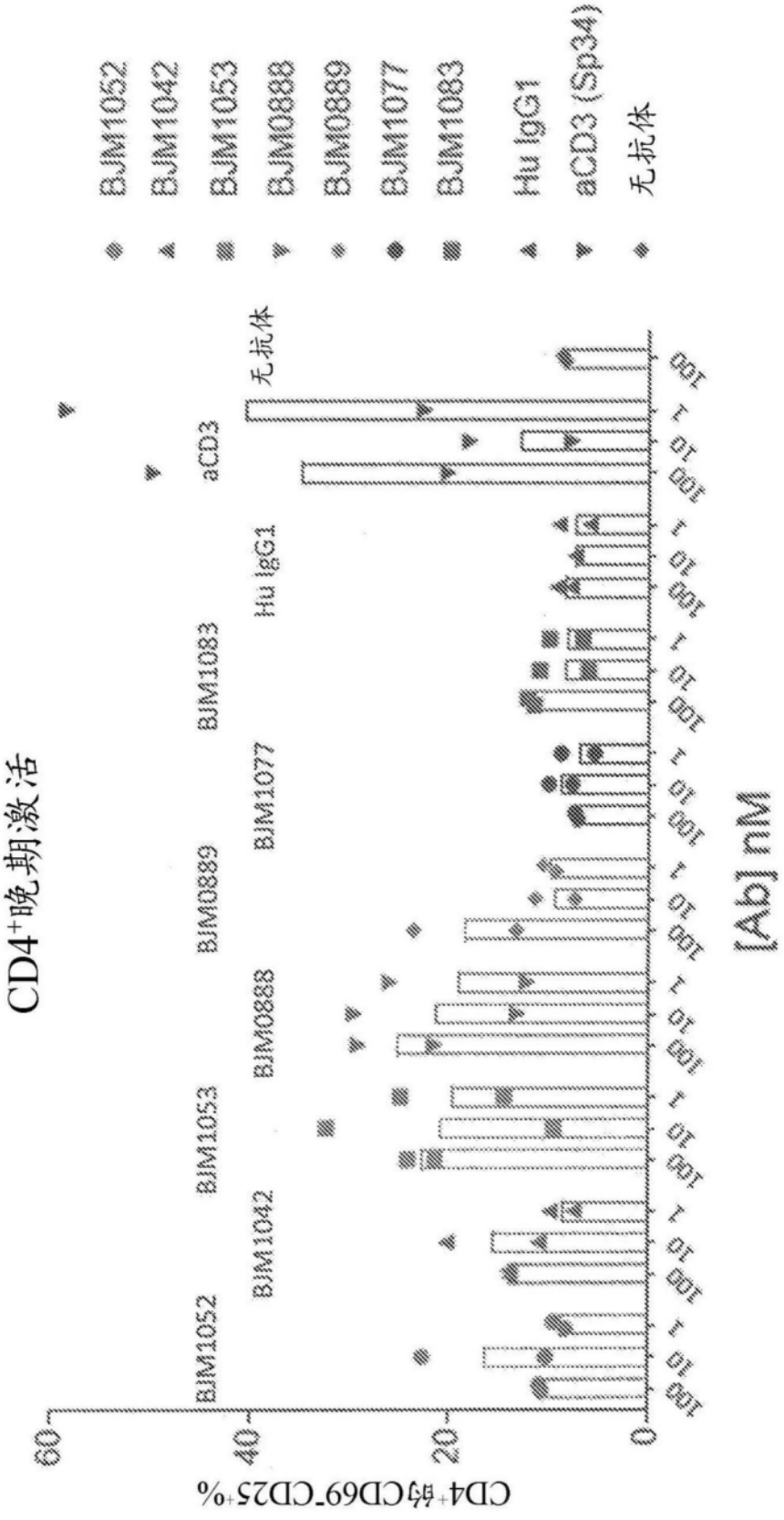

CD4+晚期激活
CD4+的CD69-CD25+%
60
40
20
0
[Ab] nM
BJM1052
BJM1042
BJM1053
BJM0888
BJM0889
BJM1077
BJM1083
Hu IgG1
aCD3 (Sp34)
无抗体
aCD3
无抗体

图13C

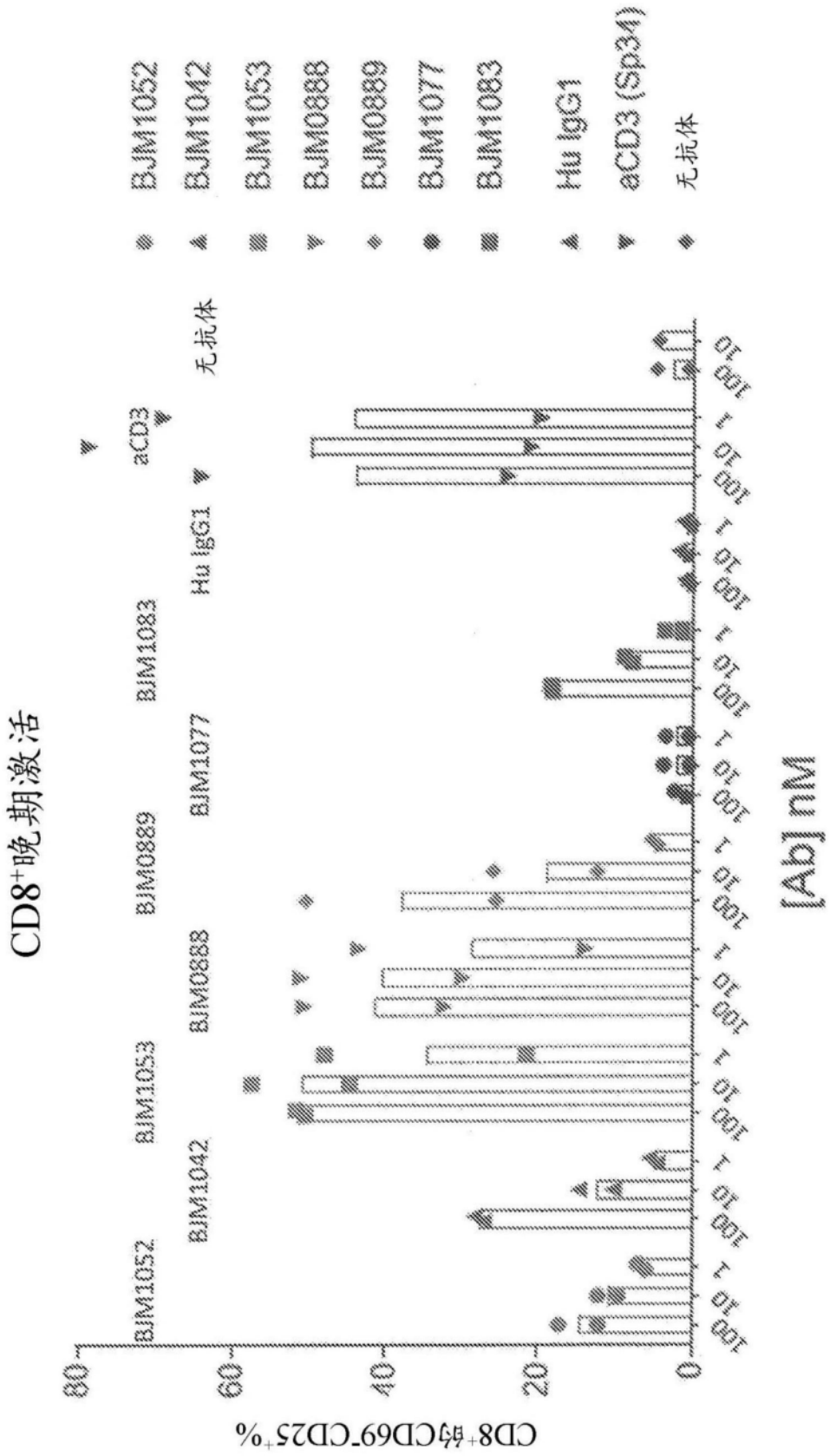

CD8+晚期激活
CD8+的CD69-CD25+%
[Ab] nM
BJM1052
BJM1042
BJM1053
BJM0888
BJM0889
BJM1077
BJM1083
aCD3
Hu IgG1
无抗体
aCD3 (Sp34)

图13D

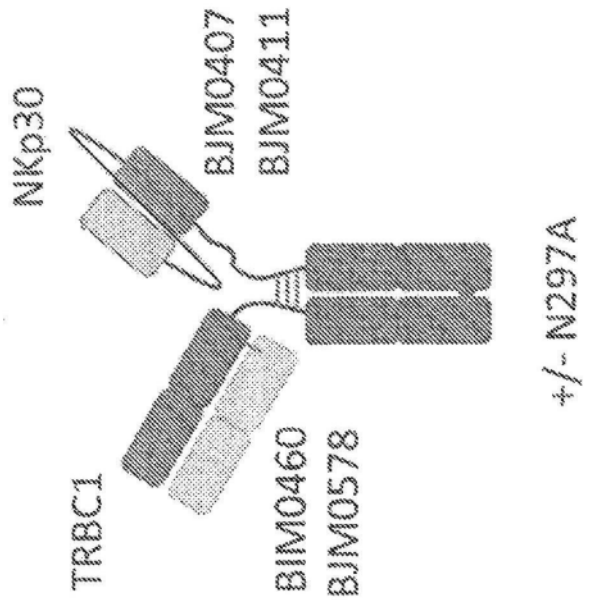


图14A

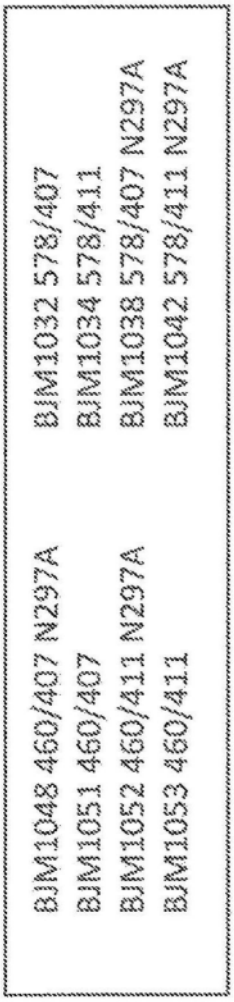

BJM1048 460/407 N297A
BJM1051 460/407
BJM1052 460/411 N297A
BJM1053 460/411
BJM1032 578/407
BJM1034 578/411
BJM1038 578/407 N297A
BJM1042 578/411 N297A

图14B

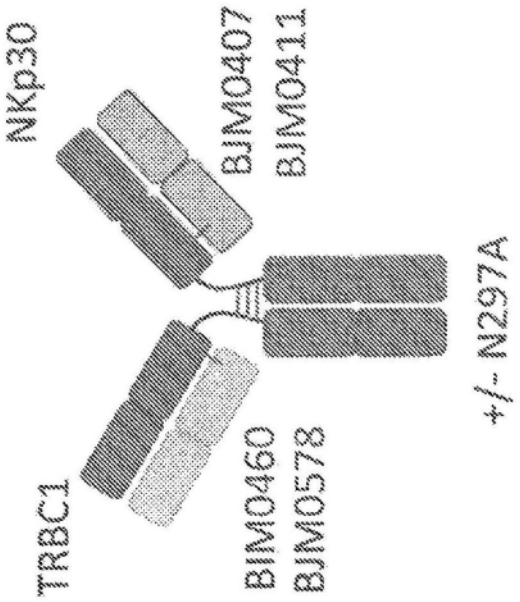
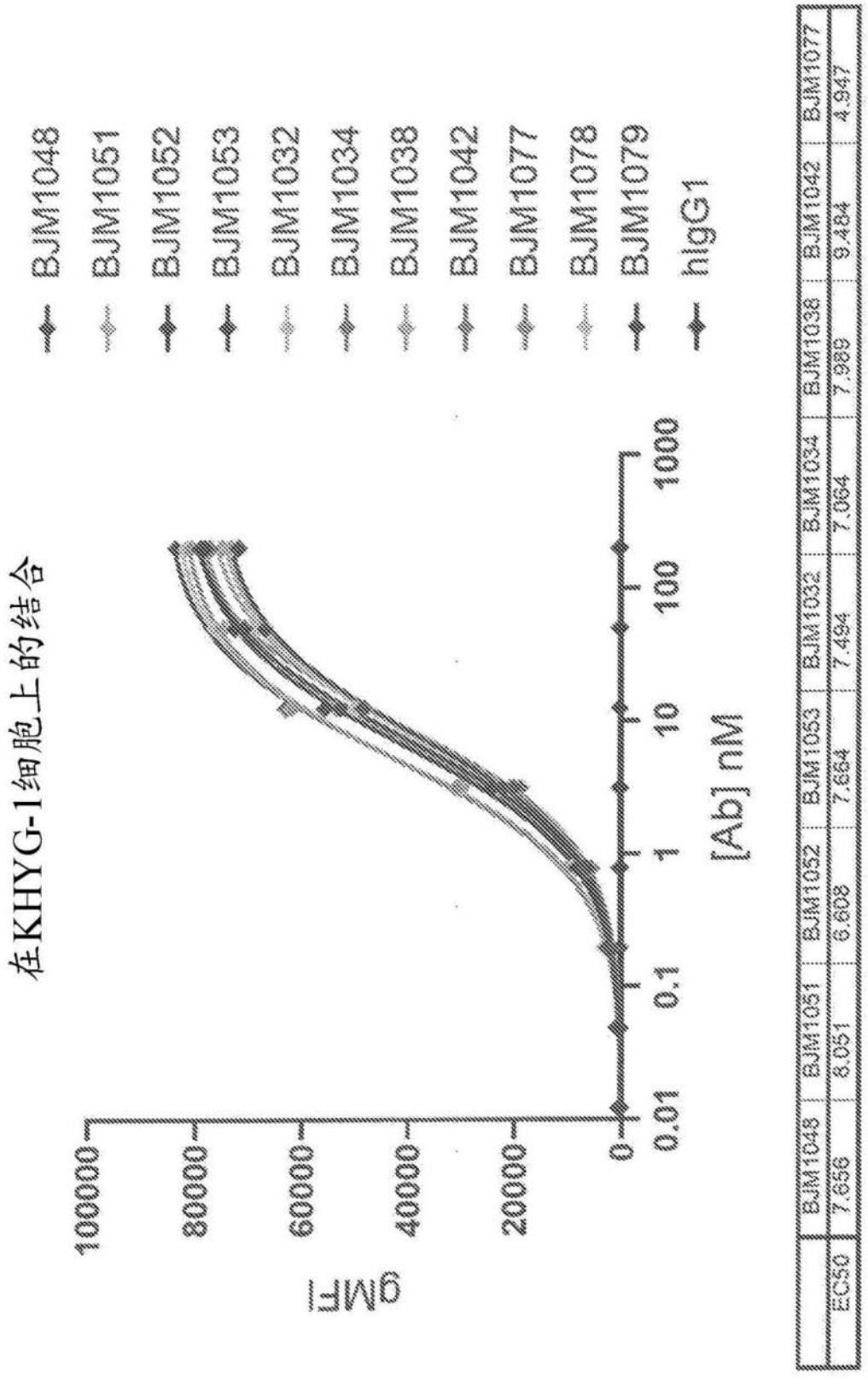

NKp30
BJM0407
BJM0411
+/- N297A
TRBC1
BIM0460
BJM0578

图14C

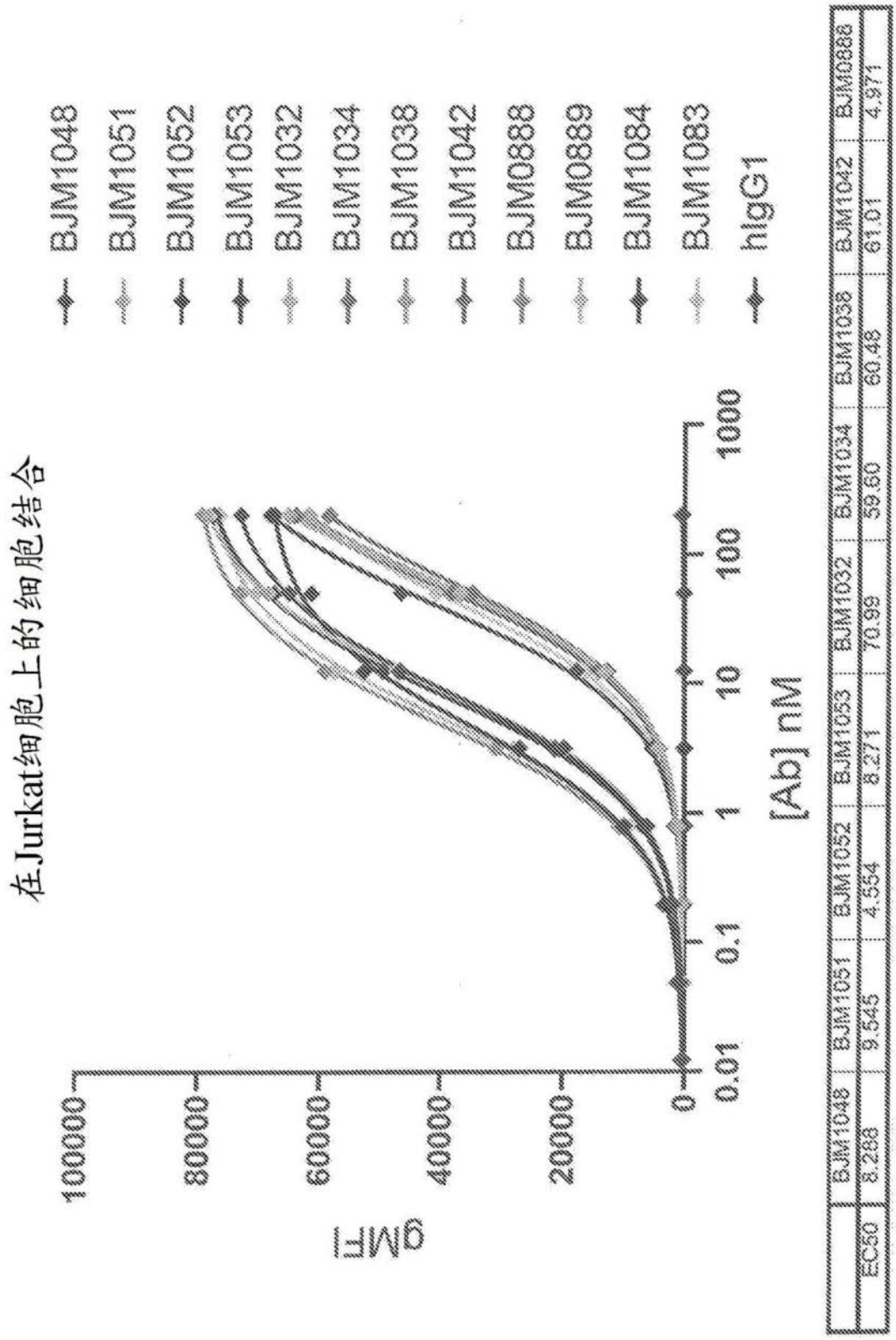

BJM0862 460/407
BJM0863 460/411
BJM1028 578/407 N297A
BJM1046 578/411 N297A

图14D



	BJM1048	BJM1051	BJM1052	BJM1053	BJM1032	BJM1034	BJM1038	BJM1042	BJM1077
EC50	7.656	8.051	6.608	7.664	7.494	7.064	7.989	9.484	4.947

图15A



	BJM1048	BJM1051	BJM1052	BJM1053	BJM1032	BJM1034	BJM1038	BJM1042	BJM0888
EC50	8.288	9.545	4.554	8.271	70.99	59.60	60.48	61.01	4.971

图15B

BJM1048	Nkp30/TRBC1双特异性407/460_N297A
BJM1051	Nkp30/TRBC1双特异性407/460_WT
BJM1052	Nkp30/TRBC1双特异性411/460_N297A
BJM1053	Nkp30/TRBC1双特异性411/460_WT
BJM1032	Nkp30/TRBC1双特异性407/578_WT
BJM1034	Nkp30/TRBC1双特异性411/578_WT
BJM1038	Nkp30/TRBC1双特异性407/578_N297A
BJM1042	Nkp30/TRBC1双特异性411/578_N297A
BJM1077	Nkp30单臂对照411 N297A
BJM1078	Nkp30单臂对照407 WT
BJM1079	Nkp30单臂对照411 WT
BJM0888	TRBC1单臂 WT 460
BJM0889	TRBC1单臂 N297A 460
BJM1084	TRBC1 578单臂对照 WT
BJM1083	TRBC1 578单臂对照 N297A 杵

图15C

	gMFI	
样品	EC50 KHYG-1 (NKp30) (nM)	EC50 Jurkat (TRBC1) (nM)
BJM1048	7.656	8.288
BJM1051	8.051	9.545
BJM1052	6.608	4.554
BJM1053	7.664	8.271
BJM1032	7.494	70.99
BJM1034	7.064	59.6
BJM1038	7.989	60.48
BJM1042	9.484	61.01
BJM1077	4.947	
BJM1078	5.2	
BJM1079	5.357	
BJM0888		4.971
BJM0889		5.261
BJM1084		40.33
BJM1083		44.16

图15D

Jurkat	BJM1052	BJM1043
EC_{50}	0.3976	0.3838

BJM1052: NKp30xTRBC1(460)
BJM1042: NKp30xTRBC1(578)
BJM0889: TRBC1 (460, N297A)
BJM1077: NKp30 (N297A)
BJM1083:TRBC1 (578, N297A)

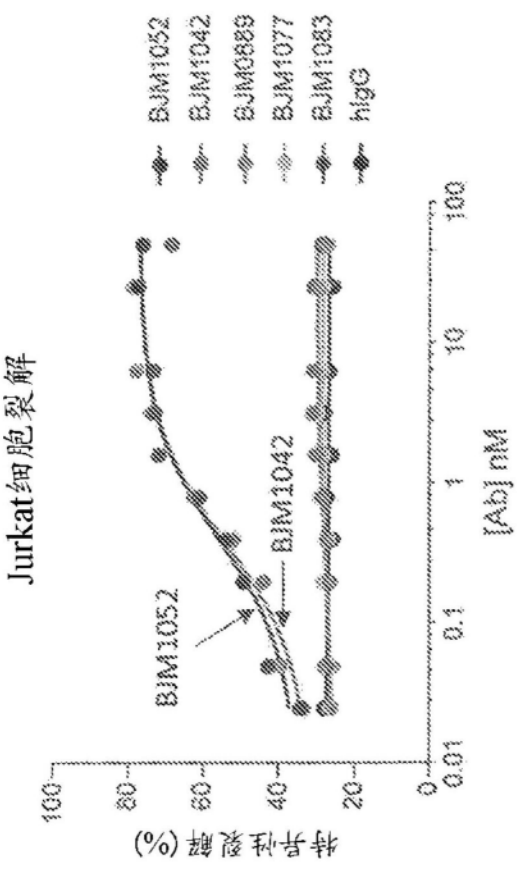


图16A

H9	BJM1052	BJM1042
EC_{50}	0.4775	0.9082

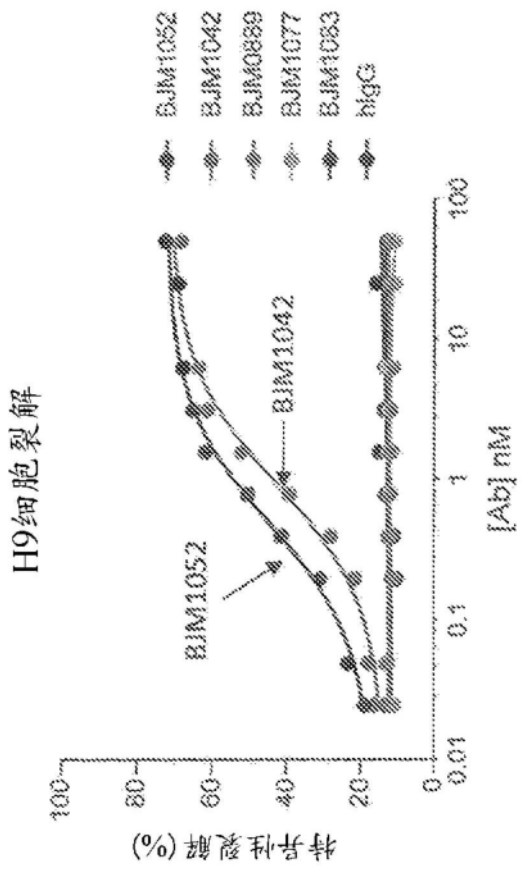


图16B

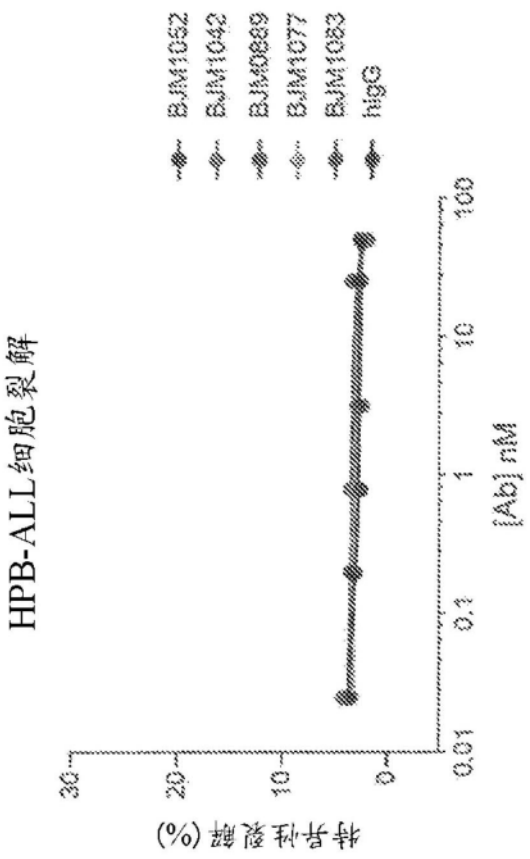

BJM1052
BJM1042
BJM0889
BJM1077
BJM1083
hIgG
HPB-ALL细胞裂解
特异性裂解 (%)
30
20
10
0
0.01
0.1
1
10
100
[Ab] nM

图16C

	BJM1052	BJM1042
EC50	0.064	0.1778

BJM1052: Mkp30xTRBC1(460)
BJM1042: Mkp30xTRBC1(578)
BJM0889: TRBC1 (460, N297A)
BJM1077: Mkp30 (N297A)
BJM1083:TRBC1 (578, N297A)

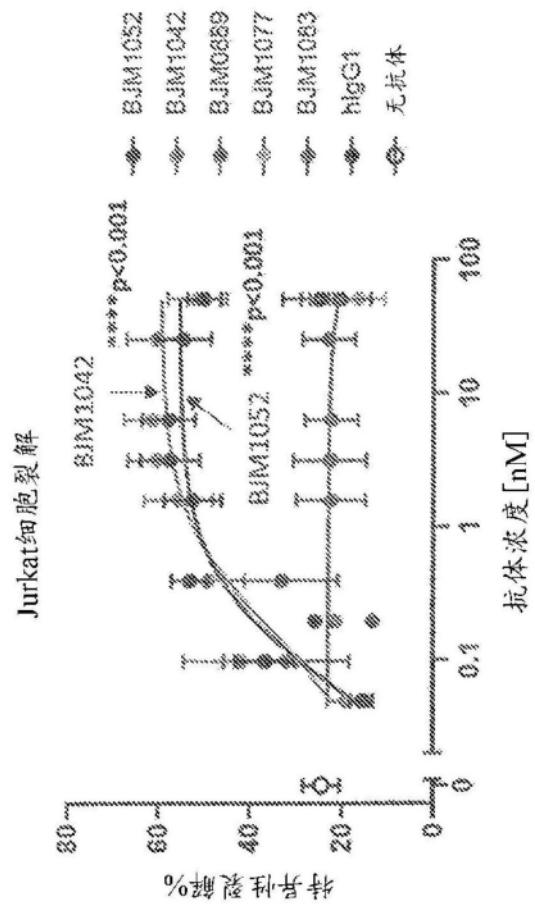


图17A

	BJM1052	BJM1042
EC50	0.075	0.238

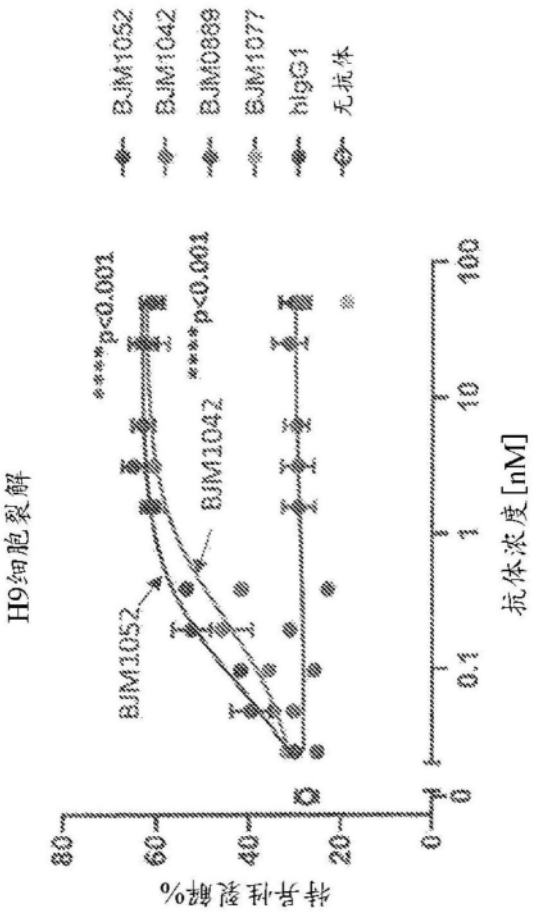


图17B

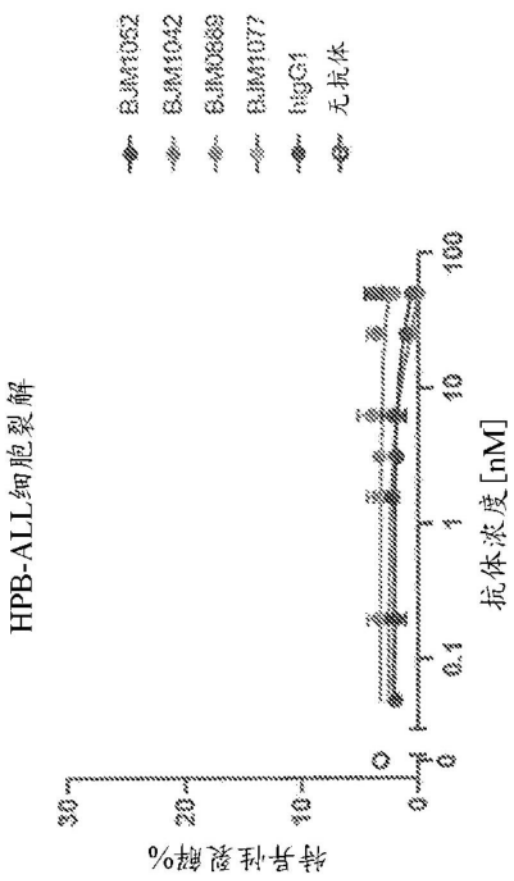

BJM1052
BJM1042
BJM0869
BJM1077
hIgG1
无抗体
HPB-ALL细胞裂解
特异性裂解%
抗体浓度[nM]
0
10
20
30
0
0.1
1
10
100

图17C

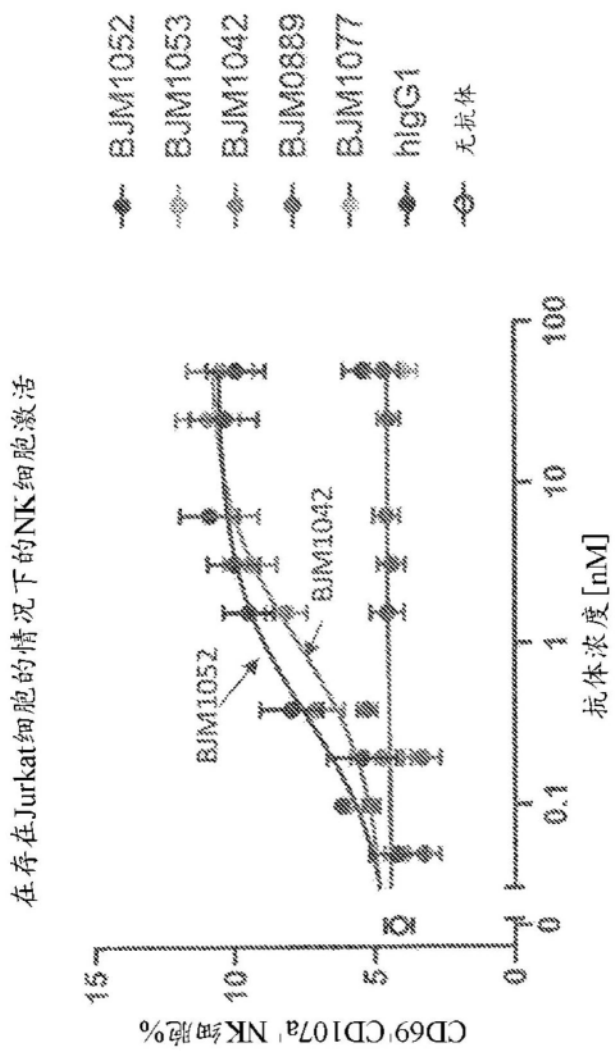

BJM1052
BJM1053
BJM1042
BJM0889
BJM1077
hIgG1
无抗体
在存在Jurkat细胞的情况下的NK细胞激活
CD69+CD107a+ NK细胞%
抗体浓度[nM]
BJM1052
BJM1042
0
5
10
15
0
0.1
1
10
100

图18A

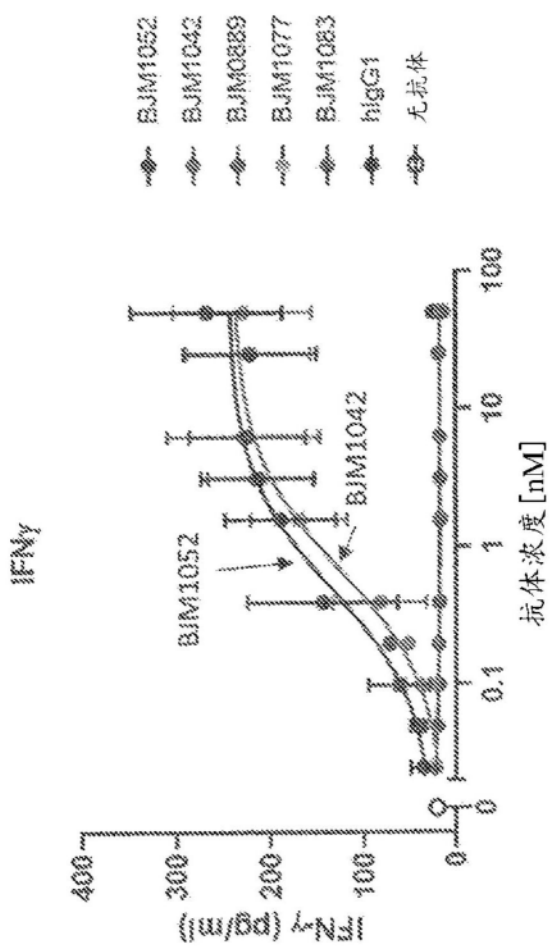

BJM1052
BJM1042
BJM0889
BJM1077
BJM1083
hIgG1
无抗体
IFNγ
BJM1052
BJM1042
IFNγ (pg/ml)
400
300
200
100
0
0
0.1
1
10
100
抗体浓度[nM]

图18B

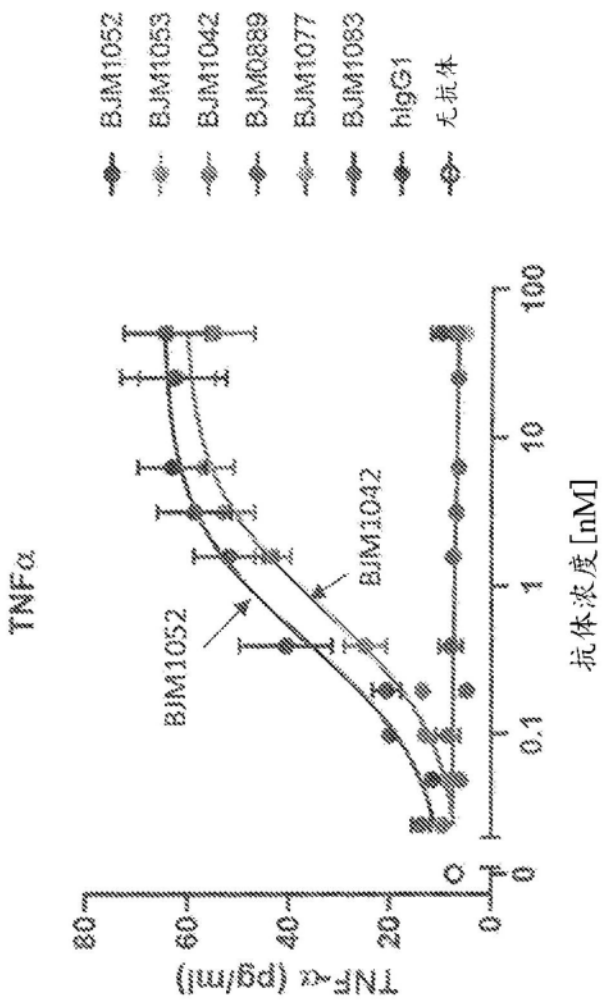

BJM1052
BJM1053
BJM1042
BJM0289
BJM1077
BJM1083
hIgG1
无抗体
TNFα
BJM1052
BJM1042
TNFα (pg/ml)
抗体浓度[nM]
0
20
40
60
80
0
0.1
1
10
100

图18C

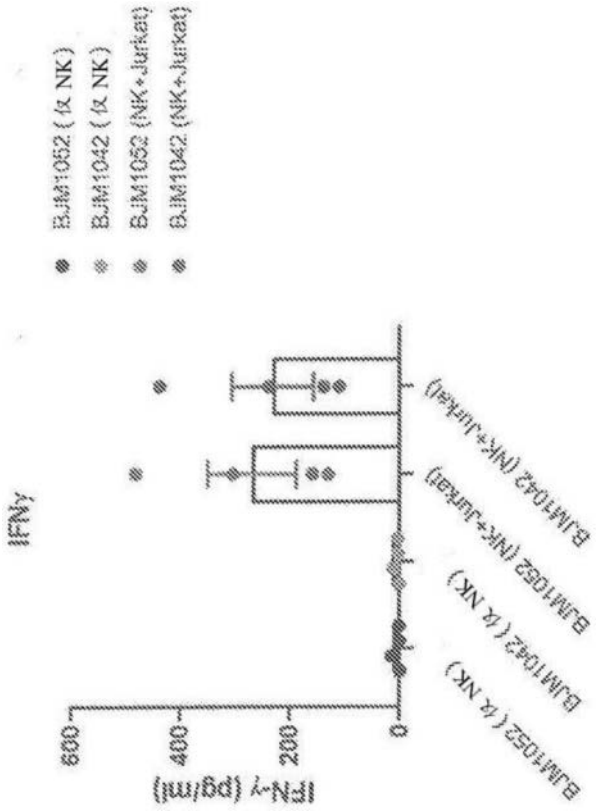

BJM1052 (/ α NK)
BJM1042 (/ α NK)
BJM1052 (NK+Jurkat)
BJM1042 (NK+Jurkat)
IFNγ
IFN-γ (pg/ml)
600
400
200
0
BJM1052 (/ α NK)
BJM1042 (/ α NK)
BJM1052 (NK+Jurkat)
BJM1042 (NK+Jurkat)

图19A

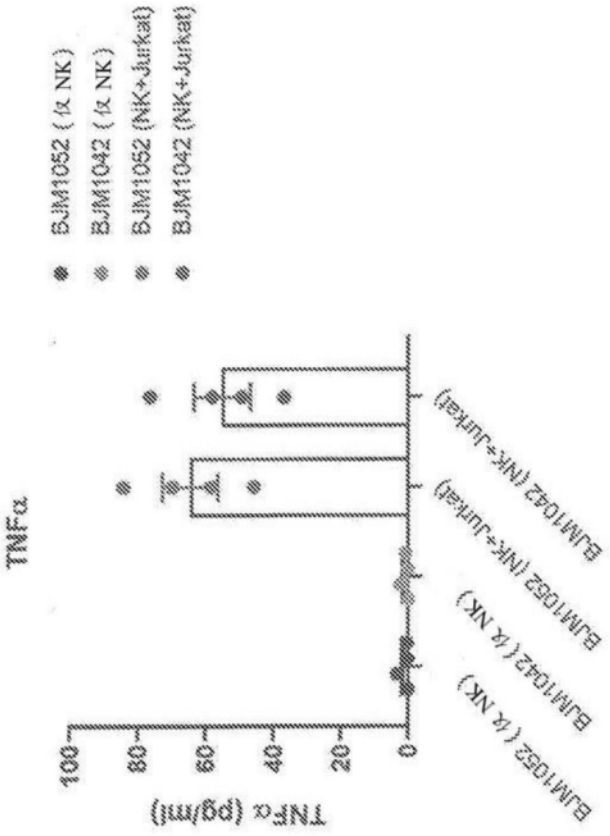

BJM1052 (α NK)
BJM1042 (α NK)
BJM1052 (NK+Jurkat)
BJM1042 (NK+Jurkat)
TNFα
TNFα (pg/ml)
100
80
60
40
20
0
BJM1052 (α NK)
BJM1042 (α NK)
BJM1052 (NK+Jurkat)
BJM1042 (NK+Jurkat)

图19B

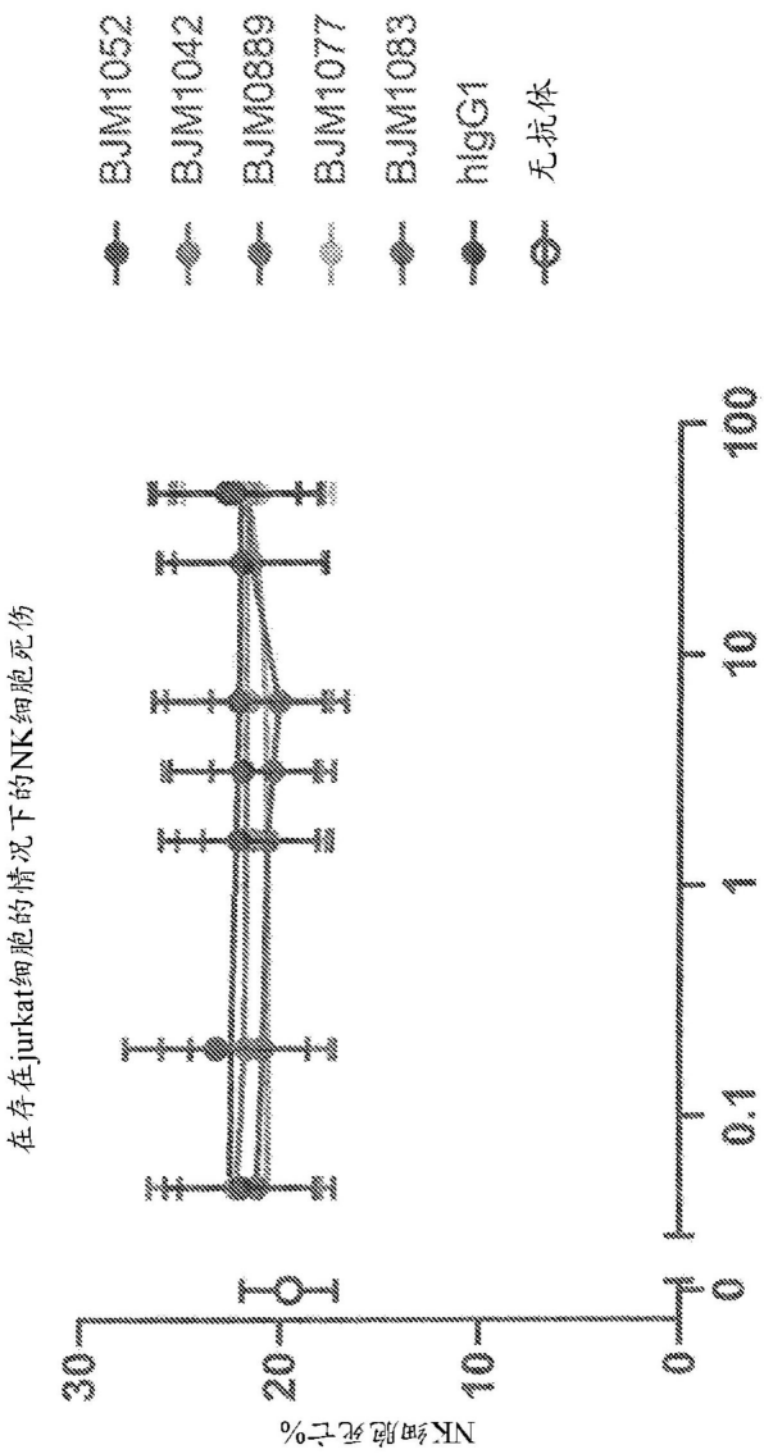

BJM1052
BJM1042
BJM0889
BJM1077
BJM1083
hIgG1
无抗体
在存在jurkat细胞的情况下的NK细胞死伤
NK细胞死亡%
0
10
20
30
0
0.1
1
10
100

图20

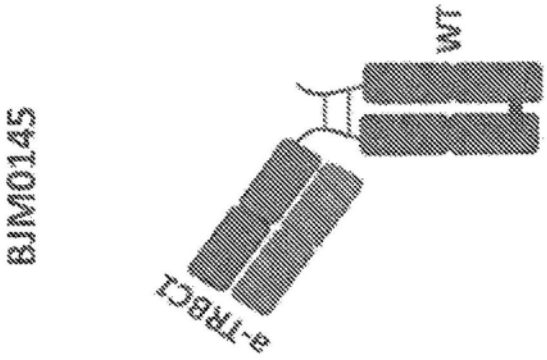


图21A

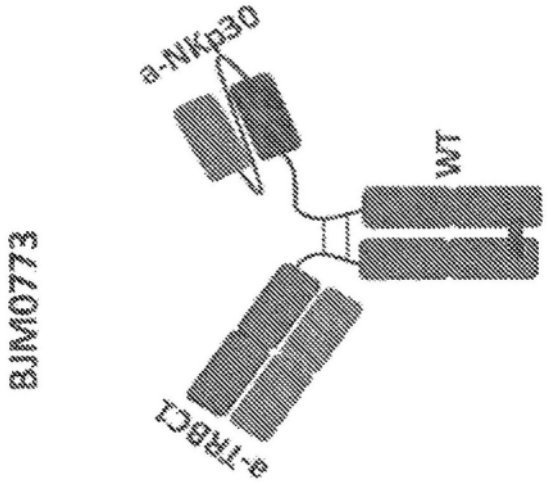


图21B

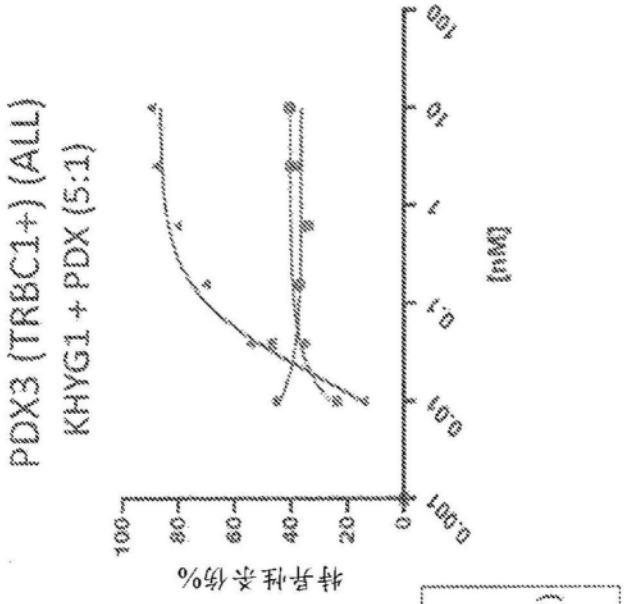

PDX3 (TRBC1+) (ALL)
KHYG1 + PDX (5:1)
特异性杀伤%
100
80
60
40
20
0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
[nM]
hIgG
BJM0145 (TRBC1)
BJM0773 NKp30-TRBC1)
无抗体

图 22B

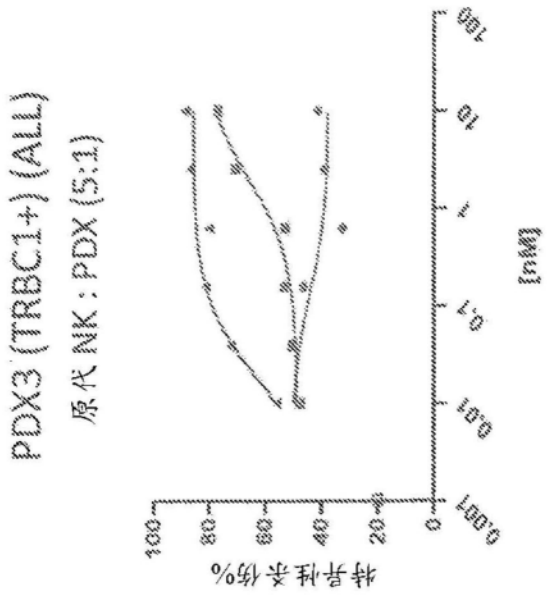

PDX3 (TRBC1+) (ALL)
原代 NK : PDX (5:1)
特异性杀伤%
100
80
60
40
20
0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
[nM]

图 22A

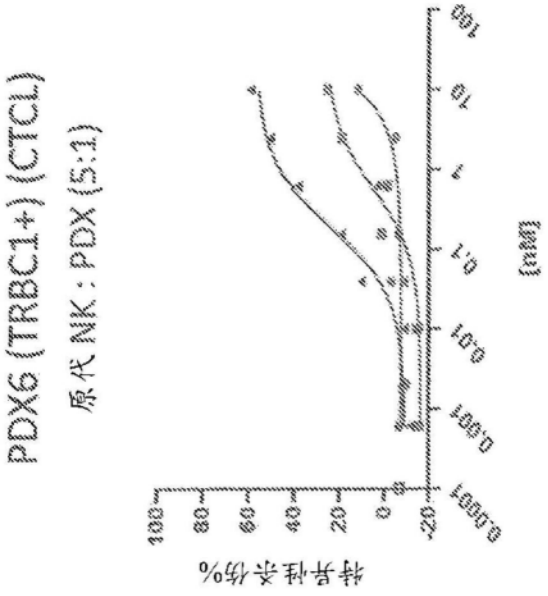

PDX6 (TRBC1+) (CTCL)
原代 NK : PDX (5:1)
特异性杀伤%
100
80
60
40
20
0
-20
100
10
1
0.1
0.01
0.001
0.0001
[nM]

图22C

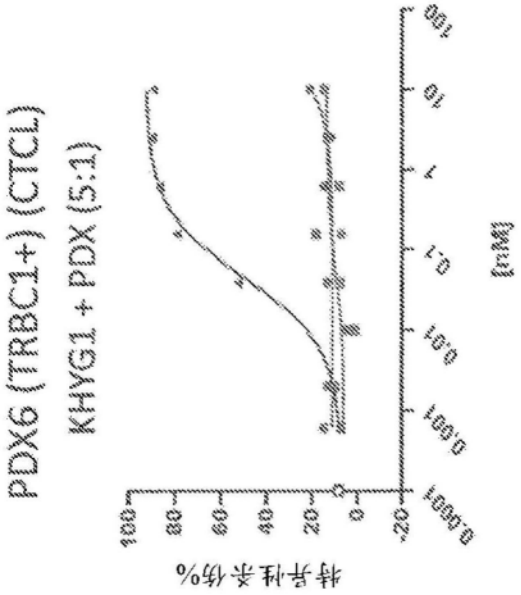

PDX6 (TRBC1+) (CTCL)
KHYG1 + PDX (5:1)
特异性杀伤%
100
80
60
40
20
0
-20
100
10
1
0.1
0.01
0.001
0.0001
[nM]

图22D

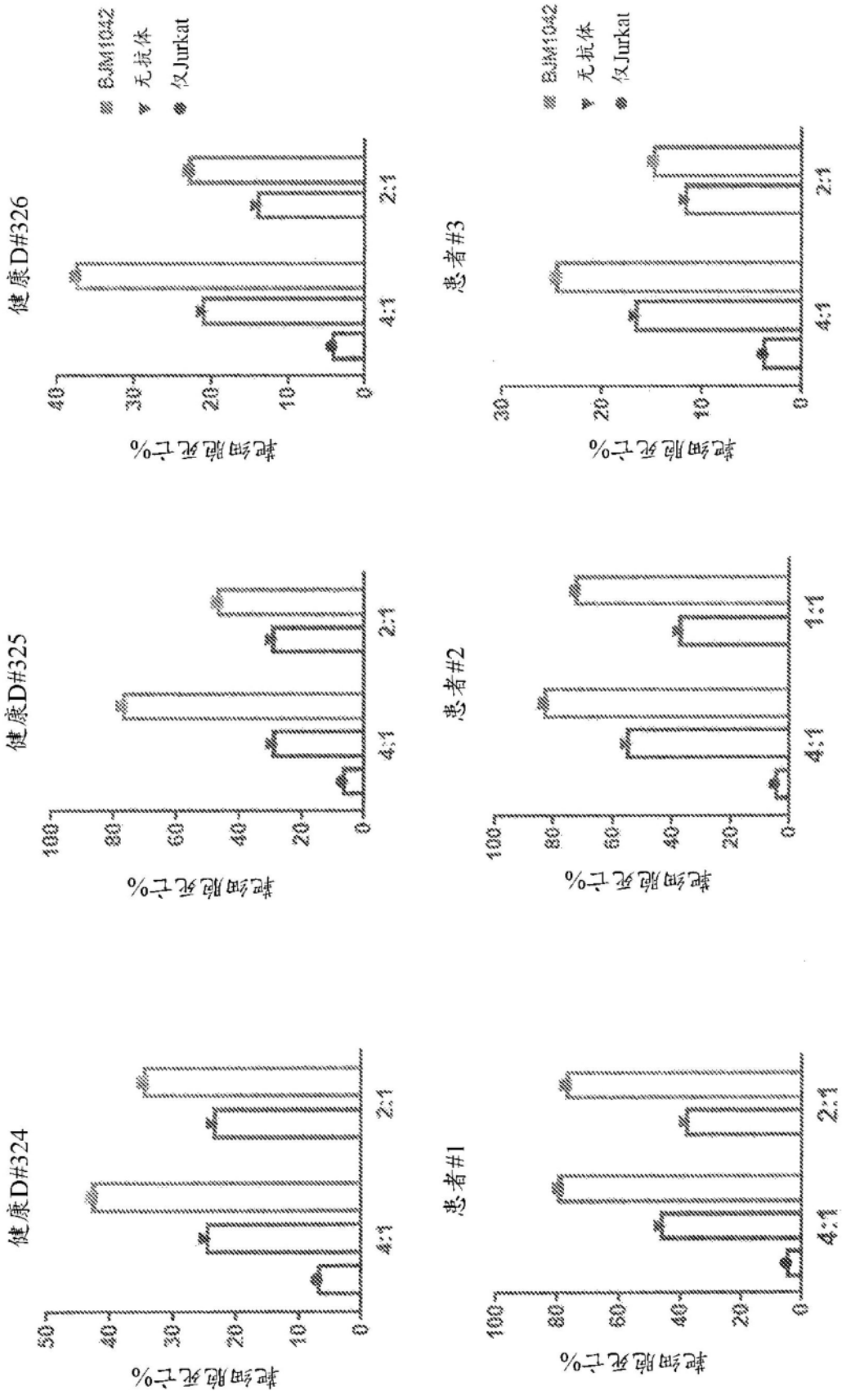

健康D#324
健康D#325
健康D#326
患者#1
患者#2
患者#3
靶细胞死亡%
BM1042
无抗体
仅Jurkat
4:1
2:1
1:1

图23

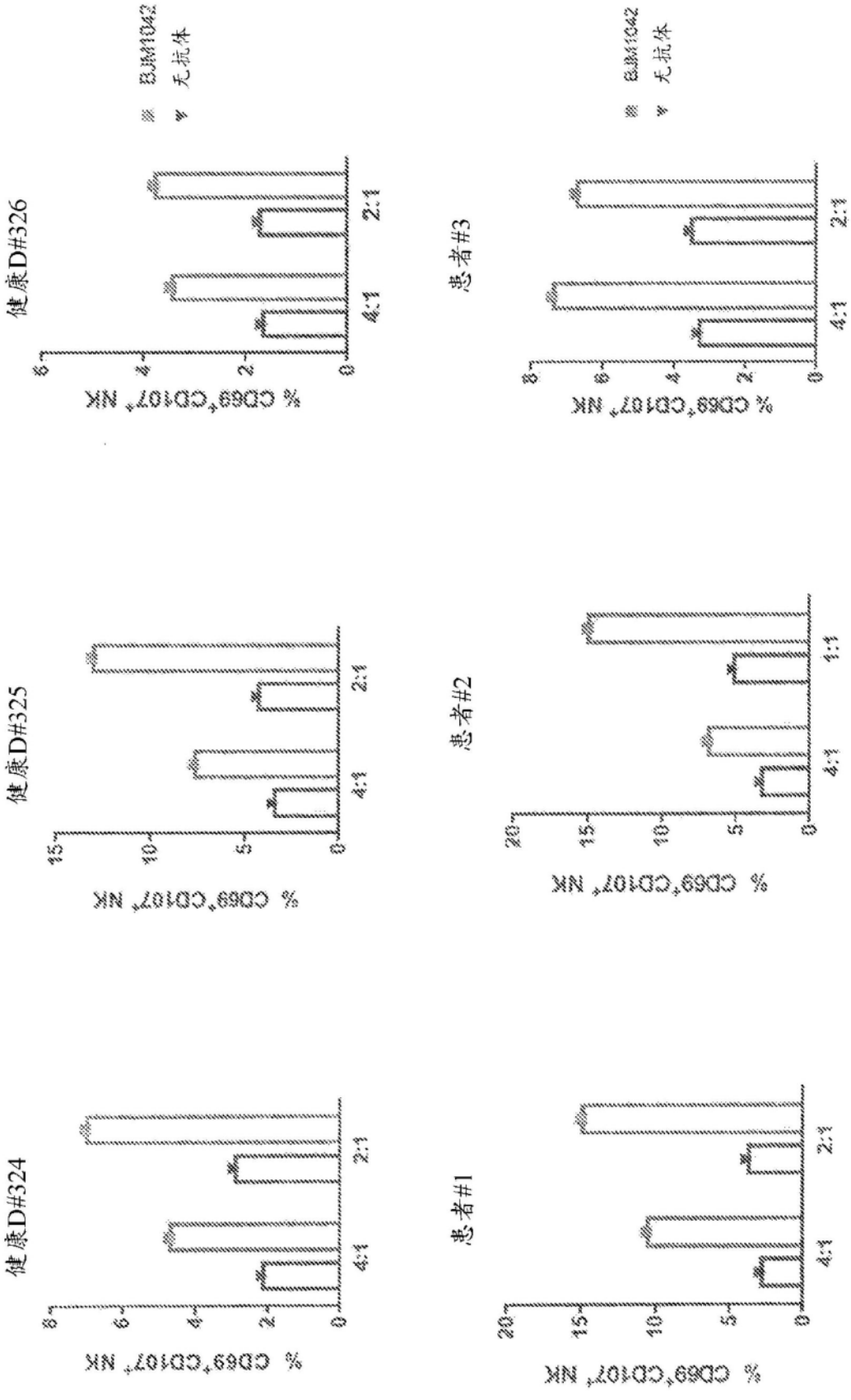

健康D#326
健康D#325
健康D#324
患者#3
患者#2
患者#1
BJM1042
无抗体
% CD69+CD107+ NK
4:1
2:1
1:1

图24

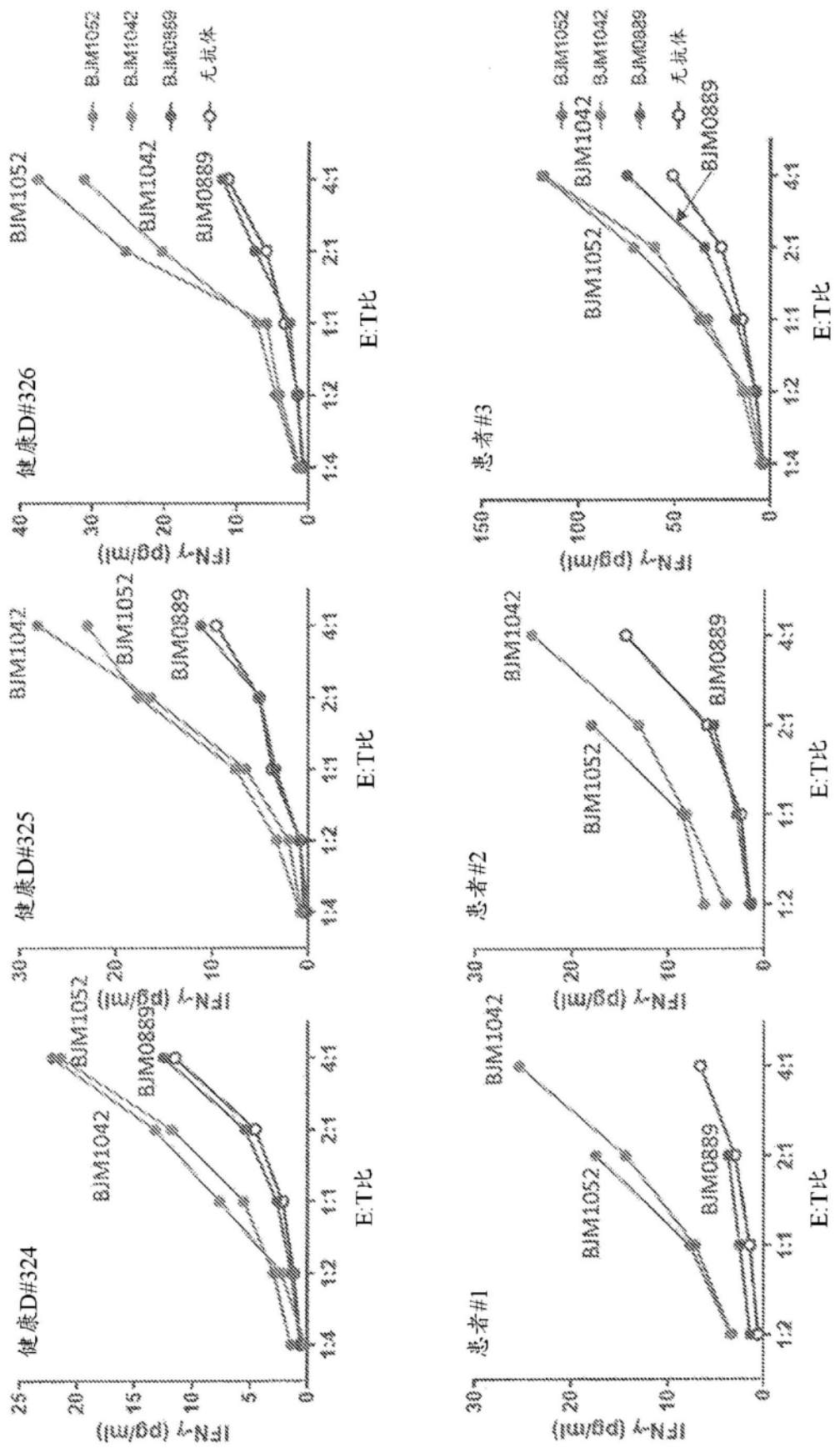

健康D#324
健康D#325
健康D#326
患者#1
患者#2
患者#3
BJM1052
BJM1042
BJM0889
无抗体
IFN-γ (pg/ml)
E:T比
1:4
1:2
1:1
2:1
4:1

图25A

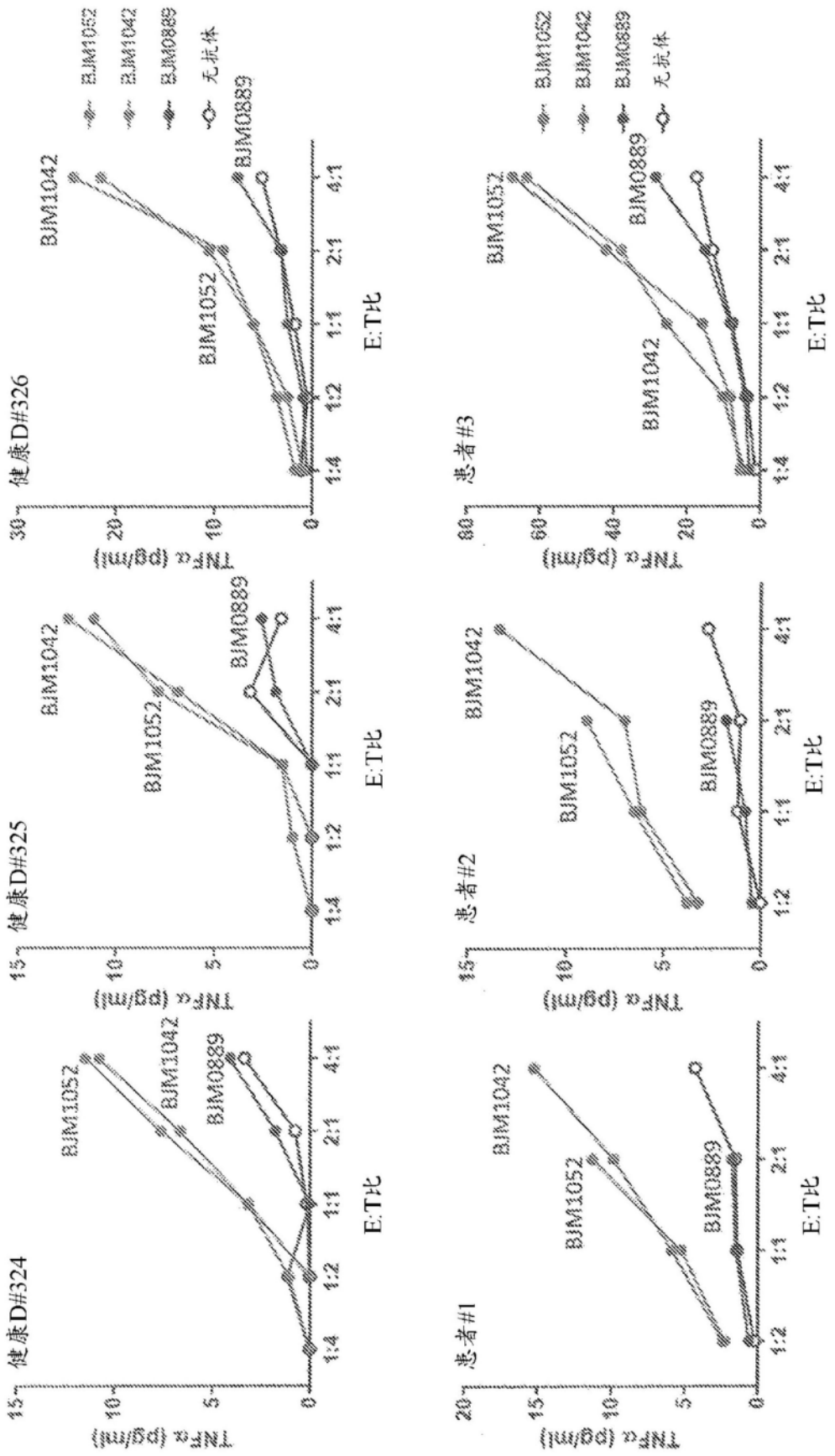

健康D#324
健康D#325
健康D#326
患者#1
患者#2
患者#3
TNFα (pg/ml)
E:T比
BJM1052
BJM1042
BJM0889
无抗体
1:4
1:2
1:1
2:1
4:1

图25B

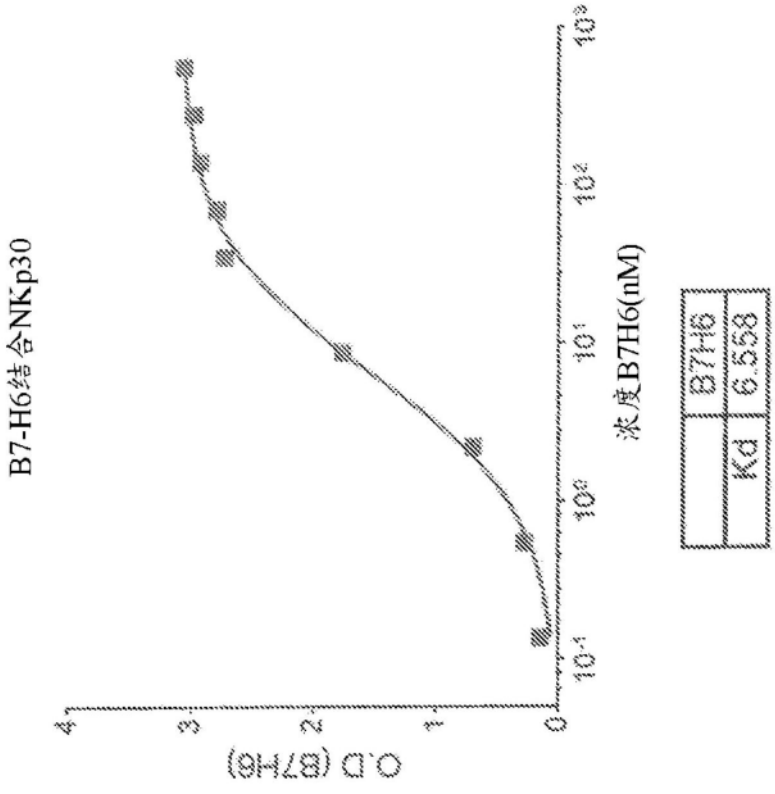

B7-H6结合NKp30
O.D (B7H6)
浓度B7H6(nM)
B7H6
Kd
6.558

图26A

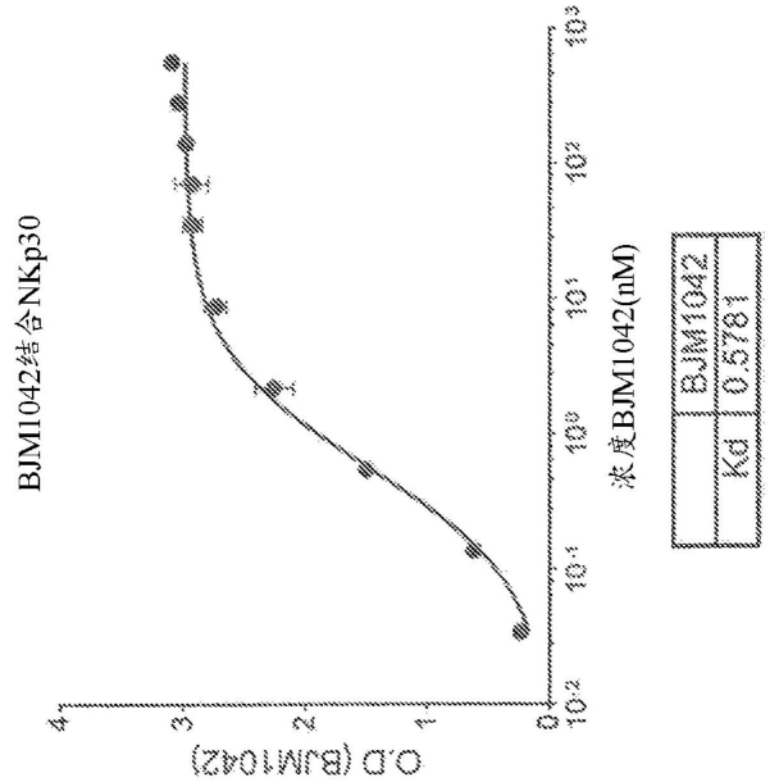
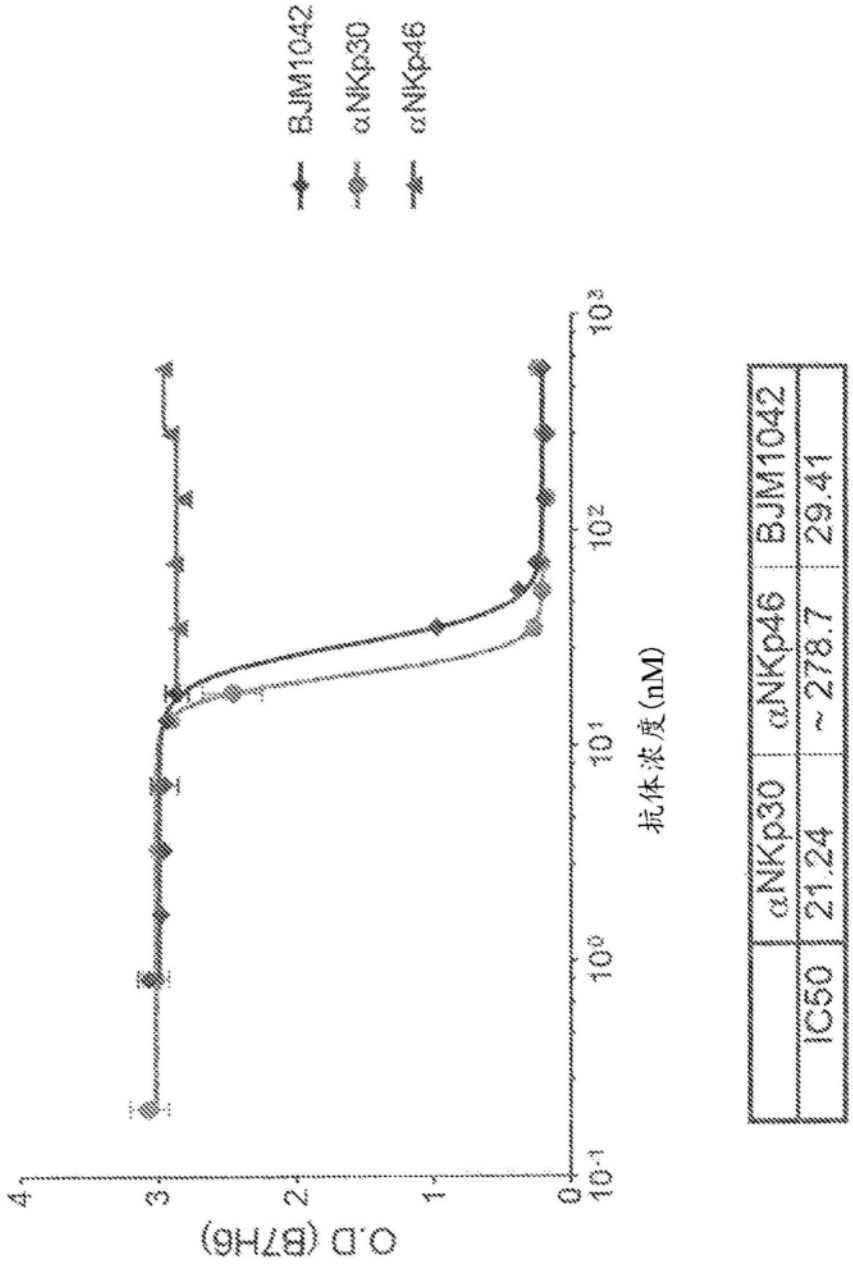
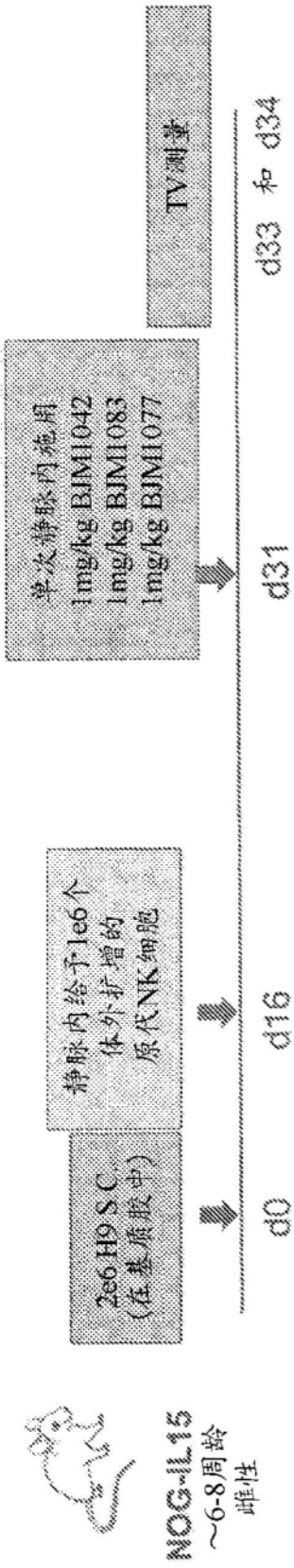

BJM1042结合NKp30
O.D (BJM1042)
浓度BJM1042(nM)
BJM1042
Kd
0.5781

图26B



	αNKp30	αNKp46	BJM1042
IC50	21.24	~ 278.7	29.41

图26C



SN	分子	N	剂量 (mg/kg)	时间表	1e6个原代 NK细胞
1	溶媒	5	NA	qd	-
2	BJM1042 (NKp30TRBC1 411S78_N297A)	5	1	qd	-
3	媒介物	5	NA	qd	+
4	BJM1042 (NKp30TRBC1 411S78_N297A)	5	1	qd	+
5	BJM1083 (TRBC1单臂 S78 N297A)	5	1	qd	+
6	BJM1077 (NKp30 单臂 411 N297A)	5	1	qd	+

图27A

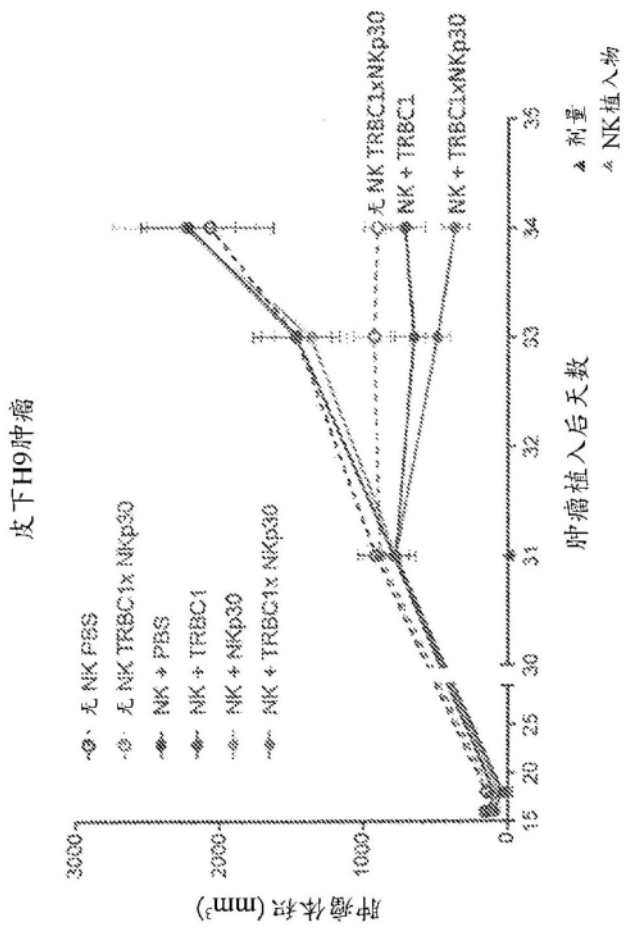

皮下H9肿瘤
肿瘤体积 (mm³)
3000
2000
1000
0
15
20
25
30
31
32
33
34
35
肿瘤植入后天数
剂量
NK植入物
无 NK PBS
无 NK TRBC1x NKp30
NK + PBS
NK + TRBC1
NK + NKp30
NK + TRBC1x NKp30
无 NK TRBC1xNKp30
NK + TRBC1
NK + TRBC1xNKp30

图27B

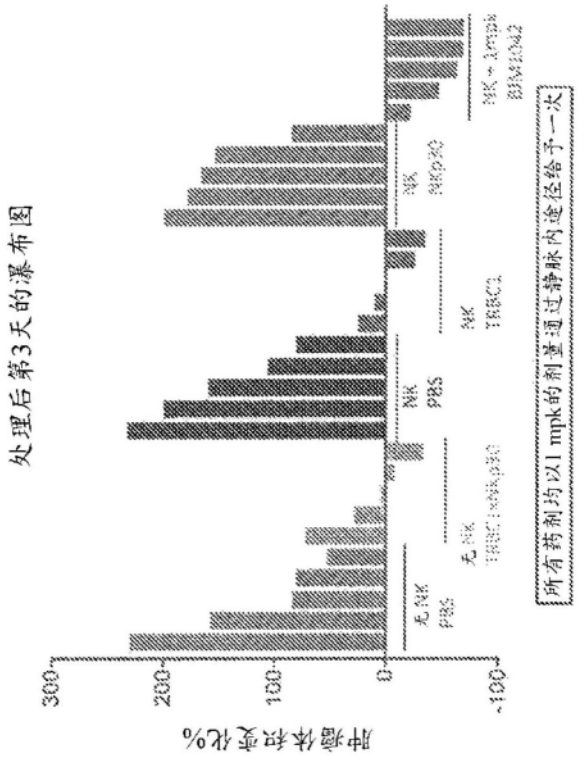
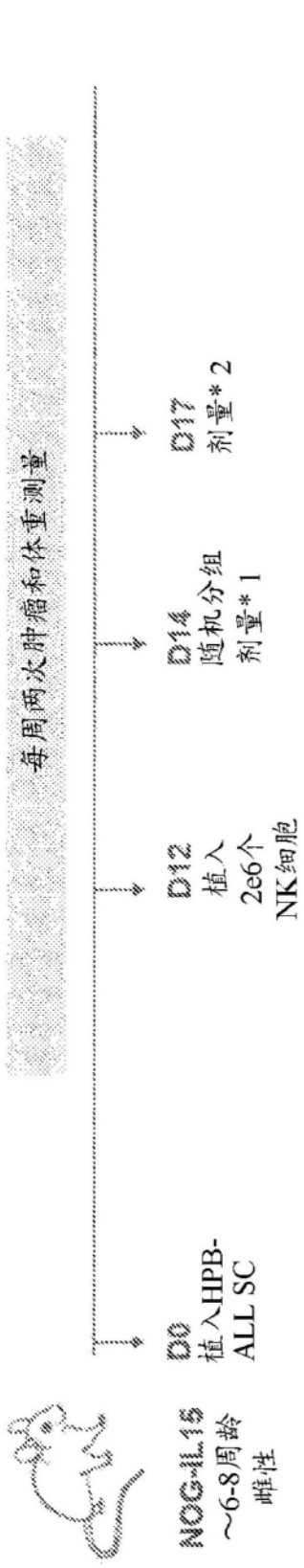

处理后第3天的瀑布图
肿瘤体积变化%
300
200
100
0
-100
无NK
PBS
NK
PBS
NK
TRBC1
NK
所有药剂均以1 mpk的剂量通过静脉内途径给予一次

图27C



SN	细胞系	NK细胞	n	品系	处置	时间表	剂量
1	5e6 HPB-ALL SC	2e6 IV	4	NOG-IL-15	PBS	Q3D x 2	NA
2	5e6 HPB-ALL SC	2e6 IV	5	NOG-IL-15	BJM1042	Q3D x 2	0.5mg/kg
3	5e6 HPB-ALL SC	2e6 IV	4	NOG-IL-15	BJM1083	Q3D x 2	0.5mg/kg
4	5e6 HPB-ALL SC	2e6 IV	4	NOG-IL-15	BJM1077	Q3D x 2	0.5mg/kg

图28A

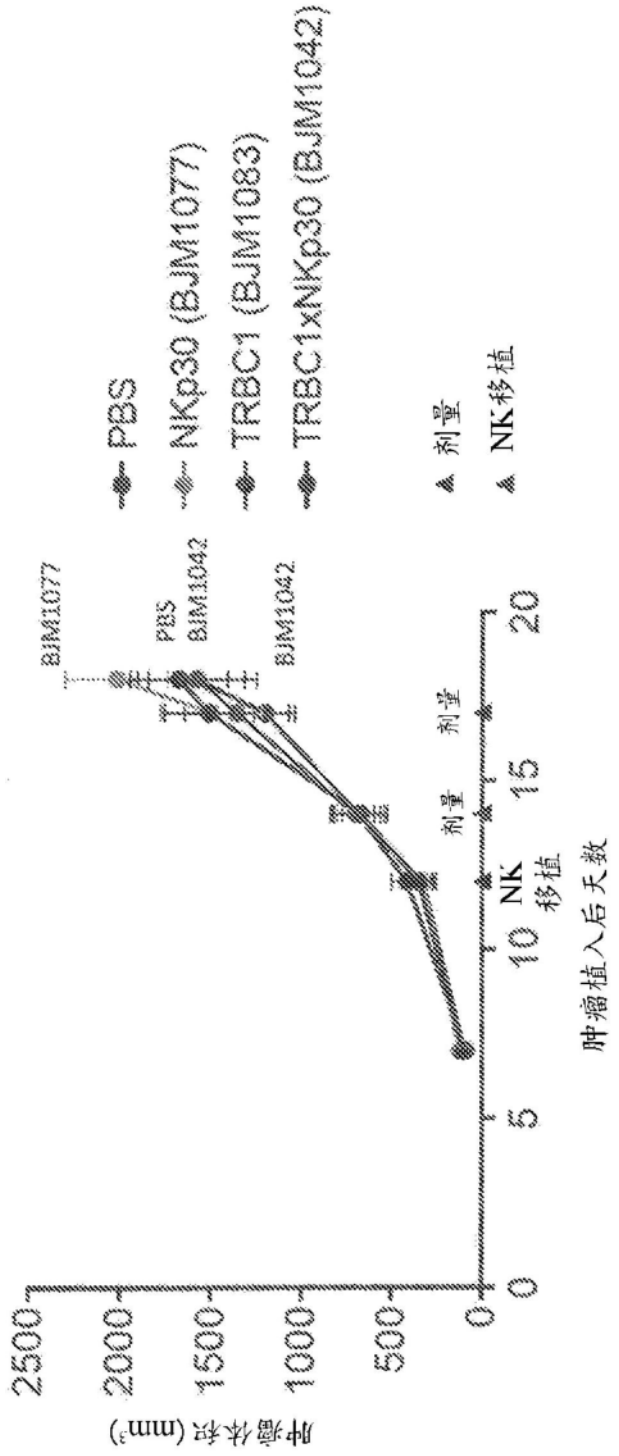

PBS
NKp30 (BJM1077)
TRBC1 (BJM1083)
TRBC1xNKp30 (BJM1042)
剂量
NK移植
BJM1077
PBS
BJM1042
BJM1042
剂量
剂量
NK
移植
肿瘤体积 (mm³)
2500
2000
1500
1000
500
0
0
5
10
15
20
肿瘤植入后天数

图28B

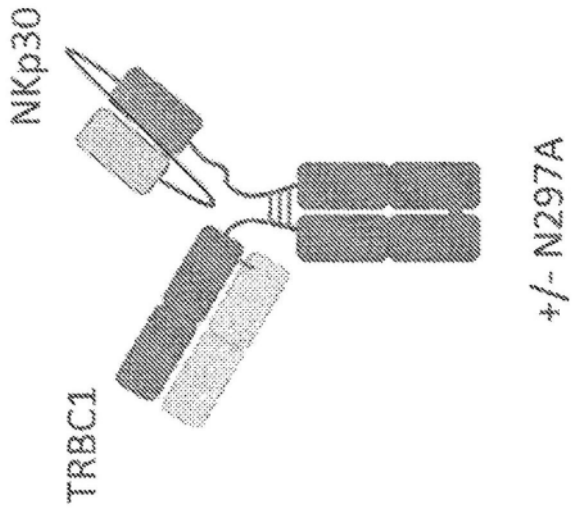


图29A

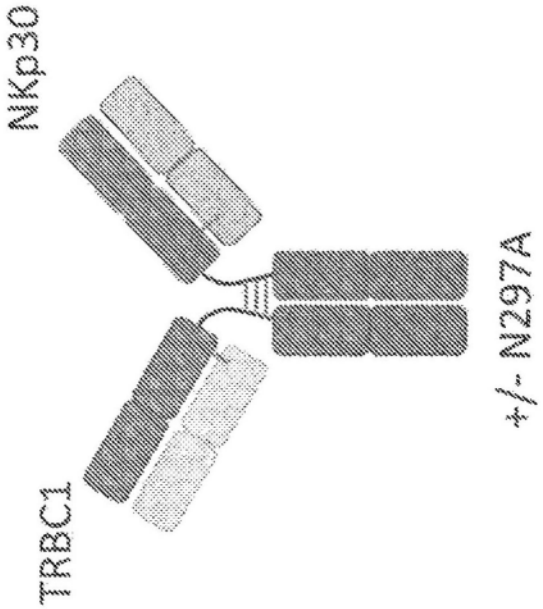


图29B

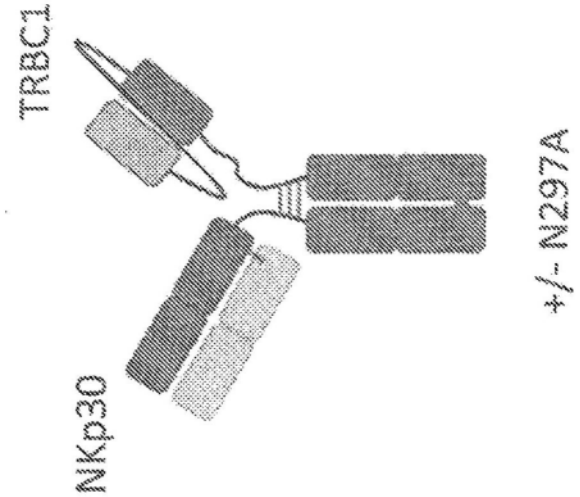


图29C

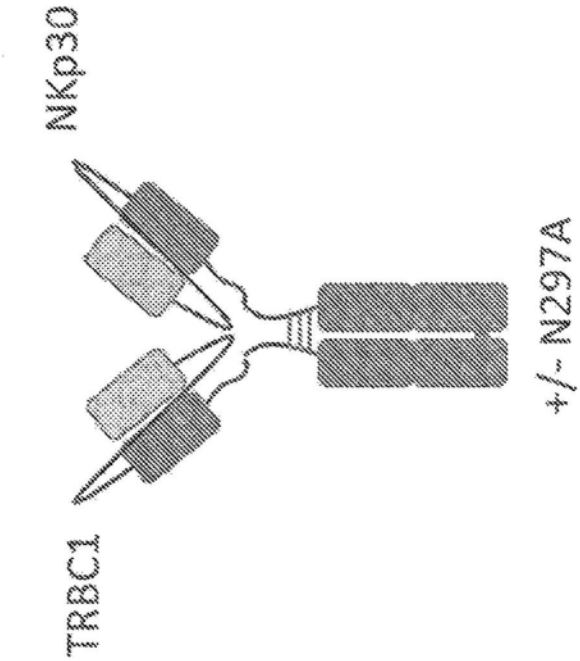


图29D

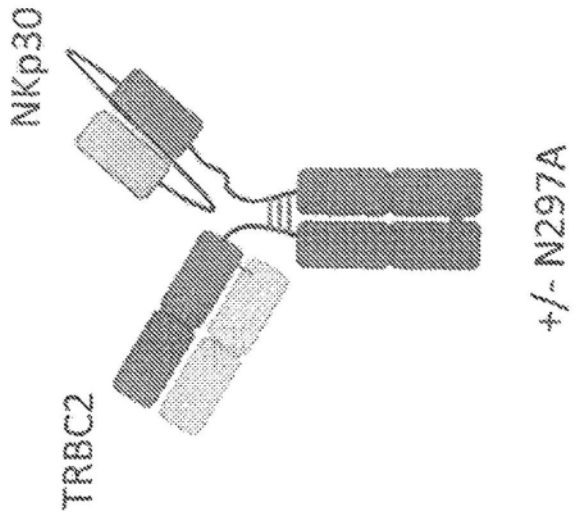


图30A

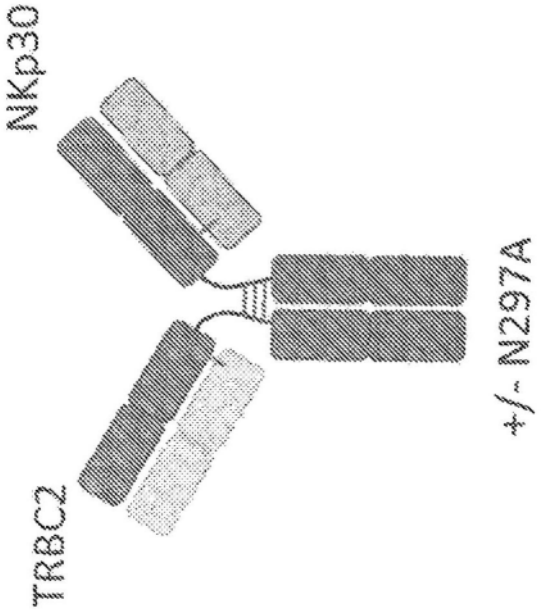


图30B

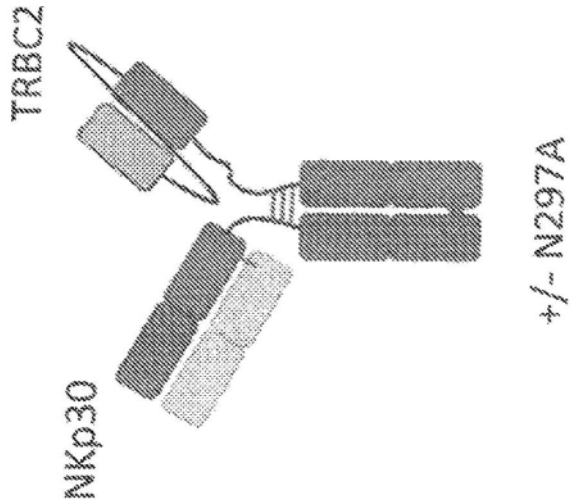


图30C

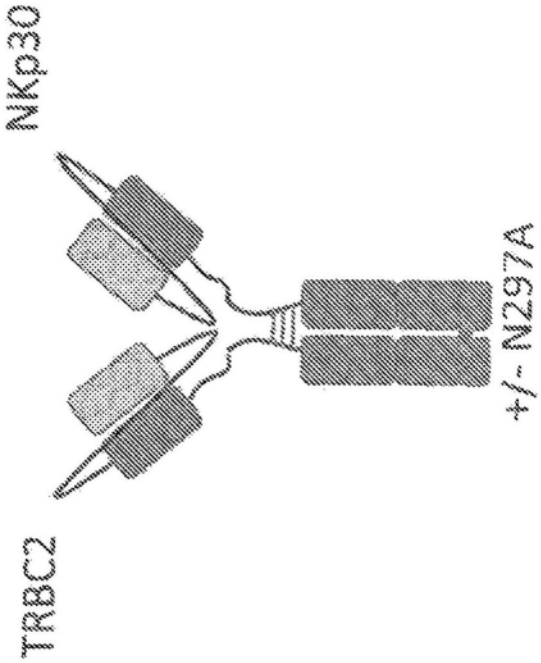


图30D