(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110582488 A
(43)申请公布日 2019.12.17

(21)申请号 201780073475.5

(22)申请日 2017.09.29

(66)本国优先权数据
PCT/CN2016/101213 2016.09.30 CN

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2019.05.28

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/CN2017/104422 2017.09.29

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2018/059549 EN 2018.04.05

(71)申请人 诺华股份有限公司
地址 瑞士巴塞尔
申请人 宾夕法尼亚大学托管会

(72)发明人 G·莫茨 K·J·马夫拉基亚斯
刘金镖 刘磊 郑乾刚 寻国良
肖启桃

(74)专利代理机构 北京市中咨律师事务所 11247
代理人 史文静 黄革生

(51)Int.Cl.
C07D 401/04(2006.01)
A61K 31/33(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)
C07D 209/14(2006.01)

权利要求书9页 说明书218页
序列表（电子公布） 附图15页

(54)发明名称

具有增强功效的免疫效应细胞疗法

(57)摘要

本文提供了LSD1抑制剂关于使用和制造例如被工程化为表达嵌合抗原受体(CAR)的免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞)来治疗患有疾病，例如与肿瘤抗原的表达相关的疾病的受试者的用途。

CN 110582488 A

1.一种LSD1抑制剂,所述LSD1抑制剂用于在治疗受试者中使用,所述LSD1抑制剂包含3-(3-氨基-2-甲基苯基)-1-(4-甲氧基苯基)-6-甲基-1H-吲哚-5-甲腈,其中,所述受试者已经接受、正在接受或将要接受包含免疫效应细胞,例如被工程化为表达CAR的免疫效应细胞的疗法。

2.一种LSD1抑制剂,所述LSD1抑制剂用于在制造免疫效应细胞,例如被工程化为表达CAR的免疫效应细胞中使用,所述LSD1抑制剂包含3-(3-氨基-2-甲基苯基)-1-(4-甲氧基苯基)-6-甲基-1H-吲哚-5-甲腈。

3.一种治疗受试者的方法,所述方法包括向所述受试者给予LSD1抑制剂和被工程化为表达CAR的免疫效应细胞群体,其中,所述LSD1抑制剂包含3-(3-氨基-2-甲基苯基)-1-(4-甲氧基苯基)-6-甲基-1H-吲哚-5-甲腈。

4.如权利要求1-3中任一项所述的用于使用的LSD1抑制剂或方法,其中:

a)在向所述受试者给予所述免疫效应细胞群体之前给予所述LSD1抑制剂;

b)所述LSD1抑制剂与所述免疫效应细胞群体同时给予;

c)在向所述受试者给予所述免疫效应细胞群体之后给予所述LSD1抑制剂;或

d)a)、b)和c)中的两项或全部的任何组合。

5.如权利要求4所述的用于使用的LSD1抑制剂或方法,其中,在向所述受试者给予所述免疫效应细胞群体之前给予所述LSD1抑制剂,并且其中所述LSD1抑制剂的所述给予在所述免疫效应细胞群体的给予之后持续一段时间。

6.如权利要求5所述的用于使用的LSD1抑制剂或方法,其中,所述LSD1抑制剂的所述给予是以相对于在所述LSD1抑制剂不存在下给予的所述免疫效应细胞的等效群体,足以增加所述免疫效应细胞群体的抗肿瘤作用的量进行。

7.一种增加被工程化为表达CAR,例如CART19(例如,CTL019)的免疫效应细胞群体的治疗功效的方法,所述方法包括使所述细胞与包含3-(3-氨基-2-甲基苯基)-1-(4-甲氧基苯基)-6-甲基-1H-吲哚-5-甲腈的LSD1抑制剂接触,所述LSD1抑制剂的量足以短暂地或永久地降低所述细胞中LSD1的活性或表达。

8.如权利要求1-7中任一项所述的用于使用的LSD1抑制剂或方法,其中,任选地,与未与所述LSD1抑制剂接触的细胞相比,所述LSD1抑制剂的给予或接触使得:

1)初始T细胞,例如T_{SCM}细胞的比例增加;

2)初始T细胞,例如T_{SCM}细胞的数量增加;

3)T_{EM}细胞的数量减少;

4)T_{EM}细胞的比例降低;

5)CD45RA+CD62L+ T细胞的比例增加;

6)CD45RA+CD62L+ T细胞的数量增加;

7)PD-1阳性免疫效应细胞的比例降低;

8)PD-1阴性免疫效应细胞/PD-1阳性免疫效应细胞的比率增加;

9)PD-1+/Lag3+/Tim3+免疫效应细胞的比例降低;

10)PD-1-/Lag3-/Tim3-免疫效应细胞与PD-1+/Lag3+/Tim3+免疫效应细胞的比率增加;

11)所述免疫效应细胞的增殖增加;

12)来自所述免疫效应细胞群体的细胞因子(例如,IFNg和/或IL-2)的产生增加;或

13)上述中的两项、三项、四项、五项、六项、七项、八项、九项、十项、十一项、十二项或更多项(例如,全部)的组合。

9.一种治疗受试者的方法,所述方法包括:

a)向受试者给予包含3-(3-氨基-2-甲基苯基)-1-(4-甲氧基苯基)-6-甲基-1H-吲哚-5-甲腈的LSD1抑制剂;

b)在所述LSD1抑制剂的所述给予之后,从步骤a)的所述受试者收集免疫效应细胞群体;

c)离体提供所述免疫效应细胞群体;

d)使所述离体免疫效应细胞群体与所述LSD1抑制剂接触,其中与未接触的离体免疫效应细胞群体相比,与所述LSD1抑制剂的接触引起以下中的一项或多项发生:

1)初始T细胞,例如T_{SCM}细胞的比例增加;

2)初始T细胞,例如T_{SCM}细胞的数量增加;

3)T_{EM}细胞的数量减少;

4)T_{EM}细胞的比例降低;

5)CD45RA+CD62L+ T细胞的比例增加;

6)CD45RA+CD62L+ T细胞的数量增加;

7)PD-1阳性免疫效应细胞的比例降低;

8)PD-1阴性免疫效应细胞/PD-1阳性免疫效应细胞的比率增加;

9)PD-1+/Lag3+/Tim3+免疫效应细胞的比例降低;

10)PD-1-/Lag3-/Tim3-免疫效应细胞与PD-1+/Lag3+/Tim3+免疫效应细胞的比率增加;

11)所述免疫效应细胞的增殖增加;

12)来自所述免疫效应细胞群体的细胞因子(例如,IFNg和/或IL-2)的产生增加;或

13)上述中的两项、三项、四项、五项、六项、七项、八项、九项、十项、十一项、十二项或更多项(例如,全部)的组合;以及

e)向所述受试者给予所述免疫效应细胞群体。

10.如权利要求9所述的方法,其中,e)的所述步骤进一步包括向步骤e)的所述受试者给予所述LSD1抑制剂。

11.如权利要求9或10所述的方法,所述方法进一步包括将编码CAR的核酸插入所述离体免疫效应细胞群体的细胞中的步骤。

12.一种制备免疫效应细胞群体的方法,所述方法包括:

a)使免疫效应细胞群体与包含3-(3-氨基-2-甲基苯基)-1-(4-甲氧基苯基)-6-甲基-1H-吲哚-5-甲腈的LSD1抑制剂接触;

由此制备免疫效应细胞群体,

其中,与未接触的免疫效应细胞群体相比,与所述LSD1抑制剂的接触引起以下中的一项或多项发生:

1)初始T细胞,例如T_{SCM}细胞的比例增加;

2)初始T细胞,例如T_{SCM}细胞的数量增加;

3) T_{EM}细胞的数量减少；

4) T_{EM}细胞的比例降低；

5) CD45RA+CD62L+ T细胞的比例增加；

6) CD45RA+CD62L+ T细胞的数量增加；

7) PD-1阳性免疫效应细胞的比例降低；

8) PD-1阴性免疫效应细胞/PD-1阳性免疫效应细胞的比率增加；

9) PD-1+/Lag3+/Tim3+免疫效应细胞的比例降低；

10) PD-1-/Lag3-/Tim3-免疫效应细胞与PD-1+/Lag3+/Tim3+免疫效应细胞的比率增加；

11) 所述免疫效应细胞的增殖增加；

12) 来自所述免疫效应细胞群体的细胞因子(例如，IFNg和/或IL-2)的产生增加；或

13) 上述中的两项、三项、四项、五项、六项、七项、八项、九项、十项、十一项、十二项或更多项(例如，全部)的组合。

13.如权利要求12所述的方法，所述方法进一步包括b)将编码所述CAR的核酸插入所述免疫效应细胞群体的细胞中的步骤。

14.如权利要求13所述的方法，其中步骤a)的所述接触在步骤b)的所述插入

1) 之前；

2) 同时；

3) 之后；或

4) 以上1)至3)中的两种或更多种(例如，全部)的任何组合；

发生。

15.如权利要求12-14中任一项所述的方法，其中，步骤a)的所述接触和任选地步骤b)的所述插入是离体的。

16.一种免疫效应细胞群体，所述免疫效应细胞群体通过如权利要求12-15中任一项所述的方法制备。

17.一种被工程化为表达嵌合抗原受体(CAR)的免疫效应细胞群体，其中，所述CAR包含抗原结合结构域、跨膜结构域和细胞内信号传导结构域，并且其中所述细胞中LSD1的表达和/或功能已被降低或消除，其中所述免疫效应细胞群体包含LSD1抑制剂，所述LSD1抑制剂包含3-(3-氨基-2-甲基苯基)-1-(4-甲氧基苯基)-6-甲基-1H-吲哚-5-甲腈。

18.如权利要求17所述的免疫效应细胞群体，其中，所述免疫效应细胞群体已经与LSD1抑制剂接触。

19.如前述权利要求中任一项所述的用于使用的LSD1抑制剂、方法或免疫效应细胞群体，其中，所述免疫效应细胞群体包含T细胞或NK细胞，例如由T细胞或NK细胞组成，例如，其中所述免疫效应细胞是人类细胞。

20.如权利要求19所述的用于使用的LSD1抑制剂、方法或免疫效应细胞群体，其中，所述T细胞是CD8+ T细胞、CD4+ T细胞或其组合。

21.如前述权利要求中任一项所述的用于使用的LSD1抑制剂、方法或免疫效应细胞群体，其中，所述CAR包含抗原结合结构域(所述抗原结合结构域任选地是抗体或抗体片段，TCR或TCR片段)、跨膜结构域和细胞内信号传导结构域(所述细胞内信号传导结构域任选地

是包含共刺激结构域和/或初级信号传导结构域的细胞内信号传导结构域)。

22.如权利要求21所述的用于使用的LSD1抑制剂、方法或免疫效应细胞群体,其中,所述抗原结合结构域结合至选自下组的肿瘤抗原,该组由以下组成:CD19、TSHR、CD123、CD22、CD30、CD171、CS-1、CLL-1、CD33、EGFRvIII、GD2、GD3、BCMA、Tn Ag、PSMA、ROR1、FLT3、FAP、TAG72、CD38、CD44v6、CEA、EPCAM、B7H3、KIT、IL-13Ra2、间皮素、IL-11Ra、PSCA、PRSS21、VEGFR2、LewisY、CD24、PDGFR-β、SSEA-4、CD20、叶酸受体α、ERBB2(Her2/neu)、MUC1、EGFR、NCAM、前列腺酶、PAP、ELF2M、肝配蛋白B2、IGF-I受体、CAIX、LMP2、gp100、bcr-abl、酪氨酸酶、EphA2、岩藻糖基GM1、sLe、GM3、TGS5、HMWMAA、o-乙酰基-GD2、叶酸受体β、TEM1/CD248、TEM7R、CLDN6、GPRC5D、CXORF61、CD97、CD179a、ALK、聚唾液酸、PLAC1、GloboH、NY-BR-1、UPK2、HAVCR1、ADRB3、PANX3、GPR20、LY6K、OR51E2、TARP、WT1、NY-ESO-1、LAGE-1a、MAGE-A1、豆荚蛋白、HPV E6、HPV E7、MAGE A1、ETV6-AML、精子蛋白17、XAGE1、Tie2、MAD-CT-1、MAD-CT-2、Fos相关抗原1、p53、p53突变体、前列腺特异性蛋白、存活素和端粒酶、PCTA-1/半乳凝素8、MelanA/MART1、Ras突变体、hTERT、肉瘤易位断点、ML-IAP、ERG(TMPRSS2 ETS融合基因)、NA17、PAX3、雄性激素受体、细胞周期蛋白B1、MYCN、RhoC、TRP-2、CYP1B1、BORIS、SART3、PAX5、OY-TES1、LCK、AKAP-4、SSX2、RAGE-1、人端粒酶逆转录酶、RU1、RU2、肠道羧基酯酶、mut hsp70-2、CD79a、CD79b、CD72、LAIR1、FCAR、LILRA2、CD300LF、CLEC12A、BST2、EMR2、LY75、GPC3、FCRL5、以及IGLL1。

23.如权利要求22所述的用于使用的LSD1抑制剂、方法或免疫效应细胞群体,其中,所述肿瘤抗原是CD19或BCMA。

24.如权利要求23所述的用于使用的LSD1抑制剂、方法或免疫效应细胞群体,其中,所述抗原结合结构域是包含以下的抗体或抗体片段:

(i)根据表6-9的CD19结合结构域的氨基酸序列,例如,根据表9的CTL019 scFv结构域的氨基酸序列或根据SEQ ID NO:957的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列;

(ii)根据表6-9的人源化CD19结合结构域的氨基酸序列,例如,根据表9的CAR2 scFv结构域的氨基酸序列或根据SEQ ID NO:898的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列;或

(iii)根据表11A-11B的BCMA结合结构域的氨基酸序列,例如,根据表11A的139109 scFv结构域的氨基酸序列或根据SEQ ID NO:967的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列;或者

其中所述CAR包含:

(i)根据表6-9的CD19 CAR的氨基酸序列,例如,根据表9的CTL019的氨基酸序列或根据SEQ ID NO:956的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列;

(ii)根据表6-9的人源化CD19 CAR的氨基酸序列,例如,根据表9的CAR2的氨基酸序列或根据SEQ ID NO:902的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列;或

(iii)根据表11A-11B的BCMA CAR的氨基酸序列,例如,根据表11A的139109 CAR的氨基酸序列或根据SEQ ID NO:971的氨基酸序列,或与其至少95%相同的氨基酸序列。

25.如权利要求21-24中任一项所述的用于使用的LSD1抑制剂、方法或免疫效应细胞群体,其中,所述跨膜结构域包含:

(i)具有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的至少一个、两个或三个修饰、但不超过20、10或5

个修饰的氨基酸序列，或与SEQ ID NO:12的氨基酸序列具有95%-99%同一性的序列；或

(ii)SEQ ID NO:12的序列。

26.如权利要求21-25中任一项所述的用于使用的LSD1抑制剂、方法或免疫效应细胞群体，其中，所述抗原结合结构域通过铰链区与所述跨膜结构域连接，其中所述铰链区包含SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:6、或其具有95%-99%同一性的序列。

27.如权利要求21-26中任一项所述的用于使用的LSD1抑制剂、方法或免疫效应细胞群体，其中，所述细胞内信号传导结构域包含初级信号传导结构域和/或共刺激信号传导结构域，其中所述初级信号传导结构域包含选自CD3ζ、CD3γ、CD3δ、CD3ε、常见FcRγ(FCER1G)、FcRβ(FcεR1b)、CD79a、CD79b、Fcγ RIIa、DAP10或DAP12的蛋白质的功能性信号传导结构域。

28.如权利要求21-27中任一项所述的用于使用的LSD1抑制剂、方法或免疫效应细胞群体，其中，所述初级信号传导结构域包含：

(i)具有SEQ ID NO:18或SEQ ID NO:20的氨基酸序列的至少一个、两个或三个修饰、但不超过20、10或5个修饰的氨基酸序列，或与SEQ ID NO:18或SEQ ID NO:20的氨基酸序列具有95%-99%同一性的序列；或

(ii)SEQ ID NO:18或SEQ ID NO:20的氨基酸序列。

29.如权利要求21-28中任一项所述的用于使用的LSD1抑制剂、方法或免疫效应细胞群体，其中，所述细胞内信号传导结构域包含共刺激信号传导结构域、或初级信号传导结构域和共刺激信号传导结构域，其中所述共刺激信号传导结构域包含选自下组的蛋白质的功能性信号传导结构域，该组由以下组成：CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30、CD40、PD-1、ICOS、淋巴细胞功能相关抗原-1(LFA-1)、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、B7-H3、与CD83特异性地结合的配体、CDS、ICAM-1、GITR、BAFFR、HVEM(LIGHTR)、SLAMF7、NKp80(KLRF1)、CD160、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL2Rβ、IL2Rγ、IL7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1(CD226)、SLAMF4(CD244、2B4)、CD84、CD96(Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9(CD229)、CD160(BY55)、PSGL1、CD100(SEMA4D)、CD69、SLAMF6(NTB-A、Ly108)、SLAM(SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME(SLAMF8)、SELPLG(CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、NKp44、NKp30、NKp46、以及NKG2D。

30.如权利要求21-29中任一项所述的用于使用的LSD1抑制剂、方法或免疫效应细胞群体，其中，所述共刺激信号传导结构域包含具有SEQ ID NO:14或SEQ ID NO:16的氨基酸序列的至少一个、两个或三个修饰、但不超过20、10或5个修饰的氨基酸序列，或与SEQ ID NO:14或SEQ ID NO:16的氨基酸序列具有95%-99%同一性的序列。

31.如权利要求21-30中任一项所述的用于使用的LSD1抑制剂、方法或免疫效应细胞群体，其中，所述共刺激信号传导结构域包含SEQ ID NO:14或SEQ ID NO:16的序列。

32.如权利要求21-31中任一项所述的用于使用的LSD1抑制剂、方法或免疫效应细胞群体，其中，所述细胞内信号传导结构域包含SEQ ID NO:14或SEQ ID NO:16的序列，和SEQ ID NO:18或SEQ ID NO:20的序列，其中包含所述细胞内信号传导结构域的序列在同一框架中表达并且表达为单个多肽链。

33.如权利要求21-32中任一项所述的用于使用的LSD1抑制剂、方法或免疫效应细胞群体，其中，所述CAR包含前导序列，所述前导序列包含SEQ ID NO:2，例如由SEQ ID NO:2组成。

34.如前述权利要求中任一项所述的用于使用的LSD1抑制剂、方法或免疫效应细胞群体，所述方法进一步包括给予选自以下的第二LSD1抑制剂：(1)靶向LSD1基因或其相应调控元件的一个或多个位点的基因编辑系统；(2)包含与试试LSD1基因的靶序列互补的序列的核酸(例如，siRNA或shRNA，或反义寡核苷酸)；(3)蛋白质(例如，显性负性LSD1，例如，催化失活的LSD1，或LSD1的显性负性结合配偶体)；(4)小分子；(5)编码(1)-(3)中任一项的核酸；或(6)(1)-(5)的任何组合。

35.如权利要求34所述的用于使用的LSD1抑制剂、方法，其中，所述第二LSD1抑制剂是包含与LSD1的靶序列互补的序列、例如选自SEQ ID NO:43至82中任一项的序列的shRNA或siRNA。

36.如权利要求34所述的用于使用的LSD1抑制剂、方法，其中，所述第二LSD1抑制剂是由包含编码抗LSD1 shRNA的任一序列的核酸编码、例如由包含选自SEQ ID NO:83至122的序列的核酸编码的shRNA。

37.如权利要求34所述的用于使用的LSD1抑制剂、方法，其中，所述第二LSD1抑制剂是包含编码抗LSD1 shRNA的任一序列、例如选自SEQ ID NO:83至122中任一项的序列的核酸。

38.如权利要求37所述的用于使用的LSD1抑制剂、方法，其中，所述核酸被布置在载体上。

39.如权利要求38所述的用于使用的LSD1抑制剂、方法，其中，所述载体进一步包含与所述核酸可操作地连接的U6或H1启动子。

40.如权利要求38或39所述的用于使用的LSD1抑制剂、方法，其中，所述载体是逆转录病毒载体、慢病毒载体、腺病毒载体、腺相关病毒(AAV)载体、单纯疱疹病毒(HSV)载体、质粒、微环、纳米质粒或RNA载体。

41.如权利要求38-40中任一项所述的用于使用的LSD1抑制剂、方法，其中，所述载体进一步包含编码CAR的序列。

42.如权利要求34所述的用于使用的LSD1抑制剂、方法，其中，所述第二LSD1抑制剂是对所述LSD1基因(KDM1A)或其调控元件的序列具有特异性的基因组编辑系统，所述基因组编辑系统选自CRISPR基因组编辑系统、锌指核酸酶基因组编辑系统、TALEN基因组编辑系统和大范围核酸酶基因组编辑系统。

43.如权利要求42所述的用于使用的LSD1抑制剂、方法，其中，所述第二LSD1抑制剂是包含gRNA分子的CRISPR基因组编辑系统，所述gRNA分子包含与所述LSD1基因(KDM1A)或其调控元件的序列互补的靶向结构域、例如包含SEQ ID NO:132至862中的任一项。

44.如权利要求34所述的用于使用的LSD1抑制剂、方法，其中，所述第二LSD1抑制剂是小分子。

45.如权利要求34所述的用于使用的LSD1抑制剂、方法，其中，所述小分子是可逆的或不可逆的LSD1抑制剂。

46.如权利要求44或45所述的用于使用的LSD1抑制剂、方法，其中，所述第二LSD1抑制剂是：

a)GSK2699537；

b)rel-2-[[(1R,2S)-2-[4-[(4-氯苯基)甲氧基]苯基]环丙基]氨基]-1-(4-甲基-1-哌嗪基)-乙酮；

c)(R)-4-(5-(吡咯烷-3-基甲氧基)-2-(对甲苯基)吡啶-3-基)苄腈；

d)(1S,2R)-N-((2-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-2-苯基环丙烷-1-胺；

e)N,N-二甲基-1-((4-(4-(4-(哌啶-4-基)苯基)-1H-吲唑-1-基)苯基)磺酰基)哌啶-4-胺；

f)5-(6-氯-4′-(甲基磺酰基)-[1,1′-联苯基]-3-基)-2-(哌嗪-1-基)-1H-吡咯-3-甲腈；

g)rel-N-[(1R,2S)-2-苯基环丙基]-4-哌啶胺；

h)2-(1R,2S)-2-(4-(苄氧基)苯基)环丙基氨基)-1-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酮；

i)反式-3-(3-氨基-2-甲基苯基)-1-(4-羟基环己基)-6-甲基-1H-吲哚-5-甲腈；

j)3-(3-氨基-2-甲基苯基)-1-(4-甲氧基苯基)-6-甲基-1H-吲哚-5-甲腈;或

k)前述中的任一项的药学上可接受的盐。

47.如权利要求44-46中任一项所述的用于使用的LSD1抑制剂、方法,其中,所述第二LSD1抑制剂与抗体或其抗原结合片段缀合。

48.如权利要求47所述的用于使用的LSD1抑制剂、方法,其中,所述抗体或其抗原结合片段识别T细胞表面上的抗原。

49.如权利要求48所述的用于使用的LSD1抑制剂、方法,其中,所述T细胞表面上的抗原是CD3。

50.如权利要求34所述的用于使用的LSD1抑制剂、方法,其中,所述第二LSD1抑制剂是蛋白质,例如是LSD1的显性负性结合配偶体(例如,与Co-REST或AR共活化剂复合物的LSD1或其他成员相互作用的组蛋白脱乙酰酶(HDAC))、或编码LSD1的所述显性负性结合配偶体的核酸。

51.如权利要求34所述的用于使用的LSD1抑制剂、方法,其中,所述第二LSD1抑制剂是蛋白质,例如是显性负性(例如,催化失活的)LSD1、或编码所述显性负性LSD1的核酸。

52.如权利要求14-20中任一项所述的免疫效应细胞群体,所述免疫效应细胞群体用于在疗法中使用。

53.一种LSD1抑制剂,所述LSD1抑制剂用于在治疗受试者中使用,所述LSD1抑制剂包含3-(3-氨基-2-甲基苯基)-1-(4-甲氧基苯基)-6-甲基-1H-吲哚-5-甲腈,其中,所述受试者已经接受、正在接受或将要接受包含有效量的如权利要求14-20中任一项所述的免疫效应细胞群体的疗法。

54.一种治疗有需要的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者给予有效量的如权利要求14-20中任一项所述的免疫效应细胞群体。

55.如权利要求52-54中任一项所述的使用或方法,其中,所述方法进一步包括向所述受试者给予包含3-(3-氨基-2-甲基苯基)-1-(4-甲氧基苯基)-6-甲基-1H-吲哚-5-甲腈的LSD1抑制剂。

56.如权利要求53-55中任一项所述的使用或方法,其中,所述受试者在给予所述免疫效应细胞群体之前接受所述LSD1抑制剂的预先治疗。

57.如权利要求53-55中任一项所述的使用或方法，其中，所述受试者接受使用LSD1抑制剂和所述免疫效应细胞群体的同时治疗。

58.如权利要求53-56中任一项所述的使用或方法，其中，所述受试者在给予所述免疫效应细胞群体之后接受使用LSD1抑制剂的治疗。

59.如权利要求1-15或19-58中任一项所述的使用或方法，其中，所述受试者患有与肿瘤抗原的表达相关的疾病，例如增生性疾病、癌前病状、癌症、以及与所述肿瘤抗原的表达相关的非癌症相关适应症。

60.如权利要求59所述的方法，其中，所述癌症是选自以下中的一种或多种的血液癌症：慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、急性白血病、急性淋巴细胞白血病(ALL)、B细胞急性淋巴细胞白血病(B-ALL)、T细胞急性淋巴细胞白血病(T-ALL)、慢性髓细胞性白血病(CML)、B细胞幼淋巴细胞性白血病、母细胞性浆细胞样树突细胞肿瘤、伯基特淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、毛细胞白血病、小细胞或大细胞滤泡性淋巴瘤、恶性淋巴组织增生病状、MALT淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、多发性骨髓瘤、骨髓增生异常和骨髓增生异常综合征、非霍奇金淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、浆母细胞性淋巴瘤、浆细胞样树突细胞肿瘤、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症或白血病前期。

61.如权利要求59所述的使用或方法，其中，所述癌症选自下组，该组由以下组成：结肠癌、直肠癌、肾细胞癌、肝癌、非小细胞肺癌、小肠癌、食道癌、黑素瘤、骨癌、胰腺癌、皮肤癌、头颈癌、皮肤或眼内恶性黑素瘤、子宫癌、卵巢癌、直肠癌、肛区癌、胃癌、睾丸癌、子宫癌、输卵管癌、子宫内膜癌、子宫颈癌、阴道癌、外阴癌、霍奇金病、非霍奇金淋巴瘤、内分泌系统癌症、甲状腺癌、甲状旁腺癌、肾上腺癌、软组织肉瘤、尿道癌、阴茎癌、儿童实体瘤、膀胱癌、肾或输尿管癌、肾盂癌、中枢神经系统肿瘤(CNS)、原发性CNS淋巴瘤、肿瘤血管生成、脊轴肿瘤、脑干胶质瘤、垂体腺瘤、卡波济肉瘤、表皮样癌、鳞状细胞癌、T细胞淋巴瘤、环境诱导的癌症、所述癌症的组合、以及所述癌症的转移性病灶。

62.如前述权利要求中任一项所述的方法或免疫效应细胞群体，其中，所述受试者是人。

63.如权利要求62所述的方法或免疫效应细胞群体，其中，所述人患有与肿瘤抗原的表达相关的疾病，例如癌症。

64.一种化合物，所述化合物用于在疗法中使用，所述化合物包含3-(3-氨基-2-甲基苯基)-1-(4-甲氧基苯基)-6-甲基-1H-吲哚-5-甲腈。

65.一种化合物，所述化合物用于在如权利要求1-15或19-64中任一项所述的方法中使用，所述化合物包含3-(3-氨基-2-甲基苯基)-1-(4-甲氧基苯基)-6-甲基-1H-吲哚-5-甲腈。

66.一种组合物，所述组合物用于离体制造免疫效应细胞群体，所述组合物包含LSD1抑制剂，所述LSD1抑制剂包含3-(3-氨基-2-甲基苯基)-1-(4-甲氧基苯基)-6-甲基-1H-吲哚-5-甲腈。

67.如权利要求66所述的组合物，其中，所述LSD1抑制剂的浓度在从约0.001nM至约10mM的范围内。

68.如权利要求67所述的组合物，其中，所述LSD1抑制剂的浓度在从约0.1uM至约10uM的范围内。

69.如权利要求66-68中任一项所述的组合物,其中,所述免疫效应细胞群体包含被工程化为表达CAR的细胞。

具有增强功效的免疫效应细胞疗法

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求2016年9月30日提交的PCT专利申请号PCT/CN2016/101213的优先权，该专利申请的全部内容通过引用并入本文。

[0003] 序列表

[0004] 本申请含有已经以ASCII格式电子递交的序列表并且该序列表特此通过引用以其全文并入。所述ASCII副本创建于2017年9月27日，名称为N2067-7141WO2_SL.txt并且大小为1,118,768字节。

技术领域

[0005] 本发明总体上涉及LSD1抑制剂关于使用和制造例如被工程化为表达嵌合抗原受体(CAR)的免疫效应细胞(例如，T细胞、NK细胞)来治疗患有疾病，例如与肿瘤抗原的表达相关的疾病的受试者的用途。

背景技术

[0006] 例如，使用用嵌合抗原受体(CAR)转导的T细胞的过继性细胞转移(ACT)疗法在癌症试验中显示出前景。对T细胞疗法，尤其是具有改善的功效的CAR T细胞疗法存在医学需求。

发明内容

[0007] 本文披露的方法和组合物涉及赖氨酸特异性脱甲基化酶1(LSD1)的抑制剂的用途，该抑制剂结合使用和/或制造免疫效应细胞(例如，T细胞或NK细胞)，例如被工程化为表达嵌合抗原受体(CAR)的免疫效应细胞来治疗疾病，例如与癌症相关抗原(或肿瘤标志物)的表达相关的疾病。

[0008] 已经发现LSD1的抑制在改善例如被工程化为表达例如，如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞的功能方面是有效的，并且可以与T细胞(例如，CAR T细胞)疗法和/或制造组合。

[0009] 虽然不希望受理论束缚，但是据信使例如被工程化为表达例如，如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞群体与LSD1抑制剂接触伴随初始T细胞(例如，CD45RA+CD62L+ T细胞，例如T_{SCM}细胞)的比例相对于未接触的群体至少短暂地增加，例如，当此类细胞被刺激(例如，用抗CD3和/或抗CD28刺激)或诱导以增殖(例如，响应于抗原识别，例如，通过例如，如本文描述的CAR分子抗原识别)时。

[0010] 虽然不希望受理论束缚，但是据信使例如被工程化为表达例如，如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞群体与LSD1抑制剂接触伴随初始T细胞(例如，CD45RA+CD62L+ T细胞，例如T_{SCM}细胞)的数量相对于未接触的群体至少短暂地增加，例如，当此类细胞被刺激(例如，用抗CD3和/或抗CD28刺激)或诱导以增殖(例如，响应于抗原识别，例如，通过CAR抗原识别)时。

[0011] 虽然不希望受理论束缚，但是据信使例如被工程化为表达例如，如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞群体与LSD1抑制剂接触伴随T_{EM}细胞的数量相对于未接触的群体至少短暂地减少，例如，当此类细胞被刺激(例如，用抗CD3和/或抗CD28刺激)或诱导以增殖(例如，响应于抗原识别，例如，通过CAR抗原识别)时。

[0012] 虽然不希望受理论束缚，但是据信使例如被工程化为表达例如，如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞群体与LSD1抑制剂接触伴随T_{EM}细胞的比例相对于未接触的群体至少短暂地降低，例如，当此类细胞被刺激(例如，用抗CD3和/或抗CD28刺激)或诱导以增殖(例如，响应于抗原识别，例如，通过例如，如本文描述的CAR分子抗原识别)时。

[0013] 虽然不希望受理论束缚，但是据信使例如被工程化为表达例如，如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞群体与LSD1抑制剂接触伴随来自所述免疫效应细胞群体的细胞因子(例如，IFNg和/或IL-2)的产生相对于未接触的群体至少短暂地增加，例如，当此类细胞被刺激(例如，用抗CD3和/或抗CD28刺激)或诱导以增殖(例如，响应于抗原识别，例如，通过例如，如本文描述的CAR分子抗原识别)时。

[0014] 虽然不希望受理论束缚，但是据信使例如被工程化为表达例如，如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞群体与LSD1抑制剂接触伴随PD-1阳性免疫效应细胞的比例相对于未接触的群体至少短暂地降低，例如，当此类细胞被刺激(例如，用抗CD3和/或抗CD28刺激)或诱导以增殖(例如，响应于抗原识别，例如，通过例如，如本文描述的CAR分子抗原识别)时。

[0015] 虽然不希望受理论束缚，但是据信使例如被工程化为表达例如，如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞群体与LSD1抑制剂接触伴随PD-1阴性免疫效应细胞/PD-1阳性免疫效应细胞的比率相对于未接触的群体至少短暂地增加，例如，当此类细胞被刺激(例如，用抗CD3和/或抗CD28刺激)或诱导以增殖(例如，响应于抗原识别，例如，通过例如，如本文描述的CAR分子抗原识别)时。

[0016] 虽然不希望受理论束缚，但是据信使例如被工程化为表达例如，如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞群体与LSD1抑制剂接触伴随PD-1+/Lag3+/Tim3+免疫效应细胞的比例相对于未接触的群体至少短暂地降低，例如，当此类细胞被刺激(例如，用抗CD3和/或抗CD28刺激)或诱导以增殖(例如，响应于抗原识别，例如，通过例如，如本文描述的CAR分子抗原识别)时。

[0017] 虽然不希望受理论束缚，但是据信使例如被工程化为表达例如，如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞群体与LSD1抑制剂接触伴随PD-1-/Lag3-/Tim3-免疫效应细胞与PD-1+/Lag3+/Tim3+免疫效应细胞的比率相对于未接触的群体至少短暂地增加，例如，当此类细胞被刺激(例如，用抗CD3和/或抗CD28刺激)或诱导以增殖(例如，响应于抗原识别，例如，通过例如，如本文描述的CAR分子抗原识别)时。

[0018] 虽然不希望受理论束缚，但是据信使例如被工程化为表达例如，如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞群体与LSD1抑制剂接触伴随这些免疫效应细胞的增殖相对于未接触的群体至少短暂地增加，例如，当此类细胞被刺激(例如，用抗CD3和/或抗CD28刺激)或诱导以增殖(例如，响应于抗原识别，例如，通过例如，如本文描述的CAR分子抗原识别)时。再次，不受理论束缚，据信T细胞可以通过例如用CD3/CD28刺激或抗原刺激(例如，通过经由CAR诱导的信号传导)进行刺激而耗竭。这种耗竭可以导致此类免疫效应细胞的功效或功能降低(例如，降低的增殖、持久性和/或抗肿瘤功效)。如本文所描述，本发明人已经发现抑制LSD1

抑制更初始T细胞(例如,T_{SCM}细胞)的耗竭和/或增加这些T细胞的增殖和/或存活,这些T细胞进而具有更好的功效和功能。因此,本发明的实施例是至少部分地基于以下认识:LSD1抑制与改善的T细胞功能和/或表型相关。

[0019] 在一个实施例中,这些方法可以用于优化受试者中免疫效应细胞(例如,T细胞)的性能。虽然不希望受理论束缚,但是据信,在一个实施例中,内源性、未修饰的免疫效应细胞(例如,T细胞)的性能得到改善。虽然不希望受理论束缚,但是据信,在一个实施例中,收获(例如,自给予LSD1抑制剂的受试者)并且被工程化为表达例如,如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞(例如,T细胞)的性能得到改善。在其他实施例中,已经或将被工程化为表达例如,如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞(例如,T细胞)的群体可以通过与一定量的LSD1抑制剂接触而离体进行处理,该LSD1抑制剂相对于未接触的群体提高初始T细胞(例如,T_{SCM}细胞)的数量或比率和/或提高PD-1阴性(例如,PD-1-/Tim3-/Lag3-)T细胞的数量或比比率。

[0020] 在一个实施例中,该LSD1抑制剂给予足以降低受试者的外周血中(或从受试者分离的T细胞制剂中)PD-1阳性T细胞的比例、增加PD-1阴性T细胞的比例、或增加PD-1阴性T细胞/PD-1阳性T细胞的比率的时间量。

[0021] 在一个实施例中,治疗受试者(例如,人受试者)、例如促进受试者中的免疫应答的方法包括(例如)相对于未与LSD1抑制剂接触的T细胞,抑制由PD-1与PD-L1或PD-L2的接合介导的负免疫应答。

[0022] 在一个实施例中,治疗受试者(例如,人受试者)、例如促进受试者中的免疫应答的方法包括(例如)相对于未与LSD1抑制剂接触的T细胞,增加能够增殖的T细胞的数量。

[0023] 在一个实施例中,治疗受试者(例如,人受试者)、例如促进受试者中的免疫应答的方法包括(例如)相对于未与LSD1抑制剂接触的T细胞,增加能够具有细胞毒性功能、分泌细胞因子或活化的T细胞的数量。

[0024] 在一个实施例中,治疗受试者(例如,人受试者)、例如促进受试者中的免疫应答的方法包括(例如)相对于未与LSD1抑制剂接触的T细胞,增加响应于T细胞的刺激和/或活化的细胞因子分泌(例如,干扰素γ(IFN-g)和/或白细胞介素2(IL-2))的量。

[0025] 在一个实施例中,LSD1抑制剂在给予被工程化为表达例如,如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞(例如,T细胞)之前(例如,在收获这些免疫效应细胞之前或之后)(体内或离体)给予足以发生以下中的一项或多项的时间量:

[0026] 1)初始T细胞,例如T_{SCM}细胞的比例增加;

[0027] 2)初始T细胞,例如T_{SCM}细胞的数量增加;

[0028] 3)T_{EM}细胞的数量减少;

[0029] 4)T_{EM}细胞的比例降低;

[0030] 5)CD45RA+CD62L+ T细胞的比例增加;

[0031] 6)CD45RA+CD62L+ T细胞的数量增加;

[0032] 7)PD-1阳性免疫效应细胞的比例降低;

[0033] 8)PD-1阴性免疫效应细胞/PD-1阳性免疫效应细胞的比率增加;

[0034] 9)PD-1+/Lag3+/Tim3+免疫效应细胞的比例降低;

[0035] 10)PD-1-/Lag3-/Tim3-免疫效应细胞与PD-1+/Lag3+/Tim3+免疫效应细胞的比率

增加；

[0036] 11)这些免疫效应细胞的增殖增加；

[0037] 12)来自所述免疫效应细胞群体的细胞因子(例如,IFNg和/或IL-2)的产生增加；或

[0038] 13)上述中的两项、三项、四项、五项、六项、七项、八项、九项、十项、十一项、十二项或更多项(例如,全部)的组合；

[0039] 并且其中例如,与未治疗的受试者相比,1)、2)、3)、4)、5)、6)、7)、8)、9)、10)、11)、12)或13)例如,至少短暂地(例如,永久地)发生。在一个实施例中,在给药LSD1抑制剂开始或完成后至少5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55或60天收获被工程化为表达例如,如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞(例如,T细胞)。

[0040] 在一个实施例中,在收获被工程化为表达例如,如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞(例如,T细胞)之前向受试者给予LSD1抑制剂足以发生,例如,在这些收获的细胞中或在这些工程化的细胞中(或在未收获的细胞中,或在两者中)发生以下中的一项或多项的时间量：

[0041] 1)初始T细胞,例如T_{SCM}细胞的比例增加；

[0042] 2)初始T细胞,例如T_{SCM}细胞的数量增加；

[0043] 3)T_{EM}细胞的数量减少；

[0044] 4)T_{EM}细胞的比例降低；

[0045] 5)CD45RA+CD62L+ T细胞的比例增加；

[0046] 6)CD45RA+CD62L+ T细胞的数量增加；

[0047] 7)PD-1阳性免疫效应细胞的比例降低；

[0048] 8)PD-1阴性免疫效应细胞/PD-1阳性免疫效应细胞的比率增加；

[0049] 9)PD-1+/Lag3+/Tim3+免疫效应细胞的比例降低;或

[0050] 10)PD-1-/Lag3-/Tim3-免疫效应细胞与PD-1+/Lag3+/Tim3+免疫效应细胞的比率增加；

[0051] 11)这些免疫效应细胞的增殖增加;或

[0052] 12)来自所述免疫效应细胞群体的细胞因子(例如,IFNg和/或IL-2)的产生增加；或

[0053] 13)上述中的两项、三项、四项、五项、六项、七项、八项、九项、十项、十一项、十二项或更多项(例如,全部)的组合；

[0054] 并且其中例如,与未治疗的受试者相比,1)、2)、3)、4)、5)、6)、7)、8)、9)、10)、11)、12)或13)例如,至少短暂地(例如,永久地)发生。在一个实施例中,在给药LSD1抑制剂开始或完成后至少5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55或60天收获被工程化为表达例如,如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞(例如,T细胞)。

[0055] 在一个实施例中,LSD1抑制剂在收获被工程化为表达例如,如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞(例如,T细胞)之后给予足以发生以下中的一项或多项的时间量：

[0056] 1)初始T细胞,例如T_{SCM}细胞的比例增加；

[0057] 2)初始T细胞,例如T_{SCM}细胞的数量增加；

[0058] 3)T_{EM}细胞的数量减少；

[0059] 4)T_{EM}细胞的比例降低；

[0060] 5)CD45RA+CD62L+ T细胞的比例增加；

[0061] 6)CD45RA+CD62L+ T细胞的数量增加；

[0062] 7)PD-1阳性免疫效应细胞的比例降低；

[0063] 8)PD-1阴性免疫效应细胞/PD-1阳性免疫效应细胞的比率增加；

[0064] 9)PD-1+/Lag3+/Tim3+免疫效应细胞的比例降低；

[0065] 10)PD-1-/Lag3-/Tim3-免疫效应细胞与PD-1+/Lag3+/Tim3+免疫效应细胞的比率增加；

[0066] 11)这些免疫效应细胞的增殖增加；

[0067] 12)来自所述免疫效应细胞群体的细胞因子(例如,IFNg和/或IL-2)的产生增加；或

[0068] 13)上述中的两项、三项、四项、五项、六项、七项、八项、九项、十项、十一项、十二项或更多项(例如,全部)的组合；

[0069] 并且其中例如,与未治疗的受试者相比,1)、2)、3)、4)、5)、6)、7)、8)、9)、10)、11)、12)或13)例如,至少短暂地(例如,永久地)发生。

[0070] 在一个实施例中,LSD1抑制剂在给予被工程化为表达例如,如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞(例如,T细胞)之后给予足以发生以下中的一项或多项的时间量：

[0071] 1)初始T细胞,例如T_{SCM}细胞的比例增加；

[0072] 2)初始T细胞,例如T_{SCM}细胞的数量增加；

[0073] 3)T_{EM}细胞的数量减少；

[0074] 4)T_{EM}细胞的比例降低；

[0075] 5)CD45RA+CD62L+ T细胞的比例增加；

[0076] 6)CD45RA+CD62L+ T细胞的数量增加；

[0077] 7)PD-1阳性免疫效应细胞的比例降低；

[0078] 8)PD-1阴性免疫效应细胞/PD-1阳性免疫效应细胞的比率增加；

[0079] 9)PD-1+/Lag3+/Tim3+免疫效应细胞的比例降低；

[0080] 10)PD-1-/Lag3-/Tim3-免疫效应细胞与PD-1+/Lag3+/Tim3+免疫效应细胞的比率增加；

[0081] 11)这些免疫效应细胞的增殖增加；

[0082] 12)来自所述免疫效应细胞群体的细胞因子(例如,IFNg和/或IL-2)的产生增加；或

[0083] 13)上述中的两项、三项、四项、五项、六项、七项、八项、九项、十项、十一项、十二项或更多项(例如,全部)的组合；

[0084] 并且其中例如,与未治疗的受试者相比,1)、2)、3)、4)、5)、6)、7)、8)、9)、10)、11)、12)或13)例如,至少短暂地(例如,永久地)发生。

[0085] 在一个实施例中,LSD1抑制剂被离体给予至已经或将被工程化为表达例如,如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞(例如,T细胞)足以发生以下中的一项或多项的时间量：

[0086] 1)初始T细胞,例如T_{SCM}细胞的比例增加；

[0087] 2)初始T细胞,例如T_{SCM}细胞的数量增加；

[0088] 3) T_{EM}细胞的数量减少；

[0089] 4) T_{EM}细胞的比例降低；

[0090] 5) CD45RA+CD62L+ T细胞的比例增加；

[0091] 6) CD45RA+CD62L+ T细胞的数量增加；

[0092] 7) PD-1阳性免疫效应细胞的比例降低；

[0093] 8) PD-1阴性免疫效应细胞/PD-1阳性免疫效应细胞的比率增加；

[0094] 9) PD-1+/Lag3+/Tim3+免疫效应细胞的比例降低；

[0095] 10) PD-1-/Lag3-/Tim3-免疫效应细胞与PD-1+/Lag3+/Tim3+免疫效应细胞的比率增加；

[0096] 11) 这些免疫效应细胞的增殖增加；

[0097] 12) 来自所述免疫效应细胞群体的细胞因子(例如，IFNg和/或IL-2)的产生增加；或

[0098] 13) 上述中的两项、三项、四项、五项、六项、七项、八项、九项、十项、十一项、十二项或更多项(例如，全部)的组合；

[0099] 并且其中例如，与未处理的细胞相比，1)、2)、3)、4)、5)、6)、7)、8)、9)、10)、11)、12)或13)例如，至少短暂地(例如，永久地)发生。

[0100] 不受理论束缚，据信LSD1也可以使p53直接脱甲基化(Nature Reviews Molecular Cell Biology[自然评论：分子细胞生物学]13，297-311(2012年5月)，特此通过引用以其全文并入)。因此，在一个实施例中，本文披露的化合物和方法可以用于抑制p53的脱甲基化。

[0101] 在一个实施例中，受试者患有癌症，并且该方法包括促进该受试者对该癌症的免疫应答。在一个实施例中，基于患有癌症来选择受试者。在一个实施例中，癌症的细胞表达PD-L1或PD-L2。在一个实施例中，癌症微环境中的细胞表达PD-L1或PD-L2。

[0102] 在一个实施例中，癌症包括实体瘤。在一个实施例中，癌症是血液癌症。在一个实施例中，癌症是白血病。在一个实施例中，癌症是慢性淋巴细胞性白血病(CLL)。在一个实施例中，癌症是CLL，并且其中CAR的抗原结合结构域靶向CD19。在一个实施例中，癌症是黑素瘤。

[0103] 在一个实施例中，该方法进一步包括向受试者给予另外的治疗，例如化学治疗剂、放射、细胞疗法或骨髓移植。在一个实施例中，该方法进一步包括给予杀伤T细胞的另外的治疗，例如，放射或细胞毒性化学疗法。在一个实施例中，该方法进一步包括向受试者给予mTOR途径抑制剂，如维生素E、维生素A、抗菌抗生素、抗氧化剂、L-肉碱、硫辛酸、二甲双胍、白藜芦醇、瘦蛋白(leptine)、非类固醇抗炎药物或COX抑制剂。在一个实施例中，该方法进一步包括向受试者给予二甲双胍。在一个实施例中，LSD1抑制剂在另外的治疗开始之前或之后给予。在一个实施例中，该方法进一步包括给予用于该癌症的另外的治疗。

[0104] 在一个实施例中，该方法进一步包括给予被工程化为表达例如，如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞(例如，T细胞)与另一种药剂(除LSD1抑制剂之外)的组合。在一个实施例中，该药剂可以是激酶抑制剂，例如CDK4/6抑制剂、BTK抑制剂、mTOR抑制剂、MNK抑制剂或双重mTOR/P13K激酶抑制剂、以及它们的组合。

[0105] 在一个实施例中，该方法包括在哺乳动物中提供抗肿瘤免疫。在一个实施例中，细胞是自体T细胞或自体NK细胞。在一个实施例中，细胞是同种异体T细胞或同种异体NK细胞。

在一个实施例中，哺乳动物是人。

[0106] 在一个实施例中，该方法包括治疗患有与癌症相关抗原或肿瘤标志物的表达相关的疾病的哺乳动物。

[0107] 在一个实施例中，该方法包括给予增加被工程化为表达例如，如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞(例如，T细胞或NK细胞)的功效的药剂，例如本文描述的药剂。

[0108] 在一个实施例中，该方法包括给予改善与给予表达例如，如本文描述的CAR分子的细胞、被工程化为表达例如，如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞(例如，T细胞或NK细胞)相关的一项或多项副作用的药剂，例如本文描述的药剂。

[0109] 在一个实施例中，该方法包括给予治疗与如本文描述的癌症相关抗原相关的疾病的药剂，例如本文描述的药剂。

[0110] 在一个实施例中，被工程化为表达例如，如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞(例如，T细胞或NK细胞)表达两种或更多种CAR分子，并且例如被给予至有需要的受试者以治疗癌症。

[0111] 在一个实施例中，例如使用体外转录将CAR分子引入免疫效应细胞(例如，T细胞、NK细胞)中，并且受试者(例如，人)接受包含CAR分子的细胞的初始给予和包含CAR分子的细胞的一次或多次后续给予，其中该一次或多次后续给予在前一次给予后少于15天(例如14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、或2天)给予。在一个实施例中，每周向受试者(例如人)给予包含CAR分子的细胞的多于一次给药，例如每周给予包含CAR分子的细胞的2、3或4次给药。在一个实施例中，受试者(例如，人受试者)每周接受包含CAR分子的细胞的多于一次给药(例如，每周2、3或4次给药)(在本文中也称为周期)，然后一周不给予包含CAR分子的细胞，并且然后向受试者给予包含CAR分子的细胞的一次或多次另外的给药(例如，每周包含CAR分子的细胞的多于一次给药)。在另一个实施例中，受试者(例如，人受试者)接受包含CAR分子的细胞的多于一个周期，并且每个周期之间的时间少于10、9、8、7、6、5、4或3天。在一个实施例中，每隔一天给予包含CAR分子的细胞，每周给予3次。在一个实施例中，给予包含CAR分子的细胞持续至少两周、三周、四周、五周、六周、七周、八周或更多周。

[0112] 在一个实施例中，被工程化为表达CAR(例如，本文描述的CAR分子)的免疫效应细胞(例如，T细胞或NK细胞)作为疾病(例如癌症，例如本文描述的癌症)的一线治疗给予。在另一个实施例中，被工程化为表达CAR(例如，本文描述的CAR分子)的免疫效应细胞(例如，T细胞)作为疾病(例如癌症，例如本文描述的癌症)的二线、三线、四线治疗给予。

[0113] 在一个实施例中，给予本文描述的细胞群体。

[0114] 在一个实施例中，LSD1抑制剂和被工程化为表达例如，如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞(例如，T细胞)存在于单个组合物中，例如作为单个组合物给予。在一个实施例中，LSD1抑制剂和被工程化为表达例如，如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞(例如，T细胞)存在于分开的组合物中，例如作为分开的组合物给予。

[0115] 在某些方面，本披露提供了一种用于治疗受试者的LSD1抑制剂，其中所述LSD1抑制剂增强所述受试者的免疫应答，并且其中所述受试者已经接受、正在接受或将要接受被工程化为表达例如，如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞。

[0116] 在某些方面，本披露提供了一种用于治疗受试者的免疫效应细胞，该免疫效应细胞被工程化为表达例如，如本文描述的CAR分子，其中所述受试者已经接受、正在接受或将

要接受LSD1抑制剂，例如增强所述受试者的免疫应答的LSD1抑制剂。

[0117] 在某些方面，本披露提供了一种用于治疗受试者的免疫效应细胞，该免疫效应细胞被工程化为表达例如，如本文描述的CAR分子，其中所述被工程化为表达例如，如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞已经与LSD1抑制剂接触，例如，与LSD1抑制剂离体接触。

[0118] 在一个实施例中，用包含编码例如，如本文描述的CAR分子的核酸分子的载体转染或转导本发明的自体或同种异体免疫效应细胞群体。在一个实施例中，该载体是逆转录病毒载体。在一个实施例中，该载体是如本文其他地方描述的自灭活慢病毒载体。在一个实施例中，将载体递送(例如，通过转染或电穿孔)至细胞，例如T细胞或NK细胞，其中该载体包含编码例如，如本文描述的CAR分子的核酸分子，该核酸分子被转录为mRNA分子，并且该CAR分子从该RNA分子翻译并在细胞的表面上表达。

[0119] 在一个实施例中，给予表达CAR的细胞，例如表达CAR的T细胞(CART细胞)或表达CAR的NK细胞的群体。在一些实施例中，表达CAR的细胞群体包含表达不同CAR的细胞的混合物。例如，在一个实施例中，表达CAR的细胞群体可以包括表达CAR的第一细胞，该CAR具有结合至如本文描述的第一肿瘤标志物的抗原结合结构域；以及表达CAR的第二细胞，该CAR具有结合至如本文描述的第二肿瘤标志物的不同抗原结合结构域。作为另一个实例，表达CAR的细胞群体可以包括表达CAR的第一细胞，该CAR包含结合至如本文描述的肿瘤标志物的抗原结合结构域；以及表达CAR的第二细胞，该CAR包含针对除如本文描述的肿瘤标志物以外的靶标的抗原结合结构域。在一个实施例中，表达CAR的细胞群体包括，例如表达包含初级细胞内信号传导结构域的CAR的第一细胞，和表达包含次级信号传导结构域的CAR的第二细胞。

[0120] 在一个方面，本发明的特征在于一种治疗受试者(例如，患有疾病，例如与肿瘤抗原的表达相关的疾病，例如癌症的受试者)的方法，该方法包括给予LSD1抑制剂和被工程化为表达嵌合抗原受体(CAR)的免疫效应细胞群体，其中该LSD1抑制剂包含3-(3-氨基-2-甲基苯基)-1-(4-甲氧基苯基)-6-甲基-1H-吲哚-5-甲腈。在实施例中，该方法包括在该免疫效应细胞群体之前给予该LSD1抑制剂。在实施例中，该方法包括与该免疫效应细胞群体同时给予该LSD1抑制剂。在实施例中，该方法包括在该免疫效应细胞群体之后给予该LSD1抑制剂。在实施例中，该方法包括在给予该免疫效应细胞群体之前和之后(例如，一定间隔时间)给予该LSD1抑制剂。

[0121] 在一个方面，本发明的特征在于一种治疗受试者(例如，患有疾病，例如与肿瘤抗原的表达相关的疾病，例如癌症的受试者)的方法，该方法包括向该受试者给予包含3-(3-氨基-2-甲基苯基)-1-(4-甲氧基苯基)-6-甲基-1H-吲哚-5-甲腈的LSD1抑制剂，其中所述受试者已经接受、正在接受或将要接受被工程化为表达嵌合抗原受体(CAR)的免疫效应细胞群体。在实施例中，该方法包括向受试者给予LSD1抑制剂和被工程化为表达例如，如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞群体。在实施例中，LSD1抑制剂在被工程化为表达例如，如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞群体之前给予，并且其中LSD1抑制剂的所述给予在给予被工程化为表达例如，如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞群体后持续一段时间。在其他实施例中，在给予被工程化为表达例如，如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞群体之后给予LSD1抑制剂是以相对于在所述LSD1抑制剂不存在下给予的被工程化为表达例如，如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞的等效群体，足以增加被工程化为表达例如，如本文描述

的CAR分子的免疫效应群体的抗肿瘤作用的量进行。

[0122] 在另一个方面，本发明的特征在于一种增加受试者中免疫效应细胞群体的治疗功效的方法，这些免疫效应细胞被工程化为表达例如，如本文描述的CAR分子，例如CAR19(例如，CTL019)，该方法包括至少短暂地(例如，短暂地或永久地)降低所述细胞中LSD1的活性或表达的步骤，以使得降低所述细胞中LSD1的活性或表达的步骤包括使该细胞与包含3-(3-氨基-2-甲基苯基)-1-(4-甲氧基苯基)-6-甲基-1H-吲哚-5-甲腈的LSD1抑制剂接触。在实施例中，该接触是离体进行的。在实施例中，该接触是体内进行的(例如，将免疫效应细胞群体和LSD1抑制剂共同给予至受试者)。

[0123] 在任一前述方面的实施例中，LSD1抑制剂的给予或接触使得：

[0124] 1)初始T细胞，例如T_{SCM}细胞的比例增加；

[0125] 2)初始T细胞，例如T_{SCM}细胞的数量增加；

[0126] 3)T_{EM}细胞的数量减少；

[0127] 4)T_{EM}细胞的比例降低；

[0128] 5)CD45RA+CD62L+ T细胞的比例增加；

[0129] 6)CD45RA+CD62L+ T细胞的数量增加；

[0130] 7)PD-1阳性免疫效应细胞的比例降低；

[0131] 8)PD-1阴性免疫效应细胞/PD-1阳性免疫效应细胞的比率增加；

[0132] 9)PD-1+/Lag3+/Tim3+免疫效应细胞的比例降低；

[0133] 10)PD-1-/Lag3-/Tim3-免疫效应细胞与PD-1+/Lag3+/Tim3+免疫效应细胞的比率增加；

[0134] 11)这些免疫效应细胞的增殖增加；

[0135] 12)来自所述免疫效应细胞群体的细胞因子(例如，IFNg和/或IL-2)的产生增加；或

[0136] 13)上述中的两项、三项、四项、五项、六项、七项、八项、九项、十项、十一项、十二项或更多项(例如，全部)的组合。

[0137] 在实施例中，该作用是短暂的。在实施例中，该作用是永久的。在实施例中，该作用是与未与LSD1抑制剂接触的细胞相比。在实施例中，该作用是与未与LSD1抑制剂接触的同一受试者的细胞相比。

[0138] 在另一个方面，本发明提供了一种治疗受试者的方法，该方法包括：

[0139] a)向受试者给予包含3-(3-氨基-2-甲基苯基)-1-(4-甲氧基苯基)-6-甲基-1H-吲哚-5-甲腈的LSD1抑制剂；

[0140] b)在该LSD1抑制剂的所述给予之后，从a)的受试者收集免疫效应细胞群体；

[0141] c)离体提供所述免疫效应细胞群体；

[0142] d)使所述离体免疫效应细胞群体与该LSD1抑制剂接触，其中与该LSD1抑制剂的该接触引起以下中的一项或多项发生：

[0143] 1)初始T细胞，例如T_{SCM}细胞的比例增加；

[0144] 2)初始T细胞，例如T_{SCM}细胞的数量增加；

[0145] 3)T_{EM}细胞的数量减少；

[0146] 4)T_{EM}细胞的比例降低；

[0147] 5)CD45RA+CD62L+ T细胞的比例增加；

[0148] 6、)CD45RA+CD62L+ T细胞的数量增加；

[0149] 7)PD-1阳性免疫效应细胞的比例降低；

[0150] 8)PD-1阴性免疫效应细胞/PD-1阳性免疫效应细胞的比率增加；

[0151] 9)PD-1+/Lag3+/Tim3+免疫效应细胞的比例降低；

[0152] 10)PD-1-/Lag3-/Tim3-免疫效应细胞与PD-1+/Lag3+/Tim3+免疫效应细胞的比率增加；

[0153] 11)这些免疫效应细胞的增殖增加；

[0154] 12)来自所述免疫效应细胞群体的细胞因子(例如,IFNg和/或IL-2)的产生增加；或

[0155] 13)上述中的两项、三项、四项、五项、六项、七项、八项、九项、十项、十一项、十二项或更多项(例如,全部)的组合；

[0156] 并且e)向受试者给予该免疫效应细胞群体。

[0157] 在实施例中,d)的作用是短暂的。在实施例中,d)的作用是永久的。在实施例中,d)的作用是与未与LSD1抑制剂接触的细胞相比。在实施例中,步骤e)的给予是给予至与步骤b)的受试者相同的受试者(例如,涉及使用自体免疫效应细胞群体的治疗方法)。在实施例中,步骤e)的给予是给予至与步骤b)的受试者不同的受试者(例如相同物种的受试者)(例如,涉及使用同种异体免疫效应细胞群体的治疗方法)。

[0158] 在实施例中,步骤e)进一步包括向该受试者给予LSD1抑制剂。在实施例中,该方法进一步包括将编码例如,如本文描述的CAR分子的核酸插入该离体免疫效应细胞群体的细胞中的步骤。

[0159] 在另一个方面,本发明的特征在于LSD1抑制剂在制造例如,被工程化为表达例如,如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞群体中的用途。在一个方面,本发明提供了一种制备免疫效应细胞群体的方法,该免疫效应细胞群体任选地是T细胞群体,该方法包括以下步骤：

[0160] a)使免疫效应细胞群体与包含3-(3-氨基-2-甲基苯基)-1-(4-甲氧基苯基)-6-甲基-1H-吲哚-5-甲腈的LSD1抑制剂接触；

[0161] 由此制备免疫效应细胞群体,该免疫效应细胞群体任选地是T细胞群体,

[0162] 其中与该LSD1抑制剂的接触引起以下中的一项或多项发生：

[0163] 1)初始T细胞,例如T_{SCM}细胞的比例增加；

[0164] 2)初始T细胞,例如T_{SCM}细胞的数量增加；

[0165] 3)T_{EM}细胞的数量减少；

[0166] 4)T_{EM}细胞的比例降低；

[0167] 5)CD45RA+CD62L+ T细胞的比例增加；

[0168] 6)CD45RA+CD62L+ T细胞的数量增加；

[0169] 7)PD-1阳性免疫效应细胞的比例降低；

[0170] 8)PD-1阴性免疫效应细胞/PD-1阳性免疫效应细胞的比率增加；

[0171] 9)PD-1+/Lag3+/Tim3+免疫效应细胞的比例降低;或

[0172] 10)PD-1-/Lag3-/Tim3-免疫效应细胞与PD-1+/Lag3+/Tim3+免疫效应细胞的比率

增加；

[0173] 11)这些免疫效应细胞的增殖增加;或

[0174] 12)来自所述免疫效应细胞群体的细胞因子(例如,IFNg和/或IL-2)的产生增加;或

[0175] 13、)上述中的两项、三项、四项、五项、六项、七项、八项、九项、十项、十一项、十二项或更多项(例如,全部)的组合;

[0176] 在实施例中,1)-13)的作用是短暂的。在实施例中,1)-13)的作用是永久的。在实施例中,1)-13)的作用是与未与LSD1抑制剂接触的细胞相比。

[0177] 在实施例中,该方法进一步包括b)将编码例如,如本文描述的CAR分子的核酸插入该免疫效应细胞群体的细胞中的步骤。在实施例中,步骤a)的接触在步骤b)的所述插入

[0178] 1)之前;

[0179] 2)同时;

[0180] 3)之后;或

[0181] 4)之前和之后;

[0182] 发生。在实施例中,步骤a)的接触和任选地步骤b)的插入是离体的。

[0183] 在另一个方面,本发明的特征在于通过前述方面中描述的任何方法制备的细胞,例如,(例如)被工程化为表达例如,如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞(例如免疫效应细胞群体)。

[0184] 在另一个方面,本发明的特征在于一种被工程化为表达例如,如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞群体,其中该CAR包含抗原结合结构域、跨膜结构域和细胞内信号传导结构域,并且其中所述细胞中LSD1的表达和/或功能已被降低或消除。在一个实施例中,该减少或消除至少是短暂的。在实施例中,该免疫效应细胞群体已经与包含3-(3-氨基-2-甲基苯基)-1-(4-甲氧基苯基)-6-甲基-1H-吲哚-5-甲腈的LSD1抑制剂接触。在实施例中,本发明的特征在于一种包含上述免疫效应细胞群体和LSD1抑制剂的组合物。

[0185] 在任何前述方面和实施例中,细胞和/或细胞群体是(或包含)免疫效应细胞,例如免疫效应细胞群体包含T细胞或NK细胞,例如由T细胞或NK细胞组成。在实施例中,这些细胞是T细胞,例如CD8+ T细胞、CD4+ T细胞或它们的组合。在实施例中。这些细胞是NK细胞。

[0186] 在实施例中,这些细胞是人细胞。在实施例中,这些细胞例如对于有待给予这些细胞的受试者是自体的。在实施例中,这些细胞例如对于有待给予这些细胞的受试者是同种异体的。

[0187] 在实施例中,这些细胞是或包含被工程化为表达例如,如本文描述的CAR分子的细胞。

[0188] 在涉及CAR的任何前述方面和实施例中,该CAR包含抗原结合结构域(其任选地是抗体或抗体片段,TCR或TCR片段)、跨膜结构域和细胞内信号传导结构域(其任选地是包含共刺激结构域和/或初级信号传导结构域的细胞内信号传导结构域)。在实施例中,与肿瘤抗原结合的抗原结合结构域是选自由以下组成的组:TSHR、CD19、CD123、CD22、CD30、CD171、CS-1、CLL-1、CD33、EGFRvIII、GD2、GD3、BCMA、Tn Ag、PSMA、ROR1、FLT3、FAP、TAG72、CD38、CD44v6、CEA、EPCAM、B7H3、KIT、IL-13Ra2、间皮素、IL-11Ra、PSCA、PRSS21、VEGFR2、LewisY、CD24、PDGFR-β、SSEA-4、CD20、叶酸受体α、ERBB2(Her2/neu)、MUC1、EGFR、NCAM、前列腺酶、

PAP、ELF2M、肝配蛋白B2、IGF-I受体、CAIX、LMP2、gp100、bcr-abl、酪氨酸酶、EphA2、岩藻糖基GM1、sLe、GM3、TGS5、HMWMAA、o-乙酰基-GD2、叶酸受体β、TEM1/CD248、TEM7R、CLDN6、GPRC5D、CXORF61、CD97、CD179a、ALK、聚唾液酸、PLAC1、GloboH、NY-BR-1、UPK2、HAVCR1、ADRB3、PANX3、GPR20、LY6K、OR51E2、TARP、WT1、NY-ESO-1、LAGE-1a、MAGE-A1、豆荚蛋白(legumain)、HPV E6、HPV E7、MAGE A1、ETV6-AML、精子蛋白17、XAGE1、Tie 2、MAD-CT-1、MAD-CT-2、Fos相关抗原1、p53、p53突变体、前列腺特异性蛋白(prostein)、存活素和端粒酶、PCTA-1/半乳凝素8、MelanA/MART1、Ras突变体、hTERT、肉瘤易位断点、ML-IAP、ERG(TMPRSS2 ETS融合基因)、NA17、PAX3、雄性激素受体、细胞周期蛋白B1、MYCN、RhoC、TRP-2、CYP1B1、BORIS、SART3、PAX5、OY-TES1、LCK、AKAP-4、SSX2、RAGE-1、人端粒酶逆转录酶、RU1、RU2、肠道羧基酯酶、mut hsp70-2、CD79a、CD79b、CD72、LAIR1、FCAR、LILRA2、CD300LF、CLEC12A、BST2、EMR2、LY75、GPC3、FCRL5、以及IGLL1。在一些实施例中，该抗原结合结构域结合CD19或BCMA。

[0189] 在一些实施例中，该抗原结合结构域是包含以下的抗体或抗体片段：

[0190] (i)根据表6-9的CD19结合结构域的氨基酸序列，例如，根据表9的CTL019 scFv结构域的氨基酸序列或根据SEQ ID NO:957的氨基酸序列，或与其至少95％相同的氨基酸序列；

[0191] (ii)根据表6-9的人源化CD19结合结构域的氨基酸序列，例如，根据表9的CAR2 scFv结构域的氨基酸序列或根据SEQ ID NO:898的氨基酸序列，或与其至少95％相同的氨基酸序列；或

[0192] (iii)根据表11A-11B的BCMA结合结构域的氨基酸序列，例如，根据表11A的139109 scFv结构域的氨基酸序列或根据SEQ ID NO:967的氨基酸序列，或与其至少95％相同的氨基酸序列；或者

[0193] 其中该CAR包含：

[0194] (i)根据表6-9的CD19 CAR的氨基酸序列，例如，根据表9的CTL019的氨基酸序列或根据SEQ ID NO:956的氨基酸序列，或与其至少95％相同的氨基酸序列；

[0195] (ii)根据表6-9的人源化CD19 CAR的氨基酸序列，例如，根据表9的CAR2的氨基酸序列或根据SEQ ID NO:902的氨基酸序列，或与其至少95％相同的氨基酸序列；或

[0196] (iii)根据表11A-11B的BCMA CAR的氨基酸序列，例如，根据表11A的139109 CAR的氨基酸序列或根据SEQ ID NO:971的氨基酸序列，或与其至少95％相同的氨基酸序列。

[0197] 在实施例中，该跨膜结构域包含：

[0198] (i)具有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的至少一个、两个或三个修饰、但不超过20、10或5个修饰的氨基酸序列，或与SEQ ID NO:12的氨基酸序列具有95％-99％同一性的序列；或

[0199] (ii)SEQ ID NO:12的序列。

[0200] 在实施例中，该抗原结合结构域通过铰链区与跨膜结构域连接，其中所述铰链区包含SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:6、或其具有95％-99％同一性的序列。

[0201] 在实施例中，该细胞内信号传导结构域包含初级信号传导结构域和/或共刺激信号传导结构域，其中该初级信号传导结构域包含选自CD3ζ、CD3γ、CD3δ、CD3ε、常见FcRγ(FCER1G)、FcRβ(FcεR1b)、CD79a、CD79b、FcγRIIa、DAP10或DAP12的蛋白质的功能性信号传

导结构域。

[0202] 在实施例中，该初级信号传导结构域包含：

[0203] (i)具有SEQ ID NO:18或SEQ ID NO:20的氨基酸序列的至少一个、两个或三个修饰、但不超过20、10或5个修饰的氨基酸序列，或与SEQ ID NO:18或SEQ ID NO:20的氨基酸序列具有95％-99％同一性的序列；或

[0204] (ii)SEQ ID NO:18或SEQ ID NO:20的氨基酸序列。

[0205] 在实施例中，该细胞内信号传导结构域包含共刺激信号传导结构域、或初级信号传导结构域和共刺激信号传导结构域，其中该共刺激信号传导结构域包含选自下组的蛋白质的功能性信号传导结构域，该组由以下组成：CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30、CD40、PD-1、ICOS、淋巴细胞功能相关抗原-1(LFA-1)、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、B7-H3、与CD83特异性地结合的配体、CDS、ICAM-1、GITR、BAFFR、HVEM(LIGHTR)、SLAMF7、NKp80(KLRF1)、CD160、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL2Rβ、IL2Rγ、IL7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1(CD226)、SLAMF4(CD244、2B4)、CD84、CD96(Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9(CD229)、CD160(BY55)、PSGL1、CD100(SEMA4D)、CD69、SLAMF6(NTB-A、Ly108)、SLAM(SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME(SLAMF8)、SELPLG(CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、NKp44、NKp30、NKp46、以及NKG2D，例如该共刺激信号传导结构域包含具有SEQ ID NO:14或SEQ ID NO:16的氨基酸序列的至少一个、两个或三个修饰、但不超过20、10或5个修饰的氨基酸序列，或与SEQ ID NO:14或SEQ ID NO:16的氨基酸序列具有95％-99％同一性的序列，例如该共刺激信号传导结构域包括SEQ ID NO:14或SEQ ID NO:16的序列，例如该细胞内结构域包含SEQ ID NO:14或SEQ ID NO:16的序列和SEQ ID NO:18或SEQ ID NO:20的序列，其中包含该细胞内信号传导结构域的序列在同一框架中表达并且表达为单个多肽链。

[0206] 在实施例中，该CAR包含前导序列，该前导序列包含SEQ ID NO:2，例如由SEQ ID NO:2组成。

[0207] 在任何前述方面和实施例中，该方法进一步包括给予选自以下的第二LSD1抑制剂：(1)靶向LSD1基因或其相应调控元件的一个或多个位点的基因编辑系统；(2)包含与LSD1基因的靶序列互补的序列的核酸(例如，siRNA或shRNA，或反义寡核苷酸)；(3)蛋白质(例如，显性负性LSD1，例如，催化失活的LSD1，或LSD1的显性负性结合配偶体)；(4)小分子；(5)编码(1)-(3)中任一项的核酸；或(6)(1)-(5)的任何组合。

[0208] 在一个方面，该第二LSD1抑制剂是shRNA或siRNA。在实施例中，该第二LSD1抑制剂是shRNA。在实施例中，该第二LSD1抑制剂是siRNA。在实施例中，该shRNA或siRNA包含与LSD1基因(KDM1A)的靶序列互补的序列，例如选自SEQ ID NO:43至82中任一项的序列。

[0209] 在另一个方面，该第二LSD1抑制剂是由包含编码抗LSD1 shRNA的任一序列的核酸编码、例如由包含选自SEQ ID NO:83至122中任一项的序列的核酸编码的shRNA。

[0210] 在另一个方面，该第二LSD1抑制剂是包含编码抗LSD1 shRNA的任一序列、例如选自SEQ ID NO:83至122中任一项的序列的核酸。

[0211] 在另一个方面，该第二LSD1抑制剂是反义寡核苷酸。在实施例中，该反义寡核苷酸包含与LSD1 mRNA序列互补的序列。在实施例中，该反义寡核苷酸包含与LSD1前mRNA的序列

互补的序列。

[0212] 在实施例中，编码该第二LSD1抑制剂的核酸被布置在载体上，例如进一步包含与所述核酸可操作地连接的U6或H1启动子的载体，例如逆转录病毒载体、慢病毒载体、腺病毒载体、腺相关病毒(AAV)载体、单纯疱疹病毒(HSV)载体、质粒、微环、纳米质粒或RNA载体。在实施例中，该载体进一步包含编码CAR分子的序列。

[0213] 在另一个方面，该第二LSD1抑制剂是对LSD1基因(KDM1A)或其调控元件的序列具有特异性的基因组编辑系统，该基因组编辑系统选自CRISPR基因组编辑系统、锌指核酸酶基因组编辑系统、TALEN基因组编辑系统和大范围核酸酶基因组编辑系统。

[0214] 在另一个方面，该第二LSD1抑制剂是包含gRNA分子的CRISPR基因组编辑系统，该gRNA分子包含与LSD1基因(KDM1A)或其调控元件的序列互补的靶向结构域，例如包含SEQ ID NO:132至862中的任一项。

[0215] 在其他方面，该第二LSD1抑制剂是小分子。在实施例中，该小分子是可逆的LSD1抑制剂。在实施例中，该小分子是不可逆的LSD1抑制剂。在实施例中，该小分子LSD1抑制剂是：

[0216] a)GSK2699537；

[0217] b)rel-2-[[(1R,2S)-2-[4-[(4-氯苯基)甲氧基]苯基]环丙基]氨基]-1-(4-甲基-1-哌嗪基)-乙酮(描述于PCT公开号WO 2010043721中，其特此通过引用以其全文并入)；

[0218] c)(R)-4-(5-(吡咯烷-3-基甲氧基)-2-(对甲苯基)吡啶-3-基)苄腈；

[0219] d)(1S,2R)-N-((2-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-2-苯基环丙烷-1-胺；

[0220] e)N,N-二甲基-1-((4-(4-(4-(哌啶-4-基)苯基)-1H-吲唑-1-基)苯基)磺酰基)哌啶-4-胺；

[0221] f)5-(6-氯-4′-(甲基磺酰基)-[1,1′-联苯基]-3-基)-2-(哌嗪-1-基)-1H-吡咯-3-甲腈；

[0222] g)rel-N-[(1R,2S)-2-苯基环丙基]-4-哌啶胺；或

[0223] h)2-(1R,2S)-2-(4-(苄氧基)苯基)环丙基氨基)-1-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酮；

[0224] i)反式-3-(3-氨基-2-甲基苯基)-1-(4-羟基环己基)-6-甲基-1H-吲哚-5-甲腈；

[0225] j)3-(3-氨基-2-甲基苯基)-1-(4-甲氧基苯基)-6-甲基-1H-吲哚-5-甲腈；或

[0226] k)前述中的任一项的药学上可接受的盐。

[0227] 在实施例中，该第二LSD1抑制剂是小分子，并且该第二LSD1抑制剂与抗体或其抗原结合片段，例如识别T细胞表面上的抗原(例如，CD3)的抗体或其抗原结合片段缀合。

[0228] 在另一个方面，该第二LSD1抑制剂是蛋白质，例如是LSD1的显性负性结合配偶体(例如，与Co-REST或AR共活化剂复合物的LSD1或其他成员相互作用的组蛋白脱乙酰酶(HDAC))、或编码LSD1的所述显性负性结合配偶体的核酸。

[0229] 在另一个方面，该第二LSD1抑制剂是蛋白质，例如是显性负性(例如，催化失活的)LSD1、或编码所述显性负性LSD1的核酸。

[0230] 在另一个方面，本发明提供了一种治疗有需要的受试者的方法，该方法包括向所述受试者给予有效量的任何前述方面和实施例的免疫效应细胞群体。

[0231] 在实施例中，该方法进一步包括向所述受试者给予包含3-(3-氨基-2-甲基苯基)-1-(4-甲氧基苯基)-6-甲基-1H-吲哚-5-甲腈的LSD1抑制剂。

[0232] 在实施例中，该受试者在给予免疫效应细胞群体之前接受LSD1抑制剂的预先治

疗。

[0233] 在实施例中，该受试者接受使用LSD1抑制剂和免疫效应细胞群体的同时治疗。

[0234] 在实施例中，该受试者在给予免疫效应细胞群体之后接受使用LSD1抑制剂的治疗。

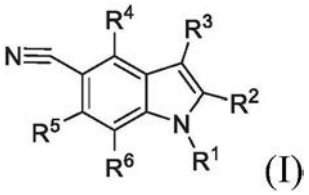
[0235] 在实施例中，该受试者接受前述任一项的组合。

[0236] 在一个方面，包括在与治疗方法有关的先前方面中，本发明涉及治疗受试者的方法，其中该受试者患有与肿瘤抗原的表达相关的疾病，例如增生性疾病、癌前病状、癌症或与肿瘤抗原的表达相关的非癌症相关适应症。

[0237] 在实施例中，该癌症是选自以下中的一种或多种的血液癌症：慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、急性白血病、急性淋巴细胞白血病(ALL)、B细胞急性淋巴细胞白血病(B-ALL)、T细胞急性淋巴细胞白血病(T-ALL)、慢性髓细胞性白血病(CML)、B细胞幼淋巴细胞性白血病、母细胞性浆细胞样树突细胞肿瘤、伯基特淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、毛细胞白血病、小细胞或大细胞滤泡性淋巴瘤、恶性淋巴组织增生病状、MALT淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、多发性骨髓瘤、骨髓增生异常和骨髓增生异常综合征、非霍奇金淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、浆母细胞性淋巴瘤、浆细胞样树突细胞肿瘤、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症或白血病前期。在实施例中，该癌症选自下组，该组由以下组成：结肠癌、直肠癌、肾细胞癌、肝癌、非小细胞肺癌、小肠癌、食道癌、黑素瘤、骨癌、胰腺癌、皮肤癌、头颈癌、皮肤或眼内恶性黑素瘤、子宫癌、卵巢癌、直肠癌、肛区癌、胃癌、睾丸癌、子宫癌、输卵管癌、子宫内膜癌、子宫颈癌、阴道癌、外阴癌、霍奇金病、非霍奇金淋巴瘤、内分泌系统癌症、甲状腺癌、甲状旁腺癌、肾上腺癌、软组织肉瘤、尿道癌、阴茎癌、儿童实体瘤、膀胱癌、肾或输尿管癌、肾盂癌、中枢神经系统肿瘤(CNS)、原发性CNS淋巴瘤、肿瘤血管生成、脊轴肿瘤、脑干胶质瘤、垂体腺瘤、卡波济肉瘤、表皮样癌、鳞状细胞癌、T细胞淋巴瘤、环境诱导的癌症、所述癌症的组合、以及所述癌症的转移性病灶。

[0238] 在另一个方面，本发明提供了新颖的化合物。此类化合物可用于例如本文描述的方法和组合物中，但此类用途和组合物不意图是限制性的。

[0239] 在一些实施例中，本发明提供了一种具有式(I)的化合物：

[0240] 

(I)

[0241] 其中R^1、R^2、R^3、R^4、R^5、以及R^6是如本文所定义，包括其立体异构体、互变异构体、药学上可接受的盐、多晶型物或溶剂化物，它们可用于治疗LSD1介导的疾病或病症。

[0242] 在一些实施例中，本发明还提供了用于制备本发明化合物的方法和中间体。

[0243] 在一个实施例中，本发明提供了一种选自以下的化合物：3-(3-氨基-2-甲基苯基)-1-(4-甲氧基苯基)-6-甲基-1H-吲哚-5-甲腈、N,N-二甲基-1-((4-(4-(4-(哌啶-4-基)苯基)-1H-吲唑-1-基)苯基)磺酰基)哌啶-4-胺和5-(6-氯-4′-(甲基磺酰基)联苯基-3-基)-2-(哌嗪-1-基)-1H-吡咯-3-甲腈。在一个实施例中，本发明提供了N,N-二甲基-1-((4-(4-(4-(哌啶-4-基)苯基)-1H-吲唑-1-基)苯基)磺酰基)哌啶-4-胺。在一个实施例中，本发明提供了5-(6-氯-4′-(甲基磺酰基)联苯基-3-基)-2-(哌嗪-1-基)-1H-吡咯-3-甲腈。在一

个实施例中，本发明提供了3-(3-氨基-2-甲基苯基)-1-(4-甲氧基苯基)-6-甲基-1H-吲哚-5-甲腈。

[0244] 本发明进一步提供了前述中的任一项的药学上可接受的盐。

[0245] 本发明进一步提供了一种用于制造药物的如上所述的化合物，例如3-(3-氨基-2-甲基苯基)-1-(4-甲氧基苯基)-6-甲基-1H-吲哚-5-甲腈。

[0246] 本发明进一步提供了一种用作药物的上述化合物，例如3-(3-氨基-2-甲基苯基)-1-(4-甲氧基苯基)-6-甲基-1H-吲哚-5-甲腈。

[0247] 本发明进一步提供了一种用于制造药物的上述化合物，例如3-(3-氨基-2-甲基苯基)-1-(4-甲氧基苯基)-6-甲基-1H-吲哚-5-甲腈，该药物用作LSD1抑制剂，例如用作本文描述的任何方法中的LSD1抑制剂。

[0248] 在一个实施例中，本发明提供了一种单独或任选地与至少另一种药剂组合用于疗法中的上述化合物，例如3-(3-氨基-2-甲基苯基)-1-(4-甲氧基苯基)-6-甲基-1H-吲哚-5-甲腈。

[0249] 本发明还提供了药物组合物，这些药物组合物包含至少一种本发明的化合物和至少一种药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。该药物组合物可进一步包含至少一种另外的治疗剂。特别感兴趣的是选自以下的另外治疗剂：其他抗癌剂、免疫调节剂、抗过敏剂、抗恶心剂(或止吐剂)、镇痛剂、细胞保护剂以及它们的组合。

[0250] 本发明化合物可用于治疗由LSD1介导的疾病或病症。

[0251] 本发明化合物可用于疗法中。

[0252] 本发明化合物可用于制造用于治疗由LSD1介导的疾病或病症的药物。

[0253] 本发明提供了一种用于治疗由LSD1介导的疾病或病症的方法，该方法包括向有需要的患者给予治疗有效量的第一治疗剂与任选的第二治疗剂，其中该第一治疗剂是本发明的化合物，并且该第二治疗剂是另一种类型的治疗剂。

[0254] 由LSD1介导的疾病或病症的实例包括但不限于B细胞淋巴瘤、急性骨髓性白血病、胃癌、肝细胞癌、前列腺癌、乳腺癌、成神经细胞瘤、成胶质细胞瘤、鼻咽癌、结肠癌、胆囊癌、食道癌、头颈癌、肺癌、卵巢癌、胰腺癌、子宫内膜癌和软组织肉瘤，如横纹肌肉瘤(RMS)、软骨肉瘤、骨肉瘤、尤文氏肉瘤、肝纤维化和镰状细胞病。

[0255] 本发明提供了一种用于治疗由LSD1介导的疾病或病症的方法，该方法包括向有需要的患者给予治疗有效量的第一治疗剂与任选的第二治疗剂，其中该第一治疗剂是LSD1抑制剂，并且该第二治疗剂是另一种类型的治疗剂；其中这些疾病或病症是选自弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、滤泡性淋巴瘤、其他淋巴瘤、白血病、多发性骨髓瘤、胃癌、恶性横纹肌样瘤、前列腺癌和肝细胞癌。

[0256] 本发明的化合物可以单独使用，与本发明的其他化合物组合使用，或与一种或多种、优选地一种至两种其他药剂同时或顺序地组合使用。

[0257] 在另一个方面，本发明提供了一种用于离体制造免疫效应细胞群体的组合物，该组合物包含LSD1抑制剂，例如3-(3-氨基-2-甲基苯基)-1-(4-甲氧基苯基)-6-甲基-1H-吲哚-5-甲腈。在实施例中，该组合物包含从约0.001nM至约10mM、例如从约0.1μM至约10μM范围的浓度的LSD1抑制剂。

[0258] 在一个方面，本发明提供了一种用于治疗受试者的LSD1抑制剂，该LSD1抑制剂包

含3-(3-氨基-2-甲基苯基)-1-(4-甲氧基苯基)-6-甲基-1H-吲哚-5-甲腈，其中所述受试者已经接受、正在接受或将要接受包括免疫效应细胞，例如被工程化为表达例如，如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞的疗法。

[0259] 在一个方面，本发明提供了一种用于制造免疫效应细胞，例如被工程化为表达例如，如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞的LSD1抑制剂，该LSD1抑制剂包含3-(3-氨基-2-甲基苯基)-1-(4-甲氧基苯基)-6-甲基-1H-吲哚-5-甲腈。

[0260] 在一个方面，本发明提供了一种制造免疫效应细胞，例如免疫效应细胞群体的方法，该方法包括向所述细胞中引入编码例如，如本文描述的CAR分子的核酸，其中该核酸整合到LSD1基因内的所述细胞的基因组中，以使得LSD1表达和/或功能被降低。

[0261] 本发明的其他特征和优点从以下详细说明和权利要求书将是清楚的。

附图说明

[0262] 图1描绘与对照相比，在LSD1抑制剂shRNA(分子1A、1B、2、3A、3B、4或6A)存在下，在使用CD3/CD28活化后来自人供体的为CD45RA+CD62L+的CD8+ T细胞的百分比。

[0263] 图2描绘与对照相比，在LSD1抑制剂shRNA(分子1A、1B、2、3A、3B、4或6A)存在下，在使用CD3/CD28活化后来自人供体的为CD45RA+CD62L+的CD4+ T细胞的百分比。

[0264] 图3A示出评估所指示化合物产生给定表型的T细胞的能力。将初始人T细胞通过阴性选择分离并在所指示化合物存在下用抗CD3/CD28珠以3:1比例扩增10天。化合物每2天更新一次。在扩增后，通过FACS染色测定T细胞表型。相对于对照且相对于其他已知的条件，LSD1抑制显著增强Tscm细胞的百分比，同时降低CD4+ T细胞中Tem细胞的百分比。

[0265] 图3B示出评估所指示化合物产生给定表型的T细胞的能力。将初始人T细胞通过阴性选择分离并在所指示化合物存在下用抗CD3/CD28珠以3:1比例扩增10天。化合物每2天更新一次。在扩增后，通过FACS染色测定T细胞表型。相对于对照且相对于其他已知的条件，LSD1抑制显著增强T_{SCM}细胞的百分比，同时降低CD8+ T细胞中Tem细胞的百分比。

[0266] 图4A示出与据信影响T细胞表型的其他化合物相比，LSD1抑制对CD4+细胞中T_{SCM}与T_{EM}比例的影响。

[0267] 图4B示出与据信影响T细胞表型的其他化合物相比，LSD1抑制对CD8+细胞中T_{SCM}与T_{EM}比例的影响。

[0268] 图5示出在LSD1抑制剂存在下使用CD3/CD28刺激扩增T细胞。

[0269] 图6示出在LSD1抑制剂存在下扩增的T细胞上的检查点蛋白PD1、Tim3和Lag3的表达。

[0270] 图7示出在LSD1抑制剂存在下扩增的T细胞上CAR表达的水平。

[0271] 图8示出在LSD1抑制剂存在下CD4+和CD8+CART和未转导的T细胞的比例。

[0272] 图9示出在LSD1抑制剂存在下CART细胞和未转导的T细胞的扩增。

[0273] 图10示出来自在LSD1抑制剂存在下扩增且然后暴露于CD19+或CD19-肿瘤细胞的CART细胞的细胞因子产生。

[0274] 图11示出在CAR刺激后LSD1抑制在显著增加的增殖能力中的影响。将初始人T细胞通过阴性选择分离并在所指示化合物存在下用抗CD3/CD28珠以3:1比例扩增10天。在第1天用抗CD19 scFV转导T细胞。在功能测定之前，每2天更新化合物直至第10天被洗掉。在扩增

后，将T细胞与CD19+肿瘤细胞系NALM6和Raji以及CD19-肿瘤细胞系K562混合。照射肿瘤细胞，并且将T细胞和肿瘤细胞以1:1的比例混合。在孵育后第4天，使用蛋白L将T细胞进行CAR染色，并使用countbright珠通过FACS测定CAR+ T细胞数量。增殖被测量为在用于计数2500个珠的时间段内检测到的FACS阳性细胞的数量。数据表示为无靶标对照(K562)的倍数。

[0275] 图12示出所指示化合物对通过阴性选择分离并在所指示化合物存在下用抗CD3/CD28珠以3:1比例扩增10天的初始人T细胞的影响。在第1天用抗CD19 scFV转导T细胞。在功能测定之前，每2天更新化合物直至第10天被洗掉。在扩增后，评估荧光化的CD19+NALM6肿瘤细胞系的T细胞杀伤。在20小时后，使用EnVision仪器上的Bright-Glo™荧光素酶测定来测量荧光素酶信号。

[0276] 图13示出在LSD1抑制剂存在下离体扩增的CART细胞的体内抗肿瘤功效。

[0277] 图14A示出在LSD1抑制剂存在下CD4+ T细胞(例如，T_{SCM})细胞的扩增水平。

[0278] 图14B示出在LSD1抑制剂存在下CD8+ T细胞(例如，T_{SCM})细胞的扩增水平。

[0279] 图15A示出在LSD1抑制剂存在下扩增的CD4+ T细胞上的检查点蛋白PD1、Tim3和Lag3的表达水平。

[0280] 图15B示出在LSD1抑制剂存在下扩增的CD8+ T细胞上的检查点蛋白PD1、Tim3和Lag3的表达水平。

[0281] 图16描绘在LSD1抑制剂存在或不存在下在扩增后表达PD1、Tim3或Lag3(左图)或共表达PD1/Lag3或PD1/Lag3/Tim3的总T细胞的百分比。

[0282] 图17描绘在LSD1抑制剂存在或不存在下在扩增后为Tscm的CD4+ T细胞的百分比(左图)和CD8+ T细胞的百分比(右图)。

[0283] 图18描绘在LSD1抑制剂存在或不存在下在扩增后，对Tim3/Lag3/PD-1的共表达呈阳性的CD4+ T细胞的百分比(左图)和CD8+ T细胞百分比(右图)。

具体实施方式

[0284] 定义

[0285] 除非另外定义，否则本文使用的所有技术和科学术语具有本发明所属领域的普通技术人员通常所理解的相同的含义。

[0286] 术语“一个/种(a/an)”是指一个/种或多于一个/种(即，至少一个/种)该冠词的语法宾语。通过举例，“一个元件”意指一个元件或多于一个元件。

[0287] 当指可测量的值如量、时距等时，术语“约”意在涵盖与规定值±20%或在一些情况下±10%、或在一些情况下±5%、或在一些情况下±1%、或在一些情况下±0.1%的变化，因为此类变化适于执行所披露的方法。

[0288] 术语“嵌合抗原受体”或可替代地“CAR”是指一组多肽，在最简单的实施例中典型地是两种多肽，当在免疫效应细胞中时，它为该细胞提供针对靶细胞(典型地针对癌细胞)的特异性，并且提供细胞内信号生成。在一些实施例中，CAR至少包含细胞外抗原结合结构域、跨膜结构域和细胞质信号传导结构域(本文中也称为“细胞内信号传导结构域”)，该细胞质信号传导结构域包含源自如下定义的刺激分子和/或共刺激分子的功能性信号传导结构域。在一些方面，该组多肽彼此邻接。在一些实施例中，该组多肽包含二聚化开关，该二聚化开关在存在二聚化分子时可以将多肽彼此偶联，例如，可以将抗原结合结构域偶联至细

胞内信号传导结构域。在一个方面，刺激分子是与T细胞受体复合物相关的ζ链。在一个方面，细胞质信号传导结构域进一步包含源自如下定义的至少一种共刺激分子的一个或多个功能性信号传导结构域。在一个方面，共刺激分子选自本文描述的共刺激分子，例如4-1BB(即CD137)、CD27和/或CD28。在一个方面，CAR包含嵌合融合蛋白，该嵌合融合蛋白包含细胞外抗原结合结构域、跨膜结构域和包含源自刺激分子的功能性信号传导结构域的细胞内信号传导结构域。在一方面，CAR包含嵌合融合蛋白，其包含细胞外抗原结合结构域、跨膜结构域和细胞内信号传导结构域，该细胞内信号传导结构域包含源自共刺激分子的功能性信号传导结构域和源自刺激分子的功能性信号传导结构域。在一方面，CAR包含嵌合融合蛋白，其包含细胞外抗原结合结构域、跨膜结构域和细胞内信号传导结构域，该细胞内信号传导结构域包含源自一种或多种共刺激分子的两个功能性信号传导结构域和源自刺激分子的功能性信号传导结构域。在一方面，CAR包含嵌合融合蛋白，其包含细胞外抗原结合结构域、跨膜结构域和细胞内信号传导结构域，该细胞内信号传导结构域包含源自一种或多种共刺激分子的至少两个功能性信号传导结构域和源自刺激分子的功能性信号传导结构域。在一个方面，CAR包含CAR融合蛋白的氨基末端(N-ter)处的任选前导序列。在一个方面，CAR在细胞外抗原结合结构域的N-末端进一步包含前导序列，其中该前导序列任选地在细胞加工和CAR定位至细胞膜的过程中从抗原结合结构域(例如，scFv)切割。

[0289] 包含靶向特定肿瘤标志物X的抗原结合结构域(例如，scFv或TCR)的CAR(如本文描述的那些)也被称为XCAR。例如，包含靶向CD19的抗原结合结构域的CAR被称为CD19CAR。

[0290] 术语“信号传导结构域”是指蛋白质的功能性部分，其通过在细胞内传递信息以通过产生第二信使或通过响应于此类信使而用作效应子，经由定义的信号传导途径调控细胞活性起作用。

[0291] 如本文所用，术语“抗体”是指源自与抗原特异性地结合的免疫球蛋白分子的蛋白质或多肽序列。抗体可以是多克隆或单克隆、多链或单链、或完整免疫球蛋白，并且可以源自天然来源或来自重组来源。抗体可以是免疫球蛋白分子的四聚体。

[0292] 术语“抗体片段”是指抗体的至少一部分，该部分保留与抗原表位特异性地相互作用(例如，通过结合、空间位阻、稳定/去稳定、空间分布)的能力。抗体片段的实例包括但不限于Fab、Fab′、$F(ab')_2$、Fv片段、scFv抗体片段、二硫键连接的Fv(sdFv)、由VH和CH1结构域组成的Fd片段、线性抗体、单结构域抗体如sdAb(VL或VH)、骆驼科VHH结构域、由抗体片段(如包含在铰链区通过二硫键连接的两个Fab片段的二价片段)形成的多特异性抗体、和分离的CDR、或抗体的其他表位结合片段。抗原结合片段还可以掺入到单结构域抗体、大型抗体(maxibodies)、微型抗体(minibodies)、纳米抗体、胞内抗体、双体抗体、三体抗体、四体抗体、v-NAR和bis-scFv中(参见例如，Hollinger和Hudson，Nature Biotechnology[自然生物技术]23:1126-1136，2005)。还可以将抗原结合片段移植到基于多肽如纤连蛋白III型(Fn3)的支架中(参见美国专利号6,703,199，其描述了纤连蛋白多肽微型抗体)。

[0293] 术语“scFv”是指融合蛋白，其包含至少一个包含轻链可变区的抗体片段和至少一个包含重链可变区的抗体片段，其中该轻链可变区和重链可变区例如通过合成接头(例如短柔性多肽接头)是连续连接的并且能够表达为单链多肽，并且其中scFv保留了它所来源的完整抗体的特异性。除非另有说明，否则如本文所用，scFv可以例如相对于多肽的N末端和C末端以任何顺序具有VL和VH可变区，该scFv可以包含VL-接头-VH或者可以包含VH-接

头-VL。

[0294] 包含抗体或其抗体片段的本发明的CAR部分可以按多种形式存在，其中抗原结合结构域表达为连续多肽链的一部分，该连续多肽链包括例如单结构域抗体片段(sdAb)、单链抗体(scFv)、人源化抗体或双特异性抗体(Harlow等人，1999:Using Antibodies:A Laboratory Manual[使用抗体:实验室手册]，Cold Spring Harbor Laboratory Press[冷泉港实验室出版社]，纽约;Harlow等人，1989:Antibodies:A Laboratory Manual[抗体:实验室手册]，Cold Spring Harbor[冷泉港]，纽约;Houston等人，1988，Proc.Natl.Acad.Sci.USA[美国国家科学院院刊]85:5879-5883;Bird等人，1988，Science[科学]242:423-426)。在一方面，本发明的CAR组合物的抗原结合结构域包含抗体片段。在另一个方面，CAR包含含有scFv的抗体片段。给定CDR的精确氨基酸序列边界可以使用许多熟知的方案中的任一种来确定，包括以下中所述的那些:Kabat等人(1991)，“Sequences of Proteins of Immunological Interest[免疫学兴趣的蛋白质序列]，”第5版.Public Health Service[公共卫生服务]，National Institutes of Health[国立卫生研究院]，Bethesda，MD(“Kabat”编号方案);Al-Lazikani等人，(1997)JMB 273，927-948(“Chothia”编号方案)，或其组合。

[0295] 如本文所用，术语“结合结构域”或“抗体分子”是指包含至少一个免疫球蛋白可变结构域序列的蛋白质，例如免疫球蛋白链或其片段。术语“结合结构域”或“抗体分子”涵盖抗体和抗体片段。在实施例中，抗体分子是多特异性抗体分子，例如其包含多个免疫球蛋白可变结构域序列，其中所述多个中的第一免疫球蛋白可变结构域序列对第一表位具有结合特异性并且所述多个中的第二免疫球蛋白可变结构域序列对第二表位具有结合特异性。在实施例中，多特异性抗体分子是双特异性抗体分子。双特异性抗体对不多于两种抗原具有特异性。双特异性抗体分子的特征在于具有对第一表位的结合特异性的第一免疫球蛋白可变结构域序列、和具有对第二表位的结合特异性的第二免疫球蛋白可变结构域序列。

[0296] 术语“抗体重链”是指抗体分子中天然存在的构象中存在的两种类型多肽链中较大的一种，并且通常决定抗体所属的类别。

[0297] 术语“抗体轻链”是指抗体分子中天然存在的构象中存在的两种类型多肽链中较小的一种。Kappa(κ)和lambda(λ)轻链是指两种主要的抗体轻链同种型。

[0298] 术语“重组抗体”是指使用重组DNA技术产生的抗体，例如像由噬菌体或酵母表达系统表达的抗体。该术语还应解释为意指通过合成编码抗体的DNA分子和表达抗体蛋白的DNA分子或指定抗体的氨基酸序列产生的抗体，其中该DNA或氨基酸序列已经使用本领域可得和熟知的重组DNA或氨基酸序列技术获得。

[0299] 术语“抗原”或“Ag”是指引起免疫应答的分子。免疫应答可以涉及抗体产生或特定免疫活性细胞的活化或两者。技术人员将理解实际上包括所有蛋白质或肽的任何大分子都可以充当抗原。此外，抗原可以源自重组或基因组DNA。技术人员将理解包含编码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都因此编码“抗原”(当该术语在本文中使用时)。此外，本领域技术人员将理解抗原不需要仅由基因的全长核苷酸序列编码。显而易见的是，本发明包括但不限于使用多于一种基因的部分核苷酸序列，并且这些核苷酸序列以各种组合排列以编码引发所希望的免疫应答的多肽。另外，技术人员将理解抗原根本不需要由“基因”编码。显而易见的是，抗原可以合成或可以源自生物样品，或者可以

是除多肽外的大分子。这种生物样品可以包括但不限于组织样品、肿瘤样品、细胞或具有其他生物组分的流体。

[0300] 术语“抗癌作用”是指可以通过各种手段显现的生物学作用，包括但不限于例如肿瘤体积减少、癌细胞数量减少、转移数量减少、预期寿命延长、癌细胞增殖减少、癌细胞存活率降低、或改善与癌症相关的各种生理症状。“抗癌作用”还可以通过肽、多核苷酸、细胞和抗体首先预防癌症发生的能力来显现。术语“抗肿瘤作用”是指可以通过各种手段显现的生物学作用，包括但不限于例如肿瘤体积减少、肿瘤细胞数量减少、肿瘤细胞增殖减少、或肿瘤细胞存活率降低。

[0301] 术语“自体的”是指源自与后来将其重新引入个体中的同一个体的任何材料。

[0302] 术语“同种异体的”是指源自与引入材料的个体相同的物种的不同动物的任何材料。当一个或多个基因座处的基因不相同时，称两个或更多个个体彼此是同种异体的。在一些方面，来自相同物种的个体的同种异体材料可以在遗传上充分不同以抗原性地相互作用。

[0303] 术语“异种的”是指源自不同物种的动物的移植物。

[0304] 术语“癌症”是指特征在于异常细胞不受控制生长的疾病。癌细胞可以局部或通过血流和淋巴系统扩散到身体的其他部位。本文描述了各种癌症的实例，并且包括但不限于乳腺癌、前列腺癌、卵巢癌、宫颈癌、皮肤癌、胰腺癌、结肠直肠癌、肾癌、肝癌、脑癌、淋巴瘤、白血病、肺癌等。术语“肿瘤”和“癌症”在本文中可互换使用，例如，这两个术语包括实体和液体，例如弥散或循环肿瘤。如本文所用，术语“癌症”或“肿瘤”包括恶化前以及恶性癌症和肿瘤。

[0305] “源自”(当该术语在本文中使用时)表示第一和第二分子之间的关系。它通常是指第一分子和第二分子之间的结构相似性，并不暗示或包括对源自第二分子的第一分子的过程或来源的限制。例如，在源自CD3ζ分子的细胞内信号传导结构域的情况下，细胞内信号传导结构域保留足够的CD3ζ结构，这样使得其具有所需的功能，即在适当条件下产生信号的能力。它没有暗示或包括对产生细胞内信号传导结构域的特定过程的限制，例如，它并不意指为了提供细胞内信号传导结构域，必须从CD3ζ序列开始并删除不需要的序列，或强加突变，以到达细胞内信号传导结构域。

[0306] 短语“与如本文描述的肿瘤抗原的表达相关的疾病”包括但不限于与如本文描述的肿瘤抗原的表达相关的疾病或与表达如本文描述的肿瘤抗原的细胞相关的病状，包括例如增生性疾病(如癌症或恶性肿瘤)或癌前病状(如骨髓增生异常、骨髓增生异常综合征或白血病前期)；或与表达如本文描述的肿瘤抗原的细胞相关的非癌症相关适应症。在一个方面，与如本文描述的肿瘤抗原的表达相关的癌症是血液癌症。在一个方面，与如本文描述的肿瘤抗原的表达相关的癌症是实体癌。与本文描述的肿瘤抗原的表达相关的其他疾病包括但不限于例如非典型和/或非经典癌症、恶性肿瘤、癌前病状或与如本文描述的肿瘤抗原的表达相关的增生性疾病。与如本文描述的肿瘤抗原的表达相关的非癌症相关适应症包括但不限于例如自身免疫性疾病(例如狼疮)、炎性病症(过敏症和哮喘)和移植。在一些实施例中，表达肿瘤抗原的细胞表达或在任何时间表达编码肿瘤抗原的mRNA。在实施例中，表达肿瘤抗原的细胞产生肿瘤抗原蛋白(例如野生型或突变体)，并且肿瘤抗原蛋白可以以正常水平或降低的水平存在。在实施例中，表达肿瘤抗原的细胞在一个时间点产生可检测水平的

肿瘤抗原蛋白，并且随后基本上不产生可检测的肿瘤抗原蛋白。

[0307] 术语“保守序列修饰”是指不显著影响或改变含有氨基酸序列的抗体或抗体片段的结合特征的氨基酸修饰。此类保守修饰包括氨基酸取代、添加和缺失。可以通过本领域已知的标准技术(如定点诱变和PCR介导的诱变)将修饰引入本发明的抗体或抗体片段中。保守氨基酸取代是其中氨基酸残基被具有类似侧链的氨基酸残基置换的取代。具有相似侧链的氨基酸残基的家族已在本领域中进行了定义。这些家族包括具有碱性侧链(例如赖氨酸、精氨酸、组氨酸)、酸性侧链(例如天冬氨酸、谷氨酸)、不带电荷的极性侧链(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、色氨酸)、非极性侧链(例如丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸)、β分支侧链(例如苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸)以及芳香族侧链(例如酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸)的氨基酸。因此，本发明的CAR内的一个或多个氨基酸残基可以被来自相同侧链家族的其他氨基酸残基替代，并且可以使用本文描述的功能测定法测试改变的CAR。

[0308] 术语“刺激”是指通过刺激分子(例如，TCR/CD3复合物或CAR)与其同源配体(或在CAR情况下的肿瘤抗原)的结合诱导的初级应答，从而介导信号转导事件，如但不限于，通过TCR/CD3复合物的信号转导或通过适当的NK受体或CAR的信号传导结构域的信号转导。刺激可以介导某些分子的改变的表达。

[0309] 术语“刺激分子”是指由免疫细胞(例如T细胞、NK细胞、B细胞)表达的分子，其提供以针对免疫细胞信号传导通路的至少一些方面的刺激方式调控免疫细胞活化的一个或多个细胞质信号传导序列。在一个方面，该信号是初级信号，该初级信号通过例如TCR/CD3复合物与负载有肽的MHC分子的结合而起始，并且导致T细胞应答(包括但不限于增殖、活化、分化等)的介导。以刺激方式起作用的初级细胞质信号传导序列(也称为“初级信号传导结构域”)可以含有被称为基于免疫受体酪氨酸的活化基序或ITAM的信号传导基序。在本发明中特别有用的含有细胞质信号传导序列的ITAM的实例包括但不限于源自以下的那些：CD3ζ、常见FcRγ(FCER1G)、FcγRIIa、FcRβ(FcεR1b)、CD3γ、CD3δ、CD3ε、CD79a、CD79b、DAP10和DAP12。在本发明的特定CAR中，本发明的任何一种或多种CAR中的细胞内信号传导结构域包含细胞内信号传导序列，例如CD3-ζ的初级信号传导序列。在本发明的特定CAR中，CD3-ζ的初级信号传导序列是提供为SEQ ID NO:18的序列，或来自非人物种的等同残基，例如小鼠、啮齿动物、猴子、猿等。在本发明的特定CAR中，CD3-ζ的初级信号传导序列是SEQ ID NO:20中提供的序列，或来自非人物种(例如小鼠、啮齿动物、猴、猿等)的等同残基。

[0310] 术语“抗原呈递细胞”或“APC”是指免疫系统细胞如辅助细胞(例如，B细胞、树突细胞等)，该免疫系统细胞在其表面上展示与主要组织相容性复合物(MHC)复合的外来抗原。T细胞可以使用它们的T细胞受体(TCR)识别这些复合物。APC处理抗原并将它们呈递给T细胞。

[0311] 如本文所用的术语“细胞内信号传导结构域”是指分子的细胞内部分。细胞内信号传导结构域产生信号，该信号促进含有CAR的细胞(例如CART细胞)的免疫效应子功能。免疫效应子功能的实例，例如在CART细胞中，包括细胞溶解活性和辅助活性(包括分泌细胞因子)。

[0312] 在一个实施例中，细胞内信号传导结构域可以包含初级细胞内信号传导结构域。示例性初级细胞内信号传导结构域包括源自负责初级刺激、或抗原依赖性模拟的分子的那

些。在一个实施例中，细胞内信号传导结构域可以包含共刺激细胞内结构域。示例性共刺激细胞内信号传导结构域包括源自负责共刺激信号、或抗原非依赖性刺激的分子的那些。例如，在CART的情况下，初级细胞内信号传导结构域可以包括T细胞受体的细胞质序列，并且共刺激细胞内信号传导结构域可以包括来自共受体或共刺激分子的细胞质序列。

[0313] 初级细胞内信号传导结构域可以包含被称为基于免疫受体酪氨酸的活化基序或ITAM的信号传导基序。含有初级细胞质信号传导序列的ITAM的实例包括但不限于源自以下的那些：CD3ζ、常见FcRγ(FCER1G)、FcγRIIa、FcRβ(FcεR1b)、CD3γ、CD3δ、CD3ε、CD79a、CD79b、DAP10和DAP12。

[0314] 术语“ζ”或可替代地“ζ链”、“CD3-ζ”(或“CD3ζ、CD3ζ或CD3z)或“TCR-ζ”被定义为以GenBan登录号BAG36664.1提供的蛋白质或来自非人物种例如小鼠、啮齿动物、猴子、猿等的等效残基，并且“ζ刺激结构域”或可替代地“CD3-ζ刺激结构域”或“TCR-ζ刺激结构域”被定义为来自ζ链的细胞质结构域的氨基酸残基或其功能衍生物，其足以在功能上传递T细胞活化所必需的初始信号。在一个方面，ζ的细胞质结构域包含GenBank登录号BAG36664.1的残基52至164或是其功能性直向同源物的来自非人物种(例如小鼠、啮齿动物、猴、猿等)的等效残基。在一个方面，“ζ刺激结构域”或“CD3-ζ刺激结构域”是作为SEQ ID NO:18提供的序列。在一个方面，“ζ刺激结构域”或“CD3-ζ刺激结构域”是作为SEQ ID NO:20提供的序列。

[0315] 术语“共刺激分子”是指T细胞上与共刺激配体特异性结合、从而介导T细胞的共刺激应答(如但不限于增殖)的同源结合配偶体。共刺激分子是除抗原受体或其配体之外的细胞表面分子，其有助于高效的免疫应答。共刺激分子包括但不限于MHC I类分子、BTLA和Toll配体受体、以及OX40、CD27、CD28、CDS、ICAM-1、LFA-1(CD11a/CD18)、ICOS(CD278)、以及4-1BB(CD137)。此类共刺激分子的其他实例包括CDS、ICAM-1、GITR、BAFFR、HVEM(LIGHTR)、SLAMF7、NKp80(KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD160、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL2Rβ、IL2Rγ、IL7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、NKG2D、NKG2C、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1(CD226)、SLAMF4(CD244、2B4)、CD84、CD96(Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9(CD229)、CD160(BY55)、PSGL1、CD100(SEMA4D)、CD69、SLAMF6(NTB-A、Ly108)、SLAM(SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME(SLAMF8)、SELPLG(CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、CD19a、以及与CD83特异性地结合的配体。

[0316] 共刺激细胞内信号传导结构域可以是共刺激分子的细胞内部分。共刺激分子可以在以下蛋白质家族中表示：TNF受体蛋白、免疫球蛋白样蛋白、细胞因子受体、整联蛋白、信号传导淋巴细胞活化分子(SLAM蛋白)和活化型NK细胞受体。此类分子的实例包括CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、GITR、CD30、CD40、ICOS、BAFFR、HVEM、ICAM-1、淋巴细胞功能相关抗原-1(LFA-1)、CD2、CDS、CD7、CD287、LIGHT、NKG2C、NKG2D、SLAMF7、NKp80、NKp30、NKp44、NKp46、CD160、B7-H3、以及与CD83特异性地结合的配体等。

[0317] 细胞内信号传导结构域可以包含衍生它的分子的整个细胞内部分或整个天然细胞内信号传导结构域，或其功能片段或衍生物。

[0318] 术语“4-1BB”是指具有作为GenBank登录号AAA62478.2，或来自非人物种(例如小鼠、啮齿动物、猴、猿等)的等效残基提供的氨基酸序列的TNFR超家族的成员；并且“4-1BB共刺激结构域”定义为GenBank登录号AAA62478.2的氨基酸残基214-255，或来自非人物种(例

如小鼠、啮齿动物、猴、猿等)的等效残基。在一个方面,“4-1BB共刺激结构域”是作为SEQ ID NO:14或来自非人物种(例如小鼠、啮齿动物、猴、猿等)的等效残基提供的序列。

[0319] 当该术语在本文中使用时,“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T细胞,例如α/β T细胞和γ/δ T细胞、B细胞、天然杀伤(NK)细胞、天然杀伤T(NKT)细胞、肥大细胞和骨髓衍生的吞噬细胞。

[0320] 当该术语在本文中使用时,“免疫效应子功能或免疫效应子应答”是指例如免疫效应细胞的增强或促进靶细胞的免疫攻击的功能或应答。例如,免疫效应子功能或应答是指T细胞或NK细胞的促进靶细胞的杀伤或抑制生长或增殖的特性。在T细胞的情况下,初级刺激和共刺激是免疫效应子功能或应答的实例。

[0321] 术语“编码”是指多核苷酸(如基因、cDNA或mRNA)中特定核苷酸序列用作在生物过程中用于合成具有确定核苷酸序列(例如,rRNA、tRNA和mRNA)或确定氨基酸序列的其他聚合物和大分子的模板的固有特性,以及由此产生的生物学特性。因此,如果与基因对应的mRNA的转录和翻译在细胞或其他生物系统中产生蛋白质,则该基因、cDNA或RNA编码该蛋白质。编码链(其核苷酸序列与mRNA序列相同并且通常在序列表中提供)和非编码链(用作基因或cDNA转录的模板)都可以称为编码蛋白质或者该基因或cDNA的其他产物。

[0322] 除非另外说明,否则“编码氨基酸序列的核苷酸序列”包括彼此呈简并形式且编码相同氨基酸序列的所有核苷酸序列。短语编码蛋白质或RNA的核苷酸序列还可以包含内含子,其程度为编码该蛋白质的核苷酸序列可以在某些形式中含有一个或多个内含子。

[0323] 术语“有效量”或“治疗有效量”在本文中可互换使用,并且是指如本文描述的化合物、配制品、材料或组合物的有效于实现特定的生物学结果的量。

[0324] 术语“内源的”是指来自生物体、细胞、组织或系统或在其内部产生的任何材料。

[0325] 术语“外源的”是指从生物体、细胞、组织或系统引入或在其外部产生的任何材料。

[0326] 术语“表达”是指由启动子驱动的特定核苷酸序列的转录和/或翻译。

[0327] 术语“转移载体”是指包含分离的核酸并且可用于向细胞内部递送该分离的核酸的物质组合物。许多载体在本领域中是已知的,包括但不限于线性多核苷酸、与离子化合物或两亲化合物相关的多核苷酸、质粒、以及病毒。因此,术语“转移载体”包括自主复制的质粒或病毒。该术语还应当解释为进一步包括促进将核酸转移到细胞中的非质粒和非病毒化合物,例如像聚赖氨酸化合物、脂质体等。病毒转移载体的实例包括但不限于腺病毒载体、腺相关病毒载体、逆转录病毒载体、慢病毒载体等。

[0328] 术语“表达载体”是指包含重组多核苷酸的载体,该重组多核苷酸包含与有待表达的核苷酸序列可操作地连接的表达控制序列。表达载体包含足够的用于表达的顺式作用元件;用于表达的其他元件可以由宿主细胞提供或在体外表达系统中提供。表达载体包括本领域已知的所有表达载体,包括掺入重组多核苷酸的粘粒、质粒(例如,裸露的或包含在脂质体中)和病毒(例如,慢病毒、逆转录病毒、腺病毒和腺相关病毒)。

[0329] 术语“慢病毒”是指逆转录病毒科的一个属。慢病毒在逆转录病毒中是独特的,能够感染非分裂细胞;它们可以将显著量的遗传信息递送到宿主细胞的DNA中,因此它们是基因递送载体的最有效方法中的一种。HIV、SIV、和FIV都是慢病毒的实例。

[0330] 术语“慢病毒载体”是指源自慢病毒基因组的至少一部分的载体,尤其包括如下提供的自灭活慢病毒载体:Milone等人.,Mol.Ther.[分子疗法]17(8):1453-1464(2009)。可

以在临床中使用的慢病毒载体的其他实例包括但不限于例如来自Oxford BioMedica的LENTIVECTOR®基因递送技术、来自Lentigen的LENTIMAX™载体系统等。非临床类型的慢病毒载体也是可得的并且是本领域技术人员已知的。

[0331] 术语“同源的”或“同一性”是指两个聚合分子之间，例如两个核酸分子(如两个DNA分子或两个RNA分子)之间或两个多肽分子之间的亚基序列同一性。当这两个分子中的亚基位置被相同的单体亚基占据时；例如，如果两个DNA分子中的每一个中的位置被腺嘌呤占据，则它们在该位置是同源的或相同的。两个序列之间的同源性是匹配位置或同源位置的数量的直接函数；例如，如果两个序列中一半的位置(例如，长度为十个亚基的聚合物中的五个位置)是同源的，则这两个序列是50％同源的；如果90％的位置(例如，10个中的9个)是匹配的或同源的，则这两个序列是90％同源的。

[0332] 非人(例如鼠)抗体的“人源化”形式是嵌合免疫球蛋白、免疫球蛋白链或其片段(例如Fv、Fab、Fab′、F(ab′)2或抗体的其他抗原结合子序列)，其含有来自非人免疫球蛋白的最小序列。在大多数情况下，人源化抗体及其抗体片段是人免疫球蛋白(受体抗体或抗体片段)，其中来自受体的互补决定区(CDR)的残基被来自非人物种(供体抗体)(如具有所希望的特异性、亲和力、和能力的小鼠、大鼠或兔)的CDR的残基置换。在一些情况下，人免疫球蛋白的Fv框架区(FR)残基由相应非人残基置换。此外，人源化抗体/抗体片段可以包含既不在受体抗体中也不在导入的CDR或框架序列中发现的残基。这些修饰可以进一步改进和优化抗体或抗体片段性能。通常，人源化抗体或其抗体片段将包含基本上所有如下项：至少一个(典型地两个)可变结构域，其中所有或基本上所有CDR区对应于非人免疫球蛋白的那些CDR区，且FR区的所有或显著一部分是人免疫球蛋白序列的那些。人源化抗体或抗体片段还可以包含免疫球蛋白恒定区(Fc)的至少一部分，典型地是人免疫球蛋白的恒定区的至少一部分。有关进一步的细节，参见Jones等人，Nature[自然]，321：522-525，1986；Reichmann等人，Nature[自然]，332：323-329，1988；Presta，Curr.Op.Struct.Biol.[结构生物学现状]，2：593-596，1992。

[0333] “完全人”是指如下免疫球蛋白，例如抗体或抗体片段，其中整个分子是人起源或由与抗体或免疫球蛋白的人形式相同的氨基酸序列组成。

[0334] 术语“分离的”意指从天然状态改变的或去除的。例如，天然存在于活体动物中的核酸或肽不是“分离的”，但是与其天然状态的共存材料部分或完全分开的相同核酸或肽是“分离的”。分离的核酸或蛋白质能以基本上纯化的形式存在，或者可以存在于非天然环境(例如像，宿主细胞)中。

[0335] 术语“可操作地连接”或“转录控制”是指调控序列和异源核酸序列之间的导致后者的表达的功能性连接。例如，当第一核酸序列被放置成与第二核酸序列有功能关系时，该第一核酸序列与该第二核酸序列可操作地连接。例如，如果启动子影响编码序列的转录或表达，则该启动子与该编码序列可操作地连接。可操作地连接的DNA序列可以彼此邻接，并且例如在需要连接两个蛋白质编码区的情况下，它们处于同一阅读框中。

[0336] 术语“肠胃外”给予免疫原性组合物包括例如皮下(s.c.)、静脉内(i.v.)、肌肉内(i.m.)、或胸骨内注射、肿瘤内或输注技术。

[0337] 术语“核酸”或“多核苷酸”是指单链或双链形式的脱氧核糖核酸(DNA)或核糖核酸(RNA)及其聚合物。除非特别限定，否则该术语涵盖含有已知的天然核苷酸类似物的核酸，

这些核酸具有与参考核酸类似的结合特性并且以与天然存在的核苷酸类似的方式进行代谢。除非另外指出，否则特定的核酸序列还隐含地涵盖其保守修饰的变体(例如，简并密码子取代)、等位基因、直向同源物、SNP和互补序列以及明确指明的序列。具体地，简并密码子取代可以通过产生如下序列而获得，在这些序列中，一个或多个所选的(或全部)密码子的第三位被混合碱基和/或脱氧肌苷残基取代(Batzer等人，Nucleic Acid Res.[核酸研究]19:5081(1991)；Ohtsuka等人，J.Biol.Chem.[生物化学杂志]260:2605-2608(1985)；和Rossolini等人，Mol.Cell.Probes[分子与细胞探针]8:91-98(1994))。

[0338] 术语“肽”、“多肽”和“蛋白质”可互换使用，并且是指包含由肽键共价连接地氨基酸残基的化合物。蛋白质或肽必须含有至少两个氨基酸，并且对可构成蛋白质或肽序列的氨基酸的最大数量没有限制。多肽包括包含由肽键彼此相连的两个或更多个氨基酸的任何肽或蛋白质。如本文所用，该术语是指短链，例如其在本领域中通常也称为肽、寡肽和寡聚体，并且还是指较长的链，其在本领域中通常称为蛋白质，存在有很多类型的蛋白质。“多肽”包括例如生物活性片段、基本上同源的多肽、寡肽、同源二聚体、异源二聚体、多肽的变体、经修饰的多肽、衍生物、类似物、融合蛋白等。多肽包括天然肽、重组肽或其组合。

[0339] 术语“启动子”是指启动多核苷酸序列的特异性转录所需的由细胞合成机器或引入的合成机器所识别的DNA序列。

[0340] 术语“启动子/调控序列”是指表达与启动子/调控序列可操作地连接的基因产物所需的核酸序列。在一些情况下，该序列可以是核心启动子序列，并且在其他情况下，该序列还可以包含增强子序列和表达基因产物所需的其他调控元件。启动子/调控序列可以是例如以组织特异性方式表达基因产物的启动子/调控序列。

[0341] 术语“组成型”启动子是指当与编码或指定基因产物的多核苷酸可操作地连接时，在细胞的大多数或全部生理条件下致使基因产物在细胞中产生的核苷酸序列。

[0342] 术语“诱导型”启动子是指当与编码或指定基因产物的多核苷酸可操作地连接时，基本上仅在对应于启动子的诱导物存在于细胞中时才致使基因产物在细胞中产生的核苷酸序列。

[0343] 术语“组织特异性”启动子是指当与编码或由基因指定的多核苷酸可操作地连接时，基本上仅在细胞是对应于启动子的组织类型的细胞时才致使基因产物在细胞中产生的核苷酸序列。

[0344] 术语“癌症相关抗原”或“肿瘤抗原”可互换地指在癌细胞表面上完全或作为片段(例如，MHC/肽)表达的分子(典型地是蛋白质、碳水化合物或脂质)，并且其可用于优先将药理学药剂靶向癌细胞。在一些实施例中，肿瘤抗原是由正常细胞和癌细胞两者表达的标志物，例如谱系标志物，例如B细胞上的CD19。在一些实施例中，肿瘤抗原是与正常细胞相比在癌细胞中过表达的细胞表面分子，例如，与正常细胞相比，1倍过表达、2倍过表达、3倍过表达或更多。在一些实施例中，肿瘤抗原是在癌细胞中不适当合成的细胞表面分子，例如，与正常细胞上表达的分子相比含有缺失、添加或突变的分子。在一些实施例中，肿瘤抗原将仅在癌细胞的细胞表面上完全或作为片段(例如，MHC/肽)表达，并且不在正常细胞的表面上合成或表达。在一些实施例中，本发明的CAR包括包含结合MHC呈递的肽的抗原结合结构域(例如抗体或抗体片段)的CAR。通常，源自内源性蛋白质的肽填充主要组织相容性复合物(MHC)I类分子的口袋，并且被CD8+ T淋巴细胞上的T细胞受体(TCR)识别。MHC I类复合物由

所有有核细胞组成型表达。在癌症中，病毒特异性和/或肿瘤特异性肽/MHC复合物代表用于免疫疗法的独特类别的细胞表面靶标。已经描述了在人白细胞抗原(HLA)-A1或HLA-A2的上下文中靶向源自病毒或肿瘤抗原的肽的TCR样抗体(参见，例如，Sastry等人，J Virol.[病毒学杂志]201185(5)：1935-1942；Sergeeva等人，Blood[血液]，2011 117(16)：4262-4272；Verma等人，J Immunol[免疫学杂志]2010 184(4)：2156-2165；Willemsen等人，Gene Ther[基因疗法]2001 8(21)：1601-1608；Dao等人，Sci Transl Med[科学转化医学]20135(176)：176ra33；Tassev等人，Cancer Gene Ther[癌基因疗法]201219(2)：84-100)。例如，可以从筛选文库(如人scFv噬菌体展示文库)鉴定TCR样抗体。

[0345] 术语“支持肿瘤的抗原”或“支持癌症的抗原”可互换地指在细胞表面上表达的分子(典型地是蛋白质、碳水化合物或脂质)，该细胞本身不是癌性的、但例如通过促进其生长或存活、例如对免疫细胞的抗性而支持癌细胞。这种类型的示例性细胞包括基质细胞和骨髓源性的抑制细胞(MDSC)。支持肿瘤的抗原本身不需要在支持肿瘤细胞中发挥作用，只要该抗原存在于支持癌细胞的细胞上。

[0346] 如在scFv的情况下中使用的术语“柔性多肽接头”或“接头”是指由单独或组合使用的氨基酸(如甘氨酸和/或丝氨酸)残基组成的肽接头，以将可变重链和可变轻链区连接在一起。在一个实施例中，柔性多肽接头是Gly/Ser接头并且包含氨基酸序列(Gly-Gly-Gly-Ser)n，其中n是等于或大于1的正整数。例如，n＝1、n＝2、n＝3、n＝4、n＝5和n＝6、n＝7、n＝8、n＝9以及n＝10(SEQ ID NO:28)。在一个实施例中，柔性多肽接头包括但不限于(Gly4 Ser)4(SEQ ID NO:29)或(Gly4 Ser)3(SEQ ID NO:30)。在另一个实施例中，接头包括(Gly2Ser)、(GlySer)或(Gly3Ser)(SEQ ID NO:31)的多个重复。描述于WO2012/138475中的接头也包括在本发明的范围内，该专利通过引用并入本文。

[0347] 如本文所用，5′帽(也称为RNA帽、RNA 7-甲基鸟苷帽或RNA m^7G帽)是已经在转录开始后不久添加到真核信使RNA的“前”端或5′端的经修饰的鸟嘌呤核苷酸。5′帽由与第一转录核苷酸连接的末端基团组成。它的存在对于被核糖体识别和被保护免于RNA酶至关重要。帽添加与转录偶联，并且共转录地发生，使得每个都影响另一个。在转录开始后不久，合成的mRNA的5′端被与RNA聚合酶相关的帽合成复合物结合。这种酶复合物催化mRNA加帽所需的化学反应。合成作为多步生物化学反应进行。可以修饰加帽部分以调制mRNA的功能，如其稳定性或翻译效率。

[0348] 如本文所用，“体外转录的RNA”是指已在体外合成的RNA，优选mRNA。通常，体外转录的RNA由体外转录载体产生。体外转录载体包含用于产生体外转录的RNA的模板。

[0349] 如本文所用，“聚(A)”是通过聚腺苷酸化与mRNA连接的一系列腺苷。在用于瞬时表达的构建体的优选实施例中，聚A为50个至5000个之间(SEQ ID NO:34)、优选大于64个、更优选大于100个、最优选大于300个或400个。聚(A)序列可以被化学修饰或酶促修饰以调节mRNA功能，如定位、稳定性或翻译效率。

[0350] 如本文所用，“聚腺苷酸化”是指聚腺苷酰基部分或其经修饰的变体与信使RNA分子的共价连接。在真核生物中，大多数信使RNA(mRNA)分子在3′端被聚腺苷酸化。3′聚(A)尾是通过酶(聚腺苷酸聚合酶)的作用添加到前mRNA上的腺嘌呤核苷酸(通常数百个)的长序列。在高等真核生物中，将聚(A)尾添加到含有特定序列(聚腺苷酸化信号)的转录物上。聚(A)尾和与其结合的蛋白质有助于保护mRNA免于被外切核酸酶降解。聚腺苷酸化对于转录

终止、从细胞核输出mRNA以及翻译也是重要的。聚腺苷酸化在DNA转录成RNA后立即在细胞核中发生，但另外也可稍后在细胞质中发生。在转录已经终止后，通过与RNA聚合酶缔合的核酸内切酶复合物的作用切割mRNA链。切割位点通常被表征为切割位点附近存在碱基序列AAUAAA。在mRNA被切割后，腺苷残基被添加到切割位点处的游离3′端上。

[0351] 如本文结合表达、例如CAR分子的表达所使用，“瞬时”是指非整合转基因的持续数小时、数天或数周的表达，其中表达的时间段小于如果整合到基因组中或包含在宿主细胞中的稳定质粒复制子内的基因的表达的时间段。

[0352] 如本文结合作用、例如LSD1抑制剂的作用所使用，“短暂”意指作用存在例如数小时、数天、数周或数月的时间段，但在一段时间内减少(例如，直至作用不再可测量)。在实施例中，作用如根据本文(例如实施例中)描述的测定来测量。

[0353] 如本文所用，术语“治疗(treat、treatment和treating)”是指减少或改善增生性病症的进展、严重程度和/或持续时间，或者改善增生性病症的一种或多种症状(优选地，一种或多种可辨别的症状)，这由给予一种或多种疗法(例如一种或多种治疗剂，如本发明的CAR)引起。在具体的实施例中，术语“治疗(treat、treatment和treating)”是指改善增生性病症的至少一种可测量的物理参数，如肿瘤的生长，这不一定是患者可辨别的。在其他实施例中，术语“治疗(treat、treatment和treating)”是指通过例如稳定可辨别的症状来物理地，或通过例如稳定物理参数来生理地，或通过两者，抑制增生性病症的进展。在其他实施例中，术语“治疗(treat、treatment和treating)”是指减少或稳定肿瘤大小或癌细胞计数。

[0354] 术语“信号转导途径”是指在多种信号转导分子之间的生物化学关系，这些信号转导分子在信号从细胞的部分传递至细胞的另一部分中发挥作用。短语“细胞表面受体”包括能够接收信号并且传递信号跨过细胞膜的分子以及分子复合物。

[0355] 术语“受试者”旨在包括可以在其中引发免疫应答的活生物体(例如，哺乳动物、人)。

[0356] 术语“基本上纯化的”细胞是指本质上不含其他细胞类型的细胞。基本上纯化的细胞还指已经与其天然存在状态下正常相关的其他细胞类型分离的细胞。在一些情况下，基本上纯化的细胞群体是指同质的细胞群体。在其他情况下，该术语仅指已经与其天然状态下天然相关的细胞分离的细胞。在一些方面，在体外培养细胞。在其他方面，不在体外培养细胞。

[0357] 如本文所用的术语“治疗剂”意指治疗。通过减少、抑制、缓解或根除疾病状态来获得治疗效果。

[0358] 如本文所用的术语“预防”意指对疾病或疾病状态的预防或保护性治疗。

[0359] 术语“转染的”或“转化的”或“转导的”是指将外源核酸转移或引入宿主细胞中的过程。“转染的”或“转化的”或“转导的”细胞是已用外源核酸转染、转化或转导的细胞。细胞包括原代主题细胞及其子代。

[0360] 术语“特异性地结合”是指识别样品中存在的结合配偶体(例如，肿瘤抗原)蛋白并与其结合的抗体或配体，但该抗体或配体基本上不识别或结合样品中的其他分子。

[0361] 如本文所用的术语“可调控的嵌合抗原受体(RCAR)”是指一组多肽，在最简单的实施例中典型地是两个多肽，当在RCARX细胞中时，其为RCARX细胞提供对靶细胞(典型地为癌细胞)的特异性以及可调控的细胞内信号产生或增殖，这可以优化RCARX细胞的免疫效应子

特性。RCARX细胞至少部分地依赖于抗原结合结构域以向靶细胞提供特异性，该靶细胞包含被抗原结合结构域结合的抗原。在实施例中，RCAR包括二聚化开关，其在存在二聚化分子时可以将细胞内信号传导结构域偶联至抗原结合结构域。

[0362] 当该术语在本文中使用时，“膜锚”或“膜栓系结构域”是指足以将细胞外或细胞内结构域锚定到质膜的多肽或部分(例如肉豆蔻酰基)。

[0363] 当该术语在本文中使用时(例如当提及RCAR时)，“开关结构域”是指实体(典型地是基于多肽的实体)，该实体在二聚化分子存在下与另一个开关结构域缔合。该缔合导致连接到(例如融合到)第一开关结构域的第一实体和连接到(例如融合到)第二开关结构域的第二实体的功能偶联。第一和第二开关结构域统称为二聚化开关。在实施例中，第一和第二开关结构域彼此相同，例如它们是具有相同伯氨基酸序列的多肽，并且统称为同源二聚化开关。在实施例中，第一和第二开关结构域彼此不同，例如它们是具有不同伯氨基酸序列的多肽，并且统称为异源二聚化开关。在实施例中，该开关是细胞内的。在实施例中，该开关是细胞外的。在实施例中，开关结构域是基于多肽(例如基于FKBP或FRB)的实体，并且二聚化分子是小分子(例如rapalogue)。在实施例中，开关结构域是基于多肽的实体(例如结合myc肽的scFv)，并且二聚化分子是多肽、其片段、或多肽的多聚体，例如结合一个或多个myc scFv的myc配体或myc配体的多聚体。在实施例中，开关结构域是基于多肽的实体(例如myc受体)，并且二聚化分子是抗体或其片段，例如myc抗体。

[0364] 当该术语在本文中使用时(例如当提及RCAR时)，“二聚化分子”是指促进第一开关结构域与第二开关结构域缔合的分子。在实施例中，二聚化分子不在受试者中天然发生，或者不以导致显著二聚化的浓度发生。在实施例中，二聚化分子是小分子，例如雷帕霉素或rapalogue，例如RAD001。

[0365] 术语“生物当量”是指产生与参考剂量或参考量的参考化合物产生的效果相当的效果所需的除参考化合物之外的试剂的量。在一个实施例中，该作用是LSD1抑制的水平，例如，如通过LSD1蛋白水平测量的，例如，如在体内或体外测定中评价的，例如，如通过本文描述的测定法(例如，流式细胞术)测量的。在一个实施例中，该作用是T_{SCM}细胞、例如CD45RA+ CD62L+细胞的增殖增强，例如，例如相对于其他T细胞表型，例如T_{CM}(例如，CD45RA-CD62L+)、T_{EM}(例如，CD45RA-CD62L-)、T_{EFF}或T_{REG}细胞增殖增强，例如，如通过细胞分选所测量。

[0366] 如本文所用的“难治性”是指对治疗无应答的疾病，例如癌症。在实施例中，难治性癌症可以在治疗开始之前或治疗开始时对治疗具有抗性。在其他实施例中，难治性癌症可能在治疗期间变得有抗性。难治性癌症也称为抗性癌症。

[0367] 如本文所用的“复发”是指疾病(例如，癌症)或疾病的体征和症状(如改善期之后，例如在疗法(例如癌症疗法)的先前治疗后的癌症)的回返。

[0368] “LSD1”、“赖氨酸特异性脱甲基化酶1A”、“赖氨酸特异性组蛋白脱甲基化酶1A”、“KDM1A”、“AOF2”、“KIAA0601”以及“BHC110”可在本文互换使用，并且是指基因KDM1A(赖氨酸特异性脱甲基化酶1A)以及由所述基因赖氨酸特异性脱甲基化酶1A(LSD1)编码的蛋白质。这种基因编码含有SWIRM结构域、FAD结合基序和胺氧化酶结构域的核蛋白。这种蛋白质是若干组蛋白脱乙酰酶复合物的组分，通过该组分，通过作为组蛋白脱甲基化酶起作用使基因沉默。在人基因组中，KDM1A位于染色体1 Chr1:23030596(在组装体GRCh38)上。目前已知两种LSD1同种型，并且同种型描述于GeneBank编号NM_001009999.2和NM_015013.3中。

[0369] 人LSD1的蛋白质序列的实例以具有如下氨基酸序列的UniProt登录号O60341-1提供：

[0370]

```
        10         20         30         40         50
MLSGKKAAAA AAAAAAAATG TEAGPGTAGG SENGSEVAAQ PAGLSGPAEV
        60         70         80         90        100
GPGAVGERTP RKKEPPRASP PGGLAEPPGS AGPQAGPTVV PGSATPMETG
       110        120        130        140        150
IAETPEGRRT SRRKRAKVEY REMDESLANL SEDEYYSEEE RNAKAEKEKK
       160        170        180        190        200
LPPPPPQAPP EEENESEPEE PSGVEGAAFQ SRLPHDRMTS QEAACFPDII
       210        220        230        240        250
SGPQQTQKVF LFIRNRTLQL WLDNPKIQLT FEATLQQLEA PYNSDTVLVH
       260        270        280        290        300
RVHSYLERHG LINFGIYKRI KPLPTKKTGK VIIIGSGVSG LAAARQLQSF
       310        320        330        340        350
GMDVTLLEAR DRVGGRVATF RKGNYVADLG AMVVTGLGGN PMAVVSKQVN
       360        370        380        390        400
MELAKIKQKC PLYEANGQAV PKEKDEMVEQ EFNRLLEATS YLSHQLDFNV
       410        420        430        440        450
LNNKPVSLGQ ALEVVIQLQE KHVKDEQIEH WKKIVKTQEE LKELLNKMVN
       460        470        480        490        500
LKEKIKELHQ QYKEASEVKP PRDITAEFLV KSKHRDLTAL CKEYDELAET
       510        520        530        540        550
QGKLEEKLQE LEANPPSDVY LSSRDRQILD WHFANLEFAN ATPLSTLSLK
       560        570        580        590        600
HWDQDDDFEF TGSHLTVRNG YSCVPVALAE GLDIKLNTAV RQVRYTASGC
       610        620        630        640        650
EVIAVNTRST SQTFIYKCDA VLCTLPLGVL KQQPPAVQFV PPLPEWKTSA
       660        670        680        690        700
VQRMGFGNLN KVVLCFDRVF WDPSVNLFGH VGSTTASRGE LFLFWNLYKA
       710        720        730        740        750
PILLALVAGE AAGIMENISD DVIVGRCLAI LKGIFGSSAV PQPKETVVSR
       760        770        780        790        800
WRADPWARGS YSYVAAGSSG NDYDLMAQPI TPGPSIPGAP QPIPRLFFAG
       810        820        830        840        850
EHTIRNYPAT VHGALLSGLR EAGRIADQFL GAMYTLPRQA TPGVPAQQSP
 852
SM
```

[0371] SEQ ID NO:40。

[0372] 本发明还包括LSD1的其他同种型，包括以UniProt登录号O60341-2提供的同种型2。

[0373] 编码LSD1的核酸序列的实例提供于以下表1中。存在2种鉴定的人LSD1同种型。mRNA序列在下文提供(在实施例中，在每个序列中，T可以用U置换)。在实施例中，LSD1包括由以下序列中的每个编码的蛋白质：

[0374] 表1.编码LSD1的示例性核酸序列。

[0375]

基因 ID	变体	序列
KDM1A/LSD1/AOF2；基因 ID：23028 SEQ ID NO: 41	同种型 A；NCBI 参考序列：NM_001009999.2	GGCGCGGCGGGAGCGCGCTTGGCGCGTGCGTACGCGA CGGCGGTTGGCGGCGCGCGGGCAGCGTGAAGCG AGGCGAGGCAAGGCTTTTCGGACCCACGGAGCGACAG AGCGAGCGGCCCCTACGGCCGTCGGCGGCCCGG CGGCCCGAGATGTTATCTGGGAAGAAGGCGGCAGCCG CGGCGGCGGCGGCTGCAGCGGCAGCAACCGGGA CGGAGGCTGGCCCTGGGACAGCAGGCGGCTCCGAGAA CGGGTCTGAGGTGGCCGCGCAGCCCGCGGGCCT GTCGGGCCCAGCCGAGGTCGGGCCGGGGGCGGTGGGG GAGCGCACACCCCGCAAGAAAGAGCCTCCGCGG GCCTCGCCCCCCGGGGGCCTGGCGGAACCGCCGGGGTC CGCAGGGCCTCAGGCCGGCCCTACTGTCGTGC CTGGGTCTGCGACCCCCATGGAAACTGGAATAGCAGA GACTCCGGAGGGGCGTCGGACCAGCCGGCGCAA GCGGGCGAAGGTAGAGTACAGAGAGATGGATGAAAGC TTGGCCAACCTCTCAGAAGATGAGTATTATTCA GAAGAAGAGAGAAATGCCAAAGCAGAGAAGGAAAAG AAGCTTCCCCCACCACCCCCTCAAGCCCCACCTG AGGAAGAAAATGAAAGTGAGCCTGAAGAACCATCGGG GCAAGCAGGAGGACTTCAAGACGACAGTTCTGG AGGGTATGGAGACGGCCAAGCATCAGGTGTGGAGGGC GCAGCTTTCCAGAGCCGACTTCCTCATGACCGG ATGACTTCTCAAGAAGCAGCCTGTTTTCCAGATATTAT CAGTGGACCACAACAGACCCAGAAGGTTTTTC TTTTCATTAGAAACCGCACACTGCAGTTGTGGTTGGAT AATCCAAAGATTCAGCTGACATTTGAGGCTAC TCTCCAACAATTAGAAGCACCTTATAACAGTGATACTG TGCTTGTCCACCGAGTTCACAGTTATTTAGAG CGTCATGGTCTTATCAACTTCGGCATCTATAAGAGGAT AAAACCCCTACCAACTAAAAAGACAGGAAAGG TAATTATTATAGGCTCTGGGGTCTCAGGCTTGGCAGCA GCTCGACAGTTACAAAGTTTTGGAATGGATGT CACACTTTTGGAAGCCAGGGATCGTGTGGGTGGACGAG TTGCCACATTTCGCAAAGGAAACTATGTAGCT GATCTTGGAGCCATGGTGGTAACAGGTCTTGGAGGGAA TCCTATGGCTGTGGTCAGCAAACAAGTAAATA TGGAACTGGCCAAGATCAAGCAAAAATGCCCACTTTAT GAAGCCAACGGACAAGCTGACACTGTCAAGGT TCCTAAAGAGAAAGATGAAATGGTAGAGCAAGAGTTT AACCGGTTGCTAGAAGCTACATCTTACCTTAGT CATCAACTAGACTTCAATGTCCTCAATAATAAGCCTGT GTCCCTTGGCCAGGCATTGGAAGTTGTCATTC AGTTACAAGAGAAGCATGTCAAAGATGAGCAGATTGA ACATTGGAAGAAGATAGTGAAAACTCAGGAAGA ATTGAAAGAACTTCTTAATAAGATGGTAAATTTGAAAG AGAAAATTAAAGAACTCCATCAGCAATACAAA

[0376]

		GAAGCATCTGAAGTAAAGCCACCCAGAGATATTACTGC CGAGTTCTTAGTGAAAAGCAAACACAGGGATC TGACCGCCCTATGCAAGGAATATGATGAATTAGCTGAA ACACAAGGAAAGCTAGAAGAAAAACTTCAGGA GTTGGAAGCGAATCCCCCAAGTGATGTATATCTCTCAT CAAGAGACAGACAAATACTTGATTGGCATTTT GCAAATCTTGAATTTGCTAATGCCACACCTCTCTCAACT CTCTCCCTTAAGCACTGGGATCAGGATGATG ACTTTGAGTTCACTGGCAGCCACCTGACAGTAAGGAAT GGCTACTCGTGTGTGCCTGTGGCTTTAGCAGA AGGCCTAGACATTAAACTGAATACAGCAGTGCGACAG GTTCGCTACACGGCTTCAGGATGTGAAGTGATA GCTGTGAATACCCGCTCCACGAGTCAAACCTTTATTTA TAAATGCGACGCAGTTCTCTGTACCCTTCCCC TGGGTGTGCTGAAGCAGCAGCCACCAGCCGTTCAGTTT GTGCCACCTCTCCCTGAGTGGAAAACATCTGC AGTCCAAAGGATGGGATTTGGCAACCTTAACAAGGTG GTGTTGTGTTTTGATCGGGTGTTCTGGGATCCA AGTGTCAATTTGTTCGGGCATGTTGGCAGTACGACTGC CAGCAGGGGTGAGCTCTTCCTCTTCTGGAACC TCTATAAAGCTCCAATACTGTTGGCACTAGTGGCAGGA GAAGCTGCTGGTATCATGGAAAACATAAGTGA CGATGTGATTGTTGGCCGATGCCTGGCCATTCTCAAAG GGATTTTTGGTAGCAGTGCAGTACCTCAGCCC AAAGAAACTGTGGTGTCTCGTTGGCGTGCTGATCCCTG GGCTCGGGGCTCTTATTCCTATGTTGCTGCAG GATCATCTGGAAATGACTATGATTTAATGGCTCAGCCA ATCACTCCTGGCCCCTCGATTCCAGGTGCCCC ACAGCCGATTCCACGACTCTTCTTTGCGGGAGAACATA CGATCCGTAACTACCCAGCCACAGTGCATGGT GCTCTGCTGAGTGGGCTGCGAGAAGCGGGAAGAATTG CAGACCAGTTTTTGGGGGCCATGTATACGCTGC CTCGCCAGGCCACACCAGGTGTTCCTGCACAGCAGTCC CCAAGCATGTGAGACAGATGCATTCTAAGGGA AGAGGCCCATGTGCCTGTTTCTGCCATGTAAGGAAGGC TCTTCTAGCAATACTAGATCCCACTGAGAAAA TCCACCCTGGCATCTGGGCTCCTGATCAGCTGATGGAG CTCCTGATTTGACAAAGGAGCTTGCCTCCTTT GAATGACCTAGAGCACAGGGAGGAACTTGTCCATTAGT TTGGAATTGTGTTCTTCGTAAAGACTGAGGCA AGCAAGTGCTGTGAAATAACATCATCTTAGTCCCTTGG TGTGTGGGGTTTTTGTTTTTTTTTTATATTTT GAGAATAAAACTTCATATAAAATTGGCAAAAAAAAAA AAAAAAAA
KDM1A/LSD1/AOF2；基因 ID：23028 SEQ ID NO: 42	同种型 B：NCBI 参考序列：NM_015013.3	GGCGCGGCGGGAGCGCGCTTGGCGCGTGCGTACGCGA CGGCGGTTGGCGGCGCGCGGGCAGCGTGAAGCG AGGCGAGGCAAGGCTTTTCGGACCCACGGAGCGACAG AGCGAGCGGCCCCTACGGCCGTCGGCGGCCCGG CGGCCCGAGATGTTATCTGGGAAGAAGGCGGCAGCCG CGGCGGCGGCGGCTGCAGCGGCAGCAACCGGGA CGGAGGCTGGCCCTGGGACAGCAGGCGGCTCCGAGAA CGGGTCTGAGGTGGCCGCGCAGCCCGCGGGCCT GTCGGGCCCAGCCGAGGTCGGGCCGGGGGCGGTGGGG GAGCGCACACCCCGCAAGAAAGAGCCTCCGCGG GCCTCGCCCCCCGGGGGCCTGGCGGAACCGCCGGGGTC CGCAGGGCCTCAGGCCGGCCCTACTGTCGTGC CTGGGTCTGCGACCCCCATGGAAACTGGAATAGCAGA GACTCCGGAGGGGCGTCGGACCAGCCGGCGCAA GCGGGCGAAGGTAGAGTACAGAGAGATGGATGAAAGC TTGGCCAACCTCTCAGAAGATGAGTATTATTCA GAAGAAGAGAGAAATGCCAAAGCAGAGAAGGAAAAG AAGCTTCCCCCACCACCCCCTCAAGCCCCACCTG AGGAAGAAAATGAAAGTGAGCCTGAAGAACCATCGGG TGTGGAGGGCGCAGCTTTCCAGAGCCGACTTCC TCATGACCGGATGACTTCTCAAGAAGCAGCCTGTTTTC

[0377]

	CAGATATTATCAGTGGACCACAACAGACCCAG AAGGTTTTTCTTTTCATTAGAAACCGCACACTGCAGTTG TGGTTGGATAATCCAAAGATTCAGCTGACAT TTGAGGCTACTCTCCAACAATTAGAAGCACCTTATAAC AGTGATACTGTGCTTGTCCACCGAGTTCACAG TTATTTAGAGCGTCATGGTCTTATCAACTTCGGCATCTA TAAGAGGATAAAACCCCTACCAACTAAAAAG ACAGGAAAGGTAATTATTATAGGCTCTGGGGTCTCAGG CTTGGCAGCAGCTCGACAGTTACAAAGTTTTG GAATGGATGTCACACTTTTGGAAGCCAGGGATCGTGTG GGTGGACGAGTTGCCACATTTCGCAAAGGAAA CTATGTAGCTGATCTTGGAGCCATGGTGGTAACAGGTC TTGGAGGGAATCCTATGGCTGTGGTCAGCAAA CAAGTAAATATGGAACTGGCCAAGATCAAGCAAAAAT GCCCACTTTATGAAGCCAACGGACAAGCTGTTC CTAAAGAGAAAGATGAAATGGTAGAGCAAGAGTTTAA CCGGTTGCTAGAAGCTACATCTTACCTTAGTCA TCAACTAGACTTCAATGTCCTCAATAATAAGCCTGTGT CCCTTGGCCAGGCATTGGAAGTTGTCATTCAG TTACAAGAGAAGCATGTCAAAGATGAGCAGATTGAAC ATTGGAAGAAGATAGTGAAAACTCAGGAAGAAT TGAAAGAACTTCTTAATAAGATGGTAAATTTGAAAGAG AAAATTAAAGAACTCCATCAGCAATACAAAGA AGCATCTGAAGTAAAGCCACCCAGAGATATTACTGCCG AGTTCTTAGTGAAAAGCAAACACAGGGATCTG ACCGCCCTATGCAAGGAATATGATGAATTAGCTGAAAC ACAAGGAAAGCTAGAAGAAAAACTTCAGGAGT TGGAAGCGAATCCCCCAAGTGATGTATATCTCTCATCA AGAGACAGACAAATACTTGATTGGCATTTTGC AAATCTTGAATTTGCTAATGCCACACCTCTCTCAACTCT CTCCCTTAAGCACTGGGATCAGGATGATGAC TTTGAGTTCACTGGCAGCCACCTGACAGTAAGGAATGG CTACTCGTGTGTGCCTGTGGCTTTAGCAGAAG GCCTAGACATTAAACTGAATACAGCAGTGCGACAGGTT CGCTACACGGCTTCAGGATGTGAAGTGATAGC TGTGAATACCCGCTCCACGAGTCAAACCTTTATTTATA AATGCGACGCAGTTCTCTGTACCCTTCCCCTG GGTGTGCTGAAGCAGCAGCCACCAGCCGTTCAGTTTGT GCCACCTCTCCCTGAGTGGAAAACATCTGCAG TCCAAAGGATGGGATTTGGCAACCTTAACAAGGTGGTG TTGTGTTTTGATCGGGTGTTCTGGGATCCAAG TGTCAATTTGTTCGGGCATGTTGGCAGTACGACTGCCA GCAGGGGTGAGCTCTTCCTCTTCTGGAACCTC TATAAAGCTCCAATACTGTTGGCACTAGTGGCAGGAGA AGCTGCTGGTATCATGGAAAACATAAGTGACG ATGTGATTGTTGGCCGATGCCTGGCCATTCTCAAAGGG ATTTTTGGTAGCAGTGCAGTACCTCAGCCCAA AGAAACTGTGGTGTCTCGTTGGCGTGCTGATCCCTGGG CTCGGGGCTCTTATTCCTATGTTGCTGCAGGA TCATCTGGAAATGACTATGATTTAATGGCTCAGCCAAT CACTCCTGGCCCCTCGATTCCAGGTGCCCCAC AGCCGATTCCACGACTCTTCTTTGCGGGAGAACATACG ATCCGTAACTACCCAGCCACAGTGCATGGTGC TCTGCTGAGTGGGCTGCGAGAAGCGGGAAGAATTGCA GACCAGTTTTTGGGGGCCATGTATACGCTGCCT CGCCAGGCCACACCAGGTGTTCCTGCACAGCAGTCCCC AAGCATGTGAGACAGATGCATTCTAAGGGAAG AGGCCCATGTGCCTGTTTCTGCCATGTAAGGAAGGCTC TTCTAGCAATACTAGATCCCACTGAGAAAATC CACCCTGGCATCTGGGCTCCTGATCAGCTGATGGAGCT CCTGATTTGACAAAGGAGCTTGCCTCCTTTGA ATGACCTAGAGCACAGGGAGGAACTTGTCCATTAGTTT GGAATTGTGTTCTTCGTAAAGACTGAGGCAAG CAAGTGCTGTGAAATAACATCATCTTAGTCCCTTGGTG TGTGGGGTTTTTGTTTTTTTTTTATATTTTGA

[0378]

	GAATAAAACTTCATATAAAATTGGCAAAAAAAAAAAAA AAAAAA

[0379] 当该术语在本文中使用时，“LSD1抑制剂”是指降低或消除LSD1的功能和/或表达的分子或一组分子(例如，系统)。在实施例中，LSD1抑制剂是抑制LSD1的表达，例如降低或消除LSD1的表达的分子。在实施例中，LSD1抑制剂是抑制LSD1的功能的分子。抑制LSD1的表达的LSD1抑制剂的实例是例如，如本文描述的基因编辑系统，该基因编辑系统靶向LSD1基因内(例如，KDM1A基因内)的核酸或其调控元件，以使得修饰该一个或多个基因编辑系统结合位点处或附近的核酸的修饰以降低或消除LSD1的表达。抑制LSD1的表达的LSD1抑制剂的

另一个实例是能够与LSD1 mRNA杂交并引起LSD1翻译的减少或消除的核酸分子，例如RNA分子，例如短发夹RNA(shRNA)或短干扰RNA(siRNA)。抑制LSD1的表达的LSD1抑制剂的另一个实例是反义寡核苷酸。LSD1抑制剂还包括编码抑制LSD1表达的分子的核酸(例如，编码抗LSD1 shRNA或siRNA的核酸，或编码抗LSD1基因编辑系统的一种或多种、例如所有组分的核酸)。抑制LSD1的功能的分子的实例是抑制LSD1的一种或多种活性的分子，例如蛋白质或小分子。一个实例是LSD1的小分子抑制剂，例如，如本文描述的。在一个示例性实施例中，小分子LSD1抑制剂是可逆的LSD1抑制剂。在另一个示例性实施例中，小分子LSD1抑制剂是不可逆的LSD1抑制剂。小分子LSD1抑制剂可以在催化位点或除催化位点以外的位点处结合LSD1。另一个实例是显性负性LSD1蛋白。另一个实例是抗LSD1抗体或其抗原结合片段。另一个实例是抑制LSD1结合配偶体的分子，例如小分子。LSD1抑制剂还包括编码LSD1功能的抑制剂的核酸。LSD1抑制剂的进一步描述在下文标题为“LSD1抑制剂”的章节中提供。示例性LSD1抑制剂是3-(3-氨基-2-甲基苯基)-1-(4-甲氧基苯基)-6-甲基-1H-吲哚-5-甲腈。

[0380] 当该术语在本文中在LSD1结合配偶体的情况下使用时，术语“结合配偶体”是指与LSD1蛋白相互作用(例如结合)的分子，例如蛋白质。不受理论束缚，据信LSD1结合至一种或多种HDAC蛋白，例如HDAC1。此类HDAC蛋白被认为是LSD1结合配偶体的实例。其他LSD1结合配偶体包括例如Co-REST/REST复合物的蛋白质，例如HDAC1、HDAC2、p40、p80、Co-REST和ZNF217(Lee,M.G.,Wynder,C.,Cooch,N.&Shiekhattar,R.An essential role for CoREST innucleosomal histone 3 lysine 4 demethylation.[CoREST在核小体组蛋白3赖氨酸4脱甲基化中的重要作用]Nature[自然]437,432-435(2005))；Blimp1复合物的蛋白质(Mol Cell Biol.[分子与细胞生物学]2009年3月;29(6):1421-31.doi:10.1128/MCB.01158-08.电子版2009年1月5日)；NuRD复合物的蛋白质(Cell.[细胞]2009年8月21日;138(4):660-72.doi:10.1016/j.cell.2009.05.050)；以及抗原受体(Nature.[自然]2005年9月15日;437(7057):436-9.电子版2005年8月3日)。

[0381] 当该术语在本文中结合例如基因编辑使用时，“系统”是指一起用于产生所希望的功能的一组分子，例如一种或多种分子。

[0382] 当该术语在本文中使用时，“基因编辑系统”是指指导和影响由所述系统靶向的基因组DNA位点处或附近的一种或多种核酸的改变(例如缺失)的系统，例如一种或多种分子。基因编辑系统是本领域中已知的，并且在下文更全面地描述。

[0383] “显性负性”基因产物或蛋白质是干扰基因产物或蛋白质的功能的基因产物或蛋白质。受影响的基因产物可能与显性负性蛋白质相同或不同。显性负性基因产物可以具有多种形式，包括截短、具有点突变的全长蛋白质或其片段、或全长野生型或突变型蛋白质或其片段与其他蛋白质的融合物。所观察到的抑制水平可以非常低。例如，与过程中涉及的一种或多种功能性蛋白质相比，可能需要大量过量的显性负性蛋白质以观察作用。在正常生物测定条件下可能难以观察到作用。在一个实施例中，显性负性LSD1是催化失活的LSD1。

[0384] 术语“比例”是指群体中特定分子与分子总数的比率。在一个示例性实施例中，具有特定表型的T细胞(例如，T_{SCM}细胞)的比例是指群体中具有该表型的T细胞的数量相对于T细胞的总数的比率。在一个示例性实施例中，具有特定表型的T细胞(例如，CD45RA+CD62L+细胞)的比例是指群体中具有该表型的T细胞的数量相对于T细胞的总数的比率。应当理解，可以在指示的情况下针对某些细胞亚群测量此类比例。例如，可以针对CD4+ T细胞的总数

测量CD4+ T_{SCM}细胞的比例。

[0385] 如本文所用的术语“免疫效应细胞群体”是指包含至少两种、例如两种或更多种、例如多于一种免疫效应细胞的组合物，并且不表示任何纯度水平或其他细胞类型的存在或不存在。在一个示例性实施例中，群体基本上不含其他细胞类型。在另一个示例性实施例中，群体包含至少两种指定细胞类型的细胞，或具有指定的功能或特性。

[0386] 术语“T_{SCM}样细胞”、“初始T细胞(naive T Cell)”和“初始T细胞(naïve T cell)”可互换使用，并且是指分化程度较低的T细胞状态，其特征在于CD45RA和CD62L的表面表达(例如，为CD45RA阳性和CD62L阳性(有时写为CD45RA+CD62L+))。一般来说，T细胞分化从大多数“初始”到大多数“耗竭”T_{SCM}样(例如，CD45RA+CD62L+细胞)＞T_{CM}(例如，CD45RA-CD62L+细胞)＞T_{EM}(例如，CD45RA-CD62L-细胞)＞T_{EFF}进行。初始T细胞可以相对于更耗竭的T细胞表型被表征为，例如具有增加的自我更新、抗肿瘤功效、增殖和/或存活。在一个示例性实施例中，初始T细胞是指CD45RA+CD62L+ T细胞。在另一个示例性实施例中，初始T细胞是指T_{SCM}细胞，例如CD45RA+CD62L+CCR7+CD27+CD95+ T细胞。

[0387] 术语“T_{SCM}”是指具有干细胞记忆表型的T细胞，其特征在于它在它的细胞表面上表达CD45RA、CD62L、CCR7、CD27和CD95(例如，为CD45RA阳性、CD62L阳性、CCR7阳性、CD27阳性和CD95阳性(有时写为CD45RA+CD62L+CCR7+CD27+CD95+))。T_{SCM}细胞是初始T细胞的一个实例。该T细胞可以是CD4+和/或CD8+ T细胞。

[0388] 范围：贯穿本披露，能以范围形式呈现本发明的各个方面。应该理解的是，范围形式的描述仅仅是为了方便以及简洁，不应该被理解为对本发明范围的不灵活的限制。因此，范围的描述应当被认为是具有确切披露的所有可能的子范围以及该范围内的单独数值。例如，范围如从1至6的描述应当被认为是具有确切披露的子范围，如从1至3、从1至4、从1至5、从2至4、从2至6、从3至6等，以及该范围内的单独数字，例如1、2、2.7、3、4、5、5.3、和6。作为另一个实例，范围如95％-99％同一性包括具有95％、96％、97％、98％或99％同一性，并且包括如96％-99％、96％-98％、96％-97％、97％-99％、97％-98％和98％-99％同一性的子范围。无论范围的宽度如何，这都适用。

[0389] 标题、小标题或编号或字母元素，例如(a)、(b)、(i)等仅为了便于阅读而呈现。在本文件中使用标题或编号或字母元素不要求步骤或元素以字母顺序执行，或者步骤或元素必须彼此离散。

[0390] 本文所提到的所有出版物、专利申请、专利和其他参考文献均通过引用以其全文并入。

[0391] 根据说明书和附图并且根据权利要求书，本发明的其他特征、目标和优点将是显而易见的。

[0392] LSD1抑制剂

[0393] 抑制LSD1的任何分子可以适用于，例如，结合本文披露的细胞、组合物和方法在本文描述的本发明的方面。以下部分提供示例性LSD1抑制剂，并且不旨在是限制性的。

[0394] 在一些实施例中，LSD1抑制剂或其组合是如国际公开号WO 2017/149463中描述的LSD1抑制剂，该国际公开的内容通过引用以其全文并入本文。在一些实施例中，LSD1抑制剂与被工程化为表达CAR的免疫效应细胞群体一起给予。

[0395] 在实施例中，LSD1抑制剂是例如，与未处理的表达CAR的细胞或未治疗的受试者相

比，例如在培养物中或受试者中导致具有初始表型的表达CAR的细胞(例如，T_{SCM}细胞)的增殖或持久性增加或延长的分子或系统。在实施例中，增加的增殖或持久性与表达CAR的细胞数量的增加相关。用于测量增加或延长的增殖的方法描述于实例4中。在另一个实施例中，例如与未处理的表达CAR的细胞或未治疗的受试者相比，给予LSD1抑制剂或与LSD1抑制剂接触例如在培养物或受试者中导致增加的细胞因子释放或表达CAR的细胞对癌细胞的杀伤增加。用于测量增加的细胞因子释放的方法描述于例如实例4中。在实施例中，增加的癌细胞杀伤与肿瘤体积的减小相关。用于测量增加的癌细胞杀伤的方法描述于实例4和例如国际申请WO 2014/153270中，该国际申请通过引用以其全文并入本文。

[0396] 核酸抑制剂

[0397] 在一个方面，LSD1抑制剂是核酸分子。在实施例中，核酸是DNA分子，例如反义寡核苷酸(例如，Watts等人，J.Pathol.[病理学杂志]，2012，226(2)，第365-379页)。在一个实施例中，该反义寡核苷酸与LSD1 mRNA或前mRNA分子互补。在另一个方面，LSD1抑制剂包括编码所述反义寡核苷酸的核酸。

[0398] 在实施例中，核酸LSD1抑制剂是抑制LSD1的表达(例如翻译)的干扰RNA分子，例如shRNA或siRNA。在另一个方面，LSD1抑制剂包括编码所述干扰RNA分子的核酸。在实施例中，抑制LSD1的表达(例如翻译)的干扰RNA分子(例如，shRNA或siRNA)包含与LSD1 mRNA的序列(这种序列在本文中相对于干扰RNA分子(例如，shRNA或siRNA)被称为“靶序列”)互补的结构域。

[0399] shRNA和siRNA LSD1抑制剂和编码shRNA LSD1抑制剂的示例性核酸的示例性靶序列包括选自SEQ ID NO:83-122或PCT专利公开号WO 2017/114497中披露的任何序列，该专利公开的内容特此通过引入以其全文并入。

[0400] 核酸LSD1抑制剂分子包括核酸分子，这些核酸分子包含化学修饰，例如对核酸碱基、糖和/或磷酸主链的修饰，包括例如肽核酸、磷酸吗啉代主链、硫代磷酸酯主链、5′和3′端帽、2′-甲基修饰、2′-F修饰、以及本领域中已知的其他修饰。

[0401] 基因组编辑系统LSD1抑制剂。

[0402] 基因组编辑系统是本领域中已知的，并且包括锌指核酸酶基因编辑系统、TALEN基因编辑系统、大范围核酸酶基因编辑系统和CRISPR基因编辑系统。如本文所用，术语“基因组编辑系统”(在本文中与“基因编辑系统”同义使用)是指必需且足以指导由所述系统靶向的位点处或附近的核酸的修饰(例如插入或缺失)的分子或一组分子。当该术语在本文中使用时，术语“基因组编辑系统”还指编码基因组编辑系统的一种或多种组分(例如，分子)的核酸。示例性基因编辑系统是本领域中已知的，并且在下文更全面地描述。

[0403] CRISPR基因编辑系统

[0404] 如本文所用，术语“CRISPR系统”、“CRISPR/Cas系统”、“CRISPR/Cas基因编辑系统”、“CRISPR/Cas基因组编辑系统”、“CRISPR基因组编辑系统”和“CRISPR基因编辑系统”在本文同义地使用。在大约40％的测序的真细菌基因组和90％的测序的古细菌中发现了天然存在的CRISPR系统。Grissa等人(2007)BMC Bioinformatics[BMC生物信息学]8:172。此系统是赋予对外来遗传元件(如质粒和噬菌体)的抗性并提供获得性免疫的形式的原核免疫系统。Barrangou等人(2007)Science[科学]315:1709-1712;Marragini等人(2008)Science[科学]322:1843-1845。

[0405] 已经修饰CRISPR系统用于真核生物(如小鼠、灵长类动物和人类)的基因编辑(沉默、增强或改变特定基因)。Wiedenheft等人(2012)Nature[自然]482:331-8。这通过例如向真核细胞中引入一种或多种编码特异性工程化的引导RNA(gRNA)(例如,包含与真核基因组的序列互补的序列的gRNA)的载体和一种或多种适当的RNA引导的核酸酶(例如,Cas蛋白)来实现。RNA引导的核酸酶与gRNA形成复合物,该复合物然后通过gRNA的序列与真核基因组的互补序列的杂交定向至靶DNA位点,其中该RNA引导的核酸酶随后诱导DNA中的双链或单链断裂。在链断裂处或附近插入或缺失核苷酸产生修饰的基因组。

[0406] 由于这些天然存在于许多不同类型的细菌中,因此CRISPR的确切排列,和Cas基因的结构、功能和数量及其产物在物种之间略有不同。Haft等人(2005)PLoS Comput.Biol.[公共科学图书馆医学杂志第一版]1:e60;Kunin等人(2007)Genome Biol.[基因组生物学]8:R61;Mojica等人(2005)J.Mol.Evol.[分子进化杂志]60:174-182;Bolotin等人(2005)Microbiol.[微生物学]151:2551-2561;Pourcel等人(2005)Microbiol.[微生物学]151:653-663;和Stern等人(2010)Trends.Genet.[遗传学趋势]28:335-340。例如,Cse(Cas亚型,大肠杆菌)蛋白质(例如,CasA)形成功能性复合物Cascade,其将CRISPR RNA转录物加工成保留Cascade的间隔子重复单元。Brouns等人(2008)Science[科学]321:960-964。在其他原核生物中,Cas6加工CRISPR转录物。大肠杆菌中基于CRISPR的噬菌体失活需要Cascade和Cas3,但不需要Cas1或Cas2。强烈火球菌(Pyrococcus furiosus)和其他原核生物中的Cmr(Cas RAMP模块)蛋白形成具有小CRISPR RNA的功能性复合物,其识别和切割互补的靶RNA。更简单的CRISPR系统依赖于蛋白质Cas9,其是具有两个活性切割位点的核酸酶,各自对应用于双螺旋的每条链。将Cas9和修饰的CRISPR基因座RNA组合可用于基因编辑系统。Pennisi(2013)Science[科学]341:833-836。

[0407] 在优选的实施例中,RNA引导的核酸酶是Cas分子,例如Cas9分子。多种物种的Cas9分子可用于本文描述的方法和组合物中。在优选的实施例中,Cas9分子是酿脓链球菌Cas9分子。在实施例中,Cas9分子源自酿脓链球菌Cas9分子(例如,UniProt Q99ZW2)。尽管酿脓链球菌Cas9分子是本文大部分披露内容的主题,但也可以使用源自或基于本文列出的其他物种的Cas9蛋白的Cas9分子。换句话说,其他Cas9分子(例如嗜热链球菌、金黄色葡萄球菌和/或脑膜炎奈瑟氏菌Cas9分子)可用于本文描述的系统、方法和组合物中。另外的Cas9物种包括:燕麦食酸菌(Acidovorax avenae)、胸膜肺炎放线杆菌(Actinobacillus pleuropneumoniae)、产琥珀酸放线杆菌(Actinobacillus succinogenes)、猪放线杆菌(Actinobacillus suis)、放线菌属物种、cycliphilus denitrificans、少食氨基酸单胞菌(Aminomonas paucivorans)、蜡样芽饱杆菌(Bacillus cereus)、史密斯氏芽孢杆菌(Bacillus smithii)、苏云金芽孢杆菌、拟杆菌属物种、Blastopirellula marina、慢生根瘤菌属物种、侧孢短芽孢杆菌(Brevibacillus latemsporus)、结肠弯曲菌(Campylobacter coli)、空肠弯曲菌(Campylobacter jejuni)、拉德弯曲菌(Campylobacter lad)、Candidatus Puniceispirillum、解纤维梭菌(Clostridiu cellulolyticum)、产气荚膜梭菌(Clostridium perffingens)、拥挤棒杆菌(Corynebacterium accolens)、白喉棒杆菌(Corynebacterium diphtheria)、马氏棒杆菌(Corynebacterium matruchotii)、Dinoroseobacter sliibae、细长真杆菌(Eubacterium dolichum)、γ变形杆菌、固氮葡糖醋杆菌(Gluconacetobacler diazotrophicus)、副流感嗜血杆菌(Haemophilus

parainfluenzae)、生痰嗜血杆菌(Haemophilus sputorum)、加拿大螺杆菌(Helicobacter canadensis)、同性恋螺杆菌(Helicobacter cinaedi)、鼬鼠螺杆菌(Helicobacter mustelae)、多营养泥杆菌(Ilyobacter polytropus)、金氏金氏菌(Kingella kingae)、卷曲乳杆菌(Lactobacillus crispatus)、伊氏李斯特菌(Listeria ivanovii)、单核细胞增生李斯特菌(Listeria monocytogenes)、李斯特氏菌科细菌、甲基孢囊菌属物种、甲基弯菌(Methylosinus trichosporium)、羞怯动弯杆菌(Mobiluncus mulieris)、杆菌状奈瑟氏菌(Neisseria bacilliformis)、灰色奈瑟氏菌(Neisseria cinerea)、浅黄奈瑟氏菌(Neisseria flavescens)、乳糖奈瑟氏菌(Neisseria lactamica)、奈瑟氏菌属物种、瓦茨瓦尔西奈瑟氏菌(Neisseria wadsworthii)、亚硝化单胞菌属物种、Parvibaculum lavamentivorans、多杀巴斯德菌(Pasteurella multocida)、琥珀酸考拉杆菌(Phascolarctobacterium succinatutens)、丁香罗尔斯通菌(Ralstonia syzygii)、沼泽红假单胞菌(Rhodopseudomonas palustris)、小红卵菌属物种、穆氏西蒙斯氏菌(Simonsiella muelleri)、鞘氨醇单胞菌属物种、维尼芽孢乳杆菌(Sporolactobacillus vineae)、路邓葡萄球菌(Staphylococcus lugdunensis)、链球菌属物种、罕见小球菌属物种(Subdoligranulum sp.)、Tislrella mobilis、密螺旋体属物种、或Verminephrobacter eiseniae。

[0408] Cas9分子(当该术语在本文中使用时)是指可与gRNA分子(例如,tracr的结构域的序列)相互作用,并且与gRNA分子一起定位(例如,靶向或归巢)于包含靶序列和PAM序列的位点的分子。

[0409] 在实施例中,活性Cas9分子与靶核酸相互作用并切割靶核酸的能力是PAM序列依赖性的。PAM序列是靶核酸中的序列。在一个实施例中,靶核酸的切割发生在PAM序列的上游。来自不同细菌物种的活性Cas9分子可以识别不同的序列基序(例如PAM序列)。在一个实施例中,酿脓链球菌的活性Cas9分子识别序列基序NGG并指导靶核酸序列的在该序列上游1至10个(例如3至5个)碱基对的切割。参见例如,Mali等人,SCIENCE[科学]2013;339(6121):823-826。在一个实施例中,嗜热链球菌的活性Cas9分子识别序列基序NGGNG和NNAG AAW(W＝A或T)并指导核心靶核酸序列的在这些序列上游1至10个(例如3至5个)碱基对的切割。参见例如,Horvath等人,SCIENCE[科学]2010;327(5962):167-170;以及Deveau等人,J BACTERIOL[细菌学杂志]2008;190(4):1390-1400。在一个实施例中,变形链球菌的活性Cas9分子识别序列基序NGG或NAAR(R-A或G)并指导核心靶核酸序列的在该序列上游1至10个(例如3至5个)碱基对的切割。参见例如,Deveau等人,J BACTERIOL[细菌学杂志]2008;190(4):1390-1400。

[0410] 在一个实施例中,金黄色葡萄球菌的活性Cas9分子识别序列基序NNGRR(R＝A或G)并指导靶核酸序列的在该序列上游1至10个(例如3至5个)碱基对的切割。参见例如,Ran F.等人,NATURE[自然],第520卷,2015,第186-191页。在一个实施例中,脑膜炎奈瑟氏菌的活性Cas9分子识别序列基序NNNNGATT并指导靶核酸序列的在该序列上游1至10个(例如3至5个)碱基对的切割。参见例如,Hou等人,PNAS EARLY EDITION[美国国家科学院院刊早期版本]2013,1-6。可以例如使用Jinek等人,SCIENCE[科学]2012,337:816中描述的转化测定来确定Cas9分子识别PAM序列的能力。

[0411] 示例性天然存在的Cas9分子描述于Chylinski等人,RNA Biology[RNA生物学]

2013;10:5,727-737中。此类Cas9分子包括簇1细菌家族、簇2细菌家族、簇3细菌家族、簇4细菌家族、簇5细菌家族、簇6细菌家族、簇7细菌家族、簇8细菌家族、簇9细菌家族、簇10细菌家族、簇11细菌家族、簇12细菌家族、簇13细菌家族、簇14细菌家族、簇15细菌家族、簇16细菌家族、簇17细菌家族、簇18细菌家族、簇19细菌家族、簇20细菌家族、簇21细菌家族、簇22细菌家族、簇23细菌家族、簇24细菌家族、簇25细菌家族、簇26细菌家族、簇27细菌家族、簇28细菌家族、簇29细菌家族、簇30细菌家族、簇31细菌家族、簇32细菌家族、簇33细菌家族、簇34细菌家族、簇35细菌家族、簇36细菌家族、簇37细菌家族、簇38细菌家族、簇39细菌家族、簇40细菌家族、簇41细菌家族、簇42细菌家族、簇43细菌家族、簇44细菌家族、簇45细菌家族、簇46细菌家族、簇47细菌家族、簇48细菌家族、簇49细菌家族、簇50细菌家族、簇51细菌家族、簇52细菌家族、簇53细菌家族、簇54细菌家族、簇55细菌家族、簇56细菌家族、簇57细菌家族、簇58细菌家族、簇59细菌家族、簇60细菌家族、簇61细菌家族、簇62细菌家族、簇63细菌家族、簇64细菌家族、簇65细菌家族、簇66细菌家族、簇67细菌家族、簇68细菌家族、簇69细菌家族、簇70细菌家族、簇71细菌家族、簇72细菌家族、簇73细菌家族、簇74细菌家族、簇75细菌家族、簇76细菌家族、簇77细菌家族、或簇78细菌家族的Cas9分子。

[0412] 示例性天然存在的Cas9分子包括簇1细菌家族的Cas9分子。实例包括以下的Cas9分子:酿脓链球菌(例如,菌株SF370、MGAS 10270、MGAS 10750、MGAS2096、MGAS315、MGAS5005、MGAS6180、MGAS9429、NZ131和SSI-1)、嗜热链球菌(例如,菌株LMD-9)、假豕链球菌(S.pseudoporcinus)(例如,菌株SPIN 20026)、变形链球菌(例如,菌株UA 159、NN2025)、猴链球菌(S.macacae)(例如,菌株NCTC1 1558)、解没食子酸链球菌(S.gallolylicus)(例如,菌株UCN34、ATCC BAA-2069)、马链球菌(S.equines)(例如,菌株ATCC 9812、MGCS 124)、停乳链球菌(S.dysgalactiae)(例如,菌株GGS 124)、牛链球菌(S.bovis)(例如,菌株ATCC 700338)、S.cmginosus(例如,菌株F021 1)、无乳链球菌(S.agalactia*)(例如,菌株NEM316、A909)、单核细胞增多性李斯特菌(例如,菌株F6854)、无害李斯特菌(L.innocua,例如,菌株Clip 11262)、意大利肠球菌(Enterococcus italicus)(例如,菌株DSM 15952)、或屎肠球菌(Enterococcus faecium)(例如,菌株1、23、408)。另外的示例性Cas9分子是脑膜炎奈瑟氏菌的Cas9分子(Hou等人PNAS Early Edition[美国国家科学院院刊早期版本]2013,1-6)和金黄色葡萄球菌Cas9分子。

[0413] 在一个实施例中,Cas9分子(例如活性Cas9分子或无活性Cas9分子)包含与本文描述的任何Cas9分子序列或天然存在的Cas9分子序列具有60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同源性的氨基酸序列;当与本文描述的任何Cas9分子序列或天然存在的Cas9分子序列相比时,相差不超过1%、2%、5%、10%、15%、20%、30%或40%的氨基酸残基的氨基酸序列;与本文描述的任何Cas9分子序列或天然存在的Cas9分子序列相差至少1、2、5、10或20个氨基酸但相差不超过100、80、70、60、50、40或30个氨基酸的氨基酸序列;或与本文描述的任何Cas9分子序列或天然存在的Cas9分子序列相同的氨基酸序列;该Cas9分子是例如来自本文所列物种的或描述于Chylinski等人,RNA Biology[RNA生物学]2013,10:5,′I2′I-T,1;Hou等人PNAS Early Edition[美国国家科学院院刊早期版本]2013,1-6中的Cas9分子,这些文献特此通过引用以其全文并入。

[0414] 在一个实施例中,Cas9分子包含与酿脓链球菌Cas9(UniProt Q99ZW2)具有60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%同源性的氨基酸序列;当

与酿脓链球菌Cas9相比时，相差不超过1％、2％、5％、10％、15％、20％、30％或40％的氨基酸残基的氨基酸序列；与酿脓链球菌Cas9相差至少1、2、5、10或20个氨基酸但相差不超过100、80、70、60、50、40或30个氨基酸的氨基酸序列；或与酿脓链球菌Cas9相同的氨基酸序列。在实施例中，Cas9分子是酿脓链球菌Cas9变体，如在以下文献中描述的变体：Slaymaker等人，ScienceExpress[科学快讯]中，可于2015年12月1日在Science DOI:10.1126/science.aad5227在线获得；Kleinstiver等人，Nature[自然]，529，2016，第490-495页，可于2016年1月6日在doi:10.1038/nature16526在线获得；或US2016/0102324，这些文献的内容以其全文并入本文。在一个实施例中，Cas9分子是催化失活的，例如dCas9。Tsai等人.(2014)，Nat.Biotech.[自然生物技术]32:569-577；美国专利号：8,871,445；8,865,406；8,795,965；8,771,945；以及8,697,359，这些文献的内容特此通过引用以其全文并入。催化失活的Cas9(例如，dCas9)分子可以与转录调节因子(例如，转录抑制因子或转录活化因子)融合。

[0415] 在实施例中，Cas9分子(例如酿脓链球菌的Cas9)可以另外包含一个或多个赋予额外活性的氨基酸序列。在一些方面，Cas9分子可以包含一个或多个核定位序列(NLS)，如至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10个或更多个NLS。通常，NLS由暴露于蛋白质表面上的带正电荷的赖氨酸或精氨酸的一个或多个短序列组成，但其他类型的NLS是已知的。NLS的非限制性实例包括NLS序列，该NLS序列包含或源自：SV40病毒大T抗原的NLS，其具有氨基酸序列PKKKRKV(SEQ ID NO:864)。其他合适的NLS序列在本领域中是已知的(例如，Sorokin，Biochemistry[生物化学](莫斯科)(2007)72:13，1439-1457；Lange J Biol Chem.[生物化学杂志](2007)282:8，5101-5)。在任何上述实施例中，Cas9分子可以另外(或可替代地)包含标签，例如His标签，例如His(6)标签(SEQ ID NO:865)或His(8)标签(SEQ ID NO:866)，例如在N末端和/或C末端。

[0416] 因此，例如用于真核细胞中的基因编辑的工程化的CRISPR基因编辑系统典型地涉及(1)包含靶向结构域(其能够与基因组DNA靶序列杂交)和能够结合至Cas(例如，Cas9酶)的序列的引导RNA分子(gRNA)，以及(2)Cas(例如Cas9)蛋白。该第二结构域可以包括称为tracr结构域的结构域。靶向结构域和能够结合至Cas(例如Cas9酶)的序列可以置于同一分子上(有时称为单个gRNA、嵌合gRNA或sgRNA)或不同的分子上(有时称为双重gRNA或dgRNA)。如果置于不同的分子上，则每个分子包含允许这些分子例如通过杂交缔合的杂交结构域。

[0417] gRNA分子形式是本领域中已知的。本发明的示例性gRNA分子(例如dgRNA分子)包含以下，例如由以下组成：具有以下序列的第一核酸：

[0418] nnnnnnnnnnnnnnnnnnnnGUUUUAGAGCUAUGCUGUUUUG（SEQ ID NO:867），

[0419] 其中“n”是指靶向结构域的残基，例如KDM1A(例如，如本文描述)的靶向结构域，并且可以由15-25个核苷酸组成，例如由20个核苷酸组成；

[0420] 和具有以下示例性序列的第二核酸序列：

[0421] AACUUACCAAGGAACAGCAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGC，任选地在3′端具有1、2、3、

4、5、6、或7个(例如,4或7个,例如7个)另外的U核苷酸(SEQ ID NO:868)。

[0422] 第二核酸分子可以可替代地由上述序列的片段组成,其中这种片段能够与该第一核酸杂交。这种第二核酸分子的一个实例是:

[0423] AACAGCAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGC,任选地在3′端具有1、2、3、4、5、6、或7个(例如,4或7个,例如7个)另外的U核苷酸(SEQ ID NO:869)。

[0424] 本发明的另一种示例性gRNA分子(例如sgRNA分子)包含具有以下序列的第一核酸,或由具有以下序列的第一核酸组成:

[0425] nnnnnnnnnnnnnnnnnnnGUUUUAGAGCUAGAAAUAGCAAGUUAAAAUAAGGCUAGUCCGUUAUCAACUUGAAAAAGUGGCACCGAGUCGGUGC(SEQ ID NO: 870),其中“n”是指靶向结构域的残基,例如KDM1A(例如,如本文描述)的靶向结构域,并且可以由15-25个核苷酸组成,例如由20个核苷酸组成,任选地在3′端有1、2、3、4、5、6、或7个(例如4或7个,例如4个)另外的U核苷酸。

[0426] 可用于本发明中的gRNA分子靶向结构域的示例性序列(例如,其靶向LSD1基因,例如KDM1A)包括选自SEQ ID NO:132-862或PCT专利公开号WO2017/114497中披露的任何核酸序列,该专利公开的内容特此通过引入以其全文并入。

[0427] 本领域中已知的CRISPR基因编辑系统的另外组分和/或元件例如描述于美国公开号2014/0068797、WO 2015/048577和Cong(2013)Science[科学]339:819-823中,这些文献的内容特此通过引用以其全文并入。可以产生例如通过工程化CRISPR基因编辑系统以包含gRNA分子来抑制靶基因的此类系统,该gRNA分子包含与该靶基因的序列杂交的靶向结构域。在实施例中,该gRNA包含靶向结构域,该靶向结构域与靶基因(例如,KDM1A或其调控元件)的15-25个核苷酸(例如,20个核苷酸)完全互补。在一些实施例中,该靶基因的15-25个核苷酸(例如,20个核苷酸)紧邻由CRISPR基因编辑系统的RNA引导的核酸酶(例如Cas蛋白)识别的原型间隔子邻近基序(PAM)序列的5′布置(例如,当该系统包含酿脓链球菌Cas9蛋白时,该PAM序列包含NGG,其中N可以是A、T、G或C中的任一者)。

[0428] 在实施例中,CRISPR基因编辑系统的gRNA分子和RNA引导的核酸酶(例如Cas蛋白)可以复合以形成RNP复合物。在其他实施例中,可以使用编码CRISPR基因编辑系统的一种或多种组分的核酸。

[0429] 在实施例中,可以在有或没有在靶细胞类型中有活性的启动子的情况下将外来DNA与CRISPR基因编辑系统一起引入细胞中,例如编码所希望的转基因的DNA。取决于外来DNA的序列和基因组的靶序列,这一过程可以用于在由CRISPR基因编辑系统靶向的位点处或附近将外来DNA整合到基因组中。例如,在转基因侧翼的3′和5′序列可以包含于外来DNA中,这些3′和5′序列与通过基因编辑系统切割的基因组中的位点的(分别)3′和5′的基因序列同源。这种外来DNA分子可以被称为“模板DNA”。

[0430] 在一个实施例中,本发明的CRISPR基因编辑系统包含Cas9(例如,酿脓链球菌Cas9)和gRNA,该gRNA包含与感兴趣的基因(例如KDM1A)的序列杂交的靶向结构域。在一个实施例中,该gRNA和Cas9复合以形成RNP。在一个实施例中,CRISPR基因编辑系统包含编码gRNA的核酸和编码Cas蛋白(例如Cas9,例如酿脓链球菌Cas9)的核酸。在一个实施例中,

CRISPR基因编辑系统包含gRNA和编码Cas蛋白(例如Cas9,例如酿脓链球菌Cas9)的核酸。

[0431] 在示例性实施例中,基因组编辑系统LSD1抑制剂是CRISPR系统。可用于本发明实践中的CRISPR基因组编辑系统描述于例如中,可以使用本领域中已知的技术来产生抑制LSD1的人工CRISPR/Cas系统,例如美国公开号20140068797和Cong(2013)Science[科学]339:819-823中描述的系统。还可以产生本领域中已知的其他人工CRISPR/Cas系统,这些系统抑制TCR和/或HLA,例如描述于以下中的系统:Tsai(2014)Nature Biotechnol.[自然生物技术],32:6569-576,美国专利号8,871,445;8,865,406;8,795,965;8,771,945;和8,697,359;这些文献各自特此通过引用以其全文并入本文。

[0432] TALEN基因编辑系统

[0433] 通过将TAL效应子DNA结合结构域与DNA切割结构域进行融合来人工产生TALEN。可以工程化转录活化因子样作用(TALE)以结合任何所希望的DNA序列,例如靶基因。通过将工程化的TALE与DNA切割结构域组合,可以产生对任何所希望的DNA序列具有特异性的限制酶。这些然后可以通过例如引入细胞中而(例如)用作基因编辑系统(例如TALEN基因编辑系统)的组分,在细胞中它们可以用于基因组编辑。Boch(2011)Nature Biotech.[自然生物技术]29:135-6;和Boch等人(2009)Science[科学]326:1509-12;Moscou等人(2009)Science[科学]326:3501。

[0434] TALE是由黄单胞菌属细菌分泌的蛋白质。DNA结合结构域含有重复的、高度保守的33-34个氨基酸序列,但第12和第13氨基酸除外。这两个位置高度变化,显示出与特定核苷酸识别的强相关性。因此,它们可以被工程化以结合所希望的DNA序列。

[0435] 为了产生TALEN,将TALE蛋白与核酸酶(N)融合,该核酸酶是例如野生型或突变的FokI核酸内切酶。针对其在TALEN中的用途已经对FokI作出若干突变;这些例如,改进切割特异性或活性。Cermak等人(2011)Nucl.Acids Res.[核酸研究]39:E82;Miller等人(2011)Nature Biotech.[自然生物技术]29:143-8;Hockemeyer等人(2011)Nature Biotech.[自然生物技术]29:731-734;Wood等人(2011)Science[科学]333:307;Doyon等人(2010)Nature Methods[自然方法]8:74-79;Szczepek等人(2007)Nature Biotech.[自然生物技术]25:786-793;和Guo等人(2010)J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]200:96。

[0436] FokI结构域作为二聚体起作用,这需要两个具有独特DNA结合结构域的构建体,用于靶基因组中具有适当方向和间距的位点。TALE DNA结合结构域与FokI切割结构域之间的氨基酸残基的数量和两个单独TALEN结合位点之间的碱基的数量似乎都是实现高水平活性的重要参数。Miller等人(2011)Nature Biotech.[自然生物技术]29:143-8。

[0437] 可以在细胞内使用TALEN(或TALEN对)以产生双链断裂(DSB)。如果修复机制经由非同源末端连接不正确地修复断裂,则可以在断裂位点引入突变。例如,不正确的修复可以引入移码突变。可替代地,可以将外来DNA与TALEN一起引入细胞中,例如编码转基因的DNA,并且取决于外来DNA的序列和染色体序列,这一过程可以用于将转基因整合在由TALEN靶向的位点处或附近。可以使用本领域中已知的任何方法来构建对靶基因(例如LSD1)具有特异性的TALEN,该方法包括使用模块组分的各种方案。Zhang等人(2011)Nature Biotech.[自然生物技术]29:149-53;Geibler等人(2011)PLoS ONE[公共科学图书馆综合]6:e19509;US 8,420,782;US 8,470,973,这些文献的内容特此通过引用以其全文并入)。

[0438] 因此,在示例性实施例中,基因组编辑系统LSD1抑制剂是针对LSD1基因(例如

KDM1A)的序列的TALEN基因编辑系统。此类系统是本领域中通常已知的,并且可以使用已知的方法产生对LSD1具有特异性的TALEN基因组编辑系统。参见例如,Boch(2011)Nature Biotech.[自然生物技术]29:135-6;和Boch等人(2009)Science[科学]326:1509-12;Moscou等人(2009)Science[科学]326:3501;Zhang等人(2011)Nature Biotech.[自然生物技术]29:149-53;Geibler等人(2011)PLoSONE[公共科学图书馆综合]6:e19509;美国专利号8,420,782;美国专利号8,470,973。

[0439] 锌指核酸酶(ZFN)基因编辑系统

[0440] “ZFN”或“锌指核酸酶”是指锌指核酸酶、人工核酸酶或核酸酶对,可以用作例如ZFN基因编辑系统的一部分以修饰(例如,插入或缺失)所希望的核酸序列(例如LSD1基因的所希望的序列)处或附近的一种或多种核酸。

[0441] 与TALEN一样,ZFN包含与DNA结合结构域融合的FokI核酸酶结构域(或其衍生物)。在ZFN的情况下,DNA结合结构域包含一个或多个锌指。Carroll等人(2011)Genetics Society of America[美国遗传学学会]188:773-782;和Kim等人(1996)Proc.Natl.Acad.Sci.USA[美国国家科学院院刊]93:1156-1160。

[0442] 锌指是被一种或多种锌离子稳定的小蛋白质结构基序。锌指可包含例如Cys2His2,并且可识别大约3-bp序列。可以将已知特异性的各种锌指组合以产生识别约6、9、12、15或18-bp序列的多指多肽。各种选择和模块组装技术可用于产生识别特定序列的锌指(及其组合),包括噬菌体展示、酵母单杂交系统、细菌单杂交和双杂交系统、以及哺乳动物细胞。

[0443] 像TALEN一样,ZFN必须二聚化以切割DNA。因此,需要一对ZFN来靶向非回文DNA位点。两个单独的ZFN必须与DNA的相反链结合,其中它们的核酸酶适当地间隔开。Bitinaite等人(1998)Proc.Natl.Acad.Sci.USA[美国国家科学院院刊]95:10570-5。

[0444] 也像TALEN一样,ZFN可以在DNA中产生双链断裂,该双链断裂如果不正确地修复则可以产生移码突变,从而导致细胞中靶基因的表达和量的减少。ZFN还可以与同源重组一起使用以使靶基因或基因座突变,或者在靶向序列处或附近的位点引入编码所希望的转基因的核酸。

[0445] 可以使用本领域中已知的任何方法来构建对靶基因中的序列具有特异性的ZFN。参见例如,Provasi(2011)Nature Med.[自然医学]18:807-815;Torikai(2013)Blood[血液]122:1341-1349;Cathomen等人(2008)Mol.Ther.[分子疗法]16:1200-7;和Guo等人(2010)J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]400:96;美国专利公开2011/0158957;以及美国专利公开2012/0060230,这些文献的内容特此通过引用以其全文并入。在实施例中,ZFN基因编辑系统还可以包含编码ZFN基因编辑系统的一种或多种组分的核酸。

[0446] 因此,在示例性实施例中,基因组编辑系统LSD1抑制剂是对LSD1基因(例如KDM1A)具有特异性的锌指核酸酶基因编辑系统。此类系统是本领域中通常已知的,并且可以使用已知的方法产生对LSD1具有特异性的锌指核酸酶基因组编辑系统。参见例如,Provasi(2011)Nature Med.[自然医学]18:807-815;Torikai(2013)Blood[血液]122:1341-1349;Cathomen等人(2008)Mol.Ther.[分子疗法]16:1200-7;Guo等人(2010)J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]400:96;美国专利公开2011/0158957;和美国专利公开2012/0060230。

[0447] 在一个示例性实施例中,基因组编辑系统LSD1抑制剂是大范围核酸酶系统。此类

系统是本领域中通常已知的，并且可以使用已知的方法产生对LSD1具有特异性的大范围核酸酶基因组编辑系统。

[0448] 小分子LSD1抑制剂

[0449] 在一个方面，LSD1抑制剂是小分子。示例性小分子LSD1抑制剂在下文提供，并且可以通过已知的测定(如LSD1结合测定和本文描述的测定)来鉴定另外的候选分子。

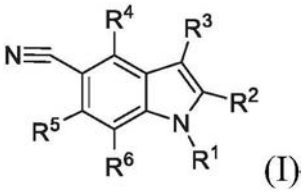
[0450] 有用的赖氨酸特异性脱甲基化酶1(LSD1)抑制剂包括不可逆抑制剂和可逆抑制剂。描述各种可逆和不可逆LSD1抑制剂的综述由以下文献公开：Mould，Daniel P.，等人，“Reversible Inhibitors of LSD1 as Therapeutic Agents in Acute Myeloid Leukemia：Clinical Significance and Progress to Date[LSD1的可逆抑制剂作为急性骨髓性白血病的治疗剂：临床意义和迄今为止的进展]，”Med.Res.Rev.[医学研究评论]，35，第3期，586-618，(2015)；和Xheng，Yi-Choa，等人，“A Systematic Review of Histone Lysine-Specific Demethylase 1 and Its Inhibitors[组蛋白赖氨酸特异性脱甲基化酶1及其抑制剂的系统性综述]”Med.Res.Rev.[医学研究评论]，35，第5期，1032-1071，(2015)，这些文献通过引用并入本文。适合的LSD1抑制剂还披露于PCT专利公开号WO 07/021839；WO 2010/043721；WO 2010/084160；WO 2011/035941；WO 2011/042217；WO 2012/013727；WO 2012/034116；WO 2012/071469；WO 2012/135113；WO 2013/057320；WO 2013/057322；WO 2014/205213；WO 2015/031564；WO 2015/123408；WO 2015/123437；WO 2015/123465；以及WO 2015/156417中，这些专利的内容通过引用以其全文特此并入。不可逆和可逆LSD1抑制剂的代表性实例在本文下文中进行了描述。

[0451] 示例性的不可逆LSD1抑制剂包括：GSK-LSD1(反式-外消旋)二盐酸盐，rel-N-[(1R，2S)-2-苯基环丙基]-4-哌啶胺盐酸盐(1∶2)(可从西格玛-奥德里奇公司(Sigma-Aldrich)获得)；反苯环丙胺；N-[(1S，2R)-2-苯基环丙基]-4-哌啶甲胺(GSK2699537，描述于PCT公开号WO 2013057320和WO 2012135113中)；4-[[4-[[[(1R，2S)-2-苯基环丙基]氨基]甲基]-1-哌啶基]甲基]-苯甲酸或其药学上可接受的盐(GSK2879552，描述于PCT公开号WO 2012135113中)；反式-N1-[(1R，2S)-2-苯基环丙基]-1，4-环己烷二胺或其药学上可接受的盐(ORY-1001，描述于PCT公开号WO 2013057322中)；rel-1-(4-甲基-1-哌嗪基)-2-[[(1R*，2S*)-2-[4-苯基甲氧基)苯基]环丙基]氨基]乙酮或其药学上可接受的盐(RN-1，描述于PCT公开号WO 2010043721中)；rel-2-[[(1R，2S)-2-[4-[(4-氯苯基)甲氧基]苯基]环丙基]氨基]-1-(4-甲基-1-哌嗪基)-乙酮或其药学上可接受的盐(描述于PCT公开号WO2010043721中)；4′-((1R，2S)-2-氨基环丙基)联苯基-3-醇或其药学上可接受的盐(OG-L002，描述于PCT公开号WO2012013727中)；(1S，2R)-N-((2-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-2-苯基环丙烷-1-胺(描述于PCT公开号WO2010/084160中)或其药学上可接受的盐。

[0452] 示例性的可逆LSD1抑制剂包括：Namoline(可从康侨公司(ChemBridge)，圣地亚哥(San Diego)，加利福尼亚州(CA)获得)；3-(4-吗啉基磺酰基)-苯甲酸，(2E)-2-[1-(5-氯-2-羟基苯基)亚乙基]酰肼(SP-2509，描述于PCT公开号WO 2014205213中)；3-[[4-[4-(氨基亚氨基甲基)苯甲酰基]-1-哌嗪基]羰基]-5-[[4-(氨基亚氨基甲基)-1-哌嗪基]甲基]-苯甲酸甲酯(CBB-1007，可从DSK生物制药公司(DSK Biopharma，Inc.)获得，并描述于PCT公开号WO 2012/071469中)；(R)-4-(5-(吡咯烷-3-基甲氧基)-2-(对甲苯基)吡啶-3-基)苄腈(GSK354)；N，N-二甲基-1-((4-(4-(4-(哌啶-4-基)苯基)-1H-吲唑-1-基)苯基)磺酰基)哌

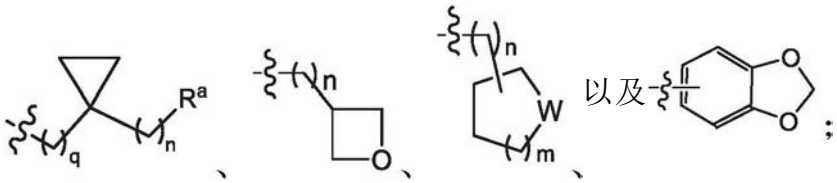
啶-4-胺;5-(6-氯-4′-(甲基磺酰基)-[1,1′-联苯基]-3-基)-2-(哌嗪-1-基)-1H-吡咯-3-甲腈;3-(3-氨基-2-甲基苯基)-1-(4-甲氧基苯基)-6-甲基-1H-吲哚-5-甲腈;以及反式-3-(3-氨基-2-甲基苯基)-1-(4-羟基环己基)-6-甲基-1H-吲哚-5-甲腈;或前述中的任一项的药学上可接受的盐。

[0453] 另外的示例性LSD1抑制剂包括具有式(I)的化合物:

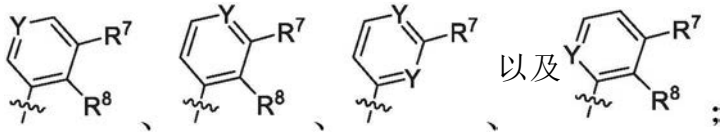
[0454] 

[0455] 或其药学上可接受的盐,其中:

[0456] R^1独立地选自:被一个或两个R^a取代的C_1-C_6烷基、被一个或两个R^a取代的C_2-C_6烯基、-$(CH)_n$-(被一个或两个R^d取代的C_3-C_6环烷基)、-$(CH)_n$-(被零至三个R^b取代的苯基)、-$(CH)_n$-(包含碳原子和1-2个选自N和NR^a的杂原子的6元杂芳基,其中所述杂芳基被零至三个R^b取代)、

[0457] 

[0458] R^2独立地选自:H、卤素和C_1-C_4烷基;

[0459] R^3独立地选自: 

[0460] R^4独立地选自:H、卤素和C_1-C_4烷基;

[0461] R^5独立地选自:H、卤素、C_1-C_4烷基、C_1-C_4卤代烷基、以及C_3-C_6环烷基;

[0462] R^6独立地选自:H、卤素和C_1-C_4烷基;

[0463] R^7在每次出现时独立地选自:NH_2、NH(C_1-C_4烷基)和NHCO(C_1-C_4烷基);

[0464] R^8在每次出现时独立地选自:H、卤素、C_1-C_4烷基、以及C_1-C_4卤代烷基;

[0465] Y在每次出现时独立地选自:CH和N;

[0466] W独立地选自:O和NH;

[0467] R^a独立地选自:OH、C_1-C_4烷氧基、CO_2(C_1-C_4烷基)、CO_2(C_1-C_4烷基)、$CONR^eR^f$、以及NHR^e;

[0468] R^b独立地选自:卤素、C_1-C_4卤代烷氧基、OH、CN、CO_2(C_1-C_4烷基)、$CONR^eR^f$、NHR^e、被零至一个R^c取代的C_1-C_4烷基、以及被零至一个R^c取代的C_1-C_4烷氧基;

[0469] R^c独立地选自:OH、C_1-C_4烷氧基、CO_2(C_1-C_4烷基)、$CONR^eR^f$、以及NHR^e;

[0470] R^d独立地选自:OH、=O和NH(C_1-C_4烷基);

[0471] R^e独立地选自:H、C_1-C_4烷基和CO(C_1-C_4烷基);

[0472] R^f独立地选自:H和C_1-C_4烷基;

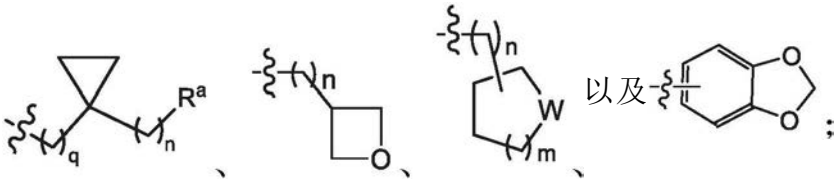
[0473] m独立地选自:1和2;

[0474] n在每次出现时独立地选自:0和1;并且

[0475] q独立地选自:1、2和3。

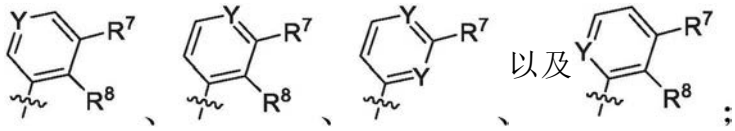
[0476] 在一些实施例中,本发明提供在第一方面的范围内的具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐;其中:

[0477] R^1独立地选自:被一个R^a取代的C_1-C_6烷基、被一个R^a取代的C_2-C_6烯基、-$(CH)_n$-(被一个R^d取代的C_3-C_6环烷基)、-$(CH)_n$-(被零至二个R^b取代的苯基)、-$(CH)_n$-(包含碳原子和1-2个选自N和NR^a的杂原子的6元杂芳基,其中所述杂芳基被零至二个R^b取代)、



[0478] R^2独立地选自:H、卤素和C_1-C_4烷基;

[0479] R^3独立地选自:



[0480] R^4独立地选自:H、卤素和C_1-C_4烷基;

[0481] R^5独立地选自:H、卤素、C_1-C_4烷基、C_1-C_4卤代烷基和C_3-C_6环烷基;

[0482] R^6独立地选自:H、卤素和C_1-C_4烷基;

[0483] R^7在每次出现时独立地选自:NH_2、NH(C_1-C_4烷基)和NHCO(C_1-C_4烷基);

[0484] R^8在每次出现时独立地选自:H、C_1-C_4烷基和C_1-C_4卤代烷基;

[0485] Y在每次出现时独立地选自:CH和N;

[0486] W独立地选自:O和NH;

[0487] R^a独立地选自:OH、C_1-C_4烷氧基、CO_2(C_1-C_4烷基)、以及$CONH_2$;

[0488] R^b独立地选自:卤素、C_1-C_4卤代烷氧基、OH、CN、CO_2(C_1-C_4烷基)、$CONH_2$、被零至一个R^c取代的C_1-C_4烷基、以及被零至一个R^c取代的C_1-C_4烷氧基;

[0489] R^c独立地选自:OH、C_1-C_4烷氧基、CO_2(C_1-C_4烷基)、以及$CONH_2$;

[0490] R^d独立地选自:OH、=O和NH(C_1-C_4烷基);

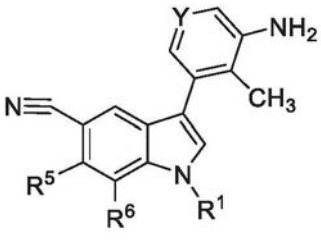
[0491] m独立地选自:1和2;

[0492] n在每次出现时独立地选自:0和1;并且

[0493] q独立地选自:1、2和3。

[0494] 在一些实施例中,本发明提供在第一或第二方面的范围内的具有式(I-1)的化合物:

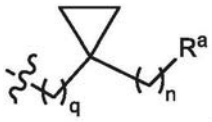
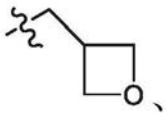
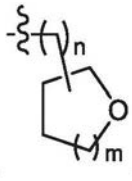
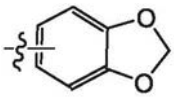
[0495]



(I-1)

[0496] 或其药学上可接受的盐;其中:

[0497] R^1独立地选自:被一个R^a取代的C_2-C_6烷基、被一个R^a取代的C_2-C_6烯基、-$(CH)_n$-(被一个R^d取代的C_4-C_6环烷基)、-$(CH)_n$-(被零至二个R^b取代的苯基)、-$(CH)_n$-(被零至二个R^b取

代的吡啶基)、哌啶基、  、  、  、以及  ；

[0498] R^5独立地选自:H、卤素、C_1-C_4烷基、CF_3、以及环丙基；

[0499] R^6独立地选自:H和C_1-C_4烷基；

[0500] Y独立地选自:CH和N；

[0501] R^a独立地选自:OH、C_1-C_4烷氧基、CO_2(C_1-C_4烷基)、以及$CONH_2$；

[0502] R^b独立地选自:卤素、C_1-C_4卤代烷氧基、OH、CN、CO_2(C_1-C_4烷基)、$CONH_2$、被零至一个Rc取代的C_1-C_4烷基、以及被零至一个R^c取代的C_1-C_4烷氧基；

[0503] R^c独立地选自:OH、C_1-C_4烷氧基、CO_2(C_1-C_4烷基)、以及$CONH_2$；

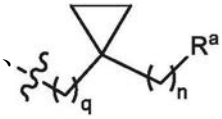
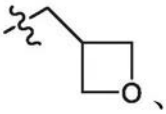
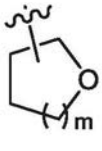
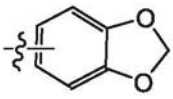
[0504] R^d独立地选自:OH、＝O和NH(C_1-C_4烷基)；

[0505] m独立地选自:1和2；

[0506] n在每次出现时独立地选自:0和1;并且

[0507] q独立地选自:1、2和3。

[0508] 在一些实施例中,本发明提供在任何上述方面的范围内的具有式(I)或(I-1)的化合物或其药学上可接受的盐;其中:

[0509] R^1独立地选自:被一个R^a取代的C_1-C_6烷基、被一个R^a取代的C_2-C_6烯基、被一个R^d取代的C_4-C_6环烷基、-$(CH)_n$-(被一至二个R^b取代的苯基)、-$(CH)_n$-(被一至二个R^b取代的吡啶基)、哌啶基、  、  、  、以及  ；

[0510] R^5独立地选自:H、F、Cl、CH_3、CF_3、以及环丙基；

[0511] R^6独立地选自:H和CH_3；

[0512] Y独立地选自:CH和N；

[0513] R^a独立地选自:OH、OCH_3、CO_2CH_3、以及$CONH_2$；

[0514] R^b独立地选自:F、Cl、OH、OCF_3、CN、CO_2CH_3、$CONH_2$、

[0515] 被零至一个R^c取代的C_1-C_4烷基、以及被零至一个R^c取代的C_1-C_4烷氧基,R^c独立地选自:OH、OCH_3、CO_2CH_3、以及$CONH_2$；

[0516] R^d独立地选自:OH、＝O和$NHCH_3$；

[0517] m独立地选自:1和2；

[0518] n在每次出现时独立地选自:0和1;并且

[0519] q独立地选自:1和2。

[0520] 在一些实施例中,本发明提供在任何上述方面的范围内的具有式(I)或(I-1)的化合物或其药学上可接受的盐;其中:

[0521] R^1独立地选自:被一个R^d取代的C_4-C_6环烷基、被一至二个R^b取代的苯基和被一至二个R^b取代的吡啶基；

[0522] R^5独立地选自:H、F、Cl和CH_3；

[0523] R^6独立地选自:H和CH_3；

[0524] Y独立地选自:CH和N;

[0525] R^b独立地选自:F、Cl、OH、OCF_3、CN、CO_2CH_3、$CONH_2$、被零至一个R^c取代的C_1-C_4烷基、以及被零至一个R^c取代的C_1-C_4烷氧基;

[0526] R^c独立地选自:OH、OCH_3、CO_2CH_3、以及$CONH_2$;并且

[0527] R^d独立地选自:OH、=O和$NHCH_3$。

[0528] 在一些实施例中,本发明提供在任何上述方面的范围内的具有式(I)或(I-1)的化合物或其药学上可接受的盐;其中:

[0529] R^1独立地选自:被一个R^d取代的C_4-C_6环烷基或被一至二个R^b取代的苯基;

[0530] R^5独立地选自:H、F、Cl和CH_3;

[0531] R^6独立地选自:H和CH_3;

[0532] Y独立地选自:CH和N;

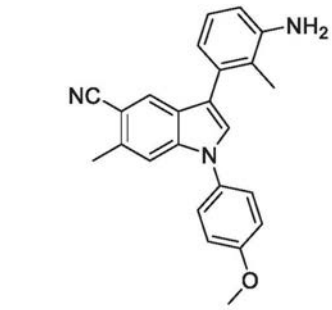
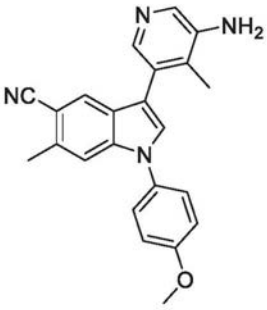
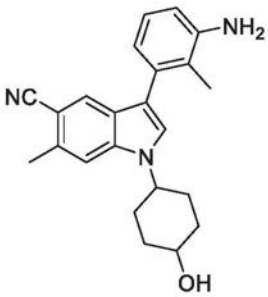
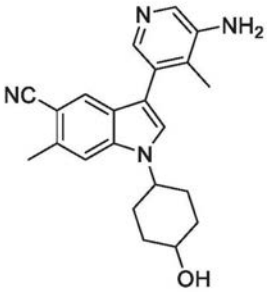
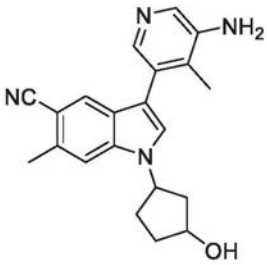
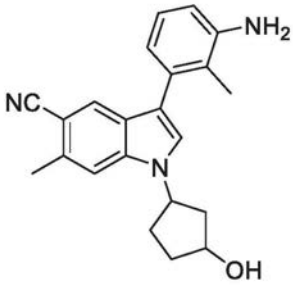
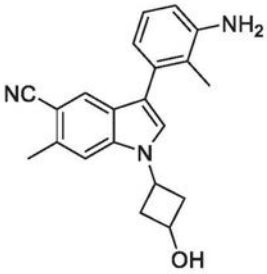
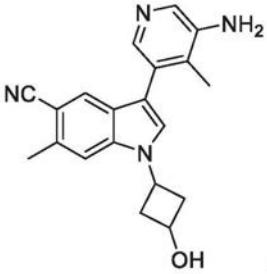
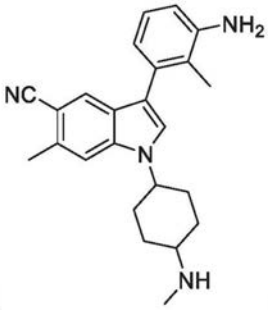
[0533] R^b独立地选自:F、Cl、OH、OCF_3、C_1-C_4烷基和C_1-C_4烷氧基;并且

[0534] R^d独立地选自:OH和$NHCH_3$。

[0535] 在一些实施例中,本发明提供选自例示的实例的化合物或其药学上可接受的盐,包括PCT专利申请号WO 2017/149463的实例1至102的所有化合物。

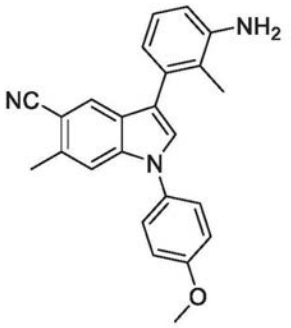
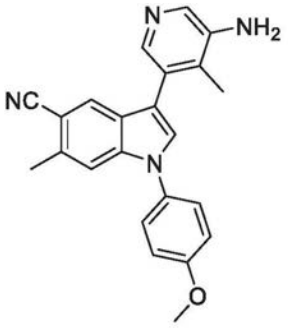
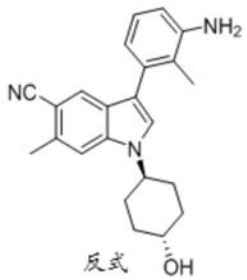
[0536] 在一些实施例中,本发明提供选自以下的化合物:

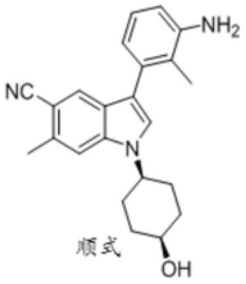
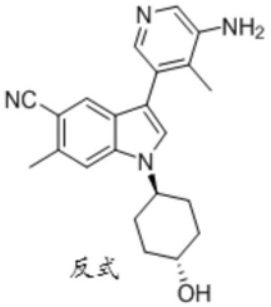
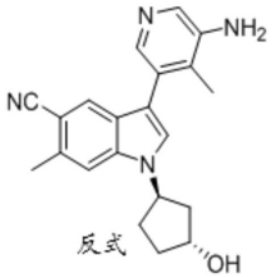
[0537]

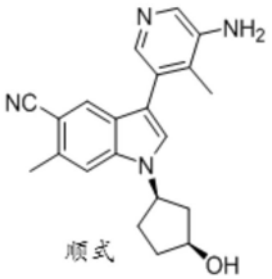
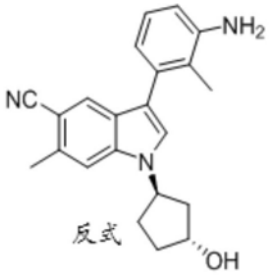
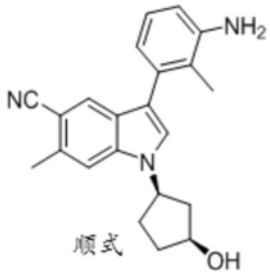

、

、

、

、

、

、

、

、以及

;

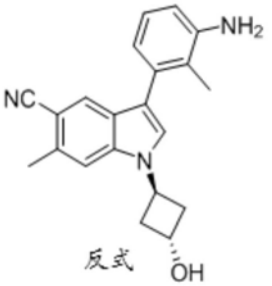
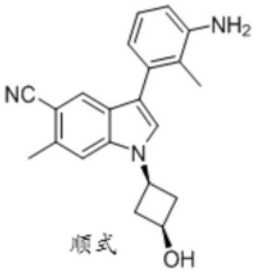
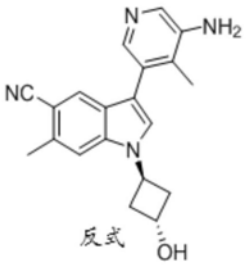
[0538] 或其药学上可接受的盐。

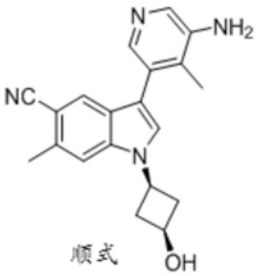
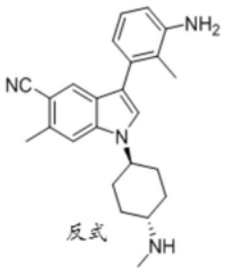
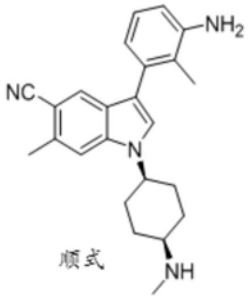
[0539] 在一些实施例中,本发明提供选自以下的化合物:

[0540]  、  、  、

 、  、  、

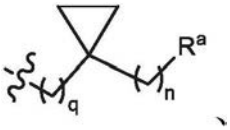
[0541]  、  、  、

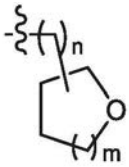
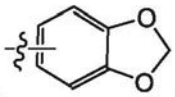
 、  、  、

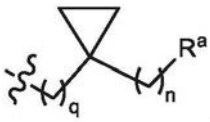
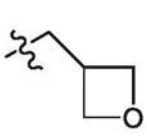
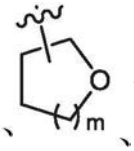
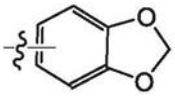
 、  、以及  ；

[0542] 或其药学上可接受的盐。

[0543] 在另一个实施例中，R^1独立地选自：被一个R^a取代的C_2-C_6烷基、被一个R^a取代的C_2-C_6烯基、-$(CH)_n$-(被一个R^e取代的C_4-C_6环烷基)、-$(CH)_n$-(被零至二个R^b取代的苯基)、-

$(CH)_n$-(被零至二个R^b取代的吡啶基)、哌啶基、  、

 、  、以及  。

[0544] 在另一个实施例中，R^1独立地选自：被一个R^a取代的C_1-C_6烷基、被一个R^a取代的C_2-C_6烯基、被一个R^d取代的C_4-C_6环烷基、-$(CH)_n$-(被一至二个R^b取代的苯基)、-$(CH)_n$-(被一至二个R^b取代的吡啶基)、哌啶基、  、  、  、以及  。

[0545] 在另一个实施例中，R^1独立地选自：被一个R^d取代的C_4-C_6环烷基、被一至二个R^b取代的苯基和被一至二个R^b取代的吡啶基。

[0546] 在另一个实施例中，R^1独立地选自：被一个R^d取代的C_4-C_6环烷基和被一至二个R^b取代的苯基。

[0547] 在另一个实施例中，R^1独立地是被一个R^d取代的C_4-C_6环烷基。

[0548] 在另一个实施例中，R^1独立地是被一至二个R^b取代的苯基和被一至二个R^b取代的吡啶基。

[0549] 在另一个实施例中，R^1独立地是被一至二个R^b取代的苯基。

[0550] 在另一个实施例中，R^1独立地是被一至二个R^b取代的吡啶基。

[0551] 在另一个实施例中，R^5独立地选自：H、卤素、C_1-C_4烷基、CF_3、以及环丙基。

[0552] 在另一个实施例中，R^5独立地选自：H、F、Cl、CH_3、CF_3、以及环丙基。

[0553] 在另一个实施例中，R^5独立地选自：H、F、Cl和CH_3。

[0554] 在另一个实施例中，R^6独立地选自：H和C_1-C_4烷基。

[0555] 在另一个实施例中，R^6独立地选自：H和CH_3。

[0556] 在另一个实施例中，Y是CH。

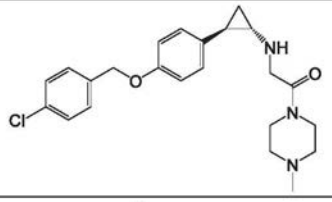
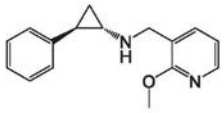
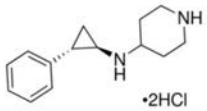
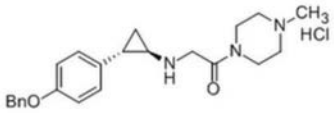
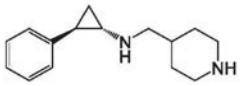
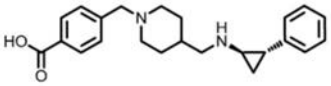
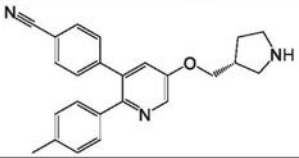
[0557] 在另一个实施例中，Y是N。

[0558] 在另一个实施例中，使用本文披露的LSD1 LC-MS和/或LSD1抗增殖测定，本发明的化合物具有≤1μM的IC50值，优选≤0.5μM的IC50值，更优选≤0.1μM的IC50值。

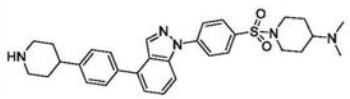
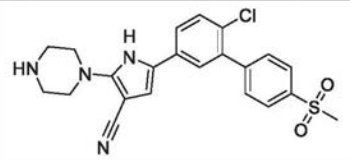
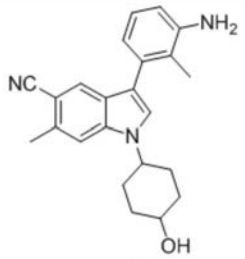
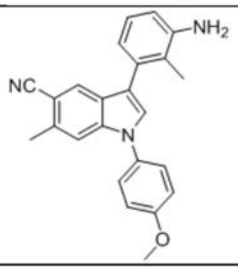
[0559] 另外的示例性LSD1抑制剂提供在以下表3中。

[0560] 表3.示例性LSD1抑制剂。

[0561]

化学名称	结构	LCMS IC50（uM）*	还在本申请中称为
rel-2-[[(1R,2S)-2-[4-[(4-氯苯基)甲氧基]苯基]环丙基]氨基]-1-(4-甲基-1-哌嗪基)-乙酮		0.01	
(1S,2R)-N-((2-甲氧基吡啶-3-基)甲基)-2-苯基环丙烷-1-胺		0.02	化合物 A
rel-N-[(1R,2S)-2-苯基环丙基]-4-哌啶胺盐酸盐（1：2）		--	GSK-LSD1；LSD1i-GSK
2-(1R,2S)-2-(4-(苄氧基)苯基)环丙基氨基)-1-(4-甲基哌嗪-1-基)乙酮，HCl		--	LSD1i-IV；LSD1i-EMD
GSK2699537		0.0007	化合物 B
GSK2879552		--	
(R)-4-(5-(吡咯烷-3-基甲氧基)-2-(对甲苯基)吡啶-3-基)苄腈		0.03	GSK354；化合物 C

[0562]

N,N-二甲基-1-((4-(4-(4-(哌啶-4-基)苯基)-1H-吲唑-1-基)苯基)磺酰基)哌啶-4-胺		0.009	描述于实例 3 中
5-(6-氯-4'-(甲基磺酰基)-[1,1'-联苯基]-3-基)-2-(哌嗪-1-基)-1H-吡咯-3-甲腈		0.012	描述于实例 2 中
反式-3-(3-氨基-2-甲基苯基)-1-(4-羟基环己基)-6-甲基-1H-吲哚-5-甲腈（描述于实例 6 中）		0.003	NVS 化合物 1；化合物 93
3-(3-氨基-2-甲基苯基)-1-(4-甲氧基苯基)-6-甲基-1H-吲哚-5-甲腈（描述于实例 5 中）		0.005	NVS 化合物 2；化合物 65

[0563] *如通过LCMS测量的LSD1 IC50。

[0564] 根据本发明有用的小分子LSD1抑制剂还包括前述中的任一项的前药、衍生物、药学上可接受的盐或类似物。

[0565] 小分子LSD1抑制剂可以基于本文描述的特定剂量，基于本领域中公认的方法来配制用于递送。

[0566] 在实施例中，LSD1小分子抑制剂可以与抗体或其抗原结合片段缀合。在一个实施例中，该抗体或其抗原结合片段对T细胞表面上表达的抗原具有特异性。

[0567] 蛋白质LSD1抑制剂

[0568] 在实施例中，LSD1抑制剂可以是蛋白质LSD1抑制剂。在实施例中，该蛋白质LSD1抑制剂是LSD1的显性负性结合配偶体(例如，与Co-REST或AR共活化剂复合物的LSD1或其他成员相互作用的组蛋白脱乙酰酶(HDAC))，或编码LSD1的所述显性负性结合配偶体的核酸。在实施例中，该蛋白质LSD1抑制剂是显性负性(例如，催化失活的)LSD1，或编码所述分子的核酸。

[0569] 使用LSD1抑制剂制备免疫效应细胞群体的方法

[0570] 本发明的特征在于LSD1抑制剂在制造例如，被工程化为表达例如，如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞群体中的用途。不受理论束缚，本发明部分依赖于令人惊讶且出人意料的发现，即免疫效应细胞(例如T细胞)中LSD1的抑制产生具有更高数量和/或更高比例的初始免疫效应细胞(例如T细胞)并具有改进的治疗特性的免疫效应细胞(例如T细胞)群体。所述免疫效应细胞中LSD1的抑制可以在包括所述细胞的疗法之前和/或同时发生。因此，本发明的一个方面涉及用于制造免疫效应细胞(例如T细胞)的组合物和LSD1抑制剂在制造这些免疫效应细胞中的用途。

[0571] 在一个方面，本发明提供了一种制备免疫效应细胞群体的方法，该免疫效应细胞群体任选地是T细胞群体，该方法包括以下步骤：

[0572] a)使免疫效应细胞群体与LSD1抑制剂接触；

[0573] 由此制备免疫效应细胞群体，该免疫效应细胞群体任选地是T细胞群体，

[0574] 其中任选地，与未接触的免疫效应细胞群体相比，与该LSD1抑制剂的接触引起以下中的一项或多项发生：

[0575] 1)初始T细胞，例如T_{SCM}细胞的比例增加；

[0576] 2)初始T细胞，例如T_{SCM}细胞的数量增加；

[0577] 3)T_{EM}细胞的数量减少；

[0578] 4)T_{EM}细胞的比例降低；

[0579] 5)CD45RA+CD62L+ T细胞的比例增加；

[0580] 6)CD45RA+CD62L+ T细胞的数量增加：

[0581] 7)PD-1阳性免疫效应细胞的比例降低；

[0582] 8)PD-1阴性免疫效应细胞/PD-1阳性免疫效应细胞的比率增加；

[0583] 9)PD-1+/Lag3+/Tim3+免疫效应细胞的比例降低；

[0584] 10)PD-1-/Lag3-/Tim3-免疫效应细胞与PD-1+/Lag3+/Tim3+免疫效应细胞的比率增加；

[0585] 11)这些免疫效应细胞的增殖增加；

[0586] 12)来自所述免疫效应细胞群体的细胞因子(例如，IFNg和/或IL-2)的产生增加；或

[0587] 13)上述中的两项、三项、四项、五项、六项、七项、八项、九项、十项、十一项、十二项或更多项(例如，全部)的组合。

[0588] 在实施例中，该方法进一步包括b)将编码CAR的核酸插入该免疫效应细胞群体的细胞中的步骤。在实施例中，步骤a)的接触在步骤b)的所述插入1)之前；2)同时；3)之后；或4)之前和之后；发生。在实施例中，步骤a)的接触和任选地步骤b)的插入是离体的。

[0589] 在另一个方面，本发明提供了一种制备免疫效应细胞群体的方法，该免疫效应细胞群体任选地是T细胞群体，该方法包括任选地按照所列顺序的以下步骤：

[0590] a)离体提供免疫效应细胞群体；

[0591] b)使免疫效应细胞群体与LSD1抑制剂离体接触；

[0592] 由此制备免疫效应细胞群体，该免疫效应细胞群体任选地是T细胞群体，

[0593] 其中任选地，与未接触的免疫效应细胞群体相比，与该LSD1抑制剂的接触引起以下中的一项或多项发生：

[0594] 1)初始T细胞，例如T_{SCM}细胞的比例增加；

[0595] 2)初始T细胞，例如T_{SCM}细胞的数量增加；

[0596] 3)T_{EM}细胞的数量减少；

[0597] 4)T_{EM}细胞的比例降低；

[0598] 5)CD45RA+CD62L+ T细胞的比例增加；

[0599] 6)CD45RA+CD62L+ T细胞的数量增加；

[0600] 7)PD-1阳性免疫效应细胞的比例降低；

[0601] 8)PD-1阴性免疫效应细胞/PD-1阳性免疫效应细胞的比率增加；

[0602] 9)PD-1+/Lag3+/Tim3+免疫效应细胞的比例降低；

[0603] 10)PD-1-/Lag3-/Tim3-免疫效应细胞与PD-1+/Lag3+/Tim3+免疫效应细胞的比率增加；

[0604] 11)这些免疫效应细胞的增殖增加；

[0605] 12)来自所述免疫效应细胞群体的细胞因子(例如,IFNg和/或IL-2)的产生增加；或

[0606] 13)上述中的两项、三项、四项、五项、六项、七项、八项、九项、十项、十一项、十二项或更多项(例如,全部)的组合。

[0607] 在实施例中,该方法进一步包括c)将编码CAR的核酸插入该免疫效应细胞群体的细胞中的步骤。在实施例中,步骤b)的接触在步骤c)的所述插入1)之前;2)同时;3)之后;或4)之前和之后;发生。在实施例中,步骤b)的接触和任选地步骤c)的插入是离体的。

[0608] 在另一个方面,本发明提供了一种制备免疫效应细胞群体的方法,该免疫效应细胞群体任选地是T细胞群体,该方法包括任选地按照所列顺序的以下步骤：

[0609] a)向受试者给予LSD1抑制剂；

[0610] 其中任选地,与来自未给予的受试者的免疫效应细胞群体相比,给予该LSD1抑制剂在所述受试者中引起以下中的一项或多项发生：

[0611] 1)初始T细胞,例如T_{SCM}细胞的比例增加；

[0612] 2)初始T细胞,例如T_{SCM}细胞的数量增加；

[0613] 3)T_{EM}细胞的数量减少；

[0614] 4)T_{EM}细胞的比例降低；

[0615] 5)CD45RA+CD62L+ T细胞的比例增加；

[0616] 6)CD45RA+CD62L+ T细胞的数量增加；

[0617] 7)PD-1阳性免疫效应细胞的比例降低；

[0618] 8)PD-1阴性免疫效应细胞/PD-1阳性免疫效应细胞的比率增加；

[0619] 9)PD-1+/Lag3+/Tim3+免疫效应细胞的比例降低；

[0620] 10)PD-1-/Lag3-/Tim3-免疫效应细胞与PD-1+/Lag3+/Tim3+免疫效应细胞的比率增加；

[0621] 11)这些免疫效应细胞的增殖增加；

[0622] 12)来自所述免疫效应细胞群体的细胞因子(例如,IFNg和/或IL-2)的产生增加；或

[0623] 13)上述中的两项、三项、四项、五项、六项、七项、八项、九项、十项、十一项、十二项或更多项(例如,全部)的组合；

[0624] b)离体提供来自所述受试者的免疫效应细胞群体；

[0625] 由此制备免疫效应细胞群体,该免疫效应细胞群体任选地是T细胞群体。

[0626] 在实施例中,该方法进一步包括c)将编码CAR的核酸插入该免疫效应细胞群体的细胞中的步骤。

[0627] 在另一个方面,本发明提供了一种制备免疫效应细胞群体的方法,该免疫效应细胞群体任选地是T细胞群体,该方法包括任选地按照所列顺序的以下步骤：

[0628] a)向受试者给予LSD1抑制剂；

[0629] b)离体提供来自所述受试者的免疫效应细胞群体；

[0630] c)使免疫效应细胞群体与LSD1抑制剂离体接触；

[0631] 由此制备免疫效应细胞群体，该免疫效应细胞群体任选地是T细胞群体，

[0632] 其中任选地，与未接触的和未给予的免疫效应细胞群体相比，以下中的一项或多项发生：

[0633] 1)初始T细胞，例如T_{SCM}细胞的比例增加；

[0634] 2)初始T细胞，例如T_{SCM}细胞的数量增加；

[0635] 3)T_{EM}细胞的数量减少；

[0636] 4)T_{EM}细胞的比例降低；

[0637] 5)CD45RA+CD62L+ T细胞的比例增加；

[0638] 6)CD45RA+CD62L+ T细胞的数量增加；

[0639] 7)PD-1阳性免疫效应细胞的比例降低；

[0640] 8)PD-1阴性免疫效应细胞/PD-1阳性免疫效应细胞的比率增加；

[0641] 9)PD-1+/Lag3+/Tim3+免疫效应细胞的比例降低；

[0642] 10)PD-1-/Lag3-/Tim3-免疫效应细胞与PD-1+/Lag3+/Tim3+免疫效应细胞的比率增加；

[0643] 11)这些免疫效应细胞的增殖增加；

[0644] 12)来自所述免疫效应细胞群体的细胞因子(例如，IFNg和/或IL-2)的产生增加；或

[0645] 13)以上中的两种或更多种的组合。

[0646] 在实施例中，该方法进一步包括d)将编码CAR的核酸插入该免疫效应细胞群体的细胞中的步骤。在实施例中，步骤c)的接触在步骤d)的所述插入1)之前；2)同时；3)之后；或4)之前和之后；发生。

[0647] 在多个方面，在从所述受试者收集免疫效应细胞群体之前向受试者给予LSD1抑制剂可以具有足够的时间和/或足够的剂量，以使得任选地，与未给予的免疫效应细胞群体相比，发生以下中的一项或多项：

[0648] 1)初始T细胞，例如T_{SCM}细胞的比例增加；

[0649] 2)初始T细胞，例如T_{SCM}细胞的数量增加；

[0650] 3)T_{EM}细胞的数量减少；

[0651] 4)T_{EM}细胞的比例降低；

[0652] 5)CD45RA+CD62L+ T细胞的比例增加；

[0653] 6)CD45RA+CD62L+ T细胞的数量增加；

[0654] 7)PD-1阳性免疫效应细胞的比例降低；

[0655] 8)PD-1阴性免疫效应细胞/PD-1阳性免疫效应细胞的比率增加；

[0656] 9)PD-1+/Lag3+/Tim3+免疫效应细胞的比例降低；

[0657] 10)PD-1-/Lag3-/Tim3-免疫效应细胞与PD-1+/Lag3+/Tim3+免疫效应细胞的比率增加；

[0658] 11)这些免疫效应细胞的增殖增加；

[0659] 12)来自所述免疫效应细胞群体的细胞因子(例如,IFNg和/或IL-2)的产生增加;或

[0660] 13)以上中的两种或更多种的组合;

[0661] 可以使用本文描述的测定以确定适当的给药剂量和或时间。在实施例中,在从所述受试者收集免疫效应细胞群体之前,给予LSD1抑制剂至少1天的时间段。在实施例中,在从所述受试者收集免疫效应细胞群体之前,给予LSD1抑制剂至少2天的时间段。在实施例中,在从所述受试者收集免疫效应细胞群体之前,给予LSD1抑制剂至少3天的时间段。在实施例中,在从所述受试者收集免疫效应细胞群体之前,给予LSD1抑制剂至少4天的时间段。在实施例中,在从所述受试者收集免疫效应细胞群体之前,给予LSD1抑制剂至少5天的时间段。在实施例中,在从所述受试者收集免疫效应细胞群体之前,给予LSD1抑制剂至少6天的时间段。在实施例中,在从所述受试者收集免疫效应细胞群体之前,给予LSD1抑制剂至少7天的时间段。在实施例中,在从所述受试者收集免疫效应细胞群体之前,给予LSD1抑制剂至少一周或多周的时间段。

[0662] 在实施例中,在从所述受试者收集免疫效应细胞后继续向受试者给予LSD1抑制剂,例如在收集免疫效应细胞后继续1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多天的时间段,例如至少继续直到将(离体修饰的)免疫效应细胞给予回至受试者,例如继续超过将(离体修饰的)免疫效应细胞给予回至受试者的时间。

[0663] 在多个方面,LSD1抑制剂与免疫效应细胞群体的接触(例如,离体)可以具有足够的时间和/或足够的剂量,以使得任选地,与未接触的免疫效应细胞群体相比,发生以下中的一项或多项:

[0664] 1)初始T细胞,例如T_{SCM}细胞的比例增加;

[0665] 2)初始T细胞,例如T_{SCM}细胞的数量增加;

[0666] 3)T_{EM}细胞的数量减少;

[0667] 4)T_{EM}细胞的比例降低;

[0668] 5)CD45RA+CD62L+ T细胞的比例增加;

[0669] 6)CD45RA+CD62L+ T细胞的数量增加;

[0670] 7)PD-1阳性免疫效应细胞的比例降低;

[0671] 8)PD-1阴性免疫效应细胞/PD-1阳性免疫效应细胞的比率增加;

[0672] 9)PD-1+/Lag3+/Tim3+免疫效应细胞的比例降低;

[0673] 10)PD-1-/Lag3-/Tim3-免疫效应细胞与PD-1+/Lag3+/Tim3+免疫效应细胞的比率增加;

[0674] 11)这些免疫效应细胞的增殖增加;

[0675] 12)来自所述免疫效应细胞群体的细胞因子(例如,IFNg和/或IL-2)的产生增加;或

[0676] 13)上述中的两项、三项、四项、五项、六项、七项、八项、九项、十项、十一项、十二项或更多项(例如,全部)的组合。

[0677] 可以使用本文描述的测定以确定适当的给药剂量和或时间。在实施例中,使免疫效应细胞群体与LSD1抑制剂接触至少1天的时间段。在实施例中,使免疫效应细胞群体与LSD1抑制剂接触至少2天的时间段。在实施例中,使免疫效应细胞群体与LSD1抑制剂接触至

少3天的时间段。在实施例中，使免疫效应细胞群体与LSD1抑制剂接触至少4天的时间段。在实施例中，使免疫效应细胞群体与LSD1抑制剂接触至少5天的时间段。在实施例中，使免疫效应细胞群体与LSD1抑制剂接触至少6天的时间段。在实施例中，使免疫效应细胞群体与LSD1抑制剂接触至少7天的时间段。在实施例中，使免疫效应细胞群体与LSD1抑制剂接触至少一周或多周的时间段。在实施例中，在免疫效应细胞离体的过程中用含有LSD1抑制剂的新鲜培养基更换含有LSD1抑制剂的培养基，例如一次、两次、三次、4次、5次、6次、7次或多于7次(例如，每天或每隔一天)。LSD1抑制剂的浓度可以进行调节以便发生所希望的作用，并且可以是例如约0.001nM至约10mM、例如约0.01nM至约1mM、例如约0.1nM至约100μM、例如约1nM至约100μM、例如约10nM至约100μM、例如约100nM至约10μM。在实施例中，LSD1抑制剂的浓度是100nM。在实施例中，LSD1抑制剂的浓度是约100μM。在实施例中，LSD1抑制剂的浓度是200nM。在实施例中，LSD1抑制剂的浓度是约200μM。

[0678] 在另一个方面，本发明提供了一种用于离体制造免疫效应细胞群体的组合物，该组合物包含LSD1抑制剂，例如小分子LSD1抑制剂。在实施例中，该组合物包含从约0.001nM至约10mM、例如从约0.1μM至约10μM的浓度的小分子LSD1抑制剂。

[0679] 在涉及被工程化为表达例如，如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞的实施例中，应理解该方法可以进一步包括下文在关于嵌合抗原受体的章节中描述的任何方面、步骤或特征。

[0680] 用免疫效应细胞和LSD1抑制剂治疗的方法

[0681] 本发明的特征在于LSD1抑制剂在治疗患者的疾病(例如癌症)中的用途，其中这种治疗与免疫效应细胞(例如被工程化为表达例如，如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞)群体的给予组合。不受理论束缚，本发明部分依赖于令人惊讶且出人意料的发现，即免疫效应细胞(例如T细胞)中LSD1的抑制产生具有更高数量和/或更高比例的初始免疫效应细胞(例如T细胞)并具有改进的治疗特性的免疫效应细胞(例如T细胞)群体。因此，本发明的一个方面提供用例如被工程化为表达例如，如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞群体与LSD1抑制剂的组合治疗疾病，例如癌症。

[0682] 在一个方面，本发明的特征在于一种治疗受试者的方法，该方法包括向该受试者给予LSD1抑制剂，其中所述受试者已经接受、正在接受或将要接受被工程化为表达嵌合抗原受体(CAR)的免疫效应细胞群体。在实施例中，该方法包括向所述受试者给予LSD1抑制剂和被工程化为表达例如，如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞群体。在实施例中，LSD1抑制剂在被工程化为表达例如，如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞群体之前给予，并且其中LSD1抑制剂的所述给予在给予被工程化为表达例如，如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞群体后持续一段时间。在其他实施例中，在给予被工程化为表达例如，如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞群体之后给予LSD1抑制剂是以相对于在所述LSD1抑制剂不存在下给予的被工程化为表达例如，如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞的等效群体，足以增加被工程化为表达例如，如本文描述的CAR分子的免疫效应群体的抗肿瘤作用的量进行。

[0683] 在另一个方面，本发明的特征在于一种增加受试者中免疫效应细胞群体的治疗功效的方法，这些免疫效应细胞被工程化为表达例如，如本文描述的CAR分子，例如CAR19(例如，CTL019)，该方法包括至少短暂地降低所述细胞中LSD1的活性或表达的步骤。在实施例中，降低所述细胞中LSD1的活性或表达的步骤包括使该细胞与LSD1抑制剂接触。在实施例

中，该接触是离体进行的。在实施例中，该接触是体内进行的(例如，将免疫效应细胞群体和LSD1抑制剂共同给予至受试者)。

[0684] 在任一前述方面的实施例中，LSD1抑制剂的给予或接触使得：

[0685] 1)初始T细胞，例如T_{SCM}细胞的比例增加；

[0686] 2)初始T细胞，例如T_{SCM}细胞的数量增加；

[0687] 3)T_{EM}细胞的数量减少；

[0688] 4)T_{EM}细胞的比例降低；

[0689] 5)CD45RA+CD62L+ T细胞的比例增加；

[0690] 6)CD45RA+CD62L+ T细胞的数量增加；

[0691] 7)PD-1阳性免疫效应细胞的比例降低；

[0692] 8)PD-1阴性免疫效应细胞/PD-1阳性免疫效应细胞的比率增加；

[0693] 9)PD-1+/Lag3+/Tim3+免疫效应细胞的比例降低；

[0694] 10)PD-1-/Lag3-/Tim3-免疫效应细胞与PD-1+/Lag3+/Tim3+免疫效应细胞的比率增加；

[0695] 11)这些免疫效应细胞的增殖增加；

[0696] 12)来自所述免疫效应细胞群体的细胞因子(例如，IFNg和/或IL-2)的产生增加；或

[0697] 13)上述中的两项、三项、四项、五项、六项、七项、八项、九项、十项、十一项、十二项或更多项(例如，全部)的组合。

[0698] 在实施例中，该作用是与未与LSD1抑制剂接触的细胞相比。在实施例中，该作用是与未与LSD1抑制剂接触的同一受试者的细胞相比。

[0699] 在另一个方面，本发明提供了一种治疗受试者的方法，该方法包括：

[0700] a)向所述受试者给予LSD1抑制剂；

[0701] b)在该LSD1抑制剂的所述给予之后，从所述受试者收集免疫效应细胞群体；

[0702] c)离体提供所述免疫效应细胞群体；

[0703] d)使所述离体免疫效应细胞群体与该LSD1抑制剂接触，其中任选地，与未接触的离体免疫效应细胞群体相比，与该LSD1抑制剂的该接触引起以下中的一项或多项发生：

[0704] 1)初始T细胞，例如T_{SCM}细胞的比例增加；

[0705] 2)初始T细胞，例如T_{SCM}细胞的数量增加；

[0706] 3)T_{EM}细胞的数量减少；

[0707] 4)T_{EM}细胞的比例降低；

[0708] 5)CD45RA+CD62L+ T细胞的比例增加；

[0709] 6)CD45RA+CD62L+ T细胞的数量增加；

[0710] 7)PD-1阳性免疫效应细胞的比例降低；

[0711] 8)PD-1阴性免疫效应细胞/PD-1阳性免疫效应细胞的比率增加；

[0712] 9)PD-1+/Lag3+/Tim3+免疫效应细胞的比例降低；

[0713] 10)PD-1-/Lag3-/Tim3-免疫效应细胞与PD-1+/Lag3+/Tim3+免疫效应细胞的比率增加；

[0714] 11)这些免疫效应细胞的增殖增加；

[0715] 12)来自所述免疫效应细胞群体的细胞因子(例如,IFNg和/或IL-2)的产生增加;或

[0716] 13)上述中的两项、三项、四项、五项、六项、七项、八项、九项、十项、十一项、十二项或更多项(例如,全部)的组合;以及

[0717] e)向该受试者给予该免疫效应细胞群体。

[0718] 在实施例中,步骤e)进一步包括向该受试者给予LSD1抑制剂。在实施例中,该方法进一步包括将编码CAR的核酸插入该离体免疫效应细胞群体的细胞中的步骤。

[0719] 在另一个方面,本发明提供了一种治疗有需要的受试者的方法,该方法包括向所述受试者给予有效量的任何前述方面和实施例的免疫效应细胞群体。在实施例中,该方法进一步包括向所述受试者给予LSD1抑制剂。在实施例中,该受试者在给予免疫效应细胞群体之前接受LSD1抑制剂的预先治疗;在实施例中,该受试者接受用LSD1抑制剂和免疫效应细胞群体同时治疗;在实施例中,该受试者在给予免疫效应细胞群体之后接受用LSD1抑制剂治疗;在实施例中,该受试者接受前述任一项的组合。

[0720] 在一个方面,包括在与治疗方法有关的先前方面中,本发明涉及治疗受试者的方法,其中该受试者患有与肿瘤抗原的表达相关的疾病,例如增生性疾病、癌前病状、癌症、以及与肿瘤抗原的表达相关的非癌症相关适应症。在实施例中,该癌症是选自以下中的一种或多种的血液癌症:慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、急性白血病、急性淋巴细胞白血病(ALL)、B细胞急性淋巴细胞白血病(B-ALL)、T细胞急性淋巴细胞白血病(T-ALL)、慢性髓细胞性白血病(CML)、B细胞幼淋巴细胞性白血病、母细胞性浆细胞样树突细胞肿瘤、伯基特淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、毛细胞白血病、小细胞或大细胞滤泡性淋巴瘤、恶性淋巴组织增生病状、MALT淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、多发性骨髓瘤、骨髓增生异常和骨髓增生异常综合征、非霍奇金淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、浆母细胞性淋巴瘤、浆细胞样树突细胞肿瘤、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症或白血病前期。在实施例中,该癌症选自下组,该组由以下组成:结肠癌、直肠癌、肾细胞癌、肝癌、非小细胞肺癌、小肠癌、食道癌、黑素瘤、骨癌、胰腺癌、皮肤癌、头颈癌、皮肤或眼内恶性黑素瘤、子宫癌、卵巢癌、直肠癌、肛区癌、胃癌、睾丸癌、子宫癌、输卵管癌、子宫内膜癌、子宫颈癌、阴道癌、外阴癌、霍奇金病、非霍奇金淋巴瘤、内分泌系统癌症、甲状腺癌、甲状旁腺癌、肾上腺癌、软组织肉瘤、尿道癌、阴茎癌、儿童实体瘤、膀胱癌、肾或输尿管癌、肾盂癌、中枢神经系统肿瘤(CNS)、原发性CNS淋巴瘤、肿瘤血管生成、脊轴肿瘤、脑干胶质瘤、垂体腺瘤、卡波济肉瘤、表皮样癌、鳞状细胞癌、T细胞淋巴瘤、环境诱导的癌症、所述癌症的组合、以及所述癌症的转移性病灶。

[0721] 在涉及被工程化为表达例如,如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞的实施例中,应理解该治疗方法可以进一步包括下文在关于嵌合抗原受体的章节中描述的任何步骤、方面或特征。

[0722] 细胞

[0723] 如本领域技术人员将从本披露显而易见的,本发明涉及包含LSD1抑制剂的细胞。本发明进一步包括已经与LSD1抑制剂接触的细胞,例如接触的时间段和/或剂量足以发生以下中的一项或多项(任选地,相对于未接触的细胞):

[0724] 1)初始T细胞,例如T_{SCM}细胞的比例增加;

[0725] 2)初始T细胞,例如T_{SCM}细胞的数量增加;

[0726] 3) T_{EM}细胞的数量减少；

[0727] 4) T_{EM}细胞的比例降低；

[0728] 5) CD45RA+CD62L+ T细胞的比例增加；

[0729] 6) CD45RA+CD62L+ T细胞的数量增加；

[0730] 7) PD-1阳性免疫效应细胞的比例降低；

[0731] 8) PD-1阴性免疫效应细胞/PD-1阳性免疫效应细胞的比率增加；

[0732] 9) PD-1+/Lag3+/Tim3+免疫效应细胞的比例降低；

[0733] 10) PD-1-/Lag3-/Tim3-免疫效应细胞与PD-1+/Lag3+/Tim3+免疫效应细胞的比率增加；

[0734] 11) 这些免疫效应细胞的增殖增加；

[0735] 12) 来自所述免疫效应细胞群体的细胞因子(例如，IFNg和/或IL-2)的产生增加；或

[0736] 13) 上述中的两项、三项、四项、五项、六项、七项、八项、九项、十项、十一项、十二项或更多项(例如，全部)的组合。

[0737] 本发明进一步涉及通过本文描述的任何方法制备的细胞。

[0738] 这些细胞优选地是免疫效应细胞。在一个实施例中，这些细胞是T细胞。在一个实施例中，这些细胞是NK细胞。在实施例中，本发明涉及本发明的细胞群体，例如本发明的免疫效应细胞群体。在实施例中，本发明的细胞群体包含所指示类型的细胞，并且可以包含其他类型(例如，被工程化为表达例如，如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞群体(例如T细胞)可以包含被工程化为表达CAR分子的T细胞以及未被工程化为表达CAR分子的T细胞(或其他细胞类型))。在实施例中，本发明的细胞群体基本上由所指示类型的细胞组成。在实施例中，本发明的细胞群体基本上不含其他细胞类型。在实施例中，本发明的细胞群体由所指示的细胞类型组成。

[0739] 在任何前述方面和实施例中，细胞和/或细胞群体是或包含免疫效应细胞，例如免疫效应细胞群体包含T细胞或NK细胞，例如由T细胞或NK细胞组成。在实施例中，这些细胞是T细胞，例如CD8+ T细胞、CD4+ T细胞或它们的组合。在实施例中，这些细胞是NK细胞。

[0740] 在实施例中，这些细胞是人细胞。在实施例中，这些细胞例如对于有待给予这些细胞的受试者是自体的。在实施例中，这些细胞例如对于有待给予这些细胞的受试者是同种异体的。

[0741] 在实施例中，这些细胞是或包含被工程化为表达例如，如本文描述的CAR分子的细胞。可用于本发明中的细胞的另外特征和/或方面在下文标题为嵌合抗原受体的章节中描述。

[0742] 在一个实施例中，表达CAR分子(例如本文描述的CAR分子)的免疫效应细胞获自已接受LSD1抑制剂的受试者。在一个实施例中，在足够的时间后或在足够剂量的LSD1抑制剂后收获被工程化为表达CAR分子的免疫效应细胞(例如T细胞)的群体，以使得受试者中或从受试者收获的PD1阴性免疫效应细胞(例如T细胞)的水平、或PD1阴性免疫效应细胞(例如T细胞)/PD1阳性免疫效应细胞(例如T细胞)的比率已经至少短暂地增加。

[0743] 在其他实施例中，已经被或将被工程化为表达例如，如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞(例如T细胞)的群体可以通过与一定量的LSD1抑制剂接触而离体进行处理，该

LSD1抑制剂增加PD1阴性免疫效应细胞(例如T细胞)的数量或增加PD1阴性免疫效应细胞(例如T细胞)/PD1阳性免疫效应细胞(例如T细胞)的比率。

[0744] 在一个实施例中,从受试者获得NK细胞。在另一个实施例中,NK细胞是NK细胞系,例如NK-92细胞系(Conkwest公司)。

[0745] 在一个实施例中,在向受试者给予LSD1抑制剂后,从受试者获得或收获免疫效应细胞,例如T细胞。

[0746] 在一个实施例中,在发生PD1阴性免疫效应细胞(例如T细胞)的数量增加之后或PD1阴性免疫效应细胞(例如T细胞)/PD1阳性免疫效应细胞(例如T细胞)的比率增加之后收集免疫效应细胞,例如T细胞。

[0747] 在一个实施例中,在发生初始T细胞的数量增加之后收集免疫效应细胞,例如T细胞。

[0748] 在一个实施例中,在以下中的一项或多项之后收集免疫效应细胞,例如T细胞:

[0749] 1)初始T细胞,例如T_{SCM}细胞的比例增加;

[0750] 2)初始T细胞,例如T_{SCM}细胞的数量增加;

[0751] 3)T_{EM}细胞的数量减少;

[0752] 4)T_{EM}细胞的比例降低;

[0753] 5)CD45RA+CD62L+ T细胞的比例增加;

[0754] 6)CD45RA+CD62L+ T细胞的数量增加;

[0755] 7)PD-1阳性免疫效应细胞的比例降低;

[0756] 8)PD-1阴性免疫效应细胞/PD-1阳性免疫效应细胞的比率增加;

[0757] 9)PD-1+/Lag3+/Tim3+免疫效应细胞的比例降低;

[0758] 10)PD-1-/Lag3-/Tim3-免疫效应细胞与PD-1+/Lag3+/Tim3+免疫效应细胞的比率增加;

[0759] 11)这些免疫效应细胞的增殖增加;

[0760] 12)来自所述免疫效应细胞群体的细胞因子(例如,IFNg和/或IL-2)的产生增加;或

[0761] 13)上述中的两项、三项、四项、五项、六项、七项、八项、九项、十项、十一项、十二项或更多项(例如,全部)的组合;

[0762] 增加或减少可以是短暂的。增加或减少可以是永久的。增加或减少可以是与标准物(例如来自未治疗的受试者的细胞)相比。

[0763] 在实施例中,使免疫效应细胞(例如T细胞)与LSD1抑制剂离体接触(在从受试者或供体移除之后并且在引入受试者之前)。

[0764] 在一个实施例中,该接触处于使得PD1阴性免疫效应细胞(例如T细胞)的数量增加或PD1阴性免疫效应细胞(例如T细胞)/PD1阳性免疫效应细胞(例如T细胞)的比率增加的水平。

[0765] 在实施例中,使免疫效应细胞(例如T细胞)与LSD1抑制剂以使得初始T细胞的数量增加的水平离体接触(在从受试者或供体移除之后并且在引入受试者之前)。

[0766] 在实施例中,使免疫效应细胞(例如T细胞)与LSD1抑制剂以产生以下中的一项或多项的水平离体接触(在从受试者或供体移除之后并且在引入受试者之前):

[0767] 1)初始T细胞,例如T_{SCM}细胞的比例增加;

[0768] 2)初始T细胞,例如T_{SCM}细胞的数量增加;

[0769] 3)T_{EM}细胞的数量减少;

[0770] 4)T_{EM}细胞的比例降低;

[0771] 5)CD45RA+CD62L+ T细胞的比例增加;

[0772] 6)CD45RA+CD62L+ T细胞的数量增加;

[0773] 7)PD-1阳性免疫效应细胞的比例降低;

[0774] 8)PD-1阴性免疫效应细胞/PD-1阳性免疫效应细胞的比率增加;

[0775] 9)PD-1+/Lag3+/Tim3+免疫效应细胞的比例降低;

[0776] 10)PD-1-/Lag3-/Tim3-免疫效应细胞与PD-1+/Lag3+/Tim3+免疫效应细胞的比率增加;

[0777] 11)这些免疫效应细胞的增殖增加;

[0778] 12)来自所述免疫效应细胞群体的细胞因子(例如,IFNg和/或IL-2)的产生增加;或

[0779] 13)上述中的两项、三项、四项、五项、六项、七项、八项、九项、十项、十一项、十二项或更多项(例如,全部)的组合;

[0780] 增加或减少可以是短暂的。增加或减少可以是永久的。增加或减少可以是与标准物(例如来自未治疗的受试者的细胞)相比。

[0781] 在一个实施例中,针对PD1阴性免疫效应细胞(例如T细胞)的数量增加或PD1阴性免疫效应细胞(例如T细胞)/PD1阳性免疫效应细胞(例如T细胞)的比率增加的水平评价T细胞制剂。

[0782] 在一个实施例中,针对初始T细胞的数量增加的水平评价T细胞制剂。在一个实施例中,针对以下中的一项或多项评价T细胞制剂:

[0783] 1)初始T细胞,例如T_{SCM}细胞的比例增加;

[0784] 2)初始T细胞,例如T_{SCM}细胞的数量增加;

[0785] 3)T_{EM}细胞的数量减少;

[0786] 4)T_{EM}细胞的比例降低;

[0787] 5)CD45RA+CD62L+ T细胞的比例增加;

[0788] 6)CD45RA+CD62L+ T细胞的数量增加;

[0789] 7)PD-1阳性免疫效应细胞的比例降低;

[0790] 8)PD-1阴性免疫效应细胞/PD-1阳性免疫效应细胞的比率增加;

[0791] 9)PD-1+/Lag3+/Tim3+免疫效应细胞的比例降低;

[0792] 10)PD-1-/Lag3-/Tim3-免疫效应细胞与PD-1+/Lag3+/Tim3+免疫效应细胞的比率增加;

[0793] 11)这些免疫效应细胞的增殖增加;

[0794] 12)来自所述免疫效应细胞群体的细胞因子(例如,IFNg和/或IL-2)的产生增加;或

[0795] 13)上述中的两项、三项、四项、五项、六项、七项、八项、九项、十项、十一项、十二项或更多项(例如,全部)的组合;

[0796] 增加或减少可以是短暂的。增加或减少可以是永久的。增加或减少可以是与标准物(例如未治疗的受试者的细胞)相比。

[0797] 药物组合物:LSD1抑制剂

[0798] 在一个方面,本发明涉及被配制用作药物的药物组合物,这些药物组合物包含LSD1抑制剂,例如本文描述的LSD1抑制剂。

[0799] 在一个方面,本发明涉及被配制用于制造免疫效应细胞群体的药物组合物,这些药物组合物包含LSD1抑制剂,例如,如本文描述的LSD1抑制剂。

[0800] 在一个方面,本发明涉及被配制用于与本文描述的CAR细胞组合使用的药物组合物,这些药物组合物包含LSD1抑制剂,例如,如本文描述的LSD1抑制剂。

[0801] 在一些实施例中,LSD1抑制剂被配制用于与除了例如,如本文描述的CAR细胞以外的另一种药剂组合给予。

[0802] 一般来说,本发明化合物将经由本领域中已知的任何常用和可接受的方式,以如上所述的治疗有效量单独地或与一种或多种治疗剂组合给予。

[0803] 可以使用常规的溶解和混合程序来制备药物配制品。例如,在一种或多种本文描述的赋形剂存在下,将散装药物物质(即,LSD1抑制剂或化合物的稳定化形式(例如,与环糊精衍生物或其他已知复合剂的复合物))溶解于适合的溶剂中。LSD1抑制剂典型地被配制成药物剂型,以提供可易于控制的药物剂量,并为患者提供优雅且易于处理的产品。

[0804] 本发明的化合物可以通过任何常规的途径,特别是肠内,例如口服(例如以片剂或胶囊的形式)、或肠胃外(例如以可注射溶液或悬浮液的形式)、局部地(例如以洗剂、凝胶、软膏或乳膏的形式或以鼻或栓剂形式)作为药物组合物给予。当LSD1抑制剂与如本文描述的另一种药剂(同时或分开)组合给予时,在一个方面,两种组分可以通过相同的途径给予(例如,肠胃外)。可替代地,可以通过相对于LSD1抑制剂的不同途径给予另一种药剂。例如,LSD1抑制剂可以口服给予,并且另一种药剂可以肠胃外给予。包含呈游离形式或药学上可接受的盐形式的LSD1抑制剂以及至少一种药学上可接受的载体或稀释剂的药物组合物可以通过混合、制粒或包衣方法以常规方式制造。例如,口服组合物可以是片剂或明胶胶囊,其包含活性成分以及a)稀释剂,例如乳糖、右旋糖、蔗糖、甘露糖醇、山梨糖醇、纤维素和/或甘氨酸;b)润滑剂,例如,二氧化硅、滑石、硬酯酸、其镁盐或钙盐和/或聚乙二醇;对于片剂还有c)粘合剂,例如,硅酸铝镁、淀粉糊、明胶、黄蓍胶、甲基纤维素、羧甲基纤维素钠和或聚乙烯吡咯烷酮;如果希望,d)崩散剂,例如,淀粉、琼脂、海藻酸或其钠盐或泡腾混合物;和/或e)吸附剂、着色剂、调味剂和甜味剂。口服配制品还可以包含活性成分以及20%-60%的Eudragit EPO、羟丙基纤维素EF、羟丙基甲基纤维素或Kollidon VA64以及最高达5%的pluronic F68、Cremophor EL或Gelucire 44/14。可注射组合物可以是水性等渗溶液或悬浮液,并且栓剂可以由脂肪乳液或悬浮液制备。这些组合物可以是灭菌的和/或含有佐剂(如防腐剂、稳定剂、润湿剂或乳化剂、溶液促进剂、用于调节渗透压的盐和/或缓冲剂)。此外,它们还可以含有其他有治疗价值的物质。用于经皮施加的适合配制品包含有效量的本发明化合物与载体。载体可以包含可吸收的药理学上可接受的溶剂以帮助穿过宿主的皮肤。例如,经皮装置呈绷带的形式,该绷带包括背部构件、任选地具有载体的含有该化合物的储库、任选地用于将化合物以控制的和预定的速率在延长的时间段内递送至宿主的皮肤的速率控制屏障以及用于将该装置固定至皮肤的器件。还可以使用基质经皮配制品。在另

一方面，本文描述的LSD1抑制剂可以经由微针贴剂给予。基于微针的药物递送是本领域中熟知的(参见，例如美国专利8,162,901)，并且本领域技术人员可以采用这些技术和方法来给予如本文描述的LSD1抑制剂。用于局部施加例如至皮肤和眼睛的适合配制品优选地是本领域中熟知的水溶液、软膏、乳膏或凝胶。此类配制品可以含有增溶剂、稳定剂、张力增强剂、缓冲剂以及防腐剂。

[0805] 用于施加的药物组合物(或配制品)可以根据用于给予药物的方法而以多种方式包装。一般来说，用于分配的物件包括药物配制品以适当形式在其内贮存的容器。适合的容器对于本领域的技术人员是熟知的并且包括材料如瓶(塑料和玻璃)、小袋、安瓿、塑料袋、金属圆筒及其类似物。容器还可以包括防干扰组件，以防止不小心接触到包装的内容物。另外，容器设有描述容器的内容物的标签。标签还可以包括适当的警示语。本发明还提供了药物组合(例如试剂盒)，该药物组合包含a)第一药剂，其是呈游离形式或药学上可接受的盐形式的如本文披露的LSD1抑制剂；和b)至少一种另外的药剂。该试剂盒可以包括其给药说明书。

[0806] 如本文所用的术语“药物组合”意指由多于一种活性成分的混合或组合产生的产品，并且包括活性成分的固定和非固定组合两者。术语“固定组合”意指活性成分(例如LSD1抑制剂和另一种药剂)以单个实体或剂量的形式同时给予至患者。术语“非固定组合”意指活性成分(例如LSD1抑制剂和另一种药剂)作为分开的实体同时地、并行地或顺序地给予至患者(没有特定的时间限制)，其中这种给予在患者体内提供治疗有效水平的2种化合物。后者还适用于混合物疗法，例如，3种或更多种活性成分的给予。

[0807] 嵌合抗原受体

[0808] 与本发明相关的嵌合抗原受体技术的一般描述

[0809] 本文描述了用于将给予LSD1抑制剂与给予被工程化为表达例如，如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞群体(例如T细胞或NK细胞)组合的方法(该细胞被工程化为表达CAR，并且在实施例中，表达CAR到其被给予至受试者时。在其他实施例中，表达在给予后开始。)在一些实施例中，该细胞是被工程化为表达例如，如本文描述的CAR分子的T细胞，其中CAR T细胞(“CART”)表现出抗癌特性。本文还描述了使用LSD1抑制剂用于制造(例如，活化和/或扩增)被工程化为表达例如，如本文描述的CAR分子的免疫效应细胞群体(例如T细胞或NK细胞)的方法，其中相对于在不使用LSD1抑制剂情况下制造的细胞，这些细胞具有增强的活性(例如，增殖、细胞因子释放和/或肿瘤靶向功效)和/或更初始的表型。一般来说，本章节中论述的分子、细胞、方法或其他方面可以用于本发明的方法、组合物、细胞和其他方面，例如与LSD1抑制剂组合。

[0810] 一般来说，本发明涉及编码嵌合抗原受体(CAR)的分离的核酸分子，其中该CAR包含结合至如本文描述的肿瘤抗原的抗原结合结构域(例如，抗体或抗体片段，TCR或TCR片段)、跨膜结构域(例如，本文描述的跨膜结构域)和细胞内信号传导结构域(例如，本文描述的细胞内信号传导结构域)(例如，包含共刺激结构域(例如，本文描述的共刺激结构域)和/或初级信号传导结构域(例如，本文描述的初级信号传导结构域)的细胞内信号传导结构域)。在其他方面，本发明包括：含有上述核酸和由此类核酸分子编码的分离的蛋白质的宿主细胞。与本发明有关的CAR核酸构建体、编码的蛋白质、含有载体、宿主细胞、药物组合物以及给药和治疗方法在国际专利申请公开号WO 2015142675中详细地披露，该专利申请通

过引用以其全文并入。

[0811] 在一个方面，本发明涉及编码嵌合抗原受体(CAR)的分离的核酸分子，其中该CAR包含结合至支持肿瘤的抗原(例如，如本文描述的支持肿瘤的抗原)的抗原结合结构域(例如，抗体或抗体片段，TCR或TCR片段)、跨膜结构域(例如，本文描述的跨膜结构域)和细胞内信号传导结构域(例如，本文描述的细胞内信号传导结构域)(例如，包含共刺激结构域(例如，本文描述的共刺激结构域)和/或初级信号传导结构域(例如，本文描述的初级信号传导结构域)的细胞内信号传导结构域)。在一些实施例中，该支持肿瘤的抗原是存在于基质细胞或骨髓源性抑制细胞(MDSC)上的抗原。在其他方面，本发明的特征在于由此类核酸编码的多肽以及含有此类核酸和/或多肽的宿主细胞。在其他方面，本发明的特征在于被工程化为表达例如，如本文描述的CAR分子的细胞(例如细胞群体)，例如免疫效应细胞，例如T细胞或NK细胞。

[0812] 靶标

[0813] 本发明提供了免疫效应细胞(例如，T细胞、NK细胞)，这些免疫效应细胞被工程化为含有一种或多种CAR，该一种或多种CAR将免疫效应细胞引导至不希望的细胞(例如，癌细胞)。这通过CAR上的抗原结合结构域实现，该抗原结合结构域对癌症相关抗原具有特异性。存在两类可以通过本发明的CAR靶向的癌症相关抗原(肿瘤抗原)：(1)在癌细胞表面上表达的癌症相关抗原；和(2)本身在细胞内的癌症相关抗原，然而，这种抗原(肽)的片段通过MHC(主要组织相容性复合物)呈递在癌细胞的表面上。

[0814] 在一些实施例中，该肿瘤抗原选自以下中的一种或多种：CD19；CD123；CD22；CD30；CD171；CS-1(也称为CD2亚群1、CRACC、SLAMF7、CD319、以及19A24)；C型凝集素样分子-1(CLL-1或CLECL1)；CD33；表皮生长因子受体变体III(EGFRvIII)；神经节苷脂G2(GD2)；神经节苷脂GD3(aNeu5Ac(2-8)aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-4)bDGlcp(1-1)Cer)；TNF受体家族成员B细胞成熟(BCMA)；Tn抗原((Tn Ag)或(GalNAca-Ser/Thr))；前列腺特异性膜抗原(PSMA)；受体酪氨酸激酶样孤儿受体1(ROR1)；Fms样酪氨酸激酶3(FLT3)；肿瘤相关糖蛋白72(TAG72)；CD38；CD44v6；癌胚抗原(CEA)；上皮细胞粘附分子(EPCAM)；B7H3(CD276)；KIT(CD117)；白细胞介素-13受体亚基α-2(IL-13Ra2或CD213A2)；间皮素；白细胞介素11受体α(IL-11Ra)；前列腺干细胞抗原(PSCA)；蛋白酶丝氨酸21(睾蛋白或PRSS21)；血管内皮生长因子受体2(VEGFR2)；Lewis(Y)抗原；CD24；血小板衍生的生长因子受体β(PDGFR-β)；阶段特异性胚胎抗原-4(SSEA-4)；CD20；叶酸受体α；受体酪氨酸蛋白激酶ERBB2(Her2/neu)；粘蛋白1，细胞表面相关的(MUC1)；表皮生长因子受体(EGFR)；神经细胞粘附分子(NCAM)；前列腺酶；前列腺酸性磷酸酶(PAP)；突变的延伸因子2(ELF2M)；肝配蛋白B2；成纤维细胞活化蛋白α(FAP)；胰岛素样生长因子1受体(IGF-I受体)，碳酸酐酶IX(CAIX)；蛋白酶体(Prosome，Macropain)亚基，β型，9(LMP2)；糖蛋白100(gp100)；由断裂点簇集区(BCR)和Abelson鼠白血病病毒致癌基因同源物1(Abl)组成的致癌基因融合蛋白(bcr-abl)；酪氨酸酶；肝配蛋白A型受体2(EphA2)；岩藻糖基GM1；唾液酸Lewis粘附分子(sLe)；神经节苷脂GM3(aNeu5Ac(2-3)bDGalp(1-4)bDGlcp(1-1)Cer)；转谷氨酰胺酶5(TGS5)；高分子量-黑素瘤相关抗原(HMWMAA)；o-乙酰基-GD2神经节苷脂(OAcGD2)；叶酸受体β；肿瘤内皮标志物1(TEM1/CD248)；肿瘤内皮标志物7相关的(TEM7R)；密封蛋白6(CLDN6)；促甲状腺激素受体(TSHR)；G蛋白偶联受体C类5组，成员D(GPRC5D)；染色体X开放阅读框61(CXORF61)；CD97；CD179a；间变性淋巴瘤激酶(ALK)；

聚唾液酸;胎盘特异性1(PLAC1);globoH糖基神经酰胺(GloboH)的六糖部分;乳腺分化抗原(NY-BR-1);尿溶蛋白2(UPK2);甲型肝炎病毒细胞受体1(HAVCR1);肾上腺素受体β3(ADRB3);泛连接蛋白3(PANX3);G蛋白偶联受体20(GPR20);淋巴细胞抗原6复合物,基因座K 9(LY6K);嗅觉受体51E2(OR51E2);TCRγ替代性阅读框蛋白(TARP);肾母细胞瘤蛋白(WT1);癌/睾丸抗原1(NY-ESO-1);癌/睾丸抗原2(LAGE-1a);黑素瘤相关抗原1(MAGE-A1);ETS易位变异基因6,位于染色体12p上(ETV6-AML);精子蛋白17(SPA17);X抗原家族,成员1A(XAGE1);血管生成素结合细胞表面受体2(Tie 2);黑素瘤癌睾丸抗原-1(MAD-CT-1);黑素瘤癌睾丸抗原-2(MAD-CT-2);Fos相关的抗原1;肿瘤蛋白p53(p53);p53突变体;前列腺特异性蛋白(prostein);存活蛋白(surviving);端粒酶;前列腺癌肿瘤抗原-1(PCTA-1或半乳糖蛋白8)、T细胞1识别的黑素瘤抗原(MelanA或MART1);大鼠肉瘤(Ras)突变体;人端粒酶逆转录酶(hTERT);肉瘤易位断点;黑素瘤细胞凋亡抑制剂(ML-IAP);ERG(跨膜蛋白酶、丝氨酸2(TMPRSS2)ETS融合基因);N-乙酰葡糖胺基转移酶V(NA17);配对盒蛋白Pax-3(PAX3);雄激素受体;细胞周期蛋白B1;v-myc禽类骨髓细胞瘤病毒致癌基因神经母细胞瘤来源同源物(MYCN);Ras同源物家族成员C(RhoC);酪氨酸酶相关蛋白2(TRP-2);细胞色素P450 1B1(CYP1B1);CCCTC-结合因子(锌指蛋白)样(BORIS或印记位点调控因子样蛋白(Brother of the Regulator of Imprinted Sites)),T细胞3识别的鳞状细胞癌抗原(SART3);配对盒蛋白Pax-5(PAX5);前顶体蛋白结合蛋白sp32(OY-TES1);淋巴细胞特异性蛋白酪氨酸激酶(LCK);激酶锚蛋白4(AKAP-4);滑膜肉瘤,X断点2(SSX2);晚期糖基化终产物受体(RAGE-1);肾遍在蛋白1(RU1);肾遍在蛋白2(RU2);豆荚蛋白;人乳头状瘤病毒E6(HPV E6);人乳头状瘤病毒E7(HPV E7);肠羧酸酯酶;突变的热休克蛋白70-2(mut hsp70-2);CD79a;CD79b;CD72;白细胞相关的免疫球蛋白样受体1(LAIR1);IgA受体的Fc片段(FCAR或CD89);白细胞免疫球蛋白样受体亚家族A成员2(LILRA2);CD300分子样家族成员f(CD300LF);C型凝集素结构域家族12成员A(CLEC12A);骨髓基质细胞抗原2(BST2);含EGF样模块的粘蛋白样激素受体样2(EMR2);淋巴细胞抗原75(LY75);磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3(GPC3);Fc受体样5(FCRL5);以及免疫球蛋白λ样多肽1(IGLL1)。

[0815] 本文描述的CAR可以包含结合至支持肿瘤的抗原(例如,如本文描述的支持肿瘤的抗原)的抗原结合结构域(例如,抗体或抗体片段,TCR或TCR片段)。在一些实施例中,该支持肿瘤的抗原是存在于基质细胞或骨髓源性抑制细胞(MDSC)上的抗原。基质细胞可以分泌生长因子以促进微环境中的细胞分裂。MDSC细胞可以抑制T细胞增殖和活化。不希望受理论束缚,在一些实施例中,表达CAR的细胞破坏支持肿瘤的细胞,从而间接地抑制肿瘤生长或存活。

[0816] 在实施例中,基质细胞抗原选自以下中的一种或多种:骨髓基质细胞抗原2(BST2)、成纤维细胞活化蛋白(FAP)和腱生蛋白。在一个实施例中,FAP特异性抗体是西罗珠单抗,与西罗珠单抗竞争结合,或具有与西罗珠单抗相同的CDR。在实施例中,MDSC抗原选自以下中的一种或多种:CD33、CD11b、C14、CD15和CD66b。因此,在一些实施例中,该支持肿瘤的抗原选自以下中的一种或多种:骨髓基质细胞抗原2(BST2)、成纤维细胞活化蛋白(FAP)或腱生蛋白、CD33、CD11b、C14、CD15、以及CD66b。

[0817] 抗原结合结构域结构

[0818] 在一些实施例中,编码的CAR分子的抗原结合结构域包含抗体、抗体片段、scFv、

Fv、Fab、(Fab')2、单结构域抗体(SDAB)、VH或VL结构域、骆驼科VHH结构域或双功能(例如双特异性)杂合抗体(例如,Lanzavecchia等人,Eur.J.Immunol.[欧洲免疫学杂志]17,105(1987))。

[0819] 在一些情况下,可以根据本领域已知的方法制备scFv(参见例如,Bird等人,(1988)Science[科学]242:423-426和Huston等人,(1988)Proc.Natl.Acad.Sci.USA[美国国家科学院院刊]85:5879-5883)。可以通过使用柔性多肽接头将VH和VL区连接在一起来产生ScFv分子。scFv分子包含具有优化的长度和/或氨基酸组成的接头(例如,Ser-Gly接头)。接头长度可以极大地影响scFv的可变区折叠和相互作用的方式。事实上,如果采用短多肽接头(例如,在5-10个氨基酸之间),则可以防止链内折叠。还需要链间折叠以将两个可变区组合在一起以形成功能性表位结合位点。对于接头取向和大小的实例,参见例如,Hollinger等人1993 Proc Natl Acad.Sci.U.S.A.[美国国家科学院院刊]90:6444-6448、美国专利申请公开号2005/0100543、2005/0175606、2007/0014794、和PCT公开号WO 2006/020258以及WO 2007/024715,通过引用并入本文。

[0820] scFv可以在其VL与VH区之间包含具有至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30、35、40、45、50、或更多个氨基酸残基的接头。接头序列可以包含任何天然存在的氨基酸。在一些实施例中,接头序列包含氨基酸甘氨酸和丝氨酸。在另一个实施例中,接头序列包含多组甘氨酸和丝氨酸重复序列,如$(Gly_4Ser)n$,其中n是等于或大于1的正整数(SEQ ID NO:22)。在一个实施例中,接头可以是$(Gly_4Ser)_4$(SEQ ID NO:29)或$(Gly_4Ser)_3$(SEQ ID NO:30)。接头长度的变化可以保留或增强活性,从而在活性研究中产生优异的功效。

[0821] 在另一个方面,抗原结合结构域是T细胞受体("TCR")或其片段,例如单链TCR(scTCR)。用于制备此类TCR的方法是本领域中已知的。参见例如Willemsen RA等人,Gene Therapy[基因疗法]7:1369-1377(2000);Zhang T等人,Cancer Gene The r[癌症基因疗法]11:487-496(2004);Aggen等人,Gene Ther.[基因疗法]19(4):365-74(2012)(将参考文献以其整体并入本文)。例如,scTCR可以工程化为含有来自通过接头(例如柔性肽)连接的T细胞克隆的Vα和Vβ基因。此途径对于本身在细胞内的癌症相关靶标非常有用,然而,这种抗原(肽)的片段通过MHC呈递在癌细胞的表面上。

[0822] 在某些实施例中,编码的抗原结合结构域具有10^{-4}M至10^{-8}M的结合亲和力KD。

[0823] 在一个实施例中,编码的CAR分子包含如下抗原结合结构域,该抗原结合结构域对靶抗原的结合亲和力KD为10-4M至10-8M,例如10-5M至10-7M,例如10-6M或10-7M。在一个实施例中,该抗原结合结构域的结合亲和力比参考抗体(例如本文描述的抗体)的结合亲和力低至少5倍、10倍、20倍、30倍、50倍、100倍或1,000倍。在一个实施例中,编码的抗原结合结构域的结合亲和力比参考抗体(例如,该抗原结合结构域所来源的抗体)的结合亲和力低至少5倍。在一方面,此类抗体片段是功能性的,因为它们提供生物学应答,该生物学应答可以包括但不限于免疫应答的活化、起源于其靶抗原的信号转导的抑制、激酶活性的抑制等,如熟练技术人员所理解的那样。

[0824] 在一个方面,CAR的抗原结合结构域是scFv抗体片段,该scFv抗体片段与它所来源的scFv的鼠序列相比是人源化的。

[0825] 在一个方面,本发明的CAR的抗原结合结构域(例如,scFv)由核酸分子编码,该核

酸分子的序列已进行密码子优化以在哺乳动物细胞中表达。在一个方面，本发明的整个CAR构建体由核酸分子编码，该核酸分子的整个序列已进行密码子优化以在哺乳动物细胞中表达。密码子优化是指如下发现：在编码DNA中同义密码子(即编码相同氨基酸的密码子)的出现频率在不同物种中有偏差。这种密码子简并性允许相同的多肽由各种核苷酸序列编码。各种密码子优化方法是本领域已知的，并且包括例如在至少美国专利号5,786,464和6,114,148中披露的方法。

[0826] 特异性抗原结合结构域

[0827] 在一些实施例中，包含抗原结合结构域的CAR部分包含靶向肿瘤抗原，例如本文描述(例如，在标题为“靶标”的章节中)的肿瘤抗原的抗原结合结构域。在一些实施例中，肿瘤抗原是2015年3月13日提交的国际申请WO2015/142675中描述的肿瘤抗原，该国际申请通过引用以其全文并入本文。可以使用表达CAR的细胞靶向的示例性靶抗原包括但不限于CD19、CD123、EGFRvIII、CD33、间皮素、BCMA、CLL-1、CD20、CD22和GFR ALPHA-4等，如描述于例如WO 2014/153270、WO 2014/130635、WO 2016/028896、WO 2014/130657、WO 2015/142675、WO 2016/014576、WO 2015/090230、WO 2016/014565、WO 2016/164731、WO 2016/014535和WO 2016/025880(其各自通过引用以其全文并入本文)中。

[0828] 在实施例中，抗原结合结构域包含来自本文或通过引用并入本文的任何出版物中描述的抗体的一个、两个或三个(例如，全部)重链CDR(HC CDR1、HC CDR2和HC CDR3)，和/或来自本文或通过引用并入本文的任何出版物中描述的抗体的一个、两个或三个(例如，全部)轻链CDR(LC CDR1、LC CDR2和LC CDR3)。

[0829] 在一个实施例中，抗原结合结构域包含本文或通过引用并入本文的任何出版物中描述的抗体的重链可变区和/或可变轻链区。在一个实施例中，本文描述的任何CAR分子(例如CD19、BCMA、CD123、EGFRvIII、CD33、间皮素、CLL-1、CD20、CD22和GFR ALPHA-4中的任一个)的抗原结合结构域包含来自本文或通过引用并入本文的任何出版物中描述的抗体的一个、两个或三个(例如，全部)重链CDR(HC CDR1、HC CDR2和HC CDR3)，和/或来自本文或通过引用并入本文的任何出版物中描述的抗原结合结构域的一个、两个或三个(例如，全部)轻链CDR(LC CDR1、LC CDR2和LC CDR3)。在一个实施例中，抗原结合结构域包含本文或通过引用并入本文的任何出版物中描述的抗体的重链可变区和/或可变轻链区。

[0830] 在一个实施例中，抗原结合结构域包含来自本文描述的抗体的一个、两个或三个(例如，全部)重链CDR(HC CDR1、HC CDR2和HC CDR3(例如，WO 2015/142675、US-2015-0283178-A1、US-2016-0046724-A1、US 2014/0322212 A1、US 2016/0068601 A1、US 2016/0051651 A1、US 2016/0096892 A1、US 2014/0322275 A1或WO 2015/090230(通过引用并入本文)中描述的抗体))，和/或来自本文描述的抗体的一个、两个或三个(例如，全部三个)轻链CDR(LC CDR1、LC CDR2和LC CDR3(例如，WO 2015/142675、US-2015-0283178-A1、US-2016-0046724-A1、US 2014/0322212 A1、US 2016/0068601 A1、US 2016/0051651 A1、US 2016/0096892 A1、US 2014/0322275 A1或WO 2015/090230(通过引用并入本文)中描述的抗体))。

[0831] 在一个实施例中，抗原结合结构域包含本文描述的抗体的重链可变区和/或可变轻链区。在实施例中，抗原结合结构域是WO 2015/142675、US-2015-0283178-A1、US-2016-0046724-A1、US 2014/0322212 A1、US 2016/0068601 A1、US 2016/0051651 A1、US 2016/

0096892 A1、US2014/0322275 A1或WO 2015/090230(其各自通过引用以其全文并入本文)中描述的抗原结合结构域。

[0832] 在一个实施例中,针对CD19的抗原结合结构域是描述于例如以下中的CAR(例如,CD19 CAR)、抗体或其抗原结合片段的抗原结合部分(例如CDR):PCT公开WO 2012/079000;PCT公开WO 2014/153270;Kochenderfer,J.N.等人,J.Immunother.[免疫疗法杂志]32(7),689-702(2009);Kochenderfer,J.N.,等人,Blood[血液],116(20),4099-4102(2010);PCT公开WO 2014/031687;Bejcek,Cancer Research[癌症研究],55,2346-2351,1995;或美国专利号7,446,190,这些文献各自特此通过引用以其全文并入。

[0833] 在一个实施例中,CD19 CAR包含CAR分子,或根据WO 2014/153270(通过引用并入本文)的表3的抗原结合结构域(例如,人源化抗原结合结构域)。编码CD19 CAR分子和抗原结合结构域的氨基酸序列和核苷酸序列(例如,包含根据Kabat或Chothia的一个、两个或三个VH CDR;和一个、两个或三个VL CDR)在WO 2014/153270中指定。在实施例中,CD19 CAR或抗原结合结构域包含氨基酸,或具有WO 2014/153270(通过引用并入本文)中所示的核苷酸序列,或与前述序列中的任一项基本上相同(例如,与前述序列中的任一项至少85%、90%、95%或更多相同)的序列。

[0834] 在另一个实施例中,抗原结合结构域包含抗CD19抗体或其片段(例如scFv)。例如,抗原结合结构域包含表6-9中列出的可变重链和可变轻链,或与前述序列中的任一项基本上相同(例如,与前述序列中的任一项至少85%、90%、95%或更多相同)的序列。连接可变重链和可变轻链的接头序列可以是例如本文描述的接头序列中的任一项,或者可替代地可以是GSTSGSGKPGSGEGSTKG(SEQ ID NO:871)。

[0835] 表6.抗CD19抗体结合结构域。

[0836]

CD19	huscFv1 (SEQ ID NO: 872)	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQDISKYLNWYQQKPGQAPRLLIYHTSRLHSGIPARFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAVYFCQQGNTLPYTFGQGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPGKGLEWIGVIWGSETTYYSSSLKSRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTLVTVSS
CD19	huscFv2 (SEQ ID NO: 873)	Eivmtqspatlslspgeratlscrasqdiskylnwyqqkpgqaprlliyhtsrlhsgiparfsgsgsgtdytltisslqpedfavyfcqqgntlpytfgqgtkleikggggsggggsggggsqvqlqesgpglvkpsetlsltctvsgvslpdygvswirqppgkglewigviwgsettyyqsslksrvtiskdnsknqvslklssvtaadtavyycakhyyyggsyamdywgqgtlvtvss
CD19	huscFv3 (SEQ ID NO: 874)	Qvqlqesgpglvkpsetlsltctvsgvslpdygvswirqppgkglewigviwgsettyyssslksrvtiskdnsknqvslklssvtaadtavyycakhyyyggsyamdywgqgtlvtvssggggsggggsggggseivmtqspatlslspgeratlscrasqdiskylnwyqqkpgqaprlliyhtsrlhsgiparfsgsgsgtdytltisslqpedfavyfcqqgntlpytfgqgtkleik
CD19	huscFv4 (SEQ ID NO: 875)	Qvqlqesgpglvkpsetlsltctvsgvslpdygvswirqppgkglewigviwgsettyyqsslksrvtiskdnsknqvslklssvtaadtavyycakhyyyggsyamdywgqgtlvtvssggggsggggsggggseivmtqspatlslspgeratlscrasqdiskylnwyqqkpgqaprlliyhtsrlhsgiparfsgsgsgtdytltisslqpedfavyfcqqgntlpytfgqgtkleik
CD19	huscFv5 (SEQ ID NO: 876)	Eivmtqspatlslspgeratlscrasqdiskylnwyqqkpgqaprlliyhtsrlhsgiparfsgsgsgtdytltisslqpedfavyfcqqgntlpytfgqgtkleikggggsggggsggggsggggsqvqlqesgpglvkpsetlsltctvsgvslpdygvswirqppgkglewigviwgsettyyssslksrvtiskdnsknqvslklssvtaadtavyycakhyyyggsyamdywgqgtlvtvss
CD19	huscFv6 (SEQ ID NO:	Eivmtqspatlslspgeratlscrasqdiskylnwyqqkpgqaprlliyhtsrlhsgiparfsgsgsgtdytltisslqpedfavyfcqqgntlpytfgqgtkleikggggsggggsggggsggggsqvqlqesgpglvkpsetlsltctvsgvslpdygvswirqppgkglewigviwgsettyyqsslksrvtiskdnsknqvslklssvtaadtavyycakhyyyggsyamdy

[0837]

	877)	wgqgtlvtvss
CD19	huscFv7 (SEQ ID NO: 878)	Qvqlqesgpglvkpsetlsltctvsgvslpdygvswirqppgkglewigviwgsettyy ssslksrvtiskdnsknqvslklssvtaadtavyycakhyyyggsyamdywgqgtlvtv ssggggsggggsggggsggggseivmtqspatlslspgeratlscrasqdiskylnwyq qkpgqaprlliyhtsrlhsgiparfsgsgsgtdytltisslqpedfavyfcqqgntlpy tfgqgtkleik
CD19	huscFv8 (SEQ ID NO: 879)	Qvqlqesgpglvkpsetlsltctvsgvslpdygvswirqppgkglewigviwgsettyy qsslksrvtiskdnsknqvslklssvtaadtavyycakhyyyggsyamdywgqgtlvtv ssggggsggggsggggsggggseivmtqspatlslspgeratlscrasqdiskylnwyq qkpgqaprlliyhtsrlhsgiparfsgsgsgtdytltisslqpedfavyfcqqgntlpy tfgqgtkleik
CD19	huscFv9 (SEQ ID NO: 880)	Eivmtqspatlslspgeratlscrasqdiskylnwyqqkpgqaprlliyhtsrlhsgip arfsgsgsgtdytltisslqpedfavyfcqqgntlpytfgqgtkleikggggsggggsg gggsggggsqvqlqesgpglvkpsetlsltctvsgvslpdygvswirqppgkglewigv iwgsettyynsslksrvtiskdnsknqvslklssvtaadtavyycakhyyyggsyamdy wgqgtlvtvss
CD19	Hu scFv10 (SEQ ID NO: 881)	Qvqlqesgpglvkpsetlsltctvsgvslpdygvswirqppgkglewigviwgsettyy nsslksrvtiskdnsknqvslklssvtaadtavyycakhyyyggsyamdywgqgtlvtv ssggggsggggsggggsggggseivmtqspatlslspgeratlscrasqdiskylnwyq qkpgqaprlliyhtsrlhsgiparfsgsgsgtdytltisslqpedfavyfcqqgntlpy tfgqgtkleik
CD19	Hu scFv11 (SEQ ID NO: 882)	Eivmtqspatlslspgeratlscrasqdiskylnwyqqkpgqaprlliyhtsrlhsgip arfsgsgsgtdytltisslqpedfavyfcqqgntlpytfgqgtkleikggggsggggsg gggsqvqlqesgpglvkpsetlsltctvsgvslpdygvswirqppgkglewigviwgse ttyynsslksrvtiskdnsknqvslklssvtaadtavyycakhyyyggsyamdywgqgt lvtvss
CD19	Hu scFv12 (SEQ ID NO: 883)	Qvqlqesgpglvkpsetlsltctvsgvslpdygvswirqppgkglewigviwgsettyy nsslksrvtiskdnsknqvslklssvtaadtavyycakhyyyggsyamdywgqgtlvtv ssggggsggggsggggseivmtqspatlslspgeratlscrasqdiskylnwyqqkpgq aprlliyhtsrlhsgiparfsgsgsgtdytltisslqpedfavyfcqqgntlpytfgqg tkleik
CD19	muCTL 019 (SEQ ID NO: 884)	Diqmtqttsslsaslgdrvtiscrasqdiskylnwyqqkpdgtvkllyhtsrlhsgvp srfsgsgsgtdysltisnleqediatyfcqqgntlpytfgggtkleitggggsggggsg gggsevklqesgpglvapsqslsvtctvsgvslpdygvswirqpprkglewlgviwgse ttyynsalksrltiikdnsksqvflkmnslqtddtaiyycakhyyyggsyamdywgqgt svtvss

[0838] 表7.另外的抗CD19抗体结合结构域。

[0839]

抗体	VH 序列	VL 序列
SSJ25-C1	QVQLLESGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSS YWMNWVKQRPGQGLEWIGQIYPGDGDTNYNG KFKGQATLTADKSSSTAYMQLSGLTSEDSAV YSCARKTISSVVDFYFDYWGQGTTVT (SEQ ID NO: 885)	ELVLTQSPKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVGTNVA WYQQKPGQSPKPLIYSATYRNSGVPDRFTGSGSG TDFTLTITNVQSKDLADYFYFCQYNRYPYTSGGG TKLEIKRRS (SEQ ID NO: 886)

[0840] 表8.另外的鼠抗CD19抗体结合结构域。

[0841]

mCAR1 scFv	SEQ ID NO: 887	QVQLLESGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQRPGQGLEWIGQIYPGDG DTNYNGKFKGQATLTADKSSSTAYMQLSGLTSEDSAVYSCARKTISSVVDFYFDYW GQGTTVTGGGSGGGSGGGSGGGSELVLTQSPKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVGTNV AWYQQKPGQSPKPLIYSATYRNSGVPDRFTGSGSGTDFTLTITNVQSKDLADYFCQ YNRYPYTSFFFTKLEIKRRS
mCAR2 scFv	SEQ ID NO: 888	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHS GVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGTKLEITGSTSG SGKPGSGEGSTKGEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRK GLEWLGVIWGSETTYYNSALKSRLTIIKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTAIYYCAKHY YYGGSYAMDYWGQGTSVTVSSE
mCAR3 scFv	SEQ ID NO: 889	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHS GVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGTKLEITGSTSG SGKPGSGEGSTKGEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRK GLEWLGVIWGSETTYYNSALKSRLTIIKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTAIYYCAKHY YYGGSYAMDYWGQGTSVTVSS

[0842] 可以根据本披露使用任何CD19 CAR,例如任何已知的CD19 CAR的CD19抗原结合结构域。例如,LG-740;CD19 CAR描述于以下中:美国专利号8,399,645;美国专利号7,446,190;Xu等人,Leuk Lymphoma.[白血病淋巴瘤]2013 54(2):255-260(2012);Cruz等人,Blood[血液]122(17):2965-2973(2013);Brentjens等人,Blood[血液]118(18):4817-4828(2011);Kochenderfer等人,Blood[血液]116(20):4099-102(2010);Kochenderfer等人,Blood[血液]122(25):4129-39(2013);和16th Annu Meet Am Soc Gen Cell Ther[第16次美国基因细胞疗法学会会议](ASGCT)(5月15日-18日,盐湖城)2013年,摘要10,这些文献各自通过引用以其全文并入本文。

[0843] 在一个实施例中,针对EGFRvIII的抗原结合结构域是描述于例如PCT公开WO 2014/130657或US 2014/0322275 A1中的CAR、抗体或其抗原结合片段的抗原结合部分(例如CDR)。在一个实施例中,CAR分子包含EGFRvIII CAR,或根据WO 2014/130657(通过引用并入本文)的表2或SEQ ID NO:11的抗原结合结构域,或与其基本上相同(例如,与其至少85%、90%、95%或更多相同)的序列。编码EGFRvIII CAR分子和抗原结合结构域的氨基酸序列和核苷酸序列(例如,包含根据Kabat或Chothia的一个、两个、三个VH CDR;和一个、两个、三个VL CDR)在WO 2014/130657中指定。在一个实施例中,针对间皮素的抗原结合结构域是描述于例如PCT公开WO 2015/090230中的抗体、抗原结合片段或CAR的抗原结合部分(例如CDR)。在一个实施例中,针对间皮素的抗原结合结构域是描述于例如PCT公开WO 1997/025068、WO 1999/028471、WO 2005/014652、WO 2006/099141、WO 2009/045957、WO 2009/068204、WO 2013/142034、WO 2013/040557或WO 2013/063419中的抗体、抗原结合片段或CAR的抗原结合部分(例如CDR)。在实施例中,CAR分子包含本文描述的间皮素CAR,例如WO 2015/090230(通过引用并入本文)中描述的间皮素CAR。在实施例中,间皮素CAR包含氨基酸,或具有WO 2015/090230(通过引用并入本文)中所示的核苷酸序列,或与前述序列中的任一项基本上相同(例如,与前述间皮素CAR序列中的任一项至少85%、90%、95%或更多相同)的序列。在一个实施例中,CAR分子包含间皮素CAR,或根据WO 2015/090230(通过引用并入本文)的表2-3的抗原结合结构域,或与其基本上相同(例如,与其至少85%、90%、95%或更多相同)的序列。编码间皮素CAR分子和抗原结合结构域的氨基酸序列和核苷酸序列(例如,包含根据Kabat或Chothia的一个、两个、三个VH CDR;和一个、两个、三个VL CDR)在WO 2015/090230中指定。

[0844] 在一个实施例中,针对CD123的抗原结合结构域是描述于例如PCT公开WO2016/028896中的抗体、抗原结合片段或CAR的抗原结合部分(例如CDR)。在一个实施例中,针对

CD123的抗原结合结构域是描述于例如PCT公开WO2014/130635中的抗体、抗原结合片段或CAR的抗原结合部分(例如CDR)。在一个实施例中,针对CD123的抗原结合结构域是描述于例如PCT公开WO 2014/138805、WO 2014/138819、WO 2013/173820、WO 2014/144622、WO 2001/66139、WO 2010/126066、WO 2014/144622或US 2009/0252742中的抗体、抗原结合片段或CAR的抗原结合部分(例如CDR)。在一个实施例中,针对CD123的抗原结合结构域是描述于例如US 2014/0322212 A1或US 2016/0068601 A1(两者均通过引用并入本文)中的抗体、抗原结合片段或CAR的抗原结合部分(例如CDR)。在实施例中,CD123 CAR包含氨基酸,或具有US 2014/0322212 A1或US 2016/0068601 A1(两者均通过引用并入本文)中所示的核苷酸序列,或与前述序列中的任一项基本上相同(例如,与前述CD123 CAR序列中的任一项至少85%、90%、95%或更多相同)的序列。在一个实施例中,CAR分子包含CD123 CAR(例如,CAR1-CAR8中的任一个),或根据WO 2014/130635(通过引用并入本文)的表1-2的抗原结合结构域,或与其基本上相同(例如,与前述CD123 CAR序列中的任一项至少85%、90%、95%或更多相同)的序列。编码CD123 CAR分子和抗原结合结构域的氨基酸序列和核苷酸序列(例如,包含根据Kabat或Chothia的一个、两个、三个VH CDR;和一个、两个、三个VL CDR)在WO 2014/130635中指定。

[0845] 在其他实施例中,CAR分子包含CD123 CAR(例如,CAR123-1至CAR123-4和hzCAR123-1至hzCAR123-32中的任一个),或根据WO 2016/028896(通过引用并入本文)的表2、6和9的抗原结合结构域,或与其基本上相同(例如,与前述CD123 CAR序列中的任一项至少85%、90%、95%或更多相同)的序列。编码CD123 CAR分子和抗原结合结构域的氨基酸序列和核苷酸序列(例如,包含根据Kabat或Chothia的一个、两个、三个VH CDR;和一个、两个、三个VL CDR)在WO 2016/028896中指定。

[0846] 在一个实施例中,针对CD22的抗原结合结构域是描述于例如以下中的抗体的抗原结合部分(例如CDR):Haso等人,Blood[血液],121(7):1165-1174(2013);Wayne等人,Clin Cancer Res[临床癌症研究]16(6):1894-1903(2010);Kato等人,Leuk Res[白血病研究]37(1):83-88(2013);Creative BioMart(creativebiomart.net):MOM-18047-S(P),这些文献各自通过引用并入本文。

[0847] 在一个实施例中,针对CS-1的抗原结合结构域是埃罗妥珠单抗(Elotuzumab)(BMS)的抗原结合部分(例如CDR),参见例如,Tai等人,2008,Blood[血液]112(4):1329-37;Tai等人,2007,Blood.[血液]110(5):1656-63,这些文献各自通过引用并入本文。

[0848] 在一个实施例中,针对CLL-1的抗原结合结构域是可从R&D公司、ebiosciences公司、Abcam公司获得的抗体的抗原结合部分(例如CDR),该抗体例如PE-CLL1-hu目录号353604(BioLegend公司);和PE-CLL1(CLEC12A)目录号562566(BD)。

[0849] 在其他实施例中,CLL1 CAR包含CAR分子,或根据WO2016/014535(通过引用并入本文)的表2的抗原结合结构域。编码CLL-1 CAR分子和抗原结合结构域的氨基酸序列和核苷酸序列(例如,包含根据Kabat或Chothia的一个、两个、三个VH CDR;和一个、两个、三个VL CDR)在WO 2016/014535中指定。

[0850] 在一个实施例中,针对CD33的抗原结合结构域是描述于例如以下中的抗体的抗原结合部分(例如CDR):Bross等人,Clin Cancer Res[临床癌症研究]7(6):1490-1496(2001)(吉妥珠单抗奥佐米星,hP67.6);Caron等人,Cancer Res[癌症研究]52(24):6761-6767

(1992)(林妥珠单抗,HuM195);Lapusan等人,Invest New Drugs[新药物研究]30(3):1121-1131(2012)(AVE9633);Aigner等人,Leukemia[白血病]27(5):1107-1115(2013)(AMG330,CD33 BiTE);Dutour等人,Adv hematol[血液学进展]2012:683065(2012);以及Pizzitola等人,Leukemia[白血病]doi:10.1038/Lue.2014.62(2014)。

[0851] 在一个实施例中,针对CD33的抗原结合结构域是描述于US 2016/0096892 A1(通过引用并入本文)中的抗体的抗原结合部分(例如CDR)。

[0852] 在实施例中,CD33 CAR包含氨基酸,或具有US 2016/0096892 A1(通过引用并入本文)中所示的核苷酸序列,或与前述序列中的任一项基本上相同(例如,与前述CD33 CAR序列中的任一项至少85%、90%、95%或更多相同)的序列。在其他实施例中,CD33 CAR CAR或其抗原结合结构域可以包含CAR分子(例如,CAR33-1至CAR-33-9中的任一个),或根据WO2016/014576(通过引用并入本文)的表2或9的抗原结合结构域,或与前述序列中的任一项基本上相同(例如,与前述CD33 CAR序列中的任一项至少85%、90%、95%或更多相同)的序列。编码CD33 CAR分子和抗原结合结构域的氨基酸序列和核苷酸序列(例如,包含根据Kabat或Chothia的一个、两个、三个VH CDR;和一个、两个、三个VL CDR)在WO 2016/014576中指定。

[0853] 在一个实施例中,针对GD2的抗原结合结构域是描述于例如以下中的抗体的抗原结合部分(例如CDR):Mujoo等人,Cancer Res[癌症研究]47(4):1098-1104(1987);Cheung等人,Cancer Res[癌症研究]45(6):2642-2649(1985);Cheung等人,J Clin Oncol[临床肿瘤学杂志]5(9):1430-1440(1987);Cheung等人,J Clin Oncol[临床肿瘤学杂志]16(9):3053-3060(1998);Handgretinger等人,Cancer Immunol Immunother[癌症免疫学和免疫疗法]35(3):199-204(1992)。在一些实施例中,针对GD2的抗原结合结构域是选自以下项的抗体的抗原结合部分:mAb 14.18、14G2a、ch14.18、hu14.18、3F8、hu3F8、3G6、8B6、60C3、10B8、ME36.1、和8H9,参见例如WO 2012033885、WO 2013040371、WO 2013192294、WO 2013061273、WO 2013123061、WO 2013074916、和WO 201385552。在一些实施例中,针对GD2的抗原结合结构域是美国公开号20100150910或PCT公开号WO 2011160119中描述的抗体的抗原结合部分。

[0854] 在一个实施例中,针对BCMA的抗原结合结构域是描述于例如PCT公开WO 2016/014565中的抗体、抗原结合片段或CAR的抗原结合部分(例如CDR),例如,如WO 2016/014565中描述的CAR BCMA-10的抗原结合部分。在一个实施例中,针对BCMA的抗原结合结构域是描述于例如PCT公开WO 2016/014789中的抗体、抗原结合片段或CAR的抗原结合部分(例如CDR)。在一个实施例中,针对BCMA的抗原结合结构域是描述于例如WO 2012/163805、WO 2001/12812和WO 2003/062401中的抗体的抗原结合部分(例如CDR)。

[0855] 在其他实施例中,CAR分子包含本文描述的BCMA CAR分子,或针对BCMA的抗原结合结构域,例如描述于US-2016-0046724-A1或WO 2016/014565中的BCMA CAR。在实施例中,BCMA CAR包含氨基酸,或具有CAR分子的核苷酸序列,或根据WO 2016/014565(通过引用并入本文)的US-2016-0046724-A1、或表1或16、SEQ ID NO:271或SEQ ID NO:273的抗原结合结构域,或与前述序列中的任一项基本上相同(例如,与前述BCMA CAR序列中的任一项至少85%、90%、95%或更多相同)的序列。编码BCMA CAR分子和抗原结合结构域的氨基酸序列和核苷酸序列(例如,包含根据Kabat或Chothia的一个、两个、三个VH CDR;和一个、两个、三

个VL CDR)在WO 2016/014565中指定。

[0856] 在一个实施例中,针对GFR ALPHA-4 CAR抗原的抗原结合结构域是描述于例如WO 2016/025880(通过引用并入本文)中的抗体的抗原结合部分(例如CDR)。在一个实施例中,CAR分子包含GFR ALPHA-4 CAR,例如CAR分子,或根据WO 2016/025880(通过引用并入本文)的表2的抗原结合结构域,或与前述序列中的任一项基本上相同(例如,与前述GFR ALPHA-4序列中的任一项至少85%、90%、95%或更多相同)的序列。编码GFR ALPHA-4 CAR分子和抗原结合结构域的氨基酸序列和核苷酸序列(例如,包含根据Kabat或Chothia的一个、两个、三个VH CDR;和一个、两个、三个VL CDR)在WO 2016/025880中指定。

[0857] 在一个实施例中,针对Tn抗原的抗原结合结构域是描述于例如以下中的抗体的抗原结合部分(例如CDR):US 8,440,798;Brooks等人,PNAS[美国国家科学院院刊]107(22):10056-10061(2010);以及Stone等人,OncoImmunology[肿瘤免疫学]1(6):863-873(2012)。

[0858] 在一个实施例中,针对PSMA的抗原结合结构域是描述于例如Parker等人,Protein Expr Purif[蛋白质表达和纯化]89(2):136-145(2013);US 20110268656(J591 ScFv);Frigerio等人,European J Cancer[欧洲癌症杂志]49(9):2223-2232(2013)(scFvD2B);WO 2006125481(mAb 3/A12、3/E7和3/F11)中的抗体以及单链抗体片段(scFv A5和D7)的抗原结合部分(例如CDR)。

[0859] 在一个实施例中,针对ROR1的抗原结合结构域是描述于例如以下中的抗体的抗原结合部分(例如CDR):Hudecek等人,Clin Cancer Res[临床癌症研究]19(12):3153-3164(2013);WO 2011159847;和US 20130101607。

[0860] 在一个实施例中,针对FLT3的抗原结合结构域是描述于例如WO 2011076922、US 5777084、EP 0754230、US 20090297529中的抗体以及几种商业目录抗体(R&D公司、ebiosciences公司、Abcam公司)的抗原结合部分(例如CDR)。

[0861] 在一个实施例中,针对TAG72的抗原结合结构域是描述于例如Hombach等人,Gastroenterology[肠胃病学]113(4):1163-1170(1997)中的抗体以及Abcam ab691的抗原结合部分(例如CDR)。

[0862] 在一个实施例中,针对FAP的抗原结合结构域是描述于例如Ostermann等人,Clinical Cancer Research[临床癌症研究]14:4584-4592(2008)(FAP5);美国专利公开号2009/0304718;西罗珠单抗(参见例如,Homeinz等人,Oncology Research and Treatment[肿瘤学研究和治疗]26(1),2003);以及Tran等人,J Exp Med[实验医学杂志]210(6):1125-1135(2013)中的抗体的抗原结合部分(例如CDR)。

[0863] 在一个实施例中,针对CD38的抗原结合结构域是达雷木单抗(daratumumab)(参见例如,Groen等人,Blood[血液]116(21):1261-1262(2010));MOR202(参见例如,US 8,263,746);或描述于US 8,362,211中的抗体的抗原结合部分(例如CDR)。

[0864] 在一个实施例中,针对CD44v6的抗原结合结构域是描述于例如Casucci等人,Blood[血液]122(20):3461-3472(2013)中的抗体的抗原结合部分(例如CDR)。

[0865] 在一个实施例中,针对CEA的抗原结合结构域是描述于例如Chmielewski等人,Gastoenterology[肠胃病学]143(4):1095-1107(2012)中的抗体的抗原结合部分(例如CDR)。

[0866] 在一个实施例中,针对EPCAM的抗原结合结构域是选自以下的抗体的抗原结合部

分(例如CDR):MT110、EpCAM-CD3双特异性Ab(参见例如clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00635596);依决洛单抗;3622W94;ING-1;和阿德木单抗(MT201)。

[0867] 在一个实施例中,针对PRSS21的抗原结合结构域是描述于美国专利号8,080,650中的抗体的抗原结合部分(例如CDR)。

[0868] 在一个实施例中,针对B7H3的抗原结合结构域是抗体MGA271(宏观基因公司(Macrogenics)公司)的抗原结合部分(例如CDR)。

[0869] 在一个实施例中,针对KIT的抗原结合结构域是描述于例如US 7915391、US 20120288506中的抗体和几种商业目录抗体的抗原结合部分(例如CDR)。

[0870] 在一个实施例中,针对IL-13Ra2的抗原结合结构域是描述于例如WO 2008/146911、WO 2004087758中的抗体、几种商业目录抗体和WO 2004087758中的抗体的抗原结合部分(例如CDR)。

[0871] 在一个实施例中,针对CD30的抗原结合结构域是描述于例如US 7090843 B1和EP0805871中的抗体的抗原结合部分(例如CDR)。

[0872] 在一个实施例中,针对GD3的抗原结合结构域是描述于例如以下中的抗体的抗原结合部分(例如CDR):US 7253263;US 8,207,308;US 20120276046;EP 1013761;WO 2005035577;以及US 6437098。

[0873] 在一个实施例中,针对CD171的抗原结合结构域是描述于例如Hong等人,JImmunother[免疫疗法杂志]37(2):93-104(2014)中的抗体的抗原结合部分(例如CDR)。

[0874] 在一个实施例中,针对IL-11Ra的抗原结合结构域是可从Abcam公司(目录号ab55262)或罗福斯生物制剂公司(Novus Biologicals)(目录号EPR5446)获得的抗体的抗原结合部分(例如CDR)。在另一个实施例中,针对IL-11Ra的抗原结合结构域是肽,参见例如Huang等人,Cancer Res[癌症研究]72(1):271-281(2012)。

[0875] 在一个实施例中,针对PSCA的抗原结合结构域是描述于例如以下中的抗体的抗原结合部分(例如CDR):Morgenroth等人,Prostate[前列腺]67(10):1121-1131(2007)(scFv 7F5);Nejatollahi等人.,J of Oncology[肿瘤学杂志]2013(2013),文章ID 839831(scFv C5-II);和美国专利公开号20090311181。

[0876] 在一个实施例中,针对VEGFR2的抗原结合结构域是描述于例如Chinnasamy等人,J Clin Invest[临床研究杂志]120(11):3953-3968(2010)中的抗体的抗原结合部分(例如CDR)。

[0877] 在一个实施例中,针对LewisY的抗原结合结构域是描述于例如以下中的抗体的抗原结合部分(例如CDR):Kelly等人,Cancer Biother Radiopharm[癌症生物治疗和放射性药物]23(4):411-423(2008)(hu3S193 Ab(scFvs));Dolezal等人,Protein Engineering[蛋白质工程]16(1):47-56(2003)(NC10 scFv)。

[0878] 在一个实施例中,针对CD24的抗原结合结构域是描述于例如Maliar et al.,Gastroenterology[肠胃病学]143(5):1375-1384(2012)中的抗体的抗原结合部分(例如CDR)。

[0879] 在一个实施例中,针对PDGFR-β的抗原结合结构域是抗体Abcam ab32570的抗原结合部分(例如CDR)。

[0880] 在一个实施例中,针对SSEA-4的抗原结合结构域是抗体MC813(Cell Signaling公

司)或其他市售抗体的抗原结合部分(例如CDR)。

[0881] 在一个实施例中,针对CD20的抗原结合结构域是抗体利妥昔单抗、奥法木单抗、奥瑞珠单抗、维妥珠单抗或GA101的抗原结合部分(例如CDR)。

[0882] 在一个实施例中,针对叶酸受体α的抗原结合结构域是抗体IMGN853或描述于US 20120009181、US 4851332、LK26:US 5952484中的抗体的抗原结合部分(例如CDR)。

[0883] 在一个实施例中,针对ERBB2(Her2/neu)的抗原结合结构域是抗体曲妥珠单抗或帕妥珠单抗的抗原结合部分(例如CDR)。

[0884] 在一个实施例中,针对MUC1的抗原结合结构域是抗体SAR566658的抗原结合部分(例如CDR)。

[0885] 在一个实施例中,针对EGFR的抗原结合结构域是抗体西妥昔单抗、帕尼单抗、扎鲁木单抗、尼妥珠单抗或马妥珠单抗的抗原结合部分(例如CDR)。

[0886] 在一个实施例中,针对NCAM的抗原结合结构域是抗体克隆2-2B:MAB5324(EMD密理博公司(EMD Millipore))的抗原结合部分(例如CDR)。

[0887] 在一个实施例中,针对肝配蛋白B2的抗原结合结构域是描述于例如Abengozar等人,Blood[血液]119(19):4565-4576(2012)中的抗体的抗原结合部分(例如CDR)。

[0888] 在一个实施例中,针对IGF-I受体的抗原结合结构域是描述于例如US 8344112 B2、EP2322550 A1、WO 2006/138315或PCT/US 2006/022995中的抗体的抗原结合部分(例如CDR)。

[0889] 在一个实施例中,针对CAIX的抗原结合结构域是抗体克隆303123(R&D系统公司(R&D Systems)的抗原结合部分(例如CDR)。

[0890] 在一个实施例中,针对LMP2的抗原结合结构域是描述于例如US7,410,640或US20050129701中的抗体的抗原结合部分(例如CDR)。

[0891] 在一个实施例中,针对gp100的抗原结合结构域是抗体HMB45、NKIβB或描述于WO 2013165940或US 20130295007中的抗体的抗原结合部分(例如CDR)。

[0892] 在一个实施例中,针对酪氨酸酶的抗原结合结构域是描述于例如US 5843674或US 19950504048中的抗体的抗原结合部分(例如CDR)。

[0893] 在一个实施例中,针对EphA2的抗原结合结构域是描述于例如Yu等人,MolTher[分子疗法]22(1):102-111(2014)中的抗体的抗原结合部分(例如CDR)。

[0894] 在一个实施例中,针对GD3的抗原结合结构域是描述于例如以下中的抗体的抗原结合部分(例如CDR):US 7253263;US 8,207,308;US 20120276046;EP 1013761 A3;20120276046;WO 2005035577;或US 6437098。

[0895] 在一个实施例中,针对岩藻糖基GM1的抗原结合结构域是描述于例如US 20100297138或WO 2007/067992中的抗体的抗原结合部分(例如CDR)。

[0896] 在一个实施例中,针对sLe的抗原结合结构域是抗体G193(对于lewis Y)的抗原结合部分(例如CDR),参见Scott AM等人,Cancer Res[癌症研究]60:3254-61(2000),也如Neeson等人,J Immunol[免疫学杂志]2013年5月190(会议摘要补充)177.10中所描述。

[0897] 在一个实施例中,针对GM3的抗原结合结构域是抗体CA 2523449(mAb 14F7)的抗原结合部分(例如CDR)。

[0898] 在一个实施例中,针对HMWMAA的抗原结合结构域是描述于例如以下中的抗体的抗

原结合部分(例如CDR):Kmiecik等人,Oncoimmunology[肿瘤免疫学]3(1):e27185(2014)(PMID:24575382)(mAb9.2.27);US 6528481;WO 2010033866;或US 20140004124。

[0899] 在一个实施例中,针对o-乙酰基-GD2的抗原结合结构域是抗体8B6的抗原结合部分(例如CDR)。

[0900] 在一个实施例中,针对TEM1/CD248的抗原结合结构域是描述于例如以下中的抗体的抗原结合部分(例如CDR):Marty等人,Cancer Lett[癌症快报]235(2):298-308(2006);Zhao等人,J Immunol Methods[免疫法杂志]363(2):221-232(2011)。

[0901] 在一个实施例中,针对CLDN6的抗原结合结构域是抗体IMAB027(咖尼米德制药公司(Ganymed Pharmaceuticals))的抗原结合部分(例如CDR),参见例如clinicaltrial.gov/show/NCT02054351。

[0902] 在一个实施例中,针对TSHR的抗原结合结构域是描述于例如US8,603,466、US 8,501,415或US 8,309,693中的抗体的抗原结合部分(例如CDR)。

[0903] 在一个实施例中,针对GPRC5D的抗原结合结构域是抗体FAB6300A(R&D系统公司);或LS-A4180(Lifespan Biosciences公司)的抗原结合部分(例如CDR)。

[0904] 在一个实施例中,针对CD97的抗原结合结构域是描述于例如US 6,846,911、de Groot等人,J Immunol[免疫学杂志]183(6):4127-4134(2009)中的抗体或来自R&D:MAB3734的抗体的抗原结合部分(例如CDR)。

[0905] 在一个实施例中,针对ALK的抗原结合结构域是描述于例如Mino-Kenudson等人,Clin Cancer Res[临床癌症研究]16(5):1561-1571(2010)中的抗体的抗原结合部分(例如CDR)。

[0906] 在一个实施例中,针对聚唾液酸的抗原结合结构域是描述于例如Nagae等人,J Biol Chem[生物化学杂志]288(47):33784-33796(2013)中的抗体的抗原结合部分(例如CDR)。

[0907] 在一个实施例中,针对PLAC1的抗原结合结构域是描述于例如Ghods等人,Biotechnol Appl Biochem[生物化学生物技术应用]2013 doi:10.1002/bab.1177中的抗体的抗原结合部分(例如CDR)。

[0908] 在一个实施例中,针对GloboH的抗原结合结构域是以下的抗原结合部分(例如CDR):抗体VK9;或描述于例如Kudryashov V等人,Glycoconj J.[糖缀合物杂志]15(3):243-9(1998),Lou等人,Proc Natl Acad Sci USA[美国国家科学院院刊]111(7):2482-2487(2014)中的抗体;MBr1:Bremer E-G等人J Biol Chem[生物化学杂志]259:14773-14777(1984)。

[0909] 在一个实施例中,针对NY-BR-1的抗原结合结构域是描述于例如Jager等人,Appl Immunohistochem Mol Morphol[应用免疫组织化学分子形态学]15(1):77-83(2007)中的抗体的抗原结合部分(例如CDR)。

[0910] 在一个实施例中,针对WT-1的抗原结合结构域是描述于例如Dao等人,Sci Transl Med[科学转化医学]5(176):176ra33(2013)或WO 2012/135854中的抗体的抗原结合部分(例如CDR)。

[0911] 在一个实施例中,针对MAGE-A1的抗原结合结构域是描述于例如Willemsen等人,J Immunol[免疫学杂志]174(12):7853-7858(2005)(TCR样scFv)中的抗体的抗原结合部分

(例如CDR)。

[0912] 在一个实施例中,针对精子蛋白17的抗原结合结构域是描述于例如Song等人,Target Oncol[靶标肿瘤学]2013年8月14日(PMID:23943313);Song等人,Med Oncol[医学肿瘤学]29(4):2923-2931(2012)中的抗体的抗原结合部分(例如CDR)。

[0913] 在一个实施例中,针对Tie 2的抗原结合结构域是抗体AB33(细胞信号传导技术公司(Cell Signaling Technology))的抗原结合部分(例如CDR)。

[0914] 在一个实施例中,针对MAD-CT-2的抗原结合结构域是描述于例如PMID:2450952、US 7635753中的抗体的抗原结合部分(例如CDR)。

[0915] 在一个实施例中,针对Fos相关抗原1的抗原结合结构域是抗体12F9(罗福斯生物制剂公司(Novus Biologicals))的抗原结合部分(例如CDR)。

[0916] 在一个实施例中,针对MelanA/MART1的抗原结合结构域是描述于EP 2514766 A2或US 7,749,719中的抗体的抗原结合部分(例如CDR)。

[0917] 在一个实施例中,针对肉瘤易位断点的抗原结合结构域是描述于例如Luo等人,EMBO Mol.Med.[EMBO分子医学]4(6):453-461(2012)中的抗体的抗原结合部分(例如CDR)。

[0918] 在一个实施例中,针对TRP-2的抗原结合结构域是描述于例如Wang等人,J Exp Med.[实验医学杂志]184(6):2207-16(1996)中的抗体的抗原结合部分,例如CDR。

[0919] 在一个实施例中,针对CYP1B1的抗原结合结构域是描述于例如Maecker等人,Blood[血液]102(9):3287-3294(2003)中的抗体的抗原结合部分,例如CDR。

[0920] 在一个实施例中,针对RAGE-1的抗原结合结构域是抗体MAB5328(EMD密理博公司(EMD Millipore))的抗原结合部分,例如CDR。

[0921] 在一个实施例中,针对人端粒酶逆转录酶的抗原结合结构域是抗体目录号LS-B95-100(Lifespan Biosciences公司)的抗体的抗原结合部分(例如CDR)。

[0922] 在一个实施例中,针对肠羧基酯酶的抗原结合结构域是抗体4F12:目录号LS-B6190-50(Lifespan Biosciences公司)的抗原结合部分(例如CDR)。

[0923] 在一个实施例中,针对mut hsp70-2的抗原结合结构域是抗体Lifespan Biosciences:单克隆:目录号LS-C133261-100(Lifespan Biosciences公司)的抗原结合部分(例如CDR)。

[0924] 在一个实施例中,针对CD79a的抗原结合结构域是以下的抗原结合部分(例如CDR):抗体抗CD79a[HM47/A9](ab3121),可从Abcam公司获得;抗体CD79A抗体#3351,可从细胞信号传导技术公司(Cell Signalling Technology)获得;或在兔中产生的抗体HPA017748-抗CD79A抗体,可从西格玛奥德里奇公司(Sigma Aldrich)获得。

[0925] 在一个实施例中,针对CD79b的抗原结合结构域是以下的抗原结合部分(例如CDR):抗体维汀-珀拉妥珠单抗(polatuzumab vedotin);描述于Dornan等人,“Therapeutic potential of an anti-CD79b antibody-drug conjugate,anti-CD79b-vc-MMAE,for the treatment of non-Hodgkin lymphoma[抗CD79b抗体-药物缀合物、抗CD79b-vC-MMAE用于治疗非霍奇金淋巴瘤的治疗潜力]”Blood.[血液]2009年9月24日;114(13):2721-9.doi:10.1182/blood-2009-02-205500.电子版2009年7月24日中的抗CD79b;或描述于“4507Pre-Clinical Characterization of T Cell-Dependent Bispecific Antibody Anti-CD79b/CD3As a Potential Therapy for BCell Malignancies[T细胞依赖性双特异性抗体抗

CD79b/CD3作为B细胞恶性肿瘤的潜在疗法的4507临床前表征]”Abstracts of 56th ASH Annual Meeting and Exposition[第56届ASH年会和博览会摘要],旧金山,加利福利亚州2014年12月6-9中的双特异性抗体抗CD79b/CD3。

[0926] 在一个实施例中,针对CD72的抗原结合结构域是以下的抗原结合部分(例如CDR):描述于Myers,和Uckun,“An anti-CD72 immunotoxin against therapy-refractory B-lineage acute lymphoblastic leukemia.[针对治疗难治性B谱系急性成淋巴细胞性白血病的抗CD72免疫毒素]”Leuk Lymphoma.[白血病和淋巴瘤]1995年6月;18(1-2):119-22中的抗体J3-109;或描述于Polson等人,“Antibody-Drug Conjugates for the Treatment of Non-Hodgkin′s Lymphoma:Target and Linker-Drug Selection[用于治疗非霍奇金淋巴瘤的抗体-药物缀合物:靶标和接头-药物选择]”Cancer Res[癌症研究]2009年3月15日69;2358中的抗CD72(10D6.8.1,mIgG1)。

[0927] 在一个实施例中,针对LAIR1的抗原结合结构域是可从ProSpec公司获得的抗体ANT-301LAIR1抗体或可从BioLegend公司获得的抗人CD305(LAIR1)抗体的抗原结合部分(例如CDR)。

[0928] 在一个实施例中,针对FCAR的抗原结合结构域是可从Sino Biological公司获得的抗体CD89/FCAR抗体(目录号10414-H08H)的抗原结合部分(例如CDR)。

[0929] 在一个实施例中,针对LILRA2的抗原结合结构域是可从亚诺法(Abnova)公司获得的抗体LILRA2单克隆抗体(M17),克隆3C7;或可从Lifespan Biosciences公司获得的小鼠抗LILRA2抗体,单克隆(2D7)的抗原结合部分(例如CDR)。

[0930] 在一个实施例中,针对CD300LF的抗原结合结构域是可从BioLegend公司获得的抗体小鼠抗CMRF35样分子1抗体,单克隆[UP-D2];或可从R&D系统公司获得的大鼠抗CMRF35样分子1抗体,单克隆[234903]的抗原结合部分(例如CDR)。

[0931] 在一个实施例中,针对CLEC12A的抗原结合结构域是描述于Noordhuis等人,“Targeting of CLEC12A In Acute Myeloid Leukemia by Antibody-Drug-Conjugates and Bispecific CLL-1xCD3 BiTE Antibody[通过抗体-药物-缀合物和双特异性CLL-1xCD3 BiTE抗体靶向急性骨髓性白血病中的CLEC12A]”53rd ASH Annual Meeting and Exposition[第53届ASH年会和博览会],2011年12月10-13中的抗体双特异性T细胞衔接器(BiTE)scFv-抗体和ADC,以及MCLA-117(梅鲁斯公司(Merus))的抗原结合部分(例如CDR)。

[0932] 在一个实施例中,针对BST2(也称为CD317)的抗原结合结构域是可从抗体在线(Antibodies-Online)获得的抗体小鼠抗CD317抗体,单克隆[3H4]或可从R&D系统公司获得的小鼠抗CD317抗体,单克隆[696739]的抗原结合部分(例如CDR)。

[0933] 在一个实施例中,针对EMR2(也称为CD312)的抗原结合结构域是可从Lifespan Biosciences公司获得的抗体小鼠抗CD312抗体,单克隆[LS-B8033]或可从R&D系统公司获得的小鼠抗CD312抗体,单克隆[494025]的抗原结合部分(例如CDR)。

[0934] 在一个实施例中,针对LY75的抗原结合结构域是可从EMD密理博公司(EMD Millipore)获得的抗体小鼠抗淋巴细胞抗原75抗体,单克隆[HD30]或可从生命科技公司(Life Technologies)获得的小鼠抗淋巴细胞抗原75抗体,单克隆[A15797]的抗原结合部分(例如CDR)。

[0935] 在一个实施例中,针对GPC3的抗原结合结构域是以下的抗原结合部分(例如CDR):

描述于Nakano K,Ishiguro T,Konishi H,等人Generation of a humanized anti-glypican3antibody by CDR grafting and stability optimization[通过CDR移植和稳定性优化产生人源化抗磷脂酰肌醇蛋白聚糖3抗体].Anticancer Drugs.[抗癌药物]2010年11月;21(10):907-916中的抗体hGC33;或MDX-1414、HN3或YP7,这三者全部都描述于Feng等人,“Glypican-3 antibodies:a new therapeutic target for liver cancer[磷脂酰肌醇蛋白聚糖3抗体:肝癌的新治疗靶标].”FEBS Lett.[欧洲生化学会联合会快报]2014年1月21日;588(2):377-82中。

[0936] 在一个实施例中,针对FCRL5的抗原结合结构域是描述于Elkins等人,“FcRL5as a target of antibody-drug conjugates for the treatment of multiple myeloma[FcRL5作为用于治疗多发性骨髓瘤的抗体-药物缀合物的靶标]”Mol Cancer Ther.[分子癌症治疗]2012 Oct;11(10):2222-32中的抗FcRL5抗体的抗原结合部分(例如CDR)。

[0937] 在一个实施例中,针对IGLL1的抗原结合结构域是以下抗体的抗原结合部分(例如CDR):可从Lifespan Biosciences公司获得的抗体小鼠抗免疫球蛋白λ样多肽1,单克隆[AT1G4];可从BioLegend公司获得的小鼠抗免疫球蛋白λ样多肽1抗体,单克隆[HSL11]。

[0938] 在一个实施例中,抗原结合结构域包含来自上文列出的抗体的一个、两个、三个(例如全部三个)重链CDR(HC CDR1、HC CDR2和HC CDR3),和/或来自与上文列出的抗体的一个、两个、三个(例如全部三个)轻链CDR(LC CDR1、LC CDR2和LC CDR3)。在一个实施例中,抗原结合结构域包含上文列出抗体的重链可变区和/或可变轻链区。

[0939] 在另一方面,抗原结合结构域包含人源化抗体或抗体片段。在一些方面,非人抗体是人源化的,其中抗体的特定序列或区域被修饰以增加与在人中天然产生的抗体或其片段的相似度。在一个方面,抗原结合结构域是人源化的。

[0940] 双特异性CAR

[0941] 在某些实施例中,抗原结合结构域是双特异性或多特异性分子(例如,多特异性抗体分子)。在一个实施例中,多特异性抗体分子是双特异性抗体分子。双特异性抗体对不多于两种抗原具有特异性。双特异性抗体分子的特征在于具有对第一表位的结合特异性的第一免疫球蛋白可变结构域序列、和具有对第二表位的结合特异性的第二免疫球蛋白可变结构域序列。

[0942] 在一个实施例中,第一表位和第二表位在相同的抗原,例如相同的蛋白质(或多聚体蛋白质的亚基)上。在一个实施例中,第一表位和第二表位重叠。在一个实施例中,第一表位和第二表位不重叠。在一个实施例中,第一表位和第二表位在不同的抗原,例如不同的蛋白质(或多聚体蛋白质的不同亚基)上。

[0943] 在一个实施例中,双特异性抗体分子包含对第一表位具有结合特异性的重链可变结构域序列和轻链可变结构域序列,以及对第二表位具有结合特异性的重链可变结构域序列和轻链可变结构域序列。在一个实施例中,双特异性抗体分子包含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。在一个实施例中,双特异性抗体分子包含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。在一个实施例中,双特异性抗体分子包含对第一表位具有结合特异性的scFv或其片段,以及对第二表位具有结合特异性的scFv或其片段。

[0944] 在某些实施例中,抗体分子是多特异性(例如双特异性或三特异性)抗体分子。此

类分子包括双特异性融合蛋白，例如含有两个scFv(它们之间具有亲水性螺旋肽接头)和一个完全恒定区的表达构建体，如例如在US 5637481中所描述；具有连接的VL和VH链(它们进一步用肽间隔区连接至抗体铰链区和CH3区)的微型抗体构建体，其可以二聚化形成双特异性/多价分子，如例如在US 5837821所描述；VH结构域(或家族成员中的VL结构域)的串，其通过肽键与C-末端的可交联基团连接，这些可交联基团进一步与VL结构域相关联以形成一系列FV(或scFv)，如例如在US 5864019中所描述；具有经肽接头连接的VH和VL结构域二者的单链结合多肽通过非共价或化学交联组合成多价结构，以使用scFV或双体抗体类型形式形成例如同二价、异二价、三价和四价结构，如例如在US 5869620中所描述。上述申请的内容通过引用以其全文并入本文。

[0945] 在双特异性抗体分子的每个抗体或抗体片段(例如scFv)内，VH可以在VL的上游或下游。在一些实施例中，上游抗体或抗体片段(例如scFv)在其VL(VL_1)上游布置有其VH(VH_1)，并且下游抗体或抗体片段(例如scFv)在其VH(VH_2)上游布置有其VL(VL_2)，使得整个双特异性抗体分子具有布置VH_1-VL_1-VL_2-VH_2。在其他实施例中，上游抗体或抗体片段(例如scFv)在其VH(VH_1)上游布置有其VL(VL_1)，并且下游抗体或抗体片段(例如scFv)在其VL(VL_2)上游布置有其VH(VH_2)，使得整个双特异性抗体分子具有布置VL_1-VH_1-VH_2-VL_2。任选地，如果构建体被布置为VH_1-VL_1-VL_2-VH_2则接头设置在两个抗体或抗体片段(例如scFv)之间，例如VL_1与VL_2之间，如果构建体被布置为VL_1-VH_1-VH_2-VL_2则接头设置在VH_1与VH_2之间。接头可以是如本文描述的接头，例如(Gly_4-Ser)n接头，其中n是1、2、3、4、5、或6，优选4(SEQ ID NO:890)。一般来说，两个scFv之间的接头应足够长以避免两个scFv的结构域之间的错配。任选地，接头设置在第一scFv的VL与VH之间。任选地，接头设置在第二scFv的VL与VH之间。在具有多个接头的构建体中，接头中的任何两个或更多个可以相同或不同。因此，在一些实施例中，双特异性CAR在如本文描述的布置中包含VL、VH、和任选一个或多个接头。

[0946] 跨膜结构域

[0947] 关于跨膜结构域，在各种实施例中，本发明的嵌合分子(例如，CAR)可以被设计成包含附接至该嵌合分子的细胞外结构域的跨膜结构域。跨膜结构域可以包括与跨膜区相邻的一个或多个另外的氨基酸，例如与跨膜源自的蛋白质的细胞外区域相关的一个或多个氨基酸(例如该细胞外区域的1、2、3、4、5、6、7、8、9、10至15个氨基酸)和/或与跨膜蛋白源自的蛋白质的细胞内区域相关的一个或多个另外的氨基酸(例如该细胞内区域的1、2、3、4、5、6、7、8、9、10至15个氨基酸)。在一个方面，跨膜结构域与嵌合蛋白(例如，CAR)的其他结构域中的一个缔合，例如在一个实施例中，跨膜结构域可以来自信号传导结构域、共刺激结构域或铰链结构域所来源的相同蛋白质。在另一个方面，跨膜结构域不源自嵌合蛋白(例如，CAR)的任何其他结构域所来源的相同蛋白质。在一些情况下，可以选择或通过氨基酸取代修饰跨膜结构域，以避免此类结构域与相同或不同表面膜蛋白的跨膜结构域结合，例如以最小化与受体复合物的其他成员的相互作用。在一个方面，跨膜结构域能够与表达CAR的细胞的细胞表面上的另一种CAR同源二聚化。在不同的方面，可以修饰或取代跨膜结构域的氨基酸序列，以便最小化与存在于相同表达CAR的细胞中的天然结合配偶体的结合结构域的相互作用。

[0948] 跨膜结构域可以源自天然来源或来自重组来源。在来源是天然的情况下，该结构域可以源自任何膜结合或跨膜蛋白。在一方面，每当CAR结合靶标时，跨膜结构域能够将信

号传导至一个或多个细胞内结构域。在本发明中特别使用的跨膜结构域可以至少包括例如T细胞受体的α、β或ζ链、CD28、CD27、CD3ε、CD45、CD4、CD5、CD8、CD9、CD16、CD22、CD33、CD37、CD64、CD80、CD86、CD134、CD137、CD154的一个或多个跨膜区。

[0949] 在一些实施例中，跨膜结构域可以至少包括以下中的一个或多个跨膜区：例如KIRDS2、OX40、CD2、CD27、LFA-1(CD11a、CD18)、ICOS(CD278)、4-1BB(CD137)、GITR、CD40、BAFFR、HVEM(LIGHTR)、SLAMF7、NKp80(KLRF1)、NKp44、NKp30、NKp46、CD160、CD19、IL2Rβ、IL2Rγ、IL7Rα、ITGA1、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、TNFR2、DNAM1(CD226)、SLAMF4(CD244、2B4)、CD84、CD96(Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9(CD229)、CD160(BY55)、PSGL1、CD100(SEMA4D)、SLAMF6(NTB-A、Ly108)、SLAM(SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME(SLAMF8)、SELPLG(CD162)、LTBR、PAG/Cbp、NKG2D或NKG2C。

[0950] 在一些情况下，跨膜结构域可以通过铰链(例如来自人蛋白质的铰链)附接到CAR的细胞外区域(例如CAR的抗原结合结构域)。例如，在一个实施例中，该铰链可以是人Ig(免疫球蛋白)铰链(例如IgG4铰链、IgD铰链)、GS接头(例如本文描述的GS接头)、KIR2DS2铰链或CD8a铰链。在一个实施例中，铰链或间隔区包含(例如由其组成)SEQ ID NO:4的氨基酸序列。在一个方面，跨膜结构域包含(例如由其组成)SEQ ID NO:12的跨膜结构域。

[0951] 在某些实施例中，编码的跨膜结构域包含具有SEQ ID NO:12的氨基酸序列的至少一个、两个或三个修饰、但不超过20、10或5个修饰的CD8跨膜结构域的氨基酸序列，或与SEQ ID NO:12的氨基酸序列具有95％-99％同一性的序列。在一个实施例中，编码的跨膜结构域包含SEQ ID NO:12的序列。

[0952] 在其他实施例中，编码CAR的核酸分子包含CD8跨膜结构域的核苷酸序列，例如包含SEQ ID NO:13的序列，或其具有95％-99％同一性的序列。

[0953] 在某些实施例中，编码的抗原结合结构域通过铰链区与跨膜结构域连接。在一个实施例中，编码的铰链区包含CD8铰链的氨基酸序列，例如SEQ ID NO:4；或IgG4铰链的氨基酸序列，例如SEQ ID NO:6；或与SEQ ID NO:4或6具有95％-99％同一性的序列。在其他实施例中，编码铰链区的核酸序列包含分别对应于CD8铰链或IgG4铰链的SEQ ID NO:5或SEQ ID NO:7的序列，或与SEQ ID NO:5或7具有95％-99％同一性的序列。

[0954] 在一个方面，铰链或间隔区包含IgG4铰链。例如，在一个实施例中，铰链或间隔区包含以下氨基酸序列的铰链：

ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEV
QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS
NKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV
EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEAL
HNHYTQKSLSLSLGKM（SEQ ID NO: 6）。

[0955] 在一些实施例中，铰链或间隔区包含由以下的核苷酸序列编码的铰链：

GAGAGCAAGTACGGCCCTCCCTGCCCCCCTTGCCCTGCCCCCGAGTTCCTGG
GCGGACCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGA

TCAGCCGGACCCCCGAGGTGACCTGTGTGGTGGTGGACGTGTCCCAGGAGG
ACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACG
CCAAGACCAAGCCCCGGGAGGAGCAGTTCAATAGCACCTACCGGGTGGTGT
CCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAATACAAGT
GTAAGGTGTCCAACAAGGGCCTGCCCAGCAGCATCGAGAAAACCATCAGC
AAGGCCAAGGGCCAGCCTCGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGC
CAAGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGGG
CTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGA
GAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTT
CCTGTACAGCCGGCTGACCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGGAGGGCAACG
TCTTTAGCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGA
AGAGCCTGAGCCTGTCCCTGGGCAAGATG（SEQ ID NO: 7）。

[0956] 在一个方面，铰链或间隔区包含IgD铰链。例如，在一个实施例中，铰链或间隔区包含以下氨基酸序列的铰链：

RWPESPKAQASSVPTAQPQAEGSLAKATTAPATTRNTGRGGEEKKKEKEKEEQ
EERETKTPECPSHTQPLGVYLLTPAVQDLWLRDKATFTCFVVGSDLKDAHLTW
EVAGKVPTGGVEEGLLERHSNGSQSQHSRLTLPRSLWNAGTSVTCTLNHPSLPP
QRLMALREPAAQAPVKLSLNLLASSDPPEAASWLLCEVSGFSPPNILLMWLED
QREVNTSGFAPARPPPQPGSTTFWAWSVLRVPAPPSPQPATYTCVVSHEDSRTL
LNASRSLEVSYVTDH（SEQ ID NO: 8）。

[0957] 在一些实施例中，铰链或间隔区包含由以下的核苷酸序列编码的铰链：

AGGTGGCCCGAAAGTCCCAAGGCCCAGGCATCTAGTGTTCCTACTGCACAG
CCCCAGGCAGAAGGCAGCCTAGCCAAAGCTACTACTGCACCTGCCACTACG
CGCAATACTGGCCGTGGCGGGGAGGAGAAGAAAAAGGAGAAAGAGAAAG
AAGAACAGGAAGAGAGGGAGACCAAGACCCCTGAATGTCCATCCCATACC
CAGCCGCTGGGCGTCTATCTCTTGACTCCCGCAGTACAGGACTTGTGGCTTA
GAGATAAGGCCACCTTTACATGTTTCGTCGTGGGCTCTGACCTGAAGGATG

CCCATTTGACTTGGGAGGTTGCCGGAAAGGTACCCACAGGGGGGGTTGAGG
AAGGGTTGCTGGAGCGCCATTCCAATGGCTCTCAGAGCCAGCACTCAAGAC
TCACCCTTCCGAGATCCCTGTGGAACGCCGGGACCTCTGTCACATGTACTCT
AAATCATCCTAGCCTGCCCCCACAGCGTCTGATGGCCCTTAGAGAGCCAGC
CGCCCAGGCACCAGTTAAGCTTAGCCTGAATCTGCTCGCCAGTAGTGATCC
CCCAGAGGCCGCCAGCTGGCTCTTATGCGAAGTGTCCGGCTTTAGCCCGCC
CAACATCTTGCTCATGTGGCTGGAGGACCAGCGAGAAGTGAACACCAGCGG
CTTCGCTCCAGCCCGGCCCCCACCCCAGCCGGGTTCTACCACATTCTGGGCC
TGGAGTGTCTTAAGGGTCCCAGCACCACCTAGCCCCCAGCCAGCCACATAC
ACCTGTGTTGTGTCCCATGAAGATAGCAGGACCCTGCTAAATGCTTCTAGG
AGTCTGGAGGTTTCCTACGTGACTGACCATT（SEQ ID NO: 9）。

[0958] 在一个方面，跨膜结构域可以是重组的，在这种情况下其将主要包含疏水性残基，如亮氨酸和缬氨酸。在一个方面，可以在重组跨膜结构域的每个末端处发现苯基丙氨酸、色氨酸和缬氨酸的三联体。

[0959] 任选地，长度在2与10个氨基酸之间的短的寡肽或多肽接头可以在CAR的跨膜结构域与细胞质区域之间形成键联。甘氨酸-丝氨酸双联体提供特别适合的接头。例如，在一个方面，该接头包含GGGGSGGGGS(SEQ ID NO:10)的氨基酸序列。在一些实施例中，接头由GGTGGCGGAGGTTCTGGAGGTGGAGGTTCC(SEQ ID NO:11)的核苷酸序列编码。

[0960] 在一方面，铰链或间隔子包含KIR2DS2铰链。

[0961] 信号传导结构域

[0962] 在具有细胞内信号传导结构域的本发明实施例中，这种结构域可以含有例如初级信号传导结构域和/或共刺激信号传导结构域中的一个或多个。在一些实施例中，细胞内信号传导结构域包含编码初级信号传导结构域的序列。在一些实施例中，细胞内信号传导结构域包含共刺激信号传导结构域。在一些实施例中，细胞内信号传导结构域包含初级信号传导结构域和共刺激信号传导结构域。

[0963] 本发明的CAR的细胞质部分内的细胞内信号传导序列可以按随机或指定的顺序彼此连接。任选地，短的寡肽或多肽接头，例如，长度在2与10个氨基酸之间(例如，2、3、4、5、6、7、8、9或10个氨基酸)可以形成细胞内信号传导序列之间的键联。在一个实施例中，甘氨酸-丝氨酸双联体可以用作适合的接头。在一个实施例中，单个氨基酸(例如丙氨酸、甘氨酸)可以用作适合的接头。

[0964] 在一个方面，细胞内信号传导结构域被设计成包含两个或更多个(例如2、3、4、5、或更多个)共刺激信号传导结构域。在一个实施例中，两个或更多个(例如2、3、4、5、或更多个)共刺激信号传导结构域通过接头分子(例如本文描述的接头分子)分开。在一个实施例中，细胞内信号传导结构域包含两个共刺激信号传导结构域。在一些实施例中，接头分子是甘氨酸残基。在一些实施例中，接头是丙氨酸残基。

[0965] 初级信号传导结构域

[0966] 初级信号传导结构域以刺激方式或以抑制方式调控TCR复合物的初级活化。以刺

激方式起作用的初级细胞内信号传导结构域可以含有被称为基于免疫受体酪氨酸的活化基序或ITAM的信号传导基序。

[0967] 含有在本发明中特别使用的初级细胞内信号传导结构域的ITAM的实例包括以下的那些:CD3ζ、常见FcRγ(FCER1G)、FcγRIIa、FcRβ(FcεR1b)、CD3γ、CD3δ、CD3ε、CD79a、CD79b、DAP10、以及DAP12。在一个实施例中,本发明的CAR包含细胞内信号传导结构域,例如CD3-ζ的初级信号传导结构域。

[0968] 在一个实施例中,编码的初级信号传导结构域包含CD3ζ的功能性信号传导结构域。编码的CD3ζ初级信号传导结构域可以包含具有SEQ ID NO:18或SEQ ID NO:20的氨基酸序列的至少一个、两个或三个修饰、但不超过20、10或5个修饰的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:18或SEQ ID NO:20的氨基酸序列具有95%-99%同一性的序列。在一些实施例中,编码的初级信号传导结构域包含SEQ ID NO:18或SEQ ID NO:20的序列。在其他实施例中,编码初级信号传导结构域的核酸序列包含SEQ ID NO:19或SEQ ID NO:21的序列,或其具有95%-99%同一性的序列。

[0969] 共刺激信号传导结构域

[0970] 在一些实施例中,编码的细胞内信号传导结构域包含共刺激信号传导结构域。例如,细胞内信号传导结构域可以包含初级信号传导结构域和共刺激信号传导结构域。在一些实施例中,编码的共刺激信号传导结构域包含选自以下中的一种或多种的蛋白质的功能性信号传导结构域:CD27、CD28、4-1BB(CD137)、OX40、CD30、CD40、PD-1、ICOS、淋巴细胞功能相关抗原-1(LFA-1)、CD2、CD7、LIGHT、NKG2C、B7-H3、与CD83特异性地结合的配体、CDS、ICAM-1、GITR、BAFFR、HVEM(LIGHTR)、SLAMF7、NKp80(KLRF1)、CD160、CD19、CD4、CD8α、CD8β、IL2Rβ、IL2Rγ、IL7Rα、ITGA4、VLA1、CD49a、ITGA4、IA4、CD49D、ITGA6、VLA-6、CD49f、ITGAD、CD11d、ITGAE、CD103、ITGAL、CD11a、LFA-1、ITGAM、CD11b、ITGAX、CD11c、ITGB1、CD29、ITGB2、CD18、LFA-1、ITGB7、TNFR2、TRANCE/RANKL、DNAM1(CD226)、SLAMF4(CD244、2B4)、CD84、CD96(Tactile)、CEACAM1、CRTAM、Ly9(CD229)、CD160(BY55)、PSGL1、CD100(SEMA4D)、CD69、SLAMF6(NTB-A、Ly108)、SLAM(SLAMF1、CD150、IPO-3)、BLAME(SLAMF8)、SELPLG(CD162)、LTBR、LAT、GADS、SLP-76、PAG/Cbp、NKp44、NKp30、NKp46、以及NKG2D。

[0971] 在某些实施例中,编码的共刺激信号传导结构域包含具有SEQ ID NO:14或SEQ ID NO:16的氨基酸序列的至少一个、两个或三个修饰、但不超过20、10或5个修饰的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:14或SEQ ID NO:16的氨基酸序列具有95%-99%同一性的序列。在一个实施例中,编码的共刺激信号传导结构域包含SEQ ID NO:14或SEQ ID NO:16的序列。在其他实施例中,编码共刺激信号传导结构域的核酸序列包含SEQ ID NO:15或SEQ ID NO:17的序列,或其具有95%-99%同一性的序列。

[0972] 在其他实施例中,编码的细胞内结构域包含SEQ ID NO:14或SEQ ID NO:16的序列,和SEQ ID NO:18或SEQ ID NO:20的序列,其中包含细胞内信号传导结构域的序列在同一框架中表达并且表达为单个多肽链。

[0973] 在某些实施例中,编码细胞内信号传导结构域的核酸序列包含SEQ ID NO:15或SEQ ID NO:17的序列,或其具有95%-99%同一性的序列;以及SEQ ID NO:19或SEQ ID NO:21的序列,或其具有95%-99%同一性的序列。

[0974] 在一些实施例中,核酸分子进一步编码前导序列。在一个实施例中,该前导序列包

含SEQ ID NO:2的序列。

[0975] 在一个方面,细胞内信号传导结构域被设计成包含CD3-ζ的信号传导结构域和CD28的信号传导结构域。在一个方面,细胞内信号传导结构域被设计成包含CD3-ζ的信号传导结构域和4-1BB的信号传导结构域。在一个方面,4-1BB的信号传导结构域是SEQ ID NO:14的信号传导结构域。在一方面,CD3-ζ的信号传导结构域是SEQ ID NO:18的信号传导结构域。

[0976] 在一个方面,细胞内信号传导结构域被设计成包含CD3-ζ的信号传导结构域和CD27的信号传导结构域。在一个方面,CD27的信号传导结构域包含QRRKYRSNKGESPVEPAEPCRYSCPREEEGSTIPIQEDYRKPEPACSP(SEQ ID NO: 16)的氨基酸序列。在一个方面,CD27的信号传导结构域由以下的核酸序列编码:AGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGACTACATGAACATGACTCCCCGCCGCCCCGGGCCCACCCGCAAGCATTACCAGCCCTATGCCCCACCACGCGACTTCGCAGCCTATCGCTCC(SEQ ID NO: 17)。

[0977] 示例性CAR分子

[0978] 本文披露的CAR分子可以包含结合至靶标(例如,如本文描述的靶标)的结合结构域;跨膜结构域,例如,如本文描述的跨膜结构域;和细胞内信号传导结构域,例如,如本文描述的细胞内结构域。在实施例中,结合结构域包含本文描述的重链结合结构域的重链互补决定区1(HC CDR1)、重链互补决定区2(HC CDR2)和重链互补决定区3(HC CDR3),和/或本文描述的轻链结合结构域的轻链互补决定区1(LC CDR1)、轻链互补决定区2(LC CDR2)和轻链互补决定区3(LC CDR3)。

[0979] 在其他实施例中,CAR分子包含本文描述的CD19 CAR分子,例如描述于US-2015-0283178-A1中的CD19 CAR分子,例如CTL019。在实施例中,CD19 CAR包含氨基酸,或具有US-2015-0283178-A1(通过引用并入本文)中所示的核苷酸序列,或与其基本上相同(例如,与其至少85%、90%、95%或更多相同)的序列。

[0980] 在一个实施例中,特异性地结合至CD19的CAR T细胞具有USAN名称TISAGENLECLEUCEL-T。CTL019通过T细胞的基因修饰来制备,该CTL019通过经由用在EF-1α启动子控制下含有CTL019转基因的自灭活、复制缺陷型慢病毒(LV)载体转导进行稳定插入来介导。CTL019可以是转基因阳性和阴性T细胞的混合物,其基于转基因阳性T细胞百分比递送至受试者。

[0981] 在其他实施例中,CD19 CAR包含CAR分子,或根据WO 2014/153270(通过引用并入本文)的表3的抗原结合结构域(例如,人源化抗原结合结构域)。编码CD19 CAR分子和抗原结合结构域的氨基酸序列和核苷酸序列(例如,包含根据Kabat或Chothia的一个、两个、三个VH CDR;和一个、两个、三个VL CDR)在WO 2014/153270中指定。在实施例中,CD19 CAR包含氨基酸,或具有WO 2014/153270(通过引用并入本文)中所示的核苷酸序列,或与前述序列中的任一项基本上相同(例如,与前述CD19 CAR序列中的任一项至少85%、90%、95%或更多相同)的序列。

[0982] 在一个实施例中,亲本鼠scFv序列是在PCT公开WO2012/079000(通过引用并入本文)中提供并且在本文表9中提供的CAR19构建体。在一个实施例中,抗CD19结合结构域是描

述于WO 2012/079000中并且在本文表9中提供的scFv。

[0983] 在一个实施例中，CD19 CAR包含在PCT公开WO 2012/079000中作为SEQ ID NO:12提供的氨基酸序列。在实施例中，该氨基酸序列是：

[0984] MALPVTALLLPLALLLHAARPdiqmtqttsslsaslgdrvtiscrasqdiskylnwyqqkpdgtvklliyhtsrlhsgvpsrfsgsgsgtdysltisnleqediatyfcqqgntlpytfgggtkleitggggsggggsggggsevklqesgpglvapsqslsvtctvsgvslpdygvswirqpprkglewlgviwgsettyynsalksrltiikdnsksqvflkmnslqtddtaiyycakhyyyggsyamdywgqgtsvtvsstttpaprpptpaptiasqplslrpeacrpaaggavhtrgldfacdiyiwaplagtcgvlllslvitlyckrgrkkllyifkqpfmrpvqttqeedgcscrfpeeeeggcelrvkfsrsadapaykqgqnqlynelnlgrreeydvldkrrgrdpemggkprrknpqeglynelqkdkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqglstatkdtydalhmqalppr（SEQ ID NO: 891），或与其基本上相同(例如，与其至少85％、90％或95％或更高相同)的序列，有或没有用大写字母表示的信号肽序列。

[0985] 在实施例中，该氨基酸序列是：

[0986] diqmtqttsslsaslgdrvtiscrasqdiskylnwyqqkpdgtvklliyhtsrlhsgvpsrfsgsgsgtdysltisnleqediatyfcqqgntlpytfgggtkleitggggsggggsggggsevklqesgpglvapsqslsvtctvsgvslpdygvswirqpprkglewlgviwgsettyynsalksrltiikdnsksqvflkmnslqtddtaiyycakhyyyggsyamdywgqgtsvtvsstttpaprpptpaptiasqplslrpeacrpaaggavhtrgldfacdiyiwaplagtcgvlllslvitlyckrgrkkllyifkqpfmrpvqttqeedgcscrfpeeeeggcelrvkfsrsadapaykqgqnqlynelnlgrreeydvldkrrgrdpemggkprrknpqeglynelqkdkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqglstatkdtydalhmqalppr（SEQ ID NO: 892），或与其基本上同源(例如，与其至少85％、90％或95％或更高相同)的序列。

[0987] 在实施例中，CAR分子是本文描述的CD19 CAR分子，例如本文描述的人源化CAR分子，例如表6-9或具有表10A和10B中列出的CDR的人源化CD19 CAR分子。

[0988] 在实施例中，CAR分子是本文描述的CD19 CAR分子，例如本文描述的鼠CAR分子，例如表9或具有如表10A和10B中列出的CDR的鼠CD19 CAR分子。

[0989] 在一些实施例中，CAR分子包含来自表10A和10B的鼠或人源化CD19 CAR的重链可变区的一个、两个和/或三个CDR，和/或轻链可变区的一个、两个和/或三个CDR。

[0990] 在一个实施例中，抗原结合结构域包含来自本文列出抗体的一个、两个、三个(例如全部三个)重链CDR，HC CDR1、HC CDR2和HC CDR3，和/或来自本文列出的抗体的一个、两个、三个(例如全部三个)轻链CDR，LC CDR1、LC CDR2和LC CDR3。在一个实施例中，抗原结合结构域包含本文列出或描述的抗体的重链可变区和/或可变轻链区。

[0991] 示例性CD19 CAR包括本文描述的，例如本文描述的一个或多个表(例如，表6-9)中的CD19 CAR或抗CD19结合结构域中的任一个(例如，或描述于以下中的抗CD19 CAR:Xu等人Blood[血液]123.24(2014):3750-9;Kochenderfer等人Blood[血液]，122.25(2013):4129-39;Cruz等人Blood[血液]122.17(2013):2965-73、NCT00586391、NCT01087294、NCT02456350、NCT00840853、NCT02659943、NCT02650999、NCT02640209、NCT01747486、NCT02546739、NCT02656147、NCT02772198、NCT00709033、NCT02081937、NCT00924326、NCT02735083、NCT02794246、NCT02746952、NCT01593696、NCT02134262、NCT01853631、

NCT02443831、NCT02277522、NCT02348216、NCT02614066、NCT02030834、NCT02624258、NCT02625480、NCT02030847、NCT02644655、NCT02349698、NCT02813837、NCT02050347、NCT01683279、NCT02529813、NCT02537977、NCT02799550、NCT02672501、NCT02819583、NCT02028455、NCT01840566、NCT01318317、NCT01864889、NCT02706405、NCT01475058、NCT01430390、NCT02146924、NCT02051257、NCT02431988、NCT01815749、NCT02153580、NCT01865617、NCT02208362、NCT02685670、NCT02535364、NCT02631044、NCT02728882、NCT02735291、NCT01860937、NCT02822326、NCT02737085、NCT02465983、NCT02132624、NCT02782351、NCT01493453、NCT02652910、NCT02247609、NCT01029366、NCT01626495、NCT02721407、NCT01044069、NCT00422383、NCT01680991、NCT02794961或NCT02456207，这些文献各自通过引用以其全文并入本文。

[0992] 可以用于本文描述的方法中的示例性CD19 CAR和抗原结合结构域构建体在表6-9中示出。根据Kabat的轻链和重链CDR序列通过粗体和下划线文本显示，并且还总结于以下表9和10A-10B中。信号序列和组氨酸标签的位置也加下划线。在实施例中，CD19 CAR序列以及其抗原结合片段不包含信号序列和/或组氨酸标签序列。

[0993] 在实施例中，CD19 CAR包含抗CD19结合结构域(例如，鼠或人源化抗CD19结合结构域)、跨膜结构域和细胞内信号传导结构域，并且其中所述抗CD19结合结构域包含表6-9和10A-10B中列出的任何抗CD19重链结合结构域氨基酸序列的重链互补决定区1(HC CDR1)、重链互补决定区2(HC CDR2)和重链互补决定区3(HC CDR3)，或与其至少85％、90％、95％或更多相同的序列(例如，具有少于5、4、3、2或1个氨基酸取代，例如保守取代)。

[0994] 在一个实施例中，抗CD19结合结构域包含本文描述(例如，表6-9中)的轻链可变区和/或本文描述(例如，表9中)的重链可变区，或与其至少85％、90％、95％或更多相同的序列。

[0995] 在一个实施例中，编码的抗CD19结合结构域是包含表6-9的氨基酸序列的轻链和重链的scFv，或与其至少85％、90％、95％或更多相同的序列。

[0996] 在一个实施例中，人或人源化抗CD19结合结构域(例如，scFv)包含：轻链可变区，该轻链可变区包含具有表6-9中提供的轻链可变区的氨基酸序列的至少一个、两个或三个修饰(例如取代，例如保守取代)但不超过30、20或10个修饰(例如取代，例如保守取代)的氨基酸序列，或与其至少85％、90％、95％或更多相同的序列；和/或重链可变区，该重链可变区包含具有表6-9中提供的重链可变区的氨基酸序列的至少一个、两个或三个修饰(例如取代，例如保守取代)但不超过30、20或10个修饰(例如取代，例如保守取代)的氨基酸序列，或与其至少85％、90％、95％或更多相同的序列。

[0997] 表9：CD19 CAR构建体。

[0998]

名称	SEQ ID NO:	序列
CAR 1		
CAR1 scFv 结构域	893	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQDISKYLNWYQQKPGQAPRLLIYHTSRLHS GIPARFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAVYFCQQGNTLPYTFGQGTKLEIKGGGGS GGGGSGGGGSQVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPGKGLE WIGVIWGSETTYYSSSLKSRVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCAKHYYYG GSYAMDYWGQGTLVTVSS
103101 CAR1 可溶性 scFv - nt	894	atggccctccctgtcaccgccctgctgcttccgctggctcttctgctccacgccgc tcggcccgaaattgtgatgacccagtcacccgccactcttagcctttcacccggtg agcgcgcaaccctgtcttgcagagcctcccaagacatctcaaaataccttaattgg tatcaacagaagcccggacaggctcctcgccttctgatctaccacaccagccggct ccattctggaatccctgccaggttcagcggtagcggatctgggaccgactacaccc tcactatcagctcactgcagccagaggacttcgctgtctatttctgtcagcaaggg aacaccctgccctacacctttggacagggcaccaagctcgagattaaaggtggagg tggcagcggaggaggtgggtccggcggtggaggaagccaggtccaactccaagaaa gcggaccgggtcttgtgaagccatcagaaactctttcactgacttgtactgtgagc ggagtgtctctccccgattacggggtgtcttggatcagacagccaccggggaaggg tctggaatggattggagtgatttggggctctgagactacttactactcttcatccc tcaagtcacgcgtcaccatctcaaaggacaactctaagaatcaggtgtcactgaaa ctgtcatctgtgaccgcagccgacaccgccgtgtactattgcgctaagcattacta ttatggcgggagctacgcaatggattactggggacagggtactctggtcaccgtgt ccagccaccaccatcatcaccatcaccat
103101 CAR1 可溶性 scFv - aa	895	**MALPVTALLLPLALLLHAARP**eivmtqspatlslspgeratlscrasqdiskylnw yqqkpgqaprlliyhtsrlhsgiparfsgsgsgtdytltisslqpedfavyfcqqg ntlpytfgqgtkleikggggsggggsggggsqvqlqesgpglvkpsetlsltctvs gvslpdygvswirqppgkglewigviwgsettyyssslksrvtiskdnsknqvslk lssvtaadtavyycakhyyyggsyamdywgqgtlvtvss**hhhhhhhh**
104875 CAR 1 -完全- nt	896	atggccctccctgtcaccgccctgctgcttccgctggctcttctgctccacgccgc tcggcccgaaattgtgatgacccagtcacccgccactcttagcctttcacccggtg agcgcgcaaccctgtcttgcagagcctcccaagacatctcaaaataccttaattgg tatcaacagaagcccggacaggctcctcgccttctgatctaccacaccagccggct

[0999]

		ccattctggaatccctgccaggttcagcggtagcggatctgggaccgactacaccc tcactatcagctcactgcagccagaggacttcgctgtctatttctgtcagcaaggg aacaccctgccctacacctttggacagggcaccaagctcgagattaaaggtggagg tggcagcggaggaggtgggtccggcggtggaggaagccaggtccaactccaagaaa gcggaccgggtcttgtgaagccatcagaaactctttcactgacttgtactgtgagc ggagtgtctctccccgattacggggtgtcttggatcagacagccaccggggaaggg tctggaatggattggagtgatttggggctctgagactacttactactcttcatccc tcaagtcacgcgtcaccatctcaaaggacaactctaagaatcaggtgtcactgaaa ctgtcatctgtgaccgcagccgacaccgccgtgtactattgcgctaagcattacta ttatggcgggagctacgcaatggattactggggacagggtactctggtcaccgtgt ccagcaccactaccccagcaccgaggccacccaccccggctcctaccatcgcctcc cagcctctgtccctgcgtccggaggcatgtagacccgcagctggtggggccgtgca tacccggggtcttgacttcgcctgcgatatctacatttgggcccctctggctggta cttgcggggtcctgctgctttcactcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcgg aagaagctgctgtacatctttaagcaacccttcatgaggcctgtgcagactactca agaggaggacggctgttcatgccggttcccagaggaggaggaaggcggctgcgaac tgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcctacaagcaggggcagaac cagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacgacgtgctggacaa gcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgcagaaagaatccccaag agggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgagatt ggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggactgtaccagggact cagcaccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgcctc gg
104875 CAR 1 -完全- aa	897	MALPVTALLLPLALLLHAARPeivmtqspatlslspgeratlsc**rasqdiskyln**w yqqkpgqaprlliy**htsrlhs**giparfsgsgsgtdytltisslqpedfavyfc**qqg** **ntlpyt**fgqgtkleikggggsggggsggggsqvqlqesgpglvkpsetlsltctvs gvslp**dygvs**wirqppgkglewig**viwgsettyyssslks**rvtiskdnsknqvslk lssvtaadtavyycak**hyyyggsyamdy**wgqgtlvtvssttpaprpptpaptias qplslrpeacrpaaggavhtrgldfacdiyiwaplagtcgvlllslvitlyckrgr kkllyifkqpfmrpvqttqeedgcscrfpeeeeggcelrvkfsrsadapaykqgqn qlynelnlgrreeydvldkrrgrdpemggkprrknpqeglynelqkdkmaeaysei gmkgerrrgkghdglyqglstatkdtydalhmqalppr
CAR 2		
CAR2 scFv 结构域	898	eivmtqspatlslspgeratlscrasqdiskylnwyqqkpgqaprlliyhtsrlhs giparfsgsgsgtdytltisslqpedfavyfcqqgntlpytfgqgtkleikggggs ggggsggggsqvqlqesgpglvkpsetlsltctvsgvslpdygvswirqppgkgle wigviwgsettyyqsslksrvtiskdnsknqvslklssvtaadtavyycakhyyyg gsyamdywgqgtlvtvss
103102 CAR2 -可溶性 scFv - nt	899	atggccctccctgtcaccgccctgctgcttccgctggctcttctgctccacgccgc tcggcccgaaattgtgatgacccagtcacccgccactcttagcctttcacccggtg agcgcgcaaccctgtcttgcagagcctcccaagacatctcaaaataccttaattgg tatcaacagaagcccggacaggctcctcgccttctgatctaccacaccagccggct ccattctggaatccctgccaggttcagcggtagcggatctgggaccgactacaccc tcactatcagctcactgcagccagaggacttcgctgtctatttctgtcagcaaggg aacaccctgccctacacctttggacagggcaccaagctcgagattaaaggtggagg tggcagcggaggaggtgggtccggcggtggaggaagccaggtccaactccaagaaa gcggaccgggtcttgtgaagccatcagaaactctttcactgacttgtactgtgagc ggagtgtctctccccgattacggggtgtcttggatcagacagccaccggggaaggg tctggaatggattggagtgatttggggctctgagactacttactaccaatcatccc tcaagtcacgcgtcaccatctcaaaggacaactctaagaatcaggtgtcactgaaa ctgtcatctgtgaccgcagccgacaccgccgtgtactattgcgctaagcattacta ttatggcgggagctacgcaatggattactggggacagggtactctggtcaccgtgt ccagccaccaccatcatcaccatcaccat
103102 CAR2 -可溶性 scFv - aa	900	**MALPVTALLLPLALLLHAARP**eivmtqspatlslspgeratlscrasqdiskylnw yqqkpgqaprlliyhtsrlhsgiparfsgsgsgtdytltisslqpedfavyfcqqg ntlpytfgqgtkleikggggsggggsggggsqvqlqesgpglvkpsetlsltctvs gvslpdygvswirqppgkglewigviwgsettyyqsslksrvtiskdnsknqvslk lssvtaadtavyycakhyyyggsyamdywgqgtlvtvss**hhhhhhhh**

[1000]

104876 CAR 2 - 完全- nt	901	atggccctccctgtcaccgccctgctgcttccgctggctcttctgctccacgccgc tcggcccgaaattgtgatgacccagtcacccgccactcttagcctttcacccggtg agcgcgcaaccctgtcttgcagagcctcccaagacatctcaaaataccttaattgg tatcaacagaagcccggacaggctcctcgccttctgatctaccacaccagccggct ccattctggaatccctgccaggttcagcggtagcggatctgggaccgactacaccc tcactatcagctcactgcagccagaggacttcgctgtctatttctgtcagcaaggg aacaccctgccctacacctttggacagggcaccaagctcgagattaaaggtggagg tggcagcggaggaggtgggtccggcggtggaggaagccaggtccaactccaagaaa gcggaccgggtcttgtgaagccatcagaaactctttcactgacttgtactgtgagc ggagtgtctctccccgattacggggtgtcttggatcagacagccaccggggaaggg tctggaatggattggagtgatttggggctctgagactacttactaccaatcatccc tcaagtcacgcgtcaccatctcaaaggacaactctaagaatcaggtgtcactgaaa ctgtcatctgtgaccgcagccgacaccgccgtgtactattgcgctaagcattacta ttatggcgggagctacgcaatggattactggggacagggtactctggtcaccgtgt ccagcaccactaccccagcaccgaggccacccaccccggctcctaccatcgcctcc cagcctctgtccctgcgtccggaggcatgtagacccgcagctggtggggccgtgca tacccggggtcttgacttcgcctgcgatatctacatttgggcccctctggctggta cttgcggggtcctgctgctttcactcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcgg aagaagctgctgtacatctttaagcaacccttcatgaggcctgtgcagactactca agaggaggacggctgttcatgccggttcccagaggaggaggaaggcggctgcgaac tgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcctacaagcaggggcagaac cagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacgacgtgctggacaa gcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgcagaaagaatccccaag agggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgagatt ggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggactgtaccagggact cagcaccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgcctc gg
104876 CAR 2 - 完全 - aa	902	MALPVTALLLPLALLLHAARPeivmtqspatlslspgeratlsc**rasqdiskyln**w yqqkpgqaprlliy**htsrlhs**giparfsgsgsgtdytltisslqpedfavyfc**qqg** **ntlpyt**fgqgtkleikggggsggggsggggsqvqlqesgpglvkpsetlsltctvs gvslp**dygvs**wirqppgkglewig**viwgsettyyqsslks**rvtiskdnsknqvslk lssvtaadtavyycak**hyyyggsyamdy**wgqgtlvtvssttpaprpptpaptias qplslrpeacrpaaggavhtrgldfacdiyiwaplagtcgvlllslvitlyckrgr kkllyifkqpfmrpvqttqeedgcscrfpeeeeggcelrvkfsrsadapaykqgqn qlynelnlgrreeydvldkrrgrdpemggkprrknpqeglynelqkdkmaeaysei gmkgerrrgkghdglyqglstatkdtydalhmqalppr
CAR 3		
CAR3 scFv 结构域	903	qvqlqesgpglvkpsetlsltctvsgvslpdygvswirqppgkglewigviwgset tyyssslksrvtiskdnsknqvslklssvtaadtavyycakhyyyggsyamdywgq gtlvtvssggggsggggsggggseivmtqspatlslspgeratlscrasqdiskyl nwyqqkpgqaprlliyhtsrlhsgiparfsgsgsgtdytltisslqpedfavyfcq qgntlpytfgqgtkleik
103104 CAR 3 - 可溶性 scFv - nt	904	atggctctgcccgtgaccgcactcctcctgccactggctctgctgcttcacgccgc tcgcccacaagtccagcttcaagaatcagggcctggtctggtgaagccatctgaga ctctgtccctcacttgcaccgtgagcggagtgtccctcccagactacggagtgagc tggattagacagcctcccggaaagggactggagtggatcggagtgatttggggtag cgaaaccacttactattcatcttccctgaagtcacgggtcaccatttcaaaggata actcaaagaatcaagtgagcctcaagctctcatcagtcaccgccgctgacaccgcc gtgtattactgtgccaagcattactactatggagggtcctacgccatggactactg gggccagggaactctggtcactgtgtcatctggtggaggaggtagcggaggaggcg ggagcggtggaggtggctccgaaatcgtgatgacccagagccctgcaaccctgtcc ctttctcccggggaacgggctacccttttcttgtcgggcatcacaagatatctcaaa atacctcaattggtatcaacagaagccgggacaggcccctaggcttcttatctacc acacctctcgcctgcatagcgggattcccgcacgctttagcgggtctggaagcggg accgactacactctgaccatctcatctctccagcccgaggacttcgccgtctactt ctgccagcagggtaacaccctgccgtacaccttcggccagggcaccaagcttgaga tcaaacatcaccaccatcatcaccatcac
103104	905	**MALPVTALLLPLALLLHAARP**qvqlqesgpglvkpsetlsltctvsgvslpdygvs wirqppgkglewigviwgsettyyssslksrvtiskdnsknqvslklssvtaadta

[1001]

CAR 3 - 可溶性 scFv - aa		vyycakhyyyggsyamdywgqgtlvtvssggggsggggsggggseivmtqspatls lspgeratlscrasqdiskylnwyqqkpgqaprlliyhtsrlhsgiparfsgsgsg tdytltisslqpedfavyfcqqgntlpytfgqgtkleik**hhhhhhhh**
104877 CAR 3 -完全- nt	906	atggctctgcccgtgaccgcactcctcctgccactggctctgctgcttcacgccgc tcgcccacaagtccagcttcaagaatcagggcctggtctggtgaagccatctgaga ctctgtccctcacttgcaccgtgagcggagtgtccctcccagactacggagtgagc tggattagacagcctcccggaaagggactggagtggatcggagtgatttggggtag cgaaaccacttactattcatcttccctgaagtcacgggtcaccatttcaaaggata actcaaagaatcaagtgagcctcaagctctcatcagtcaccgccgctgacaccgcc gtgtattactgtgccaagcattactactatggagggtcctacgccatggactactg gggccagggaactctggtcactgtgtcatctggtggaggaggtagcggaggaggcg ggagcggtggaggtggctccgaaatcgtgatgacccagagccctgcaaccctgtcc ctttctcccggggaacgggctacccttttcttgtcgggcatcacaagatatctcaaa atacctcaattggtatcaacagaagccgggacaggcccctaggcttcttatctacc acacctctcgcctgcatagcgggattcccgcacgctttagcgggtctggaagcggg accgactacactctgaccatctcatctctccagcccgaggacttcgccgtctactt ctgccagcagggtaacaccctgccgtacaccttcggccagggcaccaagcttgaga tcaaaaccactactcccgctccaaggccacccaccccctgccccgaccatcgcctct cagccgctttccctgcgtccggaggcatgtagacccgcagctggtggggccgtgca tacccggggtcttgacttcgcctgcgatatctacatttgggcccctctggctggta cttgcggggtcctgctgctttcactcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcgg aagaagctgctgtacatctttaagcaacccttcatgaggcctgtgcagactactca agaggaggacggctgttcatgccggttcccagaggaggaggaaggcggctgcgaac tgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcctacaagcaggggcagaac cagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacgacgtgctggacaa gcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgcagaaagaatccccaag agggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgagatt ggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggactgtaccagggact cagcaccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgcctc gg
104877 CAR 3 -完全- aa	907	MALPVTALLLPLALLLHAARPqvqlqesgpglvkpsetlsltctvsgvslp**dygvs** wirqppgkglewig**viwgsettyyssslks**rvtiskdnsknqvslklssvtaadta vyycak**hyyyggsyamdy**wgqgtlvtvssggggsggggsggggseivmtqspatls lspgeratlsc**rasqdiskyln**wyqqkpgqaprlliy**htsrlhs**giparfsgsgsg tdytltisslqpedfavyfc**qqgntlpyt**fgqgtkleikttpaprpptpaptias qplslrpeacrpaaggavhtrgldfacdiyiwaplagtcgvlllslvitlyckrgr kkllyifkqpfmrpvqttqeedgcscrfpeeeeggcelrvkfsrsadapaykqgqn qlynelnlgrreeydvldkrrgrdpemggkprrknpqeglynelqkdkmaeaysei gmkgerrrgkghdglyqglstatkdtydalhmqalppr
CAR 4		
CAR4 scFv 结构域	908	qvqlqesgpglvkpsetlsltctvsgvslpdygvswirqppgkglewigviwgset tyyqsslksrvtiskdnsknqvslklssvtaadtavyycakhyyyggsyamdywgq gtlvtvssggggsggggsggggseivmtqspatlslspgeratlscrasqdiskyl nwyqqkpgqaprlliyhtsrlhsgiparfsgsgsgtdytltisslqpedfavyfcq qgntlpytfgqgtkleik
103106 CAR4 -可溶性 scFv - nt	909	atggctctgcccgtgaccgcactcctcctgccactggctctgctgcttcacgccgc tcgcccacaagtccagcttcaagaatcagggcctggtctggtgaagccatctgaga ctctgtccctcacttgcaccgtgagcggagtgtccctcccagactacggagtgagc tggattagacagcctcccggaaagggactggagtggatcggagtgatttggggtag cgaaaccacttactatcaatcttccctgaagtcacgggtcaccatttcaaaggata actcaaagaatcaagtgagcctcaagctctcatcagtcaccgccgctgacaccgcc gtgtattactgtgccaagcattactactatggagggtcctacgccatggactactg gggccagggaactctggtcactgtgtcatctggtggaggaggtagcggaggaggcg ggagcggtggaggtggctccgaaatcgtgatgacccagagccctgcaaccctgtcc ctttctcccggggaacgggctacccttttcttgtcgggcatcacaagatatctcaaa atacctcaattggtatcaacagaagccgggacaggcccctaggcttcttatctacc acacctctcgcctgcatagcgggattcccgcacgctttagcgggtctggaagcggg accgactacactctgaccatctcatctctccagcccgaggacttcgccgtctactt

[1002]

		ctgccagcagggtaacaccctgccgtacaccttcggccagggcaccaagcttgaga tcaaacatcaccaccatcatcaccatcac
103106 CAR4 -可溶性 scFv -aa	910	**MALPVTALLLPLALLLHAARP**qvqlqesgpglvkpsetlsltctvsgvslpdygvs wirqppgkglewigviwgsettyyqsslksrvtiskdnsknqvslklssvtaadta vyycakhyyyggsyamdywgqgtlvtvssggggsggggsggggseivmtqspatls lspgeratlscrasqdiskylnwyqqkpgqaprlliyhtsrlhsgiparfsgsgsg tdytltisslqpedfavyfcqqgntlpytfgqgtkleik**hhhhhhhh**
104878 CAR 4 -完全- nt	911	atggctctgcccgtgaccgcactcctcctgccactggctctgctgcttcacgccgc tcgcccacaagtccagcttcaagaatcagggcctggtctggtgaagccatctgaga ctctgtccctcacttgcaccgtgagcggagtgtccctcccagactacggagtgagc tggattagacagcctcccggaaagggactggagtggatcggagtgatttggggtag cgaaaccacttactatcaatcttccctgaagtcacgggtcaccatttcaaaggata actcaaagaatcaagtgagcctcaagctctcatcagtcaccgccgctgacaccgcc gtgtattactgtgccaagcattactactatggagggtcctacgccatggactactg gggccagggaactctggtcactgtgtcatctggtggaggaggtagcggaggaggcg ggagcggtggaggtggctccgaaatcgtgatgacccagagccctgcaaccctgtcc ctttctcccggggaacgggctacccttttcttgtcgggcatcacaagatatctcaaa atacctcaattggtatcaacagaagccgggacaggcccctaggcttcttatctacc acacctctcgcctgcatagcgggattcccgcacgctttagcgggtctggaagcggg accgactacactctgaccatctcatctctccagcccgaggacttcgccgtctactt ctgccagcagggtaacaccctgccgtacaccttcggccagggcaccaagcttgaga tcaaaaccactactcccgctccaaggccacccacccctgccccgaccatcgcctct cagccgctttccctgcgtccggaggcatgtagacccgcagctggtggggccgtgca tacccggggtcttgacttcgcctgcgatatctacatttgggcccctctggctggta cttgcggggtcctgctgctttcactcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcgg aagaagctgctgtacatctttaagcaacccttcatgaggcctgtgcagactactca agaggaggacggctgttcatgccggttcccagaggaggaggaaggcggctgcgaac tgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcctacaagcaggggcagaac cagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacgacgtgctggacaa gcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgcagaaagaatccccaag agggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgagatt ggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggactgtaccagggact cagcaccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgcctc gg
104878 CAR 4 -完全- aa	912	MALPVTALLLPLALLLHAARPqvqlqesgpglvkpsetlsltctvsgvslp**dygvs** wirqppgkglewig**viwgsettyyqsslks**rvtiskdnsknqvslklssvtaadta vyycak**hyyyggsyamdy**wgqgtlvtvssggggsggggsggggseivmtqspatls lspgeratlsc**rasqdiskyln**wyqqkpgqaprlliy**htsrlhs**giparfsgsgsg tdytltisslqpedfavyfc**qqgntlpyt**fgqgtkleikttpaprpptpaptias qplslrpeacrpaaggavhtrgldfacdiyiwaplagtcgvlllslvitlyckrgr kkllyifkqpfmrpvqttqeedgcscrfpeeeeggcelrvkfsrsadapaykqgqn qlynelnlgrreeydvldkrrgrdpemggkprrknpqeglynelqkdkmaeaysei gmkgerrrgkghdglyqglstatkdtydalhmqalppr
CAR 5		
CAR5 scFv 结构域	913	eivmtqspatlslspgeratlscrasqdiskylnwyqqkpgqaprlliyhtsrlhs giparfsgsgsgtdytltisslqpedfavyfcqqgntlpytfgqgtkleikggggs ggggsggggsggggsqvqlqesgpglvkpsetlsltctvsgvslpdygvswirqpp gkglewigviwgsettyyssslksrvtiskdnsknqvslklssvtaadtavyycak hyyyggsyamdywgqgtlvtvss
99789 CAR5 -可溶性 scFv -nt	914	atggccctcccagtgaccgctctgctgctgcctctcgcacttcttctccatgccgc tcggcctgagatcgtcatgacccaaagccccgctaccctgtccctgtcacccggcg agagggcaacccttttcatgcagggccagccaggacatttctaagtacctcaactgg tatcagcagaagccagggcaggctcctcgcctgctgatctaccacaccagccgcct ccacagcggtatccccgccagattttccgggagcgggtctggaaccgactacaccc tcaccatctcttctctgcagcccgaggatttcgccgtctatttctgccagcagggg aatactctgccgtacaccttcggtcaaggtaccaagctggaaatcaagggaggcgg aggatcaggcggtggcggaagcggaggaggtggctccggaggaggaggttcccaag tgcagcttcaagaatcaggacccggacttgtgaagccatcagaaaccctctccctg acttgtaccgtgtccggtgtgagcctccccgactacggagtctcttggattcgcca

[1003]

		gcctccggggaagggtcttgaatggattggggtgatttggggatcagagactactt actactcttcatcacttaagtcacgggtcaccatcagcaaagataatagcaagaac caagtgtcacttaagctgtcatctgtgaccgccgctgacaccgccgtgtactattg tgccaaacattactattacggagggtcttatgctatggactactggggacagggga ccctggtgactgtctctagccatcaccatcaccaccatcatcac
99789 CAR5 -可溶性 scFv -aa	915	**MALPVTALLLPLALLLHAARP**eivmtqspatlslspgeratlscrasqdiskylnw yqqkpgqaprlliyhtsrlhsgiparfsgsgsgtdytltisslqpedfavyfcqqg ntlpytfgqgtkleikggggsggggsggggsggggsqvqlqesgpglvkpsetlsl tctvsgvslpdygvswirqppgkglewigviwgsettyyssslksrvtiskdnskn qvslklssvtaadtavyycakhyyyggsyamdywgqgtlvtvss**hhhhhhhh**
104879 CAR 5 -完全- nt	916	atggccctccctgtcaccgccctgctgcttccgctggctcttctgctccacgccgc tcggcccgaaattgtgatgacccagtcacccgccactcttagcctttcacccggtg agcgcgcaaccctgtcttgcagagcctcccaagacatctcaaaataccttaattgg tatcaacagaagcccggacaggctcctcgccttctgatctaccacaccagccggct ccattctggaatccctgccaggttcagcggtagcggatctgggaccgactacaccc tcactatcagctcactgcagccagaggacttcgctgtctatttctgtcagcaaggg aacaccctgccctacacctttggacagggcaccaagctcgagattaaaggtggagg tggcagcggaggaggtgggtccggcggtggaggaagcggcggaggcgggagccagg tccaactccaagaaagcggaccgggtcttgtgaagccatcagaaactctttcactg acttgtactgtgagcggagtgtctctccccgattacggggtgtcttggatcagaca gccaccggggaagggtctggaatggattggagtgatttggggctctgagactactt actactcttcatccctcaagtcacgcgtcaccatctcaaaggacaactctaagaat caggtgtcactgaaactgtcatctgtgaccgcagccgacaccgccgtgtactattg cgctaagcattactattatggcgggagctacgcaatggattactggggacagggta ctctggtcaccgtgtccagcaccactaccccagcaccgaggccacccaccccggct cctaccatcgcctcccagcctctgtccctgcgtccggaggcatgtagacccgcagc tggtggggccgtgcatacccggggtcttgacttcgcctgcgatatctacatttggg cccctctggctggtacttgcggggtcctgctgctttcactcgtgatcactctttac tgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatctttaagcaacccttcatgaggcc tgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagaggaggagg aaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcctac aagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagta cgacgtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgca gaaagaatccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaa gcctatagcgagattggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacgg actgtaccagggactcagcaccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgc aggccctgccgcctcgg
104879 CAR 5 -完全- aa	917	MALPVTALLLPLALLLHAARPeivmtqspatlslspgeratlsc**rasqdiskyln**w yqqkpgqaprlliy**htsrlhs**giparfsgsgsgtdytltisslqpedfavyfc**qqg** **ntlpyt**fgqgtkleikggggsggggsggggsggggsqvqlqesgpglvkpsetlsl tctvsgvslp**dygvs**wirqppgkglewig**viwgsettyyssslks**rvtiskdnskn qvslklssvtaadtavyycak**hyyyggsyamdy**wgqgtlvtvsstttpaprpptpa ptiasqplslrpeacrpaaggavhtrgldfacdiyiwaplagtcgvlllslvitly ckrgrkkllyifkqpfmrpvqttqeedgcscrfpeeeeggcelrvkfsrsadapay kqgqnqlynelnlgrreeydvldkrrgrdpemggkprrknpqeglynelqkdkmae ayseigmkgerrrgkghdglyqglstatkdtydalhmqalppr
CAR 6		
CAR6 scFv 结构域	918	eivmtqspatlslspgeratlscrasqdiskylnwyqqkpgqaprlliyhtsrlhs giparfsgsgsgtdytltisslqpedfavyfcqqgntlpytfgqgtkleikggggs ggggsggggsggggsqvqlqesgpglvkpsetlsltctvsgvslpdygvswirqpp gkglewigviwgsettyyqsslksrvtiskdnsknqvslklssvtaadtavyycak hyyyggsyamdywgqgtlvtvss
99790 CAR6 -可溶性 scFv -nt	919	atggccctcccagtgaccgctctgctgctgcctctcgcacttcttctccatgccgc tcggcctgagatcgtcatgacccaaagccccgctaccctgtccctgtcacccggcg agagggcaacccttttcatgcagggccagccaggacatttctaagtacctcaactgg tatcagcagaagccagggcaggctcctcgcctgctgatctaccacaccagccgcct ccacagcggtatccccgccagattttccgggagcgggtctggaaccgactacaccc tcaccatctcttctctgcagcccgaggatttcgccgtctatttctgccagcagggg aatactctgccgtacaccttcggtcaaggtaccaagctggaaatcaagggaggcgg

[1004]

		aggatcaggcggtggcggaagcggaggaggtggctccggaggaggaggttcccaag tgcagcttcaagaatcaggacccggacttgtgaagccatcagaaaccctctccctg acttgtaccgtgtccggtgtgagcctccccgactacggagtctcttggattcgcca gcctccggggaagggtcttgaatggattggggtgatttggggatcagagactactt actaccagtcatcacttaagtcacgggtcaccatcagcaaagataatagcaagaac caagtgtcacttaagctgtcatctgtgaccgccgctgacaccgccgtgtactattg tgccaaacattactattacggagggtcttatgctatggactactggggacagggga ccctggtgactgtctctagccatcaccatcaccaccatcatcac
99790 CAR6 -可溶性 scFv - aa	920	**MALPVTALLLPLALLLHAARP**eivmtqspatlslspgeratlscrasqdiskylnw yqqkpgqaprlliyhtsrlhsgiparfsgsgsgtdytltisslqpedfavyfcqqg ntlpytfgqgtkleikggggsggggsggggsggggsqvqlqesgpglvkpsetlsl tctvsgvslpdygvswirqppgkglewigviwgsettyyqsslksrvtiskdnskn qvslklssvtaadtavyycakhyyyggsyamdywgqgtlvtvss**hhhhhhhh**
104880 CAR6 - 完全 - nt	921	atggccctccctgtcaccgccctgctgcttccgctggctcttctgctccacgccgc tcggcccgaaattgtgatgacccagtcacccgccactcttagcctttcacccggtg agcgcgcaaccctgtcttgcagagcctcccaagacatctcaaaataccttaattgg tatcaacagaagcccggacaggctcctcgccttctgatctaccacaccagccggct ccattctggaatccctgccaggttcagcggtagcggatctgggaccgactacaccc tcactatcagctcactgcagccagaggacttcgctgtctatttctgtcagcaaggg aacaccctgccctacacctttggacagggcaccaagctcgagattaaaggtggagg tggcagcggaggaggtgggtccggcggtggaggaagcggaggcggagggagccagg tccaactccaagaaagcggaccgggtcttgtgaagccatcagaaactctttcactg acttgtactgtgagcggagtgtctctccccgattacggggtgtcttggatcagaca gccaccggggaagggtctggaatggattggagtgatttggggctctgagactactt actaccaatcatccctcaagtcacgcgtcaccatctcaaaggacaactctaagaat caggtgtcactgaaactgtcatctgtgaccgcagccgacaccgccgtgtactattg cgctaagcattactattatggcgggagctacgcaatggattactggggacagggta ctctggtcaccgtgtccagcaccactaccccagcaccgaggccacccaccccggct cctaccatcgcctcccagcctctgtccctgcgtccggaggcatgtagacccgcagc tggtggggccgtgcatacccggggtcttgacttcgcctgcgatatctacatttggg cccctctggctggtacttgcggggtcctgctgctttcactcgtgatcactctttac tgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatctttaagcaacccttcatgaggcc tgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagaggaggagg aaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcctac aagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagta cgacgtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgca gaaagaatccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaa gcctatagcgagattggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacgg actgtaccagggactcagcaccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgc aggccctgccgcctcgg
104880 CAR6 - 完全 - aa	922	MALPVTALLLPLALLLHAARPeivmtqspatlslspgeratlsc**rasqdiskyln**w yqqkpgqaprlliy**htsrlhs**giparfsgsgsgtdytltisslqpedfavyfc**qqg** **ntlpyt**fgqgtkleikggggsggggsggggsggggsqvqlqesgpglvkpsetlsl tctvsgvslp**dygvs**wirqppgkglewig**viwgsettyyqsslks**rvtiskdnskn qvslklssvtaadtavyycak**hyyyggsyamdy**wgqgtlvtvssttpaprpptpa ptiasqplslrpeacrpaaggavhtrgldfacdiyiwaplagtcgvlllslvitly ckrgrkkllyifkqpfmrpvqttqeedgcscrfpeeeeggcelrvkfsrsadapay kqqqnqlynelnlgrreeydvldkrrgrdpemggkprrknpqeglynelqkdkmae ayseigmkgerrrgkghdglyqglstatkdtydalhmqalppr
CAR 7		
CAR7 scFv 结构域	923	qvqlqesgpglvkpsetlsltctvsgvslpdygvswirqppgkglewigviwgset tyyssslksrvtiskdnsknqvslklssvtaadtavyycakhyyyggsyamdywgq gtlvtvssggggsggggsggggsggggseivmtqspatlslspgeratlscrasqd iskylnwyqqkpgqaprlliyhtsrlhsgiparfsgsgsgtdytltisslqpedfa vyfcqqgntlpytfgqgtkleik
100796 CAR7 -可溶性 scFv -	924	atggcactgcctgtcactgccctcctgctgcctctggccctccttctgcatgccgc caggccccaagtccagctgcaagagtcaggacccggactggtgaagccgtctgaga ctctctcactgacttgtaccgtcagcggcgtgtccctccccgactacggagtgtca tggatccgccaacctcccgggaaagggcttgaatggattggtgtcatctggggttc

[1005]

nt		tgaaaccacctactactcatcttccctgaagtccagggtgaccatcagcaaggata attccaagaaccaggtcagccttaagctgtcatctgtgaccgctgctgacaccgcc gtgtattactgcgccaagcactactattacggaggaagctacgctatggactattg gggacagggcactctcgtgactgtgagcagcggcggtggagggtctggaggtggag gatccggtggtggtgggtcaggcggaggagggagcgagattgtgatgactcagtca ccagccacccttctctttcacccggcgagagagcaaccctgagctgtagagccag ccaggacatttctaagtacctcaactggtatcagcaaaaaccggggcaggcccctc gcctcctgatctaccatacctcacgccttcactctggtatccccgctcggtttagc ggatcaggatctggtaccgactacactctgaccatttccagcctgcagccagaaga tttcgcagtgtatttctgccagcagggcaataccccttccttacaccttcggtcagg gaaccaagctcgaaatcaagcaccatcaccatcatcaccaccat
100796 CAR7 -可溶性 scFv - aa	925	**MALPVTALLLPLALLLHAARP**qvqlqesgpglvkpsetlsltctvsgvslpdygvs wirqppgkglewigviwgsettyyssslksrvtiskdnsknqvslklssvtaadta vyycakhyyyggsyamdywgqgtlvtvssggggsggggsggggsggggseivmtqs patlslspgeratlscrasqdiskylnwyqqkpgqaprlliyhtsrlhsgiparfs gsgsgtdytltisslqpedfavyfcqqgntlpytfgqgtkleik**hhhhhhhh**
104881 CAR 7 完全 - nt	926	atggctctgcccgtgaccgcactcctcctgccactggctctgctgcttcacgccgc tcgcccacaagtccagcttcaagaatcagggcctggtctggtgaagccatctgaga ctctgtccctcacttgcaccgtgagcggagtgtccctcccagactacggagtgagc tggattagacagcctcccggaaagggactggagtggatcggagtgatttggggtag cgaaaccacttactattcatcttccctgaagtcacgggtcaccatttcaaaggata actcaaagaatcaagtgagcctcaagctctcatcagtcaccgccgctgacaccgcc gtgtattactgtgccaagcattactactatggagggtcctacgccatggactactg gggccagggaactctggtcactgtgtcatctggtggaggaggtagcggaggaggcg ggagcggtggaggtggctccggaggtggcggaagcgaaatcgtgatgacccagagc cctgcaaccctgtccctttctcccggggaacgggctacccttttcttgtcgggcatc acaagatatctcaaaatacctcaattggtatcaacagaagccgggacaggccccta ggcttcttatctaccacacctctcgcctgcatagcgggattcccgcacgctttagc gggtctggaagcgggaccgactacactctgaccatctcatctctccagcccgagga cttcgccgtctacttctgccagcagggtaacaccctgccgtacaccttcggccagg gcaccaagcttgagatcaaaaccactactcccgctccaaggccacccacccctgcc ccgaccatcgcctctcagccgctttccctgcgtccggaggcatgtagacccgcagc tggtggggccgtgcatacccggggtcttgacttcgcctgcgatatctacatttggg cccctctggctggtacttgcggggtcctgctgctttcactcgtgatcactctttac tgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatctttaagcaacccttcatgaggcc tgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagaggaggagg aaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcctac aagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagta cgacgtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgca gaaagaatccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaa gcctatagcgagattggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacgg actgtaccagggactcagcaccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgc aggccctgccgcctcgg
104881 CAR 7 完全 - aa	927	MALPVTALLLPLALLLHAARPqvqlqesgpglvkpsetlsltctvsgvslp**dygvs** wirqppgkglewig**viwgsettyyssslks**rvtiskdnsknqvslklssvtaadta vyycak**hyyyggsyamdy**wgqgtlvtvssggggsggggsggggsggggseivmtqs patlslspgeratlsc**rasqdiskyln**wyqqkpgqaprlliy**htsrlhs**giparfs gsgsgtdytltisslqpedfavyfc**qqgntlpyt**fgqgtkleikttttpaprpptpa ptiasqplslrpeacrpaaggavhtrgldfacdiyiwaplagtcgvlllslvitly ckrgrkkllyifkqpfmrpvqttqeedgcscrfpeeeeggcelrvkfsrsadapay kqgqnqlynelnlgrreeydvldkrrgrdpemggkprrknpqeglynelqkdkmae ayseigmkgerrrgkghdglyqglstatkdtydalhmqalppr
CAR 8		
CAR8 scFv 结构域	928	qvqlqesgpglvkpsetlsltctvsgvslpdygvswirqppgkglewigviwgset tyyqsslksrvtiskdnsknqvslklssvtaadtavyycakhyyyggsyamdywgq gtlvtvssggggsggggsggggsggggseivmtqspatlslspgeratlscrasqd iskylnwyqqkpgqaprlliyhtsrlhsgiparfsgsgsgtdytltisslqpedfa vyfcqqgntlpytfgqgtkleik

[1006]

100798 CAR8 -可溶性 scFv -nt	929	atggcactgcctgtcactgccctcctgctgcctctggccctccttctgcatgccgc caggccccaagtccagctgcaagagtcaggacccggactggtgaagccgtctgaga ctctctcactgacttgtaccgtcagcggcgtgtccctccccgactacggagtgtca tggatccgccaacctcccgggaaagggcttgaatggattggtgtcatctggggttc tgaaaccacctactaccagtcttccctgaagtccagggtgaccatcagcaaggata attccaagaaccaggtcagccttaagctgtcatctgtgaccgctgctgacaccgcc gtgtattactgcgccaagcactactattacggaggaagctacgctatggactattg gggacagggcactctcgtgactgtgagcagcggcggtggagggtctggaggtggag gatccggtggtggtgggtcaggcggaggagggagcgagattgtgatgactcagtca ccagccacccttttctctttcacccggcgagagagcaaccctgagctgtagagccag ccaggacatttctaagtacctcaactggtatcagcaaaaaccggggcaggcccctc gcctcctgatctaccatacctcacgccttcactctggtatccccgctcggtttagc ggatcaggatctggtaccgactacactctgaccatttccagcctgcagccagaaga tttcgcagtgtatttctgccagcagggcaataccccttccttacaccttcggtcagg gaaccaagctcgaaatcaagcaccatcaccatcatcatcaccac
100798 CAR8 -可溶性 scFv -aa	930	**MALPVTALLLPLALLLHAARP**qvqlqesgpglvkpsetlsltctvsgvslpdygvs wirqppgkglewigviwgsettyyqsslksrvtiskdnsknqvslklssvtaadta vyycakhyyyggsyamdywgqgtlvtvssggggsggggsggggsggggseivmtqs patlslspgeratlscrasqdiskylnwyqqkpgqaprlliyhtsrlhsgiparfs gsgsgtdytltisslqpedfavyfcqqgntlpytfgqgtkleik**hhhhhhhh**
104882 CAR 8 -完全 - nt	931	atggctctgcccgtgaccgcactcctcctgccactggctctgctgcttcacgccgc tcgcccacaagtccagcttcaagaatcagggcctggtctggtgaagccatctgaga ctctgtccctcacttgcaccgtgagcggagtgtccctcccagactacggagtgagc tggattagacagcctcccggaaagggactggagtggatcggagtgatttggggtag cgaaaccacttactatcaatcttccctgaagtcacgggtcaccatttcaaaggata actcaaagaatcaagtgagcctcaagctctcatcagtcaccgccgctgacaccgcc gtgtattactgtgccaagcattactactatggagggtcctacgccatggactactg gggccagggaactctggtcactgtgtcatctggtggaggaggtagcggaggaggcg ggagcggtggaggtggctccggaggcggtgggtcagaaatcgtgatgacccagagc cctgcaaccctgtccctttctcccggggaacgggctacccttttcttgtcgggcatc acaagatatctcaaaatacctcaattggtatcaacagaagccgggacaggccccta ggcttcttatctaccacacctctcgcctgcatagcgggattcccgcacgctttagc gggtctggaagcgggaccgactacactctgaccatctcatctctccagcccgagga cttcgccgtctacttctgccagcagggtaacaccctgccgtacaccttcggccagg gcaccaagcttgagatcaaaaccactactcccgctccaaggccacccacccctgcc ccgaccatcgcctctcagccgctttccctgcgtccggaggcatgtagacccgcagc tggtggggccgtgcatacccggggtcttgacttcgcctgcgatatctacatttggg cccctctggctggtacttgcggggtcctgctgctttcactcgtgatcactctttac tgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatctttaagcaacccttcatgaggcc tgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagaggaggagg aaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcctac aagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagta cgacgtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgca gaaagaatccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaa gcctatagcgagattggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacgg actgtaccagggactcagcaccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgc aggccctgccgcctcgg
104882 CAR 8 -完全- aa	932	MALPVTALLLPLALLLHAARPqvqlqesgpglvkpsetlsltctvsgvslp**dygvs** wirqppgkglewig**viwgsettyyqsslks**rvtiskdnsknqvslklssvtaadta vyycak**hyyyggsyamdy**wgqgtlvtvssggggsggggsggggsggggseivmtqs patlslspgeratlsc**rasqdiskyln**wyqqkpgqaprlliy**htsrlhs**giparfs gsgsgtdytltisslqpedfavyfc**qqgntlpyt**fgqgtkleikttttpaprpptpa ptiasqplslrpeacrpaaggavhtrgldfacdiyiwaplagtcgvlllslvitly ckrgrkkllyifkqpfmrpvqttqeedgcscrfpeeeeggcelrvkfsrsadapay kqgqnqlynelnlgrreeydvldkrrgrdpemggkprrknpqeglynelqkdkmae ayseigmkgerrrgkghdglyqglstatkdtydalhmqalppr
CAR 9		
CAR9	933	eivmtqspatlslspgeratlscrasqdiskylnwyqqkpgqaprlliyhtsrlhs giparfsgsgsgtdytltisslqpedfavyfcqqgntlpytfgqgtkleikggggs

[1007]

scFv 结构域		ggggsggggsggggsqvqlqesgpglvkpsetlsltctvsgvslpdygvswirqpp gkglewigviwgsettyynsslksrvtiskdnsknqvslklssvtaadtavyycak hyyyggsyamdywgqgtlvtvss
99789 CAR9 -可溶性 scFv -nt	934	atggccctcccagtgaccgctctgctgctgcctctcgcacttcttctccatgccgc tcggcctgagatcgtcatgacccaaagccccgctaccctgtccctgtcacccggcg agagggcaacccttttcatgcagggccagccaggacatttctaagtacctcaactgg tatcagcagaagccagggcaggctcctcgcctgctgatctaccacaccagccgcct ccacagcggtatccccgccagattttccgggagcgggtctggaaccgactacaccc tcaccatctcttctctgcagcccgaggatttcgccgtctatttctgccagcagggg aatactctgccgtacaccttcggtcaaggtaccaagctggaaatcaagggaggcgg aggatcaggcggtggcggaagcggaggaggtggctccggaggaggaggttcccaag tgcagcttcaagaatcaggacccggacttgtgaagccatcagaaaccctctccctg acttgtaccgtgtccggtgtgagcctccccgactacggagtctcttggattcgcca gcctccggggaagggtcttgaatggattggggtgatttggggatcagagactactt actacaattcatcacttaagtcacgggtcaccatcagcaaagataatagcaagaac caagtgtcacttaagctgtcatctgtgaccgccgctgacaccgccgtgtactattg tgccaaacattactattacggagggtcttatgctatggactactggggacagggga ccctggtgactgtctctagccatcaccatcaccaccatcatcac
99789 CAR9 -可溶性 scFv -aa	935	**MALPVTALLLPLALLLHAARP**eivmtqspatlslspgeratlscrasqdiskylnw yqqkpgqaprlliyhtsrlhsgiparfsgsgsgtdytltisslqpedfavyfcqqg ntlpytfgqgtkleikggggsggggsggggsggggsqvqlqesgpglvkpsetlsl tctvsgvslpdygvswirqppgkglewigviwgsettyynsslksrvtiskdnskn qvslklssvtaadtavyycakhyyyggsyamdywgqgtlvtvss**hhhhhhhh**
105974 CAR 9 -完全- nt	936	atggccctccctgtcaccgccctgctgcttccgctggctcttctgctccacgccgc tcggcccgaaattgtgatgacccagtcacccgccactcttagcctttcacccggtg agcgcgcaaccctgtcttgcagagcctcccaagacatctcaaaataccttaattgg tatcaacagaagcccggacaggctcctcgccttctgatctaccacaccagccggct ccattctggaatccctgccaggttcagcggtagcggatctgggaccgactacaccc tcactatcagctcactgcagccagaggacttcgctgtctatttctgtcagcaaggg aacaccctgccctacacctttggacagggcaccaagctcgagattaaaggtggagg tggcagcggaggaggtgggtccggcggtggaggaagcggaggcggtgggagccagg tccaactccaagaaagcggaccgggtcttgtgaagccatcagaaactctttcactg acttgtactgtgagcggagtgtctctccccgattacggggtgtcttggatcagaca gccaccggggaagggtctggaatggattggagtgatttggggctctgagactactt actacaactcatccctcaagtcacgcgtcaccatctcaaaggacaactctaagaat caggtgtcactgaaactgtcatctgtgaccgcagccgacaccgccgtgtactattg cgctaagcattactattatggcgggagctacgcaatggattactggggacagggta ctctggtcaccgtgtccagcaccactaccccagcaccgaggccacccaccccggct cctaccatcgcctcccagcctctgtccctgcgtccggaggcatgtagacccgcagc tggtggggccgtgcatacccggggtcttgacttcgcctgcgatatctacatttggg cccctctggctggtacttgcggggtcctgctgctttcactcgtgatcactctttac tgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatctttaagcaacccttcatgaggcc tgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagaggaggagg aaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcctac aagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagta cgacgtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgca gaaagaatccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaa gcctatagcgagattggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacgg actgtaccagggactcagcaccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgc aggccctgccgcctcgg
105974 CAR 9 -完全- aa	937	MALPVTALLLPLALLLHAARPeivmtqspatlslspgeratlsc**rasqdiskyln**w yqqkpgqaprlliy**htsrlhs**giparfsgsgsgtdytltisslqpedfavyfc**qqg** **ntlpyt**fgqgtkleikggggsggggsggggsggggsqvqlqesgpglvkpsetlsl tctvsgvslp**dygvs**wirqppgkglewig**viwgsettyynsslks**rvtiskdnskn qvslklssvtaadtavyycak**hyyyggsyamdy**wgqgtlvtvssttpaprpptpa ptiasqplslrpeacrpaaggavhtrgldfacdiyiwaplagtcgvlllslvitly ckrgrkkllyifkqpfmrpvqttqeedgcscrfpeeeeggcelrvkfsrsadapay kqgqnqlynelnlgrreeydvldkrrgrdpemggkprrknpqeglynelqkdkmae ayseigmkgerrrgkghdglyqglstatkdtydalhmqalppr

CAR10		
CAR10 scFv 结构域	938	qvqlqesgpglvkpsetlsltctvsgvslpdygvswirqppgkglewigviwgset tyynsslksrvtiskdnsknqvslklssvtaadtavyycakhyyyggsyamdywgq gtlvtvssggggsggggsggggsggggseivmtqspatlslspgeratlscrasqd iskylnwyqqkpgqaprlliyhtsrlhsgiparfsgsgsgtdytltisslqpedfa vyfcqqgntlpytfgqgtkleik
100796 CAR10 - 可溶性 scFv - nt	939	atggcactgcctgtcactgccctcctgctgcctctggccctccttctgcatgccgc caggccccaagtccagctgcaagagtcaggacccggactggtgaagccgtctgaga ctctctcactgacttgtaccgtcagcggcgtgtccctccccgactacggagtgtca tggatccgccaacctcccgggaaagggcttgaatggattggtgtcatctggggttc tgaaaccacctactacaactcttccctgaagtccagggtgaccatcagcaaggata attccaagaaccaggtcagccttaagctgtcatctgtgaccgctgctgacaccgcc gtgtattactgcgccaagcactactattacggaggaagctacgctatggactattg gggacagggcactctcgtgactgtgagcagcggcggtggagggtctggaggtggag gatccggtggtggtgggtcaggcggaggagggagcgagattgtgatgactcagtca ccagccacccttctctttcacccggcgagagagcaaccctgagctgtagagccag ccaggacatttctaagtacctcaactggtatcagcaaaaaccggggcaggcccctc gcctcctgatctaccatacctcacgccttcactctggtatccccgctcggtttagc ggatcaggatctggtaccgactacactctgaccatttccagcctgcagccagaaga tttcgcagtgtatttctgccagcagggcaataccccttcctacaccttcggtcagg gaaccaagctcgaaatcaagcaccatcaccatcatcaccaccat
100796 CAR10 -可溶性 scFv - aa	940	**MALPVTALLLPLALLLHAARP**qvqlqesgpglvkpsetlsltctvsgvslpdygvs wirqppgkglewigviwgsettyynsslksrvtiskdnsknqvslklssvtaadta vyycakhyyyggsyamdywgqgtlvtvssggggsggggsggggsggggseivmtqs patlslspgeratlscrasqdiskylnwyqqkpgqaprlliyhtsrlhsgiparfs gsgsgtdytltisslqpedfavyfcqqgntlpytfgqgtkleik**hhhhhhhh**
105975 CAR 10 完全 - nt	941	atggccctccctgtcaccgccctgctgcttccgctggctcttctgctccacgccgc tcggcccgaaattgtgatgacccagtcacccgccactcttagcctttcacccggtg agcgcgcaaccctgtcttgcagagcctcccaagacatctcaaaataccttaattgg tatcaacagaagcccggacaggctcctcgccttctgatctaccacaccagccggct ccattctggaatccctgccaggttcagcggtagcggatctgggaccgactacaccc tcactatcagctcactgcagccagaggacttcgctgtctatttctgtcagcaaggg aacaccctgccctacacctttggacagggcaccaagctcgagattaaaggtggagg tggcagcggaggaggtgggtccggcggtggaggaagcggaggcggtgggagccagg tccaactccaagaaagcggaccgggtcttgtgaagccatcagaaactctttcactg acttgtactgtgagcggagtgtctctccccgattacggggtgtcttggatcagaca gccaccggggaagggtctggaatggattggagtgatttggggctctgagactactt actacaactcatccctcaagtcacgcgtcaccatctcaaaggacaactctaagaat caggtgtcactgaaactgtcatctgtgaccgcagccgacaccgccgtgtactattg cgctaagcattactattatggcgggagctacgcaatggattactggggacagggta ctctggtcaccgtgtccagcaccactaccccagcaccgaggccacccaccccggct cctaccatcgcctcccagcctctgtccctgcgtccggaggcatgtagacccgcagc tggtggggccgtgcatacccggggtcttgacttcgcctgcgatatctacatttggg cccctctggctggtacttgcggggtcctgctgctttcactcgtgatcactctttac tgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatctttaagcaacccttcatgaggcc tgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagaggaggagg aaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcctac aagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagta cgacgtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgca gaaagaatccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaa gcctatagcgagattggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacgg actgtaccagggactcagcaccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgc aggccctgccgcctcgg
105975 CAR 10 完全- aa	942	MALPVTALLLPLALLLHAARPEIVMTQSPATLSLSPGERATLSC**RASQDISKYLN**W YQQKPGQAPRLLIY**HTSRLHS**GIPARFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAVYFC**QQG** **NTLPYT**FGQGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQESGPGLVKPSETLSL TCTVSGVSLP**DYGVS**WIRQPPGKGLEWIG**VIWGSETTYYNSSLKS**RVTISKDNSKN QVSLKLSSVTAADTAVYYCAK**HYYYGGSYAMDY**WGQGTLVTVSSTTTPAPRPPTPA

[1008]

[1009]

		PTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLY CKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAY KQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAE AYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
CAR11		
CAR11 scFv 结构域	943	eivmtqspatlslspgeratlscrasqdiskylnwyqqkpgqaprlliyhtsrlhs giparfsgsgsgtdytltisslqpedfavyfcqqgntlpytfgqgtkleikggggs ggggsggggsqvqlqesgpglvkpsetlsltctvsgvslpdygvswirqppgkgle wigviwgsettyynsslksrvtiskdnsknqvslklssvtaadtavyycakhyyyg gsyamdywgqgtlvtvss
103101 CAR11 -可溶性 scFv - nt	944	Atggccctccctgtcaccgccctgctgcttccgctggctcttctgctccacgccgc tcggcccgaaattgtgatgacccagtcacccgccactcttagcctttcacccggtg agcgcgcaaccctgtcttgcagagcctcccaagacatctcaaaataccttaattgg tatcaacagaagcccggacaggctcctcgccttctgatctaccacaccagccggct ccattctggaatccctgccaggttcagcggtagcggatctgggaccgactacaccc tcactatcagctcactgcagccagaggacttcgctgtctatttctgtcagcaaggg aacaccctgccctacacctttggacagggcaccaagctcgagattaaaggtggagg tggcagcggaggaggtgggtccggcggtggaggaagccaggtccaactccaagaaa gcggaccgggtcttgtgaagccatcagaaactctttcactgacttgtactgtgagc ggagtgtctctccccgattacggggtgtcttggatcagacagccaccggggaaggg tctggaatggattggagtgatttggggctctgagactacttactacaattcatccc tcaagtcacgcgtcaccatctcaaaggacaactctaagaatcaggtgtcactgaaa ctgtcatctgtgaccgcagccgacaccgccgtgtactattgcgctaagcattacta ttatggcgggagctacgcaatggattactggggacagggtactctggtcaccgtgt ccagccaccaccatcatcaccatcaccat
103101 CAR11 - 可溶性 scFv - aa	945	**MALPVTALLLPLALLLHAARP**eivmtqspatlslspgeratlscrasqdiskylnw yqqkpgqaprlliyhtsrlhsgiparfsgsgsgtdytltisslqpedfavyfcqqg ntlpytfgqgtkleikggggsggggsggggsqvqlqesgpglvkpsetlsltctvs gvslpdygvswirqppgkglewigviwgsettyynsslksrvtiskdnsknqvslk lssvtaadtavyycakhyyyggsyamdywgqgtlvtvss**hhhhhhhh**
105976 CAR 11 完全 - nt	946	atggctctgcccgtgaccgcactcctcctgccactggctctgctgcttcacgccgc tcgcccacaagtccagcttcaagaatcagggcctggtctggtgaagccatctgaga ctctgtccctcacttgcaccgtgagcggagtgtccctcccagactacggagtgagc tggattagacagcctcccggaaagggactggagtggatcggagtgatttggggtag cgaaaccacttactataactcttccctgaagtcacgggtcaccatttcaaaggata actcaaagaatcaagtgagcctcaagctctcatcagtcaccgccgctgacaccgcc gtgtattactgtgccaagcattactactatggagggtcctacgccatggactactg gggccagggaactctggtcactgtgtcatctggtggaggaggtagcggaggaggcg ggagcggtggaggtggctccggaggtggcggaagcgaaatcgtgatgacccagagc cctgcaaccctgtccctttctcccggggaacgggctacccttttcttgtcgggcatc acaagatatctcaaaatacctcaattggtatcaacagaagccgggacaggccccta ggcttcttatctaccacacctctcgcctgcatagcgggattcccgcacgctttagc gggtctggaagcgggaccgactacactctgaccatctcatctctccagcccgagga cttcgccgtctacttctgccagcagggtaacaccctgccgtacaccttcggccagg gcaccaagcttgagatcaaaaccactactcccgctccaaggccacccacccctgcc ccgaccatcgcctctcagccgctttccctgcgtccggaggcatgtagacccgcagc tggtggggccgtgcatacccggggtcttgacttcgcctgcgatatctacatttggg cccctctggctggtacttgcggggtcctgctgctttcactcgtgatcactctttac tgtaagcgcggtcggaagaagctgctgtacatctttaagcaacccttcatgaggcc tgtgcagactactcaagaggaggacggctgttcatgccggttcccagaggaggagg aaggcggctgcgaactgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcctac aagcaggggcagaaccagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagta cgacgtgctggacaagcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgca gaaagaatccccaagagggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaa gcctatagcgagattggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacgg actgtaccagggactcagcaccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgc aggccctgccgcctcgg

[1010]

105976 CAR 11 完全 - aa	947	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGVSLP**DYGVS** WIRQPPGKGLEWIG**VIWGSETTYYNSSLKS**RVTISKDNSKNQVSLKLSSVTAADTA VYYCAK**HYYYGGSYAMDY**WGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVMTQS PATLSLSPGERATLSC**RASQDISKYLN**WYQQKPGQAPRLLIY**HTSRLHS**GIPARFS GSGSGTDYTLTISSLQPEDFAVYFC**QQGNTLPYT**FGQGTKLEIKTTTPAPRPPTPA PTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLY CKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAY KQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAE AYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
CAR12		
CAR12 scFv 结构域	948	qvqlqesgpglvkpsetlsltctvsgvslpdygvswirqppgkglewigviwgset tyynsslksrvtiskdnsknqvslklssvtaadtavyycakhyyyggsyamdywgq gtlvtvssggggsggggsggggseivmtqspatlslspgeratlscrasqdiskyl nwyqqkpgqaprlliyhtsrlhsgiparfsgsgsgtdytltisslqpedfavyfcq qgntlpytfgqgtkleik
103104 CAR12 -可溶性 scFv - nt	949	atggctctgcccgtgaccgcactcctcctgccactggctctgctgcttcacgccgc tcgcccacaagtccagcttcaagaatcagggcctggtctggtgaagccatctgaga ctctgtccctcacttgcaccgtgagcggagtgtccctcccagactacggagtgagc tggattagacagcctcccggaaagggactggagtggatcggagtgatttggggtag cgaaaccacttactataactcttccctgaagtcacgggtcaccatttcaaaggata actcaaagaatcaagtgagcctcaagctctcatcagtcaccgccgctgacaccgcc gtgtattactgtgccaagcattactactatggagggtcctacgccatggactactg gggccagggaactctggtcactgtgtcatctggtggaggaggtagcggaggaggcg ggagcggtggaggtggctccgaaatcgtgatgacccagagccctgcaaccctgtcc ctttctcccggggaacgggctacccttttcttgtcgggcatcacaagatatctcaaa atacctcaattggtatcaacagaagccgggacaggcccctaggcttcttatctacc acacctctcgcctgcatagcgggattcccgcacgctttagcgggtctggaagcggg accgactacactctgaccatctcatctctccagcccgaggacttcgccgtctactt ctgccagcagggtaacaccctgccgtacaccttcggccagggcaccaagcttgaga tcaaacatcaccaccatcatcaccatcac
103104 CAR12 -可溶性 scFv -aa	950	**MALPVTALLLPLALLLHAARP**qvqlqesgpglvkpsetlsltctvsgvslpdygvs wirqppgkglewigviwgsettyynsslksrvtiskdnsknqvslklssvtaadta vyycakhyyyggsyamdywgqgtlvtvssggggsggggsggggseivmtqspatls lspgeratlscrasqdiskylnwyqqkpgqaprlliyhtsrlhsgiparfsgsgsg tdytltisslqpedfavyfcqqgntlpytfgqgtkleik**hhhhhhhh**
105977 CAR 12 - 完全- nt	951	atggccctccctgtcaccgccctgctgcttccgctggctcttctgctccacgccgc tcggcccgaaattgtgatgacccagtcacccgccactcttagcctttcacccggtg agcgcgcaaccctgtcttgcagagcctcccaagacatctcaaaataccttaattgg tatcaacagaagcccggacaggctcctcgccttctgatctaccacaccagccggct ccattctggaatccctgccaggttcagcggtagcggatctgggaccgactacaccc tcactatcagctcactgcagccagaggacttcgctgtctatttctgtcagcaaggg aacaccctgccctacacctttggacagggcaccaagctcgagattaaaggtggagg tggcagcggaggaggtgggtccggcggtggaggaagccaggtccaactccaagaaa gcggaccgggtcttgtgaagccatcagaaactctttcactgacttgtactgtgagc ggagtgtctctccccgattacggggtgtcttggatcagacagccaccggggaaggg tctggaatggattggagtgatttggggctctgagactacttactacaactcatccc tcaagtcacgcgtcaccatctcaaaggacaactctaagaatcaggtgtcactgaaa ctgtcatctgtgaccgcagccgacaccgccgtgtactattgcgctaagcattacta ttatggcgggagctacgcaatggattactggggacagggtactctggtcaccgtgt ccagcaccactaccccagcaccgaggccacccaccccggctcctaccatcgcctcc cagcctctgtccctgcgtccggaggcatgtagacccgcagctggtggggccgtgca tacccggggtcttgacttcgcctgcgatatctacatttgggcccctctggctggta cttgcggggtcctgctgctttcactcgtgatcactctttactgtaagcgcggtcgg aagaagctgctgtacatctttaagcaacccttcatgaggcctgtgcagactactca agaggaggacggctgttcatgccggttcccagaggaggaggaaggcggctgcgaac tgcgcgtgaaattcagccgcagcgcagatgctccagcctacaagcaggggcagaac cagctctacaacgaactcaatcttggtcggagagaggagtacgacgtgctggacaa gcggagaggacgggacccagaaatgggcgggaagccgcgcagaaagaatccccaag

[1011]

		agggcctgtacaacgagctccaaaaggataagatggcagaagcctatagcgagatt ggtatgaaaggggaacgcagaagaggcaaaggccacgacggactgtaccagggact cagcaccgccaccaaggacacctatgacgctcttcacatgcaggccctgccgcctc gg
105977 CAR 12 - 完全- aa	952	MALPVTALLLPLALLLHAARPEIVMTQSPATLSLSPGERATLSC**RASQDISKYLN**W YQQKPGQAPRLLIY**HTSRLHS**GIPARFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFAVYFC**QQG** **NTLPYT**FGQGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVS GVSLP**DYGVS**WIRQPPGKGLEWIG**VIWGSETTYYNSSLKS**RVTISKDNSKNQVSLK LSSVTAADTAVYYCAK**HYYYGGSYAMDY**WGQGTLVTVSSTTTPAPRPPTPAPTIAS QPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGR KKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQN QLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEI GMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
CTL019		
CTL019 - 可溶性 scFv-His 标签 - nt	953	atggccctgcccgtcaccgctctgctgctgccccttgctctgcttcttcatgcagc aaggccggacatccagatgacccaaaccacctcatccctctctgcctctcttggag acagggtgaccatttcttgtcgcgccagccaggacatcagcaagtatctgaactgg tatcagcagaagccggacggaaccgtgaagctcctgatctaccatacctctcgcct gcatagcggcgtgccctcacgcttctctggaagcggatcaggaaccgattattctc tcactatttcaaatcttgagcaggaagatattgccacctatttctgccagcagggt aataccctgccctacaccttcggaggagggaccaagctcgaaatcaccggtggagg aggcagcggcggtggagggtctggtggaggtggttctgaggtgaagctgcaagaat caggccctggacttgtggccccttcacagtccctgagcgtgacttgcaccgtgtcc ggagtctccctgcccgactacggagtgtcatggatcagacaacctccacggaaagg actggaatggctcggtgtcatctggggtagcgaaactacttactacaattcagccc tcaaaagcaggctgactattatcaaggacaacagcaagtcccaagtctttcttaag atgaactcactccagactgacgacaccgcaatctactattgtgctaagcactacta ctacggaggatcctacgctatggattactggggacaaggtacttccgtcactgtct cttcacaccatcatcaccatcaccatcac
CTL019 - 可溶性 scFv-His 标签 - aa	954	**MALPVTALLLPLALLLHAARP**diqmtqttsslsaslgdrvtiscrasqdiskylnw yqqkpdgtvkllliyhtsrlhsgvpsrfsgsgsgtdysltisnleqediatyfcqqg ntlpytfgggtkleitggggsggggsggggsevklqesgpglvapsqslsvtctvs gvslpdygvswirqpprkglewlgviwgsettyynsalksrltiikdnsksqvflk mnslqtddtaiyycakhyyyggsyamdywgqgtsvtvss**hhhhhhhh**
CTL019 完全 - nt	955	atggccttaccagtgaccgccttgctcctgccgctggccttgctgctccacgccgc caggccggacatccagatgacacagactacatcctccctgtctgcctctctgggag acagagtcaccatcagttgcagggcaagtcaggacattagtaaatatttaaattgg tatcagcagaaaccagatggaactgttaaactcctgatctaccatacatcaagatt acactcaggagtcccatcaaggttcagtggcagtgggtctggaacagattattctc tcaccattagcaacctggagcaagaagatattgccacttacttttgccaacagggt aatacgcttccgtacacgttcggagggggggaccaagctggagatcacaggtggcgg tggctcgggcggtggtgggtcgggtggcggcggatctgaggtgaaactgcaggagt caggacctggcctggtggcgccctcacagagcctgtccgtcacatgcactgtctca ggggtctcattacccgactatggtgtaagctggattcgccagcctccacgaaaggg tctggagtggctgggagtaatatggggtagtgaaaccacatactataattcagctc tcaaatccagactgaccatcatcaaggacaactccaagagccaagttttcttaaaa atgaacagtctgcaaactgatgacacagccatttactactgtgccaaacattatta ctacggtggtagctatgctatggactactggggccaaggaacctcagtcaccgtct cctcaaccacgacgccagcgccgcgaccaccaacaccggcgcccaccatcgcgtcg cagcccctgtccctgcgcccagaggcgtgccggccagcggcgggggcgcagtgca cacgagggggctggacttcgcctgtgatatctacatctgggcgcccttggccggga cttgtggggtccttctcctgtcactggttatcacccttactgcaaacggggcaga aagaaactcctgtatatattcaaacaaccatttatgagaccagtacaaactactca agaggaagatggctgtagctgccgatttccagaagaagaagaaggaggatgtgaac tgagagtgaagttcagcaggagcgcagacgcccccgcgtacaagcagggccagaac

[1012]

		cagctctataacgagctcaatctaggacgaagagaggagtacgatgttttggacaa gagacgtggccgggaccctgagatgggggggaaagccgagaaggaagaaccctcagg aaggcctgtacaatgaactgcagaaagataagatggcggaggcctacagtgagatt gggatgaaaggcgagcgccggaggggcaaggggcacgatggcctttaccagggtct cagtacagccaccaaggacacctacgacgcccttcacatgcaggccctgccccctc gc
CTL019 完全 - aa	956	MALPVTALLLPLALLLHAARPdiqmtqttsslsaslgdrvtiscrasqdiskylnw yqqkpdgtvklliyhtsrlhsgvpsrfsgsgsgtdysltisnleqediatyfcqqg ntlpytfgggtkleitggggsggggsggggsevklqesgpglvapsqslsvtctvs gvslpdygvswirqpprkglewlgviwgsettyynsalksrltiikdnsksqvflk mnslqtddtaiyycakhyyyggsyamdywgqgtsvtvssttpaprpptpaptias qplslrpeacrpaaggavhtrgldfacdiyiwaplagtcgvlllslvitlyckrgr kkllyifkqpfmrpvqttqeedgcscrfpeeeeggcelrvkfsrsadapaykqgqn qlynelnlgrreeydvldkrrgrdpemggkprrknpqeglynelqkdkmaeaysei gmkgerrrgkghdglyqglstatkdtydalhmqalppr
CTL019 scFv 结构域	957	diqmtqttsslsaslgdrvtiscrasqdiskylnwyqqkpdgtvklliyhtsrlhs gvpsrfsgsgsgtdysltisnleqediatyfcqqgntlpytfgggtkleitggggs ggggsggggsevklqesgpglvapsqslsvtctvsgvslpdygvswirqpprkgle wlgviwgsettyynsalksrltiikdnsksqvflkmnslqtddtaiyycakhyyyg gsyamdywgqgtsvtvss

[1013] 在一些实施例中，CD19 CAR或结合结构域包含CTL019的氨基酸序列，或由根据表9的CTL019的有或没有前导序列或his标签的核苷酸序列编码，或与其基本上相同(例如，至少85％、90％、95％或更高同一性)的序列。

[1014] 在一些实施例中，根据Kabat编号方案、Chothia编号方案、或其组合定义CDR。

[1015] 对于scFv结构域的人源化CDR序列的序列，其重链可变结构域显示在表10A中，并且其轻链可变结构域显示在表10B中。“ID”代表每个CDR的相应SEQ ID NO。

[1016] 表10A.重链可变结构域CDR(根据Kabat)。

[1017]

候选物	FW	HCDR1	SEQ ID	HCDR2	SEQ ID	HCDR3	SEQ ID
鼠_CART19		DYGVS	958	VIWGSETTYYNSALKS	959	HYYYGGSYAMDY	960
人源化_CART19 a	VH4	DYGVS	958	VIWGSETTYY***SSS***LKS	961	HYYYGGSYAMDY	960
人源化_CART19 b	VH4	DYGVS	958	VIWGSETTYY***Q***S***SS***LKS	962	HYYYGGSYAMDY	960
人源化_CART19 c	VH4	DYGVS	958	VIWGSETTYYNS***SS***LKS	963	HYYYGGSYAMDY	960

[1018] 表10B轻链可变结构域CDR(根据Kabat)。

[1019]

候选物	FW	LCDR1	SEQ ID	LCDR2	SEQ ID	LCDR3	SEQ ID
鼠_CART19		RASQDISKYLN	964	HTSRLHS	965	QQGNTLPYT	966
人源化_CART19 a	VK3	RASQDISKYLN	964	HTSRLHS	965	QQGNTLPYT	966

[1020]

人源化_CART19 b	VK3	RASQDISKYLN	964	HTSRLHS	965	QQGNTLPYT	966
人源化_CART19 c	VK3	RASQDISKYLN	964	HTSRLHS	965	QQGNTLPYT	966

[1021] 在一个实施例中，CAR分子包含本文描述的BCMA CAR分子，例如描述于US-2016-0046724-A1或WO 2016/014565中的BCMA CAR。在实施例中，BCMA CAR包含氨基酸，或具有CAR分子的核苷酸序列，或根据WO2016/014565(通过引用并入本文)的US-2016-0046724-A1、或表1或16、SEQ ID NO:271或SEQ ID NO:273的抗原结合结构域，或与前述序列中的任一项基本上相同(例如，与前述BCMA CAR序列中的任一项至少85％、90％、95％或更多相同)的序列。编码BCMA CAR分子和抗原结合结构域的氨基酸序列和核苷酸序列(例如，包含根据Kabat或Chothia的一个、两个、三个VH CDR；和一个、两个、三个VL CDR)在WO2016/014565中

指定。

[1022] 在实施例中，BCMA CAR包含抗BCMA结合结构域(例如，鼠或人源化抗BCMA结合结构域)、跨膜结构域和细胞内信号传导结构域，并且其中所述抗BCMA结合结构域包含表11A或11B中列出的任何抗BCMA重链结合结构域氨基酸序列的重链互补决定区1(HC CDR1)、重链互补决定区2(HC CDR2)和重链互补决定区3(HC CDR3)，或与其至少85％、90％、95％或更多相同的序列(例如，具有少于5、4、3、2或1个氨基酸取代，例如保守取代)。

[1023] 在一个实施例中，抗BCMA结合结构域包含本文描述(例如，表11A或11B中)的轻链可变区和/或本文描述(例如，表11A或11B中)的重链可变区，或与其至少85％、90％、95％或更多相同的序列。

[1024] 在一个实施例中，编码的抗BCMA结合结构域是包含表11A或11B的氨基酸序列的轻链和重链的scFv。

[1025] 在一个实施例中，人或人源化抗BCMA结合结构域(例如，scFv)包含：轻链可变区，该轻链可变区包含具有表11A或11B中提供的轻链可变区的氨基酸序列的至少一个、两个或三个修饰(例如取代，例如保守取代)但不超过30、20或10个修饰(例如取代，例如保守取代)的氨基酸序列，或与其至少85％、90％、95％或更多相同的序列；和/或重链可变区，该重链可变区包含具有表11A或11B中提供的重链可变区的氨基酸序列的至少一个、两个或三个修饰(例如取代，例如保守取代)但不超过30、20或10个修饰(例如取代，例如保守取代)的氨基酸序列，或与其至少85％、90％、95％或更多相同的序列。

[1026] 表11A.示例性抗BCMA scFv结构域和BCMA CAR分子的氨基酸序列和核酸序列。

[1027]

名称/描述	SEQ ID NO:	序列
139109		
139109- aa ScFv 结构域	967	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTY YAASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSSA SGGGGSGGRASGGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGK APKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQ GTKVEIK
139109- nt ScFv 结构域	968	GAAGTGCAATTGGTGGAATCAGGGGGAGGACTTGTGCAGCCTGGAGGATCGCTGAGAC TGTCATGTGCCGTGTCCGGCTTTGCCCTGTCCAACCACGGGATGTCCTGGGTCCGCCG CGCGCCTGGAAAGGGCCTCGAATGGGTGTCGGGTATTGTGTACAGCGGTAGCACCTAC TATGCCGCATCCGTGAAGGGGAGATTCACCATCAGCCGGGACAACTCCAGGAACACTC TGTACCTCCAAATGAATTCGCTGAGGCCAGAGGACACTGCCATCTACTACTGCTCCGC GCATGGCGGAGAGTCCGACGTCTGGGGACAGGGGACCACCGTGACCGTGTCTAGCGCG TCCGGCGGAGGCGGCAGCGGGGGTCGGGCATCAGGGGGCGGCGGATCGGACATCCAGC TCACCCAGTCCCCGAGCTCGCTGTCCGCCTCCGTGGGAGATCGGGTCACCATCACGTG CCGCGCCAGCCAGTCGATTTCCTCCTACCTGAACTGGTACCAACAGAAGCCCGGAAAA GCCCCGAAGCTTCTCATCTACGCCGCCTCGAGCCTGCAGTCAGGAGTGCCCTCACGGT TCTCCGGCTCCGGTTCCGGTACTGATTTCACCCTGACCATTTCCTCCCTGCAACCGGA GGACTTCGCTACTTACTACTGCCAGCAGTCGTACTCCACCCCCTACACTTTCGGACAA GGCACCAAGGTCGAAATCAAG
139109- aa VH	969	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTY YAASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSS
139109- aa VL	970	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGV PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTKVEIK
139109- aa 完全 CAR	971	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWV RRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYC SAHGGESDVWGQGTTVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTI TCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQ PEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPA AGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPV QTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVL DKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGL STATKDTYDALHMQALPPR
139109- nt 完全 CAR	972	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTC GGCCCGAAGTGCAATTGGTGGAATCAGGGGGAGGACTTGTGCAGCCTGGAGGATCGCT GAGACTGTCATGTGCCGTGTCCGGCTTTGCCCTGTCCAACCACGGGATGTCCTGGGTC CGCCGCGCGCCTGGAAAGGGCCTCGAATGGGTGTCGGGTATTGTGTACAGCGGTAGCA CCTACTATGCCGCATCCGTGAAGGGGAGATTCACCATCAGCCGGGACAACTCCAGGAA CACTCTGTACCTCCAAATGAATTCGCTGAGGCCAGAGGACACTGCCATCTACTACTGC TCCGCGCATGGCGGAGAGTCCGACGTCTGGGGACAGGGGACCACCGTGACCGTGTCTA GCGCGTCCGGCGGAGGCGGCAGCGGGGGTCGGGCATCAGGGGGCGGCGGATCGGACAT CCAGCTCACCCAGTCCCCGAGCTCGCTGTCCGCCTCCGTGGGAGATCGGGTCACCATC ACGTGCCGCGCCAGCCAGTCGATTTCCTCCTACCTGAACTGGTACCAACAGAAGCCCG GAAAAGCCCCGAAGCTTCTCATCTACGCCGCCTCGAGCCTGCAGTCAGGAGTGCCCTC

[1028]

		ACGGTTCTCCGGCTCCGGTTCCGGTACTGATTTCACCCTGACCATTTCCTCCCTGCAA CCGGAGGACTTCGCTACTTACTACTGCCAGCAGTCGTACTCCACCCCCTACACTTTCG GACAAGGCACCAAGGTCGAAATCAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCC GGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCA GCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGG CCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTG TAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTG CAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCG GCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGG GCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTG GACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCC AAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGAT TGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTC AGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
139103		
139103- aa ScFv 结构域	973	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLGWVSGISRSGENT YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRDEDTAVYYCARSPAHYYGGMDVWGQGTTV TVSSASGGGGSGGRASGGGGSDIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSISSSFLAWY QQKPGQAPRLLIYGASRRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDSAVYYCQQYHSS PSWTFGQGTKLEIK
139103- nt ScFv 结构域	974	CAAGTGCAACTCGTGGAATCTGGTGGAGGACTCGTGCAACCCGGAAGATCGCTTAGAC TGTCGTGTGCCGCCAGCGGGTTCACTTTCTCGAACTACGCGATGTCCTGGGTCCGCCA GGCACCCGGAAAGGGACTCGGTTGGGTGTCCGGCATTTCCCGGTCCGGCGAAAATACC TACTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGCTTCACCATCTCAAGGGACAACAGCAAAAACA CCCTGTACTTGCAAATGAACTCCCTGCGGGATGAAGATACAGCCGTGTACTATTGCGC CCGGTCGCCTGCCCATTACTACGGCGGAATGGACGTCTGGGGACAGGGAACCACTGTG ACTGTCAGCAGCGCGTCGGGTGGCGGCGGCTCAGGGGGTCGGGCCTCCGGGGGGGGAG GGTCCGACATCGTGCTGACCCAGTCCCCGGGAACCCTGAGCCTGAGCCCGGGAGAGCG CGCGACCCTGTCATGCCGGGCATCCCAGAGCATTAGCTCCTCCTTTCTCGCCTGGTAT CAGCAGAAGCCCGGACAGGCCCCGAGGCTGCTGATCTACGGCGCTAGCAGAAGGGCTA CCGGAATCCCAGACCGGTTCTCCGGCTCCGGTTCCGGGACCGATTTCACCCTTACTAT CTCGCGCCTGGAACCTGAGGACTCCGCCGTCTACTACTGCCAGCAGTACCACTCATCC CCGTCGTGGACGTTCGGACAGGGCACCAAGCTGGAGATTAAG
139103- aa VH	975	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLGWVSGISRSGENT YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRDEDTAVYYCARSPAHYYGGMDVWGQGTTV TVSS
139103- aa VL	976	DIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSISSSFLAWYQQKPGQAPRLLIYGASRRATG IPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDSAVYYCQQYHSSPSWTFGQGTKLEIK
139103- aa 完全 CAR	977	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYAMSWV RQAPGKGLGWVSGISRSGENTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRDEDTAVYY CARSPAHYYGGMDVWGQGTTVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSDIVLTQSPGTLSLSPG ERATLSCRASQSISSSFLAWYQQKPGQAPRLLIYGASRRATGIPDRFSGSGSGTDFTL TISRLEPEDSAVYYCQQYHSSPSWTFGQGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLR PEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFK QPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGR REEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGH DGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
139103- nt 完全 CAR	978	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTC GGCCCCAAGTGCAACTCGTGGAATCTGGTGGAGGACTCGTGCAACCCGGAAGATCGCT TAGACTGTCGTGTGCCGCCAGCGGGTTCACTTTCTCGAACTACGCGATGTCCTGGGTC CGCCAGGCACCCGGAAAGGGACTCGGTTGGGTGTCCGGCATTTCCCGGTCCGGCGAAA ATACCTACTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGCTTCACCATCTCAAGGGACAACAGCAA AAACACCCTGTACTTGCAAATGAACTCCCTGCGGGATGAAGATACAGCCGTGTACTAT TGCGCCCGGTCGCCTGCCCATTACTACGGCGGAATGGACGTCTGGGGACAGGGAACCA CTGTGACTGTCAGCAGCGCGTCGGGTGGCGGCGGCTCAGGGGGTCGGGCCTCCGGGGG GGGAGGGTCCGACATCGTGCTGACCCAGTCCCCGGGAACCCTGAGCCTGAGCCCGGGA GAGCGCGCGACCCTGTCATGCCGGGCATCCCAGAGCATTAGCTCCTCCTTTCTCGCCT GGTATCAGCAGAAGCCCGGACAGGCCCCGAGGCTGCTGATCTACGGCGCTAGCAGAAG

[1029]

		GGCTACCGGAATCCCAGACCGGTTCTCCGGCTCCGGTTCCGGGACCGATTTCACCCTT ACTATCTCGCGCCTGGAACCTGAGGACTCCGCCGTCTACTACTGCCAGCAGTACCACT CATCCCCGTCGTGGACGTTCGGACAGGGCACCAAGCTGGAGATTAAGACCACTACCCC AGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGT CCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCG CCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTC ACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAG CAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGT TCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGA TGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGG AGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGA AGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGAT GGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCAC GACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACA TGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
139105		
139105- aa ScFv 结构域	979	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSI GYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCSVHSFLAYWGQGTLVTVSSA SGGGGSGGRASGGGGSDIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYL QKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTP YTFGQGTKVEIK
139105- nt ScFv 结构域	980	CAAGTGCAACTCGTCGAATCCGGTGGAGGTCTGGTCCAACCTGGTAGAAGCCTGAGAC TGTCGTGTGCGGCCAGCGGATTCACCTTTGATGACTATGCTATGCACTGGGTGCGGCA GGCCCCAGGAAAGGGCCTGGAATGGGTGTCGGGAATTAGCTGGAACTCCGGGTCCATT GGCTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGCTTCACCATCTCCCGCGACAACGCAAAGAACT CCCTGTACTTGCAAATGAACTCGCTCAGGGCTGAGGATACCGCGCTGTACTACTGCTC CGTGCATTCCTTCCTGGCCTACTGGGGACAGGGAACTCTGGTCACCGTGTCGAGCGCC TCCGGCGGCGGGGGCTCGGGTGGACGGGCCTCGGGCGGAGGGGGGTCCGACATCGTGA TGACCCAGACCCCGCTGAGCTTGCCCGTGACTCCCGGAGAGCCTGCATCCATCTCCTG CCGGTCATCCCAGTCCCTTCTCCACTCCAACGGATACAACTACCTCGACTGGTACCTC CAGAAGCCGGGACAGAGCCCTCAGCTTCTGATCTACCTGGGGTCAAATAGAGCCTCAG GAGTGCCGGATCGGTTCAGCGGATCTGGTTCGGGAACTGATTTCACTCTGAAGATTTC CCGCGTGGAAGCCGAGGACGTGGGCGTCTACTACTGTATGCAGGCGCTGCAGACCCCC TATACCTTCGGCCAAGGGACGAAAGTGGAGATCAAG
139105- aa VH	981	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSI GYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCSVHSFLAYWGQGTLVTVSS
139105- aa VL	982	DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSN RASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPYTFGQGTKVEIK
139105- aa 完全 CAR	983	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWV RQAPGKGLEWVSGISWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYY CSVHSFLAYWGQGTLVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSDIVMTQTPLSLPVTPGEPASI SCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLK ISRVEAEDVGVYYCMQALQTPYTFGQGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPE ACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQP FMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRRE EYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDG LYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
139105- nt 完全 CAR	984	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTC GGCCCCAAGTGCAACTCGTCGAATCCGGTGGAGGTCTGGTCCAACCTGGTAGAAGCCT GAGACTGTCGTGTGCGGCCAGCGGATTCACCTTTGATGACTATGCTATGCACTGGGTG CGGCAGGCCCCAGGAAAGGGCCTGGAATGGGTGTCGGGAATTAGCTGGAACTCCGGGT CCATTGGCTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGCTTCACCATCTCCCGCGACAACGCAAA GAACTCCCTGTACTTGCAAATGAACTCGCTCAGGGCTGAGGATACCGCGCTGTACTAC TGCTCCGTGCATTCCTTCCTGGCCTACTGGGGACAGGGAACTCTGGTCACCGTGTCGA GCGCCTCCGGCGGCGGGGGCTCGGGTGGACGGGCCTCGGGCGGAGGGGGGTCCGACAT CGTGATGACCCAGACCCCGCTGAGCTTGCCCGTGACTCCCGGAGAGCCTGCATCCATC TCCTGCCGGTCATCCCAGTCCCTTCTCCACTCCAACGGATACAACTACCTCGACTGGT ACCTCCAGAAGCCGGGACAGAGCCCTCAGCTTCTGATCTACCTGGGGTCAAATAGAGC

[1030]

		CTCAGGAGTGCCGGATCGGTTCAGCGGATCTGGTTCGGGAACTGATTTCACTCTGAAG ATTTCCCGCGTGGAAGCCGAGGACGTGGGCGTCTACTACTGTATGCAGGCGCTGCAGA CCCCCTATACCTTCGGCCAAGGGACGAAAGTGGAGATCAAGACCACTACCCCAGCACC GAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAG GCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCG ATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGT GATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCC TTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAG AGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCC AGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAG GAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGC GCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGA AGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGA CTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGG CCCTGCCGCCTCGG
139111		
139111- aa ScFv 结构域	985	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTY YAASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSSA SGGGGSGGRASGGGGSDIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLRNDGKTPLYWYL QKAGQPPQLLIYEVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGAYYCMQNIQFP SFGGGTKLEIK
139111- nt ScFv 结构域	986	GAAGTGCAATTGTTGGAATCTGGAGGAGGACTTGTGCAGCCTGGAGGATCACTGAGAC TTTCGTGTGCGGTGTCAGGCTTCGCCCTGAGCAACCACGGCATGAGCTGGGTGCGGAG AGCCCCGGGGAAGGGTCTGGAATGGGTGTCCGGGATCGTCTACTCCGGTTCAACTTAC TACGCCGCAAGCGTGAAGGGTCGCTTCACCATTTCCCGCGATAACTCCCGGAACACCC TGTACCTCCAAATGAACTCCCTGCGGCCCGAGGACACCGCCATCTACTACTGTTCCGC GCATGGAGGAGAGTCCGATGTCTGGGGACAGGGCACTACCGTGACCGTGTCGAGCGCC TCGGGGGGAGGAGGCTCCGGCGGTCGCGCCTCCGGGGGGGGTGGCAGCGACATTGTGA TGACGCAGACTCCACTCTCGCTGTCCGTGACCCCGGGACAGCCCGCGTCCATCTCGTG CAAGAGCTCCCAGAGCCTGCTGAGGAACGACGGAAAGACTCCTCTGTATTGGTACCTC CAGAAGGCTGGACAGCCCCCGCAACTGCTCATCTACGAAGTGTCAAATCGCTTCTCCG GGGTGCCGGATCGGTTTTCCGGCTCGGGATCGGGCACCGACTTCACCCTGAAAATCTC CAGGGTCGAGGCCGAGGACGTGGGAGCCTACTACTGCATGCAAAACATCCAGTTCCCT TCCTTCGGCGGCGGCACAAAGCTGGAGATTAAG
139111- aa VH	987	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTY YAASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSS
139111- aa VL	988	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLRNDGKTPLYWYLQKAGQPPQLLIYEVSN RFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGAYYCMQNIQFPSFGGGTKLEIK
139111- aa 完全 CAR	989	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWV RRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYC SAHGGESDVWGQGTTVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSDIVMTQTPLSLSVTPGQPASI SCKSSQSLLRNDGKTPLYWYLQKAGQPPQLLIYEVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLK ISRVEAEDVGAYYCMQNIQFPSFGGGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEA CRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPF MRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREE YDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGL YQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
139111- nt 完全 CAR	990	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTC GGCCCGAAGTGCAATTGTTGGAATCTGGAGGAGGACTTGTGCAGCCTGGAGGATCACT GAGACTTTCGTGTGCGGTGTCAGGCTTCGCCCTGAGCAACCACGGCATGAGCTGGGTG CGGAGAGCCCCGGGGAAGGGTCTGGAATGGGTGTCCGGGATCGTCTACTCCGGTTCAA CTTACTACGCCGCAAGCGTGAAGGGTCGCTTCACCATTTCCCGCGATAACTCCCGGAA CACCCTGTACCTCCAAATGAACTCCCTGCGGCCCGAGGACACCGCCATCTACTACTGT TCCGCGCATGGAGGAGAGTCCGATGTCTGGGGACAGGGCACTACCGTGACCGTGTCGA GCGCCTCGGGGGGAGGAGGCTCCGGCGGTCGCGCCTCCGGGGGGGGTGGCAGCGACAT TGTGATGACGCAGACTCCACTCTCGCTGTCCGTGACCCCGGGACAGCCCGCGTCCATC TCGTGCAAGAGCTCCCAGAGCCTGCTGAGGAACGACGGAAAGACTCCTCTGTATTGGT ACCTCCAGAAGGCTGGACAGCCCCCGCAACTGCTCATCTACGAAGTGTCAAATCGCTT

[1031]

		CTCCGGGGTGCCGGATCGGTTTTCCGGCTCGGGATCGGGCACCGACTTCACCCTGAAA ATCTCCAGGGTCGAGGCCGAGGACGTGGGAGCCTACTACTGCATGCAAAACATCCAGT TCCCTTCCTTCGGCGGCGGCACAAAGCTGGAGATTAAGACCACTACCCCAGCACCGAG GCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCA TGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATA TCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGAT CACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTC ATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGG AGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGC CTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAG TACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCA GAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGC CTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTG TACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCC TGCCGCCTCGG
139100		
139100- aa ScFv 结构域	991	QVQLVQSGAEVRKTGASVKVSCKASGYIFDNFGINWVRQAPGQGLEWMGWINPKNNNT NYAQKFQGRVTITADESTNTAYMEVSSLRSEDTAVYYCARGPYYYQSYMDVWGQGTMV TVSSASGGGGSGGRASGGGGSDIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNY LNWYLQKPGQSPQLLIYLGSKRASGVPDRFSGSGSGTDFTLHITRVGAEDVGVYYCMQ ALQTPYTFGQGTKLEIK
139100- nt ScFv 结构域	992	CAAGTCCAACTCGTCCAGTCCGGCGCAGAAGTCAGAAAAACCGGTGCTAGCGTGAAAG TGTCCTGCAAGGCCTCCGGCTACATTTTCGATAACTTCGGAATCAACTGGGTCAGACA GGCCCCGGGCCAGGGGCTGGAATGGATGGGATGGATCAACCCCAAGAACAACAACACC AACTACGCACAGAAGTTCCAGGGCCGCGTGACTATCACCGCCGATGAATCGACCAATA CCGCCTACATGGAGGTGTCCTCCCTGCGGTCGGAGGACACTGCCGTGTATTACTGCGC GAGGGGCCCATACTACTACCAAAGCTACATGGACGTCTGGGGACAGGGAACCATGGTG ACCGTGTCATCCGCCTCCGGTGGTGGAGGCTCCGGGGGGCGGGCTTCAGGAGGCGGAG GAAGCGATATTGTGATGACCCAGACTCCGCTTAGCCTGCCCGTGACTCCTGGAGAACC GGCCTCCATTTCCTGCCGGTCCTCGCAATCACTCCTGCATTCCAACGGTTACAACTAC CTGAATTGGTACCTCCAGAAGCCTGGCCAGTCGCCCCAGTTGCTGATCTATCTGGGCT CGAAGCGCGCCTCCGGGGTGCCTGACCGGTTTAGCGGATCTGGGAGCGGCACGGACTT CACTCTCCACATCACCCGCGTGGGAGCGGAGGACGTGGGAGTGTACTACTGTATGCAG GCGCTGCAGACTCCGTACACATTCGGACAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAG
139100- aa VH	993	QVQLVQSGAEVRKTGASVKVSCKASGYIFDNFGINWVRQAPGQGLEWMGWINPKNNNT NYAQKFQGRVTITADESTNTAYMEVSSLRSEDTAVYYCARGPYYYQSYMDVWGQGTMV TVSS
139100- aa VL	994	DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLNWYLQKPGQSPQLLIYLGSK RASGVPDRFSGSGSGTDFTLHITRVGAEDVGVYYCMQALQTPYTFGQGTKLEIK
139100- aa 完全 CAR	995	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVRKTGASVKVSCKASGYIFDNFGINWV RQAPGQGLEWMGWINPKNNNTNYAQKFQGRVTITADESTNTAYMEVSSLRSEDTAVYY CARGPYYYQSYMDVWGQGTMVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSDIVMTQTPLSLPVTPG EPASISCRSSQSLLHSNGYNYLNWYLQKPGQSPQLLIYLGSKRASGVPDRFSGSGSGT DFTLHITRVGAEDVGVYYCMQALQTPYTFGQGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPL SLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLY IFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELN LGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRG KGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
139100- nt 完全 CAR	996	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTC GGCCCCAAGTCCAACTCGTCCAGTCCGGCGCAGAAGTCAGAAAAACCGGTGCTAGCGT GAAAGTGTCCTGCAAGGCCTCCGGCTACATTTTCGATAACTTCGGAATCAACTGGGTC AGACAGGCCCCGGGCCAGGGGCTGGAATGGATGGGATGGATCAACCCCAAGAACAACA ACACCAACTACGCACAGAAGTTCCAGGGCCGCGTGACTATCACCGCCGATGAATCGAC CAATACCGCCTACATGGAGGTGTCCTCCCTGCGGTCGGAGGACACTGCCGTGTATTAC TGCGCGAGGGGCCCATACTACTACCAAAGCTACATGGACGTCTGGGGACAGGGAACCA TGGTGACCGTGTCATCCGCCTCCGGTGGTGGAGGCTCCGGGGGGCGGGCTTCAGGAGG CGGAGGAAGCGATATTGTGATGACCCAGACTCCGCTTAGCCTGCCCGTGACTCCTGGA GAACCGGCCTCCATTTCCTGCCGGTCCTCGCAATCACTCCTGCATTCCAACGGTTACA

[1032]

		ACTACCTGAATTGGTACCTCCAGAAGCCTGGCCAGTCGCCCCAGTTGCTGATCTATCT GGGCTCGAAGCGCGCCTCCGGGGTGCCTGACCGGTTTAGCGGATCTGGGAGCGGCACG GACTTCACTCTCCACATCACCCGCGTGGGAGCGGAGGACGTGGGAGTGTACTACTGTA TGCAGGCGCTGCAGACTCCGTACACATTCGGACAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAGAC CACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTG TCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTC TTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCT GCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTAC ATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTT CATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCG CAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAAT CTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAA TGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAA GGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGC AAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACG CTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
139101		
139101- aa ScFv 结构域	997	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSDAMTWVRQAPGKGLEWVSVISGSGGTT YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKLDSSGYYYARGPRYWGQG TLVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSDIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLN WYQQKPGKAPKLLIYGASTLASGVPARFSGSGSGTHFTLTINSLQSEDSATYYCQQSY KRASFGQGTKVEIK
139101- nt ScFv 结构域	998	CAAGTGCAACTTCAAGAATCAGGCGGAGGACTCGTGCAGCCCGGAGGATCATTGCGGC TCTCGTGCGCCGCCTCGGGCTTCACCTTCTCGAGCGACGCCATGACCTGGGTCCGCCA GGCCCCGGGGAAGGGGCTGGAATGGGTGTCTGTGATTTCCGGCTCCGGGGGAACTACG TACTACGCCGATTCCGTGAAAGGTCGCTTCACTATCTCCCGGGACAACAGCAAGAACA CCCTTTATCTGCAAATGAATTCCCTCCGCGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGC CAAGCTGGACTCCTCGGGCTACTACTATGCCCGGGGTCCGAGATACTGGGGACAGGGA ACCCTCGTGACCGTGTCCTCCGCGTCCGGCGGAGGAGGGTCGGGAGGGCGGGCCTCCG GCGGCGGCGGTTCGGACATCCAGCTGACCCAGTCCCCATCCTCACTGAGCGCAAGCGT GGGCGACAGAGTCACCATTACATGCAGGGCGTCCCAGAGCATCAGCTCCTACCTGAAC TGGTACCAACAGAAGCCTGGAAAGGCTCCTAAGCTGTTGATCTACGGGGCTTCGACCC TGGCATCCGGGGTGCCCGCGAGGTTTAGCGGAAGCGGTAGCGGCACTCACTTCACTCT GACCATTAACAGCCTCCAGTCCGAGGATTCAGCCACTTACTACTGTCAGCAGTCCTAC AAGCGGGCCAGCTTCGGACAGGGCACTAAGGTCGAGATCAAG
139101- aa VH	999	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSDAMTWVRQAPGKGLEWVSVISGSGGTT YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKLDSSGYYYARGPRYWGQG TLVTVSS
139101- aa VL	1000	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYGASTLASGV PARFSGSGSGTHFTLTINSLQSEDSATYYCQQSYKRASFGQGTKVEIK
139101- aa 完全 CAR	1001	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSDAMTWV RQAPGKGLEWVSVISGSGGTTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CAKLDSSGYYYARGPRYWGQGTLVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSDIQLTQSPSSLSA SVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYGASTLASGVPARFSGSGSGTHF TLTINSLQSEDSATYYCQQSYKRASFGQGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLR PEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFK QPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGR REEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGH DGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
139101- nt 完全 CAR	1002	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTC GGCCCCAAGTGCAACTTCAAGAATCAGGCGGAGGACTCGTGCAGCCCGGAGGATCATT GCGGCTCTCGTGCGCCGCCTCGGGCTTCACCTTCTCGAGCGACGCCATGACCTGGGTC CGCCAGGCCCCGGGGAAGGGGCTGGAATGGGTGTCTGTGATTTCCGGCTCCGGGGGAA CTACGTACTACGCCGATTCCGTGAAAGGTCGCTTCACTATCTCCCGGGACAACAGCAA GAACACCCTTTATCTGCAAATGAATTCCCTCCGCGCCGAGGACACCGCCGTGTACTAC TGCGCCAAGCTGGACTCCTCGGGCTACTACTATGCCCGGGGTCCGAGATACTGGGGAC AGGGAACCCTCGTGACCGTGTCCTCCGCGTCCGGCGGAGGAGGGTCGGGAGGGCGGGC CTCCGGCGGCGGCGGTTCGGACATCCAGCTGACCCAGTCCCCATCCTCACTGAGCGCA

[1033]

		AGCGTGGGCGACAGAGTCACCATTACATGCAGGGCGTCCCAGAGCATCAGCTCCTACC TGAACTGGTACCAACAGAAGCCTGGAAAGGCTCCTAAGCTGTTGATCTACGGGGCTTC GACCCTGGCATCCGGGGTGCCCGCGAGGTTTAGCGGAAGCGGTAGCGGCACTCACTTC ACTCTGACCATTAACAGCCTCCAGTCCGAGGATTCAGCCACTTACTACTGTCAGCAGT CCTACAAGCGGGCCAGCTTCGGACAGGGCACTAAGGTCGAGATCAAGACCACTACCCC AGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGT CCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCG CCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTC ACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAG CAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGT TCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGA TGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGG AGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGA AGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGAT GGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCAC GACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACA TGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
139102		
139102- aa ScFv 结构域	1003	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSNYGITWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNT NYAQKFQGRVTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGPYYYYMDVWGKGTMVTV SSASGGGGSGGRASGGGGSEIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLYSNGYNYVD WYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFKLQISRVEAEDVGIYYCMQGR QFPYSFGQGTKVEIK
139102- nt ScFv 结构域	1004	CAAGTCCAACTGGTCCAGAGCGGTGCAGAAGTGAAGAAGCCCGGAGCGAGCGTGAAAG TGTCCTGCAAGGCTTCCGGGTACACCTTCTCCAACTACGGCATCACTTGGGTGCGCCA GGCCCCGGGACAGGGCCTGGAATGGATGGGGTGGATTTCCGCGTACAACGGCAATACG AACTACGCTCAGAAGTTCCAGGGTAGAGTGACCATGACTAGGAACACCTCCATTTCCA CCGCCTACATGGAACTGTCCTCCCTGCGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGCGC CCGGGGACCATACTACTACTACATGGATGTCTGGGGGAAGGGGACTATGGTCACCGTG TCATCCGCCTCGGGAGGCGGCGGATCAGGAGGACGCGCCTCTGGTGGTGGAGGATCGG AGATCGTGATGACCCAGAGCCCTCTCTCCTTGCCCGTGACTCCTGGGGAGCCCGCATC CATTTCATGCCGGAGCTCCCAGTCACTTCTCTACTCCAACGGCTATAACTACGTGGAT TGGTACCTCCAAAAGCCGGGCCAGAGCCCGCAGCTGCTGATCTACCTGGGCTCGAACA GGGCCAGCGGAGTGCCTGACCGGTTCTCCGGGTCGGGAAGCGGGACCGACTTCAAGCT GCAAATCTCGAGAGTGGAGGCCGAGGACGTGGGAATCTACTACTGTATGCAGGGCCGC CAGTTTCCGTACTCGTTCGGACAGGGCACCAAAGTGGAAATCAAG
139102- aa VH	1005	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSNYGITWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGNT NYAQKFQGRVTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGPYYYYMDVWGKGTMVTV SS
139102- aa VL	1006	EIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLYSNGYNYVDWYLQKPGQSPQLLIYLGSN RASGVPDRFSGSGSGTDFKLQISRVEAEDVGIYYCMQGRQFPYSFGQGTKVEIK
139102- aa 完全 CAR	1007	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFSNYGITWV RQAPGQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKFQGRVTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYY CARGPYYYYMDVWGKGTMVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSEIVMTQSPLSLPVTPGEP ASISCRSSQSLLYSNGYNYVDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDF KLQISRVEAEDVGIYYCMQGRQFPYSFGQGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSL RPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIF KQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLG RREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKG HDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
139102- nt 完全 CAR	1008	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTC GGCCCCAAGTCCAACTGGTCCAGAGCGGTGCAGAAGTGAAGAAGCCCGGAGCGAGCGT GAAAGTGTCCTGCAAGGCTTCCGGGTACACCTTCTCCAACTACGGCATCACTTGGGTG CGCCAGGCCCCGGGACAGGGCCTGGAATGGATGGGGTGGATTTCCGCGTACAACGGCA ATACGAACTACGCTCAGAAGTTCCAGGGTAGAGTGACCATGACTAGGAACACCTCCAT TTCCACCGCCTACATGGAACTGTCCTCCCTGCGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTAT TGCGCCCGGGGACCATACTACTACTACATGGATGTCTGGGGGAAGGGGACTATGGTCA CCGTGTCATCCGCCTCGGGAGGCGGCGGATCAGGAGGACGCGCCTCTGGTGGTGGAGG

[1034]

		ATCGGAGATCGTGATGACCCAGAGCCCTCTCTCCTTGCCCGTGACTCCTGGGGAGCCC GCATCCATTTCATGCCGGAGCTCCCAGTCACTTCTCTACTCCAACGGCTATAACTACG TGGATTGGTACCTCCAAAAGCCGGGCCAGAGCCCGCAGCTGCTGATCTACCTGGGCTC GAACAGGGCCAGCGGAGTGCCTGACCGGTTCTCCGGGTCGGGAAGCGGGACCGACTTC AAGCTGCAAATCTCGAGAGTGGAGGCCGAGGACGTGGGAATCTACTACTGTATGCAGG GCCGCCAGTTTCCGTACTCGTTCGGACAGGGCACCAAAGTGGAAATCAAGACCACTAC CCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTG CGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACT TCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCT TTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTT AAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCC GGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGC AGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGT CGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCG GGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAA GATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGC CACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTC ACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
139104		
139104- aa ScFv 结构域	1009	EVQLLETGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTY YAASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSSA SGGGGSGGRASGGGGSEIVLTQSPATLSVSPGESATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQ APRLLIYGASTRASGIPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYGSSLTFGGG TKVEIK
139104- nt ScFv 结构域	1010	GAAGTGCAATTGCTCGAAACTGGAGGAGGTCTGGTGCAACCTGGAGGATCACTTCGCC TGTCCTGCGCCGTGTCGGGCTTTGCCCTGTCCAACCATGGAATGAGCTGGGTCCGCCG CGCGCCGGGGAAGGGCCTCGAATGGGTGTCCGGCATCGTCTACTCCGGCTCCACCTAC TACGCCGCGTCCGTGAAGGGCCGGTTCACGATTTCACGGGACAACTCGCGGAACACCC TGTACCTCCAAATGAATTCCCTTCGGCCGGAGGATACTGCCATCTACTACTGCTCCGC CCACGGTGGCGAATCCGACGTCTGGGGCCAGGGAACCACCGTGACCGTGTCCAGCGCG TCCGGGGGAGGAGGAAGCGGGGGTAGAGCATCGGGTGGAGGCGGATCAGAGATCGTGC TGACCCAGTCCCCCGCCACCTTGAGCGTGTCACCAGGAGAGTCCGCCACCCTGTCATG CCGCGCCAGCCAGTCCGTGTCCTCCAACCTGGCTTGGTACCAGCAGAAGCCGGGGCAG GCCCCTAGACTCCTGATCTATGGGGCGTCGACCCGGGCATCTGGAATTCCCGATAGGT TCAGCGGATCGGGCTCGGGCACTGACTTCACTCTGACCATCTCCTCGCTGCAAGCCGA GGACGTGGCTGTGTACTACTGTCAGCAGTACGGAAGCTCCCTGACTTTCGGTGGCGGG ACCAAAGTCGAGATTAAG
139104- aa VH	1011	EVQLLETGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTY YAASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSS
139104- aa VL	1012	EIVLTQSPATLSVSPGESATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRASGI PDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYGSSLTFGGGTKVEIK
139104- aa 完全 CAR	1013	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLLETGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWV RRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYC SAHGGESDVWGQGTTVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSEIVLTQSPATLSVSPGESATL SCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRASGIPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQ AEDVAVYYCQQYGSSLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAA GGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQ TTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLD KRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLS TATKDTYDALHMQALPPR
139104- nt 完全 CAR	1014	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTC GGCCCGAAGTGCAATTGCTCGAAACTGGAGGAGGTCTGGTGCAACCTGGAGGATCACT TCGCCTGTCCTGCGCCGTGTCGGGCTTTGCCCTGTCCAACCATGGAATGAGCTGGGTC CGCCGCGCGCCGGGGAAGGGCCTCGAATGGGTGTCCGGCATCGTCTACTCCGGCTCCA CCTACTACGCCGCGTCCGTGAAGGGCCGGTTCACGATTTCACGGGACAACTCGCGGAA CACCCTGTACCTCCAAATGAATTCCCTTCGGCCGGAGGATACTGCCATCTACTACTGC TCCGCCCACGGTGGCGAATCCGACGTCTGGGGCCAGGGAACCACCGTGACCGTGTCCA GCGCGTCCGGGGGAGGAGGAAGCGGGGGTAGAGCATCGGGTGGAGGCGGATCAGAGAT

[1035]

		CGTGCTGACCCAGTCCCCCGCCACCTTGAGCGTGTCACCAGGAGAGTCCGCCACCCTG TCATGCCGCGCCAGCCAGTCCGTGTCCTCCAACCTGGCTTGGTACCAGCAGAAGCCGG GGCAGGCCCCTAGACTCCTGATCTATGGGGCGTCGACCCGGGCATCTGGAATTCCCGA TAGGTTCAGCGGATCGGGCTCGGGCACTGACTTCACTCTGACCATCTCCTCGCTGCAA GCCGAGGACGTGGCTGTGTACTACTGTCAGCAGTACGGAAGCTCCCTGACTTTCGGTG GCGGGACCAAAGTCGAGATTAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGC TCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCT GGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCC CTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAA GCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAG ACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCT GCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCA GAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGAC AAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAG AGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGG TATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGC ACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
139106		
139106- aa ScFv 结构域	1015	EVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTY YAASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSSA SGGGGSGGRASGGGGSEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSKLAWYQQKPGQ APRLLMYGASIRATGIPDRFSGSGSGTEFTLTISSLEPEDFAVYYCQQYGSSSWTFGQ GTKVEIK
139106- nt ScFv 结构域	1016	GAAGTGCAATTGGTGGAAACTGGAGGAGGACTTGTGCAACCTGGAGGATCATTGAGAC TGAGCTGCGCAGTGTCGGGATTCGCCCTGAGCAACCATGGAATGTCCTGGGTCAGAAG GGCCCCTGGAAAAGGCCTCGAATGGGTGTCAGGGATCGTGTACTCCGGTTCCACTTAC TACGCCGCCTCCGTGAAGGGGCGCTTCACTATCTCACGGGATAACTCCCGCAATACCC TGTACCTCCAAATGAACAGCCTGCGGCCGGAGGATACCGCCATCTACTACTGTTCCGC CCACGGTGGAGAGTCTGACGTCTGGGGCCAGGGAACTACCGTGACCGTGTCCTCCGCG TCCGGCGGTGGAGGGAGCGGCGGCCGCGCCAGCGGCGGCGGAGGCTCCGAGATCGTGA TGACCCAGAGCCCCGCTACTCTGTCGGTGTCGCCCGGAGAAAGGGCGACCCTGTCCTG CCGGGCGTCGCAGTCCGTGAGCAGCAAGCTGGCTTGGTACCAGCAGAAGCCGGGCCAG GCACCACGCCTGCTTATGTACGGTGCCTCCATTCGGGCCACCGGAATCCCGGACCGGT TCTCGGGGTCGGGGTCCGGTACCGAGTTCACACTGACCATTTCCTCGCTCGAGCCCGA GGACTTTGCCGTCTATTACTGCCAGCAGTACGGCTCCTCCTCATGGACGTTCGGCCAG GGGACCAAGGTCGAAATCAAG
139106- aa VH	1017	EVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTY YAASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSS
139106- aa VL	1018	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSKLAWYQQKPGQAPRLLMYGASIRATGI PDRFSGSGSGTEFTLTISSLEPEDFAVYYCQQYGSSSWTFGQGTKVEIK
139106- aa 完全 CAR	1019	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWV RRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYC SAHGGESDVWGQGTTVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSEIVMTQSPATLSVSPGERATL SCRASQSVSSKLAWYQQKPGQAPRLLMYGASIRATGIPDRFSGSGSGTEFTLTISSLE PEDFAVYYCQQYGSSSWTFGQGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPA AGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPV QTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVL DKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGL STATKDTYDALHMQALPPR
139106- nt 完全 CAR	1020	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTC GGCCCGAAGTGCAATTGGTGGAAACTGGAGGAGGACTTGTGCAACCTGGAGGATCATT GAGACTGAGCTGCGCAGTGTCGGGATTCGCCCTGAGCAACCATGGAATGTCCTGGGTC AGAAGGGCCCCTGGAAAAGGCCTCGAATGGGTGTCAGGGATCGTGTACTCCGGTTCCA CTTACTACGCCGCCTCCGTGAAGGGGCGCTTCACTATCTCACGGGATAACTCCCGCAA TACCCTGTACCTCCAAATGAACAGCCTGCGGCCGGAGGATACCGCCATCTACTACTGT TCCGCCCACGGTGGAGAGTCTGACGTCTGGGGCCAGGGAACTACCGTGACCGTGTCCT CCGCGTCCGGCGGTGGAGGGAGCGGCGGCCGCGCCAGCGGCGGCGGAGGCTCCGAGAT CGTGATGACCCAGAGCCCCGCTACTCTGTCGGTGTCGCCCGGAGAAAGGGCGACCCTG

[1036]

		TCCTGCCGGGCGTCGCAGTCCGTGAGCAGCAAGCTGGCTTGGTACCAGCAGAAGCCGG GCCAGGCACCACGCCTGCTTATGTACGGTGCCTCCATTCGGGCCACCGGAATCCCGGA CCGGTTCTCGGGGTCGGGGTCCGGTACCGAGTTCACACTGACCATTTCCTCGCTCGAG CCCGAGGACTTTGCCGTCTATTACTGCCAGCAGTACGGCTCCTCCTCATGGACGTTCG GCCAGGGGACCAAGGTCGAAATCAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCC GGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCA GCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGG CCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTG TAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTG CAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCG GCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGG GCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTG GACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCC AAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGAT TGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTC AGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
139107		
139107- aa ScFv 结构域	1021	EVQLVETGGGVVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTY YAASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSSA SGGGGSGGRASGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVGSTNLAWYQQKPG QAPRLLIYDASNRATGIPDRFSGGGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPPWTF GQGTKVEIK
139107- nt ScFv 结构域	1022	GAAGTGCAATTGGTGGAGACTGGAGGAGGAGTGGTGCAACCTGGAGGAAGCCTGAGAC TGTCATGCGCGGTGTCGGGCTTCGCCCTCTCCAACCACGGAATGTCCTGGGTCCGCCG GGCCCCTGGGAAAGGACTTGAATGGGTGTCCGGCATCGTGTACTCGGGTTCCACCTAC TACGCGGCCTCAGTGAAGGGCCGGTTTACTATTAGCCGCGACAACTCCAGAAACACAC TGTACCTCCAAATGAACTCGCTGCGGCCGGAAGATACCGCTATCTACTACTGCTCCGC CCATGGGGGAGAGTCGGACGTCTGGGGACAGGGCACCACTGTCACTGTGTCCAGCGCT TCCGGCGGTGGTGGAAGCGGGGGACGGGCCTCAGGAGGCGGTGGCAGCGAGATTGTGC TGACCCAGTCCCCCGGGACCCTGAGCCTGTCCCCGGGAGAAAGGGCCACCCTCTCCTG TCGGGCATCCCAGTCCGTGGGGTCTACTAACCTTGCATGGTACCAGCAGAAGCCCGGC CAGGCCCCTCGCCTGCTGATCTACGACGCGTCCAATAGAGCCACCGGCATCCCGGATC GCTTCAGCGGAGGCGGATCGGGCACCGACTTCACCCTCACCATTTCAAGGCTGGAACC GGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGTATGGTTCGTCCCCACCCTGGACGTTC GGCCAGGGGACTAAGGTCGAGATCAAG
139107- aa VH	1023	EVQLVETGGGVVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTY YAASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSS
139107- aa VL	1024	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVGSTNLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATG IPDRFSGGGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPPWTFGQGTKVEIK
139107- aa 完全 CAR	1025	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVETGGGVVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWV RRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYC SAHGGESDVWGQGTTVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERATL SCRASQSVGSTNLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPDRFSGGGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSSPPWTFGQGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACR PAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMR PVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYD VLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQ GLSTATKDTYDALHMQALPPR
139107- nt 完全 CAR	1026	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTC GGCCCGAAGTGCAATTGGTGGAGACTGGAGGAGGAGTGGTGCAACCTGGAGGAAGCCT GAGACTGTCATGCGCGGTGTCGGGCTTCGCCCTCTCCAACCACGGAATGTCCTGGGTC CGCCGGGCCCCTGGGAAAGGACTTGAATGGGTGTCCGGCATCGTGTACTCGGGTTCCA CCTACTACGCGGCCTCAGTGAAGGGCCGGTTTACTATTAGCCGCGACAACTCCAGAAA CACACTGTACCTCCAAATGAACTCGCTGCGGCCGGAAGATACCGCTATCTACTACTGC TCCGCCCATGGGGGAGAGTCGGACGTCTGGGGACAGGGCACCACTGTCACTGTGTCCA GCGCTTCCGGCGGTGGTGGAAGCGGGGGACGGGCCTCAGGAGGCGGTGGCAGCGAGAT TGTGCTGACCCAGTCCCCCGGGACCCTGAGCCTGTCCCCGGGAGAAAGGGCCACCCTC TCCTGTCGGGCATCCCAGTCCGTGGGGTCTACTAACCTTGCATGGTACCAGCAGAAGC

[1037]

		CCGGCCAGGCCCCTCGCCTGCTGATCTACGACGCGTCCAATAGAGCCACCGGCATCCC GGATCGCTTCAGCGGAGGCGGATCGGGCACCGACTTCACCCTCACCATTTCAAGGCTG GAACCGGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGTATGGTTCGTCCCCACCCTGGA CGTTCGGCCAGGGGACTAAGGTCGAGATCAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACC CACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGA CCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACA TTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCT TTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGG CCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGG AAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAA GCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGAC GTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGA ATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAG CGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAG GGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGC CTCGG
139108		
139108- aa ScFv 结构域	1027	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTI YYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARESGDGMDVWGQGTTVTVS SASGGGGSGGRASGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKP GKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYTLAFGQ GTKVDIK
139108- nt ScFv 结构域	1028	CAAGTGCAACTCGTGGAATCTGGTGGAGGACTCGTGAAACCTGGAGGATCATTGAGAC TGTCATGCGCGGCCTCGGGATTCACGTTCTCCGATTACTACATGAGCTGGATTCGCCA GGCTCCGGGGAAGGGACTGGAATGGGTGTCCTACATTTCCTCATCCGGCTCCACCATC TACTACGCGGACTCCGTGAAGGGGAGATTCACCATTAGCCGCGATAACGCCAAGAACA GCCTGTACCTTCAGATGAACTCCCTGCGGGCTGAAGATACTGCCGTCTACTACTGCGC AAGGGAGAGCGGAGATGGGATGGACGTCTGGGGACAGGGTACCACTGTGACCGTGTCG TCGGCCTCCGGCGGAGGGGGTTCGGGTGGAAGGGCCAGCGGCGGCGGAGGCAGCGACA TCCAGATGACCCAGTCCCCCTCATCGCTGTCCGCCTCCGTGGGCGACCGCGTCACCAT CACATGCCGGGCCTCACAGTCGATCTCCTCCTACCTCAATTGGTATCAGCAGAAGCCC GGAAAGGCCCCTAAGCTTCTGATCTACGCAGCGTCCTCCCTGCAATCCGGGGTCCCAT CTCGGTTCTCCGGCTCGGGCAGCGGTACCGACTTCACTCTGACCATCTCGAGCCTGCA GCCGGAGGACTTCGCCACTTACTACTGTCAGCAAAGCTACACCCTCGCGTTTGGCCAG GGCACCAAAGTGGACATCAAG
139108- aa VH	1029	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTI YYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARESGDGMDVWGQGTTVTVS S
139108- aa VL	1030	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGV PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYTLAFGQGTKVDIK
139108- aa 完全 CAR	1031	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWI RQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYY CARESGDGMDVWGQGTTVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRV TITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCQQSYTLAFGQGTKVDIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPA AGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPV QTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVL DKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGL STATKDTYDALHMQALPPR
139108- nt 完全 CAR	1032	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTC GGCCCCAAGTGCAACTCGTGGAATCTGGTGGAGGACTCGTGAAACCTGGAGGATCATT GAGACTGTCATGCGCGGCCTCGGGATTCACGTTCTCCGATTACTACATGAGCTGGATT CGCCAGGCTCCGGGGAAGGGACTGGAATGGGTGTCCTACATTTCCTCATCCGGCTCCA CCATCTACTACGCGGACTCCGTGAAGGGGAGATTCACCATTAGCCGCGATAACGCCAA GAACAGCCTGTACCTTCAGATGAACTCCCTGCGGGCTGAAGATACTGCCGTCTACTAC TGCGCAAGGGAGAGCGGAGATGGGATGGACGTCTGGGGACAGGGTACCACTGTGACCG TGTCGTCGGCCTCCGGCGGAGGGGGTTCGGGTGGAAGGGCCAGCGGCGGCGGAGGCAG CGACATCCAGATGACCCAGTCCCCCTCATCGCTGTCCGCCTCCGTGGGCGACCGCGTC

[1038]

		ACCATCACATGCCGGGCCTCACAGTCGATCTCCTCCTACCTCAATTGGTATCAGCAGA AGCCCGGAAAGGCCCCTAAGCTTCTGATCTACGCAGCGTCCTCCCTGCAATCCGGGGT CCCATCTCGGTTCTCCGGCTCGGGCAGCGGTACCGACTTCACTCTGACCATCTCGAGC CTGCAGCCGGAGGACTTCGCCACTTACTACTGTCAGCAAAGCTACACCCTCGCGTTTG GCCAGGGCACCAAAGTGGACATCAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCC GGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCA GCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGG CCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTG TAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTG CAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCG GCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGG GCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTG GACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCC AAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGAT TGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTC AGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
139110		
139110- aa ScFv 结构域	1033	QVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGNTI YYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSTMVREDYWGQGTLVTVS SASGGGGSGGRASGGGGSDIVLTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSESLVHNSGKTYLNW FHQRPGQSPRRLIYEVSNRDSGVPDRFTGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTH WPGTFGQGTKLEIK
139110- nt ScFv 结构域	1034	CAAGTGCAACTGGTGCAAAGCGGAGGAGGATTGGTCAAACCCGGAGGAAGCCTGAGAC TGTCATGCGCGGCCTCTGGATTCACCTTCTCCGATTACTACATGTCATGGATCAGACA GGCCCCGGGGAAGGGCCTCGAATGGGTGTCCTACATCTCGTCCTCCGGGAACACCATC TACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGCTTTACCATTTCCCGCGACAACGCAAAGAACT CGCTGTACCTTCAGATGAATTCCCTGCGGGCTGAAGATACCGCGGTGTACTATTGCGC CCGGTCCACTATGGTCCGGGAGGACTACTGGGGACAGGGCACACTCGTGACCGTGTCC AGCGCGAGCGGGGGTGGAGGCAGCGGTGGACGCGCCTCCGGCGGCGGCGGTTCAGACA TCGTGCTGACTCAGTCGCCCCTGTCGCTGCCGGTCACCCTGGGCCAACCGGCCTCAAT TAGCTGCAAGTCCTCGGAGAGCCTGGTGCACAACTCAGGAAAGACTTACCTGAACTGG TTCCATCAGCGGCCTGGACAGTCCCCACGGAGGCTCATCTATGAAGTGTCCAACAGGG ATTCGGGGGTGCCCGACCGCTTCACTGGCTCCGGGTCCGGCACCGACTTCACCTTGAA AATCTCCAGAGTGGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTACTGTATGCAGGGTACCCAC TGGCCTGGAACCTTTGGACAAGGAACTAAGCTCGAGATTAAG
139110- aa VH	1035	QVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGNTI YYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSTMVREDYWGQGTLVTVS S
139110- aa VL	1036	DIVLTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSESLVHNSGKTYLNWFHQRPGQSPRRLIYEVSN RDSGVPDRFTGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPGTFGQGTKLEIK
139110- aa 完全 CAR	1037	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWI RQAPGKGLEWVSYISSSGNTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYY CARSTMVREDYWGQGTLVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSDIVLTQSPLSLPVTLGQPA SISCKSSESLVHNSGKTYLNWFHQRPGQSPRRLIYEVSNRDSGVPDRFTGSGSGTDFT LKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWPGTFGQGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLR PEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFK QPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGR REEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGH DGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
139110- nt 完全 CAR	1038	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTC GGCCCCAAGTGCAACTGGTGCAAAGCGGAGGAGGATTGGTCAAACCCGGAGGAAGCCT GAGACTGTCATGCGCGGCCTCTGGATTCACCTTCTCCGATTACTACATGTCATGGATC AGACAGGCCCCGGGGAAGGGCCTCGAATGGGTGTCCTACATCTCGTCCTCCGGGAACA CCATCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGCTTTACCATTTCCCGCGACAACGCAAA GAACTCGCTGTACCTTCAGATGAATTCCCTGCGGGCTGAAGATACCGCGGTGTACTAT TGCGCCCGGTCCACTATGGTCCGGGAGGACTACTGGGGACAGGGCACACTCGTGACCG TGTCCAGCGCGAGCGGGGGTGGAGGCAGCGGTGGACGCGCCTCCGGCGGCGGCGGTTC AGACATCGTGCTGACTCAGTCGCCCCTGTCGCTGCCGGTCACCCTGGGCCAACCGGCC

		TCAATTAGCTGCAAGTCCTCGGAGAGCCTGGTGCACAACTCAGGAAAGACTTACCTGA ACTGGTTCCATCAGCGGCCTGGACAGTCCCCACGGAGGCTCATCTATGAAGTGTCCAA CAGGGATTCGGGGGTGCCCGACCGCTTCACTGGCTCCGGGTCCGGCACCGACTTCACC TTGAAAATCTCCAGAGTGGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTACTGTATGCAGGGTA CCCACTGGCCTGGAACCTTTGGACAAGGAACTAAGCTCGAGATTAAGACCACTACCCC AGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGT CCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCG CCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTC ACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAG CAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGT TCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGA TGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGG AGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGA AGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGAT GGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCAC GACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACA TGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
139112		
139112- aa ScFv 结构域	1039	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTY YAASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSSA SGGGGSGGRASGGGGSDIRLTQSPSPLSASVGDRVTITCQASEDINKFLNWYHQTPGK APKLLIYDASTLQTGVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLQPEDIGTYYCQQYESLPLTFGG GTKVEIK
139112- nt ScFv 结构域	1040	CAAGTGCAACTCGTGGAATCTGGTGGAGGACTCGTGCAACCCGGTGGAAGCCTTAGGC TGTCGTGCGCCGTCAGCGGGTTTGCTCTGAGCAACCATGGAATGTCCTGGGTCCGCCG GGCACCGGGAAAAGGGCTGGAATGGGTGTCCGGCATCGTGTACAGCGGGTCAACCTAT TACGCCGCGTCCGTGAAGGGCAGATTCACTATCTCAAGAGACAACAGCCGGAACACCC TGTACTTGCAAATGAATTCCCTGCGCCCCGAGGACACCGCCATCTACTACTGCTCCGC CCACGGAGGAGAGTCGGACGTGTGGGGCCAGGGAACGACTGTGACTGTGTCCAGCGCA TCAGGAGGGGGTGGTTCGGGCGGCCGGGCCTCGGGGGGAGGAGGTTCCGACATTCGGC TGACCCAGTCCCCGTCCCCACTGTCGGCCTCCGTCGGCGACCGCGTGACCATCACTTG TCAGGCGTCCGAGGACATTAACAAGTTCCTGAACTGGTACCACCAGACCCCTGGAAAG GCCCCCAAGCTGCTGATCTACGATGCCTCGACCCTTCAAACTGGAGTGCCTAGCCGGT TCTCCGGGTCCGGCTCCGGCACTGATTTCACTCTGACCATCAACTCATTGCAGCCGGA AGATATCGGGACCTACTATTGCCAGCAGTACGAATCCCTCCCGCTCACATTCGGCGGG GGAACCAAGGTCGAGATTAAG
139112- aa VH	1041	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTY YAASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSS
139112- aa VL	1042	DIRLTQSPSPLSASVGDRVTITCQASEDINKFLNWYHQTPGKAPKLLIYDASTLQTGV PSRFSGSGSGTDFTLTINSLQPEDIGTYYCQQYESLPLTFGGGTKVEIK
139112- aa 完全 CAR	1043	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWV RRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYC SAHGGESDVWGQGTTVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSDIRLTQSPSPLSASVGDRVTI TCQASEDINKFLNWYHQTPGKAPKLLIYDASTLQTGVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLQ PEDIGTYYCQQYESLPLTFGGGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPA AGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPV QTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVL DKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGL STATKDTYDALHMQALPPR
139112- nt 完全 CAR	1044	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTC GGCCCCAAGTGCAACTCGTGGAATCTGGTGGAGGACTCGTGCAACCCGGTGGAAGCCT TAGGCTGTCGTGCGCCGTCAGCGGGTTTGCTCTGAGCAACCATGGAATGTCCTGGGTC CGCCGGGCACCGGGAAAAGGGCTGGAATGGGTGTCCGGCATCGTGTACAGCGGGTCAA CCTATTACGCCGCGTCCGTGAAGGGCAGATTCACTATCTCAAGAGACAACAGCCGGAA CACCCTGTACTTGCAAATGAATTCCCTGCGCCCCGAGGACACCGCCATCTACTACTGC TCCGCCCACGGAGGAGAGTCGGACGTGTGGGGCCAGGGAACGACTGTGACTGTGTCCA GCGCATCAGGAGGGGGTGGTTCGGGCGGCCGGGCCTCGGGGGGAGGAGGTTCCGACAT TCGGCTGACCCAGTCCCCGTCCCCACTGTCGGCCTCCGTCGGCGACCGCGTGACCATC

[1039]

[1040]

		ACTTGTCAGGCGTCCGAGGACATTAACAAGTTCCTGAACTGGTACCACCAGACCCCTG GAAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGATGCCTCGACCCTTCAAACTGGAGTGCCTAG CCGGTTCTCCGGGTCCGGCTCCGGCACTGATTTCACTCTGACCATCAACTCATTGCAG CCGGAAGATATCGGGACCTACTATTGCCAGCAGTACGAATCCCTCCCGCTCACATTCG GCGGGGGAACCAAGGTCGAGATTAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCC GGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCA GCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGG CCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTG TAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTG CAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCG GCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGG GCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTG GACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCC AAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGAT TGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTC AGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
139113		
139113- aa ScFv 结构域	1045	EVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTY YAASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSSA SGGGGSGGRASGGGGSETTLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGSNLAWYQQKPGQ GPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFAVYYCQQYNDWLPVTFG QGTKVEIK
139113- nt ScFv 结构域	1046	GAAGTGCAATTGGTGGAAACTGGAGGAGGACTTGTGCAACCTGGAGGATCATTGCGGC TCTCATGCGCTGTCTCCGGCTTCGCCCTGTCAAATCACGGGATGTCGTGGGTCAGACG GGCCCCGGGAAAGGGTCTGGAATGGGTGTCGGGGATTGTGTACAGCGGCTCCACCTAC TACGCCGCTTCGGTCAAGGGCCGCTTCACTATTTCACGGGACAACAGCCGCAACACCC TCTATCTGCAAATGAACTCTCTCCGCCCGGAGGATACCGCCATCTACTACTGCTCCGC ACACGGCGGCGAATCCGACGTGTGGGGACAGGGAACCACTGTCACCGTGTCGTCCGCA TCCGGTGGCGGAGGATCGGGTGGCCGGGCCTCCGGGGGCGGCGGCAGCGAGACTACCC TGACCCAGTCCCCTGCCACTCTGTCCGTGAGCCCGGGAGAGAGAGCCACCCTTAGCTG CCGGGCCAGCCAGAGCGTGGGCTCCAACCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCAGGACAG GGTCCCAGGCTGCTGATCTACGGAGCCTCCACTCGCGCGACCGGCATCCCCGCGAGGT TCTCCGGGTCGGGTTCCGGGACCGAGTTCACCCTGACCATCTCCTCCCTCCAACCGGA GGACTTCGCGGTGTACTACTGTCAGCAGTACAACGATTGGCTGCCCGTGACATTTGGA CAGGGGACGAAGGTGGAAATCAAA
139113- aa VH	1047	EVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTY YAASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSS
139113- aa VL	1048	ETTLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVGSNLAWYQQKPGQGPRLLIYGASTRATGI PARFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFAVYYCQQYNDWLPVTFGQGTKVEIK
139113- aa 完全 CAR	1049	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWV RRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYC SAHGGESDVWGQGTTVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSETTLTQSPATLSVSPGERATL SCRASQSVGSNLAWYQQKPGQGPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQ PEDFAVYYCQQYNDWLPVTFGQGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRP AAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRP VQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDV LDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQG LSTATKDTYDALHMQALPPR
139113- nt 完全 CAR	1050	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTC GGCCCGAAGTGCAATTGGTGGAAACTGGAGGAGGACTTGTGCAACCTGGAGGATCATT GCGGCTCTCATGCGCTGTCTCCGGCTTCGCCCTGTCAAATCACGGGATGTCGTGGGTC AGACGGGCCCCGGGAAAGGGTCTGGAATGGGTGTCGGGGATTGTGTACAGCGGCTCCA CCTACTACGCCGCTTCGGTCAAGGGCCGCTTCACTATTTCACGGGACAACAGCCGCAA CACCCTCTATCTGCAAATGAACTCTCTCCGCCCGGAGGATACCGCCATCTACTACTGC TCCGCACACGGCGGCGAATCCGACGTGTGGGGACAGGGAACCACTGTCACCGTGTCGT CCGCATCCGGTGGCGGAGGATCGGGTGGCCGGGCCTCCGGGGGCGGCGGCAGCGAGAC TACCCTGACCCAGTCCCCTGCCACTCTGTCCGTGAGCCCGGGAGAGAGAGCCACCCTT AGCTGCCGGGCCAGCCAGAGCGTGGGCTCCAACCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCAG

[1041]

		GACAGGGTCCCAGGCTGCTGATCTACGGAGCCTCCACTCGCGCGACCGGCATCCCCGC GAGGTTCTCCGGGTCGGGTTCCGGGACCGAGTTCACCCTGACCATCTCCTCCCTCCAA CCGGAGGACTTCGCGGTGTACTACTGTCAGCAGTACAACGATTGGCTGCCCGTGACAT TTGGACAGGGGACGAAGGTGGAAATCAAAACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCAC CCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCC GCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTT GGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTA CTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCT GTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAG GCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCA GGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTG CTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATC CCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGA GATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGA CTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTC GG
139114		
139114- aa ScFv 结构域	1051	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTY YAASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSSA SGGGGSGGRASGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSIGSSSLAWYQQKPG QAPRLLMYGASSRASGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYAGSPPFTF GQGTKVEIK
139114- nt ScFv 结构域	1052	GAAGTGCAATTGGTGGAATCTGGTGGAGGACTTGTGCAACCTGGAGGATCACTGAGAC TGTCATGCGCGGTGTCCGGTTTTGCCCTGAGCAATCATGGGATGTCGTGGGTCCGGCG CGCCCCCGGAAAGGGTCTGGAATGGGTGTCGGGTATCGTCTACTCCGGGAGCACTTAC TACGCCGCGAGCGTGAAGGGCCGCTTCACCATTTCCCGCGATAACTCCCGCAACACCC TGTACTTGCAAATGAACTCGCTCCGGCCTGAGGACACTGCCATCTACTACTGCTCCGC ACACGGAGGAGAATCCGACGTGTGGGGCCAGGGAACTACCGTGACCGTCAGCAGCGCC TCCGGCGGCGGGGGCTCAGGCGGACGGGCTAGCGGCGGCGGTGGCTCCGAGATCGTGC TGACCCAGTCGCCTGGCACTCTCTCGCTGAGCCCCGGGGAAAGGGCAACCCTGTCCTG TCGGGCCAGCCAGTCCATTGGATCATCCTCCCTCGCCTGGTATCAGCAGAAACCGGGA CAGGCTCCGCGGCTGCTTATGTATGGGGCCAGCTCAAGAGCCTCCGGCATTCCCGACC GGTTCTCCGGGTCCGGTTCCGGCACCGATTTCACCCTGACTATCTCGAGGCTGGAGCC AGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGTACGCGGGGTCCCCGCCGTTCACGTTC GGACAGGGAACCAAGGTCGAGATCAAG
139114- aa VH	1053	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWVRRAPGKGLEWVSGIVYSGSTY YAASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYCSAHGGESDVWGQGTTVTVSS
139114- aa VL	1054	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSIGSSSLAWYQQKPGQAPRLLMYGASSRASG IPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYAGSPPFTFGQGTKVEIK
139114- aa 完全 CAR	1055	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFALSNHGMSWV RRAPGKGLEWVSGIVYSGSTYYAASVKGRFTISRDNSRNTLYLQMNSLRPEDTAIYYC SAHGGESDVWGQGTTVTVSSASGGGGSGGRASGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERATL SCRASQSIGSSSLAWYQQKPGQAPRLLMYGASSRASGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYAGSPPFTFGQGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACR PAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMR PVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYD VLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQ GLSTATKDTYDALHMQALPPR
139114- nt 完全 CAR	1056	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTC GGCCCGAAGTGCAATTGGTGGAATCTGGTGGAGGACTTGTGCAACCTGGAGGATCACT GAGACTGTCATGCGCGGTGTCCGGTTTTGCCCTGAGCAATCATGGGATGTCGTGGGTC CGGCGCGCCCCCGGAAAGGGTCTGGAATGGGTGTCGGGTATCGTCTACTCCGGGAGCA CTTACTACGCCGCGAGCGTGAAGGGCCGCTTCACCATTTCCCGCGATAACTCCCGCAA CACCCTGTACTTGCAAATGAACTCGCTCCGGCCTGAGGACACTGCCATCTACTACTGC TCCGCACACGGAGGAGAATCCGACGTGTGGGGCCAGGGAACTACCGTGACCGTCAGCA GCGCCTCCGGCGGCGGGGGCTCAGGCGGACGGGCTAGCGGCGGCGGTGGCTCCGAGAT CGTGCTGACCCAGTCGCCTGGCACTCTCTCGCTGAGCCCCGGGGAAAGGGCAACCCTG TCCTGTCGGGCCAGCCAGTCCATTGGATCATCCTCCCTCGCCTGGTATCAGCAGAAAC

[1042]

		CGGGACAGGCTCCGCGGCTGCTTATGTATGGGGCCAGCTCAAGAGCCTCCGGCATTCC CGACCGGTTCTCCGGGTCCGGTTCCGGCACCGATTTCACCCTGACTATCTCGAGGCTG GAGCCAGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGTACGCGGGGTCCCCGCCGTTCA CGTTCGGACAGGGAACCAAGGTCGAGATCAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACC CACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGA CCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACA TTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCT TTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGG CCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGG AAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAA GCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGAC GTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGA ATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAG CGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAG GGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGC CTCGG
149362		
149362-aa ScFv 结构域	1057	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSYYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGS AYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLRLSSVTAADTAVYYCARHWQEWPDAFDIWGQGTM VTVSSGGGGSGGGGSGGGGSETTLTQSPAFMSATPGDKVIISCKASQDIDDAMNWYQQ KPGEAPLFIIQSATSPVPGIPPRFSGSGFGTDFSLTINNIESEDAAYYFCLQHDNFPL TFGQGTKLEIK
149362-nt ScFv 结构域	1058	CAAGTGCAGCTTCAGGAAAGCGGACCGGGCCTGGTCAAGCCATCCGAAACTCTCTCCC TGACTTGCACTGTGTCTGGCGGTTCCATCTCATCGTCGTACTACTACTGGGGCTGGAT TAGGCAGCCGCCCGGAAAGGGACTGGAGTGGATCGGAAGCATCTACTATTCCGGCTCG GCGTACTACAACCCTAGCCTCAAGTCGAGAGTGACCATCTCCGTGGATACCTCCAAGA ACCAGTTTTCCCTGCGCCTGAGCTCCGTGACCGCCGCTGACACCGCCGTGTACTACTG TGCTCGGCATTGGCAGGAATGGCCCGATGCCTTCGACATTTGGGGCCAGGGCACTATG GTCACTGTGTCATCCGGGGGTGGAGGCAGCGGGGGAGGAGGGTCCGGGGGGGGAGGTT CAGAGACAACCTTGACCCAGTCACCCGCATTCATGTCCGCCACTCCGGGAGACAAGGT CATCATCTCGTGCAAAGCGTCCCAGGATATCGACGATGCCATGAATTGGTACCAGCAG AAGCCTGGCGAAGCGCCGCTGTTCATTATCCAATCCGCAACCTCGCCCGTGCCTGGAA TCCCACCGCGGTTCAGCGGCAGCGGTTTCGGAACCGACTTTTCCCTGACCATTAACAA CATTGAGTCCGAGGACGCCGCCTACTACTTCTGCCTGCAACACGACAACTTCCCTCTC ACGTTCGGCCAGGGAACCAAGCTGGAAATCAAG
149362-aa VH	1059	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSYYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGS AYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLRLSSVTAADTAVYYCARHWQEWPDAFDIWGQGTM VTVSS
149362-aa VL	1060	ETTLTQSPAFMSATPGDKVIISCKASQDIDDAMNWYQQKPGEAPLFIIQSATSPVPGI PPRFSGSGFGTDFSLTINNIESEDAAYYFCLQHDNFPLTFGQGTKLEIK
149362-aa 完全 CAR	1061	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSYYYWG WIRQPPGKGLEWIGSIYYSGSAYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLRLSSVTAADTAVY YCARHWQEWPDAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSETTLTQSPAFMSATPGD KVIISCKASQDIDDAMNWYQQKPGEAPLFIIQSATSPVPGIPPRFSGSGFGTDFSLTI NNIESEDAAYYFCLQHDNFPLTFGQGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEA CRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPF MRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREE YDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGL YQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
149362-nt 完全 CAR	1062	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTC GGCCCCAAGTGCAGCTTCAGGAAAGCGGACCGGGCCTGGTCAAGCCATCCGAAACTCT CTCCCTGACTTGCACTGTGTCTGGCGGTTCCATCTCATCGTCGTACTACTACTGGGGC TGGATTAGGCAGCCGCCCGGAAAGGGACTGGAGTGGATCGGAAGCATCTACTATTCCG GCTCGGCGTACTACAACCCTAGCCTCAAGTCGAGAGTGACCATCTCCGTGGATACCTC CAAGAACCAGTTTTCCCTGCGCCTGAGCTCCGTGACCGCCGCTGACACCGCCGTGTAC TACTGTGCTCGGCATTGGCAGGAATGGCCCGATGCCTTCGACATTTGGGGCCAGGGCA CTATGGTCACTGTGTCATCCGGGGGTGGAGGCAGCGGGGGAGGAGGGTCCGGGGGGGG AGGTTCAGAGACAACCTTGACCCAGTCACCCGCATTCATGTCCGCCACTCCGGGAGAC

[1043]

		AAGGTCATCATCTCGTGCAAAGCGTCCCAGGATATCGACGATGCCATGAATTGGTACC AGCAGAAGCCTGGCGAAGCGCCGCTGTTCATTATCCAATCCGCAACCTCGCCCGTGCC TGGAATCCCACCGCGGTTCAGCGGCAGCGGTTTCGGAACCGACTTTTCCCTGACCATT AACAACATTGAGTCCGAGGACGCCGCCTACTACTTCTGCCTGCAACACGACAACTTCC CTCTCACGTTCGGCCAGGGAACCAAGCTGGAAATCAAGACCACTACCCCAGCACCGAG GCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCA TGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATA TCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGAT CACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTC ATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGG AGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGC CTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAG TACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCA GAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGC CTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTG TACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCC TGCCGCCTCGG
149363		
149363-aa ScFv 结构域	1063	VNLRESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLRTSGMCVSWIRQPPGKALEWLARIDWDEDK FYSTSLKTRLTISKDTSDNQVVLRMTNMDPADTATYYCARSGAGGTSATAFDIWGPGT MVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIYNNLAWFQ LKPGSAPRSLMYAANKSQSGVPSRFSGSASGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHYYRFP YSFGQGTKLEIK
149363-nt ScFv 结构域	1064	CAAGTCAATCTGCGCGAATCCGGCCCCGCCTTGGTCAAGCCTACCCAGACCCTCACTC TGACCTGTACTTTCTCCGGCTTCTCCCTGCGGACTTCCGGGATGTGCGTGTCCTGGAT CAGACAGCCTCCGGGAAAGGCCCTGGAGTGGCTCGCTCGCATTGACTGGGATGAGGAC AAGTTCTACTCCACCTCACTCAAGACCAGGCTGACCATCAGCAAAGATACCTCTGACA ACCAAGTGGTGCTCCGCATGACCAACATGGACCCAGCCGACACTGCCACTTACTACTG CGCGAGGAGCGGAGCGGGCGGAACCTCCGCCACCGCCTTCGATATTTGGGGCCCGGGT ACCATGGTCACCGTGTCAAGCGGAGGAGGGGGGTCCGGGGGCGGCGGTTCCGGGGGAG GCGGATCGGACATTCAGATGACTCAGTCACCATCGTCCCTGAGCGCTAGCGTGGGCGA CAGAGTGACAATCACTTGCCGGGCATCCCAGGACATCTATAACAACCTTGCGTGGTTC CAGCTGAAGCCTGGTTCCGCACCGCGGTCACTTATGTACGCCGCCAACAAGAGCCAGT CGGGAGTGCCGTCCCGGTTTTCCGGTTCGGCCTCGGGAACTGACTTCACCCTGACGAT CTCCAGCCTGCAACCCGAGGATTTCGCCACCTACTACTGCCAGCACTACTACCGCTTT CCCTACTCGTTCGGACAGGGAACCAAGCTGGAAATCAAG
149363-aa VH	1065	QVNLRESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLRTSGMCVSWIRQPPGKALEWLARIDWDED KFYSTSLKTRLTISKDTSDNQVVLRMTNMDPADTATYYCARSGAGGTSATAFDIWGPG TMVTVSS
149363-aa VL	1066	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIYNNLAWFQLKPGSAPRSLMYAANKSQSGV PSRFSGSASGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHYYRFPYSFGQGTKLEIK
149363-aa 完全 CAR	1067	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVNLRESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLRTSGMCVS WIRQPPGKALEWLARIDWDEDKFYSTSLKTRLTISKDTSDNQVVLRMTNMDPADTATY YCARSGAGGTSATAFDIWGPGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCRASQDIYNNLAWFQLKPGSAPRSLMYAANKSQSGVPSRFSGSASGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQHYYRFPYSFGQGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRP EACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQ PFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRR EEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHD GLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
149363-nt 完全 CAR	1068	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTC GGCCCCAAGTCAATCTGCGCGAATCCGGCCCCGCCTTGGTCAAGCCTACCCAGACCCT CACTCTGACCTGTACTTTCTCCGGCTTCTCCCTGCGGACTTCCGGGATGTGCGTGTCC TGGATCAGACAGCCTCCGGGAAAGGCCCTGGAGTGGCTCGCTCGCATTGACTGGGATG AGGACAAGTTCTACTCCACCTCACTCAAGACCAGGCTGACCATCAGCAAAGATACCTC TGACAACCAAGTGGTGCTCCGCATGACCAACATGGACCCAGCCGACACTGCCACTTAC TACTGCGCGAGGAGCGGAGCGGGCGGAACCTCCGCCACCGCCTTCGATATTTGGGGCC CGGGTACCATGGTCACCGTGTCAAGCGGAGGAGGGGGGTCCGGGGGCGGCGGTTCCGG

[1044]

		GGGAGGCGGATCGGACATTCAGATGACTCAGTCACCATCGTCCCTGAGCGCTAGCGTG GGCGACAGAGTGACAATCACTTGCCGGGCATCCCAGGACATCTATAACAACCTTGCGT GGTTCCAGCTGAAGCCTGGTTCCGCACCGCGGTCACTTATGTACGCCGCCAACAAGAG CCAGTCGGGAGTGCCGTCCCGGTTTTCCGGTTCGGCCTCGGGAACTGACTTCACCCTG ACGATCTCCAGCCTGCAACCCGAGGATTTCGCCACCTACTACTGCCAGCACTACTACC GCTTTCCCTACTCGTTCGGACAGGGAACCAAGCTGGAAATCAAGACCACTACCCCAGC ACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCG GAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCT GCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACT CGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAA CCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCC CAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGC TCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGA GAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGC CGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGC AGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGAC GGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGC AGGCCCTGCCGCCTCGG
149364		
149364-aa ScFv 结构域	1069	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSSYI YYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKTIAAVYAFDIWGQGTTVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPLSLPVTPEEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDW YLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQ TPYTFGQGTKLEIK
149364-nt ScFv 结构域	1070	GAAGTGCAGCTTGTCGAATCCGGGGGGGGACTGGTCAAGCCGGGCGGATCACTGAGAC TGTCCTGCGCCGCGAGCGGCTTCACGTTCTCCTCCTACTCCATGAACTGGGTCCGCCA AGCCCCCGGGAAGGGACTGGAATGGGTGTCCTCTATCTCCTCGTCGTCGTCCTACATC TACTACGCCGACTCCGTGAAGGGAAGATTCACCATTTCCCGCGACAACGCAAAGAACT CACTGTACTTGCAAATGAACTCACTCCGGGCCGAAGATACTGCTGTGTACTATTGCGC CAAGACTATTGCCGCCGTCTACGCTTTCGACATCTGGGGCCAGGGAACCACCGTGACT GTGTCGTCCGGTGGTGGTGGCTCGGGCGGAGGAGGAAGCGGCGGCGGGGGGTCCGAGA TTGTGCTGACCCAGTCGCCACTGAGCCTCCCTGTGACCCCCGAGGAACCCGCCAGCAT CAGCTGCCGGTCCAGCCAGTCCCTGCTCCACTCCAACGGATACAATTACCTCGATTGG TACCTTCAGAAGCCTGGACAAAGCCCGCAGCTGCTCATCTACTTGGGATCAAACCGCG CGTCAGGAGTGCCTGACCGGTTCTCCGGCTCGGGCAGCGGTACCGATTTCACCCTGAA AATCTCCAGGGTGGAGGCAGAGGACGTGGGAGTGTATTACTGTATGCAGGCGCTGCAG ACTCCGTACACATTTGGGCAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAG
149364-aa VH	1071	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSSYI YYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKTIAAVYAFDIWGQGTTVT VSS
149364-aa VL	1072	EIVLTQSPLSLPVTPEEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSN RASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPYTFGQGTKLEIK
149364-aa 完全 CAR	1073	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWV RQAPGKGLEWVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYY CAKTIAAVYAFDIWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPLSLPVTPEEPA SISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFT LKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPYTFGQGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLR PEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFK QPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGR REEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGH DGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
149364-nt 完全 CAR	1074	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTC GGCCCGAAGTGCAGCTTGTCGAATCCGGGGGGGGACTGGTCAAGCCGGGCGGATCACT GAGACTGTCCTGCGCCGCGAGCGGCTTCACGTTCTCCTCCTACTCCATGAACTGGGTC CGCCAAGCCCCCGGGAAGGGACTGGAATGGGTGTCCTCTATCTCCTCGTCGTCGTCCT ACATCTACTACGCCGACTCCGTGAAGGGAAGATTCACCATTTCCCGCGACAACGCAAA GAACTCACTGTACTTGCAAATGAACTCACTCCGGGCCGAAGATACTGCTGTGTACTAT TGCGCCAAGACTATTGCCGCCGTCTACGCTTTCGACATCTGGGGCCAGGGAACCACCG

[1045]

		TGACTGTGTCGTCCGGTGGTGGTGGCTCGGGCGGAGGAGGAAGCGGCGGCGGGGGGTC CGAGATTGTGCTGACCCAGTCGCCACTGAGCCTCCCTGTGACCCCCGAGGAACCCGCC AGCATCAGCTGCCGGTCCAGCCAGTCCCTGCTCCACTCCAACGGATACAATTACCTCG ATTGGTACCTTCAGAAGCCTGGACAAAGCCCGCAGCTGCTCATCTACTTGGGATCAAA CCGCGCGTCAGGAGTGCCTGACCGGTTCTCCGGCTCGGGCAGCGGTACCGATTTCACC CTGAAAATCTCCAGGGTGGAGGCAGAGGACGTGGGAGTGTATTACTGTATGCAGGCGC TGCAGACTCCGTACACATTTGGGCAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAGACCACTACCCC AGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGT CCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCG CCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTC ACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAG CAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGT TCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGA TGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGG AGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGA AGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGAT GGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCAC GACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACA TGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
149365		
149365-aa ScFv 结构域	1075	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTI YYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDLRGAFDIWGQGTMVTVS SGGGGSGGGGSGGGGSSYVLTQSPSVSAAPGYTATISCGGNNIGTKSVHWYQQKPGQA PLLVIRDDSVRPSKIPGRFSGSNSGNMATLTISGVQAGDEADFYCQVWDSDSEHVVFG GGTKLTVL
149365-nt ScFv 结构域	1076	GAAGTCCAGCTCGTGGAGTCCGGCGGAGGCCTTGTGAAGCCTGGAGGTTCGCTGAGAC TGTCCTGCGCCGCCTCCGGCTTCACCTTCTCCGACTACTACATGTCCTGGATCAGACA GGCCCCGGGAAAGGGCCTGGAATGGGTGTCCTACATCTCGTCATCGGGCAGCACTATC TACTACGCGGACTCAGTGAAGGGGCGGTTCACCATTTCCCGGGATAACGCGAAGAACT CGCTGTATCTGCAAATGAACTCACTGAGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGC CCGCGATCTCCGCGGGGCATTTGACATCTGGGGACAGGGAACCATGGTCACAGTGTCC AGCGGAGGGGGAGGATCGGGTGGCGGAGGTTCCGGGGGTGGAGGCTCCTCCTACGTGC TGACTCAGAGCCCAAGCGTCAGCGCTGCGCCCGGTTACACGGCAACCATCTCCTGTGG CGGAAACAACATTGGGACCAAGTCTGTGCACTGGTATCAGCAGAAGCCGGGCCAAGCT CCCCTGTTGGTGATCCGCGATGACTCCGTGCGGCCTAGCAAAATTCCGGGACGGTTCT CCGGCTCCAACAGCGGCAATATGGCCACTCTCACCATCTCGGGAGTGCAGGCCGGAGA TGAAGCCGACTTCTACTGCCAAGTCTGGGACTCAGACTCCGAGCATGTGGTGTTCGGG GGCGGAACCAAGCTGACTGTGCTC
149365-aa VH	1077	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSYISSSGSTI YYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDLRGAFDIWGQGTMVTVS S
149365-aa VL	1078	SYVLTQSPSVSAAPGYTATISCGGNNIGTKSVHWYQQKPGQAPLLVIRDDSVRPSKIP GRFSGSNSGNMATLTISGVQAGDEADFYCQVWDSDSEHVVFGGGTKLTVL
149365-aa 完全 CAR	1079	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWI RQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYY CARDLRGAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSSYVLTQSPSVSAAPGYTATIS CGGNNIGTKSVHWYQQKPGQAPLLVIRDDSVRPSKIPGRFSGSNSGNMATLTISGVQA GDEADFYCQVWDSDSEHVVFGGGTKLTVLTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRP AAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRP VQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDV LDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQG LSTATKDTYDALHMQALPPR
149365-nt 完全 CAR	1080	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTC GGCCCGAAGTCCAGCTCGTGGAGTCCGGCGGAGGCCTTGTGAAGCCTGGAGGTTCGCT GAGACTGTCCTGCGCCGCCTCCGGCTTCACCTTCTCCGACTACTACATGTCCTGGATC AGACAGGCCCCGGGAAAGGGCCTGGAATGGGTGTCCTACATCTCGTCATCGGGCAGCA CTATCTACTACGCGGACTCAGTGAAGGGGCGGTTCACCATTTCCCGGGATAACGCGAA GAACTCGCTGTATCTGCAAATGAACTCACTGAGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTAC

[1046]

		TGCGCCCGCGATCTCCGCGGGGCATTTGACATCTGGGGACAGGGAACCATGGTCACAG TGTCCAGCGGAGGGGGAGGATCGGGTGGCGGAGGTTCCGGGGGTGGAGGCTCCTCCTA CGTGCTGACTCAGAGCCCAAGCGTCAGCGCTGCGCCCGGTTACACGGCAACCATCTCC TGTGGCGGAAACAACATTGGGACCAAGTCTGTGCACTGGTATCAGCAGAAGCCGGGCC AAGCTCCCCTGTTGGTGATCCGCGATGACTCCGTGCGGCCTAGCAAAATTCCGGGACG GTTCTCCGGCTCCAACAGCGGCAATATGGCCACTCTCACCATCTCGGGAGTGCAGGCC GGAGATGAAGCCGACTTCTACTGCCAAGTCTGGGACTCAGACTCCGAGCATGTGGTGT TCGGGGGCGGAACCAAGCTGACTGTGCTCACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCAC CCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCC GCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTT GGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTA CTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCT GTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAG GCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCA GGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTG CTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATC CCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGA GATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGA CTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTC GG
149366		
149366-aa ScFv 结构域	1081	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKPSGYTVTSHYIHWVRRAPGQGLEWMGMINPSGGVT AYSQTLQGRVTMTSDTSSSTVYMELSSLRSEDTAMYYCAREGSGSGWYFDFWGRGTLV TVSSGGGGSGGGGSGGGGSSYVLTQPPSVSVSPGQTASITCSGDGLSKKYVSWYQQKA GQSPVVLISRDKERPSGIPDRFSGSNSADTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDDTTVVF GGGTKLTVL
149366-nt ScFv 结构域	1082	CAAGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGGGCCGAAGTCAAGAAGCCGGGAGCCTCCGTGAAAG TGTCCTGCAAGCCTTCGGGATACACCGTGACCTCCCACTACATTCATTGGGTCCGCCG CGCCCCCGGCCAAGGACTCGAGTGGATGGGCATGATCAACCCTAGCGGCGGAGTGACC GCGTACAGCCAGACGCTGCAGGGACGCGTGACTATGACCTCGGATACCTCCTCCTCCA CCGTCTATATGGAACTGTCCAGCCTGCGGTCCGAGGATACCGCCATGTACTACTGCGC CCGGGAAGGATCAGGCTCCGGGTGGTATTTCGACTTCTGGGGAAGAGGCACCCTCGTG ACTGTGTCATCTGGGGGAGGGGGTTCCGGTGGTGGCGGATCGGGAGGAGGCGGTTCAT CCTACGTGCTGACCCAGCCACCCTCCGTGTCCGTGAGCCCCGGCCAGACTGCATCGAT TACATGTAGCGGCGACGGCCTCTCCAAGAAATACGTGTCGTGGTACCAGCAGAAGGCC GGACAGAGCCCGGTGGTGCTGATCTCAAGAGATAAGGAGCGGCCTAGCGGAATCCCGG ACAGGTTCTCGGGTTCCAACTCCGCGGACACTGCTACTCTGACCATCTCGGGGACCCA GGCTATGGACGAAGCCGATTACTACTGCCAAGCCTGGGACGACACTACTGTCGTGTTT GGAGGGGGCACCAAGTTGACCGTCCTT
149366-aa VH	1083	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKPSGYTVTSHYIHWVRRAPGQGLEWMGMINPSGGVT AYSQTLQGRVTMTSDTSSSTVYMELSSLRSEDTAMYYCAREGSGSGWYFDFWGRGTLV TVSS
149366-aa VL	1084	SYVLTQPPSVSVSPGQTASITCSGDGLSKKYVSWYQQKAGQSPVVLISRDKERPSGIP DRFSGSNSADTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDDTTVVFGGGTKLTVL
149366-aa 完全 CAR	1085	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKPSGYTVTSHYIHWV RRAPGQGLEWMGMINPSGGVTAYSQTLQGRVTMTSDTSSSTVYMELSSLRSEDTAMYY CAREGSGSGWYFDFWGRGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSSYVLTQPPSVSVSPGQTA SITCSGDGLSKKYVSWYQQKAGQSPVVLISRDKERPSGIPDRFSGSNSADTATLTISG TQAMDEADYYCQAWDDTTVVFGGGTKLTVLTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACR PAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMR PVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYD VLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQ GLSTATKDTYDALHMQALPPR
149366-nt 完全 CAR	1086	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTC GGCCCCAAGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGGGCCGAAGTCAAGAAGCCGGGAGCCTCCGT GAAAGTGTCCTGCAAGCCTTCGGGATACACCGTGACCTCCCACTACATTCATTGGGTC CGCCGCGCCCCCGGCCAAGGACTCGAGTGGATGGGCATGATCAACCCTAGCGGCGGAG TGACCGCGTACAGCCAGACGCTGCAGGGACGCGTGACTATGACCTCGGATACCTCCTC

[1047]

		CTCCACCGTCTATATGGAACTGTCCAGCCTGCGGTCCGAGGATACCGCCATGTACTAC TGCGCCCGGGAAGGATCAGGCTCCGGGTGGTATTTCGACTTCTGGGGAAGAGGCACCC TCGTGACTGTGTCATCTGGGGGAGGGGGTTCCGGTGGTGGCGGATCGGGAGGAGGCGG TTCATCCTACGTGCTGACCCAGCCACCCTCCGTGTCCGTGAGCCCCGGCCAGACTGCA TCGATTACATGTAGCGGCGACGGCCTCTCCAAGAAATACGTGTCGTGGTACCAGCAGA AGGCCGGACAGAGCCCGGTGGTGCTGATCTCAAGAGATAAGGAGCGGCCTAGCGGAAT CCCGGACAGGTTCTCGGGTTCCAACTCCGCGGACACTGCTACTCTGACCATCTCGGGG ACCCAGGCTATGGACGAAGCCGATTACTACTGCCAAGCCTGGGACGACACTACTGTCG TGTTTGGAGGGGGCACCAAGTTGACCGTCCTTACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACC CACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGA CCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACA TTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCT TTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGG CCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGG AAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAA GCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGAC GTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGA ATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAG CGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAG GGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGC CTCGG
149367		
149367-aa ScFv 结构域	1087	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGS TYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARAGIAARLRGAFDIWGQG TMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPSSVSASVGDRVIITCRASQGIRNWLAWY QQKPGKAPNLLIYAASNLQSGVPSRFSGSGSGADFTLTISSLQPEDVATYYCQKYNSA PFTFGPGTKVDIK
149367-nt ScFv 结构域	1088	CAAGTGCAGCTTCAGGAGAGCGGCCCGGGACTCGTGAAGCCGTCCCAGACCCTGTCCC TGACTTGCACCGTGTCGGGAGGAAGCATCTCGAGCGGAGGCTACTATTGGTCGTGGAT TCGGCAGCACCCTGGAAAGGGCCTGGAATGGATCGGCTACATCTACTACTCCGGCTCG ACCTACTACAACCCATCGCTGAAGTCCAGAGTGACAATCTCAGTGGACACGTCCAAGA ATCAGTTCAGCCTGAAGCTCTCTTCCGTGACTGCGGCCGACACCGCCGTGTACTACTG CGCACGCGCTGGAATTGCCGCCCGGCTGAGGGGTGCCTTCGACATTTGGGGACAGGGC ACCATGGTCACCGTGTCCTCCGGCGGCGGAGGTTCCGGGGGTGGAGGCTCAGGAGGAG GGGGGTCCGACATCGTCATGACTCAGTCGCCCTCAAGCGTCAGCGCGTCCGTCGGGGA CAGAGTGATCATCACCTGTCGGGCGTCCCAGGGAATTCGCAACTGGCTGGCCTGGTAT CAGCAGAAGCCCGGAAAGGCCCCCAACCTGTTGATCTACGCCGCCTCAAACCTCCAAT CCGGGGTGCCGAGCCGCTTCAGCGGCTCCGGTTCGGGTGCCGATTTCACTCTGACCAT CTCCTCCCTGCAACCTGAAGATGTGGCTACCTACTACTGCCAAAAGTACAACTCCGCA CCTTTTACTTTCGGACCGGGGACCAAAGTGGACATTAAG
149367-aa VH	1089	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGS TYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARAGIAARLRGAFDIWGQG TMVTVSS
149367-aa VL	1090	DIVMTQSPSSVSASVGDRVIITCRASQGIRNWLAWYQQKPGKAPNLLIYAASNLQSGV PSRFSGSGSGADFTLTISSLQPEDVATYYCQKYNSAPFTFGPGTKVDIK
149367-aa 完全 CAR	1091	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSGGYYWS WIRQHPGKGLEWIGYIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCARAGIAARLRGAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPSSVSASV GDRVIITCRASQGIRNWLAWYQQKPGKAPNLLIYAASNLQSGVPSRFSGSGSGADFTL TISSLQPEDVATYYCQKYNSAPFTFGPGTKVDIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRP EACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQ PFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRR EEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHD GLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
149367-nt 完全 CAR	1092	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTC GGCCCCAAGTGCAGCTTCAGGAGAGCGGCCCGGGACTCGTGAAGCCGTCCCAGACCCT GTCCCTGACTTGCACCGTGTCGGGAGGAAGCATCTCGAGCGGAGGCTACTATTGGTCG TGGATTCGGCAGCACCCTGGAAAGGGCCTGGAATGGATCGGCTACATCTACTACTCCG

[1048]

		GCTCGACCTACTACAACCCATCGCTGAAGTCCAGAGTGACAATCTCAGTGGACACGTC CAAGAATCAGTTCAGCCTGAAGCTCTCTTCCGTGACTGCGGCCGACACCGCCGTGTAC TACTGCGCACGCGCTGGAATTGCCGCCCGGCTGAGGGGTGCCTTCGACATTTGGGGAC AGGGCACCATGGTCACCGTGTCCTCCGGCGGCGGAGGTTCCGGGGGTGGAGGCTCAGG AGGAGGGGGGTCCGACATCGTCATGACTCAGTCGCCCTCAAGCGTCAGCGCGTCCGTC GGGGACAGAGTGATCATCACCTGTCGGGCGTCCCAGGGAATTCGCAACTGGCTGGCCT GGTATCAGCAGAAGCCCGGAAAGGCCCCCAACCTGTTGATCTACGCCGCCTCAAACCT CCAATCCGGGGTGCCGAGCCGCTTCAGCGGCTCCGGTTCGGGTGCCGATTTCACTCTG ACCATCTCCTCCCTGCAACCTGAAGATGTGGCTACCTACTACTGCCAAAAGTACAACT CCGCACCTTTTACTTTCGGACCGGGGACCAAAGTGGACATTAAGACCACTACCCCAGC ACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCG GAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCT GCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACT CGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAA CCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCC CAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGC TCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGA GAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGC CGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGC AGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGAC GGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGC AGGCCCTGCCGCCTCGG
149368		
149368-aa ScFv 结构域	1093	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGTA NYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRGGYQLLRWDVGLLRSAF DIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSSYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSK SVHWYQQKPGQAPVLVLYGKNNRPSGVPDRFSGSRSGTTASLTITGAQAEDEADYYCS SRDSSGDHLRVFGTGTKVTVL
149368-nt ScFv 结构域	1094	CAAGTGCAGCTGGTCCAGTCGGGCGCCGAGGTCAAGAAGCCCGGGAGCTCTGTGAAAG TGTCCTGCAAGGCCTCCGGGGGCACCTTTAGCTCCTACGCCATCTCCTGGGTCCGCCA AGCACCGGGTCAAGGCCTGGAGTGGATGGGGGGAATTATCCCTATCTTCGGCACTGCC AACTACGCCCAGAAGTTCCAGGGACGCGTGACCATTACCGCGGACGAATCCACCTCCA CCGCTTATATGGAGCTGTCCAGCTTGCGCTCGGAAGATACCGCCGTGTACTACTGCGC CCGGAGGGGTGGATACCAGCTGCTGAGATGGGACGTGGGCCTCCTGCGGTCGGCGTTC GACATCTGGGGCCAGGGCACTATGGTCACTGTGTCCAGCGGAGGAGGCGGATCGGGAG GCGGCGGATCAGGGGGAGGCGGTTCCAGCTACGTGCTTACTCAACCCCCTTCGGTGTC CGTGGCCCCGGGACAGACCGCCAGAATCACTTGCGGAGGAAACAACATTGGGTCCAAG AGCGTGCATTGGTACCAGCAGAAGCCAGGACAGGCCCCTGTGCTGGTGCTCTACGGGA AGAACAATCGGCCCAGCGGAGTGCCGGACAGGTTCTCGGGTTCACGCTCCGGTACAAC CGCTTCACTGACTATCACCGGGGCCCAGGCAGAGGATGAAGCGGACTACTACTGTTCC TCCCGGGATTCATCCGGCGACCACCTCCGGGTGTTCGGAACCGGAACGAAGGTCACCG TGCTG
149368-aa VH	1095	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGTA NYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRGGYQLLRWDVGLLRSAF DIWGQGTMVTVSS
149368-aa VL	1096	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVLYGKNNRPSGVP DRFSGSRSGTTASLTITGAQAEDEADYYCSSRDSSGDHLRVFGTGTKVTVL
149368-aa 完全 CAR	1097	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYY CARRGGYQLLRWDVGLLRSAFDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSSYVLTQPPS VSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVLYGKNNRPSGVPDRFSGSRSG TTASLTITGAQAEDEADYYCSSRDSSGDHLRVFGTGTKVTVLTTTPAPRPPTPAPTIA SQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRK KLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLY NELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGE RRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
149368-nt 完全 CAR	1098	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTC GGCCCCAAGTGCAGCTGGTCCAGTCGGGCGCCGAGGTCAAGAAGCCCGGGAGCTCTGT

[1049]

		GAAAGTGTCCTGCAAGGCCTCCGGGGGCACCTTTAGCTCCTACGCCATCTCCTGGGTC CGCCAAGCACCGGGTCAAGGCCTGGAGTGGATGGGGGGAATTATCCCTATCTTCGGCA CTGCCAACTACGCCCAGAAGTTCCAGGGACGCGTGACCATTACCGCGGACGAATCCAC CTCCACCGCTTATATGGAGCTGTCCAGCTTGCGCTCGGAAGATACCGCCGTGTACTAC TGCGCCCGGAGGGGTGGATACCAGCTGCTGAGATGGGACGTGGGCCTCCTGCGGTCGG CGTTCGACATCTGGGGCCAGGGCACTATGGTCACTGTGTCCAGCGGAGGAGGCGGATC GGGAGGCGGCGGATCAGGGGGAGGCGGTTCCAGCTACGTGCTTACTCAACCCCCTTCG GTGTCCGTGGCCCCGGGACAGACCGCCAGAATCACTTGCGGAGGAAACAACATTGGGT CCAAGAGCGTGCATTGGTACCAGCAGAAGCCAGGACAGGCCCCTGTGCTGGTGCTCTA CGGGAAGAACAATCGGCCCAGCGGAGTGCCGGACAGGTTCTCGGGTTCACGCTCCGGT ACAACCGCTTCACTGACTATCACCGGGGCCCAGGCAGAGGATGAAGCGGACTACTACT GTTCCTCCCGGGATTCATCCGGCGACCACCTCCGGGTGTTCGGAACCGGAACGAAGGT CACCGTGCTGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCC TCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGC ATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTAC TTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAG AAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGG AGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGT GAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTAC AACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGAC GGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAA CGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAA CGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGG ACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
149369		
149369-aa ScFv 结构域	1099	EVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSK WYSFYAISLKSRIIINPDTSKNQFSLQLKSVTPEDTAVYYCARSSPEGLFLYWFDPWG QGTLVTVSSGGDGSGGGGSGGGGSSSELTQDPAVSVALGQTIRITCQGDSLGNYYATW YQQKPGQAPVLVIYGTNNRPSGIPDRFSASSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDS SGHHLLFGTGTKVTVL
149369-nt ScFv 结构域	1100	GAAGTGCAGCTCCAACAGTCAGGACCGGGGCTCGTGAAGCCATCCCAGACCCTGTCCC TGACTTGTGCCATCTCGGGAGATAGCGTGTCATCGAACTCCGCCGCCTGGAACTGGAT TCGGCAGAGCCCGTCCCGCGGACTGGAGTGGCTTGGAAGGACCTACTACCGGTCCAAG TGGTACTCTTTCTACGCGATCTCGCTGAAGTCCCGCATTATCATTAACCCTGATACCT CCAAGAATCAGTTCTCCCTCCAACTGAAATCCGTCACCCCCGAGGACACAGCAGTGTA TTACTGCGCACGGAGCAGCCCCGAAGGACTGTTCCTGTATTGGTTTGACCCCTGGGGC CAGGGGACTCTTGTGACCGTGTCGAGCGGCGGAGATGGGTCCGGTGGCGGTGGTTCGG GGGGCGGCGGATCATCATCCGAACTGACCCAGGACCCGGCTGTGTCCGTGGCGCTGGG ACAAACCATCCGCATTACGTGCCAGGGAGACTCCCTGGGCAACTACTACGCCACTTGG TACCAGCAGAAGCCGGGCCAAGCCCCTGTGTTGGTCATCTACGGGACCAACAACAGAC CTTCCGGCATCCCCGACCGGTTCAGCGCTTCGTCCTCCGGCAACACTGCCAGCCTGAC CATCACTGGAGCGCAGGCCGAAGATGAGGCCGACTACTACTGCAACAGCAGAGACTCC TCGGGTCATCACCTCTTGTTCGGAACTGGAACCAAGGTCACCGTGCTG
149369-aa VH	1101	EVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSK WYSFYAISLKSRIIINPDTSKNQFSLQLKSVTPEDTAVYYCARSSPEGLFLYWFDPWG QGTLVTVSS
149369-aa VL	1102	SSELTQDPAVSVALGQTIRITCQGDSLGNYYATWYQQKPGQAPVLVIYGTNNRPSGIP DRFSASSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRDSSGHHLLFGTGTKVTVL
149369-aa 完全 CAR	1103	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSNSAAWN WIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWYSFYAISLKSRIIINPDTSKNQFSLQLKSVTPEDTA VYYCARSSPEGLFLYWFDPWGQGTLVTVSSGGDGSGGGGSGGGGSSSELTQDPAVSVA LGQTIRITCQGDSLGNYYATWYQQKPGQAPVLVIYGTNNRPSGIPDRFSASSSGNTAS LTITGAQAEDEADYYCNSRDSSGHHLLFGTGTKVTVLTTTPAPRPPTPAPTIASQPLS LRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYI FKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNL GRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGK GHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
149369-nt	1104	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTC

[1050]

完全 CAR		GGCCCGAAGTGCAGCTCCAACAGTCAGGACCGGGGCTCGTGAAGCCATCCCAGACCCT GTCCCTGACTTGTGCCATCTCGGGAGATAGCGTGTCATCGAACTCCGCCGCCTGGAAC TGGATTCGGCAGAGCCCGTCCCGCGGACTGGAGTGGCTTGGAAGGACCTACTACCGGT CCAAGTGGTACTCTTTCTACGCGATCTCGCTGAAGTCCCGCATTATCATTAACCCTGA TACCTCCAAGAATCAGTTCTCCCTCCAACTGAAATCCGTCACCCCCGAGGACACAGCA GTGTATTACTGCGCACGGAGCAGCCCCGAAGGACTGTTCCTGTATTGGTTTGACCCCT GGGGCCAGGGGACTCTTGTGACCGTGTCGAGCGGCGGAGATGGGTCCGGTGGCGGTGG TTCGGGGGGCGGCGGATCATCATCCGAACTGACCCAGGACCCGGCTGTGTCCGTGGCG CTGGGACAAACCATCCGCATTACGTGCCAGGGAGACTCCCTGGGCAACTACTACGCCA CTTGGTACCAGCAGAAGCCGGGCCAAGCCCCTGTGTTGGTCATCTACGGGACCAACAA CAGACCTTCCGGCATCCCCGACCGGTTCAGCGCTTCGTCCTCCGGCAACACTGCCAGC CTGACCATCACTGGAGCGCAGGCCGAAGATGAGGCCGACTACTACTGCAACAGCAGAG ACTCCTCGGGTCATCACCTCTTGTTCGGAACTGGAACCAAGGTCACCGTGCTGACCAC TACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCC CTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTG ACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCT GCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATC TTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCAT GCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAG CGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTT GGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGG GCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGA TAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAA GGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTC TTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
BCMA_EBB-C1978-A4		
BCMA_EBB-C1978-A4 - aa ScFv 结构域	1105	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGST YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVEGSGSLDYWGQGTLVTV SSGGGGSGGGGSGGGGSEIVMTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSAYLAWYQQKP GQPPRLLISGASTRATGIPDRFGGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQHYGSSFNGS SLFTFGQGTRLEIK
BCMA_EBB-C1978-A4 - nt ScFv 结构域	1106	GAAGTGCAGCTCGTGGAGTCAGGAGGCGGCCTGGTCCAGCCGGGAGGGTCCCTTAGAC TGTCATGCGCCGCAAGCGGATTCACTTTCTCCTCCTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCA AGCCCCCGGAAAGGGACTGGAATGGGTGTCCGCCATCTCGGGGTCTGGAGGCTCAACT TACTACGCTGACTCCGTGAAGGGACGGTTCACCATTAGCCGCGACAACTCCAAGAACA CCCTCTACCTCCAAATGAACTCCCTGCGGGCCGAGGATACCGCCGTCTACTACTGCGC CAAAGTGGAAGGTTCAGGATCGCTGGACTACTGGGGACAGGGTACTCTCGTGACCGTG TCATCGGGCGGAGGAGGTTCCGGCGGTGGCGGCTCCGGCGGCGGAGGGTCGGAGATCG TGATGACCCAGAGCCCTGGTACTCTGAGCCTTTCGCCGGGAGAAAGGGCCACCCTGTC CTGCCGCGCTTCCCAATCCGTGTCCTCCGCGTACTTGGCGTGGTACCAGCAGAAGCCG GGACAGCCCCCTCGGCTGCTGATCAGCGGGGCCAGCACCCGGGCAACCGGAATCCCAG ACAGATTCGGGGGTTCCGGCAGCGGCACAGATTTCACCCTGACTATTTCGAGGTTGGA GCCCGAGGACTTTGCGGTGTATTACTGTCAGCACTACGGGTCGTCCTTTAATGGCTCC AGCCTGTTCACGTTCGGACAGGGGACCCGCCTGGAAATCAAG
BCMA_EBB-C1978-A4 - aa VH	1107	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGST YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVEGSGSLDYWGQGTLVTV SS
BCMA_EBB-C1978-A4 - aa VL	1108	EIVMTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSAYLAWYQQKPGQPPRLLISGASTRATG IPDRFGGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQHYGSSFNGSSLFTFGQGTRLEIK
BCMA_EBB-C1978-A4 - aa 完全 CART	1109	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWV RQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CAKVEGSGSLDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVMTQSPGTLSLSPGERAT LSCRASQSVSSAYLAWYQQKPGQPPRLLISGASTRATGIPDRFGGSGSGTDFTLTISR LEPEDFAVYYCQHYGSSFNGSSLFTFGQGTRLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLR

[1051]

		PEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFK QPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGR REEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGH DGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
BCMA_EBB-C1978-A4 - nt 完全 CART	1110	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTC GGCCCGAAGTGCAGCTCGTGGAGTCAGGAGGCGGCCTGGTCCAGCCGGGAGGGTCCCT TAGACTGTCATGCGCCGCAAGCGGATTCACTTTCTCCTCCTATGCCATGAGCTGGGTC CGCCAAGCCCCCGGAAAGGGACTGGAATGGGTGTCCGCCATCTCGGGGTCTGGAGGCT CAACTTACTACGCTGACTCCGTGAAGGGACGGTTCACCATTAGCCGCGACAACTCCAA GAACACCCTCTACCTCCAAATGAACTCCCTGCGGGCCGAGGATACCGCCGTCTACTAC TGCGCCAAAGTGGAAGGTTCAGGATCGCTGGACTACTGGGGACAGGGTACTCTCGTGA CCGTGTCATCGGGCGGAGGAGGTTCCGGCGGTGGCGGCTCCGGCGGCGGAGGGTCGGA GATCGTGATGACCCAGAGCCCTGGTACTCTGAGCCTTTCGCCGGGAGAAAGGGCCACC CTGTCCTGCCGCGCTTCCCAATCCGTGTCCTCCGCGTACTTGGCGTGGTACCAGCAGA AGCCGGGACAGCCCCCTCGGCTGCTGATCAGCGGGGCCAGCACCCGGGCAACCGGAAT CCCAGACAGATTCGGGGGTTCCGGCAGCGGCACAGATTTCACCCTGACTATTTCGAGG TTGGAGCCCGAGGACTTTGCGGTGTATTACTGTCAGCACTACGGGTCGTCCTTTAATG GCTCCAGCCTGTTCACGTTCGGACAGGGGACCCGCCTGGAAATCAAGACCACTACCCC AGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGT CCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCG CCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTC ACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAG CAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGT TCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGA TGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGG AGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGA AGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGAT GGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCAC GACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACA TGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
BCMA_EBB-C1978-G1		
BCMA_EBB-C1978-G1 - aa ScFv 结构域	1111	EVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAASGITFSRYPMSWVRQAPGKGLEWVSGISDSGVST YYADSAKGRFTISRDNSKNTLFLQMSSLRDEDTAVYYCVTRAGSEASDIWGQGTMVTV SSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSNSLAWYQQKPG QAPRLLIYDASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAIYYCQQFGTSSGLTF GGGTKLEIK
BCMA_EBB-C1978-G1 - nt ScFv 结构域	1112	GAAGTGCAACTGGTGGAAACCGGTGGCGGCCTGGTGCAGCCTGGAGGATCATTGAGGC TGTCATGCGCGGCCAGCGGTATTACCTTCTCCCGGTACCCCATGTCCTGGGTCAGACA GGCCCCGGGGAAAGGGCTTGAATGGGTGTCCGGGATCTCGGACTCCGGTGTCAGCACT TACTACGCCGACTCCGCCAAGGGACGCTTCACCATTTCCCGGGACAACTCGAAGAACA CCCTGTTCCTCCAAATGAGCTCCCTCCGGGACGAGGATACTGCAGTGTACTACTGCGT GACCCGCGCCGGGTCCGAGGCGTCTGACATTTGGGGACAGGGCACTATGGTCACCGTG TCGTCCGGCGGAGGGGGCTCGGGAGGCGGTGGCAGCGGAGGAGGAGGGTCCGAGATCG TGCTGACCCAATCCCCGGCCACCCTCTCGCTGAGCCCTGGAGAAAGGGCAACCTTGTC CTGTCGCGCGAGCCAGTCCGTGAGCAACTCCCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCCGGA CAGGCTCCGAGACTTCTGATCTACGACGCTTCGAGCCGGGCCACTGGAATCCCCGACC GCTTTTCGGGGTCCGGCTCAGGAACCGATTTCACCCTGACAATCTCACGGCTGGAGCC AGAGGATTTCGCCATCTATTACTGCCAGCAGTTCGGTACTTCCTCCGGCCTGACTTTC GGAGGCGGCACGAAGCTCGAAATCAAG
BCMA_EBB-C1978-G1 - aa VH	1113	EVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAASGITFSRYPMSWVRQAPGKGLEWVSGISDSGVST YYADSAKGRFTISRDNSKNTLFLQMSSLRDEDTAVYYCVTRAGSEASDIWGQGTMVTV SS
BCMA_EBB-C1978-G1 - aa VL	1114	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSNSLAWYQQKPGQAPRLLIYDASSRATGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAIYYCQQFGTSSGLTFGGGTKLEIK

[1052]

BCMA_EBB-C1978-G1 - aa 完全 CART	1115	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAASGITFSRYPMSWV RQAPGKGLEWVSGISDSGVSTYYADSAKGRFTISRDNSKNTLFLQMSSLRDEDTAVYY CVTRAGSEASDIWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERAT LSCRASQSVSNSLAWYQQKPGQAPRLLIYDASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRL EPEDFAIYYCQQFGTSSGLTFGGGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACR PAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMR PVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYD VLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQ GLSTATKDTYDALHMQALPPR
BCMA_EBB-C1978-G1 - nt 完全 CART	1116	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTC GGCCCGAAGTGCAACTGGTGGAAACCGGTGGCGGCCTGGTGCAGCCTGGAGGATCATT GAGGCTGTCATGCGCGGCCAGCGGTATTACCTTCTCCCGGTACCCCATGTCCTGGGTC AGACAGGCCCCGGGGAAAGGGCTTGAATGGGTGTCCGGGATCTCGGACTCCGGTGTCA GCACTTACTACGCCGACTCCGCCAAGGGACGCTTCACCATTTCCCGGGACAACTCGAA GAACACCCTGTTCCTCCAAATGAGCTCCCTCCGGGACGAGGATACTGCAGTGTACTAC TGCGTGACCCGCGCCGGGTCCGAGGCGTCTGACATTTGGGGACAGGGCACTATGGTCA CCGTGTCGTCCGGCGGAGGGGGCTCGGGAGGCGGTGGCAGCGGAGGAGGAGGGTCCGA GATCGTGCTGACCCAATCCCCGGCCACCCTCTCGCTGAGCCCTGGAGAAAGGGCAACC TTGTCCTGTCGCGCGAGCCAGTCCGTGAGCAACTCCCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGC CCGGACAGGCTCCGAGACTTCTGATCTACGACGCTTCGAGCCGGGCCACTGGAATCCC CGACCGCTTTTCGGGGTCCGGCTCAGGAACCGATTTCACCCTGACAATCTCACGGCTG GAGCCAGAGGATTTCGCCATCTATTACTGCCAGCAGTTCGGTACTTCCTCCGGCCTGA CTTTCGGAGGCGGCACGAAGCTCGAAATCAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACC CACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGA CCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACA TTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCT TTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGG CCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGG AAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAA GCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGAC GTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGA ATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAG CGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAG GGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGC CTCGG
BCMA_EBB-C1979-C1		
BCMA_EBB-C1979-C1 - aa ScFv 结构域	1117	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGST YYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAIYYCARATYKRELRYYYGMDVWGQ GTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVMTQSPGTVSLSPGERATLSCRASQSVSSSFLA WYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDSAVYYCQQYH SSPSWTFGQGTRLEIK
BCMA_EBB-C1979-C1 - nt ScFv 结构域	1118	CAAGTGCAGCTCGTGGAATCGGGTGGCGGACTGGTGCAGCCGGGGGGCTCACTTAGAC TGTCCTGCGCGGCCAGCGGATTCACTTTCTCCTCCTACGCCATGTCCTGGGTCAGACA GGCCCCTGGAAAGGGCCTGGAATGGGTGTCCGCAATCAGCGGCAGCGGCGGCTCGACC TATTACGCGGATTCAGTGAAGGGCAGATTCACCATTTCCCGGGACAACGCCAAGAACT CCTTGTACCTTCAAATGAACTCCCTCCGCGCGGAAGATACCGCAATCTACTACTGCGC TCGGGCCACTTACAAGAGGGAACTGCGCTACTACTACGGGATGGACGTCTGGGGCCAG GGAACCATGGTCACCGTGTCCAGCGGAGGAGGAGGATCGGGAGGAGGCGGTAGCGGGG GTGGAGGGTCGGAGATCGTGATGACCCAGTCCCCCGGCACTGTGTCGCTGTCCCCCGG CGAACGGGCCACCCTGTCATGTCGGGCCAGCCAGTCAGTGTCGTCAAGCTTCCTCGCC TGGTACCAGCAGAAACCGGGACAAGCTCCCCGCCTGCTGATCTACGGAGCCAGCAGCC GGGCCACCGGTATTCCTGACCGGTTCTCCGGTTCGGGGTCCGGGACCGACTTTACTCT GACTATCTCTCGCCTCGAGCCAGAGGACTCCGCCGTGTATTACTGCCAGCAGTACCAC TCCTCCCCGTCCTGGACGTTCGGACAGGGCACAAGGCTGGAGATTAAG
BCMA_EBB-C1979-C1 - aa VH	1119	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGST YYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAIYYCARATYKRELRYYYGMDVWGQ GTMVTVSS

[1053]

BCMA_EBB-C1979-C1 - aa VL	1120	EIVMTQSPGTVSLSPGERATLSCRASQSVSSSFLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATG IPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDSAVYYCQQYHSSPSWTFGQGTRLEIK
BCMA_EBB-C1979-C1 - aa 完全 CART	1121	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWV RQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAIYY CARATYKRELRYYYGMDVWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVMTQSPGTVSLS PGERATLSCRASQSVSSSFLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDF TLTISRLEPEDSAVYYCQQYHSSPSWTFGQGTRLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLS LRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYI FKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNL GRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGK GHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
BCMA_EBB-C1979-C1 - nt 完全 CART	1122	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTC GGCCCCAAGTGCAGCTCGTGGAATCGGGTGGCGGACTGGTGCAGCCGGGGGGCTCACT TAGACTGTCCTGCGCGGCCAGCGGATTCACTTTCTCCTCCTACGCCATGTCCTGGGTC AGACAGGCCCCTGGAAAGGGCCTGGAATGGGTGTCCGCAATCAGCGGCAGCGGCGGCT CGACCTATTACGCGGATTCAGTGAAGGGCAGATTCACCATTTCCCGGGACAACGCCAA GAACTCCTTGTACCTTCAAATGAACTCCCTCCGCGCGGAAGATACCGCAATCTACTAC TGCGCTCGGGCCACTTACAAGAGGGAACTGCGCTACTACTACGGGATGGACGTCTGGG GCCAGGGAACCATGGTCACCGTGTCCAGCGGAGGAGGAGGATCGGGAGGAGGCGGTAG CGGGGGTGGAGGGTCGGAGATCGTGATGACCCAGTCCCCCGGCACTGTGTCGCTGTCC CCCGGCGAACGGGCCACCCTGTCATGTCGGGCCAGCCAGTCAGTGTCGTCAAGCTTCC TCGCCTGGTACCAGCAGAAACCGGGACAAGCTCCCCGCCTGCTGATCTACGGAGCCAG CAGCCGGGCCACCGGTATTCCTGACCGGTTCTCCGGTTCGGGGTCCGGGACCGACTTT ACTCTGACTATCTCTCGCCTCGAGCCAGAGGACTCCGCCGTGTATTACTGCCAGCAGT ACCACTCCTCCCCGTCCTGGACGTTCGGACAGGGCACAAGGCTGGAGATTAAGACCAC TACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCC CTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTG ACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCT GCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATC TTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCAT GCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAG CGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTT GGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGG GCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGA TAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAA GGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTC TTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
BCMA_EBB-C1978-C7		
BCMA_EBB-C1978-C7 - aa ScFv 结构域	1123	EVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGST YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNTLKAEDTAVYYCARATYKRELRYYYGMDVWGQ GTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPSTLSLSPGESATLSCRASQSVSTTFLA WYQQKPGQAPRLLIYGSSNRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTIRRLEPEDFAVYYCQQYH SSPSWTFGQGTKVEIK
BCMA_EBB-C1978-C7 - nt ScFv 结构域	1124	GAGGTGCAGCTTGTGGAAACCGGTGGCGGACTGGTGCAGCCCGGAGGAAGCCTCAGGC TGTCCTGCGCCGCGTCCGGCTTCACCTTCTCCTCGTACGCCATGTCCTGGGTCCGCCA GGCCCCCGGAAAGGGCCTGGAATGGGTGTCCGCCATCTCTGGAAGCGGAGGTTCCACG TACTACGCGGACAGCGTCAAGGGAAGGTTCACAATCTCCCGCGATAATTCGAAGAACA CTCTGTACCTTCAAATGAACACCCTGAAGGCCGAGGACACTGCTGTGTACTACTGCGC ACGGGCCACCTACAAGAGAGAGCTCCGGTACTACTACGGAATGGACGTCTGGGGCCAG GGAACTACTGTGACCGTGTCCTCGGGAGGGGGTGGCTCCGGGGGGGGCGGCTCCGGCG GAGGCGGTTCCGAGATTGTGCTGACCCAGTCACCTTCAACTCTGTCGCTGTCCCCGGG AGAGAGCGCTACTCTGAGCTGCCGGGCCAGCCAGTCCGTGTCCACCACCTTCCTCGCC TGGTATCAGCAGAAGCCGGGGCAGGCACCACGGCTCTTGATCTACGGGTCAAGCAACA GAGCGACCGGAATTCCTGACCGCTTCTCGGGGAGCGGTTCAGGCACCGACTTCACCCT GACTATCCGGCGCCTGGAACCCGAAGATTTCGCCGTGTATTACTGTCAACAGTACCAC TCCTCGCCGTCCTGGACCTTTGGCCAAGGAACCAAAGTGGAAATCAAG

[1054]

BCMA_EBB-C1978-C7 - aa VH	1125	EVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGST YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNTLKAEDTAVYYCARATYKRELRYYYGMDVWGQ GTTVTVSS
BCMA_EBB-C1978-C7 - aa VL	1126	EIVLTQSPSTLSLSPGESATLSCRASQSVSTTFLAWYQQKPGQAPRLLIYGSSNRATG IPDRFSGSGSGTDFTLTIRRLEPEDFAVYYCQQYHSSPSWTFGQGTKVEIK
BCMA_EBB-C1978-C7 - aa 完全 CART	1127	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWV RQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNTLKAEDTAVYY CARATYKRELRYYYGMDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPSTLSLS PGESATLSCRASQSVSTTFLAWYQQKPGQAPRLLIYGSSNRATGIPDRFSGSGSGTDF TLTIRRLEPEDFAVYYCQQYHSSPSWTFGQGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLS LRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYI FKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNL GRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGK GHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
BCMA_EBB-C1978-C7 - nt 完全 CART	1128	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTC GGCCCGAGGTGCAGCTTGTGGAAACCGGTGGCGGACTGGTGCAGCCCGGAGGAAGCCT CAGGCTGTCCTGCGCCGCGTCCGGCTTCACCTTCTCCTCGTACGCCATGTCCTGGGTC CGCCAGGCCCCCGGAAAGGGCCTGGAATGGGTGTCCGCCATCTCTGGAAGCGGAGGTT CCACGTACTACGCGGACAGCGTCAAGGGAAGGTTCACAATCTCCCGCGATAATTCGAA GAACACTCTGTACCTTCAAATGAACACCCTGAAGGCCGAGGACACTGCTGTGTACTAC TGCGCACGGGCCACCTACAAGAGAGAGCTCCGGTACTACTACGGAATGGACGTCTGGG GCCAGGGAACTACTGTGACCGTGTCCTCGGGAGGGGGTGGCTCCGGGGGGGGCGGCTC CGGCGGAGGCGGTTCCGAGATTGTGCTGACCCAGTCACCTTCAACTCTGTCGCTGTCC CCGGGAGAGAGCGCTACTCTGAGCTGCCGGGCCAGCCAGTCCGTGTCCACCACCTTCC TCGCCTGGTATCAGCAGAAGCCGGGGCAGGCACCACGGCTCTTGATCTACGGGTCAAG CAACAGAGCGACCGGAATTCCTGACCGCTTCTCGGGGAGCGGTTCAGGCACCGACTTC ACCCTGACTATCCGGCGCCTGGAACCCGAAGATTTCGCCGTGTATTACTGTCAACAGT ACCACTCCTCGCCGTCCTGGACCTTTGGCCAAGGAACCAAAGTGGAAATCAAGACCAC TACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCC CTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTG ACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCT GCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATC TTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCAT GCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAG CGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTT GGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGG GCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGA TAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAA GGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTC TTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
BCMA_EBB-C1978-D10		
BCMA_EBB-C1978-D10 - aa ScFv 结构域	1129	EVQLVETGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSI GYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCARVGKAVPDVWGQGTTVTVS SGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQTPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGK APKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYSFGQ GTRLEIK
BCMA_EBB-C1978-D10- nt ScFv 结构域	1130	GAAGTGCAGCTCGTGGAAACTGGAGGTGGACTCGTGCAGCCTGGACGGTCGCTGCGGC TGAGCTGCGCTGCATCCGGCTTCACCTTCGACGATTATGCCATGCACTGGGTCAGACA GGCGCCAGGGAAGGGACTTGAGTGGGTGTCCGGTATCAGCTGGAATAGCGGCTCAATC GGATACGCGGACTCCGTGAAGGGAAGGTTCACCATTTCCCGCGACAACGCCAAGAACT CCCTGTACTTGCAAATGAACAGCCTCCGGGATGAGGACACTGCCGTGTACTACTGCGC CCGCGTCGGAAAAGCTGTGCCCGACGTCTGGGGCCAGGGAACCACTGTGACCGTGTCC AGCGGCGGGGGTGGATCGGGCGGTGGAGGGTCCGGTGGAGGGGGCTCAGATATTGTGA TGACCCAGACCCCCTCGTCCCTGTCCGCCTCGGTCGGCGACCGCGTGACTATCACATG

[1055]

		TAGAGCCTCGCAGAGCATCTCCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCGGGGAAG GCCCCGAAGCTCCTGATCTACGCGGCATCATCACTGCAATCGGGAGTGCCGAGCCGGT TTTCCGGGTCCGGCTCCGGCACCGACTTCACGCTGACCATTTCTTCCCTGCAACCCGA GGACTTCGCCACTTACTACTGCCAGCAGTCCTACTCCACCCCTTACTCCTTCGGCCAA GGAACCAGGCTGGAAATCAAG
BCMA_EBB-C1978-D10 - aa VH	1131	EVQLVETGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSI GYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCARVGKAVPDVWGQGTTVTVS S
BCMA_EBB-C1978-D10- aa VL	1132	DIVMTQTPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGV PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYSFGQGTRLEIK
BCMA_EBB-C1978-D10 - aa 完全 CART	1133	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVETGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWV RQAPGKGLEWVSGISWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYY CARVGKAVPDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQTPSSLSASVGDRVTI TCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQ PEDFATYYCQQSYSTPYSFGQGTRLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPA AGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPV QTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVL DKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGL STATKDTYDALHMQALPPR
BCMA_EBB-C1978-D10 - nt 完全 CART	1134	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTC GGCCCGAAGTGCAGCTCGTGGAAACTGGAGGTGGACTCGTGCAGCCTGGACGGTCGCT GCGGCTGAGCTGCGCTGCATCCGGCTTCACCTTCGACGATTATGCCATGCACTGGGTC AGACAGGCGCCAGGGAAGGGACTTGAGTGGGTGTCCGGTATCAGCTGGAATAGCGGCT CAATCGGATACGCGGACTCCGTGAAGGGAAGGTTCACCATTTCCCGCGACAACGCCAA GAACTCCCTGTACTTGCAAATGAACAGCCTCCGGGATGAGGACACTGCCGTGTACTAC TGCGCCCGCGTCGGAAAAGCTGTGCCCGACGTCTGGGGCCAGGGAACCACTGTGACCG TGTCCAGCGGCGGGGGTGGATCGGGCGGTGGAGGGTCCGGTGGAGGGGGCTCAGATAT TGTGATGACCCAGACCCCCTCGTCCCTGTCCGCCTCGGTCGGCGACCGCGTGACTATC ACATGTAGAGCCTCGCAGAGCATCTCCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCGG GGAAGGCCCCGAAGCTCCTGATCTACGCGGCATCATCACTGCAATCGGGAGTGCCGAG CCGGTTTTCCGGGTCCGGCTCCGGCACCGACTTCACGCTGACCATTTCTTCCCTGCAA CCCGAGGACTTCGCCACTTACTACTGCCAGCAGTCCTACTCCACCCCTTACTCCTTCG GCCAAGGAACCAGGCTGGAAATCAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCC GGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCA GCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGG CCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTG TAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTG CAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCG GCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGG GCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTG GACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCC AAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGAT TGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTC AGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
BCMA_EBB-C1979-C12		
BCMA_EBB-C1979-C12- aa ScFv 结构域	1135	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFDDYAMHWVRQRPGKGLEWVASINWKGNSL AYGDSVKGRFAISRDNAKNTVFLQMNSLRTEDTAVYYCASHQGVAYYNYAMDVWGRGT LVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRATQSIGSSFLAWY QQRPGQAPRLLIYGASQRATGIPDRFSGRGSGTDFTLTISRVEPEDSAVYYCQHYESS PSWTFGQGTKVEIK
BCMA_EBB-C1979-C12 - nt	1136	GAAGTGCAGCTCGTGGAGAGCGGGGGAGGATTGGTGCAGCCCGGAAGGTCCCTGCGGC TCTCCTGCACTGCGTCTGGCTTCACCTTCGACGACTACGCGATGCACTGGGTCAGACA GCGCCCGGGAAAGGGCCTGGAATGGGTCGCCTCAATCAACTGGAAGGGAAACTCCCTG GCCTATGGCGACAGCGTGAAGGGCCGCTTCGCCATTTCGCGCGACAACGCCAAGAACA

[1056]

ScFv 结构域		CCGTGTTTCTGCAAATGAATTCCCTGCGGACCGAGGATACCGCTGTGTACTACTGCGC CAGCCACCAGGGCGTGGCATACTATAACTACGCCATGGACGTGTGGGGAAGAGGGACG CTCGTCACCGTGTCCTCCGGGGGCGGTGGATCGGGTGGAGGAGGAAGCGGTGGCGGGG GCAGCGAAATCGTGCTGACTCAGAGCCCGGGAACTCTTTCACTGTCCCCGGGAGAACG GGCCACTCTCTCGTGCCGGGCCACCCAGTCCATCGGCTCCTCCTTCCTTGCCTGGTAC CAGCAGAGGCCAGGACAGGCGCCCCGCCTGCTGATCTACGGTGCTTCCCAACGCGCCA CTGGCATTCCTGACCGGTTCAGCGGCAGAGGGTCGGGAACCGATTTCACACTGACCAT TTCCCGGGTGGAGCCCGAAGATTCGGCAGTCTACTACTGTCAGCATTACGAGTCCTCC CCTTCATGGACCTTCGGTCAAGGGACCAAAGTGGAGATCAAG
BCMA_EBB-C1979-C12 - aa VH	1137	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFDDYAMHWVRQRPGKGLEWVASINWKGNSL AYGDSVKGRFAISRDNAKNTVFLQMNSLRTEDTAVYYCASHQGVAYYNYAMDVWGRGT LVTVSS
BCMA_EBB-C1979-C12 - aa VL	1138	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRATQSIGSSFLAWYQQRPGQAPRLLIYGASQRATG IPDRFSGRGSGTDFTLTISRVEPEDSAVYYCQHYESSPSWTFGQGTKVEIK
BCMA_EBB-C1979-C12 - aa 完全 CART	1139	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFDDYAMHWV RQRPGKGLEWVASINWKGNSLAYGDSVKGRFAISRDNAKNTVFLQMNSLRTEDTAVYY CASHQGVAYYNYAMDVWGRGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPG ERATLSCRATQSIGSSFLAWYQQRPGQAPRLLIYGASQRATGIPDRFSGRGSGTDFTL TISRVEPEDSAVYYCQHYESSPSWTFGQGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLR PEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFK QPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGR REEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGH DGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
BCMA_EBB-C1979-C12 - nt 完全 CART	1140	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTC GGCCCGAAGTGCAGCTCGTGGAGAGCGGGGGAGGATTGGTGCAGCCCGGAAGGTCCCT GCGGCTCTCCTGCACTGCGTCTGGCTTCACCTTCGACGACTACGCGATGCACTGGGTC AGACAGCGCCCGGGAAAGGGCCTGGAATGGGTCGCCTCAATCAACTGGAAGGGAAACT CCCTGGCCTATGGCGACAGCGTGAAGGGCCGCTTCGCCATTTCGCGCGACAACGCCAA GAACACCGTGTTTCTGCAAATGAATTCCCTGCGGACCGAGGATACCGCTGTGTACTAC TGCGCCAGCCACCAGGGCGTGGCATACTATAACTACGCCATGGACGTGTGGGGAAGAG GGACGCTCGTCACCGTGTCCTCCGGGGGCGGTGGATCGGGTGGAGGAGGAAGCGGTGG CGGGGGCAGCGAAATCGTGCTGACTCAGAGCCCGGGAACTCTTTCACTGTCCCCGGGA GAACGGGCCACTCTCTCGTGCCGGGCCACCCAGTCCATCGGCTCCTCCTTCCTTGCCT GGTACCAGCAGAGGCCAGGACAGGCGCCCCGCCTGCTGATCTACGGTGCTTCCCAACG CGCCACTGGCATTCCTGACCGGTTCAGCGGCAGAGGGTCGGGAACCGATTTCACACTG ACCATTTCCCGGGTGGAGCCCGAAGATTCGGCAGTCTACTACTGTCAGCATTACGAGT CCTCCCCTTCATGGACCTTCGGTCAAGGGACCAAAGTGGAGATCAAGACCACTACCCC AGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGT CCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCG CCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTC ACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAG CAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGT TCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGA TGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGG AGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGA AGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGAT GGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCAC GACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACA TGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
BCMA_EBB-C1980-G4		
BCMA_EBB-C1980-G4-	1141	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGST YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVVRDGMDVWGQGTTVTVS SGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGNGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSPPRFTF

aa ScFv 结构域		GPGTKVDIK
BCMA_EBB-C1980-G4-nt ScFv 结构域	1142	GAGGTGCAGTTGGTCGAAAGCGGGGGCGGGCTTGTGCAGCCTGGCGGATCACTGCGGC TGTCCTGCGCGGCATCAGGCTTCACGTTTTCTTCCTACGCCATGTCCTGGGTGCGCCA GGCCCCTGGAAAGGGACTGGAATGGGTGTCCGCGATTTCGGGGTCCGGCGGGAGCACC TACTACGCCGATTCCGTGAAGGGCCGCTTCACTATCTCGCGGGACAACTCCAAGAACA CCCTCTACCTCCAAATGAATAGCCTGCGGGCCGAGGATACCGCCGTCTACTATTGCGC TAAGGTCGTGCGCGACGGAATGGACGTGTGGGGACAGGGTACCACCGTGACAGTGTCC TCGGGGGGAGGCGGTAGCGGCGGAGGAGGAAGCGGTGGTGGAGGTTCCGAGATTGTGC TGACTCAATCACCCGCGACCCTGAGCCTGTCCCCCGGCGAAAGGGCCACTCTGTCCTG TCGGGCCAGCCAATCAGTCTCCTCCTCGTACCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCAGGA CAGGCTCCGAGACTCCTTATCTATGGCGCATCCTCCCGCGCCACCGGAATCCCGGATA GGTTCTCGGGAAACGGATCGGGGACCGACTTCACTCTCACCATCTCCCGGCTGGAACC GGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGTACGGCAGCCCGCCTAGATTCACTTTC GGCCCCGGCACCAAAGTGGACATCAAG
BCMA_EBB-C1980-G4-aa VH	1143	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGST YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVVRDGMDVWGQGTTVTVS S
BCMA_EBB-C1980-G4-aa VL	1144	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATG IPDRFSGNGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSPPRFTFGPGTKVDIK
[1057] **BCMA_EBB-C1980-G4-aa 完全 CART**	1145	**MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWV RQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CAKVVRDGMDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATL SCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGNGSGTDFTLTISRL EPEDFAVYYCQQYGSPPRFTFGPGTKVDIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACR PAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMR PVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYD VLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQ GLSTATKDTYDALHMQALPPR**
BCMA_EBB-C1980-G4-nt 完全 CART	1146	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTC GGCCCGAGGTGCAGTTGGTCGAAAGCGGGGGCGGGCTTGTGCAGCCTGGCGGATCACT GCGGCTGTCCTGCGCGGCATCAGGCTTCACGTTTTCTTCCTACGCCATGTCCTGGGTG CGCCAGGCCCCTGGAAAGGGACTGGAATGGGTGTCCGCGATTTCGGGGTCCGGCGGGA GCACCTACTACGCCGATTCCGTGAAGGGCCGCTTCACTATCTCGCGGGACAACTCCAA GAACACCCTCTACCTCCAAATGAATAGCCTGCGGGCCGAGGATACCGCCGTCTACTAT TGCGCTAAGGTCGTGCGCGACGGAATGGACGTGTGGGGACAGGGTACCACCGTGACAG TGTCCTCGGGGGGAGGCGGTAGCGGCGGAGGAGGAAGCGGTGGTGGAGGTTCCGAGAT TGTGCTGACTCAATCACCCGCGACCCTGAGCCTGTCCCCCGGCGAAAGGGCCACTCTG TCCTGTCGGGCCAGCCAATCAGTCTCCTCCTCGTACCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGC CAGGACAGGCTCCGAGACTCCTTATCTATGGCGCATCCTCCCGCGCCACCGGAATCCC GGATAGGTTCTCGGGAAACGGATCGGGGACCGACTTCACTCTCACCATCTCCCGGCTG GAACCGGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGCAGTACGGCAGCCCGCCTAGATTCA CTTTCGGCCCCGGCACCAAAGTGGACATCAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACC CACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGA CCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACA TTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCT TTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGG CCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGG AAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAA GCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGAC GTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGA

[1058]

		ATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAG CGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAG GGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGC CTCGG
BCMA_EBB-C1980-D2		
BCMA_EBB-C1980-D2-aa ScFv 结构域	1147	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGST YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKIPQTGTFDYWGQGTLVTV SSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQRP GQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQHYGSSPSWT FGQGTRLEIK
BCMA_EBB-C1980-D2-nt ScFv 结构域	1148	GAAGTGCAGCTGCTGGAGTCCGGCGGTGGATTGGTGCAACCGGGGGGATCGCTCAGAC TGTCCTGTGCGGCGTCAGGCTTCACCTTCTCGAGCTACGCCATGTCATGGGTCAGACA GGCCCCTGGAAAGGGTCTGGAATGGGTGTCCGCCATTTCCGGGAGCGGGGGATCTACA TACTACGCCGATAGCGTGAAGGGCCGCTTCACCATTTCCCGGGACAACTCCAAGAACA CTCTCTATCTGCAAATGAACTCCCTCCGCGCTGAGGACACTGCCGTGTACTACTGCGC CAAAATCCCTCAGACCGGCACCTTCGACTACTGGGGACAGGGGACTCTGGTCACCGTC AGCAGCGGTGGCGGAGGTTCGGGGGGAGGAGGAAGCGGCGGCGGAGGGTCCGAGATTG TGCTGACCCAGTCACCCGGCACTTTGTCCCTGTCGCCTGGAGAAAGGGCCACCCTTTC CTGCCGGGCATCCCAATCCGTGTCCTCCTCGTACCTGGCCTGGTACCAGCAGAGGCCC GGACAGGCCCCACGGCTTCTGATCTACGGAGCAAGCAGCCGCGCGACCGGTATCCCGG ACCGGTTTTCGGGCTCGGGCTCAGGAACTGACTTCACCCTCACCATCTCCCGCCTGGA ACCCGAAGATTTCGCTGTGTATTACTGCCAGCACTACGGCAGCTCCCCGTCCTGGACG TTCGGCCAGGGAACTCGGCTGGAGATCAAG
BCMA_EBB-C1980-D2-aa VH	1149	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGST YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKIPQTGTFDYWGQGTLVTV SS
BCMA_EBB-C1980-D2-aa VL	1150	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQRPGQAPRLLIYGASSRATG IPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQHYGSSPSWTFGQGTRLEIK
BCMA_EBB-C1980-D2-aa 完全 CART	1151	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWV RQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CAKIPQTGTFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERAT LSCRASQSVSSSYLAWYQQRPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISR LEPEDFAVYYCQHYGSSPSWTFGQGTRLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEAC RPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFM RPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEY DVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLY QGLSTATKDTYDALHMQALPPR
BCMA_EBB-C1980-D2-nt 完全 CART	1152	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTC GGCCCGAAGTGCAGCTGCTGGAGTCCGGCGGTGGATTGGTGCAACCGGGGGGATCGCT CAGACTGTCCTGTGCGGCGTCAGGCTTCACCTTCTCGAGCTACGCCATGTCATGGGTC AGACAGGCCCCTGGAAAGGGTCTGGAATGGGTGTCCGCCATTTCCGGGAGCGGGGGAT CTACATACTACGCCGATAGCGTGAAGGGCCGCTTCACCATTTCCCGGGACAACTCCAA GAACACTCTCTATCTGCAAATGAACTCCCTCCGCGCTGAGGACACTGCCGTGTACTAC TGCGCCAAAATCCCTCAGACCGGCACCTTCGACTACTGGGGACAGGGGACTCTGGTCA CCGTCAGCAGCGGTGGCGGAGGTTCGGGGGGAGGAGGAAGCGGCGGCGGAGGGTCCGA GATTGTGCTGACCCAGTCACCCGGCACTTTGTCCCTGTCGCCTGGAGAAAGGGCCACC CTTTCCTGCCGGGCATCCCAATCCGTGTCCTCCTCGTACCTGGCCTGGTACCAGCAGA GGCCCGGACAGGCCCCACGGCTTCTGATCTACGGAGCAAGCAGCCGCGCGACCGGTAT CCCGGACCGGTTTTCGGGCTCGGGCTCAGGAACTGACTTCACCCTCACCATCTCCCGC CTGGAACCCGAAGATTTCGCTGTGTATTACTGCCAGCACTACGGCAGCTCCCCGTCCT

[1059]

		GGACGTTCGGCCAGGGAACTCGGCTGGAGATCAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCC ACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGT AGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCT ACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCAC TCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATG AGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGG AGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTA CAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTAC GACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAA AGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTA TAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTAC CAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGC CGCCTCGG
BCMA_EBB-C1978-A10		
BCMA_EBB-C1978-A10-aa ScFv 结构域	1153	**EVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGST YYADSVKGRFTMSRENDKNSVFLQMNSLRVEDTGVYYCARANYKRELRYYYGMDVWGQ GTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVMTQSPGTLSLSPGESATLSCRASQRVASNYLA WYQHKPGQAPSLLISGASSRATGVPDRFSGSGSGTDFTLAISRLEPEDSAVYYCQHYD SSPSWTFGQGTKVEIK**
BCMA_EBB-C1978-A10-nt ScFv 结构域	1154	GAAGTGCAACTGGTGGAAACCGGTGGAGGACTCGTGCAGCCTGGCGGCAGCCTCCGGC TGAGCTGCGCCGCTTCGGGATTCACCTTTTCCTCCTACGCGATGTCTTGGGTCAGACA GGCCCCCGGAAAGGGGCTGGAATGGGTGTCAGCCATCTCCGGCTCCGGCGGATCAACG TACTACGCCGACTCCGTGAAAGGCCGGTTCACCATGTCGCGCGAGAATGACAAGAACT CCGTGTTCCTGCAAATGAACTCCCTGAGGGTGGAGGACACCGGAGTGTACTATTGTGC GCGCGCCAACTACAAGAGAGAGCTGCGGTACTACTACGGAATGGACGTCTGGGGACAG GGAACTATGGTGACCGTGTCATCCGGTGGAGGGGGAAGCGGCGGTGGAGGCAGCGGGG GCGGGGGTTCAGAAATTGTCATGACCCAGTCCCCGGGAACTCTTTCCCTCTCCCCCGG GGAATCCGCGACTTTGTCCTGCCGGGCCAGCCAGCGCGTGGCCTCGAACTACCTCGCA TGGTACCAGCATAAGCCAGGCCAAGCCCCTTCCCTGCTGATTTCCGGGGCTAGCAGCC GCGCCACTGGCGTGCCGGATAGGTTCTCGGGAAGCGGCTCGGGTACCGATTTCACCCT GGCAATCTCGCGGCTGGAACCGGAGGATTCGGCCGTGTACTACTGCCAGCACTATGAC TCATCCCCCTCCTGGACATTCGGACAGGGCACCAAGGTCGAGATCAAG
BCMA_EBB-C1978-A10-aa VH	1155	EVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGST YYADSVKGRFTMSRENDKNSVFLQMNSLRVEDTGVYYCARANYKRELRYYYGMDVWGQ GTMVTVSS
BCMA_EBB-C1978-A10-aa VL	1156	EIVMTQSPGTLSLSPGESATLSCRASQRVASNYLAWYQHKPGQAPSLLISGASSRATG VPDRFSGSGSGTDFTLAISRLEPEDSAVYYCQHYDSSPSWTFGQGTKVEIK
BCMA_EBB-C1978-A10-aa 完全 CART	1157	**MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVETGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWV RQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTMSRENDKNSVFLQMNSLRVEDTGVYY CARANYKRELRYYYGMDVWGQGTMVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVMTQSPGTLSLS PGESATLSCRASQRVASNYLAWYQHKPGQAPSLLISGASSRATGVPDRFSGSGSGTDF TLAISRLEPEDSAVYYCQHYDSSPSWTFGQGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLS LRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYI FKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNL GRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGK GHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR**
BCMA_EBB-C1978-A10-	1158	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTC GGCCCGAAGTGCAACTGGTGGAAACCGGTGGAGGACTCGTGCAGCCTGGCGGCAGCCT CCGGCTGAGCTGCGCCGCTTCGGGATTCACCTTTTCCTCCTACGCGATGTCTTGGGTC AGACAGGCCCCCGGAAAGGGGCTGGAATGGGTGTCAGCCATCTCCGGCTCCGGCGGAT

[1060]

nt 完全 CART		CAACGTACTACGCCGACTCCGTGAAAGGCCGGTTCACCATGTCGCGCGAGAATGACAA GAACTCCGTGTTCCTGCAAATGAACTCCCTGAGGGTGGAGGACACCGGAGTGTACTAT TGTGCGCGCGCCAACTACAAGAGAGAGCTGCGGTACTACTACGGAATGGACGTCTGGG GACAGGGAACTATGGTGACCGTGTCATCCGGTGGAGGGGGAAGCGGCGGTGGAGGCAG CGGGGGCGGGGGTTCAGAAATTGTCATGACCCAGTCCCCGGGAACTCTTTCCCTCTCC CCCGGGGAATCCGCGACTTTGTCCTGCCGGGCCAGCCAGCGCGTGGCCTCGAACTACC TCGCATGGTACCAGCATAAGCCAGGCCAAGCCCCTTCCCTGCTGATTTCCGGGGCTAG CAGCCGCGCCACTGGCGTGCCGGATAGGTTCTCGGGAAGCGGCTCGGGTACCGATTTC ACCCTGGCAATCTCGCGGCTGGAACCGGAGGATTCGGCCGTGTACTACTGCCAGCACT ATGACTCATCCCCCTCCTGGACATTCGGACAGGGCACCAAGGTCGAGATCAAGACCAC TACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCC CTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTG ACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCT GCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATC TTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCAT GCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAG CGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTT GGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGG GCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGA TAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAA GGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTC TTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
BCMA_EBB-C1978-D4		
BCMA_EBB-C1978-D4-aa ScFv 结构域	1159	EVQLLETGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGST YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKALVGATGAFDIWGQGTLV TVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSLSSNFLAWYQQ KPGQAPGLLIYGASNWATGTPDRFSGSGSGTDFTLTITRLEPEDFAVYYCQYYGTSPM YTFGQGTKVEIK
BCMA_EBB-C1978-D4-nt ScFv 结构域	1160	GAAGTGCAGCTGCTCGAAACCGGTGGAGGGCTGGTGCAGCCAGGGGGCTCCCTGAGGC TTTCATGCGCCGCTAGCGGATTCTCCTTCTCCTCTTACGCCATGTCGTGGGTCCGCCA AGCCCCTGGAAAAGGCCTGGAATGGGTGTCCGCGATTTCCGGGAGCGGAGGTTCGACC TATTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGCTTTACCATCTCCCGGGATAACTCCAAGAACA CTCTGTACCTCCAAATGAACTCGCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTATTACTGCGC GAAGGCGCTGGTCGGCGCGACTGGGGCATTCGACATCTGGGGACAGGGAACTCTTGTG ACCGTGTCGAGCGGAGGCGGCGGCTCCGGCGGAGGAGGGAGCGGGGGCGGTGGTTCCG AAATCGTGTTGACTCAGTCCCCGGGAACCCTGAGCTTGTCACCCGGGGAGCGGGCCAC TCTCTCCTGTCGCGCCTCCCAATCGCTCTCATCCAATTTCCTGGCCTGGTACCAGCAG AAGCCCGGACAGGCCCCGGGCCTGCTCATCTACGGCGCTTCAAACTGGGCAACGGGAA CCCCTGATCGGTTCAGCGGAAGCGGATCGGGTACTGACTTTACCCTGACCATCACCAG ACTGGAACCGGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGTACTACGGCACCTCCCCCATG TACACATTCGGACAGGGTACCAAGGTCGAGATTAAG
BCMA_EBB-C1978-D4-aa VH	1161	EVQLLETGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGST YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKALVGATGAFDIWGQGTLV TVSS
BCMA_EBB-C1978-D4-aa VL	1162	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSLSSNFLAWYQQKPGQAPGLLIYGASNWATG TPDRFSGSGSGTDFTLTITRLEPEDFAVYYCQYYGTSPMYTFGQGTKVEIK
BCMA_EBB-C1978-D4-	1163	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLLETGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSSYAMSWV RQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CAKALVGATGAFDIWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGER ATLSCRASQSLSSNFLAWYQQKPGQAPGLLIYGASNWATGTPDRFSGSGSGTDFTLTI

[1061]

aa 完全 CART		TRLEPEDFAVYYCQYYGTSPMYTFGQGTKVEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPE ACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQP FMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRRE EYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDG LYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
BCMA_EBB-C1978-D4-nt 完全 CART	1164	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTC GGCCCGAAGTGCAGCTGCTCGAAACCGGTGGAGGGCTGGTGCAGCCAGGGGGCTCCCT GAGGCTTTCATGCGCCGCTAGCGGATTCTCCTTCTCCTCTTACGCCATGTCGTGGGTC CGCCAAGCCCCTGGAAAAGGCCTGGAATGGGTGTCCGCGATTTCCGGGAGCGGAGGTT CGACCTATTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGCTTTACCATCTCCCGGGATAACTCCAA GAACACTCTGTACCTCCAAATGAACTCGCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTATTAC TGCGCGAAGGCGCTGGTCGGCGCGACTGGGGCATTCGACATCTGGGGACAGGGAACTC TTGTGACCGTGTCGAGCGGAGGCGGCGGCTCCGGCGGAGGAGGGAGCGGGGGCGGTGG TTCCGAAATCGTGTTGACTCAGTCCCCGGGAACCCTGAGCTTGTCACCCGGGGAGCGG GCCACTCTCTCCTGTCGCGCCTCCCAATCGCTCTCATCCAATTTCCTGGCCTGGTACC AGCAGAAGCCCGGACAGGCCCCGGGCCTGCTCATCTACGGCGCTTCAAACTGGGCAAC GGGAACCCCTGATCGGTTCAGCGGAAGCGGATCGGGTACTGACTTTACCCTGACCATC ACCAGACTGGAACCGGAGGACTTCGCCGTGTACTACTGCCAGTACTACGGCACCTCCC CCATGTACACATTCGGACAGGGTACCAAGGTCGAGATTAAGACCACTACCCCAGCACC GAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAG GCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCG ATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGT GATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCC TTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAG AGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCC AGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAG GAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGC GCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGA AGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGA CTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGG CCCTGCCGCCTCGG
BCMA_EBB-C1980-A2		
BCMA_EBB-C1980-A2-aa ScFv 结构域	1165	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGST YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVLWFGEGFDPWGQGTLVTVS SGGGGSGGGGSGGGGSDIVLTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYL QKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTP LTFGGGTKVDIK
BCMA_EBB-C1980-A2-nt ScFv 结构域	1166	GAAGTGCAGCTGCTTGAGAGCGGTGGAGGTCTGGTGCAGCCCGGGGGATCACTGCGCC TGTCCTGTGCCGCGTCCGGTTTCACTTTCTCCTCGTACGCCATGTCGTGGGTCAGACA GGCACCGGGAAAGGGACTGGAATGGGTGTCAGCCATTTCGGGTTCGGGGGGCAGCACC TACTACGCTGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATTTCCCGCGACAACTCCAAGAACA CCTTGTACCTCCAAATGAACTCCCTGCGGGCCGAAGATACCGCCGTGTATTACTGCGT GCTGTGGTTCGGAGAGGGATTCGACCCGTGGGGACAAGGAACACTCGTGACTGTGTCA TCCGGCGGAGGCGGCAGCGGTGGCGGCGGTTCCGGCGGCGGCGGATCTGACATCGTGT TGACCCAGTCCCCTCTGAGCCTGCCGGTCACTCCTGGCGAACCAGCCAGCATCTCCTG CCGGTCGAGCCAGTCCCTCCTGCACTCCAATGGGTACAACTACCTCGATTGGTATCTG CAAAAGCCGGGCCAGAGCCCCCAGCTGCTGATCTACCTTGGGTCAAACCGCGCTTCCG GGGTGCCTGATAGATTCTCCGGGTCCGGGAGCGGAACCGACTTTACCCTGAAAATCTC GAGGGTGGAGGCCGAGGACGTCGGAGTGTACTACTGCATGCAGGCGCTCCAGACTCCC CTGACCTTCGGAGGAGGAACGAAGGTCGACATCAAGA
BCMA_EBB-C1980-A2-aa VH	1167	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGST YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVLWFGEGFDPWGQGTLVTVS S
BCMA_EB	1168	DIVLTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSN

[1062]

B-C1980-A2-aa VL		RASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPLTFGGGTKVDIK
BCMA_EBB-C1980-A2-aa 完全 CART	1169	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWV RQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CVLWFGEGFDPWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVLTQSPLSLPVTPGEPASI SCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLK ISRVEAEDVGVYYCMQALQTPLTFGGGTKVDIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPE ACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQP FMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRRE EYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDG LYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
BCMA_EBB-C1980-A2-nt 完全 CART	1170	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTC GGCCCGAAGTGCAGCTGCTTGAGAGCGGTGGAGGTCTGGTGCAGCCCGGGGGATCACT GCGCCTGTCCTGTGCCGCGTCCGGTTTCACTTTCTCCTCGTACGCCATGTCGTGGGTC AGACAGGCACCGGGAAAGGGACTGGAATGGGTGTCAGCCATTTCGGGTTCGGGGGGCA GCACCTACTACGCTGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATTTCCCGCGACAACTCCAA GAACACCTTGTACCTCCAAATGAACTCCCTGCGGGCCGAAGATACCGCCGTGTATTAC TGCGTGCTGTGGTTCGGAGAGGGATTCGACCCGTGGGGACAAGGAACACTCGTGACTG TGTCATCCGGCGGAGGCGGCAGCGGTGGCGGCGGTTCCGGCGGCGGCGGATCTGACAT CGTGTTGACCCAGTCCCCTCTGAGCCTGCCGGTCACTCCTGGCGAACCAGCCAGCATC TCCTGCCGGTCGAGCCAGTCCCTCCTGCACTCCAATGGGTACAACTACCTCGATTGGT ATCTGCAAAAGCCGGGCCAGAGCCCCCAGCTGCTGATCTACCTTGGGTCAAACCGCGC TTCCGGGGTGCCTGATAGATTCTCCGGGTCCGGGAGCGGAACCGACTTTACCCTGAAA ATCTCGAGGGTGGAGGCCGAGGACGTCGGAGTGTACTACTGCATGCAGGCGCTCCAGA CTCCCCTGACCTTCGGAGGAGGAACGAAGGTCGACATCAAGACCACTACCCCAGCACC GAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGTCCGGAG GCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCGCCTGCG ATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTCACTCGT GATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCC TTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGTTCCCAG AGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCC AGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAG GAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGAAGCCGC GCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGATGGCAGA AGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGA CTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGG CCCTGCCGCCTCGG
BCMA_EBB-C1981-C3		
BCMA_EBB-C1981-C3-aa ScFv 结构域	1171	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGST YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVGYDSSGYYRDYYGMDVW GQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSY LAWYQQKPGQAPRLLIYGTSSRATGISDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQH YGNSPPKFTFGPGTKLEIK
BCMA_EBB-C1981-C3-nt ScFv 结构域	1172	CAAGTGCAGCTCGTGGAGTCAGGCGGAGGACTGGTGCAGCCCGGGGGCTCCCTGAGAC TTTCCTGCGCGGCATCGGGTTTTACCTTCTCCTCCTATGCTATGTCCTGGGTGCGCCA GGCCCCGGGAAAGGGACTGGAATGGGTGTCCGCAATCAGCGGTAGCGGGGGCTCAACA TACTACGCCGACTCCGTCAAGGGTCGCTTCACTATTTCCCGGGACAACTCCAAGAATA CCCTGTACCTCCAAATGAACAGCCTCAGGGCCGAGGATACTGCCGTGTACTACTGCGC CAAAGTCGGATACGATAGCTCCGGTTACTACCGGGACTACTACGGAATGGACGTGTGG GGACAGGGCACCACCGTGACCGTGTCAAGCGGCGGAGGCGGTTCAGGAGGGGGAGGCT CCGGCGGTGGAGGGTCCGAAATCGTCCTGACTCAGTCGCCTGGCACTCTGTCGTTGTC CCCGGGGGAGCGCGCTACCCTGTCGTGTCGGGCGTCGCAGTCCGTGTCGAGCTCCTAC CTCGCGTGGTACCAGCAGAAGCCCGGACAGGCCCCTAGACTTCTGATCTACGGCACTT CTTCACGCGCCACCGGGATCAGCGACAGGTTCAGCGGCTCCGGCTCCGGGACCGACTT CACCCTGACCATTAGCCGGCTGGAGCCTGAAGATTTCGCCGTGTATTACTGCCAACAC

[1063]

		TACGGAAACTCGCCGCCAAAGTTCACGTTCGGACCCGGAACCAAGCTGGAAATCAAG
BCMA_EBB-C1981-C3-aa VH	1173	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGST YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVGYDSSGYYRDYYGMDVW GQGTTVTVSS
BCMA_EBB-C1981-C3-aa VL	1174	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGTSSRATG ISDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQHYGNSPPKFTFGPGTKLEIK
BCMA_EBB-C1981-C3-aa 完全 CART	1175	MALPVTALLLPLALLLHAARPQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWV RQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CAKVGYDSSGYYRDYYGMDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLS LSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGTSSRATGISDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYCQHYGNSPPKFTFGPGTKLEIKTTTPAPRPPTPAPTIASQ PLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKL LYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNE LNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERR RGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
BCMA_EBB-C1981-C3-nt 完全 CART	1176	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTC GGCCCCAAGTGCAGCTCGTGGAGTCAGGCGGAGGACTGGTGCAGCCCGGGGGCTCCCT GAGACTTTCCTGCGCGGCATCGGGTTTTACCTTCTCCTCCTATGCTATGTCCTGGGTG CGCCAGGCCCCGGGAAAGGGACTGGAATGGGTGTCCGCAATCAGCGGTAGCGGGGGCT CAACATACTACGCCGACTCCGTCAAGGGTCGCTTCACTATTTCCCGGGACAACTCCAA GAATACCCTGTACCTCCAAATGAACAGCCTCAGGGCCGAGGATACTGCCGTGTACTAC TGCGCCAAAGTCGGATACGATAGCTCCGGTTACTACCGGGACTACTACGGAATGGACG TGTGGGGACAGGGCACCACCGTGACCGTGTCAAGCGGCGGAGGCGGTTCAGGAGGGGG AGGCTCCGGCGGTGGAGGGTCCGAAATCGTCCTGACTCAGTCGCCTGGCACTCTGTCG TTGTCCCCGGGGGAGCGCGCTACCCTGTCGTGTCGGGCGTCGCAGTCCGTGTCGAGCT CCTACCTCGCGTGGTACCAGCAGAAGCCCGGACAGGCCCCTAGACTTCTGATCTACGG CACTTCTTCACGCGCCACCGGGATCAGCGACAGGTTCAGCGGCTCCGGCTCCGGGACC GACTTCACCCTGACCATTAGCCGGCTGGAGCCTGAAGATTTCGCCGTGTATTACTGCC AACACTACGGAAACTCGCCGCCAAAGTTCACGTTCGGACCCGGAACCAAGCTGGAAAT CAAGACCACTACCCCAGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAG CCTCTGTCCCTGCGTCCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCC GGGGTCTTGACTTCGCCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGG GGTCCTGCTGCTTTCACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTG CTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACG GCTGTTCATGCCGGTTCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATT CAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAA CTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACC CAGAAATGGGCGGGAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCT CCAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGA AGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCT ATGACGCTCTTCACATGCAGGCCCTGCCGCCTCGG
BCMA_EBB-C1978-G4		
BCMA_EBB-C1978-G4-aa ScFv 结构域	1177	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGST YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKMGWSSGYLGAFDIWGQGT TVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVASSFLAWY QQKPGQAPRLLIYGASGRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQHYGGS PRLTFGGGTKVDIK
BCMA_EBB-C1978-G4-	1178	GAAGTCCAACTGGTGGAGTCCGGGGGAGGGCTCGTGCAGCCCGGAGGCAGCCTTCGGC TGTCGTGCGCCGCCTCCGGGTTCACGTTCTCATCCTACGCGATGTCGTGGGTCAGACA GGCACCAGGAAAGGGACTGGAATGGGTGTCCGCCATTAGCGGCTCCGGCGGTAGCACC

[1064]

nt ScFv 结构域		TACTATGCCGACTCAGTGAAGGGAAGGTTCACTATCTCCCGCGACAACAGCAAGAACA CCCTGTACCTCCAAATGAACTCTCTGCGGGCCGAGGATACCGCGGTGTACTATTGCGC CAAGATGGGTTGGTCCAGCGGATACTTGGGAGCCTTCGACATTTGGGGACAGGGCACT ACTGTGACCGTGTCCTCCGGGGGTGGCGGATCGGGAGGCGGCGGCTCGGGTGGAGGGG GTTCCGAAATCGTGTTGACCCAGTCACCGGGAACCCTCTCGCTGTCCCCGGGAGAACG GGCTACACTGTCATGTAGAGCGTCCCAGTCCGTGGCTTCCTCGTTCCTGGCCTGGTAC CAGCAGAAGCCGGGACAGGCACCCCGCCTGCTCATCTACGGAGCCAGCGGCCGGGCGA CCGGCATCCCTGACCGCTTCTCCGGTTCCGGCTCGGGCACCGACTTTACTCTGACCAT TAGCAGGCTTGAGCCCGAGGATTTTGCCGTGTACTACTGCCAACACTACGGGGGGAGC CCTCGCCTGACCTTCGGAGGCGGAACTAAGGTCGATATCAAAA
BCMA_EBB-C1978-G4-aa VH	1179	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGST YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKMGWSSGYLGAFDIWGQGT TVTVSS
BCMA_EBB-C1978-G4-aa VL	1180	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVASSFLAWYQQKPGQAPRLLIYGASGRATG IPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQHYGGSPRLTFGGGTKVDIK
BCMA_EBB-C1978-G4-aa 完全 CART	1181	MALPVTALLLPLALLLHAARPEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWV RQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CAKMGWSSGYLGAFDIWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPG ERATLSCRASQSVASSFLAWYQQKPGQAPRLLIYGASGRATGIPDRFSGSGSGTDFTL TISRLEPEDFAVYYCQHYGGSPRLTFGGGTKVDIKTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLR PEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFK QPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGR REEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGH DGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
BCMA_EBB-C1978-G4-nt 完全 CART	1182	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTCCACGCCGCTC GGCCCGAAGTCCAACTGGTGGAGTCCGGGGGAGGGCTCGTGCAGCCCGGAGGCAGCCT TCGGCTGTCGTGCGCCGCCTCCGGGTTCACGTTCTCATCCTACGCGATGTCGTGGGTC AGACAGGCACCAGGAAAGGGACTGGAATGGGTGTCCGCCATTAGCGGCTCCGGCGGTA GCACCTACTATGCCGACTCAGTGAAGGGAAGGTTCACTATCTCCCGCGACAACAGCAA GAACACCCTGTACCTCCAAATGAACTCTCTGCGGGCCGAGGATACCGCGGTGTACTAT TGCGCCAAGATGGGTTGGTCCAGCGGATACTTGGGAGCCTTCGACATTTGGGGACAGG GCACTACTGTGACCGTGTCCTCCGGGGGTGGCGGATCGGGAGGCGGCGGCTCGGGTGG AGGGGGTTCCGAAATCGTGTTGACCCAGTCACCGGGAACCCTCTCGCTGTCCCCGGGA GAACGGGCTACACTGTCATGTAGAGCGTCCCAGTCCGTGGCTTCCTCGTTCCTGGCCT GGTACCAGCAGAAGCCGGGACAGGCACCCCGCCTGCTCATCTACGGAGCCAGCGGCCG GGCGACCGGCATCCCTGACCGCTTCTCCGGTTCCGGCTCGGGCACCGACTTTACTCTG ACCATTAGCAGGCTTGAGCCCGAGGATTTTGCCGTGTACTACTGCCAACACTACGGGG GGAGCCCTCGCCTGACCTTCGGAGGCGGAACTAAGGTCGATATCAAAACCACTACCCC AGCACCGAGGCCACCCACCCCGGCTCCTACCATCGCCTCCCAGCCTCTGTCCCTGCGT CCGGAGGCATGTAGACCCGCAGCTGGTGGGGCCGTGCATACCCGGGGTCTTGACTTCG CCTGCGATATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTTTC ACTCGTGATCACTCTTTACTGTAAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAG CAACCCTTCATGAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGT TCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTGCGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGA TGCTCCAGCCTACAAGCAGGGGCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGG AGAGAGGAGTACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGGGA AGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTCCAAAAGGATAAGAT GGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAGGGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCAC GACGGACTGTACCAGGGACTCAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACA TGCAGGCCCTGCCGCCTCGG

[1065] 表11B.另外的示例性BCMA CAR序列。

[1066]

名称	序列	SEQ ID NO:
A7D12.2 VH	QIQLVQSGPDLKKPGETVKLSCKASGYTFTNFGMNWVKQAPGKGFKWMAWINTYTGESYFA DDFKGRFAFSVETSATTAYLQINNLKTEDTATYFCARGEIYYGYDGGFAYWGQGTLVTVSA	1183
A7D12.2 VL	DVVMTQSHRFMSTSVGDRVSITCRASQDVNTAVSWYQQKPGQSPKLLIFSASYRYTGVPDR FTGSGSGADFTLTISSVQAEDLAVYYCQQHYSTPWTFGGGTKLDIK	1184
A7D12.2 scFv 结构域	QIQLVQSGPDLKKPGETVKLSCKASGYTFTNFGMNWVKQAPGKGFKWMAWINTYTGESYFA DDFKGRFAFSVETSATTAYLQINNLKTEDTATYFCARGEIYYGYDGGFAYWGQGTLVTVSA GGGGSGGGGSGGGGSDVVMTQSHRFMSTSVGDRVSITCRASQDVNTAVSWYQQKPGQSPKL LIFSASYRYTGVPDRFTGSGSGADFTLTISSVQAEDLAVYYCQQHYSTPWTFGGGTKLDIK	1185
A7D12.2 完全 CART	QIQLVQSGPDLKKPGETVKLSCKASGYTFTNFGMNWVKQAPGKGFKWMAWINTYTGESYFA DDFKGRFAFSVETSATTAYLQINNLKTEDTATYFCARGEIYYGYDGGFAYWGQGTLVTVSA GGGGSGGGGSGGGGSDVVMTQSHRFMSTSVGDRVSITCRASQDVNTAVSWYQQKPGQSPKL LIFSASYRYTGVPDRFTGSGSGADFTLTISSVQAEDLAVYYCQQHYSTPWTFGGGTKLDIK TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLL SLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAP AYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYS EIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	1186
C11D5.3 VH	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTDYSINWVKRAPGKGLKWMGWINTETREPAYA YDFRGRFAFSLETSASTAYLQINNLKYEDTATYFCALDYSYAMDYWGQGTSVTVSS	1187
C11D5.3 VL	DIVLTQSPASLAMSLGKRATISCRASESVSVIGAHLIHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLETG VPARFSGSGSGTDFTLTIDPVEEDDVAIYSCLQSRIFPRTFGGGTKLEIK	1188
C11D5.3 scFv 结构域	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTDYSINWVKRAPGKGLKWMGWINTETREPAYA YDFRGRFAFSLETSASTAYLQINNLKYEDTATYFCALDYSYAMDYWGQGTSVTVSSGGGGS GGGGSGGGGSQIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTDYSINWVKRAPGKGLKWMGWI NTETREPAYAYDFRGRFAFSLETSASTAYLQINNLKYEDTATYFCALDYSYAMDYWGQGTS VTVSS	1189
C11D5.3 完全 CART	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTDYSINWVKRAPGKGLKWMGWINTETREPAYA YDFRGRFAFSLETSASTAYLQINNLKYEDTATYFCALDYSYAMDYWGQGTSVTVSSGGGGS GGGGSGGGGSQIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTDYSINWVKRAPGKGLKWMGWI NTETREPAYAYDFRGRFAFSLETSASTAYLQINNLKYEDTATYFCALDYSYAMDYWGQGTS VTVSSTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTC GVLLLSLVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSR SADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKM AEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	1190
C12A3.2 VH	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFRHYSMNWVKQAPGKGLKWMGRINTESGVPIYA DDFKGRFAFSVETSASTAYLVINNLKDEDTASYFCSNDYLYSLDFWGQGTALTVSS	1191
C12A3.2 VL	DIVLTQSPPSLAMSLGKRATISCRASESVTILGSHLIYWYQQKPGQPPTLLIQLASNVQTG VPARFSGSGSRTDFTLTIDPVEEDDVAVYYCLQSRTIPRTFGGGTKLEIK	1192
C12A3.2 scFv 结构域	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFRHYSMNWVKQAPGKGLKWMGRINTESGVPIYA DDFKGRFAFSVETSASTAYLVINNLKDEDTASYFCSNDYLYSLDFWGQGTALTVSSGGGGS GGGGSGGGGSDIVLTQSPPSLAMSLGKRATISCRASESVTILGSHLIYWYQQKPGQPPTLL IQLASNVQTGVPARFSGSGSRTDFTLTIDPVEEDDVAVYYCLQSRTIPRTFGGGTKLEIK	1193
C12A3.2 完全 CART	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFRHYSMNWVKQAPGKGLKWMGRINTESGVPIYA DDFKGRFAFSVETSASTAYLVINNLKDEDTASYFCSNDYLYSLDFWGQGTALTVSSGGGGS GGGGSGGGGSDIVLTQSPPSLAMSLGKRATISCRASESVTILGSHLIYWYQQKPGQPPTLL IQLASNVQTGVPARFSGSGSRTDFTLTIDPVEEDDVAVYYCLQSRTIPRTFGGGTKLEIKT TTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLS LVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPA YKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSE IGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	1194
C13F12.1	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTHYSMNWVKQAPGKGLKWMGRINTETGEPLYA	1195

[1067]

VH	DDFKGRFAFSLETSASTAYLVINNLKNEDTATFFCSNDYLYSCDYWGQGTTLTVSS	
C13F12.1 VL	DIVLTQSPPSLAMSLGKRATISCRASESVTILGSHLIYWYQQKPGQPPTLLIQLASNVQTG VPARFSGSGSRTDFTLTIDPVEEDDVAVYYCLQSRTIPRTFGGGTKLEIK	1196
C13F12.1 scFv 结构域	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTHYSMNWVKQAPGKGLKWMGRINTETGEPLYA DDFKGRFAFSLETSASTAYLVINNLKNEDTATFFCSNDYLYSCDYWGQGTTLTVSSGGGGS GGGGSGGGGSDIVLTQSPPSLAMSLGKRATISCRASESVTILGSHLIYWYQQKPGQPPTLL IQLASNVQTGVPARFSGSGSRTDFTLTIDPVEEDDVAVYYCLQSRTIPRTFGGGTKLEIK	1197
C13F12.1 完全 CART	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTHYSMNWVKQAPGKGLKWMGRINTETGEPLYA DDFKGRFAFSLETSASTAYLVINNLKNEDTATFFCSNDYLYSCDYWGQGTTLTVSSGGGGS GGGGSGGGGSDIVLTQSPPSLAMSLGKRATISCRASESVTILGSHLIYWYQQKPGQPPTLL IQLASNVQTGVPARFSGSGSRTDFTLTIDPVEEDDVAVYYCLQSRTIPRTFGGGTKLEIKT TTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLS LVITLYCKRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPA YKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSE IGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR	1198

[1068] 本文披露的示例性BCMA CAR构建体包含scFv(例如,如表11A或11B中披露的scFv),任选地在任选的前导序列之前(例如,SEQ ID NO:2和SEQ ID NO:3或1938分别对于示例性前导氨基酸序列和核苷酸序列)。这些scFv片段的序列(例如,来自SEQ ID NO:967-1182中的任一项的ScFv,例如SEQ ID NO:967、973、979、985、991、997、1003、1009、1015、1021、1027、1033、1039、1045、1051、1057、1063、1069、1075、1081、1087、1093、1099、1105、1111、1117、1123、1129、1135、1141、1147、1153、1159、1165、1171、1177,不包括任选的前导序列)在本文表11A或11B中提供。BCMA CAR构建体可以进一步包含任选的铰链结构域,例如CD8铰链结构域(例如,包含SEQ ID NO:4的氨基酸序列或由SEQ ID NO:5的核酸序列编码);跨膜结构域,例如CD8跨膜结构域(例如,包含SEQ ID NO:12的氨基酸序列或由SEQ ID NO:13或1939的核苷酸序列编码);细胞内结构域,例如4-1BB细胞内结构域(例如,包含SEQ ID NO:14的氨基酸序列或由SEQ ID NO:15或1940的核苷酸序列编码);和功能性信号传导结构域,例如CD3ζ结构域(例如,包含SEQ ID NO:18或20的氨基酸序列,或由SEQ ID NO:19、1941或21的核苷酸序列编码)。在某些实施例中,这些结构域邻接并在同一阅读框中以形成单个融合蛋白。在其他实施例中,结构域在分开的多肽中,例如,在如本文描述的RCAR分子中。

[1069] 在某些实施例中,全长BCMA CAR分子包含以下的氨基酸序列或由以下的核苷酸序列编码:表11A或11B中提供的BCMA-1、BCMA-2、BCMA-3、BCMA-4、BCMA-5、BCMA-6、BCMA-7、BCMA-8、BCMA-9、BCMA-10、BCMA-11、BCMA-12、BCMA-13、BCMA-14、BCMA-15、149362、149363、149364、149365、149366、149367、149368、149369、BCMA_EBB-C1978-A4、BCMA_EBB-C1978-G1、BCMA_EBB-C1979-C1、BCMA_EBB-C1978-C7、BCMA_EBB-C1978-D10、BCMA_EBB-C1979-C12、BCMA_EBB-C1980-G4、BCMA_EBB-C1980-D2、BCMA_EBB-C1978-A10、BCMA_EBB-C1978-D4、BCMA_EBB-C1980-A2、BCMA_EBB-C1981-C3、BCMA_EBB-C1978-G4、A7D12.2、C11D5.3、C12A3.2或C13F12.1,或与其基本上(例如,85%、95%-99%或更高)相同的序列。

[1070] 在某些实施例中,BCMA CAR分子或抗BCMA抗原结合结构域包含以下的scFv氨基酸序列:表11A或11B中提供的BCMA-1、BCMA-2、BCMA-3、BCMA-4、BCMA-5、BCMA-6、BCMA-7、BCMA-8、BCMA-9、BCMA-10、BCMA-11、BCMA-12、BCMA-13、BCMA-14、BCMA-15、149362、149363、149364、149365、149366、149367、149368、149369、BCMA_EBB-C1978-A4、BCMA_EBB-C1978-G1、BCMA_EBB-C1979-C1、BCMA_EBB-C1978-C7、BCMA_EBB-C1978-D10、BCMA_EBB-C1979-C12、BCMA_EBB-C1980-G4、BCMA_EBB-C1980-D2、BCMA_EBB-C1978-A10、BCMA_EBB-C1978-D4、BCMA_EBB-C1980-A2、BCMA_EBB-C1981-C3、BCMA_EBB-C1978-G4、A7D12.2、C11D5.3、C12A3.2或C13F12.1(有或没有前导序列),或与前述序列中的任一项基本上相同(例如,85%、95%-

99%或更高相同，或最多20、15、10、8、6、5、4、3、2或1个氨基酸变化，例如取代(例如，保守取代))。

[1071] 在某些实施例中，BCMA CAR分子或抗BCMA抗原结合结构域包含以下的重链可变区和/或轻链可变区：表11A或11B中提供的BCMA-1、BCMA-2、BCMA-3、BCMA-4、BCMA-5、BCMA-6、BCMA-7、BCMA-8、BCMA-9、BCMA-10、BCMA-11、BCMA-12、BCMA-13、BCMA-14、BCMA-15、149362、149363、149364、149365、149366、149367、149368、149369、BCMA_EBB-C1978-A4、BCMA_EBB-C1978-G1、BCMA_EBB-C1979-C1、BCMA_EBB-C1978-C7、BCMA_EBB-C1978-D10、BCMA_EBB-C1979-C12、BCMA_EBB-C1980-G4、BCMA_EBB-C1980-D2、BCMA_EBB-C1978-A10、BCMA_EBB-C1978-D4、BCMA_EBB-C1980-A2、BCMA_EBB-C1981-C3、BCMA_EBB-C1978-G4、A7D12.2、C11D5.3、C12A3.2或C13F12.1，或与前述序列中的任一项基本上相同(例如，85%、95%-99%或更高相同，或最多20、15、10、8、6、5、4、3、2或1个氨基酸变化，例如取代(例如，保守取代))。

[1072] 在某些实施例中，BCMA CAR分子或抗BCMA抗原结合结构域包含来自表12中提供的重链可变区(例如HCDR1、HCDR2和/或HCDR3)的一个、两个或三个CDR；和/或来自表13中提供的BCMA-1、BCMA-2、BCMA-3、BCMA-4、BCMA-5、BCMA-6、BCMA-7、BCMA-8、BCMA-9、BCMA-10、BCMA-11、BCMA-12、BCMA-13、BCMA-14、BCMA-15、149362、149363、149364、149365、149366、149367、149368、149369、BCMA_EBB-C1978-A4、BCMA_EBB-C1978-G1、BCMA_EBB-C1979-C1、BCMA_EBB-C1978-C7、BCMA_EBB-C1978-D10、BCMA_EBB-C1979-C12、BCMA_EBB-C1980-G4、BCMA_EBB-C1980-D2、BCMA_EBB-C1978-A10、BCMA_EBB-C1978-D4、BCMA_EBB-C1980-A2、BCMA_EBB-C1981-C3、BCMA_EBB-C1978-G4、A7D12.2、C11D5.3、C12A3.2或C13F12.1的轻链可变区(例如，LCDR1、LCDR2和/或LCDR3)的一个、两个或三个CDR；或与前述序列中的任一项基本上相同(例如，85%、95%-99%或更高相同，或最多20、15、10、8、6、5、4、3、2或1个氨基酸变化，例如取代(例如，保守取代))的序列。

[1073] 在某些实施例中，BCMA CAR分子或抗BCMA抗原结合结构域包含来自表14中提供的重链可变区(例如HCDR1、HCDR2和/或HCDR3)的一个、两个或三个CDR；和/或来自表15中提供的BCMA-1、BCMA-2、BCMA-3、BCMA-4、BCMA-5、BCMA-6、BCMA-7、BCMA-8、BCMA-9、BCMA-10、BCMA-11、BCMA-12、BCMA-13、BCMA-14、BCMA-15、149362、149363、149364、149365、149366、149367、149368、149369、BCMA_EBB-C1978-A4、BCMA_EBB-C1978-G1、BCMA_EBB-C1979-C1、BCMA_EBB-C1978-C7、BCMA_EBB-C1978-D10、BCMA_EBB-C1979-C12、BCMA_EBB-C1980-G4、BCMA_EBB-C1980-D2、BCMA_EBB-C1978-A10、BCMA_EBB-C1978-D4、BCMA_EBB-C1980-A2、BCMA_EBB-C1981-C3、BCMA_EBB-C1978-G4、A7D12.2、C11D5.3、C12A3.2或C13F12.1的轻链可变区(例如，LCDR1、LCDR2和/或LCDR3)的一个、两个或三个CDR；或与前述序列中的任一项基本上相同(例如，85%、95%-99%或更高相同，或最多20、15、10、8、6、5、4、3、2或1个氨基酸变化，例如取代(例如，保守取代))的序列。

[1074] 在某些实施例中，BCMA CAR分子或抗BCMA抗原结合结构域包含来自表16中提供的重链可变区(例如HCDR1、HCDR2和/或HCDR3)的一个、两个或三个CDR；和/或来自表17中提供的BCMA-1、BCMA-2、BCMA-3、BCMA-4、BCMA-5、BCMA-6、BCMA-7、BCMA-8、BCMA-9、BCMA-10、BCMA-11、BCMA-12、BCMA-13、BCMA-14、BCMA-15、149362、149363、149364、149365、149366、149367、149368、149369、BCMA_EBB-C1978-A4、BCMA_EBB-C1978-G1、BCMA_EBB-C1979-C1、

BCMA_EBB-C1978-C7、BCMA_EBB-C1978-D10、BCMA_EBB-C1979-C12、BCMA_EBB-C1980-G4、BCMA_EBB-C1980-D2、BCMA_EBB-C1978-A10、BCMA_EBB-C1978-D4、BCMA_EBB-C1980-A2、BCMA_EBB-C1981-C3、BCMA_EBB-C1978-G4、A7D12.2、C11D5.3、C12A3.2或C13F12.1的轻链可变区(例如,LCDR1、LCDR2和/或LCDR3)的一个、两个或三个CDR;或与前述序列中的任一项基本上相同(例如,85%、95%-99%或更高相同,或最多20、15、10、8、6、5、4、3、2或1个氨基酸变化,例如取代(例如,保守取代))的序列。

[1075] scFv结构域的人CDR序列的序列对于重链可变结构域在表12、14和16中示出,并且对于轻链可变结构域在表13、15和17中示出。“ID”代表每个CDR的相应SEQ ID NO。

[1076] 表12:根据Kabat编号方案(Kabat等人(1991),“Sequences of Proteins of Immunological Interest[具有免疫学意义的蛋白质的序列],”第5版Public Health Service[公共卫生署],National Institutes of Health[国立卫生研究院],贝塞斯达,马里兰州)的BCMA重链可变结构域CDR。

[1077]

候选物	HCDR1	ID	HCDR2	ID	HCDR3	ID
139109	NHGMS	1199	GIVYSGSTYYAASVKG	1239	HGGESDV	1279
139103	NYAMS	1200	GISRSGENTYYADSVKG	1240	SPAHYYGGMDV	1280
139105	DYAMH	1201	GISWNSGSIGYADSVKG	1241	HSFLAY	1281
139111	NHGMS	1202	GIVYSGSTYYAASVKG	1242	HGGESDV	1282
139100	NFGIN	1203	WINPKNNNTNYAQKFQG	1243	GPYYYQSYMDV	1283
139101	SDAMT	1204	VISGSGGTTYYADSVKG	1244	LDSSGYYYARG PRY	1284
139102	NYGIT	1205	WISAYNGNTNYAQKFQG	1245	GPYYYYMDV	1285
139104	NHGMS	1206	GIVYSGSTYYAASVKG	1246	HGGESDV	1286
139106	NHGMS	1207	GIVYSGSTYYAASVKG	1247	HGGESDV	1287
139107	NHGMS	1208	GIVYSGSTYYAASVKG	1248	HGGESDV	1288
139108	DYYMS	1209	YISSSGSTIYYADSVKG	1249	ESGDGMDV	1289
139110	DYYMS	1210	YISSSGNTIYYADSVKG	1250	STMVREDY	1290
139112	NHGMS	1211	GIVYSGSTYYAASVKG	1251	HGGESDV	1291
139113	NHGMS	1212	GIVYSGSTYYAASVKG	1252	HGGESDV	1292
139114	NHGMS	1213	GIVYSGSTYYAASVKG	1253	HGGESDV	1293
149362	SSYYY WG	1214	SIYYSGSAYYNPSLKS	1254	HWQEWPDAFDI	1294
149363	TSGMC VS	1215	RIDWDEDKFYSTSLKT	1255	SGAGGTSATAF DI	1295
149364	SYSMN	1216	SISSSSSYIYYADSVKG	1256	TIAAVYAFDI	1296
149365	DYYMS	1217	YISSSGSTIYYADSVKG	1257	DLRGAFDI	1297
149366	SHYIH	1218	MINPSGGVTAYSQTLQG	1258	EGSGSGWYFDF	1298
149367	SGGYY WS	1219	YIYYSGSTYYNPSLKS	1259	AGIAARLRGAF DI	1299
149368	SYAIS	1220	GIIPIFGTANYAQKFQG	1260	RGGYQLLRWDV GLLRSAFDI	1300
149369	SNSAA WN	1221	RTYYRSKWYSFYAISLKS	1261	SSPEGLFLYWFD P	1301
BCMA_E BB-C197 8-A4	SYAMS	1222	AISGSGGSTYYADSVKG	1262	VEGSGSLDY	1302
BCMA_E BB-C197 8-G1	RYPMS	1223	GISDSGVSTYYADSAKG	1263	RAGSEASDI	1303
BCMA_E BB-C197 9-C1	SYAMS	1224	AISGSGGSTYYADSVKG	1264	ATYKRELRYYY GMDV	1304
BCMA_E BB-C197 8-C7	SYAMS	1225	AISGSGGSTYYADSVKG	1265	ATYKRELRYYY GMDV	1305
BCMA_E BB-C197 8-D10	DYAMH	1226	GISWNSGSIGYADSVKG	1266	VGKAVPDV	1306
BCMA_E	DYAMH	1227	SINWKGNSLAYGDSVKG	1267	HQGVAYYNYA	1307

[1078]

BB-C1979-C12					MDV	
BCMA_EBB-C1980-G4	SYAMS	1228	AISGSGGSTYYADSVKG	1268	VVRDGMDV	1308
BCMA_EBB-C1980-D2	SYAMS	1229	AISGSGGSTYYADSVKG	1269	IPQTGTFDY	1309
BCMA_EBB-C1978-A10	SYAMS	1230	AISGSGGSTYYADSVKG	1270	ANYKRELRYYYGMDV	1310
BCMA_EBB-C1978-D4	SYAMS	1231	AISGSGGSTYYADSVKG	1271	ALVGATGAFDI	1311
BCMA_EBB-C1980-A2	SYAMS	1232	AISGSGGSTYYADSVKG	1272	WFGEGFDP	1312
BCMA_EBB-C1981-C3	SYAMS	1233	AISGSGGSTYYADSVKG	1273	VGYDSSGYYRDYYGMDV	1313
BCMA_EBB-C1978-G4	SYAMS	1234	AISGSGGSTYYADSVKG	1274	MGWSSGYLGAFDI	1314
A7D12.2	NFGMN	1235	WINTYTGESYFADDFKG	1275	GEIYYGYDGGFAY	1315
C11D5.3	DYSIN	1236	WINTETREPAYAYDFRG	1276	DYSYAMDY	1316
C12A3.2	HYSMN	1237	RINTESGVPIYADDFKG	1277	DYLYSLDF	1317
C13F12.1	HYSMN	1238	RINTETGEPLYADDFKG	1278	DYLYSCDY	1318

[1079] 表13:根据Kabat编号方案(Kabat等人(1991),“Sequences of Proteins of Immunological Interest[具有免疫学意义的蛋白质的序列],”第5版Public Health Service[公共卫生署],National Tnstitutes of Health[国立卫生研究院],贝塞斯达,马里兰州)的BCMA轻链可变结构域CDR

[1080]

候选物	LCDR1	ID	LCDR2	ID	LCDR3	ID
139109	RASQSISSYLN	1319	AASSLQS	1359	QQSYSTPYT	1399
139103	RASQSISSSFLA	1320	GASRRAT	1360	QQYHSSPSWT	1400
139105	RSSQSLLHSNGYNYLD	1321	LGSNRAS	1361	MQALQTPYT	1401
139111	KSSQSLLRNDGKTPLY	1322	EVSNRFS	1362	MQNIQFPS	1402
139100	RSSQSLLHSNGYNYLN	1323	LGSKRAS	1363	MQALQTPYT	1403
139101	RASQSISSYLN	1324	GASTLAS	1364	QQSYKRAS	1404
139102	RSSQSLLYSNGYNYVD	1325	LGSNRAS	1365	MQGRQFPYS	1405

139104	RASQSVSSNLA	1326	GASTRAS	1366	QQYGSSLT	1406
139106	RASQSVSSKLA	1327	GASIRAT	1367	QQYGSSSWT	1407
139107	RASQSVGSTNLA	1328	DASNRAT	1368	QQYGSSPPWT	1408
139108	RASQSISSYLN	1329	AASSLQS	1369	QQSYTLA	1409
139110	KSSESLVHNSGKTYLN	1330	EVSNRDS	1370	MQGTHWPGT	1410
139112	QASEDINKFLN	1331	DASTLQT	1371	QQYESLPLT	1411
139113	RASQSVGSNLA	1332	GASTRAT	1372	QQYNDWLPVT	1412
139114	RASQSIGSSSLA	1333	GASSRAS	1373	QQYAGSPPFT	1413
149362	KASQDIDDAMN	1334	SATSPVP	1374	LQHDNFPLT	1414
149363	RASQDIYNNLA	1335	AANKSQS	1375	QHYYRFPYS	1415
149364	RSSQSLLHSNGYNYLD	1336	LGSNRAS	1376	MQALQTPYT	1416
149365	GGNNIGTKSVH	1337	DDSVRPS	1377	QVWDSDSEHVV	1417
149366	SGDGLSKKYVS	1338	RDKERPS	1378	QAWDDTTVV	1418
149367	RASQGIRNWLA	1339	AASNLQS	1379	QKYNSAPFT	1419
149368	GGNNIGSKSVH	1340	GKNNRPS	1380	SSRDSSGDHLRV	1420
149369	QGDSLGNYYAT	1341	GTNNRPS	1381	NSRDSSGHHLL	1421
BCMA_EBB-C1978-A4	RASQSVSSAYLA	1342	GASTRAT	1382	QHYGSSFNGSSLFT	1422
BCMA_EBB-C1978-G1	RASQSVSNSLA	1343	DASSRAT	1383	QQFGTSSGLT	1423
BCMA_EBB-C1979-C1	RASQSVSSSFLA	1344	GASSRAT	1384	QQYHSSPSWT	1424
BCMA_EBB-C1978-C7	RASQSVSTTFLA	1345	GSSNRAT	1385	QQYHSSPSWT	1425
BCMA_EBB-C1978-D10	RASQSISSYLN	1346	AASSLQS	1386	QQSYSTPYS	1426
BCMA_EBB-C1979-C12	RATQSIGSSFLA	1347	GASQRAT	1387	QHYESSPSWT	1427
BCMA_EBB-C1980-G4	RASQSVSSSYLA	1348	GASSRAT	1388	QQYGSPPRFT	1428
BCMA_EBB-C1980-D2	RASQSVSSSYLA	1349	GASSRAT	1389	QHYGSSPSWT	1429
BCMA_EBB-C1978-A10	RASQRVASNYLA	1350	GASSRAT	1390	QHYDSSPSWT	1430
BCMA_EBB-C1978-D4	RASQSLSSNFLA	1351	GASNWAT	1391	QYYGTSPMYT	1431
BCMA_EBB-C1980-A2	RSSQSLLHSNGYNYLD	1352	LGSNRAS	1392	MQALQTPLT	1432

[1081]

BCMA_EBB-C1981-C3	RASQSVSSSYLA	1353	GTSSRAT	1393	QHYGNSPPKFT	1433
BCMA_EBB-C1978-G4	RASQSVASSFLA	1354	GASGRAT	1394	QHYGGSPRLT	1434
A7D12.2	RASQDVNTAVS	1355	SASYRYT	1395	QQHYSTPWT	1435
C11D5.3	RASESVSVIGAHLIH	1356	LASNLET	1396	LQSRIFPRT	1436
C12A3.2	RASESVTILGSHLIY	1357	LASNVQT	1397	LQSRTIPRT	1437
C13F12.1	RASESVTILGSHLIY	1358	LASNVQT	1398	LQSRTIPRT	1438

[1082]

[1083] 表14:根据Chothia编号方案(Al-Lazikani等人,(1997)JMB 273,927-948)的BCMA重链可变结构域CDR。

[1084]

候选物	HCDR1	ID	HCDR2	ID	HCDR3	ID
139109	GFALSNH	1439	VYSGS	1479	HGGESDV	1519
139103	GFTFSNY	1440	SRSGEN	1480	SPAHYYGGMDV	1520
139105	GFTFDDY	1441	SWNSGS	1481	HSFLAY	1521
139111	GFALSNH	1442	VYSGS	1482	HGGESDV	1522
139100	GYIFDNF	1443	NPKNNN	1483	GPYYYQSYMDV	1523
139101	GFTFSSD	1444	SGSGGT	1484	LDSSGYYYARGPRY	1524
139102	GYTFSNY	1445	SAYNGN	1485	GPYYYYMDV	1525
139104	GFALSNH	1446	VYSGS	1486	HGGESDV	1526
139106	GFALSNH	1447	VYSGS	1487	HGGESDV	1527
139107	GFALSNH	1448	VYSGS	1488	HGGESDV	1528
139108	GFTFSDY	1449	SSSGST	1489	ESGDGMDV	1529
139110	GFTFSDY	1450	SSSGNT	1490	STMVREDY	1530
139112	GFALSNH	1451	VYSGS	1491	HGGESDV	1531
139113	GFALSNH	1452	VYSGS	1492	HGGESDV	1532
139114	GFALSNH	1453	VYSGS	1493	HGGESDV	1533
149362	GGSISSSYY	1454	YYSGS	1494	HWQEWPDAFDI	1534
149363	GFSLRTSGM	1455	DWDED	1495	SGAGGTSATAFDI	1535
149364	GFTFSSY	1456	SSSSSY	1496	TIAAVYAFDI	1536
149365	GFTFSDY	1457	SSSGST	1497	DLRGAFDI	1537
149366	GYTVTSH	1458	NPSGGV	1498	EGSGSGWYFDF	1538
149367	GGSISSGGY	1459	YYSGS	1499	AGIAARLRGAFDI	1539
149368	GGTFSSY	1460	IPIFGT	1500	RGGYQLLRWDVGLLRSAFDI	1540
149369	GDSVSSNSA	1461	YYRSKWY	1501	SSPEGLFLYWFDP	1541
BCMA_EBB-C1978-A4	GFTFSSY	1462	SGSGGS	1502	VEGSGSLDY	1542
BCMA_EBB-C1978-G1	GITFSRY	1463	SDSGVS	1503	RAGSEASDI	1543
BCMA_EBB-C1979-C1	GFTFSSY	1464	SGSGGS	1504	ATYKRELRYYYGMDV	1544
BCMA_EBB-C1978-C7	GFTFSSY	1465	SGSGGS	1505	ATYKRELRYYYGMDV	1545

[1085]

BCMA_EBB -C1978-D10	GFTFDDY	1466	SWNSGS	1506	VGKAVPDV	1546
BCMA_EBB -C1979-C12	GFTFDDY	1467	NWKGNS	1507	HQGVAYYNYAMDV	1547
BCMA_EBB -C1980-G4	GFTFSSY	1468	SGSGGS	1508	VVRDGMDV	1548
BCMA_EBB -C1980-D2	GFTFSSY	1469	SGSGGS	1509	IPQTGTFDY	1549
BCMA_EBB -C1978-A10	GFTFSSY	1470	SGSGGS	1510	ANYKRELRYYYGMDV	1550
BCMA_EBB -C1978-D4	GFSFSSY	1471	SGSGGS	1511	ALVGATGAFDI	1551
BCMA_EBB -C1980-A2	GFTFSSY	1472	SGSGGS	1512	WFGEGFDP	1552
BCMA_EBB -C1981-C3	GFTFSSY	1473	SGSGGS	1513	VGYDSSGYYRDYYGM DV	1553
BCMA_EBB -C1978-G4	GFTFSSY	1474	SGSGGS	1514	MGWSSGYLGAFDI	1554
A7D12.2	GYTFTNF	1475	NTYTGE	1515	GEIYYGYDGGFAY	1555
C11D5.3	GYTFTDY	1476	NTETRE	1516	DYSYAMDY	1556
C12A3.2	GYTFRHY	1477	NTESGV	1517	DYLYSLDF	1557
C13F12.1	GYTFTHY	1478	NTETGE	1518	DYLYSCDY	1558

[1086] 表15:根据Chothia编号方案(Al-Lazikani等人,(1997)JMB 273,927-948)的BCMA轻链可变结构域CDR。

[1087]

候选物	LCDR1	ID	LCDR 2	ID	LCDR3	ID
139109	SQSISSY	1559	AAS	1599	SYSTPY	1639
139103	SQSISSSF	1560	GAS	1600	YHSSPSW	1640
139105	SQSLLHSNGYNY	1561	LGS	1601	ALQTPY	1641
139111	SQSLLRNDGKTP	1562	EVS	1602	NIQFP	1642
139100	SQSLLHSNGYNY	1563	LGS	1603	ALQTPY	1643
139101	SQSISSY	1564	GAS	1604	SYKRA	1644
139102	SQSLLYSNGYNY	1565	LGS	1605	GRQFPY	1645
139104	SQSVSSN	1566	GAS	1606	YGSSL	1646
139106	SQSVSSK	1567	GAS	1607	YGSSSW	1647
139107	SQSVGSTN	1568	DAS	1608	YGSSPPW	1648
139108	SQSISSY	1569	AAS	1609	SYTL	1649
139110	SESLVHNSGKTY	1570	EVS	1610	GTHWPG	1650
139112	SEDINKF	1571	DAS	1611	YESLPL	1651
139113	SQSVGSN	1572	GAS	1612	YNDWLPV	1652
139114	SQSIGSSS	1573	GAS	1613	YAGSPPF	1653
149362	SQDIDDA	1574	SAT	1614	HDNFPL	1654
149363	SQDIYNN	1575	AAN	1615	YYRFPY	1655
149364	SQSLLHSNGYNY	1576	LGS	1616	ALQTPY	1656

[1088]

149365	NNIGTKS	1577	DDS	1617	WDSDSEHV	1657
149366	DGLSKKY	1578	RDK	1618	WDDTTV	1658
149367	SQGIRNW	1579	AAS	1619	YNSAPF	1659
149368	NNIGSKS	1580	GKN	1620	RDSSGDHLR	1660
149369	DSLGNYY	1581	GTN	1621	RDSSGHHL	1661
BCMA_EBB-C 1978-A4	SQSVSSAY	1582	GAS	1622	YGSSFNGSSLF	1662
BCMA_EBB-C 1978-G1	SQSVSNS	1583	DAS	1623	FGTSSGL	1663
BCMA_EBB-C 1979-C1	SQSVSSSF	1584	GAS	1624	YHSSPSW	1664
BCMA_EBB-C 1978-C7	SQSVSTTF	1585	GSS	1625	YHSSPSW	1665
BCMA_EBB-C 1978-D10	SQSISSY	1586	AAS	1626	SYSTPY	1666
BCMA_EBB-C 1979-C12	TQSIGSSF	1587	GAS	1627	YESSPSW	1667
BCMA_EBB-C 1980-G4	SQSVSSSY	1588	GAS	1628	YGSPPRF	1668
BCMA_EBB-C 1980-D2	SQSVSSSY	1589	GAS	1629	YGSSPSW	1669
BCMA_EBB-C 1978-A10	SQRVASNY	1590	GAS	1630	YDSSPSW	1670
BCMA_EBB-C 1978-D4	SQSLSSNF	1591	GAS	1631	YGTSPMY	1671
BCMA_EBB-C 1980-A2	SQSLLHSNGYNY	1592	LGS	1632	ALQTPL	1672
BCMA_EBB-C 1981-C3	SQSVSSSY	1593	GTS	1633	YGNSPPKF	1673
BCMA_EBB-C 1978-G4	SQSVASSF	1594	GAS	1634	YGGSPRL	1674
A7D12.2	SQDVNTA	1595	SAS	1635	HYSTPW	1675
C11D5.3	SESVSVIGAHL	1596	LAS	1636	SRIFPR	1676
C12A3.2	SESVTILGSHL	1597	LAS	1637	SRTIPR	1677
C13F12.1	SESVTILGSHL	1598	LAS	1638	SRTIPR	1678

[1089] 表16.根据Kabat编号方案(Kabat等人(1991),“Sequences of Proteins of Immunological Interest[具有免疫学意义的蛋白质的序列],”第5版Public Health Service[公共卫生署],National Institutes of Health[国立卫生研究院],贝塞斯达,马里兰州)和Chothia编号方案(Al-Lazikani等人,(1997)JMB 273,927-948)的组合的重链可变结构域CDR。

[1090]

候选物	HCDR1	ID	HCDR2	ID	HCDR3	ID
139109	GFALSNHGMS	1679	GIVYSGSTYYA ASVKG	1719	HGGESDV	1759

[1091]

139103	GFTFSNYAMS	1680	GISRSGENTYYADSVKG	1720	SPAHYYGGMDV	1760
139105	GFTFDDYAMH	1681	GISWNSGSIGYADSVKG	1721	HSFLAY	1761
139111	GFALSNHGMS	1682	GIVYSGSTYYAASVKG	1722	HGGESDV	1762
139100	GYIFDNFGIN	1683	WINPKNNNTNYAQKFQG	1723	GPYYYQSYMDV	1763
139101	GFTFSSDAMT	1684	VISGSGGTTYYADSVKG	1724	LDSSGYYYARGPRY	1764
139102	GYTFSNYGIT	1685	WISAYNGNTNYAQKFQG	1725	GPYYYYMDV	1765
139104	GFALSNHGMS	1686	GIVYSGSTYYAASVKG	1726	HGGESDV	1766
139106	GFALSNHGMS	1687	GIVYSGSTYYAASVKG	1727	HGGESDV	1767
139107	GFALSNHGMS	1688	GIVYSGSTYYAASVKG	1728	HGGESDV	1768
139108	GFTFSDYYMS	1689	YISSSGSTIYYADSVKG	1729	ESGDGMDV	1769
139110	GFTFSDYYMS	1690	YISSSGNTIYYADSVKG	1730	STMVREDY	1770
139112	GFALSNHGMS	1691	GIVYSGSTYYAASVKG	1731	HGGESDV	1771
139113	GFALSNHGMS	1692	GIVYSGSTYYAASVKG	1732	HGGESDV	1772
139114	GFALSNHGMS	1693	GIVYSGSTYYAASVKG	1733	HGGESDV	1773
149362	GGSISSSYYYWG	1694	SIYYSGSAYYNPSLKS	1734	HWQEWPDAFDI	1774
149363	GFSLRTSGMCVS	1695	RIDWDEDKFYSTSLKT	1735	SGAGGTSATAFDI	1775
149364	GFTFSSYSMN	1696	SISSSSSYIYYADSVKG	1736	TIAAVYAFDI	1776
149365	GFTFSDYYMS	1697	YISSSGSTIYYADSVKG	1737	DLRGAFDI	1777
149366	GYTVTSHYIH	1698	MINPSGGVTAYSQTLQG	1738	EGSGSGWYFDF	1778
149367	GGSISSGGYYWS	1699	YIYYSGSTYYNPSLKS	1739	AGIAARLRGAFDI	1779
149368	GGTFSSYAIS	1700	GIIPIFGTANYAQKFQG	1740	RGGYQLLRWDVGLLRSAFDI	1780
149369	GDSVSSNSAAWN	1701	RTYYRSKWYSFYAISLKS	1741	SSPEGLFLYWFDP	1781
BCMA_EBB-C1978-A4	GFTFSSYAMS	1702	AISGSGGSTYYADSVKG	1742	VEGSGSLDY	1782
BCMA_EBB-C1978-G1	GITFSRYPMS	1703	GISDSGVSTYYADSAKG	1743	RAGSEASDI	1783

[1092]

BCMA_EBB-C1979-C1	GFTFSSYAMS	1704	AISGSGGSTYYADSVKG	1744	ATYKRELRYYYGMDV	1784
BCMA_EBB-C1978-C7	GFTFSSYAMS	1705	AISGSGGSTYYADSVKG	1745	ATYKRELRYYYGMDV	1785
BCMA_EBB-C1978-D10	GFTFDDYAMH	1706	GISWNSGSIGYADSVKG	1746	VGKAVPDV	1786
BCMA_EBB-C1979-C12	GFTFDDYAMH	1707	SINWKGNSLAYGDSVKG	1747	HQGVAYYNYAMDV	1787
BCMA_EBB-C1980-G4	GFTFSSYAMS	1708	AISGSGGSTYYADSVKG	1748	VVRDGMDV	1788
BCMA_EBB-C1980-D2	GFTFSSYAMS	1709	AISGSGGSTYYADSVKG	1749	IPQTGTFDY	1789
BCMA_EBB-C1978-A10	GFTFSSYAMS	1710	AISGSGGSTYYADSVKG	1750	ANYKRELRYYYGMDV	1790
BCMA_EBB-C1978-D4	GFSFSSYAMS	1711	AISGSGGSTYYADSVKG	1751	ALVGATGAFDI	1791
BCMA_EBB-C1980-A2	GFTFSSYAMS	1712	AISGSGGSTYYADSVKG	1752	WFGEGFDP	1792
BCMA_EBB-C1981-C3	GFTFSSYAMS	1713	AISGSGGSTYYADSVKG	1753	VGYDSSGYYRDYYGMDV	1793
BCMA_EBB-C1978-G4	GFTFSSYAMS	1714	AISGSGGSTYYADSVKG	1754	MGWSSGYLGAFDI	1794
A7D12.2	GYTFTNFGMN	1715	WINTYTGESYFADDFKG	1755	GEIYYGYDGGFAY	1795
C11D5.3	GYTFTDYSIN	1716	WINTETREPAYAYDFRG	1756	DYSYAMDY	1796
C12A3.2	GYTFRHYSMN	1717	RINTESGVPIYADDFKG	1757	DYLYSLDF	1797
C13F12.1	GYTFTHYSMN	1718	RINTETGEPLYADDFKG	1758	DYLYSCDY	1798

[1093] 表17.根据Kabat编号方案(Kabat等人(1991),“Sequences of Proteins of Immunological Interest[具有免疫学意义的蛋白质的序列],”第5版Public Health Service[公共卫生署],National Institutes of Health[国立卫生研究院],贝塞斯达,马里兰州)和Chothia编号方案(A1-Lazikani等人,(1997)JMB 273,927-948)的组合的BCMA轻链可变结构域CDR。

[1094]

候选物	LCDR1	ID	LCDR2	ID	LCDR3	ID
139109	RASQSISSYLN	1799	AASSLQS	1839	QQSYSTPYT	1879
139103	RASQSISSSFLA	1800	GASRRAT	1840	QQYHSSPSWT	1880
139105	RSSQSLLHSNGYNYLD	1801	LGSNRAS	1841	MQALQTPYT	1881
139111	KSSQSLLRNDGKTPLY	1802	EVSNRFS	1842	MQNIQFPS	1882
139100	RSSQSLLHSNGYNYLN	1803	LGSKRAS	1843	MQALQTPYT	1883
139101	RASQSISSYLN	1804	GASTLAS	1844	QQSYKRAS	1884
139102	RSSQSLLYSNGYNYVD	1805	LGSNRAS	1845	MQGRQFPYS	1885

[1095]

139104	RASQSVSSNLA	1806	GASTRAS	1846	QQYGSSLT	1886
139106	RASQSVSSKLA	1807	GASIRAT	1847	QQYGSSSWT	1887
139107	RASQSVGSTNLA	1808	DASNRAT	1848	QQYGSSPPWT	1888
139108	RASQSISSYLN	1809	AASSLQS	1849	QQSYTLA	1889
139110	KSSESLVHNSGKTYLN	1810	EVSNRDS	1850	MQGTHWPGT	1890
139112	QASEDINKFLN	1811	DASTLQT	1851	QQYESLPLT	1891
139113	RASQSVGSNLA	1812	GASTRAT	1852	QQYNDWLPVT	1892
139114	RASQSIGSSSLA	1813	GASSRAS	1853	QQYAGSPPFT	1893
149362	KASQDIDDAMN	1814	SATSPVP	1854	LQHDNFPLT	1894
149363	RASQDIYNNLA	1815	AANKSQS	1855	QHYYRFPYS	1895
149364	RSSQSLLHSNGYNYLD	1816	LGSNRAS	1856	MQALQTPYT	1896
149365	GGNNIGTKSVH	1817	DDSVRPS	1857	QVWDSDSEHVV	1897
149366	SGDGLSKKYVS	1818	RDKERPS	1858	QAWDDTTVV	1898
149367	RASQGIRNWLA	1819	AASNLQS	1859	QKYNSAPFT	1899
149368	GGNNIGSKSVH	1820	GKNNRPS	1860	SSRDSSGDHLRV	1900
149369	QGDSLGNYYAT	1821	GTNNRPS	1861	NSRDSSGHHLL	1901
BCMA_EBB-C1978-A4	RASQSVSSAYLA	1822	GASTRAT	1862	QHYGSSFNGSSLFT	1902
BCMA_EBB-C1978-G1	RASQSVSNSLA	1823	DASSRAT	1863	QQFGTSSGLT	1903
BCMA_EBB-C1979-C1	RASQSVSSSFLA	1824	GASSRAT	1864	QQYHSSPSWT	1904
BCMA_EBB-C1978-C7	RASQSVSTTFLA	1825	GSSNRAT	1865	QQYHSSPSWT	1905
BCMA_EBB-C1978-D10	RASQSISSYLN	1826	AASSLQS	1866	QQSYSTPYS	1906
BCMA_EBB-C1979-C12	RATQSIGSSFLA	1827	GASQRAT	1867	QHYESSPSWT	1907
BCMA_EBB-C1980-G4	RASQSVSSSYLA	1828	GASSRAT	1868	QQYGSPPRFT	1908
BCMA_EBB-C1980-D2	RASQSVSSSYLA	1829	GASSRAT	1869	QHYGSSPSWT	1909
BCMA_EBB-C1978-A10	RASQRVASNYLA	1830	GASSRAT	1870	QHYDSSPSWT	1910
BCMA_EBB-C1978-D4	RASQSLSSNFLA	1831	GASNWAT	1871	QYYGTSPMYT	1911
BCMA_EBB-C1980-A2	RSSQSLLHSNGYNYLD	1832	LGSNRAS	1872	MQALQTPLT	1912
BCMA_EBB-C1981-C3	RASQSVSSSYLA	1833	GTSSRAT	1873	QHYGNSPPKFT	1913
BCMA_EBB-C1978-G4	RASQSVASSFLA	1834	GASGRAT	1874	QHYGGSPRLT	1914
A7D12.2	RASQDVNTAVS	1835	SASYRYT	1875	QQHYSTPWT	1915
C11D5.3	RASESVSVIGAHLIH	1836	LASNLET	1876	LQSRIFPRT	1916

[1096]

C12A3.2	RASESVTILGSHLIY	1837	LASNVQT	1877	LQSRTIPRT	1917
C13F12.1	RASESVTILGSHLIY	1838	LASNVQT	1878	LQSRTIPRT	1918

[1097] 在某些实施例中，本文描述的CAR分子(例如，CAR核酸或CAR多肽)或BCMA结合结构域包含：

[1098] (1)选自以下中的一者的一个、两个或三个轻链(LC)CDR：

[1099] (i)BCMA-4 CAR(139103)的SEQ ID NO:1320的LC CDR1、SEQ ID NO:1360的LC CDR2和SEQ ID NO:1400的LC CDR3；

[1100] (ii)BCMA-10 CAR(139109)的SEQ ID NO:1319的LC CDR1、SEQ ID NO:1359的LC CDR2和SEQ ID NO:1399的LC CDR3;

[1101] (iii)BCMA-13 CAR(139112)的SEQ ID NO:1331的LC CDR1、SEQ ID NO:1371的LC CDR2和SEQ ID NO:1411的LC CDR3;或

[1102] (iv)BCMA-15 CAR(139114)的SEQ ID NO:1333的LC CDR1、SEQ ID NO:1373的LC CDR2和SEQ ID NO:1413的LC CDR3,和/或

[1103] (2)选自以下中的一者的一个、两个或三个重链(HC)CDR:

[1104] (i)BCMA-4 CAR(139103)的SEQ ID NO:1200的HC CDR1、SEQ ID NO:1240的HC CDR2和SEQ ID NO:1280的HC CDR3;

[1105] (ii)BCMA-10 CAR(139109)的SEQ ID NO:1199的HC CDR1、SEQ ID NO:1239的HC CDR2和SEQ ID NO:1279的HC CDR3;

[1106] (iii)BCMA-13 CAR(139112)的SEQ ID NO:1121的HC CDR1、SEQ ID NO:1251的HC CDR2和SEQ ID NO:1291的HC CDR3;或

[1107] (iv)BCMA-15 CAR(139114)的SEQ ID NO:1213的HC CDR1、SEQ ID NO:1253的HC CDR2和SEQ ID NO:1293的HC CDR3。

[1108] 在某些实施例中,本文描述的CAR分子(例如,CAR核酸或CAR多肽)包含:

[1109] (1)选自以下中的一者的一个、两个或三个轻链(LC)CDR:

[1110] (i)BCMA-4 CAR(139103)的SEQ ID NO:1560的LC CDR1、SEQ ID NO:1600的LC CDR2和SEQ ID NO:1640的LC CDR3;

[1111] (ii)BCMA-10 CAR(139109)的SEQ ID NO:1559的LC CDR1、SEQ ID NO:1599的LC CDR2和SEQ ID NO:1639的LC CDR3;

[1112] (iii)BCMA-13 CAR(139112)的SEQ ID NO:1571的LC CDR1、SEQ ID NO:1611的LC CDR2和SEQ ID NO:1651的LC CDR3;或

[1113] (iv)BCMA-15 CAR(139114)的SEQ ID NO:1573的LC CDR1、SEQ ID NO:1613的LC CDR2和SEQ ID NO:1653的LC CDR3;和/或

[1114] (2)选自以下中的一者的一个、两个或三个重链(HC)CDR:

[1115] (i)BCMA-4 CAR(139103)的SEQ ID NO:1440的HC CDR1、SEQ ID NO:1480的HC CDR2和SEQ ID NO:1520的HC CDR3;

[1116] (ii)BCMA-10 CAR(139109)的SEQ ID NO:1439的HC CDR1、SEQ ID NO:1479的HC CDR2和SEQ ID NO:1519的HC CDR3;

[1117] (iii)BCMA-13 CAR(139112)的SEQ ID NO:1451的HC CDR1、SEQ ID NO:1491的HC CDR2和SEQ ID NO:1531的HC CDR3;或

[1118] (iv)BCMA-15 CAR(139114)的SEQ ID NO:1453的HC CDR1、SEQ ID NO:1493的HC CDR2和SEQ ID NO:1533的HC CDR3。

[1119] 在某些实施例中,本文描述的CAR分子(例如,CAR核酸或CAR多肽)包含:

[1120] (1)选自以下中的一者的一个、两个或三个轻链(LC)CDR:

[1121] (i)BCMA-4 CAR(139103)的SEQ ID NO:1800的LC CDR1、SEQ ID NO:1840的LC CDR2和SEQ ID NO:1880的LC CDR3;

[1122] (ii)BCMA-10 CAR(139109)的SEQ ID NO:1799的LC CDR1、SEQ ID NO:1839的LC

CDR2和SEQ ID NO:1879的LC_CDR3;

[1123] (iii)BCMA-13 CAR(139112)的SEQ ID NO:1811的LC CDR1、SEQ ID NO:1851的LC CDR2和SEQ ID NO:1891的LC CDR3;或

[1124] (iv)BCMA-15 CAR(139114)的SEQ ID NO:1813的LC CDR1、SEQ ID NO:1853的LC CDR2和SEQ ID NO:1893的LC CDR3;和/或

[1125] (2)选自以下中的一者的一个、两个或三个重链(HC)CDR:

[1126] (i)BCMA-4 CAR(139103)的SEQ ID NO:1680的HC CDR1、SEQ ID NO:1720的HC CDR2和SEQ ID NO:1760的HC CDR3;

[1127] (ii)BCMA-10 CAR(139109)的SEQ ID NO:1679的HC CDR1、SEQ ID NO:1719的HC CDR2和SEQ ID NO:1759的HC CDR3;

[1128] (iii)BCMA-13 CAR(139112)的SEQ ID NO:1691的HC CDR1、SEQ ID NO:1731的HC CDR2和SEQ ID NO:1771的HC CDR3;

[1129] (iv)BCMA-15 CAR(139114)的SEQ ID NO:1693的HC CDR1、SEQ ID NO:1733的HC CDR2和SEQ ID NO:1773的HC CDR3。

[1130] 在实施例中,CAR分子包含本文描述的间皮素CAR,例如WO 2015/090230(通过引用并入本文)中描述的间皮素CAR。在实施例中,间皮素CAR包含氨基酸,或具有WO 2015/090230(通过引用并入本文)中所示的核苷酸序列,或与前述序列中的任一项基本上相同(例如,与前述间皮素CAR序列中的任一项至少85%、90%、95%或更多相同)的序列。在一个实施例中,CAR分子包含间皮素CAR,或根据WO 2015/090230(通过引用并入本文)的表2-3的抗原结合结构域,或与其基本上相同(例如,与其至少85%、90%、95%或更多相同)的序列。编码间皮素CAR分子和抗原结合结构域的氨基酸序列和核苷酸序列(例如,包含根据Kabat或Chothia的一个、两个、三个VH CDR;和一个、两个、三个VL CDR)在WO 2015/090230中指定。

[1131] 在一个实施例中,CAR分子包含本文描述的CLL1 CAR,例如描述于通过引用并入本文的US2016/0051651A1中的CLL1 CAR。在实施例中,CLL1 CAR包含氨基酸,或具有US2016/0051651A1(通过引用并入本文)中所示的核苷酸序列,或与前述序列中的任一项基本上相同(例如,与前述CLL1 CAR序列中的任一项至少85%、90%、95%或更多相同)的序列。

[1132] 在其他实施例中,CLL1 CAR包含CAR分子,或根据WO 2016/014535(通过引用并入本文)的表2的抗原结合结构域,或与前述序列中的任一项基本上相同(例如,与前述CLL1 CAR序列中的任一项至少85%、90%、95%或更多相同)的序列。编码CLL-1 CAR分子和抗原结合结构域的氨基酸序列和核苷酸序列(例如,包含根据Kabat或Chothia的一个、两个、三个VH CDR;和一个、两个、三个VL CDR)在WO 2016/014535中指定。

[1133] 在一个实施例中,CAR分子包含本文描述的CD33 CAR,例如描述于通过引用并入本文的US 2016/0096892A1中的CD33 CAR。在实施例中,CD33 CAR包含氨基酸,或具有US 2016/0096892A1(通过引用并入本文)中所示的核苷酸序列,或与前述序列中的任一项基本上相同(例如,与前述CD33 CAR序列中的任一项至少85%、90%、95%或更多相同)的序列。在其他实施例中,CD33 CAR CAR或其抗原结合结构域可以包含CAR分子(例如,CAR33-1至CAR-33-9中的任一个),或根据WO 2016/014576(通过引用并入本文)的表2或9的抗原结合结构域,或与前述序列中的任一项基本上相同(例如,与前述CD33 CAR序列中的任一项至少

85％、90％、95％或更多相同)的序列。编码CD33 CAR分子和抗原结合结构域的氨基酸序列和核苷酸序列(例如,包含根据Kabat或Chothia的一个、两个、三个VH CDR;和一个、两个、三个VL CDR)在WO 2016/014576中指定。

[1134] 在实施例中,CAR分子包含本文描述的CD123 CAR,例如描述于US 2014/0322212 A1或US 2016/0068601 A1中的CD123 CAR,两者均通过引用并入本文。在实施例中,CD123 CAR包含氨基酸,或具有US 2014/0322212 A1或US 2016/0068601 A1(两者均通过引用并入本文)中所示的核苷酸序列,或与前述序列中的任一项基本上相同(例如,与前述CD123 CAR序列中的任一项至少85％、90％、95％或更多相同)的序列。在一个实施例中,CAR分子包含CD123 CAR(例如,CAR1-CAR8中的任一个),或根据WO 2014/130635(通过引用并入本文)的表1-2的抗原结合结构域,或与其基本上相同(例如,与前述CD123 CAR序列中的任一项至少85％、90％、95％或更多相同)的序列。编码CD123 CAR分子和抗原结合结构域的氨基酸序列和核苷酸序列(例如,包含根据Kabat或Chothia的一个、两个、三个VH CDR;和一个、两个、三个VL CDR)在WO 2014/130635中指定。

[1135] 在其他实施例中,CAR分子包含CD123 CAR包含CAR分子(例如,CAR123-1至CAR123-4和hzCAR123-1至hzCAR123-32中的任一个),或根据WO 2016/028896(通过引用并入本文)的表2、6和9的抗原结合结构域,或与其基本上相同(例如,与前述CD123 CAR序列中的任一项至少85％、90％、95％或更多相同)的序列。编码CD123 CAR分子和抗原结合结构域的氨基酸序列和核苷酸序列(例如,包含根据Kabat或Chothia的一个、两个、三个VH CDR;和一个、两个、三个VL CDR)在WO 2016/028896中指定。

[1136] 在一个实施例中,CAR分子包含本文描述的EGFRvIII CAR分子,例如描述于通过引用并入本文的US 2014/0322275 A1中的EGFRvIII CAR。在实施例中,EGFRvIII CAR包含氨基酸,或具有US 2014/0322275 A1(通过引用并入本文)中所示的核苷酸序列,或与前述序列中的任一项基本上相同(例如,与前述EGFRvIII CAR序列中的任一项至少85％、90％、95％或更多相同)的序列。在一个实施例中,CAR分子包含EGFRvIII CAR,或根据WO 2014/130657(通过引用并入本文)的表2或SEQ ID NO:11的抗原结合结构域,或与其基本上相同(例如,与其至少85％、90％、95％或更多相同)的序列。编码EGFRvIII CAR分子和抗原结合结构域的氨基酸序列和核苷酸序列(例如,包含根据Kabat或Chothia的一个、两个、三个VH CDR;和一个、两个、三个VL CDR)在WO 2014/130657中指定。

[1137] 在其他实施例中,CAR分子包含GFR ALPHA-4 CAR,例如可以包含CAR分子,或根据WO 2016/025880(通过引用并入本文)的表2的抗原结合结构域,或与前述序列中的任一项基本上相同(例如,与前述GFR ALPHA-4序列中的任一项至少85％、90％、95％或更多相同)的序列。编码GFR ALPHA-4 CAR分子和抗原结合结构域的氨基酸序列和核苷酸序列(例如,包含根据Kabat或Chothia的一个、两个、三个VH CDR;和一个、两个、三个VL CDR)在WO 2016/025880中指定。

[1138] 抑制性结构域

[1139] 在一个实施例中,该载体包含编码CAR(例如,本文描述的CAR)的核酸序列和编码抑制性分子的核酸序列,该抑制性分子包含:inhKIR细胞质结构域;跨膜结构域,例如KIR跨膜结构域;和抑制剂细胞质结构域,例如ITIM结构域,例如inhKIR ITIM结构域。在一个实施例中,抑制性分子是天然存在的inhKIR,或与天然存在的inhKIR共有至少50％、60％、70％、

80％、85％、90％、95％或99％同源性或相差不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15或20个残基的序列。

[1140] 在一个实施例中，编码抑制性分子的核酸序列包含：SLAM家族细胞质结构域；跨膜结构域，例如SLAM家族跨膜结构域；和抑制剂细胞质结构域，例如SLAM家族结构域，例如SLAM家族ITIM结构域。在一个实施例中，抑制性分子是天然存在的SLAM家族成员，或与天然存在的SLAM家族成员共有至少50％、60％、70％、80％、85％、90％、95％或99％同源性或相差不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15或20个残基的序列。

[1141] 在一个实施例中，载体是体外转录的载体，例如转录本文描述的核酸分子的RNA的载体。在一个实施例中，载体中的核酸序列进一步包含聚(A)尾，例如聚A尾。在一个实施例中，载体中的核酸序列进一步包含3′UTR，例如本文描述的3′UTR，例如包含源自人β-球蛋白的3′UTR的至少一个重复。在一个实施例中，载体中的核酸序列进一步包含启动子，例如T2A启动子。

[1142] 启动子

[1143] 在一个实施例中，载体进一步包含启动子。在一些实施例中，该启动子选自EF-1启动子、CMV IE基因启动子、EF-1α启动子、泛素C启动子或磷酸甘油酸激酶(PGK)启动子。在一个实施例中，启动子是EF-1启动子。在一个实施例中，EF-1启动子包含SEQ ID NO:1的序列。

[1144] 宿主细胞

[1145] 如上所述的，在一些方面，本发明涉及一种细胞，例如免疫效应细胞(例如，细胞群体，例如免疫效应细胞群体)，该细胞包含如本文描述的核酸分子、嵌合多肽分子或载体。

[1146] 在本披露的某些方面，可以使用任何数量的本领域技术人员已知的技术(如Ficoll™分离)从自受试者收集的血液单位获得免疫效应细胞，例如T细胞。在一个优选的方面，通过单采血液成分术获得来自个体的循环血液的细胞。单采血液成分术产物典型地含有淋巴细胞，包括T细胞、单核细胞、粒细胞、B细胞、其他有核白细胞、红细胞、和血小板。在一个方面，可以洗涤通过单采血液成分术收集的细胞以除去血浆部分并且任选地将细胞置于适当的缓冲液或培养基中用于后续加工步骤。在本发明的一个实施例中，使用磷酸盐缓冲盐水(PBS)洗涤这些细胞。在一个替代实施例中，洗涤溶液缺少钙并且可能缺少镁，或者可能缺少许多(如果不是全部)二价阳离子。

[1147] 在不存在钙的情况下的初始活化步骤可以导致放大的活化。如本领域普通技术人员将容易理解的，洗涤步骤可以通过本领域技术人员已知的方法完成，如通过根据制造商的说明使用半自动“流通”离心机(例如，Cobe 2991细胞处理器、Baxter CytoMate、或Haemonetics Cell Saver 5)。在洗涤后，可以将细胞重悬于多种生物相容性缓冲液中，例如像无Ca、无Mg的PBS、PlasmaLyte A、或者含有或不含缓冲液的其他盐溶液。可替代地，可以除去单采血液成分术样品中不希望的组分，并将细胞直接重悬于培养基中。

[1148] 应当认识到，本申请的方法可利用包含5％或更少(例如2％)的人AB血清的培养基条件，并使用已知的培养基条件和组合物，例如描述于以下的那些：Smith等人，“Ex vivo expansion of human T cells for adoptiveimmunotherapy using the novel Xeno-free CTS Immune Cell Serum Replacement[使用新型无Xeno CTS免疫细胞血清替代物进行过继免疫治疗的人T细胞的离体扩增]”Clinical&Translational Immunology[临床和移植免疫学](2015)4，e31；doi：10.1038/cti.2014.31。培养基可以另外包含一种或多种，例

如一种如本文描述的LSD1抑制剂。

[1149] 在一个方面，通过例如通过PERCOLL™梯度离心或通过逆流离心淘洗来裂解红细胞和耗尽单核细胞，从外周血淋巴细胞分离T细胞。一旦分离，可以使这些细胞例如与如本文描述的LSD1抑制剂离体接触。

[1150] 本文描述的方法可以包括，例如使用例如(例如本文描述的)阴性选择技术选择免疫效应细胞(例如T细胞)的特定亚群，该亚群是T调控细胞耗尽的群体，CD25+耗尽的细胞。优选地，T调控耗尽的细胞群体含有少于30％、25％、20％、15％、10％、5％、4％、3％、2％、1％的CD25+细胞。在选择之前或之后，可以使这些细胞与如本文描述的LSD1抑制剂例如离体接触。

[1151] 在一个实施例中，使用抗CD25抗体或其片段或CD25结合配体IL-2从该群除去T调控细胞(例如CD25+ T细胞)。在一个实施例中，将抗CD25抗体或其片段或CD25结合配体与底物(例如珠)缀合，或以其他方式包被在底物(例如珠)上。在一个实施例中，将抗CD25抗体或其片段与如本文描述的底物缀合。

[1152] 在一个实施例中，使用来自Miltenyi™的CD25耗尽试剂从该群除去T调控细胞(例如CD25+ T细胞)。在一个实施例中，细胞与CD25耗尽试剂的比率是1e7个细胞至20uL、或1e7个细胞至15uL、或1e7个细胞至10uL、或1e7个细胞至5uL、或1e7个细胞至2.5uL、或1e7个细胞至1.25uL。在一个实施例中，例如对于T调控细胞(例如CD25+)耗尽，使用大于5亿个细胞/ml。在另一个方面，使用600、700、800、或900百万个细胞/ml的细胞浓度。

[1153] 在一个实施例中，有待耗尽的免疫效应细胞群体包括约6x 10^9个CD25+ T细胞。在其他方面，有待耗尽的免疫效应细胞群体包括约1x 10^9至1x 10^{10}个CD25+T细胞，以及其间的任何整数值。在一个实施例中，所得T调控耗尽的细胞群体具有2x 10^9个T调控细胞(例如CD25+细胞)或更少(例如1x 10^9、5x 10^8、1x 10^8、5x 10^7、1x 10^7或更少个CD25+细胞)。

[1154] 在一个实施例中，使用具有耗尽管组(例如像管162-01)的CliniMAC系统从该群除去T调控细胞(例如CD25+细胞)。在一个实施例中，将CliniMAC系统在耗尽设置(例如像DEPLETION2.1)上运行。

[1155] 不希望受特定理论的约束，在单采血液成分术之前或在制造表达CAR的细胞产物期间降低受试者中免疫细胞的阴性调节剂水平(例如，减少不需要的免疫细胞(例如TREG细胞)的数量)可以降低受试者复发的风险。例如，耗尽T_{REG}细胞的方法是本领域已知的。减少TREG细胞的方法包括但不限于环磷酰胺、抗GITR抗体(本文描述的抗GITR抗体)、CD25耗尽、及其组合。这些方法可以与制造方法组合，这些制造方法包括使免疫效应细胞群体与如本文描述的LSD1抑制剂接触。

[1156] 在一些实施例中，制造方法包括在制造表达CAR的细胞之前减少T_{REG}细胞的数量(例如，耗尽T_{REG}细胞)。例如，制造方法包括使样品(例如单采血液成分术样品)与抗GITR抗体和/或抗CD25抗体(或其片段、或CD25结合配体)接触，例如以在制造表达CAR的细胞(例如T细胞、NK细胞)产物之前耗尽T_{REG}细胞。这些方法可以与制造方法组合，这些制造方法包括使免疫效应细胞群体与如本文描述的LSD1抑制剂接触。

[1157] 在一个实施例中，在收集用于表达CAR的细胞产物制造的细胞之前，用一种或多种减少T_{REG}细胞的疗法预先治疗受试者，从而降低受试者对表达CAR的细胞治疗复发的风险。在一个实施例中，减少T_{REG}细胞的方法包括但不限于向受试者给予环磷酰胺、抗GITR抗体、

CD25耗尽、或其组合中的一种或多种。给予环磷酰胺、抗GITR抗体、CD25耗尽、或其组合中的一种或多种可以在输注表达CAR的细胞产物之前、期间或之后发生。这些方法可以与制造方法组合，这些制造方法包括使免疫效应细胞群体与如本文描述的LSD1抑制剂接触。

[1158] 在一个实施例中，在收集用于表达CAR的细胞产物制造的细胞之前，用环磷酰胺预先治疗受试者，从而降低受试者对表达CAR的细胞治疗复发的风险。在一个实施例中，在收集用于表达CAR的细胞产物制造的细胞之前，用抗GITR抗体预先治疗受试者，从而降低受试者对表达CAR的细胞治疗复发的风险。这些方法可以与制造方法组合，这些制造方法包括使免疫效应细胞群体与如本文描述的LSD1抑制剂接触。

[1159] 在一个实施例中，有待除去的细胞群体既不是调控T细胞或肿瘤细胞，也不是以其他方式对CART细胞的扩增和/或功能产生负面影响的细胞(例如表达CD14、CD11b、CD33、CD15、或由潜在免疫抑制细胞表达的其他标志物的细胞)。在一个实施例中，设想将此类细胞与调控T细胞和/或肿瘤细胞并行除去，或者在所述耗尽之后，或以另一种顺序除去。

[1160] 本文描述的方法可以包括多于一个的选择步骤，例如多于一个的耗尽步骤。可以例如用针对阴性选择的细胞特有的表面标志物的抗体组合来完成通过阴性选择富集T细胞群体。一种方法是通过负磁性免疫吸附或流式细胞术进行细胞分选和/或选择，该负磁性免疫吸附或流式细胞术使用针对存在于阴性选择的细胞上的细胞表面标志物的单克隆抗体的混合物。例如，为了通过阴性选择富集CD4+细胞，单克隆抗体混合物可以包括针对CD14、CD20、CD11b、CD16、HLA-DR、和CD8的抗体。这些步骤可以与制造方法组合，这些制造方法包括使免疫效应细胞群体与如本文描述的LSD1抑制剂接触。

[1161] 本文描述的方法可以进一步包括从表达肿瘤抗原(例如不包含CD25的肿瘤抗原，例如CD19、CD30、CD38、CD123、CD20、CD14或CD11b)的群体除去细胞，从而提供T调控耗尽的(例如CD25+耗尽的)和肿瘤抗原耗尽的细胞群体，该细胞群体适于表达CAR(例如本文描述的CAR)。在一个实施例中，将肿瘤抗原表达细胞与T调控例如CD25+细胞同时除去。例如，抗CD25抗体或其片段、和抗肿瘤抗原抗体或其片段可以附接至可以用于除去细胞或抗CD25抗体或其片段、或抗肿瘤抗原抗体或其片段的同一底物(例如珠)，可以附接至分开的珠(其混合物可以用于除去细胞)。在其他实施例中，T调控细胞(例如CD25+细胞)的除去和肿瘤抗原表达细胞的除去是连续的，并且可以例如以任何顺序发生。这些步骤可以与制造方法组合，这些制造方法包括使免疫效应细胞群体与如本文描述的LSD1抑制剂接触。

[1162] 还提供了包括以下的方法：从表达检查点抑制剂(例如本文描述的检查点抑制剂)的群体除去细胞(例如PD1+细胞、LAG3+细胞、和TIM3+细胞中的一种或多种)，从而提供T调控耗尽的(例如CD25+耗尽的)细胞和检查点抑制剂耗尽的细胞(例如PD1+、LAG3+和/或TIM3+耗尽的细胞)群。示例性检查点抑制剂包括B7-H1、B7-1、CD160、P1H、2B4、PD1、TIM3、CEACAM(例如CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5)、LAG3、TIGIT、CTLA-4、BTLA和LAIR1。在一个实施例中，将检查点抑制剂表达细胞与T调控例如CD25+细胞同时除去。例如，抗CD25抗体或其片段、和抗检查点抑制剂抗体或其片段可以附接至可以用于除去细胞或抗CD25抗体或其片段、和抗检查点抑制剂抗体或其片段的同一珠，可以附接至分开的珠(其混合物可以用于除去细胞)。在其他实施例中，T调控细胞(例如CD25+细胞)的除去和检查点抑制剂表达细胞的除去是连续的，并且可以例如以任何顺序发生。这些步骤可以与制造方法组合，这些制造方法包括使免疫效应细胞群体与如本文描述的LSD1抑制剂接触。

[1163] 本文描述的方法可以包括阳性选择步骤。例如，可以通过与抗CD3/抗CD28(例如3x28)缀合的珠(如DYNABEADS® M-450CD3/CD28T)孵育足以阳性选择所希望的T细胞的时间段来分离T细胞。在一个实施例中，该时间段是约30分钟。在另一个实施例中，该时间段的范围为从30分钟至36小时或更长以及其间的所有整数值。在另一个实施例中，该时间段是至少1、2、3、4、5或6小时。在又另一个实施例中，该时间段是10至24小时，例如24小时。与其他细胞类型相比，在存在较少T细胞的任何情况下，如从肿瘤组织或免疫受损个体分离肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)，可以使用更长的孵育时间来分离T细胞。此外，使用更长的孵育时间可以提高CD8+ T细胞捕获的效率。因此，通过简单地缩短或延长使T细胞与CD3/CD28珠结合的时间和/或通过增加或减少珠与T细胞的比率(如本文进一步描述的)，可以在培养起始时或在该过程期间的其他时间点优先地选择或针对T细胞亚群。另外，通过增加或减少抗CD3和/或抗CD28抗体在珠或其他表面上的比率，可以在培养起始时或在其他希望的时间点优先地选择或针对T细胞亚群。这些步骤可以与制造方法组合，这些制造方法包括使免疫效应细胞群体与如本文描述的LSD1抑制剂接触。

[1164] 在一个实施例中，可以选择表达以下中的一者或多者的T细胞群体：IFN-γ、TNFα、IL-17A、IL-2、IL-3、IL-4、GM-CSF、IL-10、IL-13、颗粒酶B、和穿孔素、或其他适当的分子(例如其他细胞因子)。筛选细胞表达的方法可以通过例如PCT公开号：WO 2013/126712中描述的方法来确定。

[1165] 为了通过阳性或阴性选择分离希望的细胞群体，可以改变细胞和表面(例如颗粒(如珠))的浓度。在某些方面，可能希望显著减小其中珠和细胞混合在一起的体积(例如，增加细胞的浓度)，以确保细胞和珠的最大接触。例如，在一个方面，使用100亿个细胞/ml、90亿/ml、80亿/ml、70亿/ml、60亿/ml或50亿/ml的浓度。在一个方面，使用10亿个细胞/ml的浓度。在又一个方面，使用75、80、85、90、95、或100百万个细胞/ml的细胞浓度。在另外的方面，可以使用125或150百万个细胞/ml的浓度。

[1166] 使用高浓度可以导致细胞产量增加、细胞活化、和细胞扩增。此外，使用高细胞浓度允许更有效地捕获可能弱表达感兴趣的靶抗原的细胞(如CD28阴性T细胞)，或来自存在许多肿瘤细胞的样品(例如白血病的血、肿瘤组织等)的细胞。此类细胞群体可能具有治疗价值，并且是希望获得的。例如，使用高浓度的细胞允许更有效地选择通常具有较弱CD28表达的CD8+T细胞。

[1167] 在相关方面，可能希望使用较低的细胞浓度。通过显著稀释T细胞和表面(例如，颗粒如珠)的混合物，使颗粒与细胞之间的相互作用最小化。这选择了表达大量有待结合颗粒的所希望抗原的细胞。例如，CD4+ T细胞表达较高水平的CD28，并且在稀释浓度下比CD8+ T细胞更有效地捕获。在一个方面，所使用的细胞的浓度是5x 10^6/ml。在其他方面，所使用的浓度可以是从约1x 10^5/ml至1x 10^6/ml，以及其间的任何整数值。

[1168] 在其他方面，可以将这些细胞在旋转器上以不同的速度在2℃-10℃或室温下孵育不同的时间长度。

[1169] 用于刺激的T细胞也可以在洗涤步骤后冷冻。不希望受理论束缚，冷冻和后续解冻步骤通过除去细胞群体中的粒细胞和一定程度的单核细胞来提供更均匀的产物。在除去血浆和血小板的洗涤步骤之后，可以将细胞悬浮在冷冻溶液中。虽然许多冷冻溶液和参数是本领域已知的并且在这种情况下将是有用的，但一种方法涉及使用含有20％DMSO和8％人

血清白蛋白的PBS，或含有10％葡聚糖40和5％葡萄糖、20％人血清白蛋白和7.5％DMSO的培养基，或含有31.25％Plasmalyte-A、31.25％葡萄糖5％、0.45％NaCl、10％葡聚糖40和5％葡萄糖、20％人血清白蛋白和7.5％DMSO的培养基，或含有例如Hespan和PlasmaLyte A的其他适合的细胞冷冻培养基，然后将细胞以每分钟1°的速率冷冻至-80℃并储存在液氮储罐的气相中。可以使用其他控制冷冻的方法以及在-20℃或液氮中立即不受控制的冷冻。

[1170] 在某些方面，将冷冻保存的细胞如本文所描述进行解冻和洗涤，并允许在使用本发明的方法活化之前在室温静置1小时。

[1171] 在本发明的上下文中还考虑了在可能需要如本文描述的扩增细胞之前的时间段从受试者收集血液样品或单采血液成分术产物。因此，可以在任何必要的时间点收集有待扩增的细胞来源，并且可以分离和冷冻所希望的细胞(如T细胞)以便以后在免疫效应细胞疗法中用于任何数量将受益于免疫效应细胞疗法(如本文描述的那些)的疾病或病状。在一个方面，血液样品或单采血液成分术取自基本健康的受试者。在某些方面，血液样品或单采血液成分术取自基本健康的受试者，该受试者处于发展疾病的风险中，但尚未患发展疾病，并且将感兴趣的细胞分离并冷冻供以后使用。在某些方面，T细胞可以扩增、冷冻，并在以后使用。在某些方面，在诊断如本文描述的特定疾病之后但在任何治疗之前不久从患者收集样品。在另一方面，在任何数量的相关治疗方式之前，从受试者的血液样品或单采血液成分术分离细胞，这些相关治疗方式包括但不限于用以下进行治疗：药剂(如那他珠单抗、依法珠单抗、抗病毒剂)、化疗、放射、免疫抑制剂(如环孢菌素、硫唑嘌呤、甲氨蝶呤、霉酚酸酯、和FK506)、抗体或其他免疫清除剂(如CAMPATH、抗CD3抗体、环磷酰胺、氟达拉滨、环孢菌素、FK506、雷帕霉素、霉酚酸、类固醇、FR 901228)、和照射。

[1172] 在本发明的另一方面，在治疗后直接从患者获得T细胞使得受试者具有功能性T细胞。在这点上，已观察到在某些癌症治疗(特别是使用破坏免疫系统的药物的治疗)之后，在患者通常将从治疗恢复期间治疗后不久，所获得的T细胞的质量因其离体扩增的能力可能是最佳或改善的。同样地，在使用本文描述的方法进行离体操作之后，这些细胞可以处于优选的状态以增强植入和体内扩增。因此，在本发明的上下文中，预期在该恢复期期间收集血细胞，包括T细胞、树突细胞或造血谱系的其他细胞。此外，在某些方面，动员(例如，用GM-CSF动员)和调整方案可以用于在受试者中产生病状，其中特定细胞类型的再增殖、再循环、再生、和/或扩增是有利的，尤其是在治疗后确定的时间窗口。例证性细胞类型包括免疫系统的T细胞、B细胞、树突细胞、和其他细胞。

[1173] 在一个实施例中，表达CAR分子(例如本文描述的CAR分子)的免疫效应细胞获自已接受LSD1抑制剂的受试者。在一个实施例中，在足够的时间后或在足够剂量的LSD1抑制剂后收获被工程化为表达CAR的免疫效应细胞(例如T细胞)的群体，以使得受试者中或从受试者收获的PD1阴性免疫效应细胞(例如T细胞)的水平、或PD1阴性免疫效应细胞(例如T细胞)/PD1阳性免疫效应细胞(例如T细胞)的比率已经至少短暂地增加。

[1174] 在其他实施例中，已经被或将被工程化为表达CAR的免疫效应细胞(例如T细胞)的群体可以通过与一定量的LSD1抑制剂接触而离体进行处理，该LSD1抑制剂增加PD1阴性免疫效应细胞(例如T细胞)的数量或增加PD1阴性免疫效应细胞(例如T细胞)/PD1阳性免疫效应细胞(例如T细胞)的比率。

[1175] 在一个实施例中，T细胞群体是二酰基甘油激酶(DGK)缺陷型。DGK缺陷型细胞包括

不表达DGK RNA或蛋白质，或具有降低或抑制的DGK活性的细胞。DGK缺陷型细胞可以通过遗传方法产生，例如给予RNA干扰剂(例如siRNA、shRNA、miRNA)以减少或预防DGK表达。可替代地，可以通过用本文描述的DGK抑制剂处理产生DGK缺陷型细胞。

[1176] 在一个实施例中，T细胞群体是Ikaros缺陷型。Ikaros缺陷型细胞包括不表达Ikaros RNA或蛋白质，或具有降低或抑制的Ikaros活性的细胞，Ikaros缺陷型细胞可以通过遗传方法产生，例如给予RNA干扰剂(例如siRNA、shRNA、miRNA)以减少或预防Ikaros表达。可替代地，可以通过用Ikaros抑制剂(例如来那度胺)处理产生Ikaros缺陷型细胞。

[1177] 在实施例中，T细胞群体是DGK缺陷型且Ikaros缺陷型的，例如不表达DGK和Ikaros，或者具有降低或抑制的DGK和Ikaros活性。可以通过本文描述的任何方法产生此类DGK和Ikaros缺陷型细胞。

[1178] 在一个实施例中，从受试者获得NK细胞。在另一个实施例中，NK细胞是NK细胞系，例如NK-92细胞系(Conkwest公司)。

[1179] 另外的表达的药剂

[1180] 在另一个实施例中，本文描述的表达CAR的免疫效应细胞可以进一步表达另一种药剂，例如增强表达CAR的细胞的活性的药剂。例如，在一个实施例中，药剂可以是对抑制性分子进行抑制的药剂。抑制性分子的实例包括例如，如本文描述的PD-1、PD-L1、CTLA-4、TIM-3、CEACAM(例如，CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5)、LAG-3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4和TGFβ。在一个实施例中，对抑制性分子进行抑制的药剂包含第一多肽(例如抑制性分子)，该第一多肽与向细胞提供阳性信号的第二多肽(例如本文描述的细胞内信号传导结构域)相关联。在一个实施例中，该药剂包含例如抑制性分子(如PD-1、PD-L1、CTLA-4、TIM-3、CEACAM(例如，CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5)、LAG-3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4或TGFβ、或这些中的任一者的片段)的第一多肽，和第二多肽，该第二多肽是本文描述的细胞内信号传导结构域(例如，包含共刺激结构域(例如，41BB、CD27或CD28，例如如本文描述)和/或初级信号传导结构域(例如，本文描述的CD3ζ信号传导结构域)。在一个实施例中，该药剂包含PD-1的第一多肽或其片段，和本文描述的细胞内信号传导结构域(例如，本文描述的CD28、CD27、OX40或4-IBB信号传导结构域和/或本文描述的CD3ζ信号传导结构域)的第二多肽。

[1181] 在一个实施例中，本文描述的表达CAR的免疫效应细胞可以进一步包含第二CAR，例如，包含例如针对相同靶标(例如，上述靶标)或不同靶标的不同抗原结合结构域的第二CAR。在一个实施例中，该第二CAR包含针对在与第一CAR的靶标相同的癌细胞类型上表达的靶标的抗原结合结构域。在一个实施例中，表达CAR的免疫效应细胞包含靶向第一抗原并且包含具有共刺激信号传导结构域但不具有初级信号传导结构域的细胞内信号传导结构域的第一CAR，以及靶向第二不同的抗原并且包含具有初级信号传导结构域但不具有共刺激信号传导结构域的细胞内信号传导结构域的第二CAR。

[1182] 虽然不希望受理论束缚，但是将共刺激信号传导结构域(例如，4-1BB、CD28、CD27或OX-40)置于第一CAR上，并将初级信号传导结构域(例如CD3ζ)置于第二CAR上可以将CAR活性限制于表达两种靶标的细胞。在一个实施例中，表达CAR的免疫效应细胞包含第一CAR，该第一CAR包含靶向例如上述靶标的抗原结合结构域、跨膜结构域和共刺激结构域；和第二CAR，该第二CAR靶向除由该第一CAR靶向的抗原以外的抗原(例如，在与第一靶标相同的癌

细胞类型上表达的抗原)并且包含抗原结合结构域、跨膜结构域和初级信号传导结构域。在另一个实施例中,表达CAR的免疫效应细胞包含第一CAR,该第一CAR包含靶向例如上述靶标的抗原结合结构域、跨膜结构域和初级信号传导结构域;和第二CAR,该第二CAR靶向除由该第一CAR靶向的抗原以外的抗原(例如,在与第一靶标相同的癌细胞类型上表达的抗原)并且包含针对该抗原的抗原结合结构域、跨膜结构域和共刺激信号传导结构域。

[1183] 在一个实施例中,表达CAR的免疫效应细胞包含本文描述的CAR(例如,针对上述靶标的CAR)和抑制性CAR。在一个实施例中,抑制性CAR包含结合在正常细胞而非癌细胞(例如也表达该靶标的正常细胞)上发现的抗原的抗原结合结构域。在一个实施例中,抑制性CAR包含抑制性分子的抗原结合结构域、跨膜结构域和细胞内结构域。例如,抑制性CAR的细胞内结构域可以是PD1、PD-L1、CTLA-4、TIM-3、CEACAM(例如,CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5)、LAG-3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4或TGFβ的细胞内结构域。

[1184] 在一个实施例中,免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞)包含第一CAR,该第一CAR包含结合至如本文描述的肿瘤抗原的抗原结合结构域;和第二CAR,该第二CAR包含PD1细胞外结构域或其片段。

[1185] 在一个实施例中,该细胞进一步包含如上所述的抑制性分子。

[1186] 在一个实施例中,该细胞中的第二CAR是抑制性CAR,其中该抑制性CAR包含抑制性分子的抗原结合结构域、跨膜结构域和细胞内结构域。该抑制性分子可以选自以下中的一种或多种:PD1、PD-L1、CTLA-4、TIM-3、LAG-3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4、TGFβ、CEACAM-1、CEACAM-3、以及CEACAM-5。在一个实施例中,第二CAR分子包含PD1的细胞外结构域或其片段。

[1187] 在实施例中,该细胞中的第二CAR分子进一步包含细胞内信号传导结构域,该细胞内信号传导结构域包含初级信号传导结构域和/或细胞内信号传导结构域。

[1188] 在其他实施例中,该细胞中的细胞内信号传导结构域包含含有CD3ζ的功能性结构域的初级信号传导结构域和含有4-1BB的功能性结构域的共刺激信号传导结构域。

[1189] 在一个实施例中,该细胞中的第二CAR分子包含SEQ ID NO:26的氨基酸序列。

[1190] 在某些实施例中,第一CAR分子的抗原结合结构域包含scFv,并且第二CAR分子的抗原结合结构域不包含scFv。例如,第一CAR分子的抗原结合结构域包含scFv,并且第二CAR分子的抗原结合结构域包含骆驼科VHH结构域。

[1191] 分离的CAR

[1192] 在一些实施例中,表达CAR的细胞使用分离的CAR。分离的CAR方法更详细地描述于公开WO2014/055442和WO2014/055657中。简言之,分离的CAR系统包含表达具有第一抗原结合结构域和共刺激结构域(例如41BB)的第一CAR的细胞,并且该细胞还表达具有第二抗原结合结构域和细胞内信号传导结构域(例如CD3ζ)的第二CAR。当该细胞遇到第一抗原时,共刺激结构域被活化,并且细胞增殖。当该细胞遇到第二抗原时,细胞内信号传导结构域被活化并开始细胞杀伤活性。因此,该表达CAR的细胞仅在两种抗原都存在下完全活化。

[1193] 多重CAR表达

[1194] 在一个方面,本文描述的表达CAR的细胞可以进一步包含第二CAR,例如包含例如针对相同靶标或不同靶标(例如,除本文描述的癌症相关抗原或本文描述的不同癌症相关抗原的靶标)的第二CAR。在一个实施例中,第二CAR包含针对在与癌症相关抗原相同的癌细

胞类型上表达的靶标的抗原结合结构域。在一个实施例中，表达CAR的细胞包含靶向第一抗原并且包含具有共刺激信号传导结构域但不具有初级信号传导结构域的细胞内信号传导结构域的第一CAR，以及靶向第二不同的抗原并且包含具有初级信号传导结构域但不具有共刺激信号传导结构域的细胞内信号传导结构域的第二CAR。虽然不希望受理论束缚，但是将共刺激信号传导结构域(例如，4-1BB、CD28、CD27或OX-40)置于第一CAR上，并将初级信号传导结构域(例如CD3ζ)置于第二CAR上可以将CAR活性限制于表达两种靶标的细胞。在一个实施例中，表达CAR的细胞包含第一癌症相关抗原CAR，该第一癌症相关抗原CAR包含结合本文描述的靶抗原的抗原结合结构域、跨膜结构域和共刺激结构域；和第二CAR，该第二CAR靶向不同靶抗原(例如，在与第一靶抗原相同的癌细胞类型上表达的抗原)并且包含抗原结合结构域、跨膜结构域和初级信号传导结构域。在另一个实施例中，表达CAR的细胞包含第一CAR，该第一CAR包含结合本文描述的靶抗原的抗原结合结构域、跨膜结构域和初级信号传导结构域；和第二CAR，该第二CAR靶向除第一靶抗原以外的抗原(例如，在与第一靶抗原相同的癌细胞类型上表达的抗原)并且包含针对该抗原的抗原结合结构域、跨膜结构域和共刺激信号传导结构域。

[1195] 在一些实施例中，要求保护的发明包含第一和第二CAR，其中所述第一CAR所述第二CAR之一的抗原结合结构域不包含可变轻结构域和可变重结构域。在一些实施例中，所述第一CAR所述第二CAR之一的抗原结合结构域是scFv，而另一个不是scFv。在一些实施例中，所述第一CAR所述第二CAR之一的抗原结合结构域包含单个VH结构域，例如骆驼科、鲨鱼、或七鳃鳗单个VH结构域，或源自人或小鼠序列的单个VH结构域。在一些实施例中，所述第一CAR所述第二CAR之一的抗原结合结构域包含纳米抗体。在一些实施例中，所述第一CAR所述第二CAR之一的抗原结合结构域包含骆驼科VHH结构域。

[1196] 同种异体细胞

[1197] 在本文描述的实施例中，免疫效应细胞可以是同种异体免疫效应细胞，例如T细胞或NK细胞。例如，该细胞可以是同种异体T细胞，例如缺少功能性T细胞受体(TCR)和/或人白细胞抗原(HLA)(例如HLA I类和/或HLA II类)表达的同种异体T细胞。

[1198] 缺少功能性TCR的T细胞可以例如被工程化使得它在其表面上不表达任何功能性TCR，被工程化使得它不表达包含功能性TCR的一个或多个亚基或被工程化使得它在其表面上产生非常少的功能性TCR。可替代地，T细胞可以例如通过表达TCR的一个或多个亚基的突变或截短形式表达严重受损的TCR。术语“严重受损的TCR”意指该TCR将不在宿主中引发不利的免疫反应。

[1199] 本文描述的T细胞可以例如被工程化，使得它在其表面上不表达功能性HLA。例如，可以工程化本文描述的T细胞，使得其细胞表面HLA(例如HLA 1类和/或HLA II类)表达被下调。

[1200] 在一些实施例中，T细胞可以缺少功能性TCR和功能性HLA(例如HLA I类和/或HLA II类)。

[1201] 缺少功能性TCR和/或HLA表达的修饰的T细胞可以通过任何适合的方式获得，包括敲除或敲低TCR或HLA的一个或多个亚基。例如，T细胞可以包括使用siRNA、shRNA、聚集的规则间隔短回文重复序列(CRISPR)转录活化因子样效应核酸酶(TALEN)、或锌指核酸内切酶(ZFN)敲低TCR和/或HLA。

[1202] 在一些实施例中,同种异体细胞可以是例如通过本文描述的任何方法不表达或以低水平表达抑制性分子的细胞。例如,该细胞可以是不表达或以低水平表达抑制性分子的细胞,该抑制性分子例如可以降低表达CAR的细胞产生免疫效应子应答的能力。抑制性分子的实例包括PD1、PD-L1、CTLA4、TIM3、CEACAM(例如,CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5)、LAG3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4和TGFβ。抑制性分子的抑制(例如通过在DNA、RNA或蛋白质水平上的抑制)可以优化表达CAR的细胞的性能。在实施例中,可以使用例如如本文描述的抑制性核酸,例如抑制性核酸,例如dsRNA,例如siRNA或shRNA、聚集的规则间隔短回文重复序列(CRISPR)、转录活化因子样效应核酸酶(TALEN)或锌指核酸内切酶(ZFN)。

[1203] 用于抑制TCR或HLA的siRNA和shRNA

[1204] 在一些实施例中,可以使用靶向编码T细胞中的TCR和/或HLA的核酸的siRNA或shRNA来抑制TCR表达和/或HLA表达。

[1205] 用于抑制TCR或HLA的CRISPR系统

[1206] 如本文所用的“针对TCR和/或HLA的CRISPR系统”或“用于抑制TCR和/或HLA的CRISPR”是指包含一种或多种引导RNA分子和RNA引导的核酸内切酶(例如Cas,例如Cas9)的CRISPR系统(例如,CRISPR/Cas9系统),该一种或多种引导RNA分子包含与TCR和/或HLA或β-2微球蛋白(B2M)的组分的基因内的靶序列互补的靶向结构域。

[1207] 可以使用本领域中已知的技术产生抑制TCR和/或HLA的人工CRISPR/Cas系统,例如,描述于美国公开号20140068797和Cong(2013)Science[科学]339:819-823中的技术。还可以产生本领域已知的其他人工CRISPR/Cas系统,其抑制TCR和/或HLA,例如描述于以下:Tsai(2014)Nature Biotechnol.[自然生物技术],32:6569-576,美国专利号:8,871,445;8,865,406;8,795,965;8,771,945;和8,697,359。

[1208] 抑制TCR和/或HLA的TALEN

[1209] “针对HLA和/或TCR的TALEN基因组编辑系统”或“用于抑制HLA和/或TCR的TALEN”是指转录活化因子样效应核酸酶(一种可以用于编辑HLA和/或TCR基因的人工核酸酶)。

[1210] 通过将TAL效应子DNA结合结构域与DNA切割结构域进行融合来人工产生TALEN。可以工程化转录活化因子样作用(TALE)以结合任何所希望的DNA序列,包括HLA或TCR基因的部分。通过将工程化的TALE与DNA切割结构域组合,可以产生对任何所希望的DNA序列(包括HLA或TCR序列)特异的限制酶。然后可以将这些引入细胞中,其中它们可以用于基因组编辑。Boch(2011)Nature Biotech.[自然生物技术]29:135-6;和Boch等人(2009)Science[科学]326:1509-12;Moscou等人(2009)Science[科学]326:3501。

[1211] 可以使用本领域已知的任何方法构建对HLA或TCR中的序列特异的TALEN,这些方法包括使用模块组分的各种方案。Zhang等人(2011)Nature Biotech.[自然生物技术]29:149-53;Geibler等人(2011)PLoS ONE[公共科学图书馆综合]6:e19509。

[1212] 抑制HLA和/或TCR的锌指核酸酶

[1213] “针对HLA和/或TCR的ZFN基因组编辑系统”或“用于抑制HLA和/或TCR的ZFN”是指锌指核酸酶(可以用于编辑HLA和/或TCR基因的人工核酸酶)。

[1214] 可以使用本领域已知的任何方法构建对HLA和/或TCR中的序列特异性的ZFN。参见例如,Provasi(2011)Nature Med.[自然医学]18:807-815;Torikai(2013)Blood[血液]122:1341-1349;Cathomen等人(2008)Mol.Ther.[分子疗法]16:1200-7;Guo等人(2010)

J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]400:96;美国专利公开2011/0158957;和美国专利公开2012/0060230。

[1215] 端粒酶表达

[1216] 尽管不希望受任何特定理论的约束,但在一些实施例中,由于T细胞中的端粒缩短,治疗性T细胞在患者中具有短期持久性;因此,用端粒酶基因转染可以延长T细胞的端粒并改善患者体内T细胞的持久性。参见Carl June,“Adoptive T cell therapy for cancer in the clinic[临床上用于癌症的过继性T细胞疗法]”,Journal of Clinical Investigation[临床研究杂志],117:1466-1476(2007)。因此,在一个实施例中,免疫效应细胞(例如T细胞)异位表达端粒酶亚基,例如端粒酶的催化亚基,例如TERT,例如hTERT。在一些方面,本披露内容提供了产生表达CAR的细胞的方法,该方法包括使细胞与编码端粒酶亚基(例如端粒酶的催化亚基,例如TERT,例如hTERT)的核酸接触。可以使细胞在与编码CAR的构建体接触之前、同时或之后与该核酸接触。

[1217] 扩增和活化

[1218] 免疫效应细胞(如T细胞)通常可以使用如描述于例如以下中的方法进行活化和扩增:美国专利6,352,694;6,534,055;6,905,680;6,692,964;5,858,358;6,887,466;6,905,681;7,144,575;7,067,318;7,172,869;7,232,566;7,175,843;5,883,223;6,905,874;6,797,514;6,867,041;和美国专利申请公开号20060121005,这些专利各自通过引用以其全文并入。

[1219] 通常,免疫效应细胞(例如T细胞)群体可以通过与已附着有药剂和配体的表面接触而扩增,该药剂刺激CD3/TCR复合物相关信号并且该配体刺激T细胞表面上的共刺激分子。具体地,可以如本文所描述刺激T细胞群体,如通过与固定在表面上的抗CD3抗体或其抗原结合片段、或抗CD2抗体接触,或通过与结合有钙离子载体的蛋白激酶C活化剂(例如苔藓抑素)接触。为了共刺激T细胞表面上的辅助分子,使用结合辅助分子的配体。例如,可以在适于刺激T细胞增殖的条件下,使T细胞群体与抗CD3抗体和抗CD28抗体接触。为了刺激CD4+ T细胞或CD8+ T细胞的增殖,可以使用抗CD3抗体和抗CD28抗体。可以使用抗CD28抗体的实例包括9.3、B-T3、XR-CD28(法国贝桑松Diaclone公司(Diaclone,Besançon,France)),还可以使用本领域公知的其他方法(Berg等人,Transplant Proc.[移植学会会报]30(8):3975-3977,1998;Haanen等人,J.Exp.Med.[实验医学杂志]190(9):13191328,1999;Garland等人,J.Immunol Meth.[免疫学杂志]227(1-2):53-63,1999)。

[1220] 在某些方面,T细胞的初级刺激信号和共刺激信号可以由不同的方案提供。例如,提供每个信号的药剂可以在溶液中或偶联到表面。当偶联到表面时,药剂可以偶联到同一表面(即,为“顺式”形成)或偶联到分离表面(即,为“反式”形成)。可替代地,可以将一种药剂偶联到表面并且使另一种药剂在溶液中。在一个方面,将提供共刺激信号的药剂与细胞表面结合,并且使提供初级活化信号的药剂在溶液中或偶联到表面。在某些方面,两种药剂都可以在溶液中。在一个方面,这些试剂可以为可溶形式,并且然后交联到表面,如表达Fc受体的细胞或将与这些药剂结合的抗体或其他结合剂。在这方面,参见例如美国专利申请公开号20040101519和20060034810的人工抗原呈递细胞(aAPC),其预期用于活化和扩增本发明中的T细胞。

[1221] 在一个方面,将两种药剂固定在珠上,或者在同一珠上,即“顺式”,或者在分离的

珠上，即“反式”。通过举例，提供初级活化信号的药剂是抗CD3抗体或其抗原结合片段，并且提供共刺激信号的药剂是抗CD28抗体或其抗原结合片段；并且将两种药剂以等效分子量共固定到同一珠。在一个方面，使用与珠结合的每种抗体的1∶1比率用于CD4+ T细胞扩增和T细胞生长。在本发明的某些方面，使用与珠子结合的抗CD3∶CD28抗体的比率，使得与使用1∶1的比率观察到的扩增相比，观察到T细胞扩增的增加。在一个特定方面，与使用1∶1比率观察到的扩增相比，观察到从约1倍至约3倍的增加。在一个方面，与珠结合的CD3∶CD28抗体的比率范围为从100∶1至1∶100以及其间的所有整数值。在一个方面，与抗CD3抗体相比，更多的抗CD28抗体与颗粒结合，即CD3∶CD28的比率小于1。在某些方面，与珠结合的抗CD28抗体与抗CD3抗体的比率大于2∶1。在一个特定方面，使用与珠结合的抗体的1∶100 CD3∶CD28比率。在一个方面，使用与珠结合的抗体的1∶75 CD3∶CD28比率。在另一个方面，使用与珠结合的抗体的1∶50 CD3∶CD28比率。在一个方面，使用与珠结合的抗体的1∶30 CD3∶CD28比率。在一个优选的方面，使用与珠结合的抗体的1∶10 CD3∶CD28比率。在一个方面，使用与珠结合的抗体的1∶3 CD3∶CD28比率。在又一个方面，使用与珠结合的抗体的3∶1 CD3∶CD28比率。

[1222] 颗粒与细胞的比率为从1∶500至500∶1以及其间的任何整数值可以用于刺激T细胞或其他靶细胞。如本领域普通技术人员可以容易地理解的，颗粒与细胞的比率可以取决于相对于靶细胞的颗粒尺寸。例如，小尺寸的珠仅可以结合少量细胞，而较大的珠可以结合许多细胞。在某些方面范围从1∶100至100∶1以及其间的任何整数值的细胞与颗粒的比率和在另外的方面包括1∶9至9∶1的比率以及其间的任何整数值也可以用于刺激T细胞。如以上所指出，导致T细胞刺激的抗CD3和抗CD28偶联颗粒与T细胞的比率可以变化，然而某些优选值包括1∶100、1∶50、1∶40、1∶30、1∶20、1∶10、1∶9、1∶8、1∶7、1∶6、1∶5、1∶4、1∶3、1∶2、1∶1、2∶1、3∶1、4∶1、5∶1、6∶1、7∶1、8∶1、9∶1、10∶1、和15∶1，其中一个优选的比率是每个T细胞至少1∶1个颗粒。在一个方面，使用1∶1或更小的颗粒与细胞比率。在一个特定方面，优选的颗粒：细胞的比率为1∶5。在另外的方面，颗粒与细胞的比率可以根据刺激日而变化。例如，在一个方面，颗粒与细胞的比率在第一天为从1∶1至10∶1，并且将另外颗粒在之后每天或每隔一天加入到细胞中持续最长10天，最终比率为从1∶1至1∶10(基于添加当天的细胞计数)。在一个特定方面，在刺激的第一天，颗粒与细胞的比率为1∶1，并且在刺激的第三天和第五天调整为1∶5。在一个方面，基于在第一天的最终比率为1∶1并且在刺激的第三天和第五天为1∶5，每天或每隔一天添加颗粒。在一个方面，在刺激的第一天，颗粒与细胞的比率为2∶1，并且在刺激的第三天和第五天调整为1∶10。在一个方面，基于在第一天的最终比率为1∶1并且在刺激的第三天和第五天为1∶10，每天或每隔一天添加颗粒。本领域技术人员将理解，各种其他比率可适用于本发明。具体地，比率将根据粒度和细胞大小和类型而变化。在一个方面，在第一天用于使用的最典型比率是1∶1、2∶1和3∶1附近。

[1223] 在另外的方面，将细胞(如T细胞)与药剂包被的珠组合，随后将这些珠和这些细胞分离，并且然后培养细胞。在可替代方面，在培养之前，不将药剂包被的珠和细胞分开而是一起培养。在另一个方面，首先通过施加力(如磁力)浓缩珠和细胞，导致细胞表面标志物的连接增加，从而诱导细胞刺激。

[1224] 通过举例，可以通过使抗CD3和抗CD28附着的顺磁珠(3x 28珠)接触T细胞来连接细胞表面蛋白。在一个方面，将细胞(例如，10^4至10^9个T细胞)和珠(例如，比率为1∶1的DYNABEADS®M-450 CD3/CD28 T顺磁珠)在缓冲液(例如PBS(不含二价阳离子(如钙和

镁))中组合。同样,本领域普通技术人员可以容易地理解可以使用任何细胞浓度。例如,靶细胞在样品中可能非常罕见,并且仅占样品的0.01%,或者整个样品(即100%)可以包含感兴趣的靶细胞。因此,任何细胞数量都在本发明的上下文内。在某些方面,可能希望显著减小其中颗粒和细胞混合在一起的体积(即增加细胞的浓度),以确保细胞和颗粒的最大接触。例如,在一个方面,使用约100亿个细胞/ml、90亿/ml、80亿/ml、70亿/ml、60亿/ml、50亿/ml、或20亿细胞/ml的浓度。在一个方面,使用大于1亿个细胞/ml。在另一个方面,使用10、15、20、25、30、35、40、45、或50百万个细胞/ml的细胞浓度。在又一个方面,使用75、80、85、90、95、或100百万个细胞/ml的细胞浓度。在另外的方面,可以使用125或150百万个细胞/ml的浓度。使用高浓度可以导致细胞产量增加、细胞活化、和细胞扩增。此外,使用高细胞浓度允许更有效地捕获可能弱表达感兴趣的靶抗原的细胞,如CD28阴性T细胞。此类细胞群体可能具有治疗价值,并且在某些方面是希望获得的。例如,使用高浓度的细胞允许更有效地选择通常具有较弱CD28表达的CD8+T细胞。

[1225] 在一个实施例中,例如通过本文描述的方法扩增用编码CAR(例如本文描述的CAR)的核酸转导的细胞。在一个实施例中,使细胞在培养物中扩增数小时(例如约2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、18、21小时)至约14天(例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14天)的一段时间。在一个实施例中,使细胞扩增4至9天的一段时间。在一个实施例中,使细胞扩增8天或更少(例如7、6或5天)的一段时间。在一个实施例中,使细胞在培养物中扩增5天,并且所得细胞比在相同培养条件下在培养物中扩增9天的相同细胞更有效。效力可以例如通过各种T细胞功能来定义,例如增殖、靶细胞杀伤、细胞因子产生、活化、迁移、或其组合。在一个实施例中,与在相同培养条件下在培养物中扩增9天的相同细胞相比,扩增5天的细胞在抗原刺激后显示细胞倍增的至少一倍、两倍、三倍或四倍增加。在一个实施例中,使细胞在培养物中扩增5天,并且与在相同培养条件下在培养物中扩增9天的相同细胞相比,所得细胞表现出更高的促炎性细胞因子产生(例如,IFN-γ和/或GM-CSF水平)。在一个实施例中,与在相同培养条件下在培养物中扩增9天的相同细胞相比,扩增5天的细胞显示促炎性细胞因子产生(例如,IFN-γ和/或GM-CSF水平)的至少一倍、二倍、三倍、四倍、五倍、十倍或更多倍增加(pg/ml)。

[1226] 还可能希望进行几个刺激循环,使得T细胞的培养时间可以是60天或更长。适于T细胞培养的条件包括适当的培养基(例如,Minimal Essential Media或RPMI Media 1640或X-vivo 15,(龙沙公司(Lonza))),该培养基可以含有增殖和活力所必需的因子,包括血清(例如胎牛或人血清)、白细胞介素-2(IL-2)、胰岛素、IFN-γ、IL-4、IL-7、GM-CSF、IL-10、IL-12、IL-15、TGFβ、和TNF-α或本领域技术人员已知用于细胞生长的任何其他添加剂。用于细胞生长的其他添加剂包括但不限于表面活性剂、人血浆蛋白制品、和还原剂(如N-乙酰基-半胱氨酸和2-巯基乙醇)。培养基可以包括RPMI 1640、AIM-V、DMEM、MEM、α-MEM、F-12、X-Vivo 15、和X-Vivo 20、优化剂,其中添加氨基酸、丙酮酸钠、和维生素,无血清或补充有适当量的血清(或血浆)或一组确定的激素、和/或足以使T细胞生长和扩增的一定量细胞因子。抗生素(例如青霉素和链霉素)仅包含在实验培养物中,而不包含在有待注入受试者的细胞培养物中。将靶细胞维持在支持生长所必需的条件下,例如,适当的温度(例如,37℃)和大气(例如空气加5%CO_2)。

[1227] 在一个实施例中,使细胞在包括一种或多种白细胞介素的适当介质(例如本文描

述的介质)中扩增,该白细胞介素导致在14天的扩增期间细胞增加至少200倍(例如200倍、250倍、300倍、350倍),例如如通过本文描述的方法(如流式细胞术)测量。在一个实施例中,细胞在IL-15和/或IL-7(例如,IL-15和IL-7)的存在下扩增。

[1228] 在实施例中,本文描述的方法(例如表达CAR的细胞制造方法)包括例如使用抗CD25抗体或其片段,或CD25结合配体IL-2从细胞群体除去T调控细胞(例如CD25+ T细胞)。本文描述了从细胞群体除去T调控细胞(例如CD25+ T细胞)的方法。在实施例中,这些方法(例如制造方法)进一步包括使细胞群体(例如其中T调控细胞(如CD25+ T细胞)已耗尽的细胞群体;或先前已接触抗CD25抗体、其片段,或CD25-结合配体的细胞群体)与IL-15和/或IL-7接触。例如,使细胞群体(例如先前已接触抗CD25抗体、其片段,或CD25-结合配体)在IL-15和/或IL-7存在下扩增。

[1229] 在一些实施例中,在例如离体制造表达CAR的细胞过程中,使本文描述的表达CAR的细胞与包含白细胞介素-15(IL-15)多肽、白细胞介素-15受体α(IL-15Ra)多肽,或IL-15多肽和IL-15Ra多肽(例如hetIL-15)两者的组合的组合物接触。在实施例中,在例如离体制造表达CAR的细胞过程中,使本文描述的表达CAR的细胞与包含IL-15多肽的组合物接触。在实施例中,在例如离体制造表达CAR的细胞过程中,使本文描述的表达CAR的细胞与包含IL-15多肽和IL-15Ra多肽两者的组合的组合物接触。在实施例中,在例如离体制造表达CAR的细胞过程中,使本文描述的表达CAR的细胞与包含hetIL-15的组合物接触。

[1230] 在一个实施例中,在离体扩增过程中,使本文描述的表达CAR的细胞与包含hetIL-15的组合物接触。在一个实施例中,在离体扩增过程中,使本文描述的表达CAR的细胞与包含IL-15多肽的组合物接触。在一个实施例中,在离体扩增过程中,使本文描述的表达CAR的细胞与包含IL-15多肽和IL-15Ra多肽两者的组合物接触。在一个实施例中,该接触导致淋巴细胞亚群(例如CD8+ T细胞)的存活和增殖。

[1231] 已暴露于不同刺激时间的T细胞可以表现出不同的特征。例如,典型的血液或外周血单核细胞产物具有辅助T细胞群体(TH,CD4+),其大于细胞毒性或抑制性T细胞群体(TC,CD8+)。通过刺激CD3和CD28受体离体扩增T细胞产生T细胞群体,该T细胞群体在约8-9天之前主要由TH细胞组成,而在约8-9天之后,该T细胞群体包含越来越多的TC细胞群体。因此,取决于治疗目的,向受试者输注主要包含TH细胞的T细胞群体可能是有利的。类似地,如果已分离了TC细胞的抗原特异性子集,则将该子集扩增到更大程度可能是有益的。

[1232] 此外,在细胞扩增过程中,除CD4和CD8标志物之外,其他表型标志物显著地,但在很大程度上,可重复地变化。因此,这种可重复性使得能够针对特定目的定制活化的T细胞产物。

[1233] 一旦构建本文描述的CAR,可以使用各种测定来评价分子的活性,如但不限于在抗原刺激后扩增T细胞、在不存在再刺激的情况下维持T细胞扩增的能力,以及在适当的体外和动物模型中的抗癌活性。用于评价本发明的CAR的作用的测定进一步详细描述于下文。

[1234] 初级T细胞中CAR表达的蛋白质印迹分析可用于检测单体和二聚体的存在。参见例如,Milone等人,Molecular Therapy[分子疗法]17(8):1453-1464(2009)。非常简单地,表达CAR的T细胞($CD4^+$和$CD8^+$ T细胞的1:1混合物)在体外扩增超过10天,然后在还原条件下进行裂解和SDS-PAGE。使用针对TCR-ζ链的抗体通过蛋白质印迹来检测含有全长TCR-ζ细胞质结构域和内源性TCR-ζ链的CAR。相同的T细胞亚群用于在非还原条件下的SDS-PAGE分析,以

允许评估共价二聚体的形成。

[1235] 可以通过流式细胞术测量抗原刺激后CAR^+ T细胞的体外扩增。例如，将$CD4^+$和$CD8^+$ T细胞的混合物用aCD3/αCD28 aAPC刺激，随后用在待分析的启动子的控制下表达GFP的慢病毒载体转导。示例性启动子包括CMV IE基因、EF-1α、泛素C、或磷酸甘油激酶(PGK)启动子。通过流式细胞术，在培养的第6天在$CD4^+$和/或$CD8^+$ T细胞亚群中评估GFP荧光。参见例如，Milone等人，MolecularTherapy[分子疗法]17(8)：1453-1464(2009)。可替代地，在第0天将$CD4^+$和$CD8^+$ T细胞的混合物用被αCD3/αCD28包被的磁珠刺激，并在第1天使用表达CAR连同eGFP(使用2A核糖体跳跃序列)的双顺反子慢病毒载体转导。在洗涤后在抗CD3和抗CD28抗体(K562-BBL-3/28)存在下，将培养基用如本文描述的癌症相关抗原$^+$K562细胞(表达如本文描述的癌症相关抗原的K562)、野生型K562细胞(K562野生型)或表达hCD32和4-1BBL的K562细胞再刺激。每隔一天以100IU/ml向培养基中添加外源IL-2。使用基于珠子的计数通过流式细胞术计算GFP^+ T细胞。参见例如，Milone等人，Molecular Therapy[分子疗法]17(8)：1453-1464(2009)。

[1236] 还可以测量在没有再刺激的情况下持续的CAR+ T细胞扩增。参见例如，Milone等人，Molecular Therapy[分子疗法]17(8)：1453-1464(2009)。简言之，在第0天用αCD3/αCD28包被的磁珠刺激，以及在第1天用指示的CAR转导后，使用Coulter Multisizer III粒子计数器、Nexcelom Cellometer Vision或Millipore Scepter在培养的第8天测量平均T细胞体积(fl)。

[1237] 动物模型也可用于测量CART活性。例如，可以使用异种移植模型，该异种移植模型使用人本文描述的癌症相关抗原特异性CAR^+ T细胞来治疗免疫缺陷小鼠中的初级人前-B ALL。参见例如，Milone等人，Molecular Therapy[分子疗法]17(8)：1453-1464(2009)。简言之，在建立ALL后，将小鼠随机分配至处理组。将不同数量的癌症相关抗原特异性CAR工程化的T细胞以1∶1的比率共注射到携带B-ALL的NOD-SCID-$\gamma^{-/-}$小鼠中。在T细胞注射后的不同时间，评价来自小鼠的脾DNA中的癌症相关抗原特异性CAR载体的拷贝的数量。以每周间隔评估动物的白血病。外周血如本文描述的癌症相关抗原$^+$B-ALL胚细胞计数在注射本文描述的癌症相关抗原-ζCAR^+ T细胞或模拟转导的T细胞的小鼠中测量。使用时序检验比较组的存活曲线。此外，还可以分析在NOD-SCID-$\gamma^{-/-}$小鼠中T细胞注射后4周的绝对外周血$CD4^+$和$CD8^+$ T细胞计数。给小鼠注射白血病细胞，并在3周后注射T细胞，这些T细胞经工程化以通过编码与eGFP连接的CAR的双顺反子慢病毒载体表达CAR。通过在注射前与模拟转导的细胞混合将T细胞标准化为45％-50％输入的GFP^+ T细胞，并通过流式细胞术确认。在1周的间隔评估动物的白血病。使用时序检验比较CAR^+ T细胞组的存活曲线。

[1238] 可以评估剂量依赖性CAR治疗应答。参见例如，Milone等人，Molecular Therapy[分子疗法]17(8)：1453-1464(2009)。例如，在第21天用CAR T细胞、相同数量的模拟转导的T细胞、或无T细胞注射的小鼠中建立白血病之后35-70天获得外周血。将来自每组的小鼠随机放血以确定外周血如本文描述的癌症相关抗原$^+$ALL胚细胞计数，并且然后在第35天和第49天处死。在第57天和第70天评价剩余的动物。

[1239] 先前已经描述了细胞增殖和细胞因子产生的评估，例如在Milone等人，Molecular Therapy[分子疗法]17(8)：1453-1464(2009)中。简言之，通过将洗涤的T细胞与表达本文描述的癌症相关抗原(K19)或CD32和CD137(KT32-BBL)的K562细胞混合(最终T细胞∶K562比率

为2:1)，在微量滴定板中进行CAR介导的增殖的评估。在使用前用γ射线照射K562细胞。将抗CD3(克隆OKT3)和抗CD28(克隆9.3)单克隆抗体添加至具有KT32-BBL细胞的培养基以用作用于刺激T细胞增殖的阳性对照，因为这些信号支持长期$CD8^+$ T细胞体内扩增。使用CountBright™荧光珠(Invitrogen，Carlsbad，CA)和流式细胞术(如由制造商描述的)在培养基中计数T细胞。使用用eGFP-2A连接的表达CAR的慢病毒载体进行工程化的T细胞，通过GFP表达来鉴定CAR^+ T细胞。对于不表达GFP的CAR+ T细胞，用生物素化的重组如本文描述的癌症相关抗原和次级抗生物素蛋白-PE缀合物检测CAR+ T细胞。还用特异性单克隆抗体(BD生物科学公司(BDBiosciences))同时检测T细胞上的CD4+和$CD8^+$表达。根据制造商的说明书，使用人TH1/TH2细胞因子细胞计数珠阵列试剂盒(BD生物科学公司(BD Biosciences)，圣地牙哥，加利福尼亚州)对再刺激后24小时收集的上清液进行细胞因子测量。使用FACScalibur流式细胞仪评估荧光，并根据制造商的说明书分析数据。

[1240] 可通过标准51Cr释放测定来评估细胞毒性。参见例如，Milone等人，Molecular Therapy[分子疗法]17(8):1453-1464(2009)。简言之，在37℃将靶细胞(K562系和初级原B-ALL细胞)负载51Cr(如NaCrO4，新英格兰核公司(New England Nuclear)，波士顿，马萨诸塞州)2小时伴随频繁搅拌，在完全RPMI中洗涤两次并铺板到微量滴定板中。将效应T细胞与完全RPMI的孔中的靶细胞以不同比率的效应细胞:靶细胞(E:T)混合。还制备了仅含有培养基(自发释放，SR)或1%triton-X 100洗涤剂溶液(总释放，TR)的另外的孔。在37℃孵育4小时后，收获来自每个孔的上清液。然后使用γ颗粒计数器(帕卡德仪器公司(Packard Instrument Co.)，沃尔瑟姆(Waltham)，马萨诸塞州)测量释放的51Cr。每种条件进行至少一式三份，并且使用下式计算裂解百分比:%裂解＝(ER-SR)/(TR-SR)，其中ER代表每种实验条件释放的平均51Cr。

[1241] 成像技术可用于评估荷肿瘤的动物模型中CAR的特定运输和增殖。例如，Barrett等人，Human Gene Therapy[人基因疗法]22:1575-1586(2011)中已经描述了此类测定。简言之，NOD/SCID/$\gamma c^{-/-}$(NSG)小鼠IV注射Nalm-6细胞，7天后在用CAR构建体电穿孔后4小时用T细胞注射。将T细胞用慢病毒构建体稳定转染以表达萤火虫荧光素酶，并将小鼠针对生物发光成像。可替代地，单次注射CAR^+T细胞在Nalm-6异种移植模型中的治疗效果和特异性可以如下测量:向NSG小鼠注射转导的Nalm-6以稳定表达萤火虫荧光素酶，然后在7天后单次尾静脉注射用本发明的car电穿孔的T细胞。在注射后的不同时间点对动物成像。例如，可以产生在第5天(处理前2天)和第8天(CAR^+PBL后24小时)的代表性小鼠中萤火虫荧光素酶阳性白血病的光子密度热图。

[1242] 其他测定，包括本文实例部分中描述的那些测定以及本领域中已知的那些测定也可以用于评价本文描述的CAR。

[1243] 治疗方法/组合疗法

[1244] 在另一个方面，本发明提供了一种方法，该方法包括将本发明的LSD1抑制剂与例如被工程化为表达(例如，如本文描述的)CAR分子的免疫效应细胞群体组合给予作为治疗。典型地，这种给予将是呈表达CAR的细胞(例如，自体或同种异体宿主细胞)的形式和LSD1抑制剂的分开给予。可替代地，LSD1抑制剂可以在与被工程化为表达CAR分子的细胞相同的组合物中给予。可替代地，被工程化为表达CAR分子的细胞也可被工程化为表达LSD1抑制剂。在一个实施例中，受试者患有本文描述的病症，例如受试者患有癌症，例如受试者患有表达

本文描述的靶抗原的癌症。在一个实施例中，受试者是人。

[1245] 本文描述的包括给予本文描述的LSD1抑制剂和表达CAR的细胞的方法可以与其他已知的药剂和疗法组合使用。

[1246] 如本文所用，“组合”给予意指在受试者患病期间将两种(或更多种)不同的治疗递送至受试者，例如在受试者被诊断患有病症后并且在该病症被治愈或清除前或者在由于其他原因终止治疗前递送两种或多种治疗。在一些实施例中，当第二治疗的递送开始时，第一治疗的递送仍在进行，所以就给予而言存在重叠。这在本文中有时被称为“同时递送”或“并行递送”。在其他实施例中，一种治疗的递送在另一种治疗的递送开始前结束。在每一种情况的一些实施例中，由于是组合给予，该治疗更有效。例如，与不存在第一治疗的条件下给予第二治疗所观察到的结果相比，第二治疗更有效，例如使用更少的第二治疗观察到等效的作用，或者第二治疗将症状减少更大的程度，或者观察到对第一治疗而言类似的情况。在一些实施例中，与不存在另一种治疗的条件下递送一种治疗所观察到的结果相比，递送使得症状或与该病症相关的其他参数减少更多。两种治疗的作用可以部分累加、完全累加、或大于累加。该递送可以使得当递送第二治疗时，递送的第一治疗的作用仍然是可检测的。

[1247] 可以将本文描述的表达CAR的细胞、LSD1抑制剂和至少一种另外的治疗剂同时、以同一或分开的组合物、或顺序给予。这三种药剂可以按任何顺序给予。例如，在顺序给予中，可以首先给予本文描述的LSD1抑制剂和表达CAR的细胞并且可以其次给予另外的药剂，或者可以颠倒给予顺序。

[1248] 可以将CAR疗法和/或其他治疗剂、程序或方式在活性障碍期间，或在缓解期或活性较低的疾病期间给予。CAR疗法可以在另一种治疗之前、与治疗同时、治疗后或在病症缓解期给予。

[1249] 在另一个方面，本发明涉及一种治疗患有与如本文描述的癌症相关抗原的表达相关的疾病的受试者的方法，该方法包括向该受试者给予有效量的包含CAR分子(例如，本文描述的CAR分子)的细胞。

[1250] 在一个方面，本发明提供了用于治疗与如本文描述的癌症相关抗原的表达相关的疾病的方法。该方法包括给予LSD1抑制剂和给予例如表达或可以表达CAR的细胞，例如T细胞。

[1251] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达XCAR的免疫效应细胞(例如，T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中X表示如本文描述的肿瘤标志物(或癌症相关抗原；如本文所用，术语XCAR和CARX可互换使用，例如，CAR19或CARCD19与CD19 CAR相同)，并且其中所述癌细胞表达所述X肿瘤标志物(或癌症相关抗原)。

[1252] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达CD19CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达CD19。在一个实施例中，待治疗的癌症是ALL(急性成淋巴细胞性白血病)、CLL(慢性淋巴细胞性白血病)、DLBCL(弥漫性大B细胞淋巴瘤)、MCL(套细胞淋巴瘤)或MM(多发性骨髓瘤)。

[1253] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达EGFRvIII CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达EGFRvIII。在一个实施例中，待治疗的癌症是胶质母细胞瘤。

[1254] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为

表达间皮素CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达间皮素。在一个实施例中,待治疗的癌症是间皮瘤、胰腺癌或卵巢癌。

[1255] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达CD123CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达CD123。在一个实施例中,待治疗的癌症是AML。

[1256] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达CD22CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达CD22。在一个实施例中,待治疗的癌症是B细胞恶性肿瘤。

[1257] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达CS-1CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达CS-1。在一个实施例中,待治疗的癌症是多发性骨髓瘤。

[1258] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达CLL-1CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达CLL-1。在一个实施例中,待治疗的癌症是AML。

[1259] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达CD33CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达CD33。在一个实施例中,待治疗的癌症是AML。

[1260] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达GD2CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达GD2。在一个实施例中,待治疗的癌症是神经母细胞瘤。

[1261] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达BCMACAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达BCMA。在一个实施例中,待治疗的癌症是多发性骨髓瘤。

[1262] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达TnCAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达Tn抗原。在一个实施例中,待治疗的癌症是卵巢癌。

[1263] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达PSMACAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达PSMA。在一个实施例中,待治疗的癌症是前列腺癌。

[1264] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达ROR1CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达ROR1。在一个实施例中,待治疗的癌症是B细胞恶性肿瘤。

[1265] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达FLT3 CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达FLT3。在一个实施例中,待治疗的癌症是AML。

[1266] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达TAG72CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达TAG72。在一个实施例中,待治疗的癌症是胃肠癌。

[1267] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为

表达CD38CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达CD38。在一个实施例中,待治疗的癌症是多发性骨髓瘤。

[1268] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达CD44v6CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达CD44v6。在一个实施例中,待治疗的癌症是宫颈癌、AML或MM。

[1269] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达CEACAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达CEA。在一个实施例中,待治疗的癌症是胃肠癌或胰腺癌。

[1270] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达EPCAMCAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达EPCAM。在一个实施例中,待治疗的癌症是胃肠癌。

[1271] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达B7H3CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达B7H3。

[1272] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达KITCAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达KIT。在一个实施例中,待治疗的癌症是胃肠癌。

[1273] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达IL-13Ra2CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达IL-13Ra2。在一个实施例中,待治疗的癌症是胶质母细胞瘤。

[1274] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达CD30CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达CD30。在一个实施例中,待治疗的癌症是淋巴瘤或白血病。

[1275] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达GD3CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达GD3。在一个实施例中,待治疗的癌症是黑素瘤。

[1276] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达CD171CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达CD171。在一个实施例中,待治疗的癌症是神经母细胞瘤、卵巢癌、黑素瘤、乳腺癌、胰腺癌、结肠癌或NSCLC(非小细胞肺癌)。

[1277] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达IL-11RaCAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达IL-11Ra。在一个实施例中,待治疗的癌症是骨肉瘤。

[1278] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达PSCACAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达PSCA。在一个实施例中,待治疗的癌症是前列腺癌。

[1279] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达VEGFR2CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达VEGFR2。在一个实施例中,待治疗的癌症是实体瘤。

[1280] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达LewisYCAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达LewisY。在一个实施例中，待治疗的癌症是卵巢癌或AML。

[1281] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达CD24CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达CD24。在一个实施例中，待治疗的癌症是胰腺癌。

[1282] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达PDGFR-βCAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达PDGFR-β。在一个实施例中，待治疗的癌症是乳腺癌、前列腺癌症、GIST(胃肠道间质瘤)、CML、DFSP(隆突性皮肤纤维肉瘤)、或神经胶质瘤。

[1283] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达SSEA-4CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达SSEA-4。在一个实施例中，待治疗的癌症是胶质母细胞瘤、乳腺癌、肺癌或干细胞癌。

[1284] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达CD20CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达CD20。在一个实施例中，待治疗的癌症是B细胞恶性肿瘤。

[1285] 在一方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达叶酸受体αCAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达叶酸受体α。在一个实施例中，待治疗的癌症是卵巢癌、NSCLC、子宫内膜癌、肾癌或其他实体瘤。

[1286] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达ERBB2CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达ERBB2(Her2/neu)。在一个实施例中，待治疗的癌症是乳腺癌、胃癌、结直肠癌、肺癌或其他实体瘤。

[1287] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达MUC1CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达MUC1。在一个实施例中，待治疗的癌症是乳腺癌、肺癌或其他实体瘤。

[1288] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达EGFRCAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达EGFR。在一个实施例中，待治疗的癌症是胶质母细胞瘤、SCLC(小细胞肺癌)、SCCHN(头颈部鳞状细胞癌)、NSCLC或其他实体瘤。

[1289] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达NCAMCAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达NCAM。在一个实施例中，待治疗的癌症是神经母细胞瘤或其他实体瘤。

[1290] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达CAIXCAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达CAIX。在一个实施例中，待治疗的癌症是肾癌、CRC、宫颈癌或其他实体瘤。

[1291] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达EphA2CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达

EphA2。在一个实施例中，待治疗的癌症是GBM。

[1292] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达GD3CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达GD3。在一个实施例中，待治疗的癌症是黑素瘤。

[1293] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达岩藻糖基GM1CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达岩藻糖基GM。

[1294] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达sLeCAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达sLe。在一个实施例中，待治疗的癌症是NSCLC或AML。

[1295] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达GM3CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达GM3。

[1296] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达TGS5CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达TGS5。

[1297] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达HMWMAACAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达HMWMAA。在一个实施例中，待治疗的癌症是黑素瘤、胶质母细胞瘤或乳腺癌。

[1298] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达o-乙酰基-GD2CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达o-乙酰基-GD2。在一个实施例中，待治疗的癌症是神经母细胞瘤或黑素瘤。

[1299] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达叶酸受体βCAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达CD19。在一个实施例中，待治疗的癌症是AML或骨髓瘤。

[1300] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达TEM1/CD248CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达TEM1/CD248。在一个实施例中，待治疗的癌症是实体瘤。

[1301] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达TEM7RCAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达TEM7R。在一个实施例中，待治疗的癌症是实体瘤。

[1302] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达CLDN6CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达CLDN6。在一个实施例中，待治疗的癌症是卵巢癌、肺癌或乳腺癌。

[1303] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达TSHRCAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达TSHR。在一个实施例中，待治疗的癌症是甲状腺癌、或多发性骨髓瘤。

[1304] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达GPRC5DCAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达GPRC5D。在一个实施例中，待治疗的癌症是多发性骨髓瘤。

[1305] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达CXORF61CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达CXORF61。

[1306] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达CD97CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达CD97。在一个实施例中，待治疗的癌症是B细胞恶性肿瘤、胃癌、胰腺癌、食道癌、胶质母细胞瘤、乳腺癌或结直肠癌。

[1307] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达CD179aCAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达CD179a。在一个实施例中，待治疗的癌症是B细胞恶性肿瘤。

[1308] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达ALK CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达ALK。在一个实施例中，待治疗的癌症是NSCLC、ALCL(间变性大细胞淋巴瘤)、IMT(炎性肌成纤维细胞瘤)或成神经细胞瘤。

[1309] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达聚唾液酸CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达聚唾液酸。在一个实施例中，待治疗的癌症是小细胞肺癌。

[1310] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达PLAC1CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达PLAC1。在一个实施例中，待治疗的癌症是HCC(肝细胞癌)。

[1311] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达GloboHCAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达GloboH。在一个实施例中，待治疗的癌症是卵巢癌、胃癌、前列腺癌症、肺癌、乳腺癌或胰腺癌。

[1312] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达NY-BR-1CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达NY-BR-1。在一个实施例中，待治疗的癌症是乳腺癌。

[1313] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达UPK2CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达UPK2。在一个实施例中，待治疗的癌症是膀胱癌。

[1314] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达HAVCR1CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达HAVCR1。在一个实施例中，待治疗的癌症是肾癌。

[1315] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达ADRB3CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达ADRB3。在一个实施例中，待治疗的癌症是尤文肉瘤。

[1316] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达PANX3CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达PANX3。在一个实施例中，待治疗的癌症是骨肉瘤。

[1317] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达GPR20CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达GPR20。在一个实施例中，待治疗的癌症是GIST。

[1318] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达LY6KCAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达LY6K。在一个实施例中，待治疗的癌症是乳腺癌、肺癌、卵巢癌或宫颈癌。

[1319] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达OR51E2CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达OR51E2。在一个实施例中，待治疗的癌症是前列腺癌。

[1320] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达TARPCAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达TARP。在一个实施例中，待治疗的癌症是前列腺癌。

[1321] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达WT1CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达WT1。

[1322] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达NY-ESO-1CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达NY-ESO-1。

[1323] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达LAGE-1a CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达LAGE-1a。

[1324] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达MAGE-A1CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达MAGE-A1。在一个实施例中，待治疗的癌症是黑素瘤。

[1325] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达MAGE A1CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达MAGE A1。

[1326] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达ETV6-AML CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达ETV6-AML。

[1327] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达精子蛋白17 CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达精子蛋白17。在一个实施例中，待治疗的癌症是卵巢癌、HCC或NSCLC。

[1328] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达XAGE1CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达XAGE1。在一个实施例中，待治疗的癌症是尤文氏或横纹肌肉瘤癌。

[1329] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达Tie 2 CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达Tie 2。在一个实施例中，待治疗的癌症是实体瘤。

[1330] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为

表达MAD-CT-1CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达MAD-CT-1。在一个实施例中,待治疗的癌症是前列腺癌或黑素瘤。

[1331] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达MAD-CT-2CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达MAD-CT-2。在一个实施例中,待治疗的癌症是前列腺癌、黑素瘤。

[1332] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达Fos相关抗原1 CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达Fos相关抗原1。在一个实施例中,待治疗的癌症是神经胶质瘤、鳞状细胞癌或胰腺癌。

[1333] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达p53CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达p53。

[1334] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达前列腺特异性蛋白CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达前列腺特异性蛋白。

[1335] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达存活素和端粒酶CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达存活素和端粒酶。

[1336] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达PCTA-1/半乳凝素8 CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达PCTA-1/半乳凝素8。

[1337] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达MelanA/MART1CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达MelanA/MART1。

[1338] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达Ras突变体CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达Ras突变体。

[1339] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达p53突变体CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达p53突变体。

[1340] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达hTERT CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达hTERT。

[1341] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达肉瘤易位断点CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达肉瘤易位断点。在一个实施例中,待治疗的癌症是肉瘤。

[1342] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达ML-IAP CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达ML-IAP。在一个实施例中,待治疗的癌症是黑素瘤。

[1343] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为

表达ERGCAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达ERG(TMPRSS2 ETS融合基因)。

[1344] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达NA17CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达NA17。在一个实施例中,待治疗的癌症是黑素瘤。

[1345] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达PAX3CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达PAX3。在一个实施例中,待治疗的癌症是腺泡状横纹肌肉瘤。

[1346] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达雄性激素受体CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达雄性激素受体。在一个实施例中,待治疗的癌症是转移性前列腺癌。

[1347] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达细胞周期蛋白B1CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达细胞周期蛋白B1。

[1348] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达MYCNCAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达MYCN。

[1349] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达RhoC CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达RhoC。

[1350] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达TRP-2CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达TRP-2。在一个实施例中,待治疗的癌症是黑素瘤。

[1351] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达CYP1B1CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达CYP1B1。在一个实施例中,要治疗的癌症是乳腺癌、结肠癌、肺癌、食管癌、皮肤癌、淋巴结癌、脑癌或睾丸癌。

[1352] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达BORIS CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达BORIS。在一个实施例中,待治疗的癌症是肺癌。

[1353] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达SART3CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达SART3。

[1354] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达PAX5CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达PAX5。

[1355] 在一个方面,本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达OY-TES1CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法,其中癌细胞表达OY-TES1。

[1356] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达LCK CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达LCK。

[1357] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达AKAP-4CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达AKAP-4。

[1358] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达SSX2CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达SSX2。

[1359] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达RAGE-1CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达RAGE-1。在一个实施例中，待治疗的癌症是RCC(肾细胞癌)或其他实体瘤。

[1360] 在一方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达人端粒酶逆转录酶CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达人端粒酶逆转录酶。在一个实施例中，待治疗的癌症是实体瘤。

[1361] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达RU1CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达RU1。

[1362] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达RU2CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达RU2。

[1363] 在一方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达肠羧基酯酶CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达肠羧基酯酶。在一个实施例中，待治疗的癌症是甲状腺癌症、RCC、CRC(结直肠癌)、乳腺癌或其他实体瘤。

[1364] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达前列腺酶CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达前列腺酶。

[1365] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达PAPCAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达PAP。

[1366] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达IGF-I受体CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达IGF-I受体。

[1367] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达gp100 CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达gp100。

[1368] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达bcr-abl CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达bcr-abl。

[1369] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达酪氨酸酶CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表

达酪氨酸酶。

[1370] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供被工程化为表达岩藻糖基GM1CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达岩藻糖基GM1。

[1371] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供LSD1抑制剂和被工程化为表达mut hsp70-2CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达mut hsp70-2。在一个实施例中，待治疗的癌症是黑素瘤。

[1372] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供被工程化为表达CD79a CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达CD79a。

[1373] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供被工程化为表达CD79b CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达CD79b。

[1374] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供被工程化为表达CD72CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达CD72。

[1375] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供被工程化为表达LAIR1 CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达LAIR1。

[1376] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供被工程化为表达FCAR CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达FCAR。

[1377] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供被工程化为表达LILRA2 CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达LILRA2。

[1378] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供被工程化为表达CD300LF CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达CD300LF。

[1379] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供被工程化为表达CLEC12A CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达CLEC12A。

[1380] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供被工程化为表达BST2 CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达BST2。

[1381] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供被工程化为表达EMR2 CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达EMR2。

[1382] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供被工程化为表达LY75CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达LY75。

[1383] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供被工程化为表达GPC3 CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达GPC3。

[1384] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供被工程化为表达FCRL5 CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达FCRL5。

[1385] 在一个方面，本发明提供了通过向有需要的受试者提供被工程化为表达IGLL1 CAR的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)来治疗癌症的方法，其中癌细胞表达IGLL1。

[1386] 在一个方面，本发明涉及使用LSD1抑制剂和PD1 CAR在体内治疗受试者，以使得抑制癌性肿瘤的生长。PD1 CAR可以单独用于抑制癌性肿瘤的生长。可替代地，PD1 CAR可以与其他CAR、免疫原性药剂、标准癌症治疗或其他抗体结合使用。在一个实施例中，用本文描述的PD1 CAR和XCAR治疗受试者。在一个实施例中，PD1 CAR与另一种CAR(例如，本文描述的

CAR)和激酶抑制剂(例如,本文描述的激酶抑制剂)结合使用。

[1387] 在另一个方面,提供了一种治疗受试者,例如减轻或改善受试者的过度增生性病状或病症(例如,癌症)、例如实体瘤、软组织肿瘤、血液癌症或转移性病灶的方法。在实施例中,该方法包括给予LSD1抑制剂和被工程化为表达CAR的免疫效应细胞(例如T细胞)的群体。

[1388] 在又另一个方面,本发明的特征在于一种治疗患有与肿瘤抗原(例如,本文描述的抗原)的表达相关的疾病的受试者的方法,该方法包括向该受试者给予有效量的包含CAR分子的细胞,例如免疫效应细胞(例如,免疫效应细胞群体),其中该CAR分子包含抗原结合结构域、跨膜结构域和细胞内结构域,所述细胞内结构域包含共刺激结构域和/或初级信号传导结构域,其中所述抗原结合结构域结合至与该疾病相关的肿瘤抗原,例如如本文描述的肿瘤抗原。

[1389] 在相关方面,本发明的特征在于一种治疗患有与肿瘤抗原的表达相关的疾病的受试者的方法。该方法包括向该受试者给予有效量的包含CAR分子的细胞,例如免疫效应细胞(例如,免疫效应细胞群体)与增加免疫细胞的功效的药剂(除LSD1抑制剂外)的组合,其中:

[1390] 该增加免疫细胞的功效的药剂选自以下中的一种或多种:

[1391] (i)蛋白磷酸酶抑制剂;

[1392] (ii)激酶抑制剂;

[1393] (iii)细胞因子;

[1394] (iv)免疫抑制性分子的抑制剂;或

[1395] (v)降低T_{REG}细胞的水平或活性的药剂。

[1396] 在另一个方面,本发明的特征在于一种用于治疗患有与肿瘤抗原的表达相关的疾病(例如,如本文描述的病症)的受试者的组合物,该组合物包含含有CAR分子(例如,如本文描述的CAR分子)的免疫效应细胞(例如,免疫效应细胞群体)。

[1397] 在任何前述方法或用途的某些实施例中,该与肿瘤抗原(例如,本文描述的肿瘤抗原)相关的疾病选自增生性疾病如癌症或恶性肿瘤,或癌前病状如骨髓增生异常、骨髓增生异常综合征或白血病前期,或是与本文描述的肿瘤抗原的表达相关的非癌症相关适应症。在一个实施例中,该疾病是本文描述的癌症,例如本文描述为与本文描述的靶标相关的癌症。在一个实施例中,该疾病是血液癌症。在一个实施例中,该血液癌症是白血病。在一个实施例中,该癌症选自下组,该组由以下组成:一种或多种急性白血病,包括但不限于B细胞急性淋巴细胞白血病("BALL")、T细胞急性淋巴细胞白血病("TALL")、急性淋巴细胞白血病(ALL);一种或多种慢性白血病,包括但不限于慢性髓细胞性白血病(CML)、慢性淋巴细胞性白血病(CLL);另外的血液癌症或血液病状包括但不限于B细胞幼淋巴细胞性白血病、母细胞性浆细胞样树突细胞肿瘤、伯基特淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、毛细胞白血病、小细胞或大细胞滤泡性淋巴瘤、恶性淋巴组织增生性病状、MALT淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、多发性骨髓瘤、骨髓增生异常和骨髓增生异常综合征、非霍奇金淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、浆母细胞性淋巴瘤、浆细胞样树突细胞肿瘤、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症、和为由骨髓血细胞的无效产生(或发育异常)联合在一起的各种血液病状集合的"白血病前期",并且与本文描述的肿瘤抗原的表达相关的疾病包括但不限于表达如本文描述的肿瘤抗原的非典型和/或非经典癌症、恶性肿瘤、癌前病状或增生性疾病;以及它们的任何

组合。在另一个实施例中，与本文描述的肿瘤抗原相关的疾病是实体瘤。

[1398] 在某些实施例中，这些方法或用途与增加免疫效应细胞的功效的药剂(例如，如本文描述的药剂)组合进行。

[1399] 在任何前述方法或用途中，与肿瘤抗原的表达相关的疾病选自下组，该组由以下组成：增生性疾病、癌前病状、癌症以及与该肿瘤抗原的表达相关的非癌症相关适应症。

[1400] 癌症可以是血液癌症，例如选自以下中的一种或多种的癌症：慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、急性白血病、急性淋巴细胞白血病(ALL)、急性骨髓性白血病(AML)、B细胞急性淋巴细胞白血病(B-ALL)、T细胞急性淋巴细胞白血病(T-ALL)、慢性髓细胞性白血病(CML)、B细胞幼淋巴细胞性白血病、母细胞性浆细胞样树突细胞肿瘤、伯基特淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、毛细胞白血病、小细胞或大细胞滤泡性淋巴瘤、恶性淋巴组织增生性病状、MALT淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、多发性骨髓瘤、骨髓增生异常和骨髓增生异常综合征、非霍奇金淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、浆母细胞性淋巴瘤、浆细胞样树突细胞肿瘤、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症或白血病前期。

[1401] 癌症还可以选自结肠癌、直肠癌、肾细胞癌、肝癌、非小细胞肺癌、小肠癌、食道癌、黑素瘤、骨癌、胰腺癌、皮肤癌、头颈癌、皮肤或眼内恶性黑素瘤、子宫癌、卵巢癌、直肠癌、肛区癌、胃癌、睾丸癌、子宫癌、输卵管癌、子宫内膜癌、子宫颈癌、阴道癌、外阴癌、霍奇金病、非霍奇金淋巴瘤、内分泌系统癌症、甲状腺癌、甲状旁腺癌、肾上腺癌、软组织肉瘤、尿道癌、阴茎癌、儿童实体瘤、膀胱癌、肾或输尿管癌、肾盂癌、中枢神经系统肿瘤(CNS)、原发性CNS淋巴瘤、肿瘤血管生成、脊轴肿瘤、脑干胶质瘤、垂体腺瘤、卡波济肉瘤、表皮样癌、鳞状细胞癌、T细胞淋巴瘤、环境诱导的癌症、所述癌症的组合、以及所述癌症的转移性病灶。

[1402] 在本文描述的方法或用途的某些实施例中，CAR分子与增加免疫效应细胞的功效的药剂(除LSD1抑制剂外)，例如蛋白磷酸酶抑制剂、激酶抑制剂、细胞因子、免疫抑制性分子的抑制剂；或降低T_{REG}细胞的水平或活性的药剂组合给予。

[1403] 在本文描述的方法或用途的某些实施例中，蛋白磷酸酶抑制剂是SHP-1抑制剂和/或SHP-2抑制剂。

[1404] 在本文描述的方法或用途的其他实施例中，激酶抑制剂选自以下中的一种或多种：CDK4抑制剂、CDK4/6抑制剂(例如，帕博西尼)、BTK抑制剂(例如，依鲁替尼或RN-486)、mTOR抑制剂(例如，雷帕霉素或依维莫司(RAD001))、MNK抑制剂或双重P13K/mTOR抑制剂。在一个实施例中，BTK抑制剂不会降低或抑制白细胞介素-2诱导型激酶(ITK)的激酶活性。

[1405] 在本文描述的方法或用途的其他实施例中，抑制免疫抑制性分子的药剂包括抗体或抗体片段、抑制性核酸、聚集的规则间隔短回文重复序列(CRISPR)、转录活化因子样效应核酸酶(TALEN)或对抑制性分子的表达进行抑制的锌指核酸内切酶(ZFN)。

[1406] 在本文描述的方法或用途的其他实施例中，降低TREG细胞的水平或活性的药剂选自环磷酰胺、抗GITR抗体、CD25耗尽或它们的组合。

[1407] 在本文描述的方法或用途的某些实施例中，免疫抑制性分子选自下组，该组由以下组成：PD1、PD-L1、CTLA-4、TIM-3、LAG-3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4、TGFβ、CEACAM-1、CEACAM-3、以及CEACAM-5。

[1408] 在其他实施例中，对抑制性分子进行抑制的药剂包含含有抑制性分子的第一多肽或其片段以及向细胞提供阳性信号的第二多肽，并且其中该第一多肽和第二多肽在含有

CAR的免疫细胞上表达，其中(i)该第一多肽包含PD1、PD-L1、CTLA-4、TIM-3、LAG3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4、TGFβ、CEACAM-1、CEACAM-3、以及CEACAM-5或其片段；和/或(ii)该第二多肽包含细胞内信号传导结构域，该细胞内信号传导结构域包含初级信号传导结构域和/或共刺激信号传导结构域。在一个实施例中，初级信号传导结构域包含CD3ζ的功能性结构域；和/或共刺激信号传导结构域包含选自41BB、CD27和CD28的蛋白质的功能性结构域。

[1409] 在其他实施例中，细胞因子选自IL-7、IL-15或IL-21、或它们的组合。

[1410] 在其他实施例中，包含CAR分子的免疫效应细胞和第二，例如本文披露的任何组合疗法(例如，增加免疫效应细胞的功效的药剂)基本上同时或顺序地给予。

[1411] 在其他实施例中，包含CAR分子的免疫细胞与靶向GITR和/或调节GITR功能的分子组合给予。在某些实施例中，靶向GITR和/或调节GITR功能的分子在表达CAR的细胞或细胞群体之前或在单采血液成分术之前给予。

[1412] 在一个实施例中，淋巴细胞输注(例如同种异体淋巴细胞输注)用于治疗癌症，其中淋巴细胞输注包含至少一种本发明的表达CAR的细胞。在一个实施例中，自体淋巴细胞输注用于治疗癌症，其中自体淋巴细胞输注包含至少一种本文描述的表达CAR的细胞。

[1413] 在一个实施例中，细胞是T细胞，并且该T细胞是甘油二酯激酶(DGK)缺陷的。在一个实施例中，细胞是T细胞，并且该T细胞是Ikaros缺陷的。在一个实施例中，细胞是T细胞，并且该T细胞是DGK和Ikaros两者缺陷的。

[1414] 在一个实施例中，该方法包括给予如本文描述的表达CAR分子的细胞与增强表达CAR的细胞的活性的药剂的组合，其中该药剂是细胞因子，例如IL-7、IL-15、IL-18、IL-21或它们的组合。可以与给予表达CAR的细胞组合，例如同时或在给予表达CAR的细胞之后不久递送细胞因子。可替代地，可以在给予表达CAR的细胞后延长的时间段后，例如，在评估受试者对表达CAR的细胞的应答之后递送细胞因子。在一个实施例中，将细胞因子与给予如权利要求61-80中任一项的细胞或细胞群体同时(例如，在同一天给予)或在给予该细胞或细胞群体之后不久(例如，在给予该细胞或细胞群体之后1天、2天、3天、4天、5天、6天或7天给予)给予至受试者。在其他实施例中，将细胞因子在给予如权利要求61-80中任一项的细胞或细胞群体之后或在评估受试者对细胞的应答之后延长的时间段(例如，例如，至少2周、3周、4周、6周、8周、10周或更长时间)后给予至受试者。

[1415] 在其他实施例中，将表达CAR分子的细胞与改善与表达CAR分子的细胞的给予相关的一种或多种副作用的药剂组合给予。与表达CAR的细胞相关的副作用可以选自细胞因子释放综合征(CRS)或噬血细胞性淋巴组织细胞增多症(HLH)。

[1416] 在任何前述方法或用途的实施例中，表达CAR分子的细胞与治疗与肿瘤抗原的表达相关的疾病的药剂(例如本文披露的第二或第三疗法中的任一种)组合给予。另外的示例性组合包括以下中的一种或多种。

[1417] 在另一个实施例中，表达例如，如本文描述的CAR分子的细胞可以与另一种药剂(例如，本文描述的激酶抑制剂和/或检查点抑制剂)组合给予。在一个实施例中，表达CAR分子的细胞可以进一步表达另一种药剂，例如增强表达CAR的细胞的活性的药剂。

[1418] 例如，在一个实施例中，增强表达CAR的细胞的活性的药剂可以是对抑制性分子进行抑制的药剂(例如，免疫抑制剂分子)。抑制性分子的实例包括PD1、PD-L1、CTLA-4、TIM-3、

CEACAM(例如,CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5)、LAG-3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4和TGFβ。

[1419] 在一个实施例中,对抑制性分子进行抑制的药剂是抑制性核酸,是dsRNA、siRNA或shRNA。在实施例中,该抑制性核酸与编码CAR分子的组分的核酸连接。例如,抑制性分子可以在表达CAR的细胞上表达。

[1420] 在另一个实施例中,对抑制性分子进行抑制的药剂例如是本文描述的分子,例如包含第一多肽(例如,抑制性分子)的药剂,该第一多肽与向细胞提供阳性信号的第二多肽(例如,本文描述的细胞内信号传导结构域)缔合。在一个实施例中,该药剂包含例如抑制性分子(如PD-1、PD-L1、CTLA-4、TIM-3、CEACAM(例如,CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5)、LAG-3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4或TGFβ、或这些中的任一者的片段(例如,这些中的任一者的细胞外结构域的至少一部分))的第一多肽,和第二多肽,该第二多肽是本文描述的细胞内信号传导结构域(例如,包含共刺激结构域(例如,41BB、CD27或CD28,例如如本文描述)和/或初级信号传导结构域(例如,本文描述的CD3ζ信号传导结构域)。在一个实施例中,该药剂包含PD1或其片段(例如PD1的细胞外结构域的至少一部分)的第一多肽,和本文描述的细胞内信号传导结构域(例如本文描述的CD28信号传导结构域和/或本文描述的CD3ζ信号传导结构域)的第二多肽。

[1421] 在一个实施例中,将本发明的表达CAR的免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞)给予至已接受先前干细胞移植(例如自体干细胞移植)的受试者。

[1422] 在一个实施例中,将本发明的表达CAR的免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞)给予至已接受先前剂量的关法仑的受试者。

[1423] 在一个实施例中,将表达CAR分子(例如,本文描述的CAR分子)的细胞与增加表达CAR分子的细胞的功效的药剂(例如本文描述的药剂)组合给予。

[1424] 在一个实施例中,将表达CAR分子(例如,本文描述的CAR分子)的细胞与LSD1抑制剂组合给予。尽管不希望受理论束缚,但据信用LSD1抑制剂治疗伴随PD-1阳性T细胞的减少或PD-1阴性细胞的增加。PD-1阳性T细胞、但非PD-1阴性T细胞可以通过与表达PD-1配体(例如,PD-L1或PD-L2)的细胞接合而耗竭。

[1425] 在一个实施例中,这种方法可以用于优化本文描述的CAR细胞在受试者中的性能。虽然不希望受理论束缚,但是据信,在一个实施例中,内源性、未修饰的免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞)的性能得到改善。尽管不希望受理论束缚,但据信,在一个实施例中,表达靶抗原CAR的细胞的性能得到改善。在其他实施例中,已经被或将被工程化为表达CAR的细胞(例如,T细胞或NK细胞)可以通过与一定量的LSD1抑制剂接触而离体进行处理,该LSD1抑制剂增加PD1阴性免疫效应细胞(例如T细胞)的数量或增加PD1阴性免疫效应细胞(例如T细胞)/PD1阳性免疫效应细胞(例如T细胞)的比率。

[1426] 在一个实施例中,在给予本文描述的表达CAR的细胞(例如,T细胞或NK细胞)之前开始给予LSD1抑制剂。在一个实施例中,在足够的时间或足够剂量的LSD1抑制剂后给予CAR细胞,以使得PD1阴性免疫效应细胞(例如T细胞或NK细胞)的水平、或PD1阴性免疫效应细胞(例如T细胞)/PD1阳性免疫效应细胞(例如T细胞)的比率已经至少短暂地增加。

[1427] 在一个实施例中,在足够的时间后或在足够剂量的LSD1抑制剂后收获被工程化为表达CAR的细胞(例如T细胞或NK细胞),以使得受试者中或从受试者收获的PD1阴性免疫效

应细胞(例如T细胞)的水平、或PD1阴性免疫效应细胞(例如T细胞)/PD1阳性免疫效应细胞(例如T细胞)的比率已经至少短暂地增加。

[1428] 在一个实施例中,表达CAR分子(例如,本文描述的CAR分子)的细胞与改善与表达CAR分子的细胞的给予相关的一种或多种副作用的药剂(例如,本文描述的药剂)组合给予。

[1429] 在一个实施例中,表达CAR分子(例如,本文描述的CAR分子)的细胞与治疗与如本文描述的癌症相关抗原相关的疾病的药剂(例如,本文描述的药剂)组合给予。

[1430] 在一个实施例中,将表达两种或更多种CAR分子(例如,如本文描述)的细胞给予至有需要的受试者以治疗癌症。在一个实施例中,将包含表达CAR的细胞的细胞群体(例如,如本文描述)给予至有需要的受试者以治疗癌症。

[1431] 在一个实施例中,将表达CAR分子(例如本文描述的CAR分子)的细胞以本文描述的剂量和/或给药时间表给予。

[1432] 在一个实施例中,例如使用体外转录将CAR分子引入免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞)中,并且受试者(例如,人)接受包含CAR分子的细胞的初始给予和包含CAR分子的细胞的一次或多次后续给予,其中该一次或多次后续给予在前一次给予后少于15天(例如14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、或2天)给予。在一个实施例中,每周向受试者(例如人)给予包含CAR分子的细胞的多于一次给药,例如每周给予包含CAR分子的细胞的2、3或4次给药。在一个实施例中,受试者(例如,人受试者)每周接受包含CAR分子的细胞的多于一次的给药(例如,每周2、3或4次给药)(在本文中也称为周期),然后一周不给予包含CAR分子的细胞,然后向受试者给予包含CAR分子的细胞的一次或多次另外的给药(例如,每周给予包含CAR分子的细胞的多于一次的给药)。在另一个实施例中,受试者(例如,人受试者)接受包含CAR分子的细胞的多于一个周期,并且每个周期之间的时间少于10、9、8、7、6、5、4或3天。在一个实施例中,每隔一天给予包含CAR分子的细胞,每周给予3次。在一个实施例中,给予包含CAR分子的细胞持续至少两周、三周、四周、五周、六周、七周、八周或更多周。

[1433] 在一个实施例中,将表达CAR分子(例如本文描述的CAR分子)的细胞作为疾病(例如癌症,例如本文描述的癌症)的一线治疗给予。在另一个实施例中,将表达CAR分子(例如本文描述的CAR分子)的细胞作为疾病(例如癌症,例如本文描述的癌症)的一线、二线、三线、四线治疗给予。

[1434] 在一个实施例中,给予本文描述的细胞群体。

[1435] 在另一个方面,本发明涉及编码本发明CAR的分离的核酸分子、本发明的CAR的分离的多肽分子、包含本发明的CAR的载体、以及包含本发明的CAR的细胞,其用作药物。

[1436] 在另一个方面,本发明涉及编码本发明CAR的分离的核酸分子、本发明的CAR的分离的多肽分子、包含本发明的CAR的载体、以及包含本发明的CAR的细胞,其用于治疗表达如本文描述的癌症相关抗原的疾病。

[1437] 在另一个方面,本发明涉及本文描述的表达CAR分子的细胞,该细胞与细胞因子(例如,如本文描述的IL-7、IL-15和/或IL-21)组合用作药物。在另一个方面,本发明涉及本文描述的细胞因子,该细胞因子与本文描述的表达CAR分子的细胞组合用作药物。

[1438] 在另一个方面,本发明涉及本文描述的表达CAR分子的细胞,该细胞与如本文描述的激酶抑制剂和/或检查点抑制剂组合用作药物。在另一个方面,本发明涉及本文描述的激酶抑制剂和/或检查点抑制剂,该激酶抑制剂和/或检查点抑制剂与本文描述的表达CAR分

子的细胞组合用作药物。

[1439] 在另一个方面，本发明涉及本文描述的表达CAR分子的细胞，该细胞与细胞因子(例如，如本文描述的IL-7、IL-15和/或IL-21)组合用于治疗表达由CAR靶向的肿瘤抗原的疾病。在另一个方面，本发明涉及本文描述的细胞因子，该细胞因子与本文描述的表达CAR分子的细胞组合用于治疗表达由CAR靶向的肿瘤抗原的疾病。

[1440] 在另一个方面，本发明涉及本文描述的表达CAR分子的细胞，该细胞与如本文描述的激酶抑制剂和/或检查点抑制剂组合用于治疗表达由CAR靶向的肿瘤抗原的疾病。在另一个方面，本发明涉及本文描述的激酶抑制剂和/或检查点抑制剂，该激酶抑制剂和/或检查点抑制剂与本文描述的表达CAR分子的细胞组合用于治疗表达由CAR靶向的肿瘤抗原的疾病。

[1441] 在另一个方面，本发明提供了一种方法，该方法包括给予CAR分子(例如本文描述的CAR分子)，或包含编码CAR分子(例如本文描述的CAR分子)的核酸的细胞。在一个实施例中，受试者患有本文描述的病症，例如，受试者患有癌症，例如，受试者患有癌症并且具有表达本文描述的支持肿瘤的抗原的支持肿瘤的细胞。在一个实施例中，受试者是人。

[1442] 在另一个方面，本发明涉及一种治疗患有与如本文描述的支持肿瘤的抗原的表达相关的疾病的受试者的方法，该方法包括向该受试者给予有效量的包含CAR分子(例如，本文描述的CAR分子)的细胞。

[1443] 在又另一个方面，本发明的特征在于一种治疗患有与支持肿瘤的抗原的表达相关的疾病的受试者的方法，该方法包括向该受试者给予有效量的包含CAR分子的细胞，例如免疫效应细胞(例如，免疫效应细胞群体)，其中该CAR分子包含抗原结合结构域、跨膜结构域和细胞内结构域，所述细胞内结构域包含共刺激结构域和/或初级信号传导结构域，其中所述抗原结合结构域结合至与该疾病相关的支持肿瘤的抗原，例如如本文描述的支持肿瘤的抗原。

[1444] 在另一个方面，本发明的特征在于一种用于治疗患有与支持肿瘤的抗原的表达相关的疾病(例如，如本文描述的病症)的受试者的组合物，该组合物包含含有CAR分子(例如，如本文描述的CAR分子)的免疫效应细胞(例如，免疫效应细胞群体)。

[1445] 在任何前述方法或用途中，与支持肿瘤的抗原的表达相关的疾病选自下组，该组由以下组成：增生性疾病、癌前病状、癌症以及与该支持肿瘤的抗原的表达相关的非癌症相关适应症。在一个实施例中，与本文描述的支持肿瘤的抗原相关的疾病是实体瘤。

[1446] 在本文描述的方法或用途的一个实施例中，该CAR分子与另一种药剂组合给予。在一个实施例中，该药剂可以是激酶抑制剂，例如CDK4/6抑制剂、BTK抑制剂、mTOR抑制剂、MNK抑制剂或双重PI3K/mTOR激酶抑制剂、以及它们的组合。在一个实施例中，激酶抑制剂是CDK4抑制剂，例如本文描述的CDK4抑制剂，例如CD4/6抑制剂，如6-乙酰基-8-环戊基-5-甲基-2-(5-哌嗪-1-基-吡啶-2-基氨基)-8H-吡啶并[2,3-d]嘧啶-7-酮盐酸盐(也称为帕博西尼(palbociclib)或PD0332991)。在一个实施例中，激酶抑制剂是BTK抑制剂，例如本文描述的BTK抑制剂，例如像依鲁替尼。在一个实施例中，激酶抑制剂是mTOR抑制剂，例如本文描述的mTOR抑制剂，例如像雷帕霉素、雷帕霉素类似物、OSI-027。该mTOR抑制剂可以是例如mTORC1抑制剂和/或mTORC2抑制剂，例如本文描述的mTORC1抑制剂和/或mTORC2抑制剂。在一个实施例中，激酶抑制剂是MNK抑制剂，例如本文描述的MNK抑制剂，例如像4-氨基-5-(4-

氟苯胺基)-吡唑并[3,4-d]嘧啶。该MNK抑制剂可以是例如MNK1a、MNK1b、MNK2a和/或MNK2b抑制剂。该双重PI3K/mTOR抑制剂可以是例如PF-04695102。

[1447] 在本文描述的方法或用途的一个实施例中,激酶抑制剂是选自以下的CDK4抑制剂:aloisine A;夫拉平度或HMR-1275,2-(2-氯苯基)-5,7-二羟基-8-[(3S,4R)-3-羟基-1-甲基-4-哌啶基]-4-色满酮;克唑替尼(PF-02341066;2-(2-氯苯基)-5,7-二羟基-8-[(2R,3S)-2-(羟甲基)-1-甲基-3-吡咯烷基]-4H-1-苯并吡喃-4-酮盐酸盐(P276-00);1-甲基-5-[[2-[5-(三氟甲基)-1H-咪唑-2-基]-4-吡啶基]氧基]-N-[4-(三氟甲基)苯基]-1H-苯并咪唑-2-胺(RAF265);吲地横胺(indisulam)(E7070);洛斯可维汀(roscovitine)(CYC202);帕博西尼(PD0332991);地那西利(dinaciclib)(SCH727965);N-[5-[[(5-叔丁基噁唑-2-基)甲基]硫代]噻唑-2-基]哌啶-4-甲酰胺(BMS 387032);4-[[9-氯-7-(2,6-二氟苯基)-5H-嘧啶并[5,4-d][2]苯并氮杂-2-基]氨基]-苯甲酸(MLN8054);5-[3-(4,6-二氟-1H-苯并咪唑-2-基)-1H-吲唑-5-基]-N-乙基-4-甲基-3-吡啶甲胺(AG-024322);4-(2,6-二氯苯甲酰基氨基)-1H-吡唑-3-羧酸N-(哌啶-4-基)酰胺(AT7519);4-[2-甲基-1-(1-甲基乙基)-1H-咪唑-5-基]-N-[4-(甲基磺酰基)苯基]-2-嘧啶胺(AZD5438);和XL281(BMS908662)。

[1448] 在本文描述的方法或用途的一个实施例中,激酶抑制剂是CDK4抑制剂,例如帕博西尼(PD0332991),并且将帕博西尼以每天约50mg、60mg、70mg、75mg、80mg、90mg、100mg、105mg、110mg、115mg、120mg、125mg、130mg、135mg(例如75mg、100mg或125mg)的剂量给予持续一段时间,例如每天给予28天周期的14-21天、或每天给予21天周期的7-12天。在一个实施例中,给予帕博西尼的1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或更多个周期。

[1449] 在本文描述的方法或用途的一个实施例中,激酶抑制剂是选自以下的BTK抑制剂:依鲁替尼(PCI-32765);GDC-0834;RN-486;CGI-560;CGI-1764;HM-71224;CC-292;ONO-4059;CNX-774;和LFM-A13。在一个实施例中,BTK抑制剂不会降低或抑制白细胞介素-2诱导型激酶(ITK)的激酶活性,并且选自GDC-0834;RN-486;CGI-560;CGI-1764;HM-71224;CC-292;ONO-4059;CNX-774;和LFM-A13。

[1450] 在本文描述的方法或用途的一个实施例中,激酶抑制剂是BTK抑制剂(例如,依鲁替尼(PCI-32765)),并且将依鲁替尼以每天约250mg、300mg、350mg、400mg、420mg、440mg、460mg、480mg、500mg、520mg、540mg、560mg、580mg、600mg(例如,250mg、420mg或560mg)的剂量给予持续一段时间,例如每天给予持续21天周期,或每天给予持续28天周期。在一个实施例中,给予依鲁替尼的1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或更多个周期。

[1451] 在本文描述的方法或用途的一个实施例中,激酶抑制剂是不会抑制ITK(例如RN-486)的激酶活性的BTK抑制剂,并且将RN-486以每天约100mg、110mg、120mg、130mg、140mg、150mg、160mg、170mg、180mg、190mg、200mg、210mg、220mg、230mg、240mg、250mg(例如,150mg、200mg或250mg)的剂量给予一段时间,例如28天周期。在一个实施例中,给予RN-486的1、2、3、4、5、6、7或更多个周期。

[1452] 在本文描述的方法或用途的一个实施例中,激酶抑制剂是选自以下的mTOR抑制剂:替西罗莫司;地磷莫司(1R,2R,4S)-4-[(2R)-2[(1R,9S,12S,15R,16E,18R,19R,21R,23S,24E,26E,28Z,30S,32S,35R)-1,18-二羟基-19,30-二甲氧基-15,17,21,23,29,35-六甲基-2,3,10,14,20-五氧杂-11,36-二氧杂-4-氮杂三环[30.3.1.$0^{4,9}$]三十六碳-16,24,26,28-四烯-12-基]丙基]-2-甲氧基环己基二甲基次膦酸酯,也称为AP23573和MK8669;依

维莫司(RAD001)；雷帕霉素(AY22989)；塞马莫德(simapimod)；(5-{2,4-双[(3S)-3-甲基吗啉-4-基]吡啶并[2,3-d]嘧啶-7-基}-2-甲氧基苯基)甲醇(AZD8055)；2-氨基-8-[反式-4-(2-羟基乙氧基)环己基]-6-(6-甲氧基-3-吡啶基)-4-甲基吡啶并[2,3-d]嘧啶-7(8H)-酮(PF04691502)；和N^2-[1,4-二氧代-4-[[4-(4-氧代-8-苯基-4H-1-苯并吡喃-2-基)吗啉鎓-4-基]甲氧基]丁基]-L-精氨酰甘氨酰-L-α-天冬氨酰L-丝氨酸-，内盐(SF1126)(SEQ ID NO:1937)；和XL765。

[1453] 在本文描述的方法或用途的一个实施例中，激酶抑制剂是mTOR抑制剂，例如雷帕霉素，并且将雷帕霉素以每天约3mg、4mg、5mg、6mg、7mg、8mg、9mg、10mg(例如6mg)的剂量给予持续一段时间，例如每天给予持续21天周期、或每天给予持续28天周期。在一个实施例中，给予雷帕霉素的1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或更多个周期。在一个实施例中，激酶抑制剂是mTOR抑制剂，例如依维莫司，并且将依维莫司以每天约2mg、2.5mg、3mg、4mg、5mg、6mg、7mg、8mg、9mg、10mg、11mg、12mg、13mg、14mg、15mg(例如10mg)的剂量给予持续一段时间，例如每天给予持续28天周期。在一个实施例中，给予依维莫司的1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12或更多个周期。

[1454] 在本文描述的方法或用途的一个实施例中，激酶抑制剂是选自以下的MNK抑制剂：CGP052088；4-氨基-3-(对氟苯基氨基)-吡唑并[3,4-d]嘧啶(CGP57380)；尾孢酰胺(cercosporamide)；ETC-1780445-2；和4-氨基-5-(4-氟苯胺基)-吡唑并[3,4-d]嘧啶。

[1455] 在本文描述的方法或用途的一个实施例中，激酶抑制剂是双重磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)和mTOR抑制剂，其选自2-氨基-8-[反式-4-(2-羟基乙氧基)环己基]-6-(6-甲氧基-3-吡啶基)-4-甲基-吡啶并[2,3-d]嘧啶-7(8H)-酮(PF-04691502)；N-[4-[[4-(二甲基氨基)-1-哌啶基]羰基]苯基]-N′-[4-(4,6-二-4-吗啉基-1,3,5-三嗪-2-基)苯基]脲(PF-05212384,PKI-587)；2-甲基-2-{4-[3-甲基-2-氧代-8-(喹啉-3-基)-2,3-二氢-1H-咪唑并[4,5-c]喹啉-1-基]苯基}丙腈(BEZ-235)；apitolisib(GDC-0980,RG7422)；2,4-二氟-N-{2-(甲氧基)-5-[4-(4-哒嗪基)-6-喹啉基]-3-吡啶基}苯磺酰胺(GSK2126458)；8-(6-甲氧基吡啶-3-基)-3-甲基-1-(4-(哌嗪-1-基)-3-(三氟甲基)苯基)-1H-咪唑并[4,5-c]喹啉-2(3H)-酮马来酸(NVP-BGT226)；3-[4-(4-吗啉基吡啶并[3′,2′:4,5]呋喃并[3,2-d]嘧啶-2-基]苯酚(PI-103)；5-(9-异丙基-8-甲基-2-吗啉代-9H-嘌呤-6-基)嘧啶-2-胺(VS-5584,SB2343)；和N-[2-[(3,5-二甲氧基苯基)氨基]喹喔啉-3-基]-4-[(4-甲基-3-甲氧基苯基)羰基]氨基苯磺酰胺(XL765)。

[1456] 在本文描述的方法或用途的一个实施例中，将本文描述的表达CAR的免疫效应细胞与蛋白酪氨酸磷酸酶抑制剂(例如本文描述的蛋白酪氨酸磷酸酶抑制剂)组合给予至受试者。在一个实施例中，蛋白酪氨酸磷酸酶抑制剂是SHP-1抑制剂，例如本文描述的SHP-1抑制剂，例如像葡萄糖酸锑钠。在一个实施例中，蛋白酪氨酸磷酸酶抑制剂是SHP-2抑制剂。

[1457] 在本文描述的方法或用途的一个实施例中，将CAR分子与另一种药剂组合给予，并且该药剂是细胞因子。该细胞因子可以是例如IL-7、IL-15、IL-21或它们的组合。在另一个实施例中，将CAR分子与检查点抑制剂(例如本文描述的检查点抑制剂)组合给予。例如，在一个实施例中，检查点抑制剂抑制选自PD-1、PD-L1、CTLA-4、TIM-3、CEACAM(例如，CEACAM-1,CEACAM-3和/或CEACAM-5)、LAG-3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4和TGFβ的抑制性分子。

[1458] 在一个方面，本发明的CAR可以用于根除表达如本文描述的肿瘤抗原的正常细胞，从而适用于在细胞移植之前用作细胞调理疗法。在一个方面，表达如本文描述的肿瘤抗原的正常细胞是正常干细胞，并且细胞移植是干细胞移植。

[1459] 治疗应用

[1460] 在另一个方面，提供了一种治疗受试者，例如减轻或改善受试者的过度增生性病状或病症(例如，癌症)、例如实体瘤、软组织肿瘤或转移性病灶的方法。如本文使用的术语“癌症”意欲包括所有类型的癌性生长或致癌性过程、转移性组织或恶性转化的细胞、组织或器官，而不考虑组织病理学类型或侵袭的阶段。实体瘤的实例包括各种器官系统的恶性肿瘤，例如肉瘤、腺癌和癌，如影响肝、肺、乳腺、淋巴、胃肠(例如结肠)、泌尿生殖道(例如，肾、尿路上皮细胞)、前列腺和咽的那些。腺癌包括恶性肿瘤，例如大多数结肠癌、直肠癌、肾细胞癌、肝癌、非小细胞肺癌、小肠癌和食管癌。在一个实施例中，癌症是黑素瘤，例如晚期黑素瘤。还可以使用本发明的方法和组合物治疗或预防前述癌症的转移性病灶。可以治疗的其他癌症的实例包括骨癌、胰腺癌、皮肤癌、头颈癌、皮肤或眼内恶性黑素瘤、子宫癌、卵巢癌、直肠癌、肛区癌、胃癌、睾丸癌、子宫癌、输卵管癌、子宫内膜癌、子宫颈癌、阴道癌、外阴癌、霍奇金病、非霍奇金淋巴瘤、食道癌、小肠癌、内分泌系统癌症、甲状腺癌、甲状旁腺癌、肾上腺癌、软组织肉瘤、尿道癌、阴茎癌、慢性或急性白血病(包括急性骨髓性白血病、慢性骨髓性白血病、急性成淋巴细胞白血病、慢性成淋巴细胞性白血病)、儿童实体瘤、淋巴细胞性淋巴瘤、膀胱癌、肾或输尿管癌、肾盂癌、中枢神经系统肿瘤(CNS)、原发性CNS淋巴瘤、肿瘤血管生成、脊轴肿瘤、脑干胶质瘤、垂体腺瘤、卡波济氏肉瘤、表皮样癌、鳞状细胞癌、T细胞淋巴瘤、环境诱导的癌症(包括由石棉诱导的那些)、以及所述癌症的组合。可以使用本文描述的抗体分子来实现转移性癌症，例如表达PD-L1的转移性癌症的治疗(Iwai等人(2005)Int.Immunol.[国际免疫学]17:133-144)。

[1461] 可以抑制其生长的示例性癌症包括典型地对免疫疗法有反应的癌症。用于治疗的癌症的非限制性实例包括黑素瘤(例如，转移性恶性黑素瘤)、肾癌(例如透明细胞癌)、前列腺癌(例如激素难治性前列腺腺癌)、乳腺癌、结肠癌和肺癌(例如非小细胞肺癌)。另外，可以使用本文描述的分子来治疗难治性或复发性恶性肿瘤。

[1462] 在一个方面，本发明涉及载体，该载体包含可操作地连接至启动子的CAR以用于在哺乳动物免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)中表达。在一个方面，本发明提供了表达本发明CAR的重组免疫效应细胞，其用于治疗表达如本文描述的癌症相关抗原的癌症。在一个方面，本发明的表达CAR的细胞能够使肿瘤细胞与在其表面上表达的至少一种癌症相关抗原接触，以使得表达CAR的细胞靶向癌细胞并抑制癌症的生长。

[1463] 在一个方面，本发明涉及一种抑制癌症的生长的方法，该方法包括使癌细胞与本发明的表达CAR的细胞接触，以使得CART响应于抗原而被活化并靶向癌细胞，其中肿瘤的生长受到抑制。

[1464] 在一个方面，本发明涉及一种治疗受试者的癌症的方法。该方法包括向受试者给予本发明的表达CAR的细胞，以使得治疗受试者的癌症。在一个方面，与如本文描述的癌症相关抗原的表达相关的癌症是血液癌症。在一个方面，该血液癌症是白血病或淋巴瘤。在一个方面，与如本文描述的癌症相关抗原的表达相关的癌症包括癌症和恶性肿瘤，包括但不限于例如一种或多种急性白血病，包括但不限于例如B细胞急性淋巴细胞白血病(“BALL”)、

T细胞急性淋巴细胞白血病(“TALL”)、急性淋巴细胞白血病(“ALL”);一种或多种慢性白血病,包括但不限于例如慢性髓细胞性白血病(CML)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)。与如本文描述的癌症相关抗原的表达相关的另外癌症或血液病状包括但不限于,例如B细胞幼淋巴细胞性白血病、母细胞性浆细胞样树突细胞肿瘤、伯基特淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、毛细胞白血病、小细胞或大细胞滤泡性淋巴瘤、恶性淋巴组织增生性病状、MALT淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、多发性骨髓瘤、骨髓增生异常和骨髓增生异常综合征、非霍奇金淋巴瘤、浆母细胞性淋巴瘤、浆细胞样树突细胞肿瘤、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症、和为由骨髓血细胞的无效产生(或发育异常)联合在一起的各种血液病状集合的“白血病前期”等。与如本文描述的癌症相关抗原表达相关的其他疾病包括但不限于例如非典型和/或非经典癌症、恶性肿瘤、癌前病状或与如本文描述的癌症相关抗原的表达相关的增生性疾病。

[1465] 在一些实施例中,可以用本发明的表达CAR的细胞治疗的癌症是多发性骨髓瘤。通常,通过流式细胞术,骨髓瘤细胞被认为对于如本文描述的癌症相关抗原表达是阴性的。因此,在一些实施例中,例如如本文描述的CD19 CAR可以用于靶向骨髓瘤细胞。在一些实施例中,本发明的car疗法可以与一种或多种另外的疗法(例如来那度胺治疗)组合使用。

[1466] 本发明包括一种类型的细胞疗法,其中免疫效应细胞(例如T细胞或NK细胞)经遗传修饰以表达嵌合抗原受体(CAR),并且将表达CAR的T细胞或NK细胞输注给有需要的受体。输注的细胞能够杀伤受体中的肿瘤细胞。与抗体疗法不同,CAR-修饰的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)能够在体内复制,从而产生可以导致持续的肿瘤控制的长期持久性。在各个方面,在向患者给予T细胞或NK细胞后,给予至患者的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)或其后代在患者中持续至少四个月、五个月、六个月、七个月、八个月、九个月、十个月、十一个月、十二个月、十三个月、十四个月、十五个月、十六个月、十七个月、十八个月、十九个月、二十个月、二十一个月、二十二个月、二十三个月、两年、三年、四年、或五年。

[1467] 本发明还包括一种类型的细胞疗法,其中例如通过体外转录的RNA修饰免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)以瞬时表达嵌合抗原受体(CAR),并且CART细胞或NK细胞输注给有需要的受体。输注的细胞能够杀伤受体中的肿瘤细胞。因此,在不同方面,在向患者给予T细胞或NK细胞之后,向患者给予的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)存在少于一个月,例如三周、两周、一周。

[1468] 不希望受任何特定理论的束缚,由CAR修饰的免疫效应细胞(例如T细胞、NK细胞)引发的抗肿瘤免疫应答可以是主动或被动免疫应答,或者可替代地可以是由于直接与间接免疫应答。在一个方面,CAR转导的免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞)表现出响应于表达如本文描述的癌症相关抗原的人癌细胞的特异性促炎性细胞因子分泌和有效细胞溶解活性,抵抗可溶性如本文描述的癌症相关抗原抑制,介导旁观者(bystander)杀伤并介导已确立的人肿瘤的消退。例如,表达如本文描述的癌症相关抗原的肿瘤的异质区域内的无抗原肿瘤细胞可能易受先前已经针对邻近的抗原阳性癌细胞反应的如本文描述的癌症相关抗原重定向的免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞)的间接破坏。

[1469] 在一个方面,本发明的完全人CAR修饰的免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞)可以是用于哺乳动物的离体免疫和/或体内疗法的一类疫苗。在一方面,哺乳动物是人。

[1470] 关于离体免疫,在将细胞给予至哺乳动物中之前,以下中的至少一种在体外发生:

i)扩增细胞,ii)将编码CAR的核酸引入细胞或iii)冷冻保存细胞。

[1471] 离体程序是本领域熟知的,并在下文更全面地讨论。简言之,从哺乳动物(例如人)分离细胞,并用表达本文披露的CAR的载体进行遗传修饰(即体外转导或转染)。可以将CAR修饰的细胞给予至哺乳动物受体以提供治疗益处。哺乳动物受体可以是人,并且CAR修饰的细胞可以相对于受体是自体的。可替代地,相对于受体,细胞可以是同种异体的、同基因的或异种异体的。

[1472] 造血干细胞和祖细胞的离体扩增程序描述于美国专利号5,199,942(将其通过引用并入本文)中,可以应用于本发明的细胞。其他合适的方法是本领域已知的,因此本发明不限于离体扩增细胞的任何具体方法。简言之,免疫效应细胞(例如T细胞\NK细胞)的离体培养和扩增包括:(1)从哺乳动物收集来自外周血收获物或骨髓外植体的CD34+造血干细胞和祖细胞;以及(2)离体扩增此类细胞。除了美国专利号5,199,942中描述的细胞生长因子外,其他因子如flt3-L、IL-1、IL-3和c-kit配体也可以用于培养和扩增细胞。

[1473] 除了在离体免疫方面使用基于细胞的疫苗之外,本发明还提供了用于体内免疫以引发针对患者中的抗原的免疫应答的组合物和方法。

[1474] 通常,如本文描述活化和扩增的细胞可以用于治疗和预防免疫受损个体中出现的疾病。特别地,本发明的CAR修饰的免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞)用于治疗与如本文描述的癌症相关抗原的表达相关的疾病、病症和病状。在某些方面,本发明的细胞用于治疗处于发展与如本文描述的癌症相关抗原的表达相关的疾病、病症和病状的风险的患者。因此,本发明提供了用于治疗或预防与如本文描述的癌症相关抗原的表达相关的疾病、病症和病状的方法,这些方法包括向有需要的受试者给予治疗有效量的本发明的CAR修饰的免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞)。

[1475] 在一个方面,本发明的表达CAR的细胞可用于治疗增生性疾病,如癌症或恶性肿瘤、或是癌前病状(如骨髓增生异常、骨髓增生异常综合征或白血病前期)。与如本文描述的癌症相关抗原表达相关的其他疾病包括但不限于例如非典型和/或非经典癌症、恶性肿瘤、癌前病状或表达如本文描述的癌症相关抗原的增生性疾病。与如本文描述的癌症相关抗原的表达相关的非癌症相关适应症包括但不限于例如自身免疫性疾病(例如狼疮)、炎性病症(过敏症和哮喘)和移植。

[1476] 本发明的CAR修饰的免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞)可以单独给予或作为药物组合物与稀释剂和/或与其他组分(如IL-2或其他细胞因子或细胞群体)组合给予。

[1477] 血液癌症

[1478] 血液癌症病状是癌症的类型,如白血病、淋巴瘤以及影响血液、骨髓和淋巴系统的恶性淋巴组织增生性病状。

[1479] 白血病可以分类为急性白血病和慢性白血病。急性白血病可以进一步分类为急性髓细胞性白血病(AML)和急性淋巴细胞白血病(ALL)。慢性白血病包括慢性髓细胞性白血病(CML)和慢性淋巴细胞白血病(CLL)。其他相关病状包括骨髓增生异常综合征(MDS,以前称为“白血病前期”),其是由骨髓血细胞的无效产生(或发育异常)和转化为AML的风险联合的血液病状的多样化集合。

[1480] 淋巴瘤是一组从淋巴细胞发展的血细胞肿瘤。示例性淋巴瘤包括非霍奇金淋巴瘤和霍奇金淋巴瘤。

[1481] 本发明还提供了用于抑制表达如本文描述的癌症相关抗原的细胞群体的增殖或减少该细胞群体的方法，这些方法包括使包含表达如本文描述的癌症相关抗原的细胞的细胞群体与本发明的表达CAR的T细胞或NK细胞接触，该表达CAR的T细胞或NK细胞结合至表达如本文描述的癌症相关抗原的细胞。在一个具体方面，本发明提供了用于抑制表达如本文描述的癌症相关抗原的癌细胞群体的增殖或减少该癌细胞群体的方法，这些方法包括使表达如本文描述的癌症相关抗原的癌细胞群体与本发明的表达CAR的T细胞或NK细胞接触，该表达CAR的T细胞或NK细胞结合至表达如本文描述的癌症相关抗原的细胞。在一个方面，本发明提供了用于抑制表达如本文描述的癌症相关抗原的癌细胞群体的增殖或减少该癌细胞群体的方法，这些方法包括使表达如本文描述的癌症相关抗原的癌细胞群体与本发明的表达CAR的T细胞或NK细胞接触，该表达CAR的T细胞或NK细胞结合至表达如本文描述的癌症相关抗原的细胞。在某些方面，在患有骨髓性白血病或与表达如本文描述的癌症相关抗原的细胞相关的另一种癌症的受试者中、或骨髓性白血病或与表达如本文描述的癌症相关抗原的细胞相关的另一种癌症的动物模型中，相对于阴性对照，本发明的表达CAR的T细胞或NK细胞使细胞和/或癌细胞的数量(quantity)、数目(number)、量(amount)或百分比减少至少25％、至少30％、至少40％、至少50％、至少65％、至少75％、至少85％、至少95％、或至少99％。在一个方面，受试者是人。

[1482] 本发明还提供了用于预防、治疗和/或控制与表达如本文描述的癌症相关抗原的细胞相关的疾病(例如，表达如本文描述的癌症相关抗原的血液癌症或非典型癌症)的方法，这些方法包括向有需要的受试者给予本发明的CAR T细胞或NK细胞，该CAR T细胞或NK细胞结合至表达如本文描述的癌症相关抗原的细胞。在一个方面，受试者是人。与表达如本文描述的癌症相关抗原的细胞相关的病症的非限制性实例包括自身免疫性病症(如狼疮)、炎性病症(如过敏症和哮喘)和癌症(如表达如本文描述的癌症相关抗原的血液癌症或非典型癌症)。

[1483] 本发明还提供了用于预防、治疗和/或控制与表达如本文描述的癌症相关抗原的细胞相关的疾病的方法，这些方法包括向有需要的受试者给予本发明的CAR T细胞或NK细胞，该CAR T细胞或NK细胞结合至表达如本文描述的癌症相关抗原的细胞。在一个方面，受试者是人。

[1484] 本发明提供了用于预防与表达如本文描述的癌症相关抗原的细胞相关的癌症的复发的方法，这些方法包括向有需要的受试者给予本发明的CAR T细胞或NK细胞，该CAR T细胞或NK细胞结合至表达如本文描述的癌症相关抗原的细胞。在一个方面，这些方法包括向有需要的受试者给予有效量的本文描述的表达CAR的T细胞或NK细胞与有效量的另一种疗法的组合，该表达CAR的T细胞或NK细胞结合至表达如本文描述的癌症相关抗原的细胞。

[1485] 药物组合物和治疗：LSD1抑制剂与表达CAR的细胞的组合

[1486] 本发明的药物组合物可以包含表达CAR的细胞(例如如本文描述的多种表达CAR的细胞)，以及一种或多种药学上或生理学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。这些药物组合物可以另外包含一种或多种，例如一种LSD1抑制剂。此类组合物可以包含缓冲液，如中性缓冲盐水、磷酸盐缓冲盐水等；碳水化合物，如葡萄糖、甘露糖、蔗糖或葡聚糖、甘露醇；蛋白质；多肽或氨基酸如甘氨酸；抗氧化剂；螯合剂，如EDTA或谷胱甘肽；佐剂(例如氢氧化铝)；以及防腐剂。在一方面，本发明的组合物被配制用于静脉内给予。

[1487] 本发明的药物组合物能以适合于待治疗(或预防)的疾病的方式给予。给予的总量和频率将由诸如患者的状况以及患者的疾病的类型和严重程度等因素来确定,然而适当的剂量可以通过临床试验来确定。

[1488] 在一个实施例中,药物组合物基本上不含,例如不存在可检测水平的例如选自下组的污染物,该组由以下组成:内毒素、支原体、复制型慢病毒(RCL)、p24、VSV-G核酸、HIV gag、残留的抗CD3/抗CD28包被的珠、小鼠抗体、合并的人血清、牛血清白蛋白、牛血清、培养基组分、载体包装细胞或质粒组分、细菌和真菌。在一个实施例中,细菌是选自下组的至少一种,该组由以下组成:粪产碱菌、白色念珠菌、大肠杆菌、流感嗜血杆菌、脑膜炎奈瑟氏菌、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、肺炎链球菌、以及酿脓链球菌A组。

[1489] 当指示“免疫有效量”、“抗肿瘤有效量”、“肿瘤抑制有效量”或“治疗量”时,医生可以考虑到年龄、体重、肿瘤大小、感染或转移的程度以及患者(受试者)的状况的个体差异来确定待给予的本发明组合物的精确量。通常可以说,可以将包含本文描述的免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞)的药物组合物以10^4至10^9个细胞/kg体重、在一些情况下10^5至10^6个细胞/kg体重(包括那些范围内的所有整数值)的剂量给予。还可以将T细胞组合物以这些剂量多次给予。可以通过使用在免疫疗法中通常已知的输注技术来给予细胞(参见例如Rosenberg等人,New Eng.J.of Med.[新英格兰医学杂志]319:1676,1988)。

[1490] 在某些方面,可能希望向受试者给予活化的免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞),并且然后随后重抽血液(或进行单采血液成分术),根据本发明从其活化免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞),并用这些活化和扩增的免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞)回输患者。该过程可以每隔几周进行多次。在某些方面,可以将来自从10cc至400cc抽血的免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞)活化。在某些方面,将来自20cc、30cc、40cc、50cc、60cc、70cc、80cc、90cc、或100cc抽血的免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞)活化。

[1491] 能以任何常规方式给予主题组合物,包括通过雾化吸入、注射、摄取、输血、植入或移植。可以向患者经动脉、皮下、真皮内、瘤内、结内、髓内、肌内、通过静脉内(i.v.)注射、或者腹膜内给予本文描述的组合物。在一个方面,通过真皮内或皮下注射向患者给予本发明的T细胞组合物。在一个方面,通过静脉内注射来给予本发明的T细胞组合物。可以将免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞)的组合物直接注射到肿瘤、淋巴结或感染部位中。

[1492] 在特定的示例性方面,受试者可以经历白细胞单采法,其中离体收集、富集、或耗尽白细胞以选择和/或分离感兴趣的细胞(例如T细胞)。这些T细胞分离物可以通过本领域已知的方法扩增并处理,使得可以引入本发明的一个或多个CAR构建体,从而产生本发明的CAR T细胞。有需要的受试者可以随后经历使用高剂量化疗的标准治疗,随后进行外周血干细胞移植。在某些方面,在移植之后或与移植同时,受试者接受输注本发明的扩增的CAR T细胞。在另外的方面,在手术之前或之后给予扩增的细胞。

[1493] 有待向患者给予的以上治疗的剂量将随着所治疗病症的确切性质和该治疗的受者而变化。可以根据本领域接受的做法来进行人类给予的剂量的缩放。例如,对于成年患者,CAMPATH的剂量通常将在1至约100mg的范围内,通常每天给予持续1至30天的时间。优选的每天剂量是每天1至10mg,但在一些情况下,可以使用每天最多40mg的较大剂量(描述于美国专利号6,120,766中)。

[1494] 在一个实施例中,例如使用体外转录将CAR引入免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细

胞)中,并且受试者(例如人)接受本发明的CAR免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞)的初始给予以及本发明的CAR免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞)的一次或多次后续给予,其中该一次或多次后续给予在前一次给予后少于15天(例如在14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、或2天)给予。在一个实施例中,将本发明的CAR免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞)的多于一次给予每周给予至受试者(例如人),例如每周给予本发明的CAR免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞)的2、3、或4次给予。在一个实施例中,受试者(例如人受试者)每周接受CAR免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞)的多于一次给予(例如每周2、3或4次给予)(在本文中也称为周期),随后一周未给予CAR免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞),并且然后将CAR免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞)的一次或多次另外的给予(例如,每周CAR免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞)的多于一次给予)给予至受试者。在另一个实施例中,受试者(例如人受试者)接受CAR免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞)的多于一个周期,并且每个周期之间的时间小于10、9、8、7、6、5、4或3天。在一个实施例中,每隔一天给予(每周3次给予)CAR免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞)。在一个实施例中,给予本发明的CAR免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞)持续至少两周、三周、四周、五周、六周、七周、八周或更多周。

[1495] 在一个方面,使用慢病毒病毒载体(如慢病毒)产生本发明的表达CAR的细胞。以该方式产生的细胞(例如,CART)将具有稳定的CAR表达。

[1496] 在一个方面,使用病毒载体如γ逆转录病毒载体(例如本文描述的γ逆转录病毒载体)产生表达CAR的细胞,例如CART。使用这些载体产生的CART可以具有稳定的CAR表达。

[1497] 在一个方面,CART在转导后瞬时表达CAR载体4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15天。CAR的瞬时表达可能受RNA CAR载体递送的影响。在一个方面,通过电穿孔将CAR RNA转导到T细胞中。

[1498] 在使用瞬时表达CAR免疫效应细胞(例如,T细胞、NK细胞)(特别是采用携带CART的鼠scFv时)治疗的患者中可能出现的潜在问题是多次治疗后的过敏反应。

[1499] 不受该理论的束缚,据信这种过敏反应可能是由患者发展体液抗CAR应答,即具有抗IgE同种型的抗CAR抗体引起的。认为当存在暴露于抗原的10至14天中断时,患者的抗体产生细胞经历从IgG同种型(不引起过敏反应)到IgE同种型的类别转换。

[1500] 如果患者在瞬时CAR疗法(如通过RNA转导产生的那些)过程中处于产生抗CAR抗体应答的高风险中,则CART输注中断时间不应持续超过10至14天。

[1501] 制备表达CAR的细胞的方法

[1502] 在另一个方面,本发明涉及一种制备细胞(例如,免疫效应细胞或其群体)的方法,该方法包括将包含编码CAR分子(例如本文描述的CAR分子)的核酸的载体或编码CAR分子(例如本文描述的CAR)的核酸引入到(例如转导)细胞(例如,本文描述的T细胞或NK细胞)中。

[1503] 这些方法中的细胞是免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞,或它们的组合)。在一些实施例中,这些方法中的细胞是甘油二酯激酶(DGK)和/或Ikaros缺陷型的。

[1504] 在一些实施例中,引入编码CAR分子的核酸分子包括转导包含编码CAR分子的核酸分子的载体,或转染编码CAR分子的核酸分子,其中该核酸分子是体外转录的RNA。

[1505] 在一些实施例中,该方法进一步包括:

[1506] 提供免疫效应细胞(例如,T细胞或NK细胞)的群体;并且

[1507] 从该群体中除去T调控细胞，从而提供T调控耗尽的细胞群体；

[1508] 其中步骤a)和b)在将编码CAR分子的核酸引入群体之前进行。

[1509] 在这些方法的实施例中，T调控细胞包含CD25+ T细胞，并且使用抗CD25抗体或其片段从细胞群体中除去。抗CD25抗体或其片段可以与底物(例如珠)缀合。

[1510] 在其他实施例中，从步骤(b)提供的T调控耗尽的细胞群体含有少于30％、25％、20％、15％、10％、5％、4％、3％、2％、1％的CD25+细胞。

[1511] 在又其他实施例中，该方法进一步包括从表达不包含CD25的肿瘤抗原的群体中除去细胞，以提供T调控耗尽和肿瘤抗原耗尽的细胞群体，之后将编码CAR分子的核酸引入该群体。肿瘤抗原可以选自CD19、CD30、CD38、CD123、CD20、CD14或CD11b、或它们的组合。

[1512] 在其他实施例中，该方法进一步包括从表达检查点抑制剂的群体中除去细胞，以提供T调控耗尽和抑制性分子耗尽的细胞群体，之后将编码CAR分子的核酸引入该群体。检查点抑制剂可以选自PD-1、LAG-3、TIM3、B7-H1、CD160、P1H、2B4、CEACAM(例如，CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5)、TIGIT、CTLA-4、BTLA和LAIR1。

[1513] 本文披露的其他实施例包括提供免疫效应细胞群体。可以基于CD3、CD28、CD4、CD8、CD45RA和/或CD45RO中的一种或多种的表达来选择所提供的免疫效应细胞群体。在某些实施例中，所提供的免疫效应细胞群体是CD3+和/或CD28+。

[1514] 在该方法的某些实施例中，该方法进一步包括在引入编码CAR分子的核酸分子后扩增该细胞群体。

[1515] 在实施例中，该细胞群体扩增8天或更短的时间。

[1516] 在某些实施例中，使细胞群体在培养物中扩增5天，并且所得细胞比在相同培养条件下在培养物中扩增9天的相同细胞更有效。

[1517] 在其他实施例中，与在相同培养条件下在培养物中扩增9天的相同细胞相比，在培养物中扩增5天的细胞群体在抗原刺激后显示细胞倍增的至少一倍、两倍、三倍或四倍增加。

[1518] 在又其他实施例中，使细胞群体在培养物中扩增5天，并且与在相同培养条件下在培养物中扩增9天的相同细胞相比，所得细胞表现出更高的促炎性IFN-γ和/或GM-CSF水平。

[1519] 在其他实施例中，通过在刺激CD3/TCR复合物相关信号的药剂和/或刺激细胞表面上的共刺激分子的配体存在下培养细胞来扩增细胞群体。该药剂可以是与抗CD3抗体或其片段、和/或抗CD28抗体或其片段缀合的珠。

[1520] 在其他实施例中，使细胞群体在包含一种或多种白细胞介素的适当介质中扩增，该一种或多种白细胞介素导致在14天扩增期内细胞增加至少200倍、250倍、300倍或350倍，如通过流式细胞术所测量的。

[1521] 在其他实施例中，在IL-15和/或IL-7存在下扩增细胞群体。

[1522] 在某些实施例中，该方法进一步包括在适当的扩增期后冷冻保存细胞群体。

[1523] 在又其他实施例中，本文披露的制备方法进一步包括使免疫效应细胞群体与编码端粒酶亚基(例如hTERT)的核酸接触。编码端粒酶亚基的核酸可以是DNA。

[1524] 本发明还提供了一种产生RNA工程化的细胞，例如本文描述的细胞，例如瞬时表达外源RNA的免疫效应细胞(例如，T细胞、NK细胞)的群体的方法。该方法包括将体外转录的

RNA或合成RNA引入细胞，其中该RNA包含编码本文描述的CAR分子的核酸。

[1525] 在另一个方面，本发明涉及一种在受试者中提供抗肿瘤免疫的方法，该方法包括向该受试者给予有效量的包含CAR分子的细胞，例如表达本文描述的CAR分子的细胞。在一个实施例中，细胞是自体T细胞或NK细胞。在一个实施例中，细胞是同种异体T细胞或NK细胞。在一个实施例中，受试者是人。

[1526] 在一个方面，本发明包括用包含编码例如，如本文描述的CAR分子的核酸分子的载体转染或转导的自体细胞的群体。在一个实施例中，该载体是逆转录病毒载体。在一个实施例中，该载体是如本文其他地方描述的自灭活慢病毒载体。在一个实施例中，将载体递送(例如，通过转染或电穿孔)至细胞，例如T细胞或NK细胞，其中该载体包含编码如本文描述的本发明的CAR的核酸分子，该核酸分子被转录为mRNA分子，并且本发明的CAR从该RNA分子翻译并在细胞的表面上表达。

[1527] 在另一个方面，本发明提供了表达CAR的细胞，例如表达CAR的免疫效应细胞(例如，T细胞或NK细胞)的群体。在一些实施例中，表达CAR的细胞群体包含表达不同CAR的细胞的混合物。例如，在一个实施例中，表达CAR的免疫效应细胞(例如，T细胞或NK细胞)的群体可以包括表达CAR的第一细胞，该CAR具有结合至如本文描述的第一肿瘤抗原的抗原结合结构域；以及表达CAR的第二细胞，该CAR具有结合至如本文描述的第二肿瘤抗原的不同抗原结合结构域。作为另一个实例，表达CAR的细胞群体可以包括表达CAR的第一细胞，该CAR包含结合至如本文描述的肿瘤抗原的抗原结合结构域；以及表达CAR的第二细胞，该CAR包含针对除如本文描述的肿瘤抗原以外的靶标的抗原结合结构域。在一个实施例中，表达CAR的细胞群体包括，例如表达包含初级细胞内信号传导结构域的CAR的第一细胞，和表达包含次级信号传导结构域(例如共刺激信号传导结构域)的CAR的第二细胞。

[1528] 在另一个方面，本发明提供了细胞群体，其中该群体中的至少一种细胞表达具有结合至如本文描述的肿瘤抗原的抗原结合结构域的CAR，和表达另一种药剂(例如增强表达CAR的细胞的活性的药剂)的第二细胞。例如，在一个实施例中，药剂可以是对抑制性分子进行抑制的药剂。抑制性分子的实例包括PD-1、PD-L1、CTLA-4、TIM-3、CEACAM(例如，CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5)、LAG-3、VISTA、BTLA、TIGIT、LAIR1、CD160、2B4和TGFβ。在一个实施例中，对抑制性分子进行抑制的药剂例如是本文描述的分子，例如包含第一多肽(例如抑制性分子)的药剂，该第一多肽与向细胞提供阳性信号的第二多肽例如本文描述的细胞内信号传导结构域相关联。在一个实施例中，该药剂包含例如抑制性分子(如PD-1、LAG-3、CTLA-4、CD160、BTLA、LAIR1、TIM-3、CEACAM(例如，CEACAM-1、CEACAM-3和/或CEACAM-5)、2B4和TIGIT、或这些中的任一者的片段)的第一多肽，和第二多肽，该第二多肽是本文描述的细胞内信号传导结构域(例如，包含共刺激结构域(例如，41BB、CD27或CD28，例如如本文描述)和/或初级信号传导结构域(例如，本文描述的CD3ζ信号传导结构域)。在一个实施例中，该药剂包含PD-1的第一多肽或其片段，和本文描述的细胞内信号传导结构域(例如，本文描述的CD28、CD27、OX40或4-IBB信号传导结构域和/或本文描述的CD3ζ信号传导结构域)的第二多肽。

[1529] 在一个实施例中，编码本发明分子的CAR的核酸分子(例如，如本文描述)被表达为mRNA分子。在一个实施例中，表达本发明的遗传修饰的CAR的细胞，例如免疫效应细胞(例如，T细胞、NK细胞)可以通过将编码所希望的CAR的RNA分子(例如，没有载体序列)转染或电

穿孔到细胞中来产生。在一个实施例中，本发明分子的CAR一旦被掺入并在重组细胞的表面上表达就从RNA分子翻译。

[1530] 用于产生用于转染的mRNA的方法涉及用特别设计的引物对模板进行体外转录(IVT)、然后添加聚A以产生含有3′和5′非翻译序列(“UTR”)(例如，本文描述的3’和/或5’UTR)、5’帽(例如，本文描述的5’帽)和/或内部核糖体进入位点(IRES)(例如，本文描述的IRES)、待表达的核酸和聚A尾的构建体，典型地长度为50-2000个碱基(SEQ ID NO:32)。如此产生的RNA可以有效地转染不同种类的细胞。在一个实施例中，模板包含针对CAR的序列。在实施例中，通过电穿孔将RNA CAR载体转导到细胞(例如，T细胞或NK细胞)中。

[1531] 表18:CAR的各种组分的序列(aa-氨基酸，na-编码相应蛋白质的核酸)

[1532]

SEQ ID NO	描述	序列
1	EF-1 启动子	CGTGAGGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACATCGCCCACA GTCCCCGAGAAGTTGGGGGGAGGGGTCGGCAATTGAACCGGTGCCTA GAGAAGGTGGCGCGGGGTAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTGG CTCCGCCTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAGAACCGTATATAAGTGCAGT AGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCAGAACAC AGGTAAGTGCCGTGTGTGGTTCCCGCGGGCCTGGCCTCTTTACGGGTT ATGGCCCTTGCGTGCCTTGAATTACTTCCACCTGGCTGCAGTACGTGA TTCTTGATCCCGAGCTTCGGGTTGGAAGTGGGTGGGAGAGTTCGAGG CCTTGCGCTTAAGGAGCCCCTTCGCCTCGTGCTTGAGTTGAGGCCTGG CCTGGGCGCTGGGGCCGCCGCGTGCGAATCTGGTGGCACCTTCGCGC CTGTCTCGCTGCTTTCGATAAGTCTCTAGCCATTTAAAATTTTTGATG ACCTGCTGCGACGCTTTTTTTCTGGCAAGATAGTCTTGTAAATGCGGG CCAAGATCTGCACACTGGTATTTCGGTTTTTGGGGCCGCGGGCGGCG ACGGGGCCCGTGCGTCCCAGCGCACATGTTCGGCGAGGCGGGGCCTG CGAGCGCGGCCACCGAGAATCGGACGGGGGTAGTCTCAAGCTGGCC GGCCTGCTCTGGTGCCTGGCCTCGCGCCGCCGTGTATCGCCCCGCCCT GGGCGGCAAGGCTGGCCCGGTCGGCACCAGTTGCGTGAGCGGAAAG ATGGCCGCTTCCCGGCCCTGCTGCAGGGAGCTCAAAATGGAGGACGC GGCGCTCGGGAGAGCGGGCGGGTGAGTCACCCACACAAAGGAAAAG GGCCTTTCCGTCCTCAGCCGTCGCTTCATGTGACTCCACGGAGTACCG GGCGCCGTCCAGGCACCTCGATTAGTTCTCGAGCTTTTGGAGTACGTC GTCTTTAGGTTGGGGGGAGGGGTTTTATGCGATGGAGTTTCCCCACA CTGAGTGGGTGGAGACTGAAGTTAGGCCAGCTTGGCACTTGATGTAA TTCTCCTTGGAATTTGCCCTTTTTGAGTTTGGATCTTGGTTCATTCTCA AGCCTCAGACAGTGGTTCAAAGTTTTTTTCTTCCATTTCAGGTGTCGT

[1533]

		GA
2	前导序列（aa）	MALPVTALLLPLALLLHAARP
3	前导序列（na）	ATGGCCCTGCCTGTGACAGCCCTGCTGCTGCCTCTGGCTCTGCTGCTG CATGCCGCTAGACCC
1938	前导序列（na）	ATGGCCCTCCCTGTCACCGCCCTGCTGCTTCCGCTGGCTCTTCTGCTC CACGCCGCTCGGCCC
4	CD 8 铰链（aa）	TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACD
5	CD8 铰链（na）	ACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCCCACCATCGC GTCGCAGCCCCTGTCCCTGCGCCCAGAGGCGTGCCGGCCAGCGGCGG GGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCGCCTGTGAT
6	Ig4 铰链（aa）	ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQE DPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSR WQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGKM
7	Ig4 铰链（na）	GAGAGCAAGTACGGCCCTCCCTGCCCCCCTTGCCCTGCCCCCGAGTTC CTGGGCGGACCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCCCAAGCCCAAGGACAC CCTGATGATCAGCCGGACCCCCGAGGTGACCTGTGTGGTGGTGGACG TGTCCCAGGAGGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGC GTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCCGGGAGGAGCAGTTCA ATAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGAC TGGCTGAACGGCAAGGAATACAAGTGTAAGGTGTCCAACAAGGGCC TGCCCAGCAGCATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCC TCGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCCAAGAGGAGATGA CCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTGGTGAAGGGCTTCTACCCC AGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACA ACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTC CTGTACAGCCGGCTGACCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGGAGGGCA ACGTCTTTAGCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTAC ACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCTGGGCAAGATG
8	IgD 铰链（aa）	RWPESPKAQASSVPTAQPQAEGSLAKATTAPATTRNTGRGGEEKKKEKE KEEQEERETKTPECPSHTQPLGVYLLTPAVQDLWLRDKATFTCFVVGSD LKDAHLTWEVAGKVPTGGVEEGLLERHSNGSQSQHSRLTLPRSLWNAG TSVTCTLNHPSLPPQRLMALREPAAQAPVKLSLNLLASSDPPEAASWLLC EVSGFSPPNILLMWLEDQREVNTSGFAPARPPPQPGSTTFWAWSVLRVP APPSPQPATYTCVVSHEDSRTLLNASRSLEVSYVTDH
9	IgD 铰链（na）	AGGTGGCCCGAAAGTCCCAAGGCCCAGGCATCTAGTGTTCCTACTGC ACAGCCCCAGGCAGAAGGCAGCCTAGCCAAAGCTACTACTGCACCTG CCACTACGCGCAATACTGGCCGTGGCGGGGAGGAGAAGAAAAAGGA GAAAGAGAAAGAAGAACAGGAAGAGAGGGAGACCAAGACCCCTGA ATGTCCATCCCATACCCAGCCGCTGGGCGTCTATCTCTTGACTCCCGC AGTACAGGACTTGTGGCTTAGAGATAAGGCCACCTTTACATGTTTCGT CGTGGGCTCTGACCTGAAGGATGCCCATTTGACTTGGGAGGTTGCCG GAAAGGTACCCACAGGGGGGGTTGAGGAAGGGTTGCTGGAGCGCCA TTCCAATGGCTCTCAGAGCCAGCACTCAAGACTCACCCTTCCGAGAT CCCTGTGGAACGCCGGGACCTCTGTCACATGTACTCTAAATCATCCTA GCCTGCCCCCACAGCGTCTGATGGCCCTTAGAGAGCCAGCCGCCCAG GCACCAGTTAAGCTTAGCCTGAATCTGCTCGCCAGTAGTGATCCCCC AGAGGCCGCCAGCTGGCTCTTATGCGAAGTGTCCGGCTTTAGCCCGC

		CCAACATCTTGCTCATGTGGCTGGAGGACCAGCGAGAAGTGAACACC AGCGGCTTCGCTCCAGCCCGGCCCCCACCCCAGCCGGGTTCTACCAC ATTCTGGGCCTGGAGTGTCTTAAGGGTCCCAGCACCACCTAGCCCCC AGCCAGCCACATACACCTGTGTTGTGTCCCATGAAGATAGCAGGACC CTGCTAAATGCTTCTAGGAGTCTGGAGGTTTCCTACGTGACTGACCAT T
10	GS 铰链/接头（aa）	GGGGSGGGGS
11	GS 铰链/接头（na）	GGTGGCGGAGGTTCTGGAGGTGGAGGTTCC
12	CD8 TM（aa）	IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC
13	CD8 TM（na）	ATCTACATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCTTCTCCTG TCACTGGTTATCACCCTTTACTGC
1939	CD8 TM（na）	ATCTACATTTGGGCCCCTCTGGCTGGTACTTGCGGGGTCCTGCTGCTT TCACTCGTGATCACTCTTTACTGT
14	4-1BB 细胞内结构域（aa）	KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL
15	4-1BB 细胞内结构域（na）	AAACGGGGCAGAAAGAAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTAT GAGACCAGTACAAACTACTCAAGAGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGAT TTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAACTG
1940	4-1BB 细胞内结构域（na）	AAGCGCGGTCGGAAGAAGCTGCTGTACATCTTTAAGCAACCCTTCAT GAGGCCTGTGCAGACTACTCAAGAGGAGGACGGCTGTTCATGCCGGT TCCCAGAGGAGGAGGAAGGCGGCTGCGAACTG
16	CD27（aa）	QRRKYRSNKGESPVEPAEPCRYSCPREEEGSTIPIQEDYRKPEPACSP
17	CD27（na）	AGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGACTACATGAACATGA CTCCCCGCCGCCCCGGGCCCACCCGCAAGCATTACCAGCCCTATGCC CCACCACGCGACTTCGCAGCCTATCGCTCC
18	CD3-ζ（aa）	RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGG KPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLS TATKDTYDALHMQALPPR
19	CD3-ζ（na）	AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACAAGCAGG GCCAGAACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGA GTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGG GAAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACT GCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAA GGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTC TCAGTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCC CTGCCCCCTCGC
20	CD3-ζ（aa）	RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGG KPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLS TATKDTYDALHMQALPPR
21	CD3-ζ（na）	AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACCAGCAGG GCCAG AACCAGCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACG ATGTTT TGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGGAAAGCCGAG

[1534]

[1535]

		AAGGA AGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGAT GGCGG AGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAA GGGGC ACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCACCAAGGACACCTAC GACGC CCTTCACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGC
1941	CD3-ζ,（na）	CGCGTGAAATTCAGCCGCAGCGCAGATGCTCCAGCCTACAAGCAGGG GCAGAACCAGCTCTACAACGAACTCAATCTTGGTCGGAGAGAGGAGT ACGACGTGCTGGACAAGCGGAGAGGACGGGACCCAGAAATGGGCGG GAAGCCGCGCAGAAAGAATCCCCAAGAGGGCCTGTACAACGAGCTC CAAAAGGATAAGATGGCAGAAGCCTATAGCGAGATTGGTATGAAAG GGGAACGCAGAAGAGGCAAAGGCCACGACGGACTGTACCAGGGACT CAGCACCGCCACCAAGGACACCTATGACGCTCTTCACATGCAGGCCC TGCCGCCTCGG
22	接头	GGGGS
23	接头	GGTGGCGGAGGTTCTGGAGGTGGAGGTTCC
24	PD-1 细胞外结构域（aa）	Pgwfldspdrpwnpptfspallvvtegdnatftcsfsntsesfvlnwyrmspsnqtdklaafpedrsqpgqdcr frvtqlpngrdfhmsvvrarrndsgtylcgaislapkaqikeslraelrvterraevptahpspsprpagqfqtlv
25	PD-1 细胞外结构域（na）	Cccggatggtttctggactctccggatcgcccgtggaatcccccaaccttctcaccggcactcttggttgtgactga gggcgataatgcgaccttcacgtgctcgttctccaacacctccgaatcattcgtgctgaactggtaccgcatgagcc cgtcaaaccagaccgacaagctcgccgcgtttccggaagatcggtcgcaaccgggacaggattgtcggttccgc gtgactcaactgccgaatggcagagacttccacatgagcgtggtccgcgctaggcgaaacgactccgggaccta cctgtgcggagccatctcgctggcgcctaaggcccaaatcaaagagagcttgagggccgaactgagagtgaccg agcgcagagctgaggtgccaactgcacatccatccccatcgcctcggcctgcggggcagtttcagaccctggtc
26	具有信号的 PD-1 CAR（aa）	Malpvtalllplalllhaarppgwfldspdrpwnpptfspallvvtegdnatftcsfsntsesfvlnwyrmspsn qtdklaafpedrsqpgqdcrfrvtqlpngrdfhmsvvrarrndsgtylcgaislapkaqikeslraelrvterraev ptahpspsprpagqfqtlvtttpaprpptpaptiasqplslrpeacrpaaggavhtrgldfacdiyiwaplagtcgv lllslvitlyckrgrkkllyifkqpfmrpvqttqeedgcscrfpeeeeggcelrvkfsrsadapaykqgqnqlynel nlgrreeydvldkrrgrdpemggkprrknpqeglynelqkdkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqglst atkdtydalhmqalppr
27	PD-1 CAR（na）	Atggccctccctgtcactgccctgcttctccccctcgcactcctgctccacgccgctagaccacccggatggtttct ggactctccggatcgcccgtggaatcccccaaccttctcaccggcactcttggttgtgactgagggcgataatgcg accttcacgtgctcgttctccaacacctccgaatcattcgtgctgaactggtaccgcatgagcccgtcaaaccagac cgacaagctcgccgcgtttccggaagatcggtcgcaaccgggacaggattgtcggttccgcgtgactcaactgcc gaatggcagagacttccacatgagcgtggtccgcgctaggcgaaacgactccgggacctacctgtgcggagcca tctcgctggcgcctaaggcccaaatcaaagagagcttgagggccgaactgagagtgaccgagcgcagagctga ggtgccaactgcacatccatccccatcgcctcggcctgcggggcagtttcagaccctggtcacgaccactccggc gccgcgcccaccgactccggccccaactatcgcgagccagcccctgtcgctgaggccggaagcatgccgccct gccgccggaggtgctgtgcatacccggggattggacttcgcatgcgacatctacatttgggctcctctcgccggaa cttgtggcgtgctccttctgtccctggtcatcaccctgtactgcaagcggggtcggaaaaagcttctgtacattttcaa gcagcccttcatgaggcccgtgcaaaccacccaggaggaggacggttgctcctgccggttccccgaagaggaa gaaggaggttgcgagctgcgcgtgaagttctcccggagcgccgacgcccccgcctataagcagggccagaacc agctgtacaacgaactgaacctgggacggcgggaagagtacgatgtgctggacaagcggcgcggccgggacc ccgaaatgggcgggaagcctagaagaaagaaccctcaggaaggcctgtataacgagctgcagaaggacaagat ggccgaggcctactccgaaattgggatgaagggagagcggcggaggggaaaggggcacgacggcctgtacc aaggactgtccaccgccaccaaggacacatacgatgccctgcacatgcaggcccttccccctcgc
28	接头	(Gly-Gly-Gly-Ser)n，其中 n = 1-10
29	接头	(Gly4 Ser)4

[1536]

30	接头	(Gly4 Ser)3
31	接头	(Gly3Ser)
39	PD1 CAR（aa）	Pgwfldspdrpwnpptfspallvvtegdnatftcsfsntsesfvlnwyrmspsnqtdklaafpedrsqpgqdcr frvtqlpngrdfhmsvvrarrndsgtylcgaislapkaqikeslraelrvterraevptahpspsprpagqfqtlvtt tpaprpptpaptiasqplslrpeacrpaaggavhtrgldfacdiyiwaplagtcgvlllslvitlyckrgrkkllyifk qpfmrpvqttqeedgcscrfpeeeeggcelrvkfsrsadapaykqgqnqlynelnlgrreeydvldkrrgrdpe mggkprrknpqeglynelqkdkmaeayseigmkgerrrgkghdglyqglstatkdtydalhmqalppr

[1537] 实例

[1538] 实例1

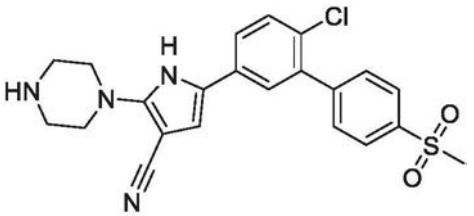
[1539] 在初始T细胞(例如T_{SCM}细胞)增殖和扩增中重要的基因的鉴定。对用加条形码的shRNA文库转导的T细胞进行下一代测序以发现当通过shRNA抑制时促进初始T细胞(例如mT_{SCM}细胞)的扩增的基因。在靶标上,LSD1作为基因出现,该基因当受到抑制时产生更初始的T细胞表型。如下文所描述,进一步研究LSD1抑制对T细胞(例如CAR T细胞)表型和/或功能)的影响。

[1540] FL-LSD1 LC-MS测定

[1541] 将本披露的代表性化合物在DMSO中连续且分开稀释3倍,以获得总计12种浓度。然后将每种浓度的测试化合物(各自100nL)通过0.8nM的Mosquito™溶液(5μL)转移到384孔珀金埃尔默ProxiPlate 384 plus板中,将反应缓冲液中(40mM Tris-HCl、0.01%Triton-X100、10mM KCl、1mM DTT)的全长LSD1和0.5μM FAD添加至孔中,且然后与测试化合物一起孵育30分钟。将5μL的1μM肽底物H3K4me1(组蛋白H3[1-21]-生物素)在反应缓冲液中的溶液添加至每个引发反应。反应溶液中的最终组分包含0.4nM FL-LSD1、0.25μM FAD和0.5μM H3K4me1肽与不同浓度的化合物。阳性对照由在不存在测试化合物的情况下,酶、0.25μM FAD和0.5μM底物组成,并且阴性对照仅由0.5μM底物组成。将每种反应物在室温下孵育60分钟,且然后通过添加3μL猝灭溶液(含有320nM d4-SAH的2.5%TFA)终止。将反应混合物以2000rpm离心(埃彭道夫(Eppendorf)离心机5810,转子A-4-62)1分钟,并在具有与Prominence UFLC(岛津公司(Shimadzu))耦合的Turbulon Spray(应用生物系统公司(Applied Biosystem))的API 4000三重四极质谱仪上读取。通过将H3K4me0肽的峰面积除以所有这两种肽的总峰面积来计算H3K4me1底物与H3K4me0产物的转化率,假设那些肽的电离效率相同。然后使用程序Helios将数据拟合至剂量反应方程以获得测试化合物的IC50值。根据该方法测定的IC50值呈现于表3中。

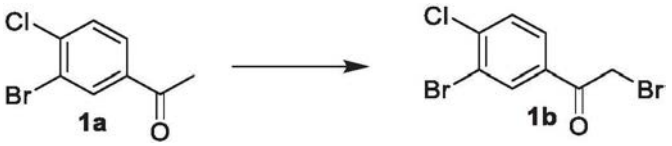
[1542] 实例2

[1543] 5-(6-氯-4′-(甲基磺酰基)联苯基-3-基)-2-(哌嗪-1-基)-1H-吡咯-3-甲腈(1)的制备:

[1544] 

(1)

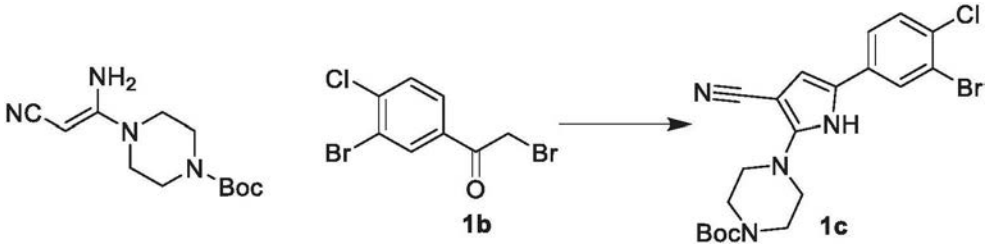
[1545] 中间体2-溴-1-(3-溴-4-氯苯基)乙酮(1b)的制备:

[1546] 

[1547] 向1-(3-溴-4-氯苯基)乙酮(0.4g,1.713mmol)(1a)在EtOAc(10mL)和$CHCl_3$(10.00ml)的混合物中的溶液中添加溴化铜(II)(0.689g,3.08mmol)。将反应混合物在回流下加热并搅拌3小时。在冷却至室温后,向该混合物中添加10mL的NH_4Cl(水溶液),并用

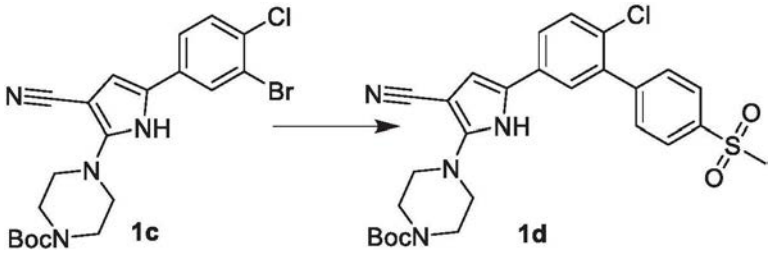
EtOAc(20mL×2)萃取。将合并的有机相用盐水(20mL)洗涤,经Na_2SO_4(无水)干燥,过滤并在减压下浓缩。通过快速色谱法(EA/PE=0:100-3:100)纯化残余物以得到标题化合物(0.23g,50%)。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δppm 4.39(s,2H),7.52-7.65(m,1H),7.79-7.96(m,1H),8.14-8.37(m,1H)。

[1548] 中间体4-(5-(3-溴-4-氯苯基)-3-氰基-1H-吡咯-2-基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯(1c)的制备:

[1549] 

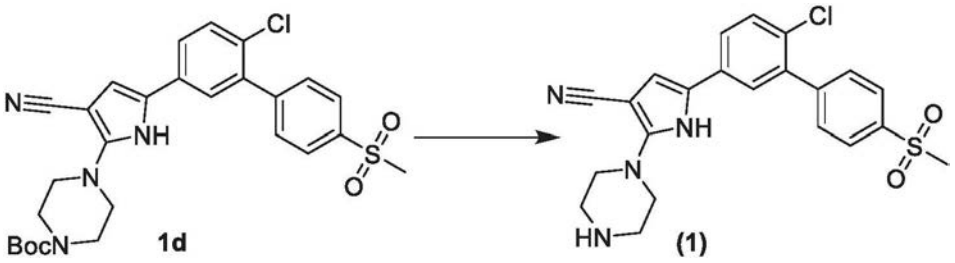
[1550] 向(E)-4-(1-氨基-2-氰基乙烯基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯(242mg,0.960mmol)于无水EtOH(6ml)中的溶液添加2-溴-1-(3-溴-4-氯苯基)乙酮(300mg,0.960mmol)(1b)和碳酸氢钠(323mg,3.84mmol)。将反应混合物在回流下加热并搅拌3小时。在冷却至室温后,将该混合物用10mL的NH_4Cl(水溶液)稀释,并用EtOAc(20mL×2)萃取。将合并的有机相用盐水(30mL)洗涤,经Na_2SO_4(无水)干燥,过滤并在减压下浓缩。通过快速色谱法(EA/PE=0:100-20:80)纯化残余物以得到标题化合物(180mg,36%)。LC-MS:$[M+H]^+$=467.0。

[1551] 中间体4-(5-(6-氯-4′-(甲基磺酰基)联苯基-3-基)-3-氰基-1H-吡咯-2-基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯(1d)的制备:

[1552] 

[1553] 向4-(5-(3-溴-4-氯苯基)-3-氰基-1H-吡咯-2-基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯(50mg,0.107mmol)(1c)于H_2O(0.050ml)和正丙醇(0.5ml)的混合物中的溶液添加4-(甲基磺酰基)苯基硼酸(42.9mg,0.215mmol)、$PdCl_2(PPh_3)$(7.56mg,10.73μmol)、Na_2CO_3(28.4mg,0.268mmol)。将反应混合物在N_2下用微波在100℃加热1小时。在冷却至室温后,将该混合物用5mL的NH_4Cl(水溶液)稀释,并用EtOAc(10mL×2)萃取。将合并的有机相用盐水(10mL)洗涤,经Na_2SO_4(无水)干燥,过滤并在减压下浓缩。通过快速色谱法(EA/PE=0:100-35:65)纯化残余物以得到标题化合物(40mg,62%)。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δppm 1.47(s,9H),3.08(s,3H),3.33(br s.,4H),3.53(t,J=4.89Hz,4H),6.26-6.67(m,1H),7.38-7.53(m,3H),7.66(d,J=8.28Hz,2H),7.92(d,J=8.28Hz,2H),8.87-9.05(m,1H)。

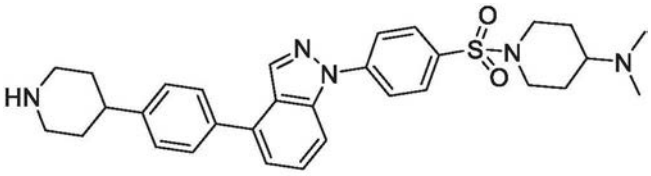
[1554] 5-(6-氯-4′-(甲基磺酰基)联苯基-3-基)-2-(哌嗪-1-基)-1H-吡咯-3-甲腈(1)的制备:

[1555] 

[1556] 将4-(5-(6-氯-4′-(甲基磺酰基)联苯基-3-基)-3-氰基-1H-吡咯-2-基)哌嗪-1-甲酸叔丁酯(1d)(30mg,0.055mmol)和EtOAc中的HCl(2ml,2.000mmol)的混合物在25℃搅拌1小时。过滤沉淀物并用EtOAc洗涤以得到所希望的产物(25mg,97%)。^{1}H NMR(400MHz,MeOD-d_4)δppm 3.20(s,3H),3.39-3.42(m,4H),3.64-3.66(m,4H),6.67(s,1H),7.53(d,J=8.68Hz,1H),7.60-7.63(m,2H),7.74-7.76(m,2H),8.06(d,J=8.20Hz,2H)。LC-MS:$[M+H]^+$=441.1。

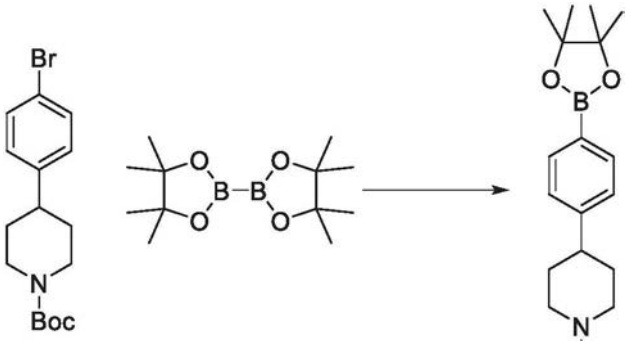
[1557] 实例3

[1558] N,N-二甲基-1-((4-(4-(4-(哌啶-4-基)苯基)-1H-吲唑-1-基)苯基)磺酰基)哌啶-4-胺(2)的制备:

[1559] 

(2)

[1560] 中间体4-(4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)苯基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(2a)的制备:

[1561] 

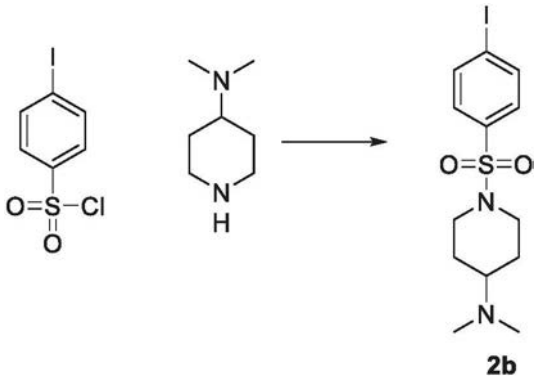
2a

[1562] 将4-(4-溴苯基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(510mg,1.499mmol)、4,4,4′,4′,5,5,5′,5′-八甲基-2,2′-双(1,3,2-二氧杂环戊硼烷)(761mg,3mmol)和KOAc(441mg,4.5mmol)于DME(20ml)中的混合物用N_2脱气并添加$PdCl_2$(dppf)-CH_2Cl_2(122mg,0.15mmol)。将所得混合物用N_2再次脱气并加热至80℃过夜。在冷却至室温后,向该混合物中添加10mL的NH_4Cl(水溶液),并用EtOAc(20mL×2)萃取。将合并的有机相用盐水(20mL)洗涤,经Na_2SO_4(无水)干燥,过滤并在减压下浓缩。通过快速色谱法(EA/己烷=0:100-1:5)纯化残余物以得到标题化合物(500mg,86%)。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δppm1.27(s,9H),1.34(s,12H),1.57-1.72(m,2H),1.82(br d,J=13.05Hz,2H),2.66(br s,1H),2.80(br t,J=12.05Hz,2H),4.25(br d,J=

12.80Hz,2H),7.11-7.42(m,2H),7.77(d,J=8.03Hz,2H)。LC-MS:$[M+H-100]^+$=288.2。

[1563] 中间体1-((4-碘苯基)磺酰基)-N,N-二甲基哌啶-4-胺(2b)的制备:

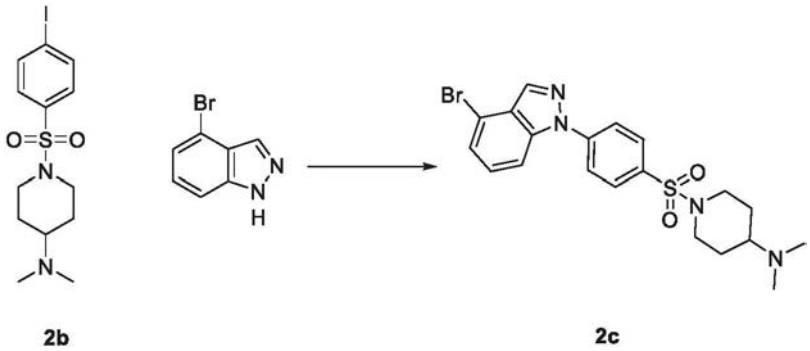
[1564]



[1565] 向4-碘苯-1-磺酰氯(2g,6.61mol)和N,N-二甲基哌啶-4-胺(0.848g,6.61mmol)于DCM(20ml)中的溶液添加TEA(1.115ml,7.93mmol)。将混合物在室温下搅拌3小时。LC-MS指示反应完成。将混合物浓缩。通过快速色谱法(MeOH:DCM=0:100至10:100)纯化残余物以得到呈白色固体的标题化合物(2.85g,98%)。^{1}H-NMR(400MHz,MeOD-d4)δppm 1.38-1.61(m,2H),1.86(br d,J=11.80Hz,2H),2.19-2.56(m,6H),3.01(br d,J=6.53Hz,3H),3.61(br d,J=11.80Hz,2H),7.49(d,J=8.53Hz,2H),8.02(s,2H)。LC-MS:$[M+H]^+$=394.9。

[1566] 中间体1-((4-(4-溴-1H-吲唑-1-基)苯基)磺酰基)-N,N-二甲基哌啶-4-胺(2c)的制备:

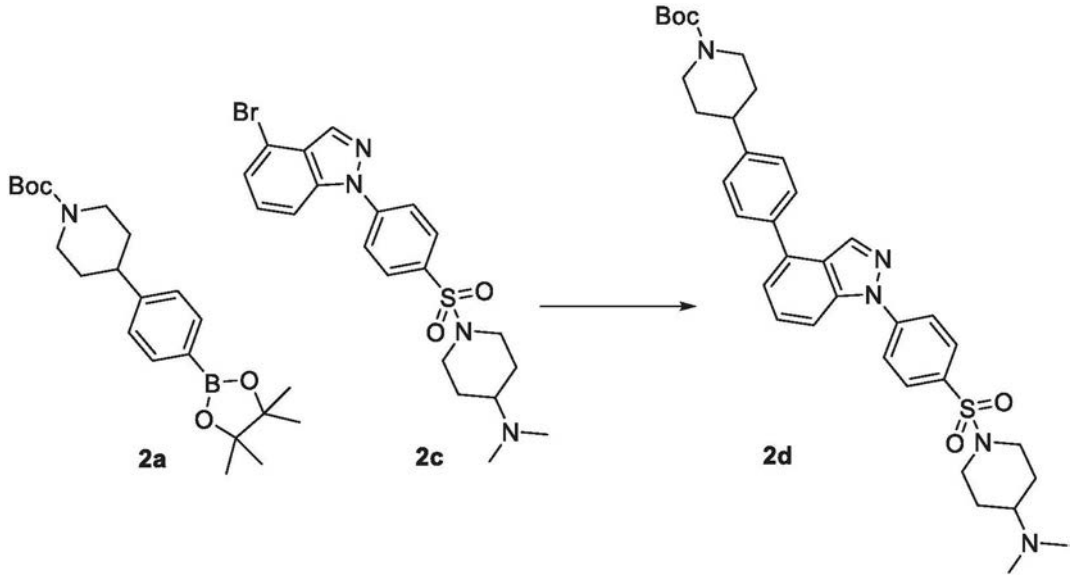
[1567]



[1568] 将1-((4-碘苯基)磺酰基)-N,N-二甲基哌啶-4-胺(2b)(550mg,1.255mmol)、4-溴-1H-吲唑(297mg,1.507mmol)和K_2CO_3(521mg,3.77mmol)于DMSO(10ml)中的混合物用N_2脱气,并添加L-脯氨酸(116mg,1.004mmol)和CuI(96mg,0.502mmol)。将所得混合物用N_2再次脱气并加热至105℃持续18小时。在冷却至室温后,向该混合物中添加10mL的NH_4Cl(水溶液),并用EtOAc(20mL×2)萃取。将合并的有机相用盐水(20mL)洗涤,经Na_2SO_4(无水)干燥,过滤并在减压下浓缩。经由制备型HPLC纯化残余物以得到呈白色固体的标题化合物(170mg,29.2%)。LC-MS:$[M+H]^+$=463.0;$[M+H+2]^+$=465.0。

[1569] 中间体4-(4-(1-(4-((4-(二甲基氨基)哌啶-1-基)磺酰基)苯基)-1H-吲唑-4-基)苯基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(2d)的制备:

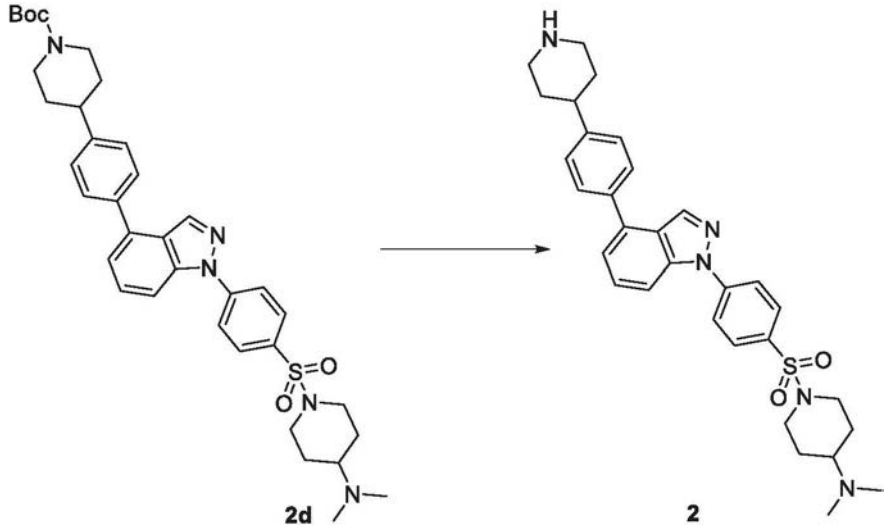
[1570]



[1571] 在N_2气氛下向4-(4-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)苯基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(2a)(251mg,0.647mmol)、1-((4-(4-溴-1H-吲唑-1-基)苯基)磺酰基)-N,N-二甲基哌啶-4-胺(2c)(200mg,0.432mmol)和K_2CO_3(179mg,1.295mmol)于二噁烷(8mL)和H_2O(1.6mL)的混合物中的混合物添加$PdCl_2$(dppf).CH_2Cl_2加合物(35.2mg,0.043mmol)。将反应混合物在微波下在100℃加热30分钟。在冷却至室温后,向该混合物中添加10mL的NH_4Cl(水溶液),并用EtOAc(20mL×2)萃取。将合并的有机相用盐水(20mL)洗涤,经Na_2SO_4(无水)干燥,过滤并在减压下浓缩。经由制备型HPLC纯化残余物以得到呈白色固体的标题化合物(120mg,43.2%)。LC-MS:$[M+H]^+$=644.3。

[1572] N,N-二甲基-1-((4-(4-(4-(哌啶-4-基)苯基)-1H-吲唑-1-基)苯基)磺酰基)哌啶-4-胺(2)的制备:

[1573]



[1574] 向4-(4-(1-(4-((4-(二甲基氨基)哌啶-1-基)磺酰基)苯基)-1H-吲唑-4-基)苯基)哌啶-1-甲酸叔丁酯(2d)(490mg,0.761mmol)于DCM(20mL)中的溶液添加1M的EtOAc中的HCl(10mL)。将混合物在40℃搅拌3小时。将混合物浓缩且真空干燥以得到标题化合物(486mg,96%)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO)δppm1.67-1.78(m,2H),1.87-2.15(m,6H),2.37(t,J=11.42Hz,2H),2.66(d,J=4.52Hz,6H),2.89-3.11(m,3H),3.19(br s.,1H),3.40(d,J=

12.55Hz,2H),3.85(d,J=11.54Hz,2H),7.44(d,J=7.78Hz,2H),7.66(t,J=7.91 Hz,1H),7.75(d,J=8.03Hz,2H),7.92-8.04(m,3H),8.13(d,J=8.53Hz,2H),8.56(s,1H)8.73-8.89(m,1H)10.52(brs,1H)。LC-MS:$[M+H]^+$=544.2。

[1575] 实例4-LSD1抑制剂的研究

[1576] CAR19慢病毒构建体的产生

[1577] 在实例中评估的CAR19构建体中使用的scFv基于抗CD19 scFV序列独立地合成(如WO2012/079000中所描述)。将scFV以轻链至重链方向、在具有连接VL和VH结构域的柔性接头的情况下与4-1BB分子和CD3ζ分子一起克隆到含有CD8铰链区的载体主链中。

[1578] 细胞系和细胞转导

[1579] 通过用来自用CAR19质粒DNA转染的293T细胞的慢病毒上清液离心接种(spinoculation)来转导人T细胞。

[1580] 癌细胞

[1581] 根据供应商的建议,从ATCC获得NALM6和K562细胞系并保持在培养基中。为了产生用于T细胞杀伤测定的生物发光模型,用荧光素酶慢病毒构建体转导所有细胞并保持在抗生素选择下。

[1582] 流式细胞术

[1583] 从体外培养物中分离细胞,在MACS+0.5%BSA缓冲液中洗涤一次,并使用生物素化的蛋白L在冰上染色,然后与荧光染料缀合的链霉抗生物素蛋白试剂或识别给定靶抗原的抗体一起孵育。在所有分析中,基于前向与侧向散射特征对感兴趣的群体进行门控,然后是单峰门控,并且对活细胞进行门控。在四激光Fortessa(贝迪公司(Becton-Dickinson))上进行流式细胞术。

[1584] 化合物处理

[1585] 在所有情况下,取决于化合物的溶解度,将化合物重悬于水(H_2O)或DMSO中。在所有情况下,在整个T细胞培养中添加化合物,并在测定前充分洗涤T细胞。所使用的化合物和浓度为5ng/mL IL-7和5ng/mL IL-15(重组蛋白;派普泰克公司(Peprotech))、5μM TWS119(也称为GSK3bi或GSK3β-i)(GSK3-β抑制剂;CAS号601514-19-6;开曼公司(Cayman))、1μM Akt I/IIi(也称为AKTi或AktI/II inh)(Akt抑制剂VIII,同工酶选择性,Akti-1/2;EMD密理博公司(EMD Millipore))、100nM LSD1i-GSK(GSK-LSD1抑制剂,CAS号1431368-48-7,西格玛公司(Sigma))、200nM LSDli-EMD(LSD1抑制剂IV,RN-1,HCl;EMD密理博公司)、100nM化合物A(LSD1抑制剂;诺华公司(Novartis))、100nM化合物B(LSD1抑制剂;诺华公司(Novartis))或100nM化合物C(LSD1抑制剂;诺华公司(Novartis))。在图中,“对照”是指未添加额外化合物的媒介物。IL7/IL15、TWS119和Akt I/Iii是本领域中已知用于扩增T_{SCM} T细胞的公开的化合物(IL7/IL15:Xu等人,Blood.[血液]2014;123(24):3750-9;AKTi:Crompton等人,Cancer Res.[癌症研究]2015;75(2):296-305,和van der Waart等人,Blood[血液],2014;124(23):3490-500;TWS119:Gattoni等人,Nature Medicine[自然医学],2011;17(10):1290-129)。

[1586] 杀伤测定

[1587] T细胞杀伤是针对稳定表达荧光素酶的表达CAR19的NALM6细胞系。未转导的细胞(UTD)和非靶向同种型对照scFV CART(IsoCAR)用于测定非特异性背景杀伤水平。CAR19的

细胞溶解活性被测量为10:1的效应子:靶细胞比例的滴定和T细胞向下稀释2倍,其中效应子被定义为总T细胞,并且通过添加UTD T细胞来标准化携带CAR的T细胞的百分比。通过将适当数量的T细胞与恒定数量的靶细胞混合来开始测定。在20小时后,使用EnVision仪器上的Bright-Glo™荧光素酶测定来测量荧光素酶信号。荧光素酶活性的丧失指示特异性杀伤。

[1588] 细胞因子分泌

[1589] T细胞杀伤是针对稳定表达荧光素酶的表达CAR19的NALM6细胞系。未转导的细胞(UTD)和非靶向同种型对照scFV CART(IsoCAR)用于测定非特异性背景细胞因子水平。将效应细胞和靶细胞以3:1的比例在含有10%FBS的RPMI中孵育18小时。根据制造商的说明书(英杰公司(Invitrogen))通过3-plex阵列分析上清液。

[1590] 增殖测定

[1591] 测试CAR19T细胞响应于暴露于靶细胞上的抗原而增殖的能力。靶细胞包括NALM6、Raji和K5624细胞。未转导的T细胞(UTD)和非靶向同种型对照scFVCART(IsoCAR)用作背景T细胞效应的非特异性对照。在测定当天(第0天),对靶细胞进行计数并在6mL的T细胞培养基中以3e6个细胞/ml转移至50ml管。将靶细胞以10,000rad在冰上照射。在照射后,将靶细胞在T细胞培养基中洗涤两次,计数,并在冰上在T细胞培养基中重悬至5e5个细胞/ml。

[1592] 将冷冻转导的T细胞解冻,在10mL完全T细胞培养基中洗涤,以300g离心10分钟,并在室温下轻轻重悬于3mL的完全T细胞培养基中。然后在细胞计数器中对T细胞进行计数,并在10mL培养基中重悬至2.5e6/mL。在96孔U-底板中,将25,000个照射的靶细胞和25,000个转导的CAR T细胞(1:1比例)在一式两份孔中合并。在单独的孔中,将75,000个抗CD3/CD28珠添加在100ul培养基中至25,000个转导的T细胞以产生1:3的细胞与珠比例作为阳性对照;在另一个孔中,将100μl培养基添加至仅25,000个转导的T细胞作为仅培养基对照。将细胞在37℃、5%CO2下孵育4天。

[1593] 在第4天,收获细胞并通过移液将复制品合并且转移到U-底板上的相同孔中,以使用蛋白L染色CD3和CAR的FACS。在染色后,将细胞重悬于120μlMACS+0.5%BSA缓冲液中,并将20μl/孔的countbright珠添加至每个孔。增殖被测量为在用于计数2500个珠的时间段内检测到的FACS阳性细胞的数量。

[1594] 结果

[1595] shRNA对LSD1的抑制促进T_{SCM}细胞的扩增

[1596] 将T细胞通过阴性选择分离并用抗CD3/CD28珠以3:1比例扩增10天。在第1天,将T细胞用含有LSD1 shRNA靶向序列的慢病毒表达载体转导,这些载体共表达荧光蛋白mCherry。在扩增后,通过流式细胞术评估mCherry+ T细胞的T细胞表型。相对于具有乱序shRNA序列的对照,LSD1抑制显著增强了CD8+(图1)和CD4+(图2)T细胞中初始细胞(Tn)和干细胞样记忆细胞(T_{SCM})的百分比。

[1597] 图1中示出CD8+ T细胞的结果。当CD8+ T细胞正常扩增时,大约10%的所得T细胞对T_{SCM}表型呈阳性(CD45RA+CD62L+CCR7+CD27+CD95+)。相比之下,当用针对LSD1 1A、1B或2的编码shRNA分子的DNA转染CD8+ T细胞时,所得T细胞群体富含T_{SCM}(例如,CD45RA+CD62L+CCR7+CD27+CD95+),其中近50%的细胞具有T_{SCM}(例如,CD45RA+CD62L+CCR7+CD27+CD95+)表型。

[1598] 图2中示出CD4+ T细胞的结果。当CD4+ T细胞正常扩增时,少于2%的所得T细胞对

T_{SCM}表型呈阳性(CD45RA+CD62L+CCR7+CD27+CD95+)。相比之下,当用针对LSD1 1A、1B或2的编码shRNA分子的DNA转染CD4+ T细胞时,所得T细胞群体富含T_{SCM}(例如,CD45RA+CD62L+CCR7+CD27+CD95+),其中在shRNA 1B的情况下最多20%的T细胞具有T_{SCM}(例如,CD45RA+CD62L+CCR7+CD27+CD95+)表型。

[1599] 表4

[1600]

名称	SEQ ID NO:	编码 shRNA 的序列
乱序 1	123	GCCGGCAGCTAGCGACGCCATCTCGAGATGGCGTCGCTAGCTGCCGGCTTTTTTGA
乱序 2	124	CCTAAGGTTAAGTCGCCCTCGCTCGAGCGAGGGCGACTTAACCTTAGGTTTTTTGA
LSD1 1A	125	CGGTTGCTAGAAGCTACATCTGTTAATATTCATAGCAGATGTAGCTTCTAGCAACCGTTTTTTGA
LSD1 1B	126	CGGTTGCTAGAAGTTACATTTGTTAATATTCATAGCAGATGTAGCTTCTAGCAACCGTTTTTTGA
LSD1 2	127	CAGAAGGCCTAGACATTAAACCTCGAGGTTTAATGTCTAGGCCTTCTGTTTTTTGA
LSD1 3A	128	GCCACATTTCGCAAAGGAAACGTTAATATTCATAGCGTTTCCTTTGCGAAATGTGGCTTTTTTGA
LSD1 3B	129	GCCACATTTCGTAAAGGAAATGTTAATATTCATAGCGTTTCCTTTGCGAAATGTGGCTTTTTTGA
LSD1 4	130	CGGACAAGCTGTTCCTAAAGACTCGAGTCTTTAGGAACAGCTTGTCCGTTTTTTGA
LSD1 6A	131	CGAGTTGCCACATTTCGCAAAGTTAATATTCATAGCTTTGCGAAATGTGGCAACTCGTTTTTTGA

[1601]

[1602] 小分子对LSD1的抑制促进T_{SCM}细胞的扩增

[1603] 评估了所指示化合物产生给定表型的T细胞的能力。将初始人T细胞通过阴性选择分离并在所指示化合物存在下用抗CD3/CD28珠以3:1比例扩增10天。化合物每2天更新一次。在扩增后,通过FACS染色测定T细胞表型。相对于对照和相对于本领域种认为影响T_{SCM}增殖的其他分子,LSD1抑制显著增强T_{SCM}细胞的百分比并限制CD4+(图3A)和CD8+(图3B)T细胞中T_{EM}细胞的百分比。

[1604] 小分子对LSD1的抑制促进T_{SCM}与T_{EM} T细胞的优异比例

[1605] 评估了所指示化合物产生给定表型的T细胞的能力。将初始人T细胞通过阴性选择分离并在所指示化合物存在下用抗CD3/CD28珠以3:1比例扩增10天。化合物每2天更新一次。在扩增后,通过FACS染色测定T细胞表型。相对于对照和相对于本领域中认为影响T_{SCM}增殖的其他分子,LSD1抑制促进T_{SCM}与T_{EM}的比例,这与CD4+(图4A)和CD8+(图4B)T细胞的优异T功能性一致。

[1606] 在LSD1抑制存在下T细胞的扩增

[1607] 评估了T细胞在所指示化合物存在下扩增的能力。将初始人T细胞通过阴性选择分离并在所指示化合物存在下用抗CD3/CD28珠以3:1比例扩增10天。化合物每2天更新一次。在扩增后,对T细胞数量进行计数,并评估相对于第1天的倍数扩增。相对于对照和相对于本领域中认为影响T_{SCM}增殖的其他分子,LSD1抑制不显著损害T细胞扩增(图5)。

[1608] T细胞中检查点受体的表达

[1609] 不受理论束缚，据信多种检查点受体的共表达与T细胞功能障碍相关。评估了所指示化合物降低T细胞上检查点受体的表达的能力。将初始人T细胞通过阴性选择分离并在所指示化合物存在下用抗CD3/CD28珠以3:1比例扩增10天。化合物每2天更新一次。在扩增后，通过FACS染色测定T细胞表型。相对于对照，LSD1抑制降低T细胞上PD1、Tim3和LAG3的共表达(图6)。

[1610] LSD1抑制对CART19细胞表达没有影响

[1611] 将总人T细胞通过阴性选择分离并在所指示化合物存在下用抗CD3/CD28珠以3:1比例扩增10天。化合物每2天更新一次。在扩增后，通过用蛋白L的FACS染色测定CAR19表达。LSD1抑制对CAR19表达没有影响(图7)。

[1612] LSD1抑制对CD8+和CD4+ T细胞比例没有影响

[1613] 将总人T细胞通过阴性选择分离并在所指示化合物存在下用抗CD3/CD28珠以3:1比例扩增10天。化合物每2天更新一次。在扩增后，通过流式细胞术测定CD4+和CD8+ T细胞的百分比。在未转导的对照(UTD)或CAR19转导的T细胞中，LSD1抑制对CD4+和CD8+ T细胞的百分比没有影响(图8)。

[1614] LSD1抑制对CART19细胞的扩增没有影响

[1615] 将总人T细胞通过阴性选择分离并在所指示化合物存在下用抗CD3/CD28珠以3:1比例扩增10天。化合物每2天更新一次。在扩增后，对T细胞数量进行计数，并评估相对于第1天的倍数扩增。CAR19 T细胞能够在LSD1抑制剂存在下离体扩增，从而表明LSD1抑制不会显著损害未转导的对照(UTD)或CAR19转导的T细胞中的T细胞扩增(图9)。

[1616] LSD1抑制增强来自CART19的细胞因子产生

[1617] 将T细胞通过阴性选择分离并在所指示化合物存在下或无处理的情况下(对照)用抗CD3/CD28珠以3:1比例扩增10天。在第1天用抗CD19 scFV转导T细胞。在功能测定之前，每2天更新化合物直至第10天被洗掉，然后将T细胞冷冻。将T细胞解冻并与NALM6细胞一起孵育20小时。收获上清液并通过细胞因子珠阵列进行分析。LSD1抑制显著增强来自CAR19 T细胞的细胞因子产生(图10)。

[1618] LSD1抑制增强CART19细胞的增殖

[1619] 将T细胞通过阴性选择分离并在所指示化合物存在下或无处理的情况下(对照)用抗CD3/CD28珠以3:1比例扩增10天。在第1天用抗CD19 scFV转导T细胞。在功能测定之前，每2天更新化合物直至第10天被洗掉，然后将T细胞冷冻。然后将T细胞解冻并与CD19+肿瘤细胞系NALM6和Raji以及CD19-肿瘤细胞系K562混合。照射肿瘤细胞，并且将T细胞和肿瘤细胞以1:1的比例混合。在孵育后第4天，使用蛋白L将T细胞进行CAR染色，并使用countbright珠通过FACS测定CAR+ T细胞数量。增殖被测量为在用于计数2500个珠的时间段内检测到的FACS阳性细胞的数量。数据表示为无靶标对照(K562)的倍数。LSD1抑制增强针对CD19+肿瘤靶标的CAR19 T细胞的增殖能力(图11)。

[1620] LSD1抑制对CART19细胞的杀伤能力的影响

[1621] 将T细胞通过阴性选择分离并在所指示化合物存在下或无处理的情况下(对照)用抗CD3/CD28珠以3:1比例扩增10天。在第1天用抗CD19 scFV转导T细胞。在功能测定之前，每2天更新化合物直至第10天被洗掉，然后将T细胞冷冻。将T细胞解冻并与指示的荧光化细胞

系靶标一起孵育20小时。通过分析剩余的荧光素酶活性来确定杀伤百分比。这些数据表明LSD1抑制可以在低E:T比例下提高CAR19 T细胞的杀伤能力,但在较高E:T比例下对杀伤能力没有显著影响(图12)

[1622] LSD1的抑制增强CART19细胞在体内的功效

[1623] 将T细胞通过阴性选择分离并在所指示化合物存在下或无处理的情况下(对照)用抗CD3/CD28珠以3:1比例扩增10天。在第1天用抗CD19 scFV转导T细胞。在功能测定之前,每2天更新化合物直至第10天被洗掉,然后将T细胞冷冻。将T细胞解冻并一次注射到具有已确立的荧光化NALM6肿瘤的小鼠中。所指示的剂量代表注射的总CAR+细胞的数量。这些数据表明,体外扩增过程期间LSD1的抑制可以显著增强CAR19 T细胞在体内的抗肿瘤效应功能(图13)。

[1624] 多种LSD1抑制剂促进T_{SCM}细胞的扩增

[1625] 将T细胞通过阴性选择分离并在所指示化合物存在下或无处理的情况下(对照)用抗CD3/CD28珠以3:1比例扩增10天。化合物每2天更新一次。在扩增后,通过流式细胞术测定T细胞表型。相对于对照,使用多种抑制剂的LSD1抑制可以显著增强CD4+(图14A)和CD8+(图14B)T细胞中T_{SCM}细胞的百分比。

[1626] t细胞中检查点受体的表达

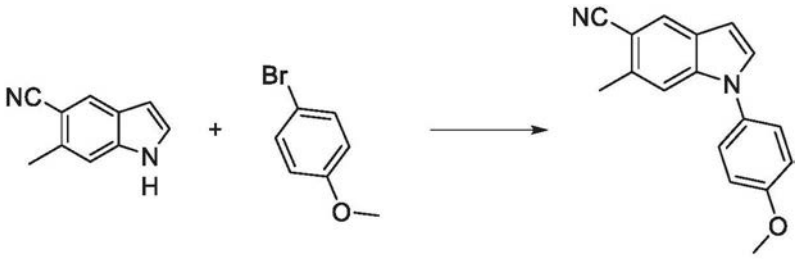
[1627] 将T细胞通过阴性选择分离并在所指示化合物存在下或无处理的情况下(对照)用抗CD3/CD28珠以3:1比例扩增10天。化合物每2天更新一次。在扩增后,通过流式细胞术测定T细胞检查点受体表达。相对于对照,多种LSD1抑制剂可以降低CD4+(图15A)和CD8+(图15B)T细胞上PD1、Tim3和LAG3的共表达。

[1628] 实例5

[1629] 化合物65("实例65");在本文也称为"NVS化合物2"

[1630] 3-(3-氨基-2-甲基苯基)-1-(4-甲氧基苯基)-6-甲基-1H-吲哚-5-甲腈

[1631] 中间体65.1:1-(4-甲氧基苯基)-6-甲基-1H-吲哚-5-甲腈

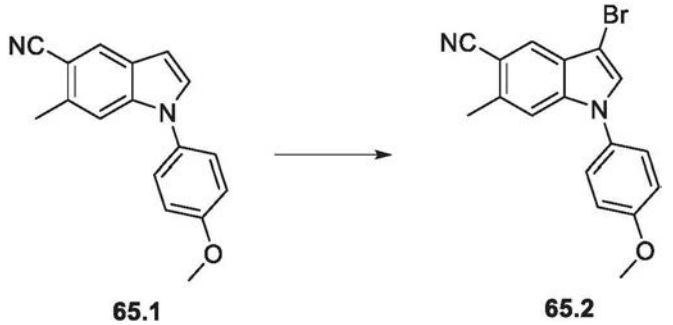
[1632] 

65.1

[1633] 将6-甲基-1H-吲哚-5-甲腈(1g,6.403mmol)、1-溴-4-甲氧基苯(1.8g,9.605mmol)、1,10-菲咯啉(461mg,2.561mmol)、Cu_2O(183mg,1.281mmol)和19.2mL 1N的TBAF在THF中的溶液的混合物在真空下浓缩以除去溶剂。然后将残余物在N_2气氛下加热至150℃持续6.5小时。然后将混合物冷却并用水和EA稀释,并且过滤以除去无机固体。分离滤液,并用EA萃取水层两次。将合并的有机层经无水Na_2SO_4干燥,过滤并浓缩以得到粗产物,将该粗产物通过硅胶上柱色谱法(洗脱液:PE/EA=10:1至8:1)纯化以得到呈白色固体的标题化合物(486mg,29%)。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δppm 7.99(s,1H),7.45-7.34(m,2H),7.32(d,1H),7.29(s,1H),7.13-7.02(m,2H),6.68(d,1H),3.92(s,3H),2.62(s,3H)。LC-MS:$[M+H]^+$=263.2。

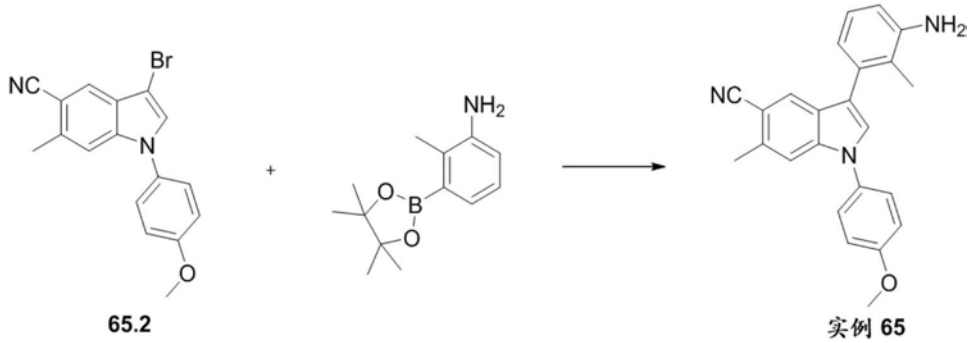
[1634] 中间体65.2:3-溴-1-(4-甲氧基苯基)-6-甲基-1H-吲哚-5-甲腈

[1635]



[1636] 在20℃下,向化合物65.1(485mg,1.849mmol)于DMF(10mL)中的溶液分批添加NBS(362mg,2.034mmol)。在添加后,将溶液在室温下搅拌1小时。然后将反应混合物用水稀释并用EA萃取3次。合并有机层且用盐水洗涤3次。将其经无水Na_2SO_4干燥,过滤并浓缩以得到粗产物,将该粗产物通过硅胶上快速柱色谱法(洗脱液:PE/EA,EA%=8%)纯化以得到呈固体的标题化合物(526mg,83%)。^{1}H NMR(400MHz,$CDCl_3$)δppm 7.94(s,1H),7.38-7.33(m,3H),7.29(s,1H),7.10-7.04(m,2H),3.92(s,3H),2.62(s,3H)。LC-MS:$[M+H]^+$=341.3,343.3。

[1637]



[1638] 向化合物65.2(500mg,1.465mmol)和2-甲基-3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)苯胺(444mg,1.905mmol)于i-PrOH/H_2O(30mL,10:1)的共溶剂中的混合物添加2N Na_2CO_3水溶液(4.4mL,8.8mmol)和$Pd(PPh_3)_2Cl_2$(82mg,0.117mmol)。将混合物在N_2气氛下在100℃搅拌1.5小时。然后将反应混合物用盐水稀释并用EA萃取三次。将合并的有机相经无水Na_2SO_4干燥,过滤,浓缩以得到粗产物,将该粗产物通过硅胶上柱色谱法(洗脱液:PE/EA=4:1至3:1)纯化以得到500mg粗产物。通过制备型HPLC(0.1%$NH_3.H_2O$/ACN/H_2O)纯化300mg粗产物并冻干以得到呈白色固体的标题化合物(125mg,39%)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δppm 7.74(s,1H),7.68(s,1H),7.62-7.54(m,2H),7.49(s,1H),7.22-7.13(m,2H),6.99(t,1H),6.74-6.67(m,1H),6.66-6.60(m,1H),4.94(s,2H),3.86(s,3H),2.55(s,3H),2.04(s,3H)。LC-MS:$[M+H]^+$=368.2。

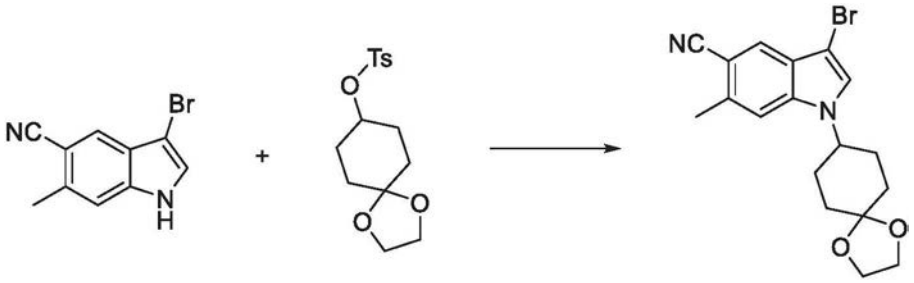
[1639] 实例6

[1640] 化合物93("实例93");在本文也称为"NVS化合物1"

[1641] 反式-3-(3-氨基-2-甲基苯基)-1-(4-羟基环己基)-6-甲基-1H-吲哚-5-甲腈

[1642] 中间体93.1:3-溴-6-甲基-1-(1,4-二氧杂螺[4.5]癸-8-基)-1H-吲哚-5-甲腈

[1643]

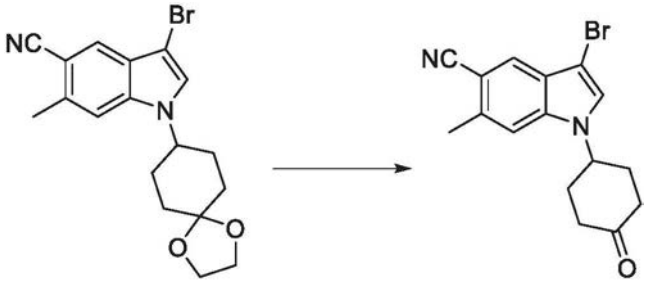


4 74.1 93.1

[1644] 将化合物74.1(960mg,3.07mmol)、化合物4(415mg,1.77mmol)和Cs_2CO_3(1.73g,5.31mmol)于DMF(10mL)中的混合物加热至100℃过夜。然后将其用水稀释并用EA萃取三次。将合并的有机相用盐水洗涤并且经Na_2SO_4干燥,过滤并浓缩以得到粗产物,将该粗产物通过硅胶上快速柱色谱法(洗脱液:PE/EA,EA%=10%至20%)纯化以得到呈白色固体的标题化合物(726mg),纯度为80%。^{1}H NMR(300MHz,$CDCl_3$)δppm 7.84(s,1H),7.29(s,1H),7.26(s,1H),4.35-4.20(m,1H),4.00(s,4H),2.66(s,3H),2.06(dd,4H),1.93(d,2H),1.84-1.76(m,2H)。LC-MS:$[M+H]^+$=375.29,377.24。

[1645] 中间体93.2:3-溴-6-甲基-1-(4-氧代环己基)-1H-吲哚-5-甲腈

[1646]

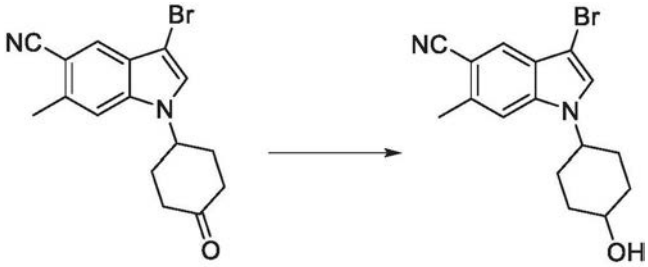


93.1 93.2

[1647] 将化合物93.1(480mg,1.28mmol)于AcOH(7.5mL)和H_2O(1.5mL)的共溶剂中的混合物加热至60℃持续3.5小时。在冷却至室温后,添加10mL水。沉淀出大量固体,将固体过滤并用水洗涤以得到呈白色固体的标题化合物(357mg,84%)。^{1}H NMR(300MHz,$CDCl_3$)δppm 7.87(s,1H),7.30(s,1H),7.24(s,1H),4.73(m,1H),2.67(s,3H),2.65-2.60(m,4H),2.46-2.39(m,2H),2.20(dd,2H)。LC-MS:$[M+H]^+$=331.2。

[1648] 中间体93.3:3-溴-1-(4-羟基环己基)-6-甲基-1H-吲哚-5-甲腈

[1649]

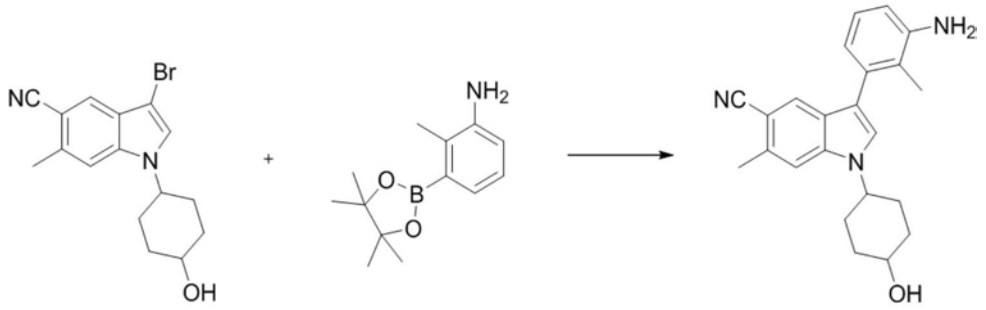


93.2 93.3

[1650] 在室温下,向化合物93.2(340mg,1.03mmol)于甲醇(10mL)中的混合物分几批添加$NaBH_4$(156mg,4.1mmol)。混合物逐渐变得澄清,并在室温下搅拌1小时。在真空下除去溶剂,并且将残余物溶解于EA中,并用盐水洗涤两次。将有机层经Na_2SO_4干燥,过滤并浓缩以得到呈白色固体的标题化合物(345mg)。^{1}H NMR(300MHz,$CDCl_3$)δppm 7.85(s,1H),7.23(s,2H),

4.22(m,1H),3.78(m,1H),2.66(s,3H),2.16(t,4H),1.80(d,2H),1.64(s,2H)。LC-MS:$[M+H]^+$=333.2,335.3。

[1651]



93.3 实例93

[1652] 向化合物93.3(200mg,0.6mmol)和2-甲基-3-(4,4,5,5-四甲基-1,3,2-二氧杂环戊硼烷-2-基)苯胺(168mg,0.72mmol)于i-PrOH/H_2O(6mL,10:1)的共溶剂中的混合物中添加2N Na_2CO_3水溶液(1.8mL,3.6mmol)和$Pd(PPh_3)_2Cl_2$(42mg,0.06mmol)。通过微波反应器将混合物在N_2气氛下在100℃搅拌30分钟。将反应混合物用水稀释并用EA萃取三次。将合并的有机相用盐水洗涤且经Na_2SO_4干燥,浓缩并通过硅胶上柱色谱法(PE:EA=10:1至2:1)纯化以得到含有Ph_3P=O的粗产物。将粗产物通过制备型HPLC(0.1%TFA/ACN/H_2O)纯化并冻干以得到呈粉红色固体的标题化合物(73.2mg,34%)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δppm 7.76(s,1H),7.69(d,1H),7.64(s,1H),7.21(t,1H),7.07(d,2H),4.47(d,2H),3.84(s,1H),3.58(t,2H),2.59(s,3H),2.13(d,3H),1.94(t,6H),1.53-1.44(m,2H)。LC-MS:$[M+H]^+$=360.3。

[1653] 实例7

[1654] 为了测试LSD1抑制对T细胞上检查点蛋白表达的影响,将人T细胞通过阴性选择分离并在所指示化合物存在下用抗CD3/CD28珠以3:1比例扩增7天。化合物每2天更新一次。在7天扩增后,将细胞用针对CD4、CD8、PD1、Lag3和Tim3的抗体染色并通过流式细胞术进行分析。分析包括评估单独每种蛋白质的表达(图16,左图)或PD1和Lag3(PD1+Lag3+)或PD1、Lag3和Tim3(PD1+Lag3+Tim3+)的同时表达(图16,右图)。不受理论束缚,检查点标志物的表达并且尤其是多种检查点标志物的共表达被认为指示耗竭更多且多功能更少的T细胞。数据表明,相对于对照,LSD1抑制剂可以降低T细胞上单独Tim3的表达、或PD1和Lag3的共表达、或PD1、Tim3和LAG3的共表达。(图16,左图和右图)。

[1655] 接下来,在存在或不存在LSD1抑制剂的情况下,响应于T细胞的培养评估检查点标志物表达以及CD4+或CD8+ T细胞群体中Tscm T细胞的分数。简言之,将T细胞通过阴性选择分离并在所指示剂量的所指示化合物存在下或无处理的情况下(对照)以3:1比例用抗CD3/CD28珠扩增10天。在添加珠后第二天添加化合物,并且每2天更新。在扩增后,使用针对CD4、CD8、CD45RA、CD62L、CCR7、CD27和CD95的抗体通过流式细胞术在CD4+和CD8+ T细胞亚群中测定T_{SCM}细胞的百分比。这些数据表明,相对于对照,LSD1抑制(用来自多种分子类别的多种LSD1抑制剂中的任一种)可以显著增强CD4+(图17,左图)和CD8+(图17,右图)T细胞中T_{SCM}细胞的百分比。同样,在扩增后,使用针对CD4、CD8、Tim3、Lag3和PD1的抗体通过流式细胞术在CD4+和CD8+ T细胞亚群中测定T细胞检查点受体表达。这些数据表明,LSD1抑制(来自多种分子类别的多种LSD1抑制剂中的任何一种)可以显着降低CD4+ T细胞(图18,左图)和CD8+上的PD1,Tim3和Lag3的共表达(图18,右图)相对于对照的T细胞。

[1656] 前述书面说明书被认为足以使本领域技术人员能够实施本发明。本发明的范围不

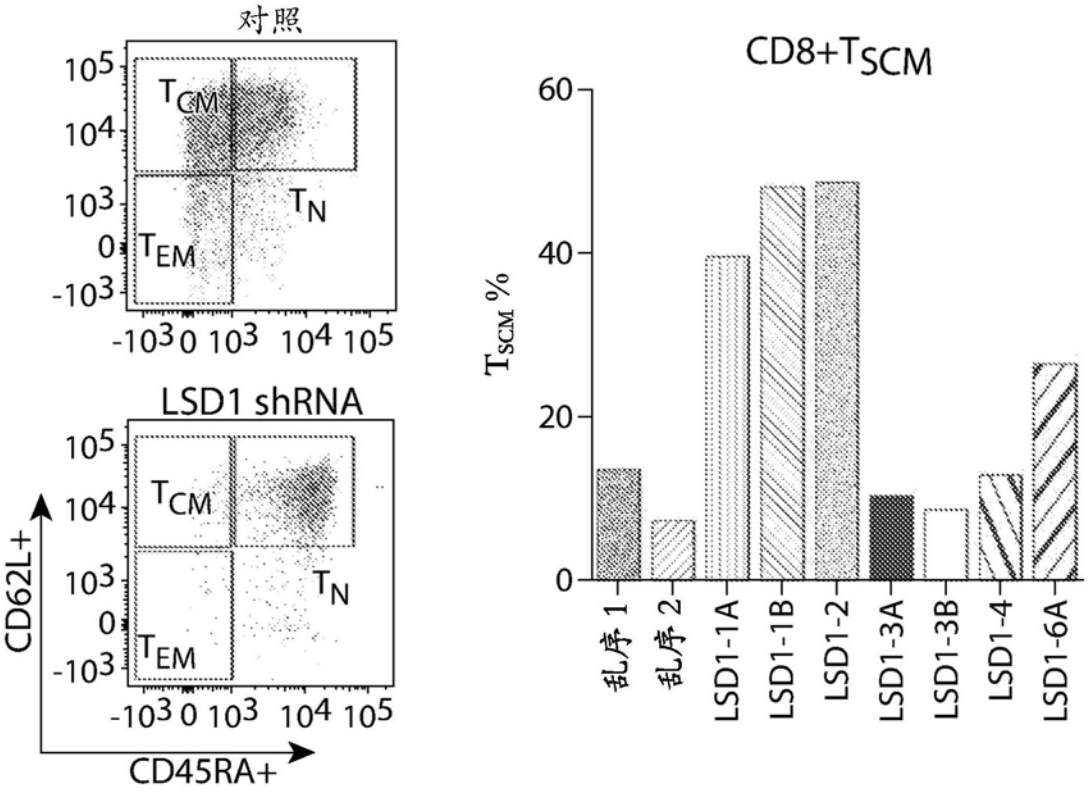
受所保藏的构建体的限制，因为所保藏的实施例仅意图说明本发明的某些方面，并且任何功能等效的构建体都在本发明的范围之内。本文中材料的保藏并不构成承认本文所包含的书面描述不足以实现本发明的任何方面(包括其最佳模式)的实践，也不应被解释为限制权利要求书的范围。事实上，除了本文示出和描述的那些之外，本发明的各种修改将通过前述描述对于本领域技术人员变得清楚并且处于所附权利要求的范围内。

[1657] 应当理解，根据本文所包含的传授内容，将本发明的传授内容应用于特定问题或情况将在本领域普通技术人员的能力范围内。

[1658] 本说明书中每一个引用的披露内容通过引用明确地并入本文。

[1659] 等效物

[1660] 本文所引用的每一个专利、专利申请和出版物的披露内容特此通过引用以其全文并入本文。虽然已经参照具体方面披露了本发明，但是本领域其他技术人员可以在不偏离本发明的真实精神以及范围的情况下设想本发明的其他方面以及变化。所附权利要求旨在理解为包括所有这类方面以及等效变化。



T_N=CD45RA+CD62L+
T_{SCM}=CD45RA+CD62L+CCR7+CD27+CD95+

图1

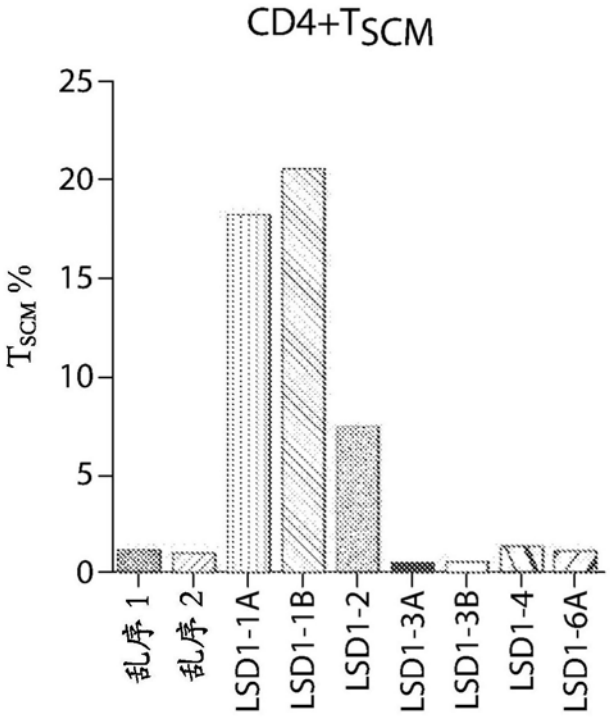

CD4+TSCM
TSCM %
25
20
15
10
5
0
乱序 1
乱序 2
LSD1-1A
LSD1-1B
LSD1-2
LSD1-3A
LSD1-3B
LSD1-4
LSD1-6A

图2

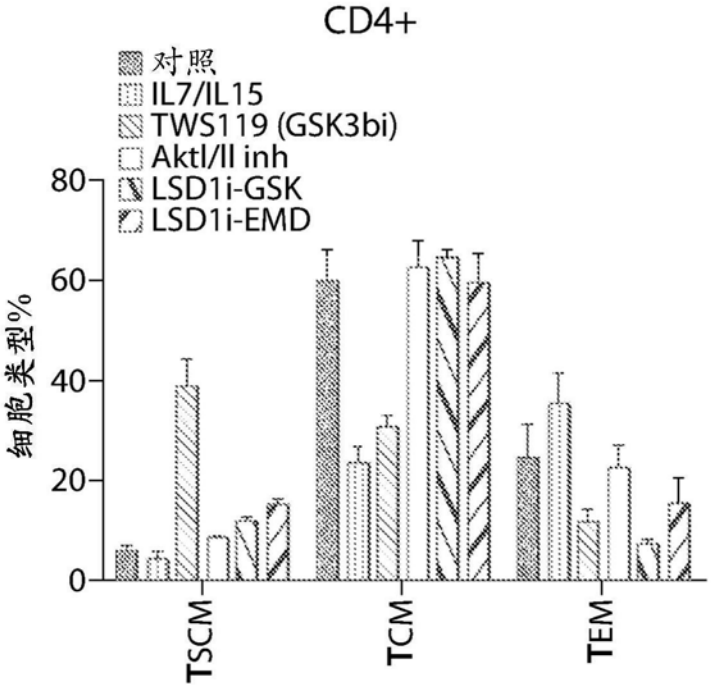

CD4+
对照
IL7/IL15
TWS119 (GSK3bi)
Aktl/ll inh
LSD1i-GSK
LSD1i-EMD
细胞类型%
80
60
40
20
0
TSCM
TCM
TEM

图3A

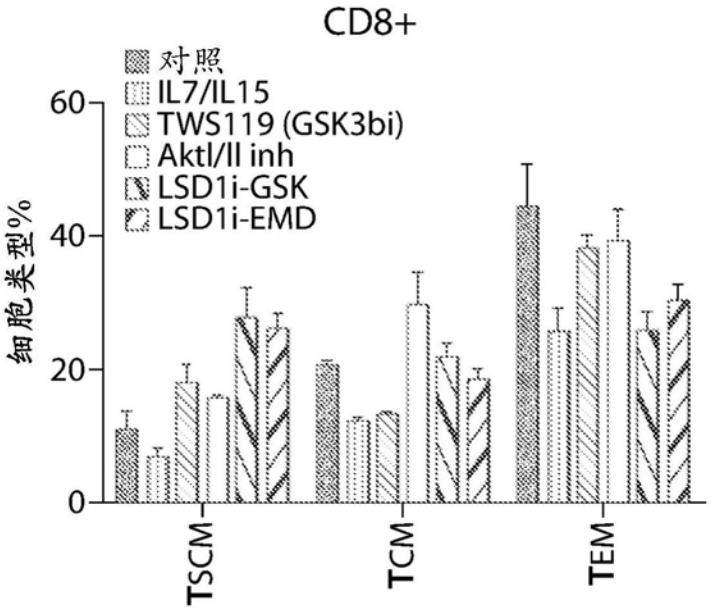

CD8+
对照
IL7/IL15
TWS119 (GSK3bi)
Aktl/ll inh
LSD1i-GSK
LSD1i-EMD
细胞类型%
60
40
20
0
TSCM
TCM
TEM

图3B

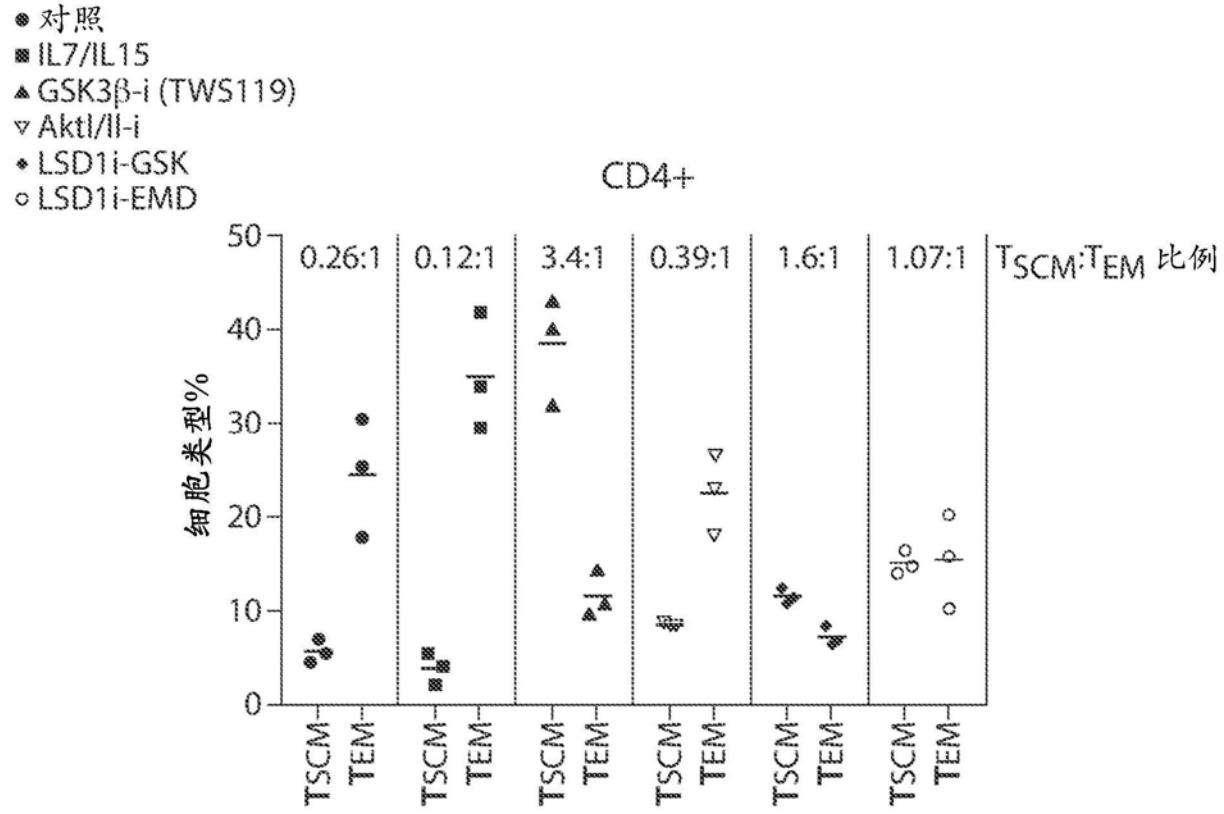

对照
IL7/IL15
GSK3β-i (TWS119)
Aktl/ll-i
LSD1i-GSK
LSD1i-EMD
CD4+
细胞类型%
50
40
30
20
10
0
0.26:1
0.12:1
3.4:1
0.39:1
1.6:1
1.07:1
TSCM:TEM 比例
TSCM
TEM

图4A

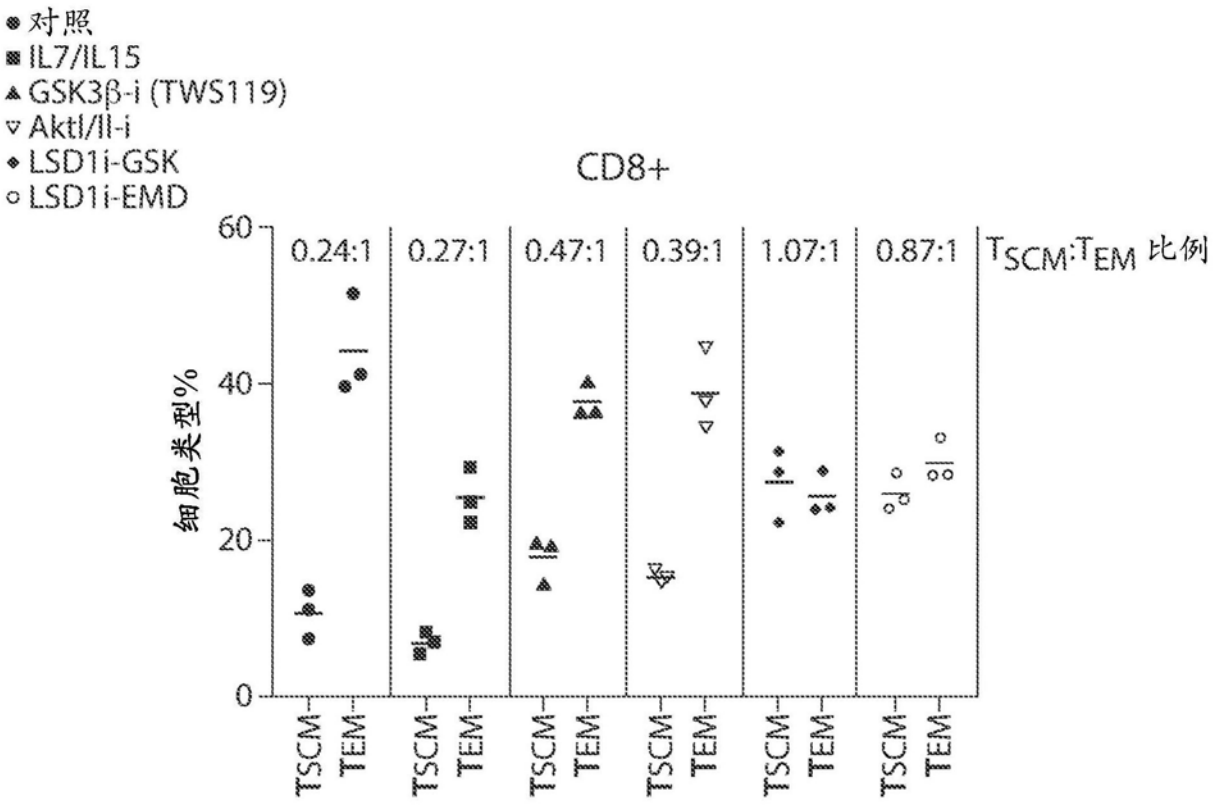

对照
IL7/IL15
GSK3β-i (TWS119)
Aktl/Il-i
LSD1i-GSK
LSD1i-EMD
CD8+
细胞类型%
60
40
20
0
0.24:1
0.27:1
0.47:1
0.39:1
1.07:1
0.87:1
TSCM:TEM 比例
TSCM
TEM

图4B

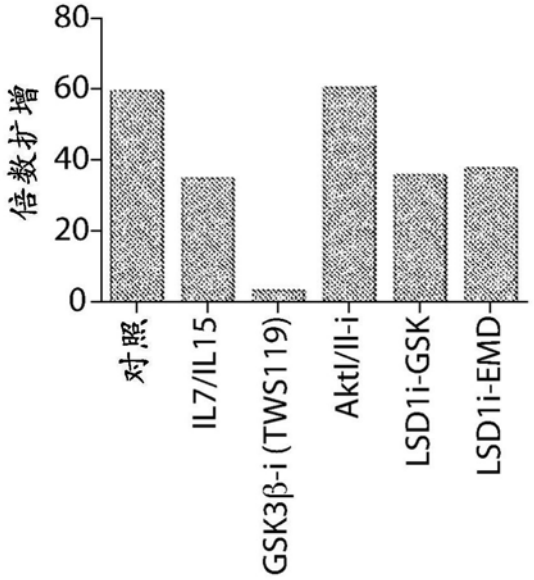

倍数扩增
80
60
40
20
0
对照
IL7/IL15
GSK3β-i (TWS119)
Aktl/Il-i
LSD1i-GSK
LSD1i-EMD

图5

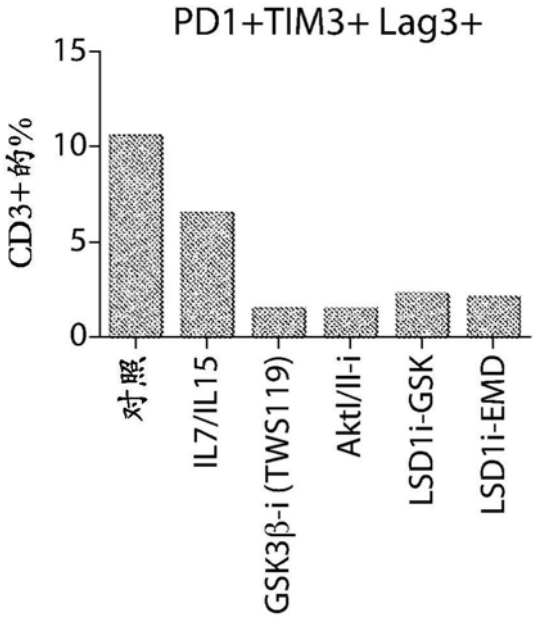

PD1+TIM3+ Lag3+
CD3+的%
15
10
5
0
对照
IL7/IL15
GSK3β-i (TWS119)
Aktl/Il-i
LSD1i-GSK
LSD1i-EMD

图6

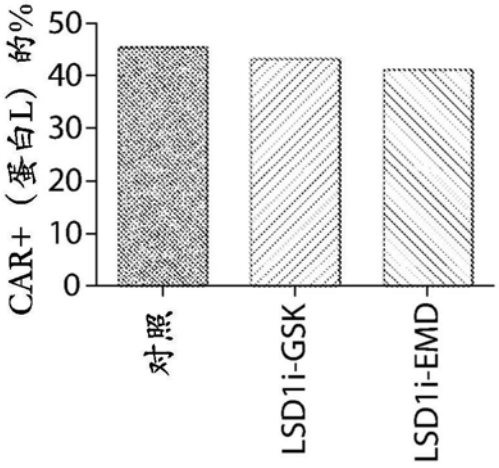

CAR+（蛋白L）的%
50
40
30
20
10
0
对照
LSD1i-GSK
LSD1i-EMD

图7

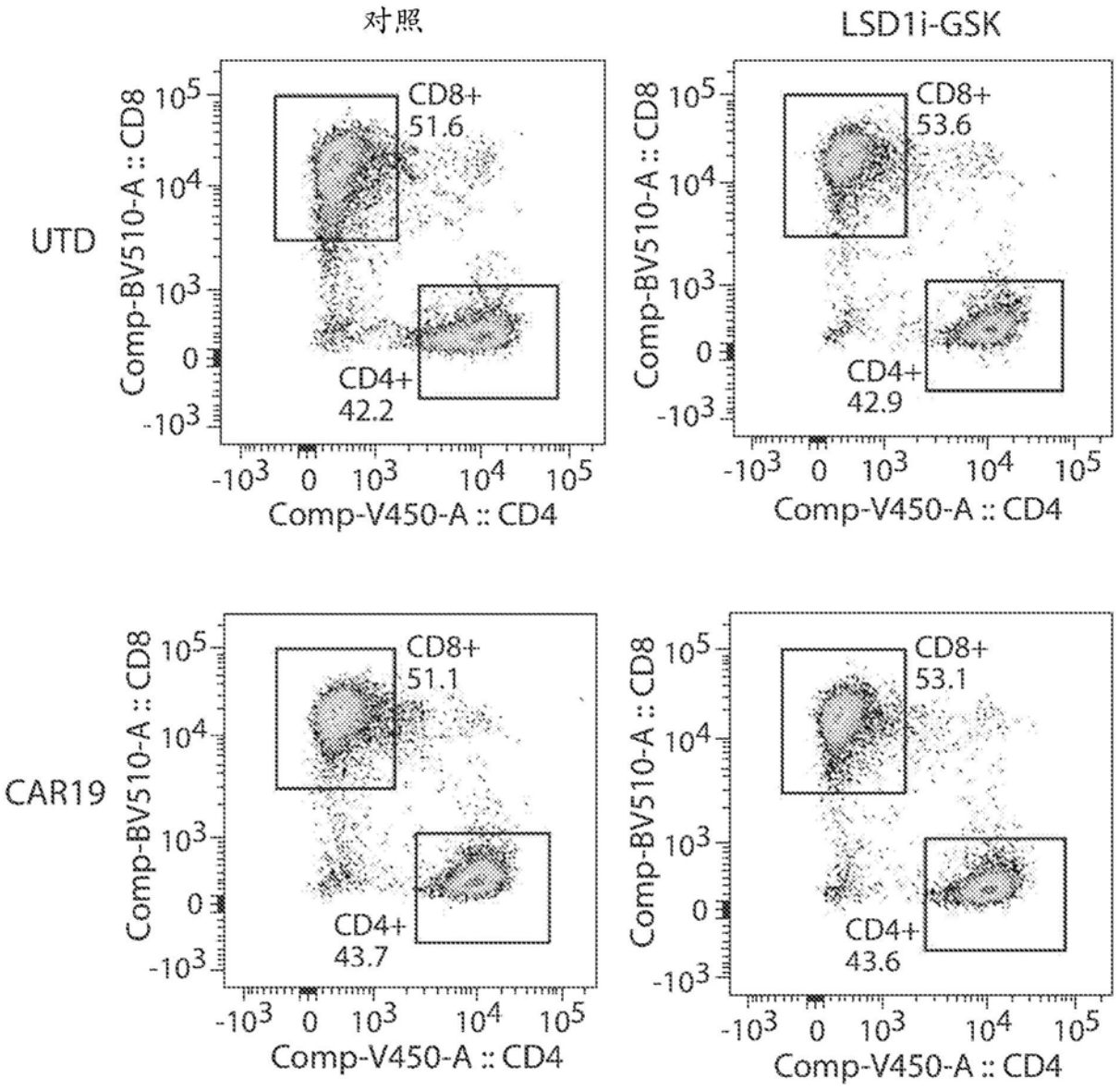

对照
LSD1i-GSK
UTD
CAR19
CD8+
51.6
CD4+
42.2
CD8+
53.6
CD4+
42.9
CD8+
51.1
CD4+
43.7
CD8+
53.1
CD4+
43.6
Comp-BV510-A :: CD8
Comp-V450-A :: CD4

图8

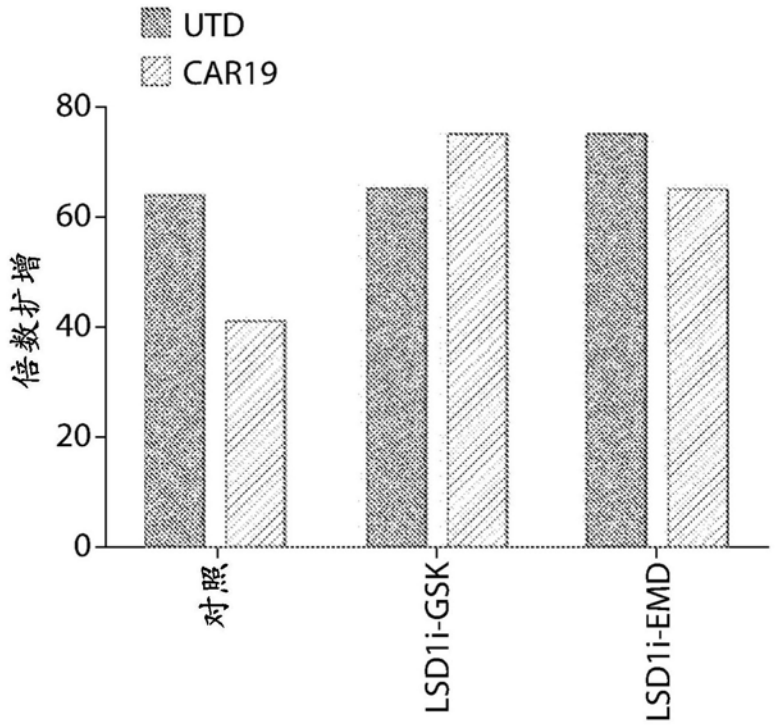


图9

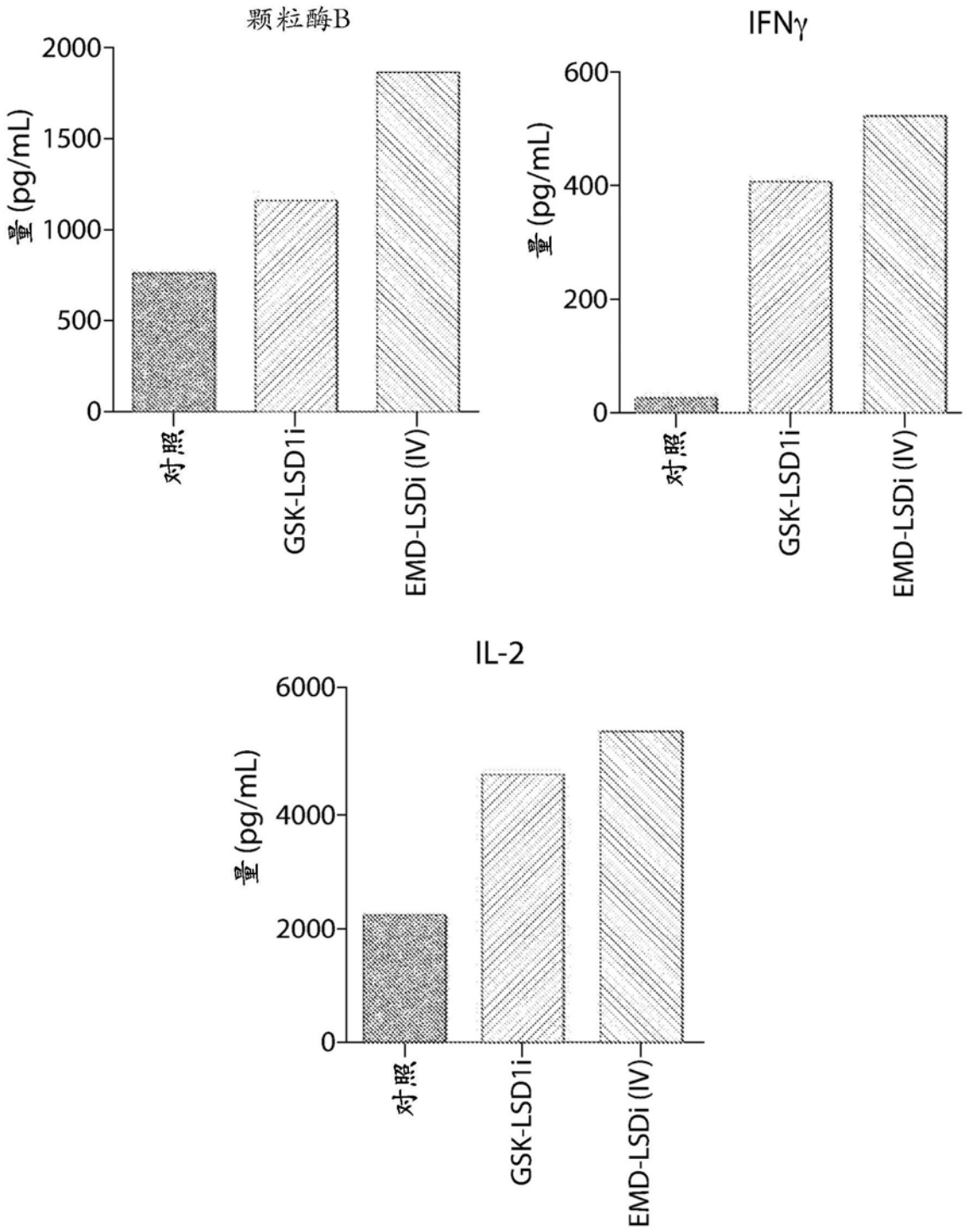
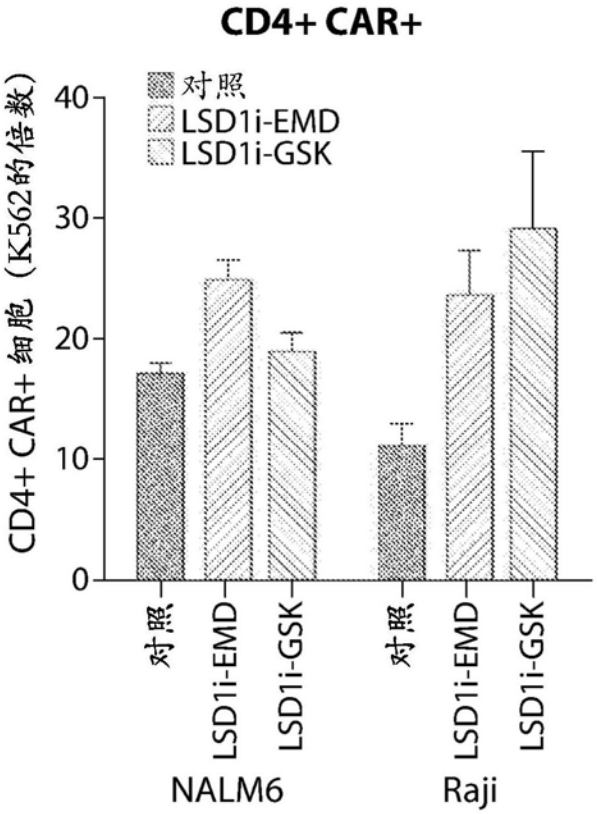

颗粒酶B
量 (pg/mL)
2000
1500
1000
500
0
对照
GSK-LSD1i
EMD-LSDi (IV)
IFNγ
量 (pg/mL)
600
400
200
0
对照
GSK-LSD1i
EMD-LSDi (IV)
IL-2
量 (pg/mL)
6000
4000
2000
0
对照
GSK-LSD1i
EMD-LSDi (IV)

图10


CD4+ CAR+
对照
LSD1i-EMD
LSD1i-GSK
CD4+ CAR+ 细胞（K562的倍数）
40
30
20
10
0
对照
LSD1i-EMD
LSD1i-GSK
对照
LSD1i-EMD
LSD1i-GSK
NALM6
Raji

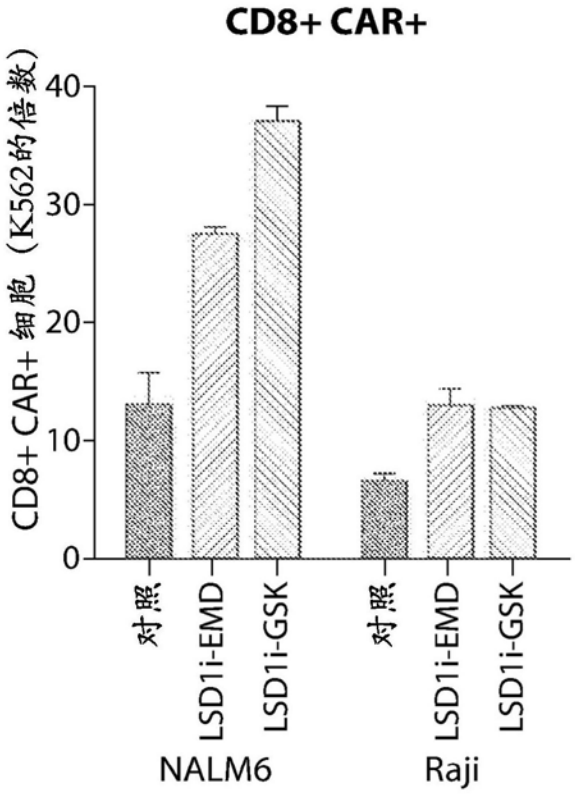

CD8+ CAR+
CD8+ CAR+ 细胞（K562的倍数）
40
30
20
10
0
对照
LSD1i-EMD
LSD1i-GSK
对照
LSD1i-EMD
LSD1i-GSK
NALM6
Raji

图11

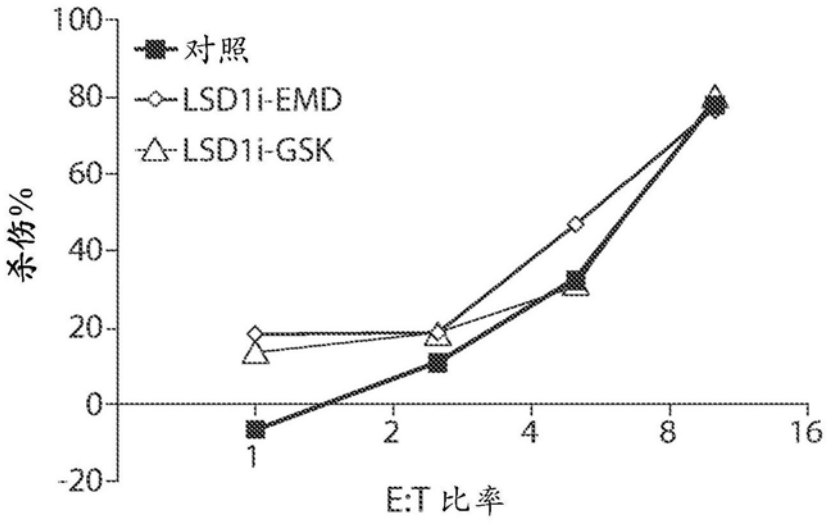

100
80
60
40
20
0
-20
对照
LSD1i-EMD
LSD1i-GSK
杀伤%
1
2
4
8
16
E:T 比率

图12

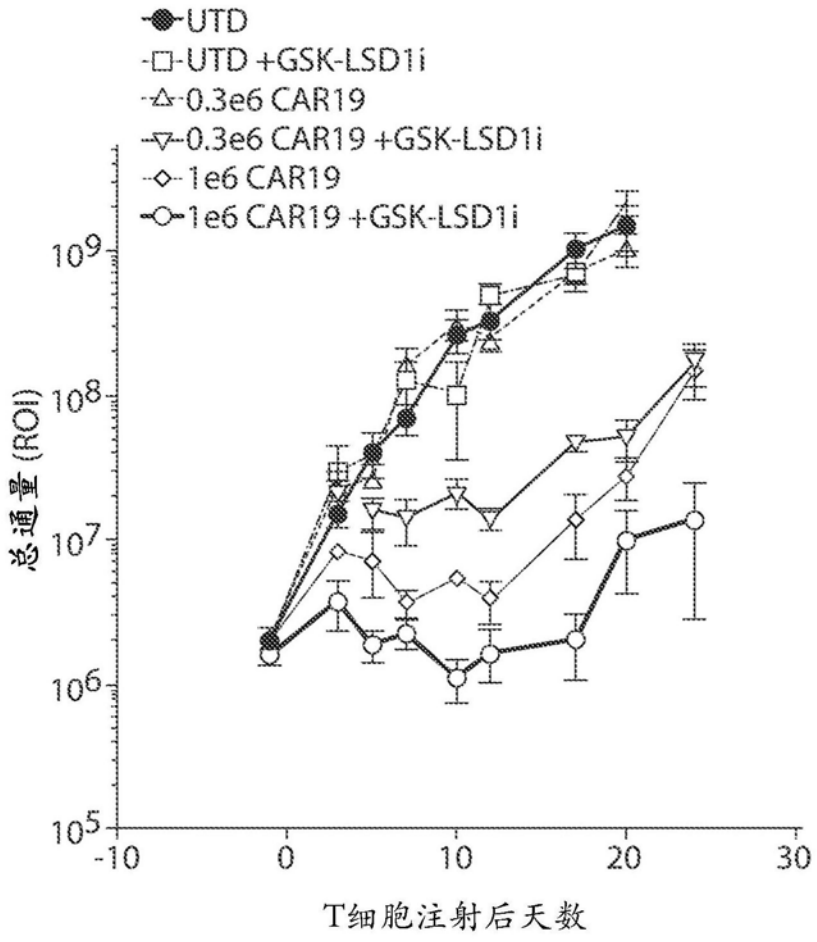

UTD
UTD +GSK-LSD1i
0.3e6 CAR19
0.3e6 CAR19 +GSK-LSD1i
1e6 CAR19
1e6 CAR19 +GSK-LSD1i
10^9
10^8
10^7
10^6
10^5
总通量 (ROI)
-10
0
10
20
30
T细胞注射后天数

图13

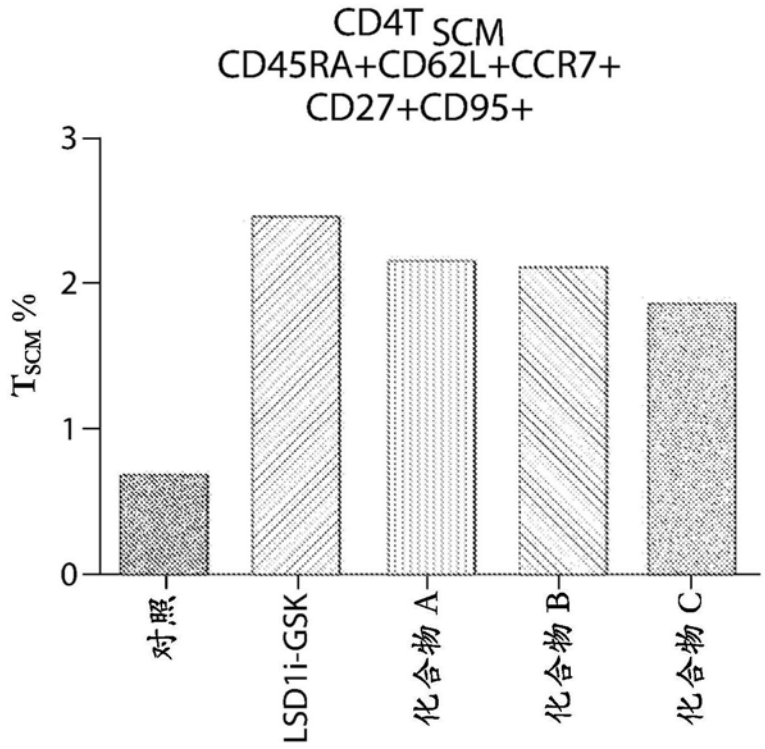

CD4T SCM
CD45RA+CD62L+CCR7+
CD27+CD95+
TSCM %
3
2
1
0
对照
LSD1i-GSK
化合物 A
化合物 B
化合物 C

图14A

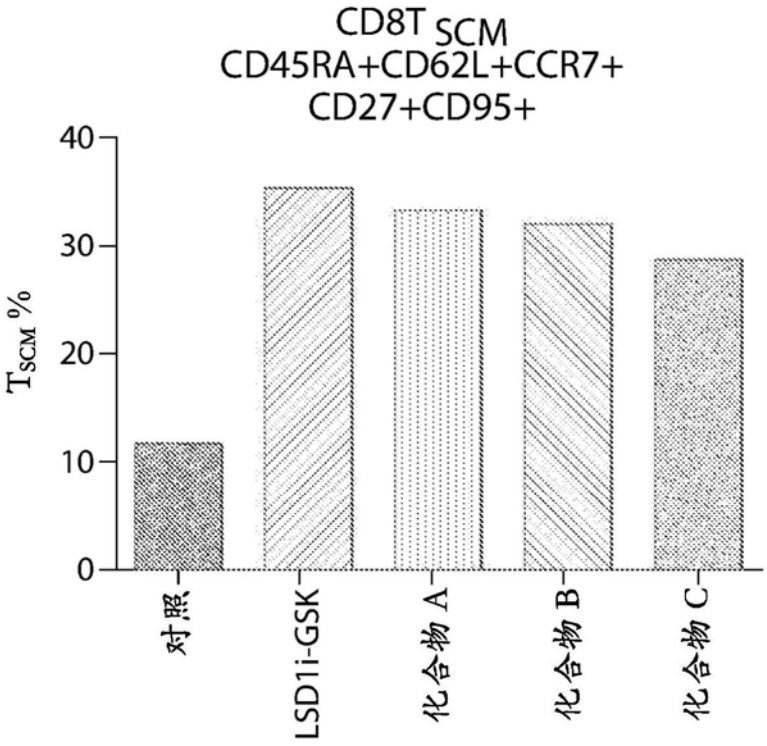

CD8T SCM
CD45RA+CD62L+CCR7+
CD27+CD95+
TSCM %
40
30
20
10
0
对照
LSD1i-GSK
化合物 A
化合物 B
化合物 C

图14B

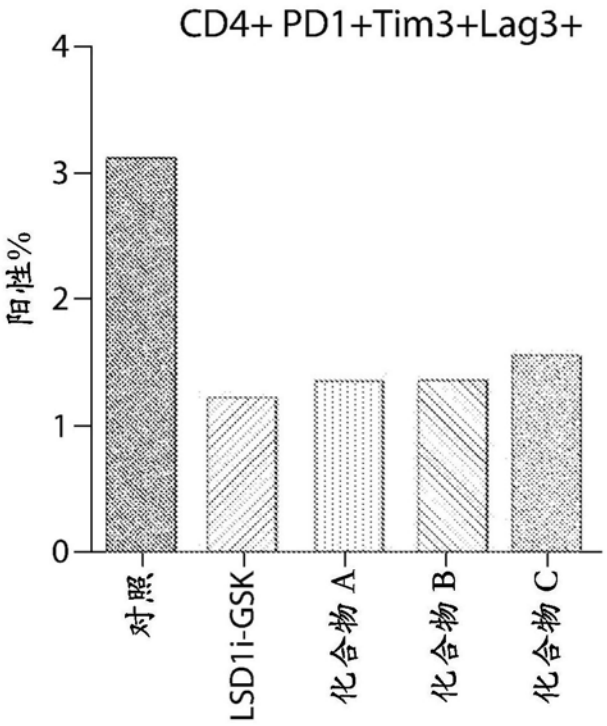

CD4+ PD1+Tim3+Lag3+
阳性%
4
3
2
1
0
对照
LSD1i-GSK
化合物 A
化合物 B
化合物 C

图15A

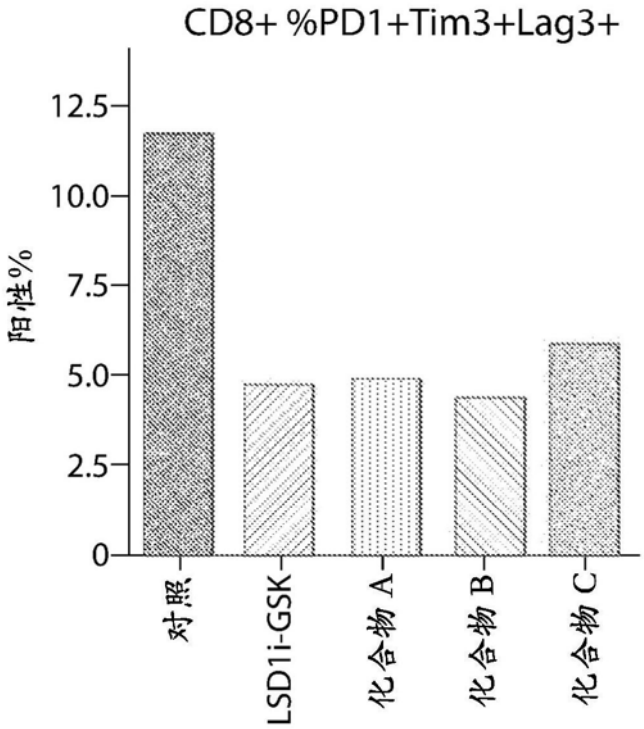

CD8+ %PD1+Tim3+Lag3+
阳性%
12.5
10.0
7.5
5.0
2.5
0
对照
LSD1i-GSK
化合物 A
化合物 B
化合物 C

图15B

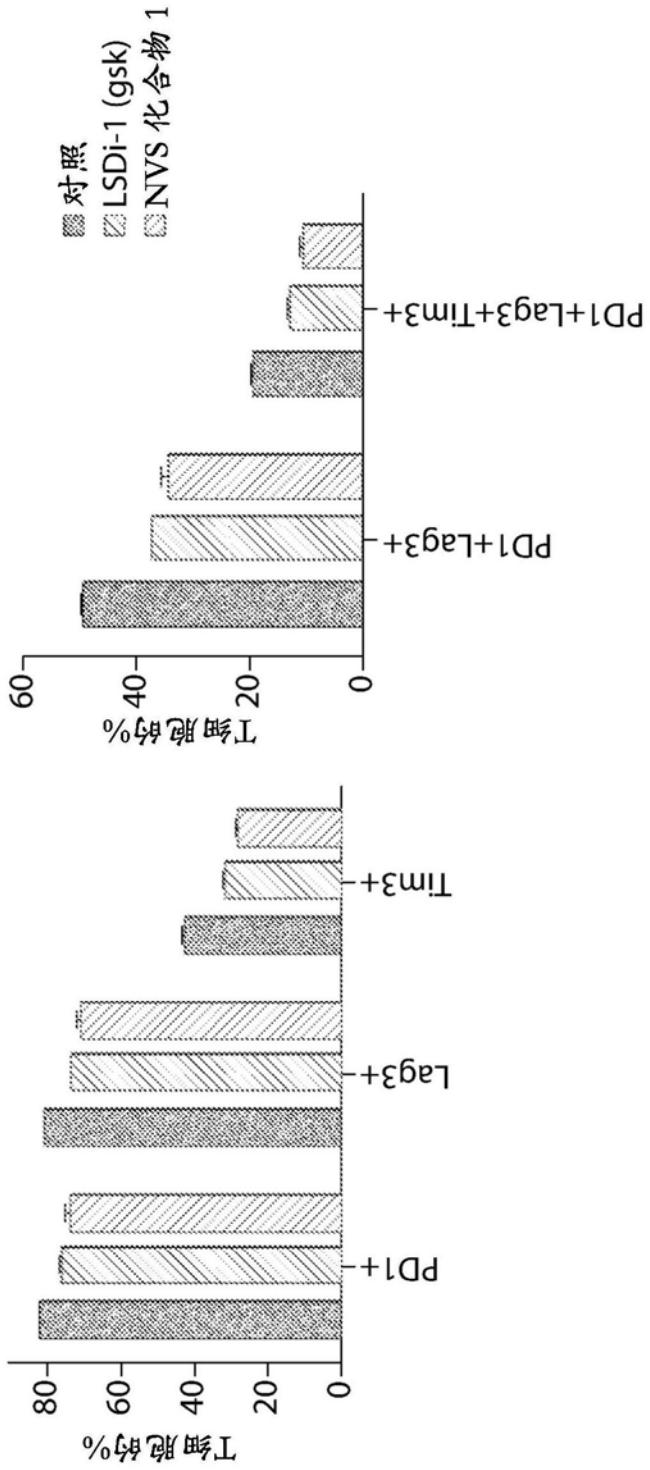

T细胞的%
80
60
40
20
0
PD1+
Lag3+
Tim3+
T细胞的%
60
40
20
0
PD1+Lag3+
PD1+Lag3+Tim3+
对照
LSDi-1 (gsk)
NVS 化合物 1

图16

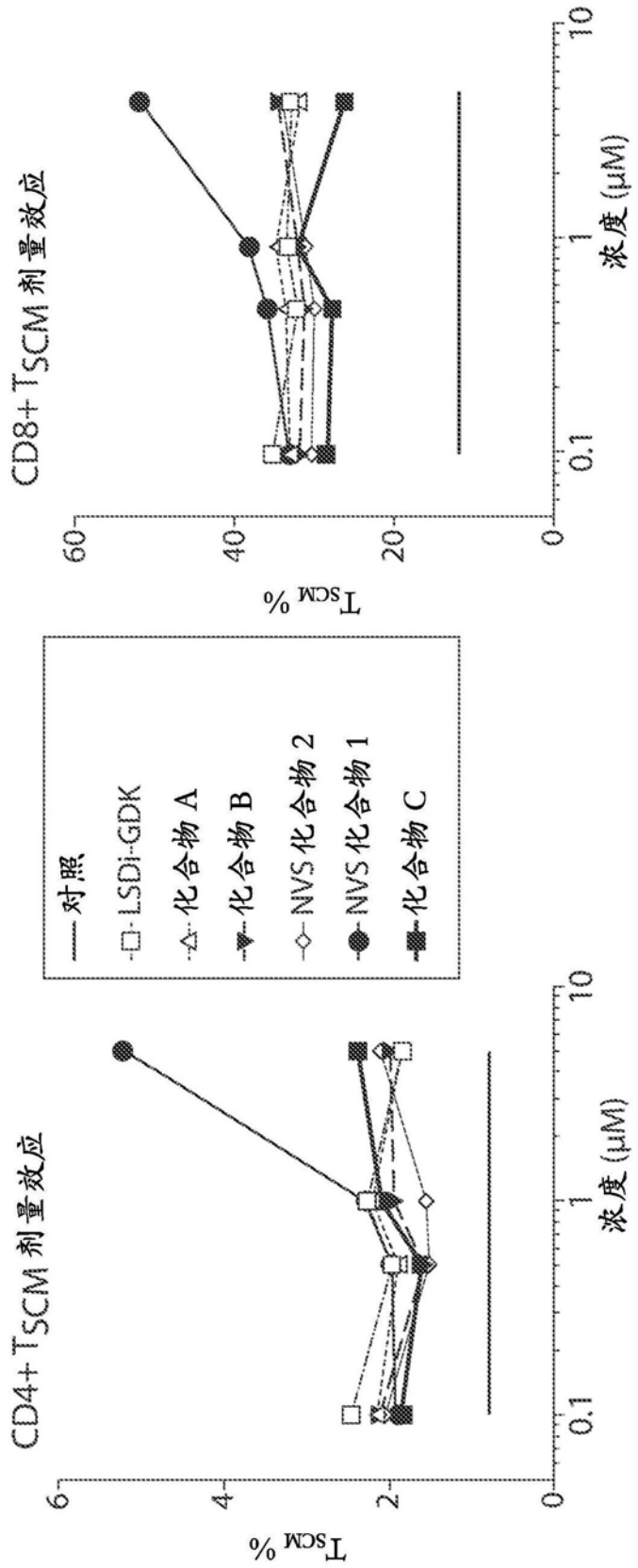

CD4+ TSCM 剂量效应
TSCM %
6
4
2
0
0.1
1
10
浓度 (μM)
对照
LSDi-GDK
化合物 A
化合物 B
NVS 化合物 2
NVS 化合物 1
化合物 C
CD8+ TSCM 剂量效应
TSCM %
60
40
20
0
0.1
1
10
浓度 (μM)

图17

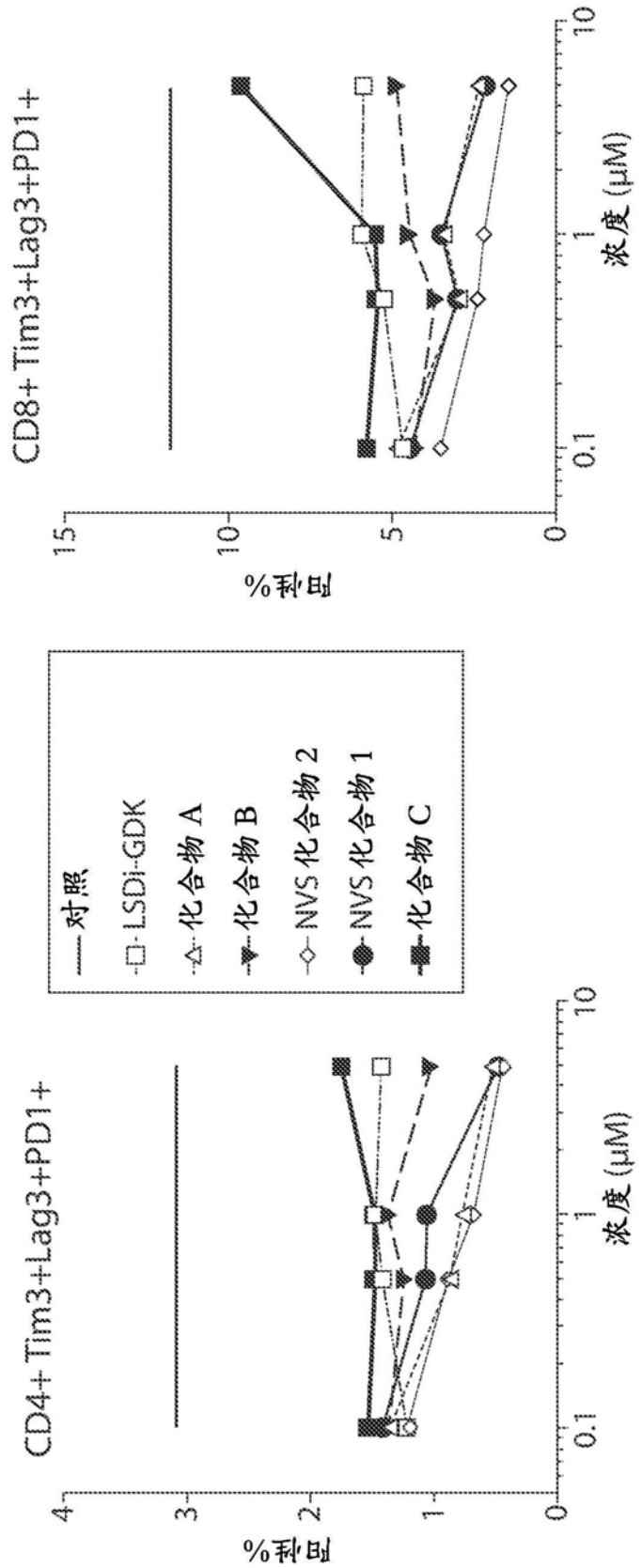

CD8+ Tim3+Lag3+PD1+
阳性%
15
10
5
0
0.1
1
10
浓度 (μM)
CD4+ Tim3+Lag3+PD1+
阳性%
4
3
2
1
0
0.1
1
10
浓度 (μM)
对照
LSDi-GDK
化合物 A
化合物 B
NVS 化合物 2
NVS 化合物 1
化合物 C

图18