



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 116669761 A

(43) 申请公布日 2023. 08. 29

(21) 申请号 202180081608.X

(22) 申请日 2021.12.02

(66) 本国优先权数据

202011402180.8 2020.12.02 CN

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2023.06.02

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/CN2021/135121 2021.12.02

(87) PCT国际申请的公布数据

W02022/117045 ZH 2022.06.09

(71) 申请人 康诺亚生物医药科技(成都)有限公司

地址 610219 四川省成都市双流区成都天府国际生物城中路18号D2号楼

(72) 发明人 陈博 徐刚 王莹

(74) 专利代理机构 北京植众德本知识产权代理有限公司 16083

专利代理师 王宏

(51) Int.Cl.

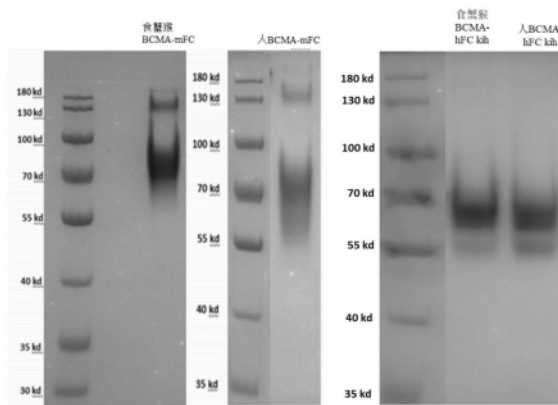
A61K 39/395 (2006.01)

(54) 发明名称

一种T细胞衔接器治疗剂的开发和应用

(57) 摘要

本公开涉及一种T细胞衔接器治疗剂的开发和应用。该T细胞衔接器为一种T细胞双特异性抗体,该双特异性抗体包含结合到靶细胞表面上的BCMA的第一结合结构域和结合到T细胞表面上的CD3的第二结合结构域。该双特异性抗体耐受良好,可有效阻断BCMA与受体APRIL的结合,无体重减轻等不良反应。



(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2022年6月9日 (09.06.2022)



(10) 国际公布号
WO 2022/117045 A1

- (51) 国际专利分类号:
C07K 16/28 (2006.01) *A61P 35/02* (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01) *A61P 37/00* (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2021/135121
- (22) 国际申请日: 2021年12月2日 (02.12.2021)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
202011402180.8 2020年12月2日 (02.12.2020) CN
- (71) 申请人: 康诺亚生物医药科技(成都)有限公司 (KEYMED BIOSCIENCES CO., LTD) [CN/CN]; 中国四川省成都市双流区成都天府国际生物城中路18号D2号楼, Sichuan 610219 (CN)。
- (72) 发明人: 徐刚(XU, Gang); 中国四川省成都市双流区成都天府国际生物城中路18号D2号楼, Sichuan 610219 (CN)。 陈博(CHEN, Bo); 中国四川省成都市双流区成都天府国际生物城中路18号D2号楼, Sichuan 610219 (CN)。 王莹(WANG, Ying); 中国四川省成都市双流区成都天府国际生物城中路18号D2号楼, Sichuan 610219 (CN)。
- (74) 代理人: 北京植德律师事务所(MERITS & TREE); 中国北京市东城区东直门南大街1号来福士中心办公楼5层, Beijing 100007 (CN)。
- (81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。
- (84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

(54) Title: DEVELOPMENT AND APPLICATION OF T-CELL ENGAGER THERAPEUTIC AGENT

(54) 发明名称: 一种T细胞衔接器治疗剂的开发和应用

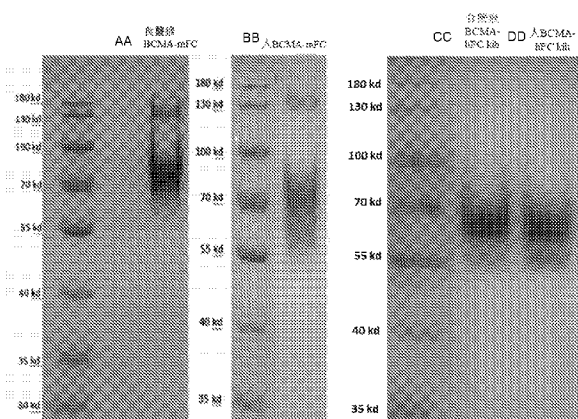


图 1

AA Cynomolgus monkey BCMA-mFc
BB Human BCMA-mFc
CC Cynomolgus monkey BCMA-hPC kib
DD Human BCMA-hPC kib

(57) Abstract: The present disclosure relates to the development and application of a T-cell engager therapeutic agent. A T-cell engager is a T-cell bispecific antibody, and the bispecific antibody contains a first binding structural domain bound to a BCMA on the surface of a target cell and a second binding structural domain bound to CD3 on the surface of a T cell. The bispecific antibody has good tolerance, can effectively block the binding of the BCMA and a receptor APRIL, and has no adverse reaction, such as weight loss.

(57) 摘要: 本公开涉及一种T细胞衔接器治疗剂的开发和应用。该T细胞衔接器为一种T细胞双特异性抗体, 该双特异性抗体包含结合到靶细胞表面上的BCMA的第一结合结构域和结合到T细胞表面上的CD3的第二结合结构域。该双特异性抗体耐受良好, 可有效阻断BCMA与受体APRIL的结合, 无体重减轻等不良反应。

WO 2022/117045 A1

本国际公布：

- 包括国际检索报告(条约第21条(3))。
- 包括说明书序列表部分(细则5.2(a))。

一种 T 细胞衔接器治疗剂的开发和应用

技术领域

本公开涉及一种 T 细胞衔接器治疗剂的开发和应用，特别是结合 BCMA 和 CD3 的双特异性抗体及其应用。

背景技术

B 细胞成熟抗原 (B-cell maturation antigen, BCMA)，是一种肿瘤坏死因子受体超家族成员，广泛表达于骨髓瘤细胞表面，正常组织中仅在浆细胞表达，而在初始 B 细胞、CD34+造血干细胞和其他正常组织中都不表达。BCMA 缺陷小鼠具有正常的 B 细胞发育和体液免疫反应，多发性骨髓瘤患者样本中，配体 APRIL (A Proliferation Inducing Ligand) 与 BCMA 结合后，可刺激骨髓瘤细胞生长和增殖，同时阻止肿瘤细胞发生凋亡。由于恶性浆细胞上的表达量显著高于正常浆细胞，BCMA 已成为一个重要的免疫治疗靶点。

在血液系统恶性肿瘤中，多发性骨髓瘤是第二大常见病种，多发于中老年人。患者骨髓中积聚恶性增殖的浆细胞，可导致骨髓衰竭和免疫功能缺失，同时常伴多发性溶骨性损害、高钙血症、贫血、肾脏损害。尽管近年来，新的药物包括蛋白酶体抑制剂、免疫调节剂和靶向抗体等，显著延长了患者的生存期，但几乎所有患者仍会复发。正在开发的新疗法如 CAR-T 细胞 (chimeric antigen receptor T-cells) 由于制备过程复杂，治疗费用高，且复发率较高；抗体药物偶联物 (antibody drug conjugate, ADC) 由于偶联毒素的安全原因，临床剂量仅局限于低剂量；在前研发的 BCMA 双特异抗体，尽管临床显示出相当好的疗效，但剂量升高也伴随副作用加大，可能引起强烈的细胞因子风暴综合征，并危及患者生命。因此，该领域仍需开发新的更加安全有效的药物。

T 细胞双特异抗体 (或称 T 细胞衔接器)，是一种人为构建的特殊抗体分子，可通过其一端识别靶细胞表面抗原 (抗原臂)，通过另一端结合 T 细胞 CD3 受体 (CD3 臂)。利用靶向 CD3 ϵ 链的抗体，以一种类似于 TCR/肽/HLA 的方式，使 T 细胞上的 CD3 发生聚集，从而活化 T 细胞并杀伤肿瘤。BCMA \times CD3 双特异性分子是靶向骨髓瘤细胞上表达的 BCMA 和 T 细胞上存在的 CD3 ϵ 链 (CD3 ϵ) 的 T 细胞双特异性 (TCB) 抗体。BCMA \times CD3 双特异性分子的作用机制包含同时结合 BCMA+骨髓瘤细胞和 CD3+T 细胞，引起 T 细胞活化和 T 细胞介导的细胞杀伤作用。

正常免疫应答过程中，TCR 以低亲和力 (约 1-100 μ M) 结合感染或突变细胞上的外源肽-人白细胞抗原复合物 (HLA)，通过 CD3 将活化信号传导到核内，激活转录因子及其下游蛋白 (细胞因子、颗粒酶、穿孔素等) 的表达，其中 TCR 复合物产生的信号强度将决定 T 细胞的命运。信号传导复合物的 ϵ 、 γ 、 δ 以及 ζ 亚基彼此缔合以形成 CD3 ϵ - γ 异源二聚体、CD3 ϵ - δ 异源二聚体以及 CD3 ζ - ζ 同源二聚体。而早期开发的 CD3 双特异抗体，多基于 OKT3、L2K、UCHT1 和 TR66 等少数鼠源抗体，亲和力较高。在临床研究发现，CD3 抗体的亲和力过强将导致 T 细胞过度活化，并释放大量细胞因子，形成细胞因子风暴综合征；同时，高亲和力也会导致双特异抗体在二级淋巴器官的富集，减低在肿瘤组织的暴露。抗体 Fc 部分与 Fc γ 受体的结合能力是另一个对影响药物安全的重要因素，由于 Fc γ 受体在多种正常组织表达，双特异抗体通过 Fc 与细胞膜上的 Fc γ 受体结合后，可导致另一端结合的 CD3 受体因 Fc γ 受体聚集而交联活化，从而产生严重的脱靶毒性，例如：早期上市的 catumaxomab 由于 Fc 段与肝脏 Kupffer 细胞表达的 Fc γ 受体结合，引发了快速的细胞因子释放。通过使用 Fc γ 受体结合能力较弱的人 IgG2 亚型或 IgG4 亚型，或者进一步在 CH2 相应位点进行氨基酸替换，如：Armour 等将 IgG1 和 IgG4 的第 233-236 位点 (EU 序列编号) 替换成 IgG2 相应序列，减少了和 Fc γ 受体的结合 (Armour KL et al, Recombinant human IgG molecules lacking Fc gamma receptor I binding and monocyte triggering activities, Eur J Immunol. 1999 Aug;29(8):2613-24)，Newman 等在 IgG4 引入突变 Ser228Pro 和 Leu235Glu，稳定 IgG4 结构同时减少与 Fc γ 受体的结合 (Newman R. et al, Modification of the Fc region of a primatized IgG antibody to human CD4 retains its ability to modulate CD4 receptors but does not deplete CD4(+) T cells in chimpanzees, Clin Immunol. 2001 Feb;98(2):164-74)，Idusogie 等发现将 Asp270、Lys322、Pro329 或 Pro331 分别替换成 Ala，可减少 IgG1 与补体 C1q 的结合 (Idusogie EE et al, Mapping of the C1q Binding Site on Rituxan, a Chimeric Antibody with a Human IgG1 Fc, J Immunol April 15, 2000, 164 (8) 4178-4184) 等。

发明内容

为了解决现有技术中存在的问题，本公开提供了一种新的与 BCMA 蛋白具有高亲和力的 BCMA 抗体。并且，本公开还提供了 BCMA 抗体与 CD3 抗体形成的新型 BCMA-CD3 $\kappa\lambda$ 双特异抗体。BCMA-CD3 $\kappa\lambda$ 双特异抗体采用全长 IgG 构型，通过引入电荷及亲和力优化，使 $\kappa\lambda$ 双特异抗体优先定位到 BCMA+肿瘤组织，低浓度下即可募集活化 T 细胞，对靶细胞产生有效杀伤，无靶细胞存在时不激活 T 细胞；同时， $\kappa\lambda$ 双特异抗体不与 Fc γ RI、Fc γ RIIA 和 Fc γ RIIIA 等受体结合，减低了产生细胞因子风暴的风险。在免疫重建小鼠模型中证实，这种新型 BCMA-CD3 $\kappa\lambda$ 双特异抗体可有效抑制肿瘤生长，疗效优于同类抗体。

在一方面，本公开提供了一种结合 BCMA 的抗体或其抗原结合部分。

在一方面，本公开提供了一种双特异性抗体或其抗原结合部分。

在一方面，本公开提供了编码如前述的双特异性抗体或其抗原结合部分的核酸。

在一方面，本公开提供了包含前述的核酸的载体。

在一方面，本公开提供了包含前述的核酸或载体的细胞。

根据前述的抗体或其抗原结合部分，其中前述抗体或其抗原结合部分是人源化的。

在一方面，本公开提供了包含如前述的抗体或其抗原结合部分或其编码核酸和药学上可接受的载体的药物组合物或试剂盒。

在一方面，本公开提供了包含共价附着至治疗部分的前述的抗体或其抗原结合部分、双特异性或多特异性分子的抗体-药物偶联物。

在一方面，本公开提供了治疗与 BCMA 相关病症的方法，其包括下述步骤：向哺乳动物施用治疗有效量的前述的抗体或其抗原结合片段、核酸、载体、细胞和/或药物组合物。

在一方面，本公开提供了前述的抗体或其抗原结合片段、核酸、载体、细胞和/或药物组合物在制备用于治疗哺乳动物中与 BCMA 相关病症的药物或试剂盒中的用途。

本公开的抗体可以用于多种应用，包括检测 BCMA 蛋白，诊断、治疗或预防与 BCMA 相关的疾病。

附图说明

图 1 示出了人、食蟹猴 BCMA-mFc 双价重组蛋白和 BCMA-hFc kih 单价重组蛋白的 SDS-PAGE 结果。

图 2 示出了流式细胞检测人和食蟹猴 BCMA 稳转细胞，人 BCMA 稳转细胞(CHO-hBCMA-2C2)和食蟹猴 BCMA 稳转细胞(CHO-cynoBCMA-1A2)均表达高水平的 BCMA。

图 3 示出了 CD3 ϵ -Fc 重组蛋白的 SDS-PAGE 结果。

图 4 示出了人源化 CD3 抗体与 CD3 ϵ -Fc 重组蛋白的结合。

图 5 示出了人源化 CD3 抗体与 Jurkat 细胞的结合。

图 6 示出了 BCMA \times CD3 $\kappa\lambda$ 双特异抗体与 BCMA 稳转细胞的结合。

图 7 示出了 BCMA \times CD3 $\kappa\lambda$ 双特异抗体高亲和力结合 BCMA+肿瘤细胞。

图 8 示出了 BCMA \times CD3 $\kappa\lambda$ 双特异抗体与 Jurkat 细胞的结合。

图 9 示出了 BCMA \times CD3 $\kappa\lambda$ 双特异抗体与人外周血 T 细胞的结合。

图 10 示出了 BCMA \times CD3 $\kappa\lambda$ 双特异抗体对 NCI-H929 细胞的杀伤和对 T 细胞的活化，其中，图 10A 显示对 NCI-H929 细胞的杀伤，图 10B 显示对 T 细胞的活化。

图 11 示出了 BCMA \times CD3 $\kappa\lambda$ 双特异抗体对 RPMI-8226 细胞的杀伤和对 T 细胞的活化，其中，图 11A 显示对 RPMI-8226 细胞的杀伤，图 11B 显示对 T 细胞的活化。

图 12 示出了 BCMA \times CD3 $\kappa\lambda$ 双特异抗体对 T 细胞信号通路的活化。

图 13 示出了 BCMA \times CD3 $\kappa\lambda$ 双特异抗体对外周血 T 细胞的活化。

图 14 示出了 BCMA \times CD3 $\kappa\lambda$ 双特异抗体与活化型 Fc γ R 受体的结合。

图 15 示出了 BCMA \times CD3 $\kappa\lambda$ 双特异抗体对 BCMA 与受体 APRIL 结合的阻断。

图 16 示出了 BCMA \times CD3 $\kappa\lambda$ 双特异抗体对免疫缺陷型小鼠皮下 NCI-H929 移植瘤模型的抑制作用。

具体实施方式

I. 定义

在本公开中，除非另有说明，否则本文中使用的科学和技术名词具有本领域技术人员所通常理解的含义。并且，本文中所述的蛋白质和核酸化学、分子生物学、细胞和组织培养、微生物学、免疫学相关术语和实验室操作步骤均为相应领域内广泛使用的术语和常规步骤。同时，为了更好地理解本公开，下面提供相关术语的定义和解释。

如本文中使用的，术语“BCMA”可以指共同指代存在于动物中并且优选地存在于人体中的 BCMA 本身及其任何变体、同种型和旁系同源物的概念。

术语“人 BCMA”是指人来源的 BCMA，并且可以优选具有但不限于 Genbank 登录号 AB052772.1 的氨基酸序列。

术语“抗 BCMA 抗体”和“结合 BCMA 的抗体”指能够以足够亲和力结合 BCMA，使得该抗体作为诊断剂和/或治疗剂在靶向 BCMA 中是有用的抗体。在一个实施方案中，抗 BCMA 抗体对无关非 BCMA 蛋白的结合程度小于该抗体对 BCMA 的结合的约 10%，如通过例如放射免疫测定法(RIA)测量的。在某些实施方案中，结合 BCMA 的抗体具有 $\leq 1\mu\text{M}$ ， $\leq 100\text{nM}$ ， $\leq 10\text{nM}$ ， $\leq 1\text{nM}$ ， $\leq 0.1\text{nM}$ ， $\leq 0.01\text{nM}$ ，或 $\leq 0.001\text{nM}$ (例如 10^{-8}M 或更低，例如 10^{-8}M 至 10^{-13}M ，例如 10^{-9}M 至 10^{-13}M)的解离常数(K_d)。在某些实施方案中，抗 BCMA 抗体结合在来自不同物种的 BCMA 间保守的 BCMA 表位。

“CD3”指来自任何脊椎动物来源，包括哺乳动物，诸如灵长动物(例如人)，非人灵长动物(例如食蟹猴)和啮齿动物(例如小鼠和大鼠)的任何天然 CD3，除非另外指明。该术语涵盖“全长”未加工的 CD3 以及源自细胞中加工的任何形式的 CD3。该术语还涵盖 CD3 的天然发生变体，例如剪接变体或等位变体。在一个实施方案中，CD3 是人 CD3，特别是人 CD3 的厄普西隆亚基(CD3 ϵ)。人 CD3 ϵ 的氨基酸序列显示于 UniProt (www.uniprot.org)登录号 P07766(版本 144)，或 NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov/) RefSeq NP_000724.1。食蟹猴[*Macaca fascicularis*]CD3 ϵ 的氨基酸序列显示于 NCBI GenBank no.BAB71849.1。

术语“细胞表面”的使用是根据其在本领域的正常含义，因此包括可通过与蛋白和其它分子结合而接近的细胞外部。

如本文使用的和除非另作说明，术语“约”或“大约”是指在给定值或范围的加或减 10%之内。在需要整数的情况下，该术语是指在给定值或范围的加或减 10%之内、向上或向下舍入到最接近的整数。

就抗体链多肽序列而言, 短语“基本相同”可理解为表现出与参照多肽序列至少 60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99% 或更多的序列同一性的抗体链。就核酸序列而言, 该术语可理解为表现出与参照核酸序列至少大于 60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99% 或更高的序列同一性的核苷酸序列。

序列“相同性”或“同一性”具有本领域公认的含义, 并且可以利用公开的技术计算两个核酸或多肽分子或区域之间序列相同性的百分比。可以沿着多核苷酸或多肽的全长或者沿着该分子的区域测量序列相同性。虽然存在许多测量两个多核苷酸或多肽之间的相同性的方法, 但是术语“相同性”是技术人员公知的 (Carrillo, H. & Lipman, D., *SIAM J Applied Math* 48:1073 (1988))。

“取代型”变体是天然序列中至少一个氨基酸残基被除去并被不同的氨基酸插入其相同位置的变体。所述取代可为单个的, 其中该分子中仅有一个氨基酸被取代; 或可为多个的, 其中该相同分子有两个或更多的氨基酸被取代。多个取代可位于连续的位点。同样, 一个氨基酸可被多个残基取代, 其中这样的变体包括取代和插入二者。“插入型”变体是一个或多个氨基酸被插入到紧邻一段天然序列某个特定位置处的氨基酸的变体。紧邻氨基酸意指与该氨基酸的 α -羧基或 α -氨基官能团连接。“缺失型”变体是天然氨基酸序列中一个或多个氨基酸被除去的变体。通常情况下, 缺失型变体在其分子的特定区域内有一个或两个氨基酸被缺失。

就抗体的可变结构域而言, 术语“可变”系指抗体之间有广泛序列差异的相关分子的某些部分, 且被用于针对其特异靶的特定抗体的特异识别和结合。但是, 可变性在抗体的整个可变结构域内不是均匀分布的。可变性集中在被称为互补决定区域 (CDRs; 即 CDR1、CDR2 和 CDR3) 或超变区的三个区段, 它们均位于轻链和重链的可变结构域内。可变结构域内保守程度更高的部分被称为构架 (FR) 区或构架序列。天然重链和轻链的每个可变结构域均包括四个 FR 区, 其主要采用 β -折叠构型, 它们籍三个 CDRs 连接起来, CDRs 形成环, 所述环连接 β -折叠结构并在某些情形下形成部分的 β -折叠结构。每条链的 CDRs 通常被 FR 区在邻近连接起来, 并且借助于来自其它链的 CDR, 有助于抗体靶结合位点 (表位或决定簇) 的形成。正如本文所使用, 免疫球蛋白氨基酸残基的编号是依据 Kabat 等人的免疫球蛋白氨基酸残基编号系统而进行的, 除非另有说明。一个 CDR 可具有特异结合关联表位的能力。

如本文所用, 抗体的“抗体片段”或“抗原结合片段”指全长抗体的任何部分, 其少于全长, 但是至少包含结合抗原的所述抗体的部分可变区 (例如一个或多个 CDR 和/或一个或多个抗体结合位点), 并且因此保留结合特异性以及所述全长抗体的至少部分特异性结合能力。因此, 抗原结合片段指包含与衍生抗体片段的抗体结合相同抗原的抗原结合部分的抗体片段。抗体片段包括通过酶促处理全长抗体所产生的抗体衍生物, 以及合成产生的衍生物, 例如重组产生的衍生物。抗体包括抗体片段。抗体片段的实例包括但不限于 Fab、Fab'、F(ab')₂、单链 Fv (scFv)、Fv、dsFv、双抗体、Fd 和 Fd' 片段以及其他片段, 包括修饰的片段。所述片段可以包括连接在一起的多条链, 例如通过二硫键和/或通过肽接头。抗体片段一般包含至少或约 50 个氨基酸, 并且典型至少或约 200 个氨基酸。抗原结合片段包括任何抗体片段, 其在被插入抗体框架 (例如通过置换相应区域) 时获得免疫特异性地结合 (即表现出至少或至少约 10^7 - 10^8 M⁻¹ 的 Ka) 抗原的抗体。“功能片段”或“抗 BCMA 抗体的类似物”是可防止或实质降低所述受体结合配体或启动信号转导的能力的片段或类似物。正如本文所使用, 功能片段一般与“抗体片段”含义相同, 且就抗体而论, 可指能防止或实质降低所述受体结合配体或启动信号转导的能力的片段, 例如 Fv、Fab、F(ab')₂ 等等。“Fv”片段由一条重链的可变结构域和一条轻链的可变结构域籍非共价结合方式而形成的二聚体 (V_H-V_L 二聚体) 组成。在该构型中, 每个可变结构域的三个 CDRs 相互作用, 以确定 V_H-V_L 二聚体表面上的靶结合位点, 与完整抗体的情况一样。所述六个 CDRs 共同赋予完整抗体的靶结合特异性。但是, 即使是单个可变结构域 (或仅包括 3 个靶特异的 CDRs 的 Fv 的一半), 仍可具有识别和结合靶的能力。

如本文中所用, 术语“双特异性” (Bispecific antibody, BsAb) 指抗体和/或抗原结合分子能够特异性结合两种不同的抗原性决定簇, 通常, 双特异性抗体和/或抗原结合分子包含两种抗原结合位点, 其中每种特异于不同的抗原性决定簇。在某些实施方案中, 所述双特异性抗体和/或抗原结合分子能够同时结合两种抗原决定簇, 特别是在两种不同的细胞上表达的两种抗原性决定簇。

如本文所用, “单克隆抗体”指相同抗体的群体, 表示单克隆抗体群体中的每个单独的抗体分子与其他抗体分子相同。这种特性与抗体的多克隆群体的特性相反, 所述抗体的多克隆群体包含具有多种不同序列的抗体。单克隆抗体可以通过许多公知的方法来制备 (Smith et al. (2004) *J.Clin.Pathol.* 57, 912-917; 和 Nelson et al., *J Clin Pathol* (2000), 53, 111-117)。例如, 单克隆抗体可以通过永生 B 细胞来制备, 例如通过与骨髓瘤细胞融合以产生杂交瘤细胞系或者通过用诸如 EBV 的病毒感染 B 细胞。重组技术还可以用来在体外通过用携带编码抗体的核苷酸的人工序列的质粒转化宿主细胞来从宿主细胞的克隆群体制备抗体。

如本文中所用, 术语“杂交瘤”或“杂交瘤细胞”指由融合产抗体的淋巴细胞和不产抗体的癌细胞而产生的细胞或细胞系 (通常为骨髓瘤或淋巴瘤细胞)。如本领域普通技术人员所知的, 杂交瘤可增殖并持续供应产生特定单克隆抗体。用于产生杂交瘤的方法为本领域已知的。当提及术语“杂交瘤”或“杂交瘤细胞”时, 其还包括杂交瘤的亚克隆和后代细胞。

如本文所用, 全长抗体是具有两条全长重链 (例如 VH-CH1-CH2-CH3 或 VH-CH1-CH2-CH3-CH4) 和两条全轻轻链 (VL-CL) 和较链区的抗体, 例如通过抗体分泌 B 细胞天然产生的抗体以及合成产生的具有相同结构域的抗体。

术语“嵌合抗体”是指这样的抗体, 其中可变区序列源自一个物种, 恒定区序列源自另一物种, 如其中可变区序列源自小鼠抗体及恒定区序列源自人抗体的抗体。

“人源化”抗体是指非人 (例如小鼠) 抗体形式, 其是嵌合的免疫球蛋白、免疫球蛋白链或者其片段 (如 Fv、Fab、Fab'、F(ab')₂ 或者抗体的其它抗原结合亚序列), 含有源自非人免疫球蛋白的最小序列。优选地, 人源化抗体是人免

疫球蛋白（接受者抗体），其中接受者抗体的互补决定区（CDR）的残基来自具有希望的特异性、亲和性和能力的非人物种（供体抗体）如小鼠、大鼠或者兔的 CDR 残基置换。

此外，在人源化中，还可能对 VH 和/或 VL 的 CDR1、CDR2 和/或 CDR3 区内的氨基酸残基进行突变，由此改善抗体的一或多种结合特性（例如亲和性）。可进行例如 PCR 介导的突变引入突变，其对抗体结合或其它功能特性的影响可利用本文所述的体外或体内测试评估。通常，引入保守性突变。此类突变可为氨基酸取代、添加或缺失。另外，CDR 内的突变通常不超过一个或两个。因此，本公开所述人源化抗体还涵盖 CDR 内包含 1 或 2 两个氨基酸突变的抗体。

如本文所用，术语“CDR”指互补决定区（complementarity-determining region），已知抗体分子的每个重链和轻链具有 3 个 CDR。CDR 也称作高变区，且存在于抗体的每个重链和轻链的可变区中，在 CDR 的一级结构中具有非常高的变异性位点。本说明书中，重链的 CDR 来自重链的氨基端序列的氨基端的 CDR1、CDR2、CDR3 表示，轻链的 CDR 来自轻链的氨基端序列的氨基端的 CDR1、CDR2、CDR3 表示。这些位点在三级结构中彼此临近，并决定抗体所结合的抗原的特异性。

如本文所用，术语“表位”指抗体的互补位结合的抗原上的任何抗原决定簇。表位决定簇通常包含分子的化学活性表面分型，例如氨基酸或糖侧链，并且通常具有特定的三维结构特征以及特定的电荷特征。

如本文所用，关于抗体或其抗原结合片段的“特异性结合”或“免疫特异性地结合”在本文中可交换使用，并且指抗体或抗原结合片段通过抗体和抗原的抗体结合位点之间的非共价相互作用与同种抗原形成一个或多个非共价键的能力。所述抗原可以是分离的抗原或存在于肿瘤细胞。通常，免疫特异性地结合（或特异性结合）抗原的抗体是以约或 $1 \times 10^7 M^{-1}$ 或 $1 \times 10^8 M^{-1}$ 或更大的亲和常数 K_a （或者 $1 \times 10^{-7} M$ 或 $1 \times 10^{-8} M$ 或更低的解离常数（ K_d ））结合所述抗原。亲和常数可以通过抗体反应的标准动力学方法来测定，例如，免疫测定、表面等离子共振（SPR）（Rich and Myszka (2000) *Curr. Opin. Biotechnol.* 11:54; Englebienne (1998) *Analyst.* 123:1599）、等温滴定量热法（ITC）或本领域已知的其他动力学相互作用测定；还参见描述用于计算抗体的结合亲和力的示例性 SPR 和 ITC 方法的美国专利第 7, 229, 619 号）。用于实时检测和监测结合速率的仪器和方法是已知的，并且可商购（参见，BiaCore 2000, Biacore AB, Uppsala, Sweden and GE Healthcare Life Sciences; Malmqvist (2000) *Biochem. Soc. Trans.* 27:335）。

如本文所用，术语“多核苷酸”和“核酸分子”指包含至少两个连接的核苷酸或核苷酸衍生物的寡聚体或聚合物，包括通常通过磷酸二酯键连接在一起的脱氧核糖核酸（DNA）和核糖核酸（RNA）。如本文所使用，术语“核酸分子”意欲包括 DNA 分子及 RNA 分子。核酸分子可为单链或双链，且可为 cDNA。

如本文所用，分离的核酸分子是从存在于核酸分子的天然来源中的其他核酸分子分离的核酸分子。诸如 cDNA 分子的“分离的”核酸分子可以在通过重组技术制备时基本上不含其他细胞物质或培养基，或者在化学合成时基本上不含化学前体或其他化学成分。本文所提供的示例性分离的核酸分子包括编码所提供的抗体或抗原结合片段的分离的核酸分子。

如本文所用，关于核酸序列、区域、元件或结构域的“可操作地连接”表示核酸区域互相功能相关。例如，启动子可以可操作地连接至编码多肽的核酸，从而所述启动子调控或介导所述核酸的转录。

亦提供本文所述序列中所述序列的“保守序列修饰”，即不消除由核苷酸序列编码或含有氨基酸序列的抗体与抗原的结合的核苷酸及氨基酸序列修饰。这些保守序列修饰包括保守核苷酸及氨基酸取代以及核苷酸及氨基酸添加及缺失。例如，可通过本领域已知的标准技术（例如定点诱变及 PCR 介导的诱变）将修饰引入本文所述的序列表中。保守序列修饰包括保守氨基酸取代，其中氨基酸残基被替换为具有类似侧链的氨基酸残基。具有类似侧链的氨基酸残基的家族是本领域中已有定义的。这些家族包括具有碱性侧链的氨基酸（例如赖氨酸、精氨酸、组氨酸）、具有酸性侧链的氨基酸（例如天冬氨酸、谷氨酸）、具有不带电极性侧链的氨基酸（例如甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、半胱氨酸、色氨酸）、具有非极性侧链的氨基酸（例如丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸）、具有 β 分枝侧链的氨基酸（例如苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸）及具有芳香族侧链的氨基酸（例如酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸）。因此，抗 BCMA 抗体中的预测的非必需氨基酸残基优选被来自同一侧链家族的另一氨基酸残基替代。鉴定不消除抗原结合的核苷酸及氨基酸保守取代的方法为本领域所熟知（例如，参见 Brummell et al., *Biochem.* 32: 1180-1187 (1993); Kobayashi et al., *Protein Eng.* 12(10): 879-884 (1999); Burks et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94: 412-417 (1997)）。

作为另一选择，在另一实施方案中，可通过例如饱和诱变沿抗 BCMA 抗体编码序列的全部或部分随机引入突变，且可针对改良的结合活性筛选所得经修饰抗 BCMA 抗体。

如本文所用，“表达”指通过多核苷酸的转录和翻译产生多肽的过程。多肽的表达水平可以利用本领域已知的任何方法来评价，包括例如测定从宿主细胞产生的多肽的量的方法。这类方法可以包括但不限于通过 ELISA 定量细胞裂解物中的多肽，凝胶电泳之后考马斯蓝染色，Lowry 蛋白测定以及 Bradford 蛋白测定。

如本文所用，“宿主细胞”是用于接受、保持、复制和扩增载体的细胞。宿主细胞还可以用来表达载体所编码的多肽。当宿主细胞分裂时，载体中所含的核酸复制，从而扩增核酸。宿主细胞可以是真核细胞或原核细胞。合适的宿主细胞包括但不限于 CHO 细胞、各种 COS 细胞、HeLa 细胞、HEK 细胞例如 HEK 293 细胞。

如本文所用，“载体”是可复制的核酸，当载体转化入适当的宿主细胞时，可以从该载体表达一种或多种异源蛋白。关于载体包括那些通常通过限制酶切消化和连接可以将编码多肽或其片段的核酸引入其中的载体。关于载体还包括那些包含编码多肽的核酸的载体。载体用来将编码多肽的核酸引入宿主细胞，用于扩增核酸或者用于表达/展示核酸所编码的多肽。载体通常保持游离，但是可以设计为使基因或其部分整合入基因组的染色体。还考虑人工染色体的载体，例如酵母人工载体和哺乳动物人工染色体。这类媒介物的选择和用途是本领域技术人员公知的。

如本文所用，载体还包括“病毒载体”或“病毒的载体”。病毒的载体是工程化的病毒，其可操作地连接至外源基因以将外源基因转移（作为媒介物或穿梭（shuttle））入细胞。

如本文所用，“表达载体”包括能够表达 DNA 的载体，所述 DNA 与诸如启动子区的能够影响这类 DNA 片段表达的调控序列可操作地连接。这类额外的片段可以包括启动子和终止子序列，并且任选地可以包括一个或多个复制起点、一个或多个选择标记、增强子、多腺苷酸化信号等。表达载体一般来源于质粒或病毒 DNA，或者可以包含这两者的元件。因此，表达载体指重组 DNA 或 RNA 构建体，例如质粒、噬菌体、重组病毒或其他载体，当引入适当的宿主细胞时，导致克隆 DNA 的表达。适当的表达载体是本领域技术人员公知的，并且包括在真核细胞和/或原核细胞中可复制的表达载体以及保持游离的表达载体或者整合入宿主细胞基因组的表达载体。

如本文所用，“治疗”患有疾病或疾病状况的个体表示所述个体的症状部分或全部缓解，或者在治疗后保持不变。因此，治疗包括预防、治疗和/或治愈。预防指防止潜在疾病和/或防止症状恶化或疾病发展。治疗还包括所提供的任何抗体或其抗原结合片段以及本文所提供的组合物的任何药理学用途。

如本文所用，“疗效”表示由个体的治疗所导致的效果，其改变、通常改良或改善疾病或疾病状况的症状，或者治愈疾病或疾病状况。

如本文所用，“治疗有效量”或“治疗有效剂量”指施用于对象之后至少足以产生疗效的物质、化合物、材料或包含化合物的组合物的量。因此，其为防止、治愈、改善、阻滞或部分阻滞疾病或病症的症状所必需的量。

如本文所用，“预防有效量”或“预防有效剂量”指在施用于对象时会具有预期的预防效果的物质、化合物、材料或包含化合物的组合物的量，例如，防止或延迟疾病或症状的发生或复发，减少疾病或症状发生或复发的可能性。完全预防有效剂量不必通过施用一个剂量发生，并且可以仅在施用一系列剂量之后发生。因此，预防有效量可以在一次或多次施用中施用。

如本文中所使用的，术语“患者”是指哺乳动物，例如人。

II. 具体实施方案详述

在一方面，本公开提供了一种双特异性抗体或其抗原结合部分，其包含：

(a) 结合到靶细胞表面上的 BCMA 抗原的第一抗原结合部分或其抗原结合片段，第一抗原结合部分包含第一重链和第一轻链，第一抗原结合部分包含与第一抗原结合的第一结合结构域，其中，第一结合结构域包含选自氨基酸序列 SEQ ID NO: 12、13、14、26、27、28、36、37、43、44、50、55、56、57、65、66、71、72、73、147 或其任何变体的重链 CDR，和/或选自氨基酸序列 SEQ ID NO: 17、18、19、22、23、31、32、33、40、47、60、61、62、76、77、78、83、84、87、88、89、92、144 或任何变体的轻链 CDR；和

(b) 结合到 T 细胞表面上的 CD3 抗原的第二抗原结合部分或其抗原结合片段，第二抗原结合部分包含第二重链和第二轻链，第二抗原结合部分包含与第二抗原结合的第二结合结构域。

根据前一方面的抗体或其抗原结合部分，第一结合结构域包含选自氨基酸序列 SEQ ID NO: 12、26、55、65、71 或其任何变体的重链 CDR1，选自氨基酸序列 SEQ ID NO: 13、27、36、43、50、56、66、72、147 或其任何变体的重链 CDR2，选自氨基酸序列 SEQ ID NO: 14、28、37、44、57、73 或其任何变体的重链 CDR3；和/或第一结合结构域包含选自氨基酸序列 SEQ ID NO: 17、22、31、47、60、76、83、87、92、144 或其任何变体的轻链 CDR1，选自氨基酸序列 SEQ ID NO: 18、23、32、40、61、77、84、88 或其任何变体的轻链 CDR2，选自氨基酸序列 SEQ ID NO: 19、33、62、78、89 或其任何变体的轻链 CDR3。

根据前述任一方面的抗体或其抗原结合部分，第一结合结构域的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列选自：氨基酸序列 SEQ ID NO: 12、13、14 的第一重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，氨基酸序列 SEQ ID NO: 26、27、28 的第一重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，氨基酸序列 SEQ ID NO: 12、36、37 的第一重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，氨基酸序列 SEQ ID NO: 12、43、44 的第一重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，氨基酸序列 SEQ ID NO: 12、50、14 的第一重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，氨基酸序列 SEQ ID NO: 55、56、57 的第一重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，氨基酸序列 SEQ ID NO: 65、66、14 的第一重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，氨基酸序列 SEQ ID NO: 71、72、73 的第一重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列；氨基酸序列 SEQ ID NO: 71、147、73 的第一重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列；和第一结合结构域的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列选自：氨基酸序列 SEQ ID NO: 17、18、19 的第一轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，氨基酸序列 SEQ ID NO: 22、23、19 的第一轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，氨基酸序列 SEQ ID NO: 31、32、33 的第一轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，氨基酸序列 SEQ ID NO: 17、40、19 的第一轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，氨基酸序列 SEQ ID NO: 47、18、19 的第一轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，氨基酸序列 SEQ ID NO: 60、61、62 的第一轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，氨基酸序列 SEQ ID NO: 76、77、78 的第一轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，氨基酸序列 SEQ ID NO: 83、84、19 的第一轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，氨基酸序列 SEQ ID NO: 87、88、89 的第一轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，氨基酸序列 SEQ ID NO: 92、23、19 的第一轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，氨基酸序列 SEQ ID NO: 144、77、78 的第一轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列。

在一些实施方案中，第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 12、13、14 的第一重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，和包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 17、18、19 的第一轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列。

在一些实施方案中，第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 12、13、14 的第一重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，和包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 22、23、19 的第一轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列。

氨酸序列 SEQ ID NO: 148 或其任何变体的第一轻链可变区。

在一些实施方案中，第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 154 或其任何变体的第一重链可变区，和氨酸序列 SEQ ID NO: 152 或其任何变体的第一轻链可变区。

在一些实施方案中，第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 158 或其任何变体的第一重链可变区，和氨酸序列 SEQ ID NO: 156 或其任何变体的第一轻链可变区。

在一些实施方案中，第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 162 或其任何变体的第一重链可变区，和氨酸序列 SEQ ID NO: 160 或其任何变体的第一轻链可变区。

在一些实施方案中，第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 166 或其任何变体的第一重链可变区，和氨酸序列 SEQ ID NO: 164 或其任何变体的第一轻链可变区。

在一些实施方案中，第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 170 或其任何变体的第一重链可变区，和氨酸序列 SEQ ID NO: 168 或其任何变体的第一轻链可变区。

根据前述任一方面的抗体或其抗原结合部分，第二结合结构域包含选自氨基酸序列 SEQ ID NO: 114、115、116、119、122、125、128、131、134、135 或其任何变体的重链 CDR；和/或选自氨基酸序列 SEQ ID NO: 95、96、97、102、103、108、111 或其任何变体的轻链 CDR。

在一些实施方案中，第二结合结构域包含选自氨基酸序列 SEQ ID NO: 114、119、134 或其任何变体的第二重链 CDR1，选自氨基酸序列 SEQ ID NO: 115、135 或其任何变体的第二重链 CDR2，选自氨基酸序列 SEQ ID NO: 116、122、125、128、131 或其任何变体的第二重链 CDR3；和/或选自氨基酸序列 SEQ ID NO: 95、102 或其任何变体的第二轻链 CDR1，选自氨基酸序列 SEQ ID NO: 96、103、111 或其任何变体的第二轻链 CDR2，选自氨基酸序列 SEQ ID NO: 91、108 或其任何变体的第二轻链 CDR3。

在一些实施方案中，第二结合结构域的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列选自：氨酸序列 SEQ ID NO: 114、115、116 的第二重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，氨酸序列 SEQ ID NO: 119、115、116 的第二重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，氨酸序列 SEQ ID NO: 119、115、122 的第二重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，氨酸序列 SEQ ID NO: 119、115、125 的第二重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，氨酸序列 SEQ ID NO: 119、115、128 的第二重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，氨酸序列 SEQ ID NO: 119、115、131 的第二重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，氨酸序列 SEQ ID NO: 134、135、116 的第二重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列；和第二结合结构域的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列选自：氨酸序列 SEQ ID NO: 95、96、97 的第二轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，氨酸序列 SEQ ID NO: 102、103、97 的第二轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，氨酸序列 SEQ ID NO: 95、96、108 的第二轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，氨酸序列 SEQ ID NO: 95、111、108 的第二轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列。

在一些实施方案中，第二结合结构域包含氨酸序列 SEQ ID NO: 114、115、116 的第二重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，和包含氨酸序列 SEQ ID NO: 95、96、97 的第二轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列。

在一些实施方案中，第二结合结构域包含氨酸序列 SEQ ID NO: 114、115、116 的第二重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，和包含氨酸序列 SEQ ID NO: 102、103、97 的第二轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列。

在一些实施方案中，第二结合结构域包含氨酸序列 SEQ ID NO: 114、115、116 的第二重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，和包含氨酸序列 SEQ ID NO: 95、96、108 的第二轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列。

在一些实施方案中，第二结合结构域包含氨酸序列 SEQ ID NO: 114、115、116 的第二重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，和包含氨酸序列 SEQ ID NO: 95、111、108 的第二轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列。

在一些实施方案中，第二结合结构域包含选自氨酸序列 SEQ ID NO: 112、117、120、123、126、129、132、136、138、140 或其任何变体的第二重链可变区，和/或包含选自氨酸序列 SEQ ID NO: 93、98、100、104、106、109 或其任何变体的第二轻链可变区。

在一些实施方案中，第二结合结构域包含氨酸序列 SEQ ID NO: 136 或其任何变体的第二重链可变区，和氨酸序列 SEQ ID NO: 93 或其任何变体的第二轻链可变区。

在一些实施方案中，第二结合结构域包含氨酸序列 SEQ ID NO: 138 或其任何变体的第二重链可变区，和氨酸序列 SEQ ID NO: 93 或其任何变体的第二轻链可变区。

在一些实施方案中，第二结合结构域包含氨酸序列 SEQ ID NO: 138 或其任何变体的第二重链可变区，和氨酸序列 SEQ ID NO: 98 或其任何变体的第二轻链可变区。

在一些实施方案中，第二结合结构域包含氨酸序列 SEQ ID NO: 138 或其任何变体的第二重链可变区，和氨酸序列 SEQ ID NO: 100 或其任何变体的第二轻链可变区。

在一些实施方案中，第二结合结构域包含氨酸序列 SEQ ID NO: 112 或其任何变体的第二重链可变区，和氨酸序列 SEQ ID NO: 106 或其任何变体的第二轻链可变区。

在一些实施方案中，第二结合结构域包含氨酸序列 SEQ ID NO: 136 或其任何变体的第二重链可变区，和氨酸序列 SEQ ID NO: 106 或其任何变体的第二轻链可变区。

在一些实施方案中，第二结合结构域包含氨酸序列 SEQ ID NO: 138 或其任何变体的第二重链可变区，和氨酸序列 SEQ ID NO: 106 或其任何变体的第二轻链可变区。

根据前述任一方面的抗体或其抗原结合部分，第一抗原结合部分的第一轻链为 κ 型轻链，第二抗原结合部分的

第二轻链为 λ 型轻链，

在一些实施方案中，第二抗原结合部分的第二重链可变区具有 Gln₄₀Glu 突变 (V λ _{CD3}: Gln₄₀Glu)；第二抗原结合部分的第二重链可变区具有 Gln₃₉Lys 突变 (VH_{CD3}: Gln₃₉Lys)。

在一些实施方案中，第一抗原结合部分的第一轻链可变区具有 Gln₄₂Lys 突变 (VK_{BCMA}: Gln₄₂Lys) 在一些实施方案中，第一抗原结合部分的第一重链可变区具有 Gln₃₉Glu 突变 (VH_{BCMA}: Gln₃₉Glu)。

在一些实施方案中，双特异性抗体的第一抗原结合部分和第二抗原结合部分的 Fc 部分采用 knob-into-hole 结构。在一些优选的实施方案中，Fc 部分采用人 IgG4 knob-into-hole 结构。

在一些实施方案中，第一重链包含选自 SEQ ID NO: 174、178 或其任何变体的重链，第一轻链包含选自 SEQ ID NO: 172、176 或其任何变体的轻链。

在一些优选的实施方案中，第一重链包含选自 SEQ ID NO: 174 或其任何变体的重链，第一轻链包含选自 SEQ ID NO: 172 或其任何变体的轻链。

在一些优选的实施方案中，第一重链包含选自 SEQ ID NO: 174 或其任何变体的重链，第一轻链包含选自 SEQ ID NO: 176 或其任何变体的轻链。

在一些优选的实施方案中，第一重链包含选自 SEQ ID NO: 178 或其任何变体的重链，第一轻链包含选自 SEQ ID NO: 172 或其任何变体的轻链。

在一些优选的实施方案中，第一重链包含选自 SEQ ID NO: 178 或其任何变体的重链，第一轻链包含选自 SEQ ID NO: 176 或其任何变体的轻链。

在一些实施方案中，第二重链包含 SEQ ID NO: 182 或其任何变体的重链，第二轻链包含 SEQ ID NO: 180 或其任何变体的轻链。

在一些优选的实施方案中，双特异性抗体的第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 145 或其任何变体的第一重链可变区，和氨基酸序列 SEQ ID NO: 142 或其任何变体的第一轻链可变区；第二结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 138 或其任何变体的第二重链可变区，和氨基酸序列 SEQ ID NO: 106 或其任何变体的第二轻链可变区。

在一些优选的实施方案中，双特异性抗体的第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 150 或其任何变体的第一重链可变区，和氨基酸序列 SEQ ID NO: 148 或其任何变体的第一轻链可变区；第二结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 138 或其任何变体的第二重链可变区，和氨基酸序列 SEQ ID NO: 106 或其任何变体的第二轻链可变区。

在一些优选的实施方案中，双特异性抗体的第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 154 或其任何变体的第一重链可变区，和氨基酸序列 SEQ ID NO: 152 或其任何变体的第一轻链可变区；第二结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 138 或其任何变体的第二重链可变区，和氨基酸序列 SEQ ID NO: 106 或其任何变体的第二轻链可变区。

在一些优选的实施方案中，双特异性抗体的第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 158 或其任何变体的第一重链可变区，和氨基酸序列 SEQ ID NO: 156 或其任何变体的第一轻链可变区；第二结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 138 或其任何变体的第二重链可变区，和氨基酸序列 SEQ ID NO: 106 或其任何变体的第二轻链可变区。

在一些优选的实施方案中，双特异性抗体的第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 162 或其任何变体的第一重链可变区，和氨基酸序列 SEQ ID NO: 160 或其任何变体的第一轻链可变区；第二结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 138 或其任何变体的第二重链可变区，和氨基酸序列 SEQ ID NO: 106 或其任何变体的第二轻链可变区。

在一些优选的实施方案中，双特异性抗体的第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 166 或其任何变体的第一重链可变区，和氨基酸序列 SEQ ID NO: 164 或其任何变体的第一轻链可变区；第二结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 138 或其任何变体的第二重链可变区，和氨基酸序列 SEQ ID NO: 106 或其任何变体的第二轻链可变区。

在一些优选的实施方案中，双特异性抗体的第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 170 或其任何变体的第一重链可变区，和氨基酸序列 SEQ ID NO: 168 或其任何变体的第一轻链可变区；第二结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 138 或其任何变体的第二重链可变区，和氨基酸序列 SEQ ID NO: 106 或其任何变体的第二轻链可变区；

在一个具体实施方案中，第一重链包含 SEQ ID NO: 174，双特异性抗体的第一轻链包含 SEQ ID NO: 172；第二重链包含 SEQ ID NO: 182，第二轻链包含 SEQ ID NO: 180。

在一个具体实施方案中，第一重链包含 SEQ ID NO: 174，双特异性抗体的第一轻链包含 SEQ ID NO: 176；第二重链包含 SEQ ID NO: 182，第二轻链包含 SEQ ID NO: 180。

在一个具体实施方案中，第一重链包含 SEQ ID NO: 178，双特异性抗体的第一轻链包含 SEQ ID NO: 172；第二重链包含 SEQ ID NO: 182，第二轻链包含 SEQ ID NO: 180。

在一个具体实施方案中，第一重链包含 SEQ ID NO: 178，双特异性抗体的第一轻链包含 SEQ ID NO: 176；第二重链包含 SEQ ID NO: 182，第二轻链包含 SEQ ID NO: 180。

在一方面，本公开提供了一种结合 BCMA 的抗体或其抗原结合部分，抗体包含前述第一抗原结合部分。

在一些实施方案中，结合 BCMA 的抗体或其抗原结合部分与前述任一方面的抗体或其抗原结合部分具有至少大于 60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99% 或更高的序列同一性。

在一方面，本公开提供了编码如前述任一方面的抗体或其抗原结合部分的核酸，或与其具有至少大于 60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99% 或更高的序列同一性的核酸分子。

在一些实施方案中，第一抗原结合部分的第一重链可变区的编码核酸选自核苷酸序列 SEQ ID NO: 11、25、35、42、49、54、64、70、80、146、151、155、159、163、167、171 或其任何变体；和/或第一抗原结合部分的第一轻链可变区的编码核酸选自核苷酸序列 SEQ ID NO: 16、21、30、39、46、52、59、68、75、82、86、91、143、149、153、157161、165、169 或其任何变体。

在一些优选的实施方案中，第一抗原结合部分的第一重链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 11；和第一轻链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 16。

在一些优选的实施方案中，第一抗原结合部分的第一重链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 11；和第一轻链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 21。

在一些优选的实施方案中，第一抗原结合部分的第一重链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 25；和第一轻链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 30。

在一些优选的实施方案中，第一抗原结合部分的第一重链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 35；和第一轻链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 39。

在一些优选的实施方案中，第一抗原结合部分的第一重链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 42；和第一轻链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 46。

在一些优选的实施方案中，第一抗原结合部分的第一重链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 49；和第一轻链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 52。

在一些优选的实施方案中，第一抗原结合部分的第一重链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 54；和第一轻链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 59。

在一些优选的实施方案中，第一抗原结合部分的第一重链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 11；和第一轻链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 39。

在一些优选的实施方案中，第一抗原结合部分的第一重链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 64；和第一轻链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 68。

在一些优选的实施方案中，第一抗原结合部分的第一重链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 70；和第一轻链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 75。

在一些优选的实施方案中，第一抗原结合部分的第一重链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 80；和第一轻链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 82。

在一些优选的实施方案中，第一抗原结合部分的第一重链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 11；和第一轻链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 86。

在一些优选的实施方案中，第一抗原结合部分的第一重链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 11；和第一轻链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 91。

在一些优选的实施方案中，第一抗原结合部分的第一重链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 146；和第一轻链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 143。

在一些优选的实施方案中，第一抗原结合部分的第一重链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 151；和第一轻链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 149。

在一些优选的实施方案中，第一抗原结合部分的第一重链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 155；和第一轻链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 153。

在一些优选的实施方案中，第一抗原结合部分的第一重链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 159；和第一轻链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 157。

在一些优选的实施方案中，第一抗原结合部分的第一重链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 163；和第一轻链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 161。

在一些优选的实施方案中，第一抗原结合部分的第一重链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 167；和第一轻链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 165。

在一些优选的实施方案中，第一抗原结合部分的第一重链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 171；和第一轻链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 169。

在一些实施方案中，第一抗原结合部分的第一重链的编码核酸选自核苷酸序列 SEQ ID NO: 175、179 或其任何变体；和/或第一抗原结合部分的第一轻链的编码核酸选自核苷酸序列 SEQ ID NO: 173、177 或其任何变体。

在一些优选的实施方案中，第一抗原结合部分的第一重链的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 175，和第一抗原结合部分的第一轻链的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 173。

在一些优选的实施方案中，第一抗原结合部分的第一重链的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 175，和第一抗原结合部分的第一轻链的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 177。

在一些优选的实施方案中，第一抗原结合部分的第一重链的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 179，和第一抗原结合部分的第一轻链的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 173。

在一些优选的实施方案中，第一抗原结合部分的第一重链的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 179，和第一抗

在一方面，本公开提供了一种结合 BCMA 的抗体或其抗原结合部分，抗体包含前述第一抗原结合部分。

在一方面，本公开提供了包含前述核酸的载体。

在一方面，本公开提供了包含前述核酸或载体的细胞。

在一方面，本公开提供了包含前述双特异性抗体或其抗原结合部分、核酸、载体和/或细胞的组合物。

在一方面，本公开提供了包含共价附着至治疗部分的前述双特异性抗体或其抗原结合部分的抗体-药物偶联物。

优选地，治疗部分选自细胞毒性部分、化疗剂、细胞因子、免疫抑制剂、免疫刺激剂、裂解肽或放射性同位素。

本公开的抗体在各种 BCMA 被不利地表达或发现的疾病中可用作治疗或诊断工具。

在一个与 BCMA 相关的疾病实施方案中，BCMA 在患病组织或器官的细胞中的表达与在健康组织或器官中的状态相比有所增加。增加是指增加至少 10%、特别是至少 20%、至少 50%、至少 100%、至少 200%、至少 500%、至少 1000%、至少 10000% 或甚至更多。在一个实施方案中，表达仅在患病组织中发现，而在相应健康组织中的表达受阻抑。根据本公开，与 BCMA 相关的疾病包括 B 细胞疾病，例如 B 细胞障碍，如浆细胞障碍和/或自体免疫疾病。

在一些实施方案中，疾病状况是癌症。在一些实施方案中，癌症是 B-细胞相关癌症，其选自多发性骨髓瘤、恶性浆细胞瘤、霍奇金淋巴瘤、结节性淋巴细胞为主的霍奇金淋巴瘤、Kahler's 病和骨髓性白血病、浆细胞白血病、浆细胞瘤、B-细胞幼淋巴细胞白血病、毛细胞白血病、B-细胞非霍奇金淋巴瘤(NHL)、急性髓性白血病(AML)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、急性淋巴细胞白血病(ALL)、慢性髓性白血病(CML)、滤泡性淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、大细胞淋巴瘤、前体 B-淋巴细胞淋巴瘤、髓性白血病、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症、弥漫性大 B 细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、粘膜相关淋巴组织淋巴瘤、小细胞淋巴细胞性淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、原发性纵膈(胸腺)大 B 细胞淋巴瘤、淋巴浆细胞淋巴瘤、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症、淋巴结边缘区 B 细胞淋巴瘤、脾边缘区淋巴瘤、血管内大 B-细胞淋巴瘤、原发性渗出性淋巴瘤、淋巴瘤样肉芽肿病、富含 T 细胞/组织细胞的大 B-细胞淋巴瘤、原发性中枢神经系统淋巴瘤、原发性皮肤弥漫性大 B-细胞淋巴瘤(腿型)、老年人 EBV 阳性弥漫性大 B-细胞淋巴瘤、炎症相关的弥漫性大 B-细胞淋巴瘤、血管内大 B-细胞淋巴瘤、ALK 阳性大 B-细胞淋巴瘤、浆母细胞淋巴瘤、HHV8 相关的多中心 Castleman 病中产生的大 B-细胞淋巴瘤、未分类的具有弥漫性大 B-细胞淋巴瘤和伯基特淋巴瘤中间特征的 B-细胞淋巴瘤、未分类的具有弥漫性大 B-细胞淋巴瘤和经典霍奇金淋巴瘤中间特征的 B-细胞淋巴瘤以及其他 B-细胞相关淋巴瘤。

在浆细胞障碍中，一个浆细胞克隆不受控制地繁殖。结果，该克隆产生大量称为 M-蛋白的单一(单克隆)抗体。在一些情况下，例如患有单克隆丙种球蛋白病，产生的抗体是不完整的，其仅由轻链或重链组成。这些异常浆细胞及其产生的抗体通常限于一种类型。优选地，浆细胞障碍选自：多发性骨髓瘤、浆细胞瘤、浆细胞白血病、巨球蛋白血症、淀粉样变性、华氏巨球蛋白血症、孤立性骨浆细胞瘤、髓外浆细胞瘤、骨硬化性骨髓瘤、重链病、意义不明的单克隆丙种球蛋白病以及郁积型多发性骨髓瘤。

在一些实施方案中，疾病状况是自身免疫性疾病，如系统性红斑性狼疮或类风湿性关节炎。

在一些实施方案中，该治疗剂包含特异性结合活化性 T 细胞抗原的抗体。

在一个实施方案中，该治疗剂包含特异性结合 CD3，特别是 CD3ε 的抗体。

用本公开的双特异性抗体治疗的疾病和症状方法包括下述步骤：向哺乳动物施用治疗有效量的前述任一方面的抗体或其抗原结合片段或核酸分子或载体或细胞或药物组合物。

在一些实施方案中，本公开提供治疗或预防癌症疾病的方法，其包括向患者施用能够结合 BCMA 的抗体，其中施用抗体以提供至少 40µg/ml 的血清水平。在不同实施方案中，施用抗体以提供至少 50µg/ml、至少 150µg/ml、至少 300µg/ml、至少 400µg/ml 或至少 500µg/ml 的血清水平。在不同实施方案中，施用抗体以提供不超过 800µg/ml、700µg/ml、600µg/ml、550µg/ml 或 500µg/ml 的血清水平。在一个实施方案中，所提供的血清水平为 40µg/ml 至 700µg/ml，优选为 40µg/ml 至 600µg/ml，优选为 50µg/ml 至 500µg/ml，如 150µg/ml 至 500µg/ml 或者 300µg/ml 至 500µg/ml。如本说明书中使用的术语“血清水平”，其意指所讨论的物质在血清中的浓度。在一个实施方案中，提供血清水平至少 7 天或至少 14 天。在一个实施方案中，所述方法包括施用至少 300mg/m² 的抗体剂量，如至少 600mg/m²，且优选至多 1500mg/m²，至多 1200mg/m² 或至多 1000mg/m²。

在一些实施方案中，本公开提供治疗或预防癌症疾病的方法，其包括向患者施用能够结合 BCMA 的抗体，其中以至少 300mg/m²，如至少 600mg/m²，且优选至多 1500mg/m²，至多 1200mg/m² 或至多 1000mg/m² 的剂量施用抗体。

在一些实施方案中，本公开提供治疗或预防癌症疾病的方法，其包括向患者施用能够结合 BCMA 的抗体，其中患者的至少 50%，优选为 60%、70%、80% 或 90% 的癌细胞为 BCMA 阳性和/或患者的至少 40%，优选为 50% 或 60% 的癌细胞为 BCMA 的表面表达阳性。在该方面，本公开还提供治疗或预防癌症疾病的方法，方法包括：a. 鉴定显示至少 50%，优选为 60%、70%、80% 或 90% 的 BCMA 阳性癌细胞和/或至少 40%，优选为 50% 或 60% 的癌细胞的患者的，癌细胞为 BCMA 的表面表达阳性；以及 b. 向患者施用能够结合 BCMA 的抗体。在一个实施方案中，患者的至少 95% 或至少 98% 的癌细胞为 BCMA 阳性的。在一个实施方案中，患者的至少 70%、至少 80% 或至少 90% 的癌细胞为 BCMA 的表面表达阳性。

在本文所述的任何方面的方法的一个实施方案中，癌症疾病的治疗结果是实现病情稳定。在一个实施方案中，病情稳定实现至少 2 个月、至少 3 个月或至少 6 个月。

在一些实施方案中，本公开提供实现癌症患者的病情稳定的方法，其包括向患者施用能够结合 BCMA 的抗体。在一个实施方案中，病情稳定实现至少 2 个月、至少 3 个月或至少 6 个月。

在本文所述的任何方面的方法的一个实施方案中，以单剂量或多剂量施用抗体。

在一些实施方案中，本公开提供治疗或预防癌症疾病的方法，其包括向患者施用能够结合 BCMA 的抗体，其中以多剂量施用抗体。

如果根据本公开以多次剂量施用抗体，则优选以至少 3 次剂量、至少 4 次剂量、至少 5 次剂量、至少 6 次剂量、至少 7 次剂量、至少 8 次剂量、至少 9 次剂量或至少 10 次剂量且优选至多 30 次剂量、25 次剂量、20 次剂量、15 次剂量或 10 次剂量施用抗体。优选以至少 7 天、至少 10 天、至少 14 天或至少 20 天的时间间隔施用抗体的剂量。优选以 7 至 30 天、10 至 20 天且优选为约 14 天的时间间隔施用抗体的剂量。

在一个实施方案中，施用抗体以便提供至少 40 $\mu\text{g/ml}$ 的血清水平。在不同实施方案中，施用抗体以便提供至少 50 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 150 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 300 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 400 $\mu\text{g/ml}$ 或至少 500 $\mu\text{g/ml}$ 的血清水平。在不同实施方案中，施用抗体以便提供不超过 800 $\mu\text{g/ml}$ 、700 $\mu\text{g/ml}$ 、600 $\mu\text{g/ml}$ 、550 $\mu\text{g/ml}$ 或 500 $\mu\text{g/ml}$ 的血清水平。在一个实施方案中，所提供的血清水平为 40 $\mu\text{g/ml}$ 至 700 $\mu\text{g/ml}$ ，优选为 40 $\mu\text{g/ml}$ 至 600 $\mu\text{g/ml}$ ，优选为 50 $\mu\text{g/ml}$ 至 500 $\mu\text{g/ml}$ ，如 150 $\mu\text{g/ml}$ 至 500 $\mu\text{g/ml}$ 或 300 $\mu\text{g/ml}$ 至 500 $\mu\text{g/ml}$ 。在一个实施方案中，提供血清水平至少 7 天或至少 14 天。在一个实施方案中，所述方法包括施用至少 300 mg/m^2 ，如至少 600 mg/m^2 且优选至多 1500 mg/m^2 、至多 1200 mg/m^2 或至多 1000 mg/m^2 的抗体的剂量。

前述任一方面的抗体或其抗原结合片段或核酸分子或载体或细胞或药物组合物在制备用于治疗哺乳动物中 BCMA 相关病症的药物中的用途。

根据前述任一方面，任选地，抗体偶联其他药物，例如带标记或具有细胞毒性的缀合物。

在一方面，本公开还包括试剂盒，例如试剂盒包括本公开的抗体、其片段、同源物、其衍生物等，例如带标记或具有细胞毒性的缀合物，以及抗体使用说明、杀死特定类型细胞的缀合物等等。该说明书可包括在体外、体内或离体使用抗体、缀合物等的指导。抗体可以是液体形式或固体，通常是冻干的。该试剂盒可包含其它适宜的试剂，如缓冲液、重构溶液以及为了预定用途的其它必要成分。考虑了以预定量包装好的试剂组合与用于其用途的说明书，用途例如用于治疗用途或用于进行诊断测定。当抗体是带标记的时，例如用酶标记的，那么该试剂盒可包括底物和酶所需的辅因子（例如提供可检测生色团或荧光团的底物前体）。此外，其它添加剂，如稳定剂、缓冲液（例如封闭缓冲液或裂解缓冲液）等也可包括在内。多种试剂的相对量可以改变而提供试剂溶液的浓缩物，这就提供了用户灵活性、节省空间、节省试剂等。这些试剂也可以干粉形式提供，通常是冻干形式，包括赋形剂，它在溶解时可提供具有适当浓度的试剂溶液。

前述任一方面的抗体或其功能片段或核酸分子或载体或细胞或药物组合物或试剂盒在制备用于抑制 BCMA 结合的试剂中的用途。

此外，本公开的抗体还可用于免疫测定、纯化方法以及其它用到免疫球蛋白或其片段的方法。此类用途在本领域为人所熟知。

相应地，本公开还提供包含本公开的抗 BCMA 的抗体或其片段的组合物，抗体方便地和药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂组合，这是本领域的常规做法。

本公开所使用的术语“药物组合物”系指多种制备物的制剂。含有治疗有效量的多价抗体的制剂为无菌液体溶液、液体悬浮剂或冻干形式，任选地包含稳定剂或赋形剂。

本公开的抗体可以作为单独施用的组合物使用，或可与其它活性剂联合使用。

在一些实施方案中，本公开的人源化抗体与治疗部分（即药物）偶联。治疗部分可以是例如细胞毒素、化疗剂、细胞因子、免疫抑制剂、免疫刺激剂、裂解肽或放射性同位素。此类偶联物在本文中称为“抗体-药物偶联物”或“ADC”。

在一些实施方案中，抗体与细胞毒性部分偶联。细胞毒性部分可以例如选自以下：紫杉醇；细胞松弛素 B；短杆菌肽 D；溴化乙锭；吐根碱；丝裂霉素；依托泊苷；替尼泊苷；长春新碱；长春碱；秋水仙碱；多柔比星；柔红霉素；二羟基蒽二酮；微管蛋白抑制剂如美登素或其类似物或衍生物；抗有丝分裂剂如单甲基奥瑞他汀 E 或 F 或其类似物或衍生物；海兔毒素 10 或 15 或其类似物；伊立替康或其类似物；米托蒽醌；光辉霉素；放线菌素 D；1-脱氢鞣酮；糖皮质激素；普鲁卡因；丁卡因；利多卡因；普萘洛尔；嘌呤霉素；卡奇霉素或其类似物或衍生物；抗代谢药，如甲氨喋呤、6 巯基嘌呤、6 巯鸟嘌呤、阿糖胞苷、氟达拉滨、5 氟尿嘧啶、癸二嗪、羟基脲、天冬酰胺酶、吉西他滨或克拉屈滨；烷化剂，如二氯甲基二乙胺、硫代嘌呤、苯丁酸氮芥、美法仑、卡莫司汀 (BSNU)、洛莫司汀 (CCNU)、环磷酰胺、白消安、二溴甘露醇、链脲佐菌素、达卡巴嗪 (DTIC)、丙卡巴嗪、丝裂霉素 C；铂类衍生物，如顺铂或卡铂；多卡霉素 A、多卡霉素 SA、雷切霉素 (CC-1065) 或其类似物或衍生物；抗生素，如放线菌素、博来霉素、柔红霉素、多柔比星、伊达比星、光霉素、丝裂霉素、米托蒽醌、普利霉素、安定霉素 (AMC)；吡咯并 [2,1-c] [1,4]-苯并二氮杂卓 (PDB)；白喉毒素及相关分子如白喉 A 链及其活性片段和杂合分子、蓖麻毒素如蓖麻毒素 A 或去糖基化蓖麻毒素 A 链毒素、霍乱毒素、志贺样毒素如 SLT I、SLT II、SLT IIV、LT 毒素、C3 毒素、志贺毒素、百日咳毒素、破伤风毒素、大豆 Bowman-Birk 蛋白酶抑制剂、假单胞菌外毒素、阿罗林、皂草素、蒴莲根毒素、胶凝蛋白、相思豆毒素 A 链、蒴莲根毒素 A 链、 α -sarcin、油桐 (Aleurites fordii) 蛋白、石竹素蛋白、美洲商陆蛋白如 PAPI、PAPII 和 PAP-S、苦瓜 (momordica charantia) 抑制剂、泻果素、巴豆毒素、肥皂草 (sapaonaria officinalis) 抑制剂、白树毒素、丝裂霉素、局限曲菌素、酚霉素和依诺霉素毒素；核糖核酸酶 (RNase)；DNase I、葡萄球菌内毒素 A；商陆抗病毒蛋白；白喉毒素和假单胞菌内毒素。

在一些实施方案中，抗体与奥瑞他汀或其类似物、衍生物或前药偶联。已经表明，奥瑞他汀干扰微管动力学、GTP 水解以及核和细胞分裂并具有抗癌和抗真菌活性。例如，奥瑞他汀 E 可以与对乙酰基苯甲酸或苯甲酰基戊酸反应，分别产生 AEB 和 AEVB。其他典型的奥瑞他汀衍生物包括 AFP、MMAF (单甲基奥瑞他汀 F) 和 MMAE (单甲基

奥瑞他汀 E)。合适的奥瑞他汀和奥瑞他汀的类似物、衍生物和前药，以及用于将奥瑞他汀与 Ab 偶联的合适接头描述于例如美国专利号 5,635,483、5,780,588 和 6,214,345 以及国际专利申请公开 WO02088172、WO2004010957、WO2005081711、WO2005084390、WO2006132670、WO03026577、WO2007008860、WO207011968 和 WO205082023。

在一些实施方案中，抗体与吡咯并[2,1-c][1,4]-苯并二氮杂卓(PDB)或其类似物、衍生物或前药偶联。合适的 PDB 以及 PDB 衍生物和相关技术描述于例如 Hartley J.A. 等, *Cancer Res* 2010; 70(17):6849-6858; Antonow D. 等, *Cancer J* 2008; 14(3):154-169; Howard P.W. 等, *Bioorg Med Chem Lett* 2009; 19:6463-6466 和 Sagnou 等, *Bioorg Med Chem Lett* 2000; 10(18):2083-2086。

在一些实施方案中，抗体与选自以下的细胞毒性部分偶联：蒽环类抗生素、美登素、卡奇霉素、多卡霉素、雷切霉素(CC-1065)、海兔毒素 10、海兔毒素 15、伊立替康、单甲基奥瑞他汀 E、单甲基奥瑞他汀 F、PDB，或它们的任何类似物、衍生物或前药。

在一些实施方案中，抗体与蒽环类抗生素或其类似物、衍生物或前药偶联。在一些实施方案中，抗体与美登素或其类似物、衍生物或前药偶联。在一些实施方案中，抗体与卡奇霉素或其类似物、衍生物或前药偶联。在一些实施方案中，抗体与多卡霉素或其类似物、衍生物或前药偶联。在一些实施方案中，抗体与雷切霉素(CC-1065)或其类似物、衍生物或前药偶联。在一些实施方案中，抗体与海兔毒素 10 或其类似物、衍生物或前药偶联。在一些实施方案中，抗体与海兔毒素 15 或其类似物、衍生物或前药偶联。在一些实施方案中，抗体与单甲基奥瑞他汀 E 或其类似物、衍生物或前药偶联。在一些实施方案中，抗体与单甲基奥瑞他汀 F 或其类似物、衍生物或前药偶联。在一些实施方案中，抗体与吡咯并[2,1-c][1,4]-苯并二氮杂卓或其类似物、衍生物或前药偶联。在一些实施方案中，抗体与伊立替康或其类似物、衍生物或前药偶联。

在一些实施方案中，抗体与细胞因子(例如 IL-2、IL-4、IL-6、IL-7、IL-10、IL-12、IL-13、IL-15、IL-18、IL-23、IL-24、IL-27、IL-28a、IL-28b、IL-29、KGF、IFN α 、IFN β 、IFN γ 、GM-CSF、CD40L、Flt3 配体、干细胞因子、安西司亭和 TNF α)偶联。

在一些实施方案中，抗体与放射性同位素或含放射性同位素的螯合物偶联。例如，抗体可以与允许抗体与放射性同位素络合的螯合剂接头(例如 DOTA、DTPA 或噻西坦)偶联。抗体还可以或可选地包含一个或多个放射性标记的氨基酸或其他放射性标记的分子或与之偶联。放射性同位素的非限制性实例包括 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{35}S 、 ^{90}Y 、 ^{99}Tc 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{186}Re 、 ^{213}Bi 、 ^{225}Ac 和 ^{227}Th 。为了治疗目的，可以使用发射 β 或 α 颗粒辐射的放射性同位素，例如 ^{131}I 、 ^{90}Y 、 ^{211}At 、 ^{212}Bi 、 ^{67}Cu 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 和 ^{212}Pb 。

将分子与抗体偶联的技术是本领域熟知的。通常，核酸分子分别通过 N-羟基琥珀酰亚胺酯或马来酰亚胺官能团与抗体上的赖氨酸或半胱氨酸共价连接。据报道，使用工程化半胱氨酸或整合非天然氨基酸的偶联方法可改进偶联物的同质性。特别地，本领域技术人员还可以预期用含酰基供体谷氨酰胺的标签(例如含有 Gin 肽的标签或 Q-标签)或通过多肽工程(例如通过多肽上的氨基酸缺失、插入、取代或突变)产生反应性的内源性谷氨酰胺工程化的含 Fc 多肽。然后，转谷氨酰胺酶可与胺供体剂(例如，包含或连接于反应性胺的小分子)共价交联，以形成稳定且均质的工程化含 Fc 多肽偶联物群，其中胺供体剂通过含酰基供体谷氨酰胺标签或可接近/暴露/反应性的内源性谷氨酰胺位点特异性地与含 Fc 多肽偶联(WO2012059882)。

应当理解，根据上述实施方案的治疗剂将与合适的药学上可接受的载体、赋形剂、以及其它被掺入制剂中以提供改善的转移、递送、耐受性等的试剂一同施用。大量适当的制剂可见于所有药物化学工作者已知的药典中：Remington's Pharmaceutical Sciences (第 15 版, Mack Publishing Company, Easton, Pa. (1975))，特别是其中 Blaug、Seymour 的第 87 章。这些制剂包括例如粉末、糊剂、膏剂、凝胶剂、蜡、油、脂质、含脂质(阳离子或阴离子)载体(例如 LipofectinTM)、DNA 缀合物、无水吸浆、水包油和油包水乳液、乳液聚乙二醇(各种分子量的聚乙二醇)、半固态凝胶以及含有聚乙二醇的半固态混合物。任何前述混合物均可适用于根据本公开的治疗或疗法，条件是制剂中的活性成分不被制剂灭活并且制剂在生理学上是相容的并耐受给药途径。

在一个实施方案中，可将抗体用作治疗剂。此类试剂将通常用于治疗、缓解和/或预防受试者的与异常 BCMA 表达、活性和/或信号传导相关的疾病或病理。可使用标准方法通过鉴定受试者，例如患有(或处于风险或发展)与异常 BCMA 表达、活性和/或信号传导相关的疾病或障碍，例如 BCMA 相关病症的患者来实施治疗方案。将抗体制剂，优选对其靶抗原具有高特异性和高亲和性的抗体制剂施用给受试者并且将通常因其与靶标结合而产生效应。施用的抗体可消除或抑制或妨碍靶标(例如 BCMA)的表达、活性和/或信号传导功能。施用的抗体可消除或抑制或妨碍靶标(例如 BCMA)与其所天然结合的内源性的配体结合。例如，抗体与靶标结合并调节、阻断、抑制、减少、拮抗、中和或以其它方式妨碍 BCMA 表达、活性和/或信号传导。在一些实施方案中，为治疗与异常 BCMA 表达相关的疾病或障碍，可将具有重链和轻链 CDR 的抗体施用给受试者。

在另一个实施方案中，针对 BCMA 的抗体可用于本领域中已知的与 BCMA 定位和/或定量相关的方法(例如，用于测定适当生理样品中的 BCMA 和/或 BCMA 的水平，用于诊断方法，用于蛋白成像等等)。在一个给定实施方案中，对 BCMA 或其衍生物、片段、类似物或同系物具有特异性的、包含源于抗体的抗原结合结构域的抗体，被用作药理学活性化合物(下文称为“治疗剂”)。

在另一个实施方案中，可通过标准技术例如免疫亲和、色谱或免疫沉淀，使用对 BCMA 具有特异性的抗体来分离 BCMA 多肽。针对 BCMA 蛋白质的抗体(或其片段)可用于检测生物样品中的蛋白质。在一些实施方案中，在生物样品中可检测 BCMA 作为临床测试过程的一部分，例如，用于确定给定治疗方案的功效。将抗体偶联(即物理连接)到可检测物质可有利于检测。可检测物质的示例包括各种酶、辅基、荧光材料、发光材料、生物发光材料和放射性材料。合适的酶的示例包括辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶、 β -半乳糖苷酶或乙酰胆碱酯酶；合适的辅基

复合物的示例包括链霉亲和素/生物素和亲和素/生物素；合适的荧光材料的示例包括伞形酮、荧光素、异硫氰酸荧光素、罗丹明、二氯三嗪荧光素、丹磺酰氯或藻红蛋白；发光材料的一个示例包括鲁米诺；生物发光材料的示例包括荧光素酶、荧光素和水母蛋白，并且合适放射性材料的示例包括 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{35}S 或 ^3H 。

在另一个实施方案中，根据本公开的抗体可用作检测样品中 BCMA 或其蛋白质片段存在的试剂。在一些实施方案中，抗体包含可检测标记。抗体为多克隆抗体，或更优选单克隆抗体。使用完整的抗体或其片段（例如 Fab、scFv 或 F(ab) $_2$ ）。关于抗体的术语“标记”旨在包括通过将可检测物质偶联（即物理连接）到该抗体来直接标记该抗体，以及通过与直接标记的另一种试剂反应来间接标记该抗体。间接标记的示例包括使用荧光标记的第二抗体检测第一抗体，以及用生物素进行末端标记抗体，以便能够用荧光标记的链霉亲和素进行检测。术语“生物样品”旨在包括从受试者分离的组织、细胞和生物学流体，以及受试者体内存在的组织、细胞和流体。因此，使用的术语“生物样品”包括血液和血液中的级分或组分，包括血清、血浆、或淋巴液。换言之，上述实施方案的检测方法可用于在体外及体内检测生物样品中的分析物 mRNA、蛋白质或基因组 DNA。例如，分析物 mRNA 体外检测技术包括 Northern 杂交和原位杂交。分析物蛋白质体外检测技术包括酶联免疫吸附测定（ELISA）、Western 印迹、免疫沉淀、以及免疫荧光。分析物基因组 DNA 体外检测技术包括 Southern 杂交。用于进行免疫测定的过程描述于例如“ELISA: Theory and Practice: Methods in Molecular Biology”，第 42 卷，J. R. Crowther（编辑）Human Press, Totowa, N. J., 1995; “Immunoassay”，E. Diamandis 和 T. Christopoulos, Academic Press, Inc., San Diego, Calif., 1996; 以及“Practice and Theory of Enzyme Immunoassays”，P. Tijssen, Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 1985。此外，分析物蛋白质的体内检测技术包括向受试者体内导入标记的抗分析物蛋白抗体。例如，可以用放射性标记标记抗体，然后通过标准成像技术检测受试者体内该放射性标记物的存在和位置。

可将本文所述抗体和其衍生物、片段、类似物和同系物掺入适于施用的药物组合物中。制备此类组合物所涉及的原则和考虑事项以及选择组分的指南在本领域中是熟知的，例如参见 Remington's Pharmaceutical Sciences: The Science And Practice Of Pharmacy 第 19 版（Alfonso R. Gennaro 等人编辑）Mack Pub. Co., Easton, Pa.: 1995; Drug Absorption Enhancement: Concepts, Possibilities, Limitations, And Trends, Harwood Academic Publishers, Langhorne, Pa., 1994; 以及 Peptide And Protein Drug Delivery (Advances In Parenteral Sciences, 第 4 卷), 1991, M. Dekker, New York。

此类组合物通常包含抗体和药学上可接受的载体。当使用抗体片段时，与靶蛋白结合结构域特异性结合的最小抑制片段可为优选的。例如，基于抗体的可变区序列，可以设计保留结合靶蛋白质序列能力的肽分子。此类肽可通过化学合成和/或通过重组 DNA 技术产生（参见例如 Marasco 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:7889-7893 (1993)）。

如本文所用，术语“药学上可接受的载体”旨在包括与药物给药相容的任何和所有溶剂、分散介质、包衣、抗菌剂和抗真菌剂、等渗剂和吸收延缓剂等。合适的药学上可接受的载体描述于最新版的 Remington's Pharmaceutical Sciences 中，这是本领域的标准参考书目，其以引用方式并入本文。此类载体或稀释剂的优选示例包括但不限于水、盐水、林格氏溶液、葡萄糖溶液和 5% 的人血清白蛋白。也可以使用脂质体和非水性载体，例如固定化油。将此类介质和试剂用于药物活性物质是本领域熟知的。除去任何常规的介质或试剂与抗体不相容之外，设想其在组合物中的用途。

将上述实施方案的药物组合物配制成与其预期施用途径相容。给药途径的示例包括肠胃外，例如静脉内、皮内、皮下、经口（例如吸入）、经皮（即局部的）、经粘膜和直肠给药。用于肠胃外、皮内或皮下施用的溶液或悬浮液可包括以下组分：注射用无菌稀释剂例如水、盐溶液、固定油、聚乙二醇类、甘油、丙二醇或其它合成溶剂；抗菌剂，例如苯醇或对羟基苯甲酸甲酯；抗氧化剂，例如抗坏血酸或亚硫酸氢钠；螯合剂，例如乙二胺四乙酸（EDTA）；缓冲剂，例如乙酸盐、柠檬酸盐或磷酸盐、以及调节渗透压的试剂，例如氯化钠或右旋糖。pH 可用酸或碱进行调节，例如盐酸或氢氧化钠。可将肠胃外制剂包装在安瓿、一次性注射器或玻璃或塑料制多剂量小瓶内。

适于注射用途的药物组合物包括无菌水性溶液（在此是水溶性的）或分散体以及用于即时制备无菌注射液或分散体的无菌粉末。对于静脉内施用，合适的药学上可接受的载体包括生理盐水、抑菌水、Cremophor ELTM（BASF, Parsippany, N.J.）或磷酸盐缓冲盐水（PBS）。在所有情况下，组合物必须是无菌的并且应当为流动性达到易于注射的程度。其在制造和储存条件下必须是稳定的并且必须能防止微生物例如细菌和真菌的污染作用。载体可以是含有例如水、乙醇、多元醇（例如，甘油、丙二醇和液体聚乙二醇等）的溶剂或分散介质，及其适宜的混合物。例如通过利用涂层例如卵磷脂，在分散体情况下维持所需颗粒尺寸，以及利用表面活性剂，可以保持适宜的流动性。对微生物作用的防止可以通过各种抗菌剂和抗真菌剂例如对羟基苯甲酸酯、氯代丁醇、苯酚、抗坏血酸、硫柳汞等来实现。在许多情况下，将优选在组合物中包含等渗剂，例如糖、多元醇（诸如甘露糖醇、山梨醇）、氯化钠。注射用组合物的延长吸收可通过在组合物中包含延缓吸收的试剂例如单硬脂酸铝和明胶来达到。

根据需要，可以通过将抗体以所需量掺入具有上文所列成分中的一种或组合（按需要）的合适溶剂中来制备无菌注射溶液，然后过滤消毒。一般来讲，通过将抗体掺入含有碱性分散介质和上文所列那些中的所需其它成分的无菌载体中来制备分散体。就用于制备无菌注射溶液的无菌粉末而言，制备方法是获得粉末的真空干燥和冷冻干燥，该粉末包含活性成分和任何另外的期望成分，它们来自前述的这些成分的无菌过滤溶液。

对于吸入给药，从包含合适推进剂如二氧化碳等气体的加压容器或分配器或者喷雾器以气溶胶喷雾形式递送化合物。

还可以通过经粘膜或透皮方式全身给药。对于经粘膜或透皮给药，在制剂中使用适于渗透屏障的渗透剂。此类渗透剂通常在本领域是通常所知的，并且包括如用于经粘膜给药的清洁剂、胆盐和夫西地酸衍生物。经粘膜给药可以通过使用喷雾剂或栓剂来实现。对于透皮给药，可将一种或多种抗体配制成如本领域通常所知的膏剂、软膏、凝

胶、或霜膏。

还可将化合物以栓剂（例如，具有常规栓剂基质，如可可脂或其它甘油酯）或滞留性灌肠剂形式进行制备以用于经直肠递送。

在一个实施方案中，抗体可用防止其不被身体迅速消除的载体制备，例如缓释/控释制剂，包括植入体和微胶囊化递送体系。可使用可生物降解、可生物相容的聚合物，例如乙烯-乙酸乙烯酯、聚酐、聚乙醇酸、胶原、聚原酸酯和聚乳酸。用于制备此类制剂的方法对于本领域技术人员而言是显而易见的。

尤其有利的是以剂量单位形式配制肠胃外组合物以易于施用和剂量的一致性。如本文所用，剂量单位形式是指用于待治疗的受试者，适合作为单位剂量的物理上可分离的单位；每个单位含有经计算与所需药物载体结合产生期望治疗效果的预定量的一种或多种抗体。上述实施方案的剂量单位形式的规格由以下指示并直接取决于：抗体的独特特征和待实现的具体治疗效果，和用于治疗个体的此类抗体的调配领域中固有的局限性。

药物组合物可与给药说明书一起放于容器、包装、或分配器中。

本文所述制剂还可根据要治疗的具体情况而包含多于一种抗体，优选具有互补活性但对彼此无负面影响的那些。另选地或除此之外，组合物可例如包含增强其功能的试剂，诸如细胞毒素试剂、细胞因子、化学治疗剂、或生长抑制剂。此类分子以对预期目的有效的量适当地联合存在。例如，可以在试剂盒中联合存在，也可以在使用中联合存在。

在一个实施方案中，一种或多种抗体可在联合治疗中施用，即与其它试剂例如治疗剂（其可用于治疗病理学病症或障碍，例如各种形式的癌症、自身免疫性障碍和炎性疾病）联合。术语“联合”在本文中是指将试剂基本上同步地，同时地或顺次地给予。如果顺次给予，则在开始施用第二种化合物时，两种化合物中的第一种仍优选在治疗位点处以有效浓度被检测到。在一种情况下，“联合”也可以是在试剂盒中同时包含本公开的抗体和其他治疗剂。

例如，联合治疗可包含本文所述一种或多种抗体与一种或多种附加治疗剂（例如一种或多种细胞因子和生长因子抑制剂、免疫抑制剂、抗炎剂、代谢抑制剂、酶抑制剂、和/或细胞毒素或细胞生长抑制剂，如下更详述的）共同配制和/或共同施用。此类联合治疗可有利地利用较低剂量的施用的治疗剂，因而避免了与各种单一疗法相关的可能毒性或并发症。

在一个实施方案中，抗 BCMA 抗体的施用和治疗剂的施用可以降低该受试者中的 B 细胞的数目。

在一个实施方案中，与相应的不施用抗 BCMA 抗体的治疗方案相比该治疗方案有效降低该受试者中与该 T 细胞活化性治疗剂的施用相关的细胞因子释放。

为了达到清楚和简洁描述的目的，本文中作为相同的或分开的一些实施方案的一部分来描述特征，然而，将要理解的是，本公开的范围可包括具有所描述的所有或一些特征的组合的一些实施方案。

实施例

实施例 1 抗原表达和稳转细胞的构建

分别以人 BCMA (Sino biological, HG10620-M) 和恒河猴 BCMA (Sino biological, CG90103-G, 与食蟹猴 XP_005591343.1 胞外区序列相同) 为模板，扩增人 BCMA (Met1-Asn53) 或恒河猴 BCMA (Met1-Asn52)，C 端与小鼠 IgG2a Fc 融合，转染 HEK293E 细胞，表达得到人或食蟹猴 BCMA-mFc 双价重组蛋白（氨基酸序列如 SEQ ID NO. 1-2 所示）；或与人 IgG Fc (knob) 融合，利用 knob-into-hole 技术，和人 IgG Fc (hole) 共转染 HEK293E 细胞，得到人或食蟹猴 BCMA-hFc kih 单价重组蛋白（氨基酸序列如 SEQ ID NO. 3-5 所示）。图 1 示出了人、食蟹猴 BCMA-mFc 双价重组蛋白和 BCMA-hFc kih 单价重组蛋白的 SDS-PAGE 结果。

将含有人或食蟹猴 BCMA 全长序列的 Lenti 载体和包装质粒 (Genecopia)，共转染 HEK293T 细胞，转染 48 小时后收集含有假病毒的培养上清，取 10 μ L 感染 1 \times 10⁶ CHO 细胞，加入不同浓度的嘌呤霉素 (puromycin) 进行抗性筛选，最终分离得到高表达人或食蟹猴 BCMA 的稳转细胞 CHO-hBCMA (克隆 2C2) 和 CHO-cynoBCMA (克隆 1A2)。图 2 示出了流式细胞检测人和猴 BCMA 稳转细胞，人 BCMA 稳转细胞 (CHO-hBCMA-2C2) 和食蟹猴 BCMA 稳转细胞 (CHO-cynoBCMA-1A2) 均表达高水平的 BCMA。

构建人或食蟹猴 CD3 ϵ 异源二聚体：合成人 CD3 γ (UniProt P09693, Gln23-Asn116) 和 CD3 ϵ (UniProt P07766, Gln23-Asp126) 胞外区核苷酸序列，C 端分别与人 IgG Fc hole 或 Fc knob 融合，表达形成人 CD3 ϵ -Fc 异源二聚体（人 CD3 γ IgG Fc (hole) 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 6 所示，人 CD3 ϵ IgG Fc (knob) 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 7 所示）；同样合成食蟹猴 CD3 γ (UniProt Q95LI7, Gln23-Asn110) 和 CD3 ϵ (UniProt Q95LI5, Gln22-Asp117)，C 端与食蟹猴 IgG Fc hole 或 Fc knob 融合，表达形成食蟹猴 CD3 ϵ -Fc 异源二聚体（食蟹猴 CD3 γ IgG Fc (hole) 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 8 所示，食蟹猴 CD3 γ IgG Fc (knob) 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 9 所示。将表达 CD3 γ -Fc 和 CD3 ϵ -Fc 的重组质粒与 3mg/mL PEI (Polysciences, #24765-2) 混合，共转染 HEK293E 细胞（培养基 OPM-293 CD03 DPM），37°C 120rpm 5%CO₂ 培养 7 天后，收集培养基上清液，经 Protein A 亲和层析纯化，得到人或食蟹猴 CD3 ϵ -Fc 重组蛋白，SDS-PAGE 纯度高于 95%（图 3）。

实施例 2、动物免疫和 BCMA 抗体的制备

以 BCMA-mFc 重组蛋白或 CHO-BCMA 稳转细胞为免疫原，分别与等体积免疫佐剂 (Titermax, Sigma-Aldrich) 混合，取 6 周龄雌性 Balb/c 小鼠 (北京维通利华) 进行足垫或皮下免疫。在初次免疫以后，每两周进行一次相同剂量的加强免疫，并交替进行人和猴的抗原免疫。四次免疫后，检测到小鼠血清中 BCMA 抗体滴度大于 1:10000。进行抗原尾静脉冲击免疫 3 天后，收取小鼠脾脏和部分外周淋巴结，提取总 RNA，通过 IgG 特异引物反转录得到抗

体 cDNA, 分别扩增其中轻、重链可变区片段, 构建噬菌体 Fab 文库, 转化菌落数 (库容量) 约为 1.2×10^{10} 。

1、噬菌体抗体文库的筛选

采用经典的淘选方式, 将 1mL BCMA 免疫文库噬菌体与 3.5mL 2% BSA/PBS 溶液混合后, 加入包被人或食蟹猴 BCMA 重组蛋白的 Maxisorp Immunotube (Nunc), 结合 1 小时后, 用 PBS-吐温 (0.5%v/v) 和 PBS 进行多轮洗涤以除去非特异或低亲和力结合的噬菌体, 用 100mM 三乙胺洗脱高亲和力结合的噬菌体, 中和后感染 TG1 细胞。经二轮筛选后, 挑取单克隆接种至 96 孔 U 型板, 加入 1mM IPTG 诱导表达, 取含有 Fab 的诱导上清进行 ELISA 检测筛选, 初筛得到 265 个阳性克隆。

重新诱导表达后, 将 10 μ g/ml 的生物素化标记的人 BCMA 重组蛋白固定在 SA 探针上, 结合时间 200s, 解离时间 300s, 检测与 Fab 的亲和力 (Octet, Fortebio)。选取其中 59 个亲和力较高的克隆, 利用人、食蟹猴 BCMA-CHO 稳转细胞检测与细胞膜表面受体的结合, 其中 52 个克隆可交叉识别人和食蟹猴 BCMA-CHO 稳转细胞。

2、Biacore 测定抗体的亲和力

选择部分高亲和力抗体克隆, 提取质粒并转化 TG1 细胞, 0.1mM IPTG 30 $^{\circ}$ C 诱导表达过夜, 从细菌的周质腔抽提重组表达的 Fab, 通过 Ni-NTA 亲和层析纯化得到 Fab 抗体。Biacore 亲和力测定采用 Protein A 芯片 (GE healthcare), 设定捕获人 BCMA-hFc 重组蛋白 (0.5 μ g/mL) 为 200RU, 基线平稳后, 将梯度稀释的抗体 Fab (从 10 μ g/mL 起, 2 倍稀释 7 个梯度), 以 30 μ L/min 的流速流过芯片, 结合时间 350 秒, 解离时间 600 秒。通过 Biacore T200 evaluation 软件以 Langmuir 1:1 kinetics 模型, 拟合得到动力学常数。BCMA 抗体亲和力测定结果见表 1。

表 1、BCMA 抗体的亲和力

Fab	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (nM)
3G11	3.33E+04	4.32E-04	13.0
6G5	2.94E+04	6.13E-05	2.1
15G9	1.03E+06	1.26E-02	12.2
15H10	3.78E+04	6.90E-04	18.3
16B9	1.17E+05	4.76E-04	4.1
23F8	5.77E+04	3.22E-04	5.6
23G9	4.07E+03	3.13E-04	76.9
29A11	7.64E+04	2.43E-04	3.2
34G2	1.42E+05	7.05E-04	5.0
38E2	9.88E+04	7.98E-04	8.1
38D9	5.91E+04	3.29E-04	5.6
38F9	5.81E+03	2.00E-03	344
40C6	4.21E+04	2.71E-04	6.4

BCMA 抗体可变区序列如下:

表 2、BCMA 鼠源抗体的可变区序列

BCMA 鼠源 抗体	HCVR		HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR		LCDR1	LCDR2	LCDR3
	氨基酸 序列	核苷酸 序列	氨基酸 序列	氨基酸 序列	氨基酸 序列	氨基酸 序列	核苷酸 序列	氨基酸 序列	氨基酸 序列	氨基酸 序列
3G11	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
6G5	10	11	12	13	14	20	21	22	23	19
15G9	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33
15H10	34	35	12	36	37	38	39	17	40	19
16B9	41	42	12	43	44	45	46	47	18	19
23F8	48	49	12	50	14	51	52	17	40	19
23G9	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62
29A11	10	11	12	13	14	38	39	17	40	19
34G2	63	64	65	66	14	67	68	17	40	19
38E2	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78
38D9	79	80	12	13	14	81	82	83	84	19
38F9	10	11	12	13	14	85	86	87	88	89
40C6	10	11	12	13	14	90	91	92	23	19

3G11

3G11 重链 VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 10 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 11 所示, 其 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 分别如 SEQ ID NO. 12、13、14 所示。

```

<-----FR1-----> CDR1 <----FR2-----> CDR2 <-----
EIQLVQSGPELKKPKGETVKISCKASGYIFTNFGMNWVRQAPGKALKKWMGWINTYTGEGQIYADDFKGRFAFSLETSA
-----FR3-----> CDR3 <----FR4----->
STAYLQINLNKNEDTATYFCARGEIYYGYDVGFVYWGQGTLLVTVSA
核酸序列

```

GAGATCCAGTTGGTGCAGTCTGGACCTGAGCTGAAGAAGCCTGGAGAGACAGTCAAGATCTCCTGCAAGGCTTCTGGGT
 ATATCTTCACAACTTTGGAATGAACTGGGTGAGGCAGGCTCCAGGAAAGGCTTTAAAGTGGATGGGCTGGATAAACAC
 CTACACTGGAGAACAAATATATGCTGATGACTTCAAGGGACGGTTTGCCTTCTCTTTGGAACCTCTGCCAGCACTGCC
 TATTTGCAGATCAACAACCTCAAAAATGAGGACACGGCTACATATTTCTGTGCAAGAGGGGAGATCTACTATGGTTACG
 ACGTGGGCTTTGTTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA

3G11 轻链 VK 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 15 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 16 所示, 其 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 分别如 SEQ ID NO. 17、18、19 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <-----
 DIVLTSQSPASLTVSLGQRATISCRASKSVSTSGYSYMHWYQQKPGQPPKLLIYLASDLESVVSARFSGSGSGTDFT
 --FR3-----> CDR3 <---FR4--->
 LNIHPVEEEDAATYYCQHSRELPWTFGGGTKLEIK

核酸序列

GATATTGTGCTAACTCAGTCTCCTGCTTCCTTAACTGTATCTCTGGGCGAGAGGGCCACCATCTCATGCAGGGCCAGCA
 AAAGTGTCTAGTACATCTGGCTATAGTTATATGCAGTGGTACCAACAGAAACCAGGACAGCCACCCAACTCCTCATCTA
 TCTTGCATCCGACCTAGAATCTGGGTCTCTGCCAGGTTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCAACCTCAACATC
 CATCTGTGGAGGAGGAGGATGCTGCAACCTATTACTGTCAACACAGTAGGGAACTTCCGTGGACGTTCCGGTGGAGGCA
 CCAAGCTGGAATAAAAA

6G5

6G5 重链 VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 10 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 11 所示, 其 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 分别如 SEQ ID NO. 12、13、14 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <-----
 EIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYIFTNFGMNVWRQAPGKALKWMMGWINTYTGEOIYADDFKGRFAFSLTSA
 --FR3-----> CDR3 <---FR4--->
 STAYLQINNLKNETDATYFCARGEIIYGYDVGFFVYWGQGTLLVTVSA

核酸序列

GAGATCCAGTTGGTGCAGTCTGGACCTGAGCTGAAGAAGCCTGGAGAGACAGTCAAGATCTCCTGCAAGGCTTCTGGGT
 ATATCTTCACAACTTTGGAATGAACTGGGTGAGGCAGGCTCCAGGAAAGGCTTTAAAGTGGATGGGCTGGATAAACAC
 CTACACTGGAGAACAAATATATGCTGATGACTTCAAGGGACGGTTTGCCTTCTCTTTGGAACCTCTGCCAGCACTGCC
 TATTTGCAGATCAACAACCTCAAAAATGAGGACACGGCTACATATTTCTGTGCAAGAGGGGAGATCTACTATGGTTACG
 ACGTGGGCTTTGTTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA

6G5 轻链 VK 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 20 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 21 所示, 其 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 分别如 SEQ ID NO. 22、23、19 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <-----
 DIVLTSQSPASLAISLQQRATISCRASKSVTTSYIHWYQQKPGQPPKLLIYLASDLEAGVVPARFSGSGSGTDFT
 --FR3-----> CDR3 <---FR4--->
 LNIHPVEEEDAATYYCQHSRELPWTFGGGTKLEIK

核酸序列

GACATTGTGCTAACACAGTCTCCTGCTTCCTTAGCTATATCTCTGGGCGAGAGGGCCACCATCTCATGCAGGGCCAGCA
 AAAGTGTCTACTACATCTGGCTATAGTTATATACACTGGTACCAACAGAAACCAGGACAGCCACCCAACTCCTCATCTA
 TCTTGCATCCGACCTAGAAGCTGGGTCCCTGCCAGGTTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCAACCTCAACATC
 CATCTGTGGAGGAAGAGGATGCTGCAACCTATTACTGTCAGCACAGTAGGGAGCTTCCGTGGACGTTCCGGTGGAGGCA
 CCAAGCTGGAGCTGAAA

15G9

15G9 重链 VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 24 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 25 所示, 其 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 分别如 SEQ ID NO. 26、27、28 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <-----
 QVQLQQSGPELVKPGASVNLSCASGYTFNTNYVIHWVKQKPGGLEWIGYTIPTDVTKYNEKFKAKATLTSKSS
 --FR3-----> CDR3 <---FR4--->
 STAFMELSSLTSEDSAVYYCARYDFDGYFDYWGQGTLLTVSS

核酸序列

CAGGTCCAGCTGCAACAGTCTGGACCTGAGCTGGTGAAGCCTGGGCTTCAGTGAATTTGCTCCTGCAAGGCTTCTGGAT
 ACACATTCACATAATTATGTTATACACTGGGTAAAGCAGAAGCCTGGGCGAGGGCCTTGAGTGGATTGGATATACTATCCC
 TTACTACTGATGTTACTAAGTACAATGAGAAATCAAAGCCAAGGCCACACTGACTTCAAGACAAATCCTCCAGCACAGCC
 TTCATGGAGCTCAGCAGCTGACCTCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCAAGATATGATTTGACGGCTACTTTG
 ACTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA

15G9 轻链 VK 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 29 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 30 所示, 其 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 分别如 SEQ ID NO. 31、32、33 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <-----
 DIVMTQAAFSNPVTLGTSASISCRSSKSLLSNGITLYLYWYLQKPGQSPQLLIYQMSNLASGVPDRFSSSGSGTDFT
 --FR3-----> CDR3 <---FR4--->
 TLRISRVEAEDVGVYYCAQNLELPWTFGGGTKLEIK

核酸序列

GATATTGTGATGACTCAGGCTGCATTCTCCAATCCAGTCACTCTTGAACATCAGCTTCCATCTCCTGCAGGCTAGTA

AGAGTCTCCTACATAGTAATGGCATCACTTATTTGTATTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCTCCTCAGCTCCTGAT
TTATCAGATGTCCAACCTTGCCCTCAGGAGTCCCAGACAGGTTCACTAGCAGTGGGTGAGGAAGTATTTACACTGAGA
ATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTGGGTGTTTATTACTGTCTCAAATCTAGAAGTCCCGTGGACGTTCCGGTGGAG
GCACCAAGCTGGAGCTGAAA

15H10

15H10 重链 VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 34 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 35 所示, 其 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 分别如 SEQ ID NO. 12、36、37 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <-----
EVQLVQSGPELKKPGETVVKISCKASGYTF**TNFGMN**WVRQTPGKALKWMMG**WINTYTGDLIYGDDFKGR**FAFSLQSA
-----FR3-----> CDR3 <----FR4---->
STAYLQINLNKEDTATYFCAR**GEIYYGYDVGFA**YWGQGLVTVSA

核酸序列

GAGGTCAGCTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGAAGAAGCCTGGAGAGACAGTCAAGATCTCCTGCAAGGCTTCTGGGT
ATACCTTCACAACTTTGGAATGAACTGGGTGAGGCAGACTCCAGGAAAGGCTTTAAAGTGGATGGGCTGGATAAACAC
CTACACTGGAGACTTAATATATGTTGATGACTTTAAGGGACGGTTTGCCTTCTCTTTGGAACCTCTGCCAGCACTGCC
TATTTACAGATCAACAACCTCAAAAATGAGGACACGGCTACATATTTCTGTGCAAGAGGGGAGATCTACTATGGTTACG
ACGTGGGTTTGCCTTACTGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA

15H10 轻链 VK 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 38 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 39 所示, 其 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 分别如 SEQ ID NO. 17、40、19 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <-----
DIVLTQSPASLAVSLGQRATIS**RASKSVSTSGYSYMH**WYQQKPGQPPELLI**YLASNLES**GVPARFSGSGSGTDFT
--FR3-----> CDR3 <----FR4-->
LNIHPVEEEDAATYYC**QHSRELPWT**FGGGTKLEIK

核酸序列

GACATTGTGCTGACACAGTCTCCTGCTTCCTTAGCTGTATCTCTGGGCGAGAGGGCCACCATCTCATGCAGGGCCAGCA
AAAGTGTGAGTACATCTGGCTATAGTTATATGCACTGGTACCAACAGAAACCAGGACAGCCACCCAACTCCTCATCTA
TCTTGCATCCAACCTAGAATCTGGGTCCCTGCCAGGTTCACTGGTAGTGGGTCTGGGACAGACTTCAACCTCAACATC
CATCCTGTGGAGGAGGAGGATGCTGCAACCTATTACTGTCAGCACAGTAGGGAGCTTCCGTGGACGTTCCGGTGGAGGCA
CCAAGCTGGAATCAAA

16B9

16B9 重链 VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 41 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 42 所示, 其 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 分别如 SEQ ID NO. 12、43、44 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <-----
EIQLVQSGPELKKPGETVVKISCKASGYIF**TNFGMN**WVRQTPGKALKWMMG**WINTYTGETIYADDFKGL**FAFSLQVPA
-----FR3-----> CDR3 <----FR4---->
STAYLQINLNKEDTATYFCAR**GEIYYGFDVGFA**YWGQGLVTVSA

核酸序列

GAGATCCAGTTGGTGCAGTCTGGACCTGAGCTGAAGAAGCCTGGAGAGACAGTCAAGATCTCCTGCAAGGCTTCTGGGT
ATATTTTCACAACTTTGGAATGAACTGGGTGAGGCAGACTCCAGGAAAGGCTTTAAAGTGGATGGGCTGGATAAACAC
CTACACTGGAGAAACAATATATGCTGATGACTTCAAGGGACTATTTGCCTTCTCTTTGGAAGTGCCTGCCAGCACTGCC
TATTTGCAGATCAACAACCTCAAAAATGAGGACACGGCTACATATTTCTGTGCAAGAGGGGAGATCTACTATGGTTTCG
ACGTGGGATTTGCCTTACTGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA

16B9 轻链 VK 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 45 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 46 所示, 其 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 分别如 SEQ ID NO. 47、18、19 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <-----
DIVLTQSPASLTVSLGQRATIS**RASKSVSTSGYSYIH**WYQQKPGQPPELLI**YLASDLES**GVPARFSGSGSGTDFT
--FR3-----> CDR3 <----FR4-->
LNIHPVEEEDAATYYC**QHSRELPWT**FGGGTKLEIK

核酸序列

GACATTGTGCTAACACAGTCTCCTGCTTCCTTAAGTGTATCTCTGGGCGAGAGGGCCACCATCTCATGCAGGGCCAGCA
AAAGTGTGAGTACATCTGGCTATAGTTATATACACTGGTACCAACAGAAACCAGGACAGCCACCCAACTCCTCATCTA
TCTTGCATCCGACCTAGAATCTGGGTCCCTGCCAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCAACCTCAACATC
CATCCTGTGGAGGAGGAGGATGCTGCAACCTATTACTGTCAACACAGTAGGGAAGTCCCGTGGACGTTCCGGTGGAGGCA
CCAAGCTGGAGCTGAAA

23F8

23F8 重链 VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 48 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 49 所示, 其 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 分别如 SEQ ID NO. 12、50、14 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <-----
EIQLVQSGPELKKPGETVVKISCTASGYTF**TNFGMN**WVRQAPGKALRWMMG**WINTYTGDIYADDFKGR**FAFSLQSA
-----FR3-----> CDR3 <----FR4---->
STAYLQINLNKEDTATYFCAR**GEIYYGYDVGFB**YWGQGLVTVSA

核酸序列

GAGATCCAGTTGGTGCAGTCTGGACCTGAGCTGAAGAAGCCTGGAGAGACAGTCAAGATCTCCTGCACGGCTTCTGGGT

ATACCTTCACAACTTTGGAATGAACTGGGTGAGGCAGGCTCCAGGAAAGGCTTTAAGGTGGATGGGCTGGATAAACAC
CTACACTGGAGACCAAATATATGCTGATGACTTCAAGGGACGGTTGCCTTCTCTTTGAAACCTCTGCCAGCACTGCC
TATTTGCAGATCAACAACCTCAAAAATGAGGACACGGCTACATATTTCTGTGCAAGAGGGGAGATCTACTATGGTTACG
ACGTGGGCTTTGTTTATTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA

23F8 轻链 VK 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 51 所示，其编码核酸如 SEQ ID NO. 52 所示，其 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 分别如 SEQ ID NO. 17、40、19 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <-----FR3----->
DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASKSVSTSGYSYMHWYQQKPGQPPLLIYLASNLESGVPARFSGSGSGTDF
--FR3-----> CDR3 <---FR4--->
LNIHPVEEEDAATYYCQHSRELPWTFGGGTKLEIK

核酸序列

GACATTGTGCTAACACAGTCTCCTGCTTCCTTAGCTGTATCTCTGGGGCAGAGGGCCACCATCTCATGCAGGGCCAGCA
AAAGTGTCTAGTACATCTGGCTATAGTTATATGCACTGGTACCAACAGAAACCAGGACAGCCACCCAAACTCCTCATCTA
TCTTGCATCCAACCTAGAATCTGGGGTCCCTGCCAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCAACCTCAACATC
CATCTGTGGAGGAGGAGGATGCTGCAACCTATTACTGTCAGCACAGTAGGGAGCTTCCGTGGACGTTCCGGTGGAGGCA
CCAAGCTGGAATAAAA

23G9

23G9 重链 VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 53 所示，其编码核酸如 SEQ ID NO. 54 所示，其 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 分别如 SEQ ID NO. 55、56、57 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <-----FR3----->
EVQLQQSGTIVLRPQASVSKASGYSFSSYWMHWLQKRFQGLEWIGAIYPGNSRRTYNQKFKGEAKLTADTSA
--FR3-----> CDR3 <---FR4--->
STAYMDLSSLTNADSAVYFCTREETYWGQGLVTVSA

核酸序列

GAGGTTCTAGCTCCAGCAGTCTGGGACTGTGCTGACAAGGCTGGGGCTTCCGTGAAGTTGTCTGCAAGGCTTCTGGCT
ACAGCTTTTCCAGCTACTGGATGCACTGGCTAAAACAGAGGCTGGACAGGGTCTAGAATGGATTGGTCTATTTATCC
TGGAAATAGTCTACTACCTACAACCAGAAGTTCAAGGGCGAGGCCAAACTGACTGCGGACACTTCCGCCAGCACTGCC
TACATGGACCTCAGCAGCTGACAAATGCCGACTCTGCGGTCTATTTCTGTACAAGAGAGGAGACTTACTGGGGCCAAG
GGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA

23G9 轻链 VK 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 58 所示，其编码核酸如 SEQ ID NO. 59 所示，其 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 分别如 SEQ ID NO. 60、61、62 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <-----FR3----->
DVVMTQTPLSLSVTIGQPASISCKSSQQLLSYGVTYLNWLFQRPQPPLRIYLVSELDSGVPDRFTGSGSGTDF
--FR3-----> CDR3 <---FR4--->
TLRISRVEAEDLGIYYCWQGSHPPLTFGAGTKLELK

核酸序列

GATGTTGTGATGACCCAGACTCCACTCTCTTTGTGCGTTACCATTGGACAACCAGCCTCCATCTCTTGCAAGTCAAGTC
AGGGCCTCTTAGATAGTTATGGAGTGCATATTTGAATTGGTTGTTTTAGAGGCCAGGCCAGCCTCCAAAGCGCCTAAT
CTATCTAGTGTCTGAACTGGACTCTGGAGTCCCTGACAGGTTCACTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTACACTGAGA
ATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATTTGGGAATTTATTATTGCTGGCAAGGTTACATTTTCTCTCACGTTCCGGTGTG
GGACCAAGCTGGAGCTGAAA

29A11

29A11 重链 VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 10 所示，其编码核酸如 SEQ ID NO. 11 所示，其 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 分别如 SEQ ID NO. 12、13、14 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <-----FR3----->
EIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYIFTNFGMNWVRQAPGKALKWWMGWINTYTGEQIYADDFKGRFAFSLETS
--FR3-----> CDR3 <---FR4--->
STAYLQINLNKNETATYFCARGEIYYGYDVGFVYWGQGLVTVSA

核酸序列

GAGATCCAGCTGGTGCAGTCTGGACCTGAGCTGAAGAAGCCTGGAGAGACAGTCAAGATCTCCTGCAAGGCTTCTGGGT
ATATCTTCACAACTTTGGAATGAACTGGGTGAGGCAGGCTCCAGGAAAGGCTTTAAAGTGGATGGGCTGGATAAACAC
CTACACTGGAGAACAAATATATGCTGATGACTTCAAGGGACGGTTGCCTTCTCTTTGAAACCTCTGCCAGCACTGCC
TATTTGCAGATCAACAACCTCAAAAATGAGGACACGGCTACATATTTCTGTGCAAGAGGGGAGATCTACTATGGTTACG
ACGTGGGCTTTGTTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA

29A11 轻链 VK 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 38 所示，其编码核酸如 SEQ ID NO. 39 所示，其 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 分别如 SEQ ID NO. 17、40、19 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <-----FR3----->
DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASKSVSTSGYSYMHWYQQKPGQPPLLIYLASNLESGVPARFSGSGSGTDF
--FR3-----> CDR3 <---FR4--->
LNIHPVEEEDAATYYCQHSRELPWTFGGGTKLEIK

核酸序列

GATATTGTGCTAACTCAGTCTCCTGCTTCCTTAGCCGTATCTCTGGGGCAGAGGGCCACCATCTCATGCAGGGCCAGCA
AAAGTGTCTAGTACATCTGGCTATAGTTATATGCACTGGTACCAACAGAAACCAGGACAGCCACCCAAACTCCTCATCTA

TCTTGCATCCAACCTAGAATCTGGGGTCCCTGCCAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACCCTCAACATC
CATCCTGTGGAGGAGGAGGATGCTGCAACCTATTACTGTCAGCACAGTAGGGAGCTTCCGTGGACGTTCCGGTGGAGGCA
CCAAGCTGGAATCAAA

34G2

34G2 重链 VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 63 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 64 所示, 其 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 分别如 SEQ ID NO. 65、66、14 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <-----
EVQLQQSGPELRKPGETVKISKASGYTF**TNYGMN**WVKQTPGKGLKWMGW**WINTYTGRIYADDFKGR**FAFASLETSA
-----FR3-----> CDR3 <----FR4---->
STAYLQINNLKNETATYFCAR**GEIYYGYDVG**FVYWGQGLVTVSA

核酸序列

GAGGTCCAGTTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGAGGAAGCCTGGAGAGACAGTCAAGATCTCCTGCAAGGCTTCTGGGT
ATACCTTCACAACTATGGAATGAACTGGGTGAAGCAGACTCCAGGAAAGGGTTTAAAGTGGATGGGCTGGATAAACAC
CTACACTGGAGAACGAATATATGCTGATGACTTCAAGGGACGGTTTGCCTTCTCTTTGGAAACCTCTGCCAGCACTGCC
TATTTGCAGATCAACAACCTCAAAAATGAGGACACGGCTACATATTTCTGTGCAAGAGGGGAGATCTACTATGGTTACG
ACGTGGGCTTTGTTTACTGGGCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA

34G2 轻链 VK 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 67 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 68 所示, 其 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 分别如 SEQ ID NO. 17、40、19 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <-----
DIVLTQSPASLVVSLGQRATIS**RASKSVSTSGYSY**MHWYQQKPGQPPELLI**YLASNLES**GVPARFSGSGSDFT
--FR3-----> CDR3 <----FR4-->
LNIHPVEEDAATYYC**QHSRELPWT**FGGGTRLEIK

核酸序列

GACATTGTGCTGACACAGTCTCCTGCTTCCTTAGTTGTATCTCTGGGCAGAGGGCCACCATCTCATGCAGGGCCAGCA
AAAGTGTGCTGACATCTGGCTATAGTTATATGCAGTGGTACCAACAGAAACCAGGACAGCCACCCAAACTCCTCATCTA
TCTTGCATCCAACCTAGAATCTGGGGTCCCTGCCAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACCCTCAACATC
CATCCTGTGGAGGAGGAGGATGCTGCAACCTATTACTGTCAGCACAGTAGGGAGCTTCCGTGGACGTTCCGGTGGAGGCA
CCAGACTGGAATAAAA

38E2

38E2 重链 VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 69 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 70 所示, 其 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 分别如 SEQ ID NO. 71、72、73 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <-----
QVQLQQSGAELVLRPGTSVKMSCKAAGYTF**TNYWIG**WVKQRFPHGLEWIG**DIYPGSGDTN**YNG**KFKG**KATLAADISS
-----FR3-----> CDR3 <----FR4---->
NAAYMQLSSLTSEDSAIYYCAR**SYRNDAA**SFAYWGQGLVTVSA

核酸序列

CAGGTCCAGCTGCAGCAGTCTGGAGCTGAGCTGGTAAGCCTGGGACTTCAGTGAAGATGTCCTGCAAGGCTGCTGGAT
ACACCTTCACTAACTACTGGATAGGTTGGGTAAAGCAGAGGCTGGACATGGCCTTGAGTGGATGGAGATATTTACCC
TGGAAGTGGTGATACTAATTACAATGGGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACACTGGCTGCAGACATTTCTCCTCAACGCAGCC
TACATGCAGCTCAGCAGCTGACATCTGAGGACTCTGCCATCTATTACTGTGCAAGAAGCTACTATAGGAACGACGCGG
CCTCATTTGCTTACTGGGCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA

38E2 轻链 VK 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 74 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 75 所示, 其 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 分别如 SEQ ID NO. 76、77、78 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <-----
DIVMTQSHKFMSTSVGDRVNIT**KASQD**VDTAVAWYQQKPSQSPKLLI**YWTSTRHT**GVPDRFTGSGSGDFTLTIS
FR3-----> CDR3 <----FR4-->
NVQSEDLADYFC**QQFSSYPLT**FGAGTKLELK

核酸序列

GACATTGTGATGACCCAGTCTCACAATTCATGTCCACATCAGTAGGAGACAGGGTCAACATCACCTGCAAGGCCAGTC
AGGATGTGGATACTGCTGTAGCCTGGTATCAACAGAAACCAAGTCAATCTCCTAAACTACTGATTTACTGGACATCCAC
CCGGCACACTGGAGTCCCTGATCGCTTCACAGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTACCATTAGCAATGTGCAG
TCTGAAGACTTGGCAGATTATTTCTGTCAACAATTTAGTAGCTATCTCTCACGTTCCGGTCTGGGACCAAGCTGGAGC
TGAAA

38D9

38D9 重链 VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 79 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 80 所示, 其 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 分别如 SEQ ID NO. 12、13、14 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <-----
EVQLQQSGPELKKPGETVKISKASGYIF**TNFGMN**WVRQAPGKALKWMGW**WINTYTGQIYADDFKGR**FAFASLETSA
-----FR3-----> CDR3 <----FR4---->
STAYLQINNLKNETATYFCAR**GEIYYGYDVG**FVYWGQGLVTVSA

核酸序列

GAGGTCCAGTTGCAGCAGTCTGGACCTGAGCTGAAGAAGCCTGGAGAGACAGTCAAGATCTCCTGCAAGGCTTCTGGGT
ATATCTTCACGAACCTTGAATGAACTGGGTGAGGCAGGCTCCAGGAAAGGCTTTAAAGTGGATGGGCTGGATAAACAC

CTACACTGGAGAACAAATATATGCTGATGACTTCAAGGGACGGTTTGCCTTCTCTTTGGAAACCTCTGCCAGCACTGCC
TATTTGCAGATCAACAACCTCAAAAATGAGGACACGGCTACATATTTCTGTGCAAGAGGGGAGATCTACTATGGTTACG
ACGTGGGCTTTGTTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA

38D9 轻链 VK 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 81 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 82 所示, 其 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 分别如 SEQ ID NO. 83、84、19 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <-----FR3----->
DIVLTSQSPASLTVSLGQRATISCGASKSVSTSGYSYMHWYQQKPGQPPKLLIYLGS~~DL~~ESGVPARFSGSGSRTDFT
--FR3-----> CDR3 <----FR4-->
LNIHPVEEDAATYYCQHSRELPWTFGGGTKLEIK

核酸序列

GACATTGTGCTGACACAGTCTCCTGCTTCCTTAAGTGTATCTCTGGGACAGAGGGCCACCATCTCATGCGGGGCCAGCA
AAAGTGTGCTGACATCTGGCTATAGTTATATGCACTGGTACCAACAGAAACCAGGACAGCCACCCAACTCCTCATCTA
TCTTGGATCCGACCTAGAATCTGGGGTCCCTGCCAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACCCTCAACATC
CATCCTGTGGAGGAGGAGGATGCTGCAACCTATTACTGTCAACACAGTAGGGAACCTCCGTGGACGTTCCGGTGGAGGCA
CCAAGCTGGAATCAAA

38F9

38F9 重链 VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 10 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 11 所示, 其 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 分别如 SEQ ID NO. 12、13、14 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <-----FR3----->
EIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYIFTFNFGMNVWRQAPGKALKKMMGWINTYTG~~EQIYADDFKGR~~FAFASLETSA
-----FR3-----> CDR3 <----FR4-->
STAYLQINNLKNETATYFCARGEIIYGYDVG~~FVY~~WGQGLVTVSA

核酸序列

GAGATCCAGTTGGTGCAGTCTGGACCTGAGCTGAAGAAGCCTGGAGAGACAGTCAAGATCTCCTGCAAGGCTTCTGGGT
ATATCTTCACAACTTTGGAATGAACTGGGTGAGGCAGGCTCCAGGAAAGGCTTTAAAGTGGATGGGCTGGATAAACAC
CTACACTGGAGAACAAATATATGCTGATGACTTCAAGGGACGGTTTGCCTTCTCTTTGGAAACCTCTGCCAGCACTGCC
TATTTGCAGATCAACAACCTCAAAAATGAGGACACGGCTACATATTTCTGTGCAAGAGGGGAGATCTACTATGGTTACG
ACGTGGGCTTTGTTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA

38F9 轻链 VK 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 85 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 86 所示, 其 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 分别如 SEQ ID NO. 87、88、89 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <-----FR3----->
NIVLTSQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDSSGNSFMHWYQQKPGQPPKLLIYLES~~NLES~~GVPARFSGSGSRTDFT
FR3-----> CDR3 <----FR4-->
LTIHPVEADDAATYYCQSNEDPWTFGGGTKLEIK

核酸序列

AACATTGTGCTGACCAATCTCCAGCTTCTTTGGCTGTGTCTCTAGGGACAGAGGGCCACCATATCCTGCAGAGCCAGTGA
AAGTGTGATAGTTCTGGCAATAGTTTTATGCACTGGTACCAGCAGAAACCAGGACAGCCACCCAACTCCTCATCTATC
TTGAATCCAACCTAGAATCTGGGGTCCCTGCCAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTAGGACAGACTTCACCCTCACCATTGAA
CCTGTGGAGGCTGATGATGCTGCAACCTATTACTGTCAGCAAAGTAATGAGGATCCGTGGACGTTCCGGTGGAGGCACCAA
GCTGGAATCAAA

40C6

40C6 重链 VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 10 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 11 所示, 其 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 分别如 SEQ ID NO. 12、13、14 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <-----FR3----->
EIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYIFTFNFGMNVWRQAPGKALKKMMGWINTYTG~~EQIYADDFKGR~~FAFASLETSA
-----FR3-----> CDR3 <----FR4-->
STAYLQINNLKNETATYFCARGEIIYGYDVG~~FVY~~WGQGLVTVSA

核酸序列

GAGATCCAGTTGGTGCAGTCTGGACCTGAGCTGAAGAAGCCTGGAGAGACAGTCAAGATCTCCTGCAAGGCTTCTGGGT
ATATCTTCACAACTTTGGAATGAACTGGGTGAGGCAGGCTCCAGGAAAGGCTTTAAAGTGGATGGGCTGGATAAACAC
CTACACTGGAGAACAAATATATGCTGATGACTTCAAGGGACGGTTTGCCTTCTCTTTGGAAACCTCTGCCAGCACTGCC
TATTTGCAGATCAACAACCTCAAAAATGAGGACACGGCTACATATTTCTGTGCAAGAGGGGAGATCTACTATGGTTACG
ACGTGGGCTTTGTTTACTGGGGCCAAGGGACTCTGGTCACTGTCTCTGCA

40C6 轻链 VK 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 90 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 91 所示, 其 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别如 SEQ ID NO. 92、23、19 所示。

<-----FR1-----> CDR1 <-----FR2-----> CDR2 <-----FR3----->
DIVLTSQSPASLAVSLGQRATISCRASRSVTTSGYSYIHWYQQKPGQPPKLLIYLAS~~DL~~EAGVPARFSGSGSRTDFT
--FR3-----> CDR3 <----FR4-->
LNIHPVEEDAATYYCQHSRELPWTFGGGTKLEIK

核酸序列

GACATTGTGCTGACACAGTCTCCTGCTTCCTTAGCTATATCTCTGGGACAGAGGGCCACCATCTCATGCAGGGCCAGCA
GAAGTGTCACTACATCTGGCTATAGTTATATACACTGGTACCAACAGAAACCAGGACAGCCACCCAACTCCTCATCTA
TCTTGCATCCGACCTAGAAGCTGGGGTCCCTGCCAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACCCTCAACATC

CATCCTGTGGAGGAAGAGGATGCTGCAACCTATTACTGTCAGCACAGTAGGGAGCTTCCGTGGACGTTCCGGTGGAGGCA
CCAAGCTGGAATAAAA

实施例 3、BCMA×CD3 双特异抗体的构建

1、CD3 人源化抗体

鼠源杂交瘤 CD3 抗体 (EMBO J.1985.4(2): 337-344; J.Immunol.1986,137(4): 1097-100; J.Exp.Med.1991,174: 319-326; J.Immunol.1991,147(9): 3047-52) 识别人和食蟹猴 CD3 受体, 其序列如下:

抗 CD3 鼠单抗轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO. 184 所示:

QAVVTQESALTTSPGETVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQKPDHLFTGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLIGDKAALTITG
AQTEDEAIYFCALWYSLWVFGGGTKLTVL

抗 CD3 鼠单抗重链氨基酸序列如 SEQ ID NO. 185 所示:

EVQLVESGGGLVQPKGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSQS
ILYLQMNLLKTEDTAMYYCVRHGNFNGNSYVSWFAYWGQGTLLVTVSS

将抗 CD3 鼠单抗人源化, 选择同源性最高的人胚系基因 IMGT_hVL7-43 进行轻链 CDR 移植, FM4 选用人 IGLJ3*02; 选择人 IMGT_hVH3-73 进行重链 CDR 移植, FM4 选用人 IGHJ4*01。设计共得到不同的重链变体和轻链变体。

CD3 人源化抗体轻链可变区的序列如下:

表 3、CD3 人源化抗体的轻链可变区序列

CD3 人源化抗 体	SEQ ID NOs: 93-111				
	LCVR		LCDR1	LCDR2	LCDR3
	氨基酸序列	核苷酸序列	氨基酸序列	氨基酸序列	氨基酸序列
hVL1	93	94	95	96	97
hVL2	98	99	95	96	97
hVL3	100	101	102	103	97
hVL4	104	105	102	103	97
hVL5	106	107	95	96	108
hVL6	109	110	95	111	108

hVL1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 93 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 94 所示, 其 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别如 SEQ ID NO. 95、96、97 所示。

QAVVTQEPSTLTVSPGGTIVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPWTPARFSGSLLGGKAALTLSG
AQPEDEAEYYCALWYSLWVFGGGTKLTVL

hVL2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 98 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 99 所示, 其 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别如 SEQ ID NO. 95、96、97 所示。

QAVVTQEPSTLTVSPGGTIVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPWTPARFSGSLLGGKAALTLSG
AQPEDEAEYYCALWYSLWVFGGGTKLTVL

hVL3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 100 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 101 所示, 其 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别如 SEQ ID NO. 102、103、97 所示。

EAVVTQEPSTLTVSPGGTIVTLTCRSSDGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKEAPWTPARFSGSLLGGKAALTLSG
AQPEDEAEYYCALWYSLWVFGGGTKLTVL

hVL4 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 104 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 105 所示, 其 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别如 SEQ ID NO. 102、103、97 所示。

QAVVTQEPSTLTVSPGGTIVTLTCRSSDGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKEAPWTPARFSGSLLGGKAALTLSG
AQPEDEAEYYCALWYSLWVFGGGTKLTVL

hVL5 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 106 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 107 所示, 其 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别如 SEQ ID NO. 95、96、108 所示。

QAVVTQEPSTLTVSPGGTIVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPWTPARFSGSLLGGKAALTITG
AQAEDEAEYYCVLWYSLWVFGGGTKLTVL

hVL6 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 109 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 110 所示, 其 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别如 SEQ ID NO. 95、111、108 所示。

QAVVTQEPSTLTVSPGGTIVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIYGTNKRAPWTPARFSGSLLGGKAALTLSG
AQAEDEAEYYCVLWYSLWVFGGGTKLTVL

CD3 人源化抗体重链可变区的序列如下:

表 4、CD3 人源化抗体的重链可变区序列

CD3 人源化抗 体	SEQ ID NOs: 112-141				
	HCVR		HCDR1	HCDR2	HCDR3
	氨基酸 序列	核苷酸 序列	氨基酸 序列	氨基酸 序列	氨基酸 序列

hVH1	112	113	114	115	116
hVH2	117	118	119	115	116
hVH3	120	121	119	115	122
hVH4	123	124	119	115	125
hVH5	126	127	119	115	128
hVH6	129	130	119	115	131
hVH7	132	133	134	135	116
hVH8	136	137	114	115	116
hVH9	138	139	114	115	116
hVH10	140	141	114	115	116

hVH1 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 112 所示,其编码核酸如 SEQ ID NO. 113 所示,其 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 分别如 SEQ ID NO. 114、115、116 所示。

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWRKAPGKGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKN TLYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNEFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS

hVH2 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 117 所示,其编码核酸如 SEQ ID NO. 118 所示,其 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 分别如 SEQ ID NO. 119、115、116 所示。

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRKAPGKGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNEFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS

hVH3 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 120 所示,其编码核酸如 SEQ ID NO. 121 所示,其 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 分别如 SEQ ID NO. 119、115、122 所示。

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRKAPGKGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNEFGESYVSWFAYWGQGTLVTVSS

hVH4 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 123 所示,其编码核酸如 SEQ ID NO. 124 所示,其 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 分别如 SEQ ID NO. 119、115、125 所示。

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRKAPGKGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNEFGQSYVSWFAYWGQGTLVTVSS

hVH5 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 126 所示,其编码核酸如 SEQ ID NO. 127 所示,其 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 分别如 SEQ ID NO. 119、115、128 所示。

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRKAPGKGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNEFGDSYVSWFAYWGQGTLVTVSS

hVH6 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 129 所示,其编码核酸如 SEQ ID NO. 130 所示,其 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 分别如 SEQ ID NO. 119、115、131 所示。

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRKAPGKGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNEFGTSYVSWFAYWGQGTLVTVSS

hVH7 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 132 所示,其编码核酸如 SEQ ID NO. 133 所示,其 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 分别如 SEQ ID NO. 134、135、116 所示。

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYAMNWRKAPGKGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKN TLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNEFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS

hVH8 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 136 所示,其编码核酸如 SEQ ID NO. 137 所示,其 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 分别如 SEQ ID NO. 114、115、116 所示。

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKN SLYLQMNSLKTEDTAVYYCARHGNEFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS

hVH9 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 138 所示,其编码核酸如 SEQ ID NO. 139 所示,其 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 分别如 SEQ ID NO. 114、115、116 所示。

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKN SLYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNEFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS

hVH10 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 140 所示,其编码核酸如 SEQ ID NO. 141 所示,其 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 分别如 SEQ ID NO. 114、115、116 所示。

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWRKAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKN SLYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNEFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS

将轻、重链人源化变体分别进行全序列合成后,克隆到含有抗体 lambda 轻链恒定区或人 IgG4 重链恒定区 CH1-CH3 的真核表达载体,共转染 HEK293E 细胞,37°C 120rpm 5%CO₂ 培养 5-6 天后,收集培养基上清液,通过 Protein A 层析柱进行纯化。

2、ELISA 亲和力测定

包被入 CD3 ϵ y 蛋白,4°C 过夜。2%脱脂牛奶封闭后,每孔加入不同稀释倍数的 CD3 抗体,孵育 1 小时;二抗加入 HPR 标记的山羊抗人 IgG Fc,TMB 溶液显色后,以浓硫酸终止反应并在 450nm 处读出吸光度(结果如图 4 所示)。

图 4 显示与人 CD3 $\epsilon\gamma$ 蛋白结合的抗 CD3 人源化抗体组合 (包括 aCD3-hVH8/VL1、aCD3-hVH9/VL1、aCD3-hVH9/VL2、aCD3-hVH9/VL3、aCD3-hVH1/VL5、aCD3-hVH8/VL5、aCD3-hVH9/VL5), CD3 人源化抗体高亲和力结合 CD3 $\epsilon\gamma$ 重组蛋白。

3、Jurkat T 细胞亲和力测定

取对数生长期的 Jurkat 细胞, 3%BSA 封闭 30 分钟, 以每孔 5×10^4 细胞加入 96 孔 U 型板, 离心弃上清, 每孔加入 50 μ L 梯度稀释的抗体 (抗体浓度从 30 μ g/mL 起, 3 倍稀释 5 个梯度), 4 $^{\circ}$ C 孵育 1 小时。洗去一抗后, 加入二抗 1:300 稀释的 Alexa Fluoro647 标记的山羊抗人 IgG Fc (Jackson ImmunoResearch, 109-606-170), 4 $^{\circ}$ C 孵育 45 分钟, 洗涤后每孔重悬于 50 μ L PBS 进行 FACS (iQue, Intellicyt) 检测 (结果如图 5 所示)。

图 5 显示与 Jurkat 细胞结合的抗 CD3 人源化抗体组合, 其中 CD3 人源化抗体 hVH9/VL5 (aCD3-hVH9/VL5) 以中度亲和力结合 Jurkat 细胞。

4、BCMA 抗体与 CD3 抗体的组合筛选

选择部分亲和力较高的 BCMA 克隆, 分别与同源性最高的人胚系基因进行 CDR 移植, 得到 BCMA 人源化抗体 h38E2、h23F8、h40C6、h38D9、h29A11、h15H10 和 h34G2 (表 5)。参考 Schaefer W 等 (PNAS, 2011), 对人源化 BCMA 抗体与 CD3 抗体 aCD3-hVH9/VL5 (轻链可变区氨基酸序列如 SEQ ID NO. 106 所示, 重链可变区氨基酸序列如 SEQ ID NO. 138 所示) 的组合进行筛选: 将人源化 BCMA 抗体的轻链可变区克隆到含有 kappa 轻链恒定区的真核表达载体, 将重链可变区克隆到含有突变的人 IgG4 恒定区真核表达载体; 将人源化 CD3 抗体的轻链可变区克隆到含有 lambda 轻链恒定区以及重链铰链区和恒定区 CH2、CH3 的真核表达载体, 将 CD3 抗体的重链可变区克隆到含有人 CH1 恒定区的真核表达载体, 将编码轻、重链基因的 4 种质粒按 1: 1: 1: 1 比率混合, 转染 HEK293E 细胞, 表达 5-6 天后收取培养上清, Protein A 一步纯化后, SEC-HPLC 显示单体含量 >55%, 用于相对活性评价。将 BCMA-50 (按 US201213678247 合成) 按上述方法, 与 CD3 人源化抗体构建成 BCMA50-CD3 双特异抗体作为参照, 或参考文献表达 BCMA50 \times CD3 (BiTE)。

表 5、人源化 BCMA 抗体可变区序列

BCMA 人源化抗体	LCVR		LCDR1	LCDR2	LCDR3	HCVR		HCDR1	HCDR2	HCDR3
	氨基酸序列	核苷酸序列	氨基酸序列	氨基酸序列	氨基酸序列	氨基酸序列	核苷酸序列	氨基酸序列	氨基酸序列	氨基酸序列
h38E2	142	143	144	77	78	145	146	71	147	73
h23F8	148	149	17	40	19	150	151	12	50	14
h40C6	152	153	92	23	19	154	155	12	13	14
h38D9	156	157	83	84	19	158	159	12	13	14
h29A11	160	161	17	40	19	162	163	12	13	14
h15H10	164	165	17	40	19	166	167	12	36	37
h34G2	168	169	17	40	19	170	171	65	66	14

h38E2

h38E2 轻链 VK 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 142 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 143 所示, 其 Lcdr1、Lcdr2 和 Lcdr3 分别如 SEQ ID NO. 144、77、78 所示。

DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCQASQDVDTAVAWYQKKPKGKAPKLLIYWTSTRHTGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQ
PEDIATYFCQQFSSYPLTFGQGTKVEIK

核酸序列

GACATCCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGCCTGTCTGCCAGCGTGGGAGACAGAGTGACCATCACCTGTCAGGCCAGCC
AGGATGTGGATACAGCCGTGGCCTGGTATCAGAAGAAGCCTGGCAAGGCCCTAAGCTGCTGATCTACTGGACCAGCAC
CAGACACACAGGCGTGCCTCTAGATTACAGCGGCTCTGGCTCTGGCACCGACTTCACCTTACAATCAGCAGCCTGCAG
CCTGAGGATATCGCTACCTACTTCTGCCAGCAGTTCAGCAGCTACCTCTGACATTGGCCAGGCCACCAAGGTGGAA
TCAAG

h38E2 重链 VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 145 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 146 所示, 其 Hcdr1、Hcdr2 和 Hcdr3 分别如 SEQ ID NO. 71、147、73 所示。

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTNYWIGWVREAPGQGLEWMGDIYPGSGDTNYNGKFQGRVTLTADISSNTA
YMELSSLRSEDTAVYYCARSYRNDAAAFAYWGQGLTVVSS

核酸序列

CAGGTTTCAGCTGGTTCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAAACCTGGCAGCAGCGTGAAGGTGTCTTGCAGGCTAGCGGCT
ACACATTCACCAACTACTGGATCGGCTGGGTCGAGAGGCTCCTGGACAAGGACTTGAGTGGATGGGCGACATCTACCC
TGGCAGCGGCGACACAACTACAACGGCAAGTTCAGGGCAGAGTGACCCTGACAGCCGACATCAGCAGCAACACCGCC
TACATGGAAGTGAAGCAGCTGAGAAGCGAGGACCCGCTGTACTACTGCGCCAGAAGCTACTACAGAAACGACGCCG
CCAGCTTCGCTTACTGGGGACAGGGAACACTGGTCACCGTGTCTAGT

h23F8

h23F8 轻链 VK 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 148 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 149 所示, 其 Lcdr1、Lcdr2 和 Lcdr3 分别如 SEQ ID NO. 17、40、19 所示。

DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASKSVSTSGYSYMHWYQKKPGQPPKLLIYLASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTI

NPVEANDTANYYCQHSRELPWTFGQGTKVEIK

核酸序列

GACATCGTGCTGACACAGAGCCCTGCTTCTCTGGCTGTGTCTCCTGGCCAGAGAGCCACCATCACCTGTAGAGCCAGCA
AGAGCGTGTCCACCAGCGGCTACTCTTACATGCACCTGGTATCAGAAGAAGCCCCGGCCAGCCTCCTAAGCTGCTGATCTA
CCTGGCTAGCAACCTCGAAAGCGGAGTGCCTGCTAGATTTTCTGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGACAATC
AACCCCGTGGAAGCCAACGACACCCGCCAACTACTACTGCCAGCACAGCAGAGAGCTGCCCTGGACATTTGGCCAGGGCA
CCAAGGTGAAATCAAG

h23F8 重链 VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 150 所示,其编码核酸如 SEQ ID NO. 151 所示,其 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 分别如 SEQ ID NO. 12、50、14 所示。

QVQLVQSGSELKKPGASVKVSKASGYTFTNFGMNWWREAPGQGLEWMGWINTYTGDOIYADDFKGRFAFSLDTSASTA
YLQISSLKAEDTAVYFCARGEIYYGYDVGFEVYWGQGLTVTVSS

核酸序列

CAGGTTTCAGCTGGTGCAGTCTGGCAGCGAGCTGAAGAAACCTGGCGCCTCTGTGAAGGTGTCTGCAAGGCTAGCGGCT
ACACATTCACCAACTTCGGCATGAACTGGGTCCGAGAGGCTCCTGGACAGGGACTCGAATGGATGGGCTGGATCAACAC
CTACACCGGCGACAGATCTACGCCGACGACTTCAAGGGCAGATTCGCCTTCAGCCTGGACACCTCTGCCAGCACAGCT
TACCTGCAGATCAGCAGCTGAAGGCCGAGGATACCGCCGTGACTTCTGTGCCAGAGGCCGAGATCTACTACGGCTACG
ATGTGGGCTTCTCTACTGGGACAGGGAACACTGGTCACCGTTAGCTCT

h40C6

h40C6 轻链 VK 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 152 所示,其编码核酸如 SEQ ID NO. 153 所示,其 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别如 SEQ ID NO. 92、23、19 所示。

DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASRSVTTSGYSYIHWYQKKPGQPPKLLIYLASDLEAGVPARFSGSGSDFTLTI
NPVEANDTANYYCQHSRELPWTFGQGTKVEIK

核酸序列

GACATCGTGCTGACACAGAGCCCTGCTTCTCTGGCTGTGTCTCCTGGCCAGAGAGCCACCATCACCTGTAGAGCCAGCA
GAAGCGTGACCACCAGCGGCTACTCTTACATCCACTGGTATCAGAAGAAGCCCCGGCCAGCCTCCTAAGCTGCTGATCTA
CCTGGCCAGCGATCTGGAAGCTGGCGTGCCAGCTAGATTTTCTGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGACAATC
AACCCCGTGGAAGCCAACGACACCCGCCAACTACTACTGCCAGCACAGCAGAGAGCTGCCCTGGACATTTGGCCAGGGCA
CCAAGGTGAAATCAAG

h40C6 重链 VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 154 所示,其编码核酸如 SEQ ID NO. 155 所示,其 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 分别如 SEQ ID NO. 12、13、14 所示。

QVQLVQSGSELKKPGASVKVSKASGYIFTNFGMNWWREAPGQGLEWMGWINTYTGEOIYADDFKGRFAFSLDTSASTA
YLQISSLKAEDTAVYFCARGEIYYGYDVGFEVYWGQGLTVTVSS

核酸序列

CAGGTTTCAGCTGGTGCAGTCTGGCAGCGAGCTGAAGAAACCTGGCGCCTCTGTGAAGGTGTCTGCAAGGCTAGCGGCT
ACATCTTCACCAACTTCGGCATGAACTGGGTCCGAGAGGCTCCTGGACAGGGACTCGAATGGATGGGCTGGATCAACAC
CTACACCGGCGAGCAGATCTACGCCGATGACTTCAAAGGCAGATTCGCCTTCAGCCTGGACACCAGCGCCAGCACAGCT
TACCTGCAGATCAGCTCTCTGAAGGCCGAGGATACCGCCGTGACTTCTGTGCCAGAGGCCGAGATCTACTACGGCTACG
ACGTGGGCTTTGTGTACTGGGGCCAGGGAACACTGGTCACCGTTAGCTCT

h38D9

h38D9 轻链 VK 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 156 所示,其编码核酸如 SEQ ID NO. 157 所示,其 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别如 SEQ ID NO. 83、84、19 所示。

DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASKSVSTSGYSYMHYQKKPGQPPKLLIYLGSDLSEGVPARFSGSGSDFTLTI
NPVEANDTANYYCQHSRELPWTFGQGTKVEIK

核酸序列

GACATCGTGCTGACACAGAGCCCTGCTTCTCTGGCTGTGTCTCCTGGCCAGAGAGCCACCATCACCTGTAGAGCCAGCA
AGAGCGTGTCCACCAGCGGCTACTCTTACATGCACCTGGTATCAGAAGAAGCCCCGGCCAGCCTCCTAAGCTGCTGATCTA
CCTGGGTAGCGACCTCGAAAGCGGAGTGCCTGCTAGATTTTCTGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCACCCTGACAATC
AACCCCGTGGAAGCCAACGACACCCGCCAACTACTACTGCCAGCACAGCAGAGAGCTGCCCTGGACATTTGGCCAGGGCA
CCAAGGTGAAATCAAG

h38D9 重链 VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 158 所示,其编码核酸如 SEQ ID NO. 159 所示,其 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 分别如 SEQ ID NO. 12、13、14 所示。

QVQLVQSGSELKKPGASVKVSKASGYIFTNFGMNWWREAPGQGLEWMGWINTYTGEOIYADDFKGRFAFSLDTSASTA
YLQISSLKAEDTAVYFCARGEIYYGYDVGFEVYWGQGLTVTVSS

核酸序列

CAGGTTTCAGCTGGTGCAGTCTGGCAGCGAGCTGAAGAAACCTGGCGCCTCTGTGAAGGTGTCTGCAAGGCTAGCGGCT
ACATCTTCACCAACTTCGGCATGAACTGGGTCCGAGAGGCTCCTGGACAGGGACTCGAATGGATGGGCTGGATCAACAC
CTACACCGGCGAGCAGATCTACGCCGATGACTTCAAAGGCAGATTCGCCTTCAGCCTGGACACCAGCGCCAGCACAGCT
TACCTGCAGATCAGCTCTCTGAAGGCCGAGGATACCGCCGTGACTTCTGTGCCAGAGGCCGAGATCTACTACGGCTACG
ACGTGGGCTTTGTGTACTGGGGCCAGGGAACACTGGTCACCGTTAGCTCT

h29A11

h29A11 轻链 VK 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 160 所示,其编码核酸如 SEQ ID NO. 161 所示,其 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 分别如 SEQ ID NO. 17、40、19 所示。

DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASKSVSTSGYSYMHWYQKKPGQPPLLIYLASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTI
NPVEANDTANYYCQHSRELPWTFGQGTKVEIK

核酸序列

GACATCGTGCTGACACAGAGCCCTGCTTCTCTGGCTGTGTCTCCTGGCCAGAGAGCCACCATCACCTGTAGAGCCAGCA
AGAGCGTGTCCACCAGCGGCTACTCTTACATGCACTGGTATCAGAAGAAGCCCAGCCAGCTCCTAAGCTGCTGATCTA
CCTGGCTAGCAACCTCGAAAGCGGAGTGCCTGCTAGATTTTCTGGCAGCGGCTCTGGCACCAGCTTACCCTGACAATC
AACCCCGTGGAAGCCAACGACACCCGCAACTACTACTGCCAGCACAGCAGAGAGCTGCCCTGGACATTTGGCCAGGGCA
CCAAGGTGGAATCAAG

h29A11 重链 VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 162 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 163 所示, 其 HCDR1、
HCDR2 和 HCDR3 分别如 SEQ ID NO. 12、13、14 所示。

QVQLVQSGSELKPKGASVKVSCKASGYIFTNFGMNWVREAPGQGLEWMGWINTYTGEOIYADDFKGRFAFSLDTSASTA
YLQISLKAEDTAVYFCARGEIYYGYDVGFVYWGQGLVTVSS

核酸序列

CAGGTTTCAGCTGGTGCAGTCTGGCAGCGAGCTGAAGAAACCTGGCGCTCTGTGAAGGTGTCTGCAAGGCTAGCGGCT
ACATCTTCACCAACTTCGGCATGAACTGGGTCCGAGAGGCTCCTGGACAGGGACTCGAATGGATGGGCTGGATCAACAC
CTACACCGGCGAGCAGATCTACGCCGATGACTTCAAGGCCAGATTCGCCTTCAGCCTGGACACCAGCGCCAGCACAGCT
TACCTGCAGATCAGCTCTCTGAAGCCGAGGATACCGCCGTGACTTCTGTGCCAGAGCCGAGATCTACTACGGCTACG
ACGTGGGCTTTGTGTACTGGGGCCAGGGAACACTGGTACCCTTAGCTCT

h15H10

h15H10 轻链 VK 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 164 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 165 所示, 其 LCDR1、LCDR2
和 LCDR3 分别如 SEQ ID NO. 17、40、19 所示。

DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASKSVSTSGYSYMHWYQKKPGQPPLLIYLASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTI
NPVEANDTANYYCQHSRELPWTFGQGTKVEIK

核酸序列

GACATCGTGCTGACACAGAGCCCTGCTTCTCTGGCTGTGTCTCCTGGCCAGAGAGCCACCATCACCTGTAGAGCCAGCA
AGAGCGTGTCCACCAGCGGCTACTCTTACATGCACTGGTATCAGAAGAAGCCCAGCCAGCTCCTAAGCTGCTGATCTA
CCTGGCTAGCAACCTCGAAAGCGGAGTGCCTGCTAGATTTTCTGGCAGCGGCTCTGGCACCAGCTTACCCTGACAATC
AACCCCGTGGAAGCCAACGACACCCGCAACTACTACTGCCAGCACAGCAGAGAGCTGCCCTGGACATTTGGCCAGGGCA
CCAAGGTGGAATCAAG

h15H10 重链 VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 166 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 167 所示, 其 HCDR1、HCDR2
和 HCDR3 分别如 SEQ ID NO. 12、36、37 所示。

QVQLVQSGSELKPKGASVKVSCKASGYTFTNFGMNWVREAPGQGLEWMGWINTYTGDLIYGDDFKGRFAFSLDTSASTA
YLQISLKAEDTAVYFCARGEIYYGYDVGFAYWGQGLVTVSS

核酸序列

CAGGTTTCAGCTGGTGCAGTCTGGCAGCGAGCTGAAGAAACCTGGCGCTCTGTGAAGGTGTCTGCAAGGCTAGCGGCT
ACACATTCACCAACTTCGGCATGAACTGGGTCCGAGAGGCTCCTGGACAGGGACTCGAATGGATGGGCTGGATCAACAC
CTACACCGGCGACCTGATCTACGGCGACGACTTCAAGGGCAGATTCGCCTTCAGCCTGGACACCTCTGCCAGCACAGCT
TACCTGCAGATCAGCAGCTGAAGGCCGAGGATACCGCCGTGACTTCTGTGCCAGAGCCGAGATCTACTACGGCTACG
ATGTGGGCTTCGCCTACTGGGGACAGGGAACACTGGTACCCTTAGCTCT

h34G2

h34G2 轻链 VK 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 168 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 169 所示, 其 LCDR1、LCDR2
和 LCDR3 分别如 SEQ ID NO. 17、40、19 所示。

DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASKSVSTSGYSYMHWYQKKPGQPPLLIYLASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTI
NPVEANDTANYYCQHSRELPWTFGQGTKVEIK

核酸序列

GACATCGTGCTGACACAGAGCCCTGCTTCTCTGGCTGTGTCTCCTGGCCAGAGAGCCACCATCACCTGTAGAGCCAGCA
AGAGCGTGTCCACCAGCGGCTACTCTTACATGCACTGGTATCAGAAGAAGCCCAGCCAGCTCCTAAGCTGCTGATCTA
CCTGGCTAGCAACCTCGAAAGCGGAGTGCCTGCTAGATTTTCTGGCAGCGGCTCTGGCACCAGCTTACCCTGACAATC
AACCCCGTGGAAGCCAACGACACCCGCAACTACTACTGCCAGCACAGCAGAGAGCTGCCCTGGACATTTGGCCAGGGCA
CCAAGGTGGAATCAAG

h34G2 重链 VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 170 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 171 所示, 其 HCDR1、HCDR2
和 HCDR3 分别如 SEQ ID NO. 65、66、14 所示。

QVQLVQSGSELKPKGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWVREAPGQGLEWMGWINTYTGGERIYADDFKGRFAFSLDTSASTA
YLQISLKAEDTAVYFCARGEIYYGYDVGFVYWGQGLVTVSS

核酸序列

CAGGTTTCAGCTGGTGCAGTCTGGCAGCGAGCTGAAGAAACCTGGCGCTCTGTGAAGGTGTCTGCAAGGCTAGCGGCT
ACACATTCACCAACTACGGCATGAACTGGGTCCGAGAGGCTCCTGGACAGGGACTCGAATGGATGGGCTGGATCAACAC
CTACACCGGCGAAAGGATCTACGCCGACGACTTCAAGGGCAGATTCGCCTTCAGCCTGGACACCTCTGCCAGCACAGCT
TACCTGCAGATCAGCAGCTGAAGGCCGAGGATACCGCCGTGACTTCTGTGCCAGAGCCGAGATCTACTACGGCTACG
ATGTGGGCTTCGTCTACTGGGGACAGGGAACACTGGTACCCTTAGCTCT

5、T 细胞依赖的细胞毒实验 (TDCC)

取新鲜分离得到的 PBMC 和处于对数生长期的 RPMI-8226 细胞混合 (效应/靶细胞=10:1), 每孔加入 50μL 梯度稀释的抗体 (起始浓度 40μg/mL, 10 倍稀释, 7 个梯度), 5%CO₂ 37°C 培养 24 小时。培养结束后, 1000rpm 离心 3 分钟, 取上清检测 LDH 释放, 将 50μL 上清转移至黑色酶标板, 加入 50μL/孔 LDH 检测底物, 10 分钟后终止反应并检测 (Biotek Synergy HT), 按下述公式计算杀伤率; 弃去上清后, 将孔内剩余细胞用 4% 小牛血清清洗 2 次后, 加入 100μg/mL 人 IgG 封闭 10 分钟, 加入 T 细胞早期活化标记 CD69 和后期标记 CD25 检测抗体 (CD25-PE, CD4-APC, CD69-FITC 和 CD8-APC), 冰上孵育 20 分钟。孵育结束后, 每孔加入 200μL 4% 小牛血清清洗 3 次, 弃上清, 加入 60μL/孔碘化丙啶 (PI) 溶液 (1: 200 稀释), 置于冰上孵育 5 分钟, 用流式细胞仪 (BD FACS celesta) 进行检测。杀伤率计算公式如下:

$$\text{杀伤率}(\%) = \frac{\text{实验孔} - \text{靶细胞自发}}{\text{靶细胞最大释放} - \text{靶细胞自发}} \times 100\%$$

双特异抗体组合的杀伤活性见表 6。

表 6、双特异抗体的杀伤活性

抗体\单位 (nM)	SEC-HPLC 单体%	杀伤 EC ₅₀	CD69 上调 EC ₅₀ (百分比%)		CD25 上调 EC ₅₀ (百分比%)	
			CD8 ⁺ T	CD4 ⁺ T	CD8 ⁺ T	CD4 ⁺ T
h38E2-CD3	56.2	13.64	2.32(69)	7.40(55)	3.65(38)	3.65(29)
h23F8-CD3	58.4	0.81	0.49(59)	0.44(41)	0.79(34)	0.57(25)
h40C6-CD3	57.3	1.12	0.21(44)	0.63(37)	0.49(28)	0.45(25)
h38D9-CD3	55.1	1.04	0.37(52)	0.52(57)	1.75(35)	0.77(29)
h29A11-CD3	56.3	0.69	3.39(58)	0.37(47)	3.85(36)	0.45(33)
h15H10-CD3	67.6	1.83	0.94(62)	3.39(58)	2.64(41)	3.85(36)
h34G2-CD3	64.0	1.02	0.57(55)	0.68(42)	1.28(33)	1.18(27)
BCMA50-CD3	40.9	3.84	6.51(56)	1.02(34)	9.86(24)	7.94(22)
BCMA50×CD3(BiTE)	N.D.	0.81	0.16(65)	1.90(52)	0.30(39)	0.64(27)
KLH-CD3	85.8	-	-(11)	-(15)	-(8)	-(10)

6、构建 BCMA×CD3 κλ 人源化双特异抗体

选择杀伤效率较高的克隆 29A11 及与之序列同源的克隆 6G5 进行人源化序列优化, 其重链可变区来自鼠 IGHV9-3, 轻链可变区来自鼠 IGKV3-12, 将轻、重链 CDR 移植分别移植到人胚系基因 IGHV7-4-1*02 和 IGKV_7_3, 合成设计得到的人源化 BCMA 抗体序列。同时, 在 BCMA 抗原臂和含 λ 轻链的人源化 CD3 抗体臂引入电荷变异体 (V_{KBCMA}: Gln₄₂Lys; V_{HBCMA}: Gln₃₉Glu; V_{λCD3}: Gln₄₀Glu; V_{HCD3}: Gln₃₉Lys), 构建具有天然 IgG 构型的新型 BCMA-CD3 κλ 人源化双特异抗体 (表 7)。双特异抗体的 Fc 部分采用人 IgG4 knob-into-hole 结构, 以实现异源二聚体配对 (Atwell 等, 1997), 并且通过突变 Ser₂₂₈Pro、Leu₂₃₅Glu 和 Pro₃₂₉Ala, 保持铰链区稳定并减弱与 Fcγ 受体和 C1q 的相互作用。

将编码相应抗体片段的质粒, 按 κ 轻链: λ 轻链: 重链 1: 重链 2 = 2:2:1:1 的比率混合, 与 3mg/mL PEI 混合后, 共同转染 CHO-S 细胞, 在 500mL CD CHO AGT 培养基 (Gibco#12490-001) 37°C 5%CO₂ 150rpm 培养, 分别在瞬转第 2、4 和 6 天, 加入 4% CHO Feed C+补料 (Gibco #A25031-05)。当细胞活率降至 85%左右, 收获发酵液, 过滤后经 Protein A 亲和层析初步纯化, SEC-HPLC 单体含量显示高于 92%; 经 Capto S ImpAct 离子交换层析, 通过 50-300mM NaCl/磷酸盐 pH6.0 梯度洗脱, 合并洗脱峰, 单体含量进一步提高至 98-99%以上 (表 8)。

表 7、BCMA×CD3 κλ 双特异抗体

双特异抗体	BCMA 抗体	CD3 抗体
BCMA×CD3 κλ003, 在 BCMA 抗原臂和 CD3 抗原臂引入电荷变异体: V _{KBCMA} : Gln ₄₂ Lys; V _{HBCMA} : Gln ₃₉ Glu; V _{λCD3} : Gln ₄₀ Glu; V _{HCD3} : Gln ₃₉ Lys	轻链 1: 其氨基酸序列如 SEQ ID NO. 172 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 173 所示 DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASKSV STSGYSYMHWYQKKPGQPPKLLIYLAS NLESGVPARFSGSGSGTDFLTINPVEA EDTANYYCQHSRELPWTFGQGTKVEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHK KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC 重链 1: 其氨基酸序列如 SEQ ID NO. 174 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 175 所示 QVQLVQSGSELKPKGASVKVSCASGY	轻链 2: 其氨基酸序列如 SEQ ID NO. 180 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 181 所示 QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSRSTGAV TTSNYANWVQEKPGQAPRGLIGGTNKR APWTPARFSGSLLGGKAALITGAQAED EAEYYCVLWYSLNLLWVFGGGTKLTVLGG PKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLIS DFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTTPS KQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSRSYSYSC QVTHEGSTVEKTVAPTECS 重链 2: 其氨基酸序列如 SEQ ID NO. 182 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 183 所示 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT

	<p>IFTNFGMNVVREAPGQGLEWVGWINT YTGEQIYADGFTGRFVFLDTSASTAYL QISSLKAEDTAVYFCARGEIYYGYDVGF VYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDK RVESKYGPPCPPAPEFEGGSPVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPE VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLAS SIEKTISKAKGQPREPQVCTLP PSQEEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLV SKLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALH NHYTQKLSLSLGLK</p>	<p>FNTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIRSK YNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNSLY LQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYV SWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLA PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV VPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRV ESKYGPPCPPAPEFEGGSPVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLAS SIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCQEEMT KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKLSLSL SLGK</p>
<p>BCMA×CD3 κ2.004 在 BCMA 抗原臂和 CD3 抗原臂引入电荷变异体: V_{BCMA}: Gln₄₂Lys; V_{HBCMA}: Gln₃₉Glu; V_{λCD3}: Gln₄₀Glu; V_{HCD3}: Gln₃₉Lys</p>	<p>轻链 1: 其氨基酸序列如 SEQ ID NO. 176 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 177 所示 DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASKSV TTSGLSYIHWHYQKKPGQPPKLLIYLAS DLEAGVPARFSGSGSDFTLTINPVEA EDTANYCYQHSRELPWTFGQGTKEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC 重链 1: 其氨基酸序列如 SEQ ID NO. 174 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 175 所 示 QVQLVQSGSELKPKGASVKVCSKASGY IFTNFGMNVVREAPGQGLEWVGWINT YTGEQIYADGFTGRFVFLDTSASTAYL QISSLKAEDTAVYFCARGEIYYGYDVGF VYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDK RVESKYGPPCPPAPEFEGGSPVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPE VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLAS SIEKTISKAKGQPREPQVCTLP PSQEEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLV SKLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKLSLSLGLK</p>	<p>轻链 2: 其氨基酸序列如 SEQ ID NO. 180 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 181 所示 QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSRSTGAV TTSNYANWVQEKPGQAPRGLIGGTNKR APWTPARFSGSLLGGKAALITGAQAED EAEYYCVLWYSLWVFGGGTKLTVLGQ PKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLIS DFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTTPS KQSNKYAASSYLSLTPEQWKSRSYSC QVTHEGSTVEKTVAPTECS 重链 2: 其氨基酸序列如 SEQ ID NO. 182 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 183 所示 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT FNTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIRSK YNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNSLY LQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYV SWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLA PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV VPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRV ESKYGPPCPPAPEFEGGSPVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLAS SIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCQEEMT KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKLSLSL SLGK</p>
<p>BCMA×CD3 κ2.005 在 BCMA 抗原臂和 CD3 抗原臂引入电荷变异体: V_{BCMA}: Gln₄₂Lys; V_{HBCMA}: Gln₃₉Glu; V_{λCD3}: Gln₄₀Glu; V_{HCD3}: Gln₃₉Lys</p>	<p>轻链 1: 其氨基酸序列如 SEQ ID NO. 172 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 173 所示 DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASKSV STSGYSYMHWHYQKKPGQPPKLLIYLAS NLESVGPARGSGSDFTLTINPVEA EDTANYCYQHSRELPWTFGQGTKEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC 重链 1: 其氨基酸序列如 SEQ ID NO. 178 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 179 所 示 QVQLVQSGSELKPKGASVKVCSKASGY IFTNFGMNVVREAPGQGLEWVGWINT YTGEQIYADGFTGRFVFLDTSVSTAYL QISSLKAEDTAVYFCARGEIYYGYDVGF</p>	<p>轻链 2: 其氨基酸序列如 SEQ ID NO. 180 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 181 所示 QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSRSTGAV TTSNYANWVQEKPGQAPRGLIGGTNKR APWTPARFSGSLLGGKAALITGAQAED EAEYYCVLWYSLWVFGGGTKLTVLGQ PKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLIS DFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTTPS KQSNKYAASSYLSLTPEQWKSRSYSC QVTHEGSTVEKTVAPTECS 重链 2: 其氨基酸序列如 SEQ ID NO. 182 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 183 所示 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT FNTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIRSK YNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNSLY LQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYV SWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLA</p>

	<p>VYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSV TVPSSSLGKTKYTCNVDPKPSNTKVDK RVESKYGPPCPPAPEFEGGSPVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPE VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFN TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV NKGLASSIEKTISKAKGQPREPQVCTLP PSQEEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLV SKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSLGK</p>	<p>PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VPSSSLGKTKYTCNVDPKPSNTKVDKRV ESKYGPPCPPAPEFEGGSPVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLAS SIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCQEEMT KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SLGK</p>
<p>BCMA×CD3 κλ.006 在 BCMA 抗原臂和 CD3 抗原臂引入电荷变异性： V_{KBCMA}: Gln₄₂Lys; V_{HBCMA}: Gln₃₉Glu; V_{λCD3}: Gln₄₀Glu; V_{HCD3}: Gln₃₉Lys</p>	<p>轻链 1: 其氨基酸序列如 SEQ ID NO. 176 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 177 所示 DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASKSV TTSGYSYIHWHYQKKPGQPKLLIYLAS DLEAGVPARFSGSGSTDFLTINPVEA EDTANYYCQHSRELPWTFGQGTKEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSSTYSSTLTLSKADYEK KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC 重链 1: 其氨基酸序列如 SEQ ID NO. 178 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 179 所示 QVQLVQSGSELKPKGASVKVCSKASGY IFTNFGMNWVREAPGQGLEWMGWINT YTGEQIYADGFTGRFVFLDTSVSTAYL QISSLKAEDTAVYFCARGEIYYGYDVGF VYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPC SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSV TVPSSSLGKTKYTCNVDPKPSNTKVDK RVESKYGPPCPPAPEFEGGSPVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPE VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFN TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV NKGLASSIEKTISKAKGQPREPQVCTLP PSQEEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLV SKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSLGK</p>	<p>轻链 2: 其氨基酸序列如 SEQ ID NO. 180 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 181 所示 QAVVTQEPSLTVSPGGTTLTCSRSTGAV TTSNYANWVQEKPGQAPRGLIGGTNKR APWTPARFSGSLLGGKAAALITGAQAED EAEYYCVLWYNSLWVFGGGTKLTVLGQ PKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLIS DFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPPS KQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSRSYSC QVTHEGSTVEKTVAPTECS 重链 2: 其氨基酸序列如 SEQ ID NO. 182 所示, 其编码核酸如 SEQ ID NO. 183 所示 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT FNTYAMNWRKAPGKGLEWVGRIRSK YNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNSLY LQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYV SWFAYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLA PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VPSSSLGKTKYTCNVDPKPSNTKVDKRV ESKYGPPCPPAPEFEGGSPVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLAS SIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCQEEMT KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SLGK</p>

表 8、BCMA×CD3 κλ 双特异抗体的纯度

HPLC 检测	HPLC-SEC (Protein A 后)			HPLC-SEC (阳离子交换层析后)		
	聚体	单体	片段	聚体	单体	片段
BCMA×CD3 κλ.003	2.3%	94.4%	3.3%	1.8%	98.2%	0.0%
BCMA×CD3 κλ.004	1.4%	95.2%	3.4%	1.0%	99.0%	0.0%
BCMA×CD3 κλ.005	2.0%	91.9%	6.2%	1.6%	98.4%	0.0%
BCMA×CD3 κλ.006	0.5%	96.4%	3.1%	0.6%	99.4%	0.0%

实施例 4、BCMA×CD3 κλ 双特异抗体的结合活性

分别通过检测与 BCMA 重组蛋白、过表达稳转细胞或 BCMA+肿瘤细胞的结合, 确定双特异抗体 BCMA 抗原臂的亲合力, 通过检测 CD3 重组抗原、Jurkat 细胞或新鲜分离的外周血 T 细胞的结合, 确定双特异抗体 CD3 臂的亲合力。

1、BCMA×CD3 κλ 双特异抗体与抗原的亲合力测定

将 10μg/mL 人或食蟹猴 BCMA 或 CD3εγ 重组抗原通过氨基偶联结合到 CM5 芯片 (GE healthcare), 控制抗原结合量约 200RU。基线平稳后, 将梯度稀释的抗体 (从 10μg/mL 起, 2 倍稀释 7 个梯度), 以 30μL/min 的流速流过

芯片, 结合时间 350 秒, 解离时间 600 秒。用 Biacore T200 evaluation 软件以 1:1 结合模型, 拟合得到动力学常数。亲和力测定结果见表 9。

表 9、BCMA×CD3 κλ 双特异性抗体与 BCMA 和 CD3 重组抗原的亲和力

KD(nM)	人 BCMA	食蟹猴 BCMA	人 CD3εγ	食蟹猴 CD3εγ
BCMA×CD3 κλ.003	1.3	0.16	31	43
BCMA×CD3 κλ.004	1.0	0.12	32	43
BCMA×CD3 κλ.005	1.1	0.09	28	20
BCMA×CD3 κλ.006	1.2	0.10	27	33

2、BCMA×CD3 κλ 双特异抗体与 BCMA 稳转细胞的结合

取对数生长期实施例 1 制备的 CHO-人 BCMA 和 CHO-食蟹猴 BCMA 稳转细胞, 用 4%小牛血清 (Hyclone, SH30626.06) 调整细胞至 5×10^5 个细胞/ml, 加入 100μl/孔细胞悬液至 96 孔 U 型板, 300g 离心 5 分钟, 弃上清, 每孔加入 100μL 梯度稀释的抗体 (起始浓度 1800nM, 3 倍稀释, 10 个梯度), 4°C 孵育 60 分钟。二抗加入 50μL/孔 Alexa Fluro647 标记的山羊抗人 IgG Fc (1:300 稀释), 冰上孵育 20 分钟, 洗 1 次后加入 50μL/孔 PI 溶液 (1:300), 孵育 5 分钟, 用流式细胞仪进行检测。图 6 和表 10 显示, BCMA×CD3 κλ 双特异抗体高亲和力结合人、食蟹猴 BCMA 稳转细胞。

表 10、BCMA×CD3 κλ 双特异性抗体和 BCMA 稳转细胞的结合

EC ₅₀ (nM)	人 BCMA-CHO	食蟹猴 BCMA-CHO
BCMA×CD3 κλ.003	16	3
BCMA×CD3 κλ.004	22	3
BCMA×CD3 κλ.005	24	3
BCMA×CD3 κλ.006	16	3
KLH×CD3	-	-

3、BCMA×CD3 κλ 双特异抗体与 BCMA⁺肿瘤细胞的结合

取对数生长期的 NCI-H929 和 RPMI-8226 细胞, 加入 200μg/ml 鼠 IgG (Jackson ImmunoResearch, 115-005-03), 冰浴封闭 30 分钟, 用 4%小牛血清调整细胞至 5×10^5 个细胞/mL, 每孔 100μL 加入 96 孔 U 型板, 300g 离心 5 分钟, 弃上清, 每孔加入 100μL 梯度稀释的抗体 (起始浓度 1800nM, 3 倍稀释, 10 个梯度), 4°C 孵育 60 分钟。洗去一抗, 加入 50μL/孔 Alexa Fluro647 标记的山羊抗人 IgG Fc (1:300 稀释), 冰上孵育 20 分钟, 洗 1 次后加入 50μL/孔 PI, 孵育 5 分钟, 用流式细胞仪进行检测。检测结果见图 7 和表 11, BCMA×CD3 κλ 双特异抗体高亲和力结合 BCMA⁺肿瘤细胞 NCI-H929 和 RPMI-8226。

表 11、BCMA×CD3 κλ 双特异性抗体和 BCMA⁺肿瘤细胞的结合

EC ₅₀ (nM)	NCI-H929	RPMI-8226
BCMA×CD3 κλ.003	34	34
BCMA×CD3 κλ.004	36	39
BCMA×CD3 κλ.005	33	38
BCMA×CD3 κλ.006	32	19
KLH×CD3	-	-

4、BCMA×CD3 κλ 双特异抗体与 Jurkat 细胞的结合

取对数生长期的 Jurkat 细胞, 加入 200μg/ml 鼠 IgG (Jackson ImmunoResearch, 115-005-03), 冰浴 30 分钟。用 4%小牛血清调整细胞至 5×10^5 个细胞/mL, 每孔 100μL 加入 96 孔 U 型板, 300g 离心去上清, 每孔加入 100μL 梯度稀释的抗体 (起始浓度 1800nM, 3 倍稀释, 10 个梯度), 4°C 孵育 60 分钟。二抗加入 50μL/孔 Alexa Fluro647 标记的山羊抗人 IgG Fc (1:300 稀释), 冰上孵育 20 分钟, 洗 1 次后加入 50μL/孔 PI, 孵育 5 分钟, 用流式细胞仪 (BD C6) 进行检测。检测结果如图 8 和表 12, BCMA×CD3 κλ 双特异抗体以中度亲和力结合人白血病 T 细胞系 Jurkat 细胞。

表 12、BCMA×CD3 κλ 双特异抗体与 Jurkat 细胞的结合

EC ₅₀ (nM)	Jurkat
BCMA×CD3 κλ.003	66
BCMA×CD3 κλ.004	61
BCMA×CD3 κλ.005	51
BCMA×CD3 κλ.006	56

KLH×CD3	76
---------	----

5、BCMA×CD3 κλ 双特异抗体与外周血 T 细胞的结合

取新鲜人或食蟹猴外周血，通过 Ficoll-Paque Plus (GE, 17-1440-03) 分离得到 PBMC。将 PBMC 用 4% 小牛血清 (Hyclone, SH30626.06) 调整细胞至 5×10^5 个细胞/mL，100μL/孔加入 96 孔 U 型板，离心弃上清，每孔加入 100μL 梯度稀释的抗体 (起始浓度 1800nM，3 倍稀释，10 个梯度)，4°C 孵育 60 分钟。二抗加入 50μL/孔 Alexa Fluor647 标记的山羊抗人 IgG Fc (1:300 稀释)，冰浴 20 分钟，洗 1 次后加入 50μL/孔 PI，孵育 5 分钟，用流式细胞仪 (BD C6) 进行检测。对照抗体 REGN5458 参照 US20200024356 合成并制备。

检测结果见图 9 和表 13 所示，BCMA×CD3 κλ 双特异抗体识别人外周血 CD4+T 和 CD8+T 细胞，与人 T 细胞亲和力约 60-97nM，均弱于 BCMA 抗原臂与 BCMA 受体的结合力，有利于双特异抗体优先富集到肿瘤细胞。

表 13、BCMA×CD3 κλ 双特异性抗体与外周血 T 细胞的结合

EC ₅₀ (nM)	CD4+ T cell	CD8+ T cell
BCMA×CD3 κλ.003	87	97
BCMA×CD3 κλ.004	77	84
BCMA×CD3 κλ.005	66	60
BCMA×CD3 κλ.006	91	93
KLH×CD3	57	62

实施例 5、BCMA×CD3 κλ 双特异抗体介导的 TDCC

取新鲜分离得到的 PBMC 分别与处于对数生长期的靶细胞 NCI-H929 和 RPMI-8226 细胞混合，效应/靶细胞=8:1，每孔加入 50μL 梯度稀释的抗体 (抗体浓度从 66.7nM 起，10 倍稀释，7 个梯度)，5%CO₂ 37°C 培养 24 小时。培养结束后，将 50μL 上清转移至新的黑色酶标板，加入 50μL/孔 LDH 检测底物，10 分钟后终止反应并检测 LDH 释放；孔内剩余细胞用 4% 小牛血清清洗 2 次后，加入 100μg/mL 人 IgG 孵育 10 分钟，再加入 T 细胞活化检测抗体 (CD25-PE, CD4-APC, CD69-FITC 和 CD8-APC)，冰上孵育 20 分钟。洗涤弃上清，加入 60μL/孔 PI，置于冰上孵育 5 分钟，用流式细胞仪进行检测。图 10A、10B 分别显示 BCMA×CD3 κλ 双特异抗体对 NCI-H929 细胞的杀伤和对 T 细胞的活化。图 11A、11B 分别显示 BCMA×CD3 κλ 双特异抗体对 RPMI-8226 细胞的杀伤和对 T 细胞的活化。对于 BCMA 表达水平不同的肿瘤细胞 NCI-H929 和 RPMI-8226，BCMA×CD3 κλ 双特异抗体均可介导 T 细胞产生有效杀伤，杀伤活性与对照抗体相当。

实施例 6、BCMA×CD3 κλ 双特异抗体对 T 细胞活化通路的激活

将荧光素酶报告质粒 pGL4.30[luc2P/NFAT-RE/Hygro] (Promega, E8481) 转染 Jurkat 细胞，添加 200μg/ml 潮霉素 B 进行筛选，获得 Jurkat-NFAT luc 稳转报告细胞。取对数生长期的 Jurkat-NFAT-luc 报告细胞和靶细胞 RPMI-8226，离心弃上清，重悬至 2×10^6 个细胞/ml。50μl/孔接种靶细胞至 96 孔板，300g 离心 5 分钟弃上清，50μl/孔接种 Jurkat-NFAT-luc 报告细胞至 96 孔板，每孔加入 50μL 梯度稀释的 BCMA×CD3 κλ 双特异抗体或对照抗体 KLH×CD3 (起始浓度 20μg/ml，10 倍稀释，10 个梯度)，5%CO₂，37°C 培养 6 小时。培养结束后，按照 ONE-Glo Luciferase Assay System 说明书，每孔加入 100μL 检测试剂，室温放置 3 分钟，于酶标仪 (Biotek Synergy HT) 检测。检测结果见图 12，BCMA×CD3 κλ 双特异抗体以 RPMI-8226 肿瘤细胞为靶细胞时，可激活 T 细胞的 NFAT 信号通路；无靶细胞时，不激活 NFAT 信号通路。

实施例 7、BCMA×CD3 κλ 双特异抗体对 PBMC 的非特异激活

取新鲜分离得到的 PBMC，每孔加入 50μL 梯度稀释的抗体 (抗体浓度从 66.7nM 起，10 倍稀释，7 个梯度)，5%CO₂ 37°C 培养 24 小时。培养结束后，将 50μL 上清转移至新的黑色酶标板，加入 50μL/孔 LDH 检测底物，10 分钟后终止反应并检测 LDH 释放；孔内剩余细胞用 4% 小牛血清清洗 2 次后，加入 100μg/mL 人 IgG 孵育 10 分钟，再加入 T 细胞活化检测抗体 (CD25-PE, CD4-APC, CD69-FITC 和 CD8-APC)，冰上孵育 20 分钟。洗涤弃上清，加入 60μL/孔 PI，置于冰上孵育 5 分钟，用流式细胞仪进行检测。检测结果见图 13，在缺乏靶细胞的条件下，BCMA×CD3 κλ 双特异抗体对外周血 T 细胞无激活作用，与阴性对照 KLH×CD3 相当。

实施例 8、BCMA×CD3 κλ 双特异抗体与 Fc 受体的结合

将 50μg/ml His-Tag 抗体通过氨基偶联到 CM5 芯片，分别捕获带有 His6 标签的 FcγRI、FcγRIIA_{H131} 和 FcγRIIIA_{V158} 重组蛋白，捕获时间 40 秒，流速 10μL/min，基线平稳后，将梯度稀释的抗体 (起始浓度 37.5μg/mL，2 倍稀释) 以 30μL/min 的流速流过芯片，结合时间 120 秒，解离时间 200 秒，用 Biacore evaluation 软件拟合得到亲和力常数。检测结果见图 14，BCMA×CD3 κλ 双特异抗体与活化受体 FcγRI、FcγRIIA_{H131} 和 FcγRIIIA_{V158} 均无结合；野生型 IgG4 和对照抗体分别与 FcγRI、FcγRIIA_{H131} 或 FcγRIIIA_{V158} 有结合。

实施例 9、BCMA×CD3 κλ 双特异抗体对 BCMA 受体与配体结合的阻断

用 pH9.6 碳酸缓冲液配制 1 μ g/mL 人 BCMA 重组抗原, 加入 maxisorp96 孔板, 4 $^{\circ}$ C 包被过夜。5% 脱脂牛奶/PBS 室温封闭 1 小时后, 每孔加入 50 μ L 抗体 (从 30 μ g/mL 起 4 倍稀释, 共稀释 10 个梯度), 室温孵育 30 分钟。加入 50 μ L 浓度 240ng/mL 的生物素标记人 APRIL 重组蛋白 (Novoprotein, CU89), 继续孵育 30 分钟。0.05% PBST (PBS+0.05% Tween-20) 和 PBS 各洗 3 遍后, 每孔加入 100 μ L SA-HRP (1:8000 稀释), 室温孵育 45 分钟。再以 0.05% PBST 和 PBS 各洗 3 遍, 每孔加入 100 μ L TMB 显色液, 10 分钟后每孔加入 50 μ L 浓硫酸终止反应, 酶标仪读数 OD450nm, 使用 Graphpad 软件进行三参数拟合曲线。检测结果见图 15, BCMA \times CD3 $\kappa\lambda$ 双特异抗体可有效阻断 BCMA 与受体 APRIL 的结合。

实施例 10、免疫重建小鼠皮下 NCI-H929 移植瘤模型

选择 6~8 周雌性 B-NGD 小鼠 (百奥赛图生物科技有限公司), 皮下接种 2 \times 10⁶ NCI-H929 细胞 (与 Matrigel 1:1 混合), 待肿瘤长至 60mm³ 时, 随机分组, 分别为给药组 3.0mg/kg、给药组 0.6mg/kg、给药组 0.12mg/kg 和阴性对照组 KLH \times CD3 3mg/kg。每只小鼠尾静脉注射 1 \times 10⁷ 个 PBMC 细胞, 3 天后开始第一次小鼠给药, 给药间隔为 5 天一次, 共给药 2 次。每 2 天监测一次小鼠肿瘤体积及小鼠体重, 实验结束后断颈处死小鼠, 取瘤称重并记录。结果见图 16, BCMA \times CD3 $\kappa\lambda$ 双特异抗体的体内药效呈现剂量相关性, 低剂量、中剂量和高剂量抑瘤率分别为 55%、95% 和 108% (BCMA \times CD3 $\kappa\lambda$ 005) 以及 46%、94% 和 108% (BCMA \times CD3 $\kappa\lambda$ 006), 疗效显著优于对照抗体。荷瘤小鼠对以上剂量耐受良好, 无体重减轻等不良反应。

权 利 要 求 书

1. 一种双特异性抗体或其抗原结合部分，其包含：

(a) 结合到靶细胞表面上的 BCMA 抗原的第一抗原结合部分或其抗原结合片段，所述第一抗原结合部分包含第一重链和第一轻链，所述第一抗原结合部分包含与第一抗原结合的第一结合结构域，其中，所述第一结合结构域包含选自氨基酸序列 SEQ ID NO: 12、13、14、26、27、28、36、37、43、44、50、55、56、57、65、66、71、72、73、147 或其任何变体的重链 CDR，和/或选自氨基酸序列 SEQ ID NO: 17、18、19、22、23、31、32、33、40、47、60、61、62、76、77、78、83、84、87、88、89、92、144 或任何变体的轻链 CDR；和

(b) 结合到 T 细胞表面上的 CD3 抗原的第二抗原结合部分或其抗原结合片段，所述第二抗原结合部分包含第二重链和第二轻链，所述第二抗原结合部分包含与第二抗原结合的第二结合结构域。

2. 根据权利要求 1 的双特异性抗体或其抗原结合部分，其中，所述第一结合结构域包含选自氨基酸序列 SEQ ID NO: 12、26、55、65、71 或其任何变体的重链 CDR1，选自氨基酸序列 SEQ ID NO: 13、27、36、43、50、56、66、72、147 或其任何变体的重链 CDR2，选自氨基酸序列 SEQ ID NO: 14、28、37、44、57、73 或其任何变体的重链 CDR3；和/或所述第一结合结构域包含选自氨基酸序列 SEQ ID NO: 17、22、31、47、60、76、83、87、92、144 或其任何变体的轻链 CDR1，选自氨基酸序列 SEQ ID NO: 18、23、32、40、61、77、84、88 或其任何变体的轻链 CDR2，选自氨基酸序列 SEQ ID NO: 19、33、62、78、89 或其任何变体的轻链 CDR3。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的双特异性抗体或其抗原结合部分，其中，

所述第一结合结构域的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列选自：氨基酸序列 SEQ ID NO: 12、13、14 的第一重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，氨基酸序列 SEQ ID NO: 26、27、28 的第一重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，氨基酸序列 SEQ ID NO: 12、36、37 的第一重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，氨基酸序列 SEQ ID NO: 12、43、44 的第一重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，氨基酸序列 SEQ ID NO: 12、50、14 的第一重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，氨基酸序列 SEQ ID NO: 55、56、57 的第一重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，氨基酸序列 SEQ ID NO: 65、66、14 的第一重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，氨基酸序列 SEQ ID NO: 71、72、73 的第一重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列；氨基酸序列 SEQ ID NO: 71、147、73 的第一重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列；和所述第一结合结构域的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列选自：氨基酸序列 SEQ ID NO: 17、18、19 的第一轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，氨基酸序列 SEQ ID NO: 22、23、19 的第一轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，氨基酸序列 SEQ ID NO: 31、32、33 的第一轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，氨基酸序列 SEQ ID NO: 17、40、19 的第一轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，氨基酸序列 SEQ ID NO: 47、18、19 的第一轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，氨基酸序列 SEQ ID NO: 60、61、62 的第一轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，氨基酸序列 SEQ ID NO: 76、77、78 的第一轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，氨基酸序列 SEQ ID NO: 83、84、19 的第一轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，氨基酸序列 SEQ ID NO: 87、88、89 的第一轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，氨基酸序列 SEQ ID NO: 92、23、19 的第一轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，氨基酸序列 SEQ ID NO: 144、77、78 的第一轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列；

优选地，所述第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 12、13、14 的第一重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，和包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 17、18、19 的第一轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列；

优选地，所述第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 12、13、14 的第一重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，和包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 22、23、19 的第一轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列；

优选地，所述第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 26、27、28 的第一重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，和包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 31、32、33 的第一轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列；

优选地，所述第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 12、36、37 的第一重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，和包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 17、40、19 的第一轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列；

优选地，所述第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 12、43、44 的第一重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，和包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 47、18、19 的第一轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列；

优选地，所述第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 12、50、14 的第一重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，和包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 17、40、19 的第一轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列；

优选地，所述第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 55、56、57 的第一重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，和包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 60、61、62 的第一轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列；

优选地，所述第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 12、13、14 的第一重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，和包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 17、40、19 的第一轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列；

优选地，所述第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 65、66、14 的第一重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，和包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 17、40、19 的第一轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列；

优选地，所述第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 71、72、73 的第一重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，和包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 76、77、78 的第一轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列；

优选地，所述第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 12、13、14 的第一重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列，和包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 83、84、19 的第一轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列；

优选地，所述第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 12、13、14 的第一重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序

列, 和包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 87、88、89 的第一轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列;

优选地, 所述第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 12、13、14 的第一重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列, 和包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 92、23、19 的第一轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列;

优选地, 所述第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 71、147、73 的第一重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列, 和包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 144、77、78 的第一轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列。

4. 根据权利要求 1-3 任一项所述的双特异性抗体或其抗原结合部分, 其中, 所述第一结合结构域包含选自氨基酸序列 SEQ ID NO: 10、24、34、41、48、53、63、69、79、145、150、154、158、162、166、170 或其任何变体的第一重链可变区, 和/或包含选自氨基酸序列 SEQ ID NO: 15、20、29、38、45、51、58、67、74、81、85、90、142、148、152、156、160、164、168 或其任何变体的第一轻链可变区;

优选地, 所述第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 10 或其任何变体的第一重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO: 15 或其任何变体的第一轻链可变区;

优选地, 所述第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 10 或其任何变体的第一重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO: 20 或其任何变体的第一轻链可变区;

优选地, 所述第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 24 或其任何变体的第一重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO: 29 或其任何变体的第一轻链可变区;

优选地, 所述第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 34 或其任何变体的第一重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO: 38 或其任何变体的第一轻链可变区;

优选地, 所述第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 41 或其任何变体的第一重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO: 45 或其任何变体的第一轻链可变区;

优选地, 所述第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 48 或其任何变体的第一重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO: 51 或其任何变体的第一轻链可变区;

优选地, 所述第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 53 或其任何变体的第一重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO: 58 或其任何变体的第一轻链可变区;

优选地, 所述第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 10 或其任何变体的第一重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO: 38 或其任何变体的第一轻链可变区;

优选地, 所述第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 63 或其任何变体的第一重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO: 67 或其任何变体的第一轻链可变区;

优选地, 所述第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 69 或其任何变体的第一重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO: 74 或其任何变体的第一轻链可变区;

优选地, 所述第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 79 或其任何变体的第一重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO: 81 或其任何变体的第一轻链可变区;

优选地, 所述第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 10 或其任何变体的第一重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO: 85 或其任何变体的第一轻链可变区;

优选地, 所述第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 10 或其任何变体的第一重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO: 90 或其任何变体的第一轻链可变区;

优选地, 所述第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 145 或其任何变体的第一重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO: 142 或其任何变体的第一轻链可变区;

优选地, 所述第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 150 或其任何变体的第一重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO: 148 或其任何变体的第一轻链可变区;

优选地, 所述第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 154 或其任何变体的第一重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO: 152 或其任何变体的第一轻链可变区;

优选地, 所述第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 158 或其任何变体的第一重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO: 156 或其任何变体的第一轻链可变区;

优选地, 所述第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 162 或其任何变体的第一重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO: 160 或其任何变体的第一轻链可变区;

优选地, 所述第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 166 或其任何变体的第一重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO: 164 或其任何变体的第一轻链可变区;

优选地, 所述第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 170 或其任何变体的第一重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO: 168 或其任何变体的第一轻链可变区。

5. 根据权利要求 1-4 任一项所述的双特异性抗体或其抗原结合部分, 其中, 所述第二结合结构域包含选自氨基酸序列 SEQ ID NO: 114、115、116、119、122、125、128、131、134、135 或其任何变体的重链 CDR; 和/或选自氨基酸序列 SEQ ID NO: 95、96、97、102、103、108、111 或其任何变体的轻链 CDR;

优选地, 所述第二结合结构域包含选自氨基酸序列 SEQ ID NO: 114、119、134 或其任何变体的第二重链 CDR1, 选自氨基酸序列 SEQ ID NO: 115、135 或其任何变体的第二重链 CDR2, 选自氨基酸序列 SEQ ID NO: 116、122、125、128、131 或其任何变体的第二重链 CDR3; 和/或选自氨基酸序列 SEQ ID NO: 95、102 或其任何变体的第二轻链 CDR1, 选自氨基酸序列 SEQ ID NO: 96、103、111 或其任何变体的第二轻链 CDR2, 选自氨基酸序列 SEQ ID NO: 91、108 或其任何变体的第二轻链 CDR3;

优选地, 所述第二结合结构域的重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列选自: 氨基酸序列 SEQ ID NO: 114、115、116 的第二重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列, 氨基酸序列 SEQ ID NO: 119、115、116 的第二重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列, 氨基酸序列 SEQ ID NO: 119、115、122 的第二重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列, 氨基酸序列 SEQ ID NO: 119、115、125 的第二重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列, 氨基酸序列 SEQ ID NO: 119、115、128 的第二重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列, 氨基酸序列 SEQ ID NO: 119、115、131 的第二重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列, 氨基酸序列 SEQ ID NO: 134、135、116 的第二重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列; 和所述第二结合结构域的轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列选自: 氨基酸序列 SEQ ID NO: 95、96、97 的第二轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列, 氨基酸序列 SEQ ID NO: 102、103、97 的第二轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列, 氨基酸序列 SEQ ID NO: 95、96、108 的第二轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列, 氨基酸序列 SEQ ID NO: 95、111、108 的第二轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列;

更优选地, 所述第二结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 114、115、116 的第二重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列, 和包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 95、96、97 的第二轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列;

更优选地, 所述第二结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 114、115、116 的第二重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列, 和包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 102、103、97 的第二轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列;

更优选地, 所述第二结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 114、115、116 的第二重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列, 和包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 95、96、108 的第二轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列;

更优选地, 所述第二结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 114、115、116 的第二重链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列, 和包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 95、111、108 的第二轻链 CDR1、CDR2 及 CDR3 序列;

优选地, 所述第二结合结构域包含选自氨基酸序列 SEQ ID NO: 112、117、120、123、126、129、132、136、138、140 或其任何变体的第二重链可变区, 和/或包含选自氨基酸序列 SEQ ID NO: 93、98、100、104、106、109 或其任何变体的第二轻链可变区;

更优选地, 所述第二结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 136 或其任何变体的第二重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO: 93 或其任何变体的第二轻链可变区;

更优选地, 所述第二结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 138 或其任何变体的第二重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO: 93 或其任何变体的第二轻链可变区;

更优选地, 所述第二结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 138 或其任何变体的第二重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO: 98 或其任何变体的第二轻链可变区;

更优选地, 所述第二结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 138 或其任何变体的第二重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO: 100 或其任何变体的第二轻链可变区;

更优选地, 所述第二结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 112 或其任何变体的第二重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO: 106 或其任何变体的第二轻链可变区;

更优选地, 所述第二结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 136 或其任何变体的第二重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO: 106 或其任何变体的第二轻链可变区;

更优选地, 所述第二结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 138 或其任何变体的第二重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO: 106 或其任何变体的第二轻链可变区。

6. 根据权利要求 1-5 任一项所述的双特异性抗体或其抗原结合部分, 其中, 所述第一抗原结合部分的所述第一轻链为 κ 型轻链, 所述第二抗原结合部分的所述第二轻链为 λ 型轻链,

优选地, 所述第二抗原结合部分的第二轻链可变区具有 Gln₄₀Glu 突变 ($V_{\lambda CD3}$: Gln₄₀Glu); 所述第二抗原结合部分的第二重链可变区具有 Gln₃₉Lys 突变 (VH_{CD3} : Gln₃₉Lys);

所述第一抗原结合部分的第一轻链可变区具有 Gln₄₂Lys 突变 ($V_{\kappa BCMA}$: Gln₄₂Lys); 更优选地, 所述第一抗原结合部分的第一重链可变区具有 Gln₃₉Glu 突变 (VH_{BCMA} : Gln₃₉Glu);

优选地, 所述双特异性抗体的第一抗原结合部分和第二抗原结合部分的 Fc 部分采用 knob-into-hole 结构; 优选地, 采用人 IgG4 knob-into-hole 结构。

7. 根据权利要求 1-6 任一项所述的双特异性抗体或其抗原结合部分, 其中, 所述第一重链包含选自 SEQ ID NO: 174、178 或其任何变体的重链, 所述第一轻链包含选自 SEQ ID NO: 172、176 或其任何变体的轻链;

优选地, 所述第一重链包含选自 SEQ ID NO: 174 或其任何变体的重链, 所述第一轻链包含选自 SEQ ID NO: 172 或其任何变体的轻链;

优选地, 所述第一重链包含选自 SEQ ID NO: 174 或其任何变体的重链, 所述第一轻链包含选自 SEQ ID NO: 176 或其任何变体的轻链;

优选地, 所述第一重链包含选自 SEQ ID NO: 178 或其任何变体的重链, 所述第一轻链包含选自 SEQ ID NO: 172 或其任何变体的轻链;

优选地, 所述第一重链包含选自 SEQ ID NO: 178 或其任何变体的重链, 所述第一轻链包含选自 SEQ ID NO: 176 或其任何变体的轻链。

8. 根据权利要求 1-7 任一项所述的双特异性抗体或其抗原结合部分, 其中, 所述第二结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 138 或其任何变体的第二重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO: 106 或其任何变体的第二轻链可变区;

优选地, 所述第二重链包含 SEQ ID NO: 182 或其任何变体的重链, 所述第二轻链包含 SEQ ID NO: 180 或其任何变体的轻链;

优选地, 所述双特异性抗体的所述第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 145 或其任何变体的第一重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO: 142 或其任何变体的第一轻链可变区; 所述第二结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 138 或其任何变体的第二重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO: 106 或其任何变体的第二轻链可变区;

优选地, 所述双特异性抗体的所述第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 150 或其任何变体的第一重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO: 148 或其任何变体的第一轻链可变区; 所述第二结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 138 或其任何变体的第二重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO: 106 或其任何变体的第二轻链可变区;

优选地, 所述双特异性抗体的所述第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 154 或其任何变体的第一重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO: 152 或其任何变体的第一轻链可变区; 所述第二结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 138 或其任何变体的第二重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO: 106 或其任何变体的第二轻链可变区;

优选地, 所述双特异性抗体的所述第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 158 或其任何变体的第一重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO: 156 或其任何变体的第一轻链可变区; 所述第二结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 138 或其任何变体的第二重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO: 106 或其任何变体的第二轻链可变区;

优选地, 所述双特异性抗体的所述第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 162 或其任何变体的第一重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO: 160 或其任何变体的第一轻链可变区; 所述第二结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 138 或其任何变体的第二重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO: 106 或其任何变体的第二轻链可变区;

优选地, 所述双特异性抗体的所述第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 166 或其任何变体的第一重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO: 164 或其任何变体的第一轻链可变区; 所述第二结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 138 或其任何变体的第二重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO: 106 或其任何变体的第二轻链可变区;

优选地, 所述双特异性抗体的所述第一结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 170 或其任何变体的第一重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO: 168 或其任何变体的第一轻链可变区; 所述第二结合结构域包含氨基酸序列 SEQ ID NO: 138 或其任何变体的第二重链可变区, 和氨基酸序列 SEQ ID NO: 106 或其任何变体的第二轻链可变区;

更优选地, 所述双特异性抗体的所述第一重链包含 SEQ ID NO: 174 或其任何变体的重链, 第一轻链包含 SEQ ID NO: 172 或其任何变体的轻链; 所述第二重链包含 SEQ ID NO: 182 或其任何变体的重链, 所述第二轻链包含 SEQ ID NO: 180 或其任何变体的轻链;

更优选地, 所述双特异性抗体的所述第一重链包含 SEQ ID NO: 174 或其任何变体的重链, 第一轻链包含 SEQ ID NO: 176 或其任何变体的轻链; 所述第二重链包含 SEQ ID NO: 182 或其任何变体的重链, 所述第二轻链包含 SEQ ID NO: 180 或其任何变体的轻链;

更优选地, 所述双特异性抗体的所述第一重链包含 SEQ ID NO: 178 或其任何变体的重链, 第一轻链包含 SEQ ID NO: 172 或其任何变体的轻链; 所述第二重链包含 SEQ ID NO: 182 或其任何变体的重链, 所述第二轻链包含 SEQ ID NO: 180 或其任何变体的轻链;

更优选地, 所述双特异性抗体的所述第一重链包含 SEQ ID NO: 178 或其任何变体的重链, 第一轻链包含 SEQ ID NO: 176 或其任何变体的轻链; 所述第二重链包含 SEQ ID NO: 182 或其任何变体的重链, 所述第二轻链包含 SEQ ID NO: 180 或其任何变体的轻链。

9. 一种结合 BCMA 的抗体或其抗原结合部分, 所述抗体包含权利要求 1-8 中任一项所述的第一抗原结合部分。

10. 编码根据 1-8 任一项所述的双特异性抗体或其抗原结合部分或权利要求 9 所述的结合 BCMA 的抗体或其抗原结合部分的核酸;

优选地, 所述第一抗原结合部分的第一重链可变区的编码核酸选自核苷酸序列 SEQ ID NO: 11、25、35、42、49、54、64、70、80、146、151、155、159、163、167、171 或其任何变体; 和/或所述第一抗原结合部分的第一轻链可变区的编码核酸选自核苷酸序列 SEQ ID NO: 16、21、30、39、46、52、59、68、75、82、86、91、143、149、153、157、161、165、169 或其任何变体;

更优选地, 所述第一抗原结合部分的第一重链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 11; 和所述第一轻链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 16;

更优选地, 所述第一抗原结合部分的第一重链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 11; 和所述第一轻链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 21;

更优选地, 所述第一抗原结合部分的第一重链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 25; 和所述第一轻链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 30;

更优选地, 所述第一抗原结合部分的第一重链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 35; 和所述第一轻链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 39;

更优选地, 所述第一抗原结合部分的第一重链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 42; 和所述第一轻链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 46;

更优选地, 所述第一抗原结合部分的第一重链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 49; 和所述第一轻链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 52;

更优选地, 所述第一抗原结合部分的第一重链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 54; 和所述第一轻链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 59;

更优选地,所述双特异性抗体的所述第一抗原结合部分的第一重链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 146; 和所述第一轻链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 143; 所述第二抗原结合部分的第二重链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 139; 和所述第二轻链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 107;

更优选地,所述双特异性抗体的所述第一抗原结合部分的第一重链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 151; 和所述第一轻链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 149; 所述第二抗原结合部分的第二重链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 139; 和所述第二轻链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 107;

更优选地,所述双特异性抗体的所述第一抗原结合部分的第一重链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 155; 和所述第一轻链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 153; 所述第二抗原结合部分的第二重链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 139; 和所述第二轻链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 107;

更优选地,所述双特异性抗体的所述第一抗原结合部分的第一重链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 159; 和所述第一轻链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 157; 所述第二抗原结合部分的第二重链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 139; 和所述第二轻链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 107;

更优选地,所述双特异性抗体的所述第一抗原结合部分的第一重链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 163; 和所述第一轻链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 161; 所述第二抗原结合部分的第二重链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 139; 和所述第二轻链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 107;

更优选地,所述双特异性抗体的所述第一抗原结合部分的第一重链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 167; 和所述第一轻链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 165; 所述第二抗原结合部分的第二重链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 139; 和所述第二轻链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 107;

更优选地,所述双特异性抗体的所述第一抗原结合部分的第一重链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 171; 和所述第一轻链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 169; 所述第二抗原结合部分的第二重链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 139; 和所述第二轻链可变区的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 107;

更优选地,所述双特异性抗体的所述第一抗原结合部分的第一重链的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 175, 和所述第一抗原结合部分的第一轻链的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 173, 所述第二抗原结合部分的第二重链的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 183, 和所述第二抗原结合部分的第二轻链的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 181;

更优选地,所述双特异性抗体的所述第一抗原结合部分的第一重链的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 175, 和所述第一抗原结合部分的第一轻链的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 177, 所述第二抗原结合部分的第二重链的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 183, 和所述第二抗原结合部分的第二轻链的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 181;

更优选地,所述双特异性抗体的所述第一抗原结合部分的第一重链的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 179, 和所述第一抗原结合部分的第一轻链的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 173, 所述第二抗原结合部分的第二重链的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 183, 和所述第二抗原结合部分的第二轻链的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 181;

更优选地,所述双特异性抗体的所述第一抗原结合部分的第一重链的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 179, 和所述第一抗原结合部分的第一轻链的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 177, 所述第二抗原结合部分的第二重链的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 183, 和所述第二抗原结合部分的第二轻链的编码核酸为核苷酸序列 SEQ ID NO: 181。

11. 含有权利要求 10 所述核酸的载体。

12. 含有权利要求 9 所述的核酸或权利要求 11 所述载体的细胞。

13. 一种组合物, 其包含权利要求 1-8 任一项所述的双特异性抗体或其抗原结合部分、权利要求 9 所述的结合 BCMA 的抗体或其抗原结合部分、权利要求 10 所述的核酸、权利要求 11 所述的载体和/或权利要求 12 所述的细胞。

14. 一种抗体-药物偶联物, 其包含共价附着至治疗部分的权利要求 1-8 任一项所述的双特异性抗体或其抗原结合部分或权利要求 9 所述的结合 BCMA 的抗体或其抗原结合部分;

优选地, 所述治疗部分选自细胞毒性部分、化疗剂、细胞因子、免疫抑制剂、免疫刺激剂、裂解肽或放射性同位素;

优选地, 所述细胞毒性部分选自以下: 紫杉醇; 细胞松弛素 B; 短杆菌肽 D; 溴化乙锭; 吐根碱; 丝裂霉素; 依托泊苷; 替尼泊苷; 长春新碱; 长春碱; 秋水仙碱; 多柔比星; 柔红霉素; 二羟基蒽二酮; 微管蛋白抑制剂如美登素或其类似物或衍生物; 抗有丝分裂剂如单甲基奥瑞他汀 E 或 F 或其类似物或衍生物; 海兔毒素 10 或 15 或其类似物; 伊立替康或其类似物; 米托蒽醌; 光辉霉素; 放线菌素 D; 1-脱氧氨基酮; 糖皮质激素; 普鲁卡因; 丁卡因; 利多卡因; 普萘洛尔; 嘌呤霉素; 卡奇霉素或其类似物或衍生物; 抗代谢药, 如甲氧嘌呤、6 巯基嘌呤、6 巯鸟嘌呤、阿糖胞苷、氟达拉滨、5 氟尿嘧啶、癸二喹、羟基脲、天冬酰胺酶、吉西他滨或克拉屈滨; 烷化剂, 如二氯甲基二乙胺、硫代嘌呤、苯丁酸氮芥、美法仑、卡莫司汀(BSNU)、洛莫司汀(CCNU)、环磷酰胺、白消安、二溴甘露醇、链脲佐菌素、达卡巴嗪(DTIC)、丙卡巴嗪、丝裂霉素 C; 铂类衍生物, 如顺铂或卡铂; 多卡霉素 A、多卡霉素 SA、雷切霉素(CC-1065)或其类似物或衍生物; 抗生素, 如放线菌素、博来霉素、柔红霉素、多柔比星、伊达比星、光霉素、丝裂霉素、米托蒽醌、普利霉素、安定霉素(AMC); 吡咯并[2,1-c][1,4]-苯并二氮杂卓(PDB); 白喉毒素及

相关分子如白喉 A 链及其活性片段和杂合分子、蓖麻毒素如蓖麻毒素 A 或去糖基化蓖麻毒素 A 链毒素、霍乱毒素、志贺样毒素如 SLT I、SLT II、SLT IV、LT 毒素、C3 毒素、志贺毒素、百日咳毒素、破伤风毒素、大豆 Bowman-Birk 蛋白酶抑制剂、假单胞菌外毒素、阿罗林、皂草素、蒴莲根毒素、胶凝蛋白、相思豆毒素 A 链、蒴莲根毒素 A 链、 α -sarcin、油桐(*Aleurites fordii*)蛋白、石竹素蛋白、美洲商陆蛋白如 PAPI、PAPII 和 PAP-S、苦瓜(*Momordica charantia*)抑制剂、泻果素、巴豆毒素、肥皂草(*Saponaire officinalis*)抑制剂、白树毒素、丝裂霉素、局限曲菌素、酚霉素和依诺霉素毒素；核糖核酸酶(RNase)；DNase I、葡萄球菌内毒素 A；商陆抗病毒蛋白；白喉毒素和假单胞菌内毒素；

优选地，所述细胞因子选自 IL-2、IL-4、IL-6、IL-7、IL-10、IL-12、IL-13、IL-15、IL-18、IL-23、IL-24、IL-27、IL-28a、IL-28b、IL-29、KGF、IFN α 、IFN β 、IFN γ 、GM-CSF、CD40L、Flt3 配体、干细胞因子、安西司亭和 TNF α ；

优选地，所述放射性同位素选自 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{35}S 、 ^{67}Cu 、 ^{90}Y 、 ^{99}Tc 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{211}At 、 ^{212}Bi 、 ^{212}Pb 、 ^{213}Bi 、 ^{225}Ac 和 ^{227}Th 。

15. 一种试剂盒，其含权利要求 1-8 任一项所述的特异性抗体或其抗原结合部分、权利要求 9 所述的结合 BCMA 的抗体或其抗原结合部分、权利要求 10 所述的核酸分子、权利要求 11 所述的载体、权利要求 12 所述的细胞、权利要求 13 所述的组合物和/或权利要求 14 的抗体-药物偶联物。

16. 含权利要求 1-8 任一项所述的特异性抗体或其抗原结合部分、权利要求 9 所述的结合 BCMA 的抗体或其抗原结合部分、权利要求 10 所述的核酸分子、权利要求 11 所述的载体、权利要求 12 所述的细胞、权利要求 13 所述的组合物和/或权利要求 14 的抗体-药物偶联物在制备用于诊断、治疗或预防与 BCMA 相关的疾病的药物或试剂盒中的用途；

优选地，与 BCMA 相关的疾病包括 B 细胞疾病；

优选地，所述疾病是癌症；更优选地，所述癌症是 B-细胞相关癌症，其选自多发性骨髓瘤、恶性浆细胞瘤、霍奇金淋巴瘤、结节性淋巴细胞为主的霍奇金淋巴瘤、Kahler's 病和骨髓性白血病、浆细胞白血病、浆细胞瘤、B-细胞幼淋巴细胞白血病、毛细胞白血病、B-细胞非霍奇金淋巴瘤(NHL)、急性髓性白血病(AML)、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、急性淋巴细胞白血病(ALL)、慢性髓性白血病(CML)、滤泡性淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、大细胞淋巴瘤、前体 B-淋巴细胞淋巴瘤、髓性白血病、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症、弥漫性大 B 细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、粘膜相关淋巴组织淋巴瘤、小细胞淋巴细胞性淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、原发性纵隔(胸腺)大 B 细胞淋巴瘤、淋巴浆细胞淋巴瘤、瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症、淋巴结边缘区 B 细胞淋巴瘤、脾边缘区淋巴瘤、血管内大 B-细胞淋巴瘤、原发性渗出性淋巴瘤、淋巴瘤样肉芽肿病、富含 T 细胞/组织细胞的大 B-细胞淋巴瘤、原发性中枢神经系统淋巴瘤、原发性皮肤弥漫性大 B-细胞淋巴瘤(腿型)、老年人 EBV 阳性弥漫性大 B-细胞淋巴瘤、炎症相关的弥漫性大 B-细胞淋巴瘤、血管内大 B-细胞淋巴瘤、ALK 阳性大 B-细胞淋巴瘤、浆母细胞淋巴瘤、HHV8 相关的多中心 Castleman 病中产生的大 B-细胞淋巴瘤、未分类的具有弥漫性大 B-细胞淋巴瘤和伯基特淋巴瘤中间特征的 B-细胞淋巴瘤、未分类的具有弥漫性大 B-细胞淋巴瘤和经典霍奇金淋巴瘤中间特征的 B-细胞淋巴瘤以及其他 B-细胞相关淋巴瘤；

更优选地，所述 B 细胞疾病是 B 细胞障碍；优选地，浆细胞障碍选自：多发性骨髓瘤、浆细胞瘤、浆细胞白血病、巨球蛋白血症、淀粉样变性、华氏巨球蛋白血症、孤立性骨浆细胞瘤、髓外浆细胞瘤、骨硬化性骨髓瘤、重链病、意义不明确单克隆丙种球蛋白病以及郁积型多发性骨髓瘤；

所述疾病是自身免疫性疾病，如系统性红斑性狼疮或类风湿性关节炎。

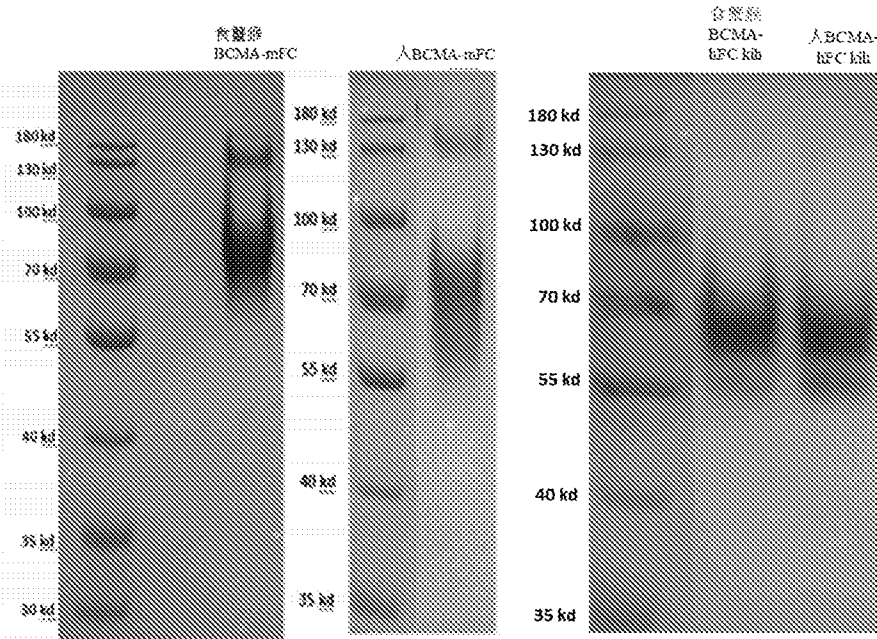


图 1

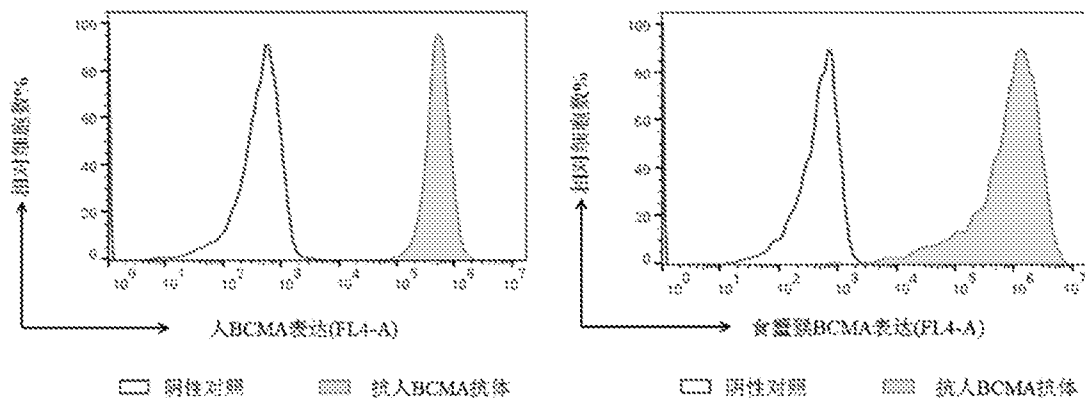


图 2

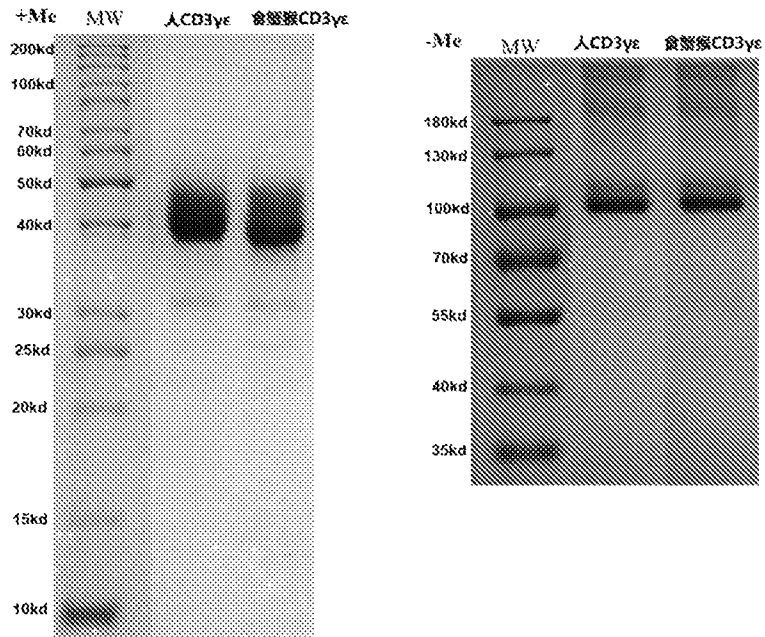


图 3

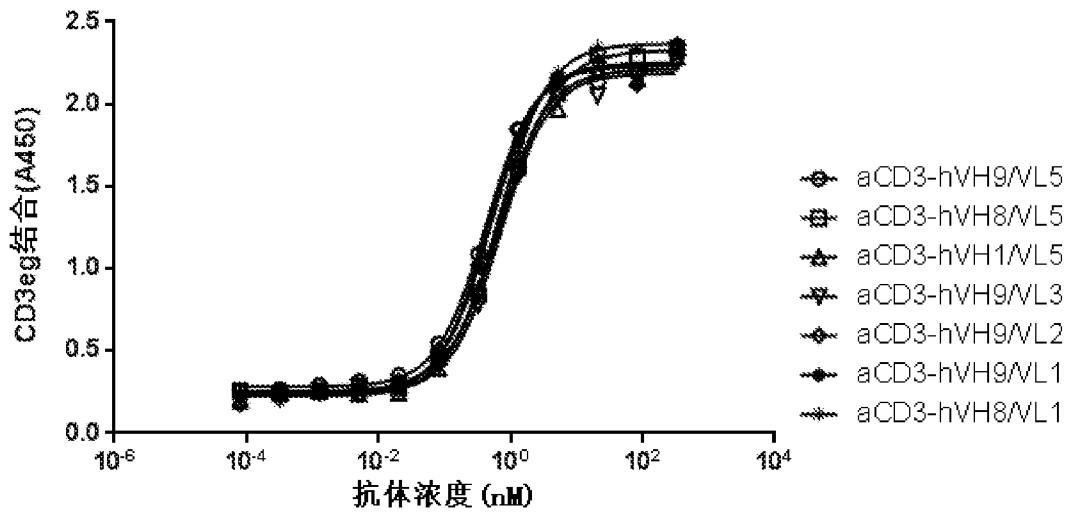


图 4

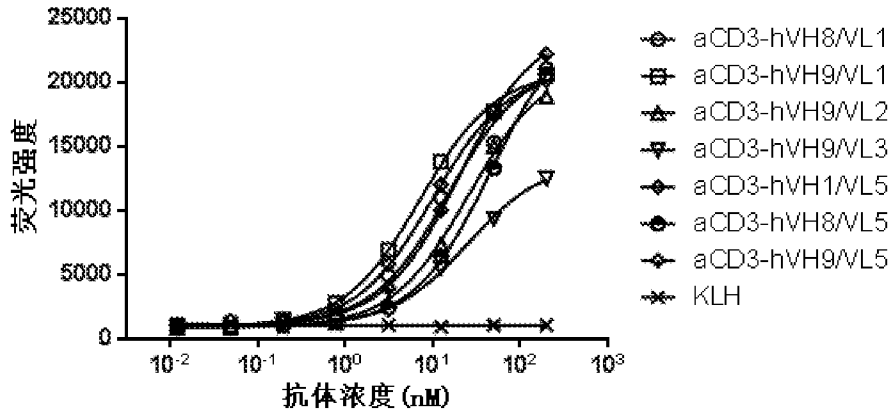


图 5

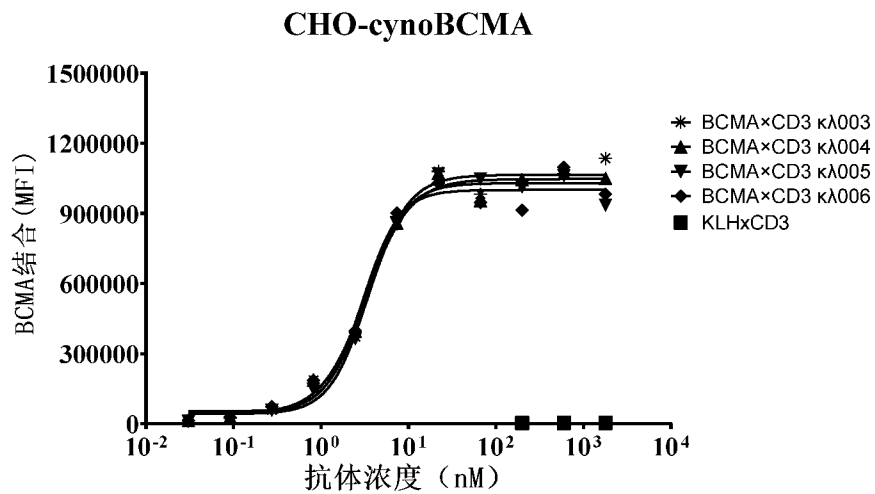
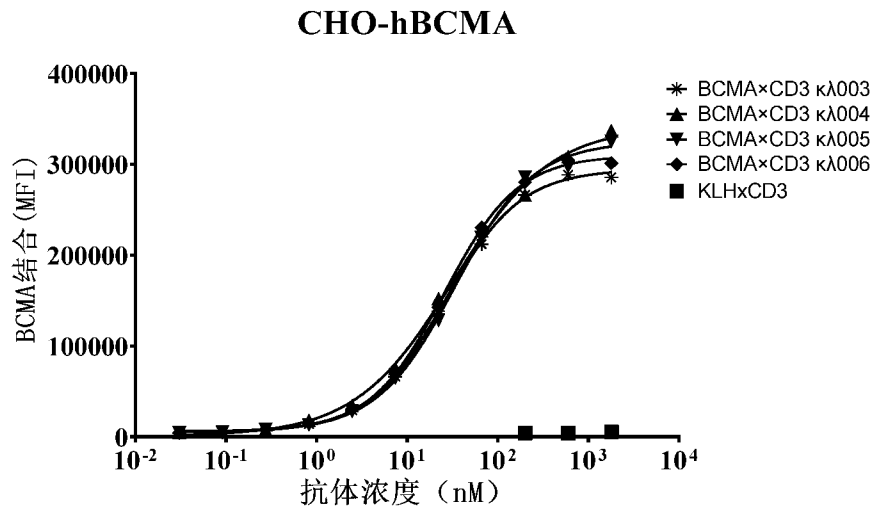


图 6

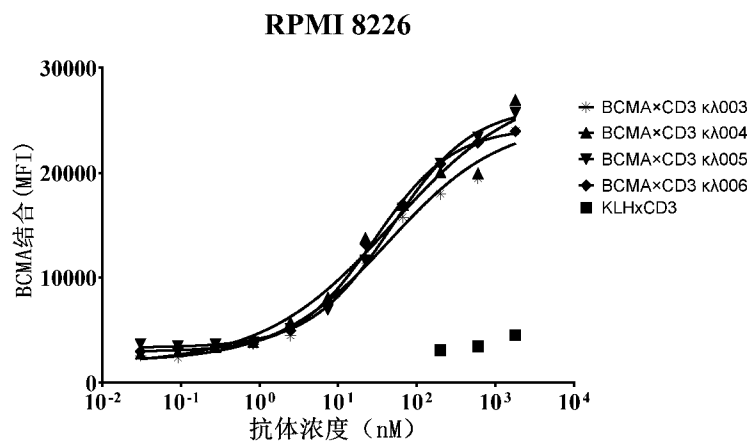
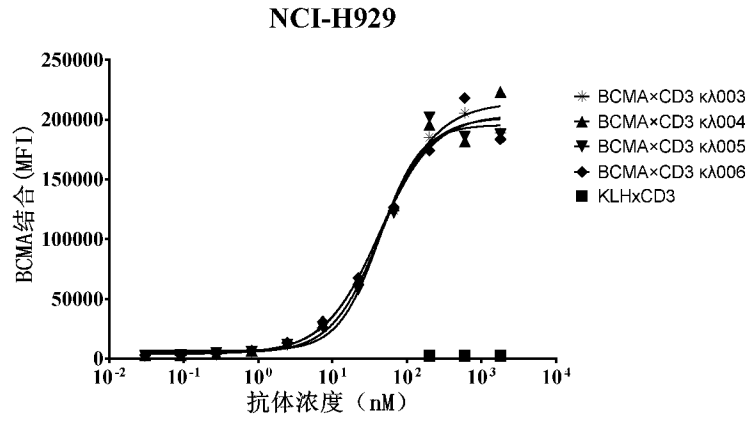


图 7

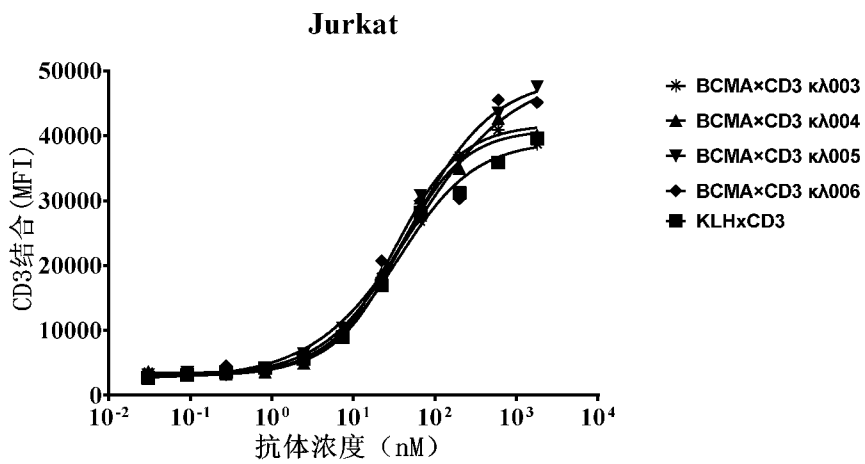


图 8

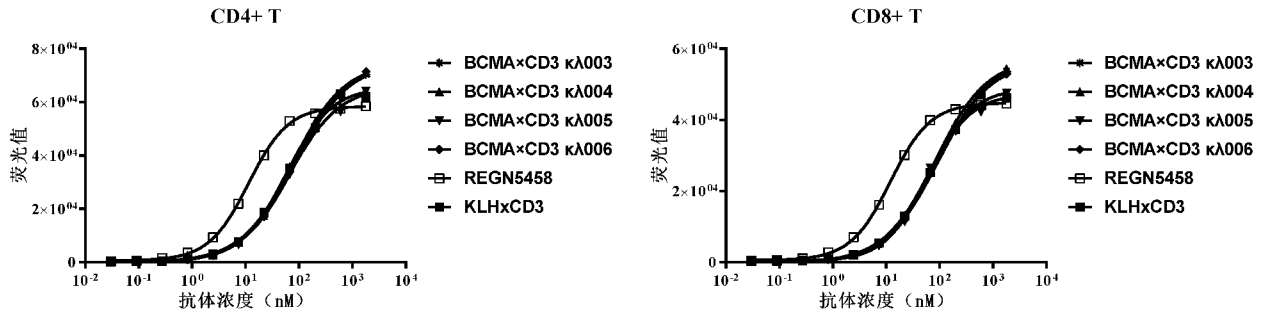


图 9

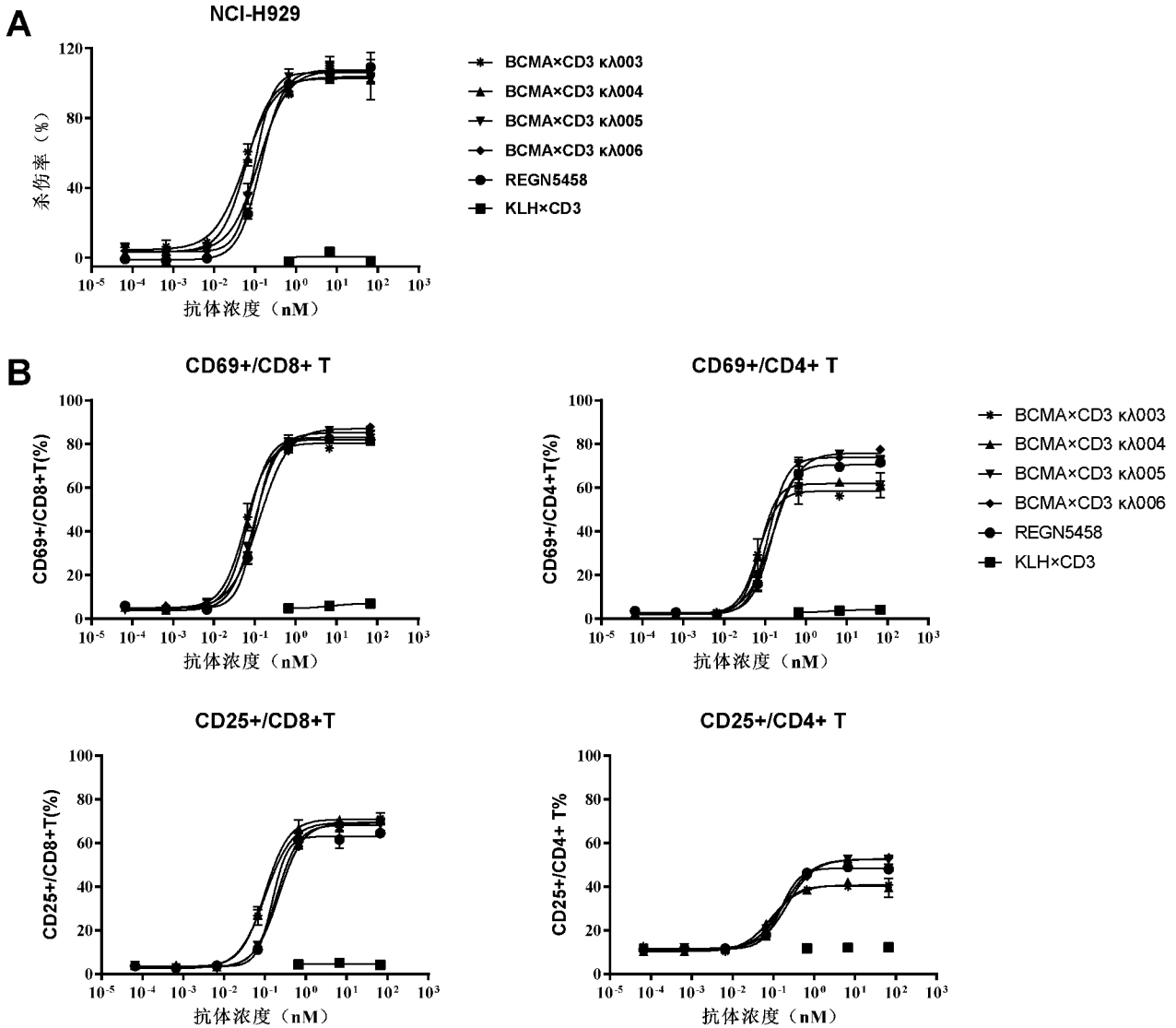


图 10

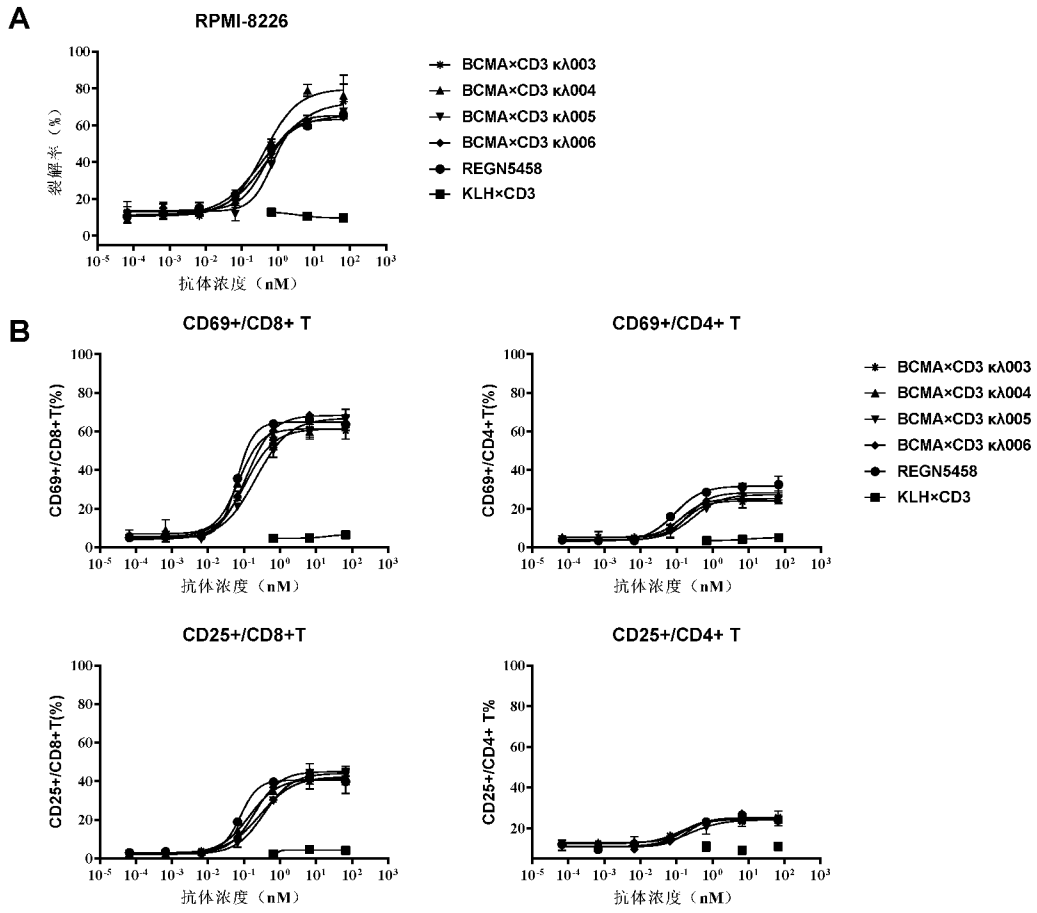


图 11

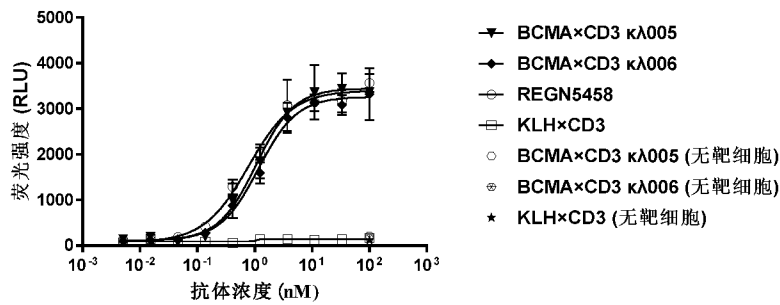


图 12

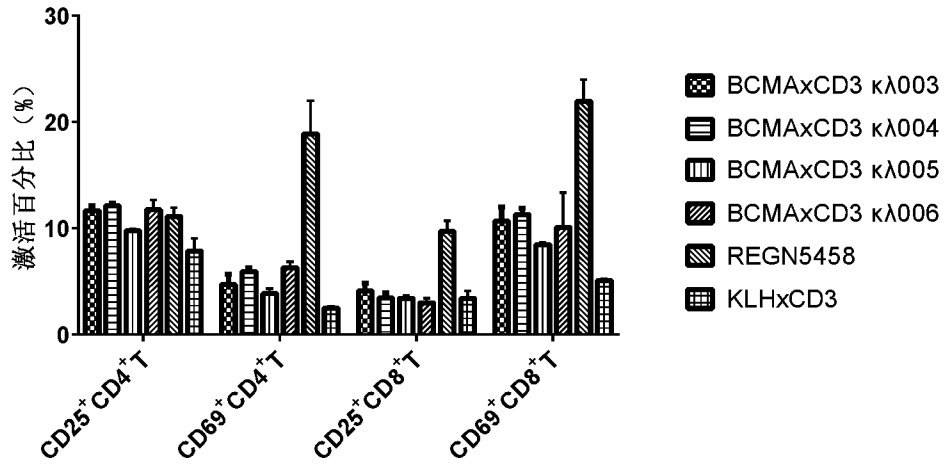


图 13

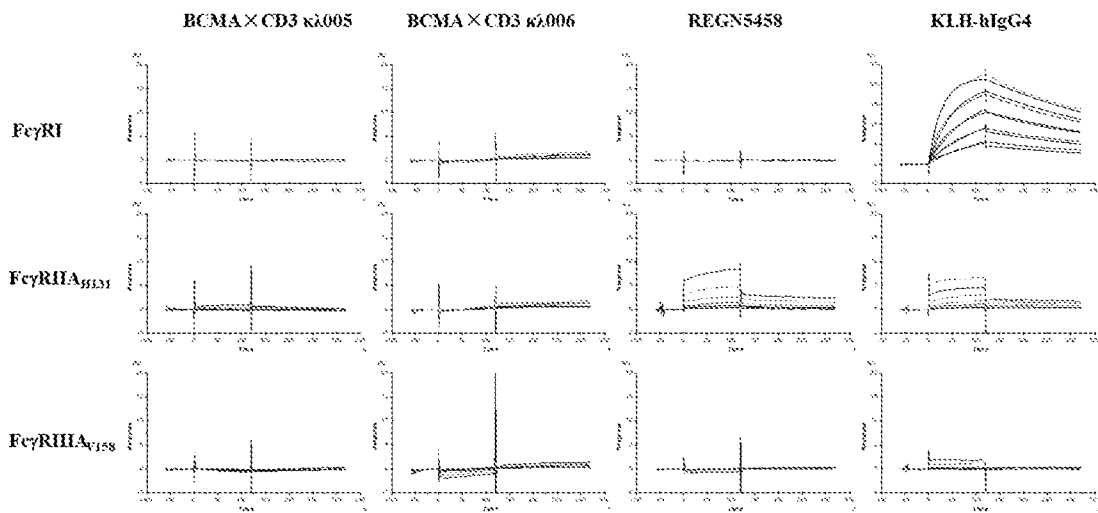


图 14

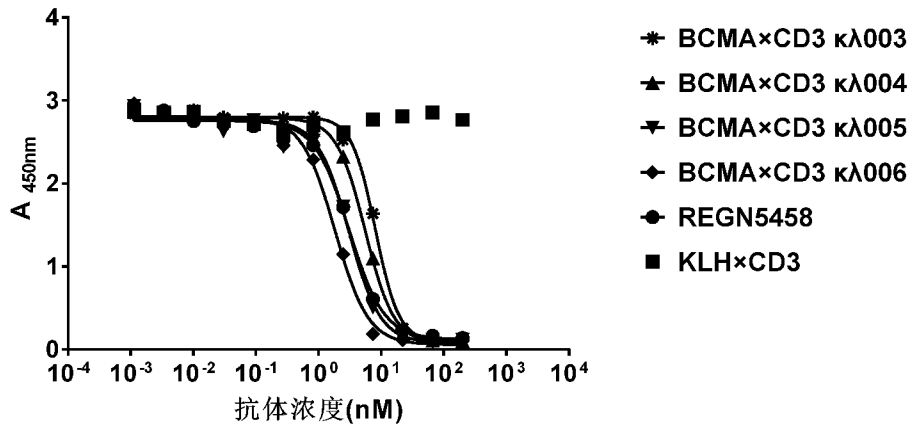


图 15

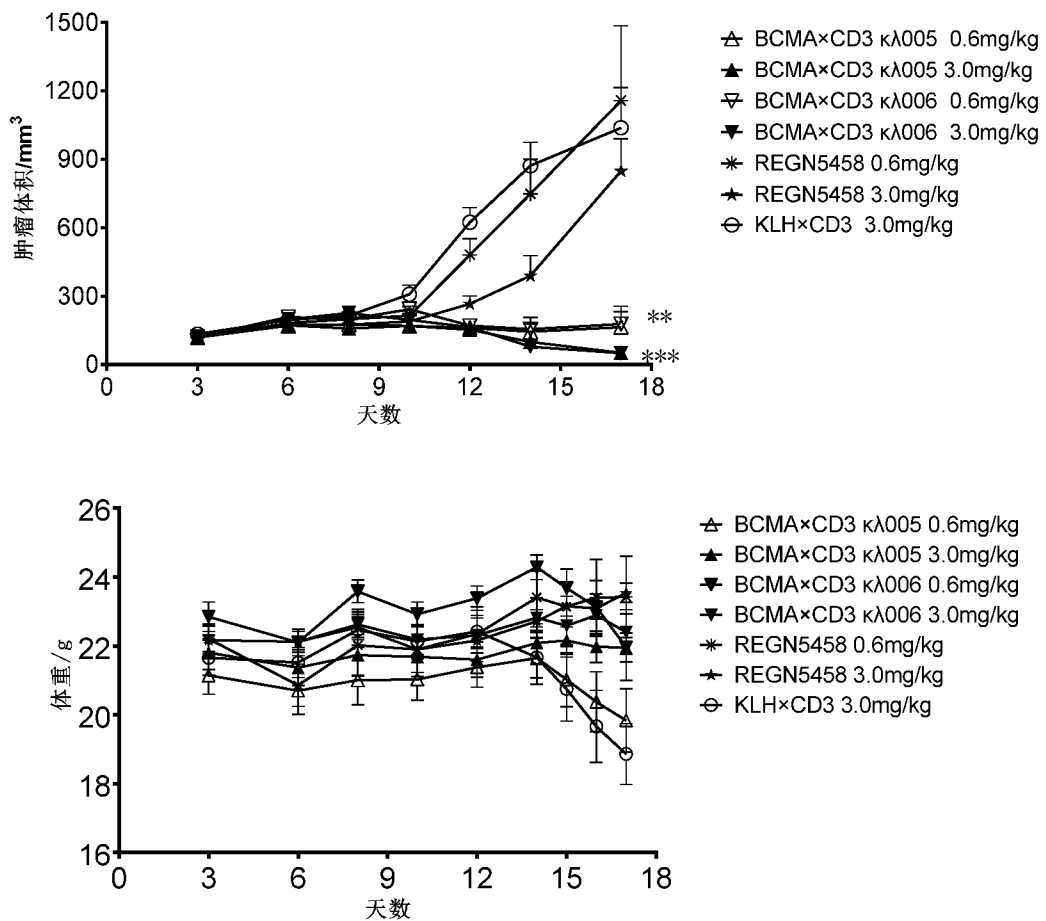


图 16

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2021/135121

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
C07K 16/28(2006.01)i; A61K 39/395(2006.01)i; A61P 35/02(2006.01)i; A61P 37/00(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07K16:A61K39		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CNTXT; WPABSC; OETXT; ENTXT; DWPI; ENTXTC; CNKI; PubMed; ISI web of knowledge; 中国专利生物序列检索系统; Chinese Patent Biological Sequence Retrieval System; Genbank; EMBL-EBI; STN: BCMA, CD3, 双抗, 双特异性抗体, bispecific antibody, SEQ ID NO: 10, 12-15, 17-19, 22, 23, 26-28, 31-33, 36-37, 40, 43-44, 47, 50, 56, 57, 60-62, 65-66, 71-73, 76-78, 83-84, 87-89, 92-93, 95-97, 102-103, 106, 108, 111-112, 114-116, 119, 122, 125, 128, 131, 134, 135, 136, 138, 144, 147		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 104114578 A (AMGEN RESEARCH (MUNICH) GMBH et al.) 22 October 2014 (2014-10-22) claims 1-6 and 15-24, and description, paragraphs 739-741	1-2, 4-16
Y	CN 104114578 A (AMGEN RESEARCH (MUNICH) GMBH et al.) 22 October 2014 (2014-10-22) claims 1-6 and 15-24, and description, paragraphs 739-741	5-8, 10-16
X	WO 2020018820 A1 (REGENERON PHARMACEUTICALS INC) 23 January 2020 (2020-01-23) claims 1-56, and description, embodiments 1-2, and table 1, SEQ ID NO: 10 and 16	1-2, 4, 6-7, 9-16
Y	WO 2020018820 A1 (REGENERON PHARMACEUTICALS INC) 23 January 2020 (2020-01-23) claims 1-56, and description, embodiments 1-2, and table 1, SEQ ID NO: 10 and 16	5-8, 10-16
Y	CN 103703024 A (MACROGENICS INC.) 02 April 2014 (2014-04-02) claim 1 and sequence table	5-8, 10-16
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 11 January 2022		Date of mailing of the international search report 07 February 2022
Name and mailing address of the ISA/CN China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No. (86-10)62019451		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2021/135121

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2007042261 A2 (MICROMET AG) 19 April 2007 (2007-04-19) description, sequence table, SEQ ID NO: 110-118	5-8, 10-16
A	解志刚等 (XIE, Zhigang et al.). "基因工程双特异性抗体构建模式研究进展 (Construction Formats of Engineered Bispecific Antibodies)" 军事医学科学院院刊 (<i>Bulletin of the Academy of Military Medical Sciences</i>), Vol. 28, No. 4, 31 August 2004 (2004-08-31), ISSN: 1674-9960, pp. 375-378	1-16

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
 - a. forming part of the international application as filed:
 - in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - on paper or in the form of an image file.
 - b. furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - c. furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
 - in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
 - on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2. In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

[1] Claims 1-16 relate to a large amount of BCMAxCD3 bispecific antibodies or antigen-binding portions of different amino acid sequences, a correspondingly contained BCMA antibody, and encoding nucleic acids, vectors, cells, compositions, antibody-drug conjugates, kits of bispecific antibodies and uses thereof. The same or corresponding technical feature between the described parallel technical solutions is a bispecific antibody that specifically binds BCMA and CD3, and the same or corresponding technical feature is disclosed in the prior art. Therefore, the described same or corresponding technical feature makes no contribution over the prior art. Therefore, the described parallel technical solutions are not technically related, do not belong to a single general inventive concept, and thus do not comply with the requirement of unity of invention as defined in PCT Rule 13.1.

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

- Remark on Protest**
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
 - The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
 - No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2021/135121

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
CN 104114578 A	22 October 2014	PT 2780375 T	12 November 2019
		MX 2014005851 A	19 January 2015
		US 2013156769 A1	20 June 2013
		US 9340621 B2	17 May 2016
		EA 201490931 A1	29 August 2014
		EA 028162 B1	31 October 2017
		BR 112014010940 A2	16 May 2017
		ES 2749451 T3	20 March 2020
		JP 2020202838 A	24 December 2020
		LT 2780375 T	11 November 2019
		HR P20191697 T1	13 December 2019
		JP 2017195889 A	02 November 2017
		UA 116766 C2	10 May 2018
		JP 2018050627 A	05 April 2018
		JP 6738314 B2	12 August 2020
		JP 2014534242 A	18 December 2014
		JP 6231007 B2	15 November 2017
		EC SP14004893 A	30 June 2015
		AP 201407529 A0	31 March 2014
		AP 2014007529 A0	31 March 2014
		JP 2015504306 A	12 February 2015
		JP 6378087 B2	22 August 2018
		SG 11201400671 Y A	28 April 2014
		RS 59373 B1	29 November 2019
		IL 260189 D0	31 July 2018
		CN 104169300 A	26 November 2014
		MA 35449 B1	01 September 2014
		CN 109485729 A	19 March 2019
		IL 232636 D0	30 June 2014
		ES 2751996 T3	02 April 2020
		SG 11201401729 P A	26 September 2014
		WO 2013072406 A1	23 May 2013
		AR 088883 A1	16 July 2014
		CA 2850591 A1	23 May 2013
		AU 2012327203 A1	30 May 2013
		TN 2014000097 A1	01 July 2015
		BR 112014010630 A2	25 April 2017
		SG 10201704483 R A	28 July 2017
		UY 34453 A	28 June 2013
		SG 10201606484 S A	28 October 2016
		MX 2014005852 A	22 September 2014
		MX 349396 B	26 July 2017
		NZ 622087 A	24 June 2016
		PH 12014501091 A1	28 July 2014
		EA 201490932 A1	30 September 2014
		PL 2780375 T3	31 January 2020
		ZA 201401615 B	30 August 2017
		PE 20141564 A1	29 November 2014
		DK 2780375 T3	18 November 2019
		KR 20140105757	02 September 2014

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2021/135121

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)	
		TW 1679212 B	11 December 2019	
		AU 2012327200 B	18 February 2016	
		IL 232603 A	31 July 2018	
		GE 201806928 B	26 November 2018	
		KR 20200003934 A	10 January 2020	
		VN 39296 A	25 September 2014	
		AU 2012327200 B	21 January 2016	
		CN 104114578 B	16 October 2018	
		US 2013156770 A1	20 June 2013	
		TW 201326214 A	01 July 2013	
		US 2015023967 A1	22 January 2015	
		HK 1198040 A1	29 May 2020	
		KR 102229469 B	18 March 2021	
		VN 10027129 B	25 January 2021	
		ID 201503394 A	07 August 2015	
		ID 201603353 A	13 May 2016	
		ZA 201401615 A	30 August 2017	
		KR 20210032012 A	23 March 2021	
		PH 12014501076 A1	23 June 2014	
		IN 201402860 P1	31 August 2016	
		EP 3611193 A1	19 February 2020	
		AU 2012327200 A1	30 May 2013	
		MX 2014005852 A	30 September 2014	
		SG 10201606484 B	12 June 2017	
		KR 102062231 B	03 January 2020	
		US 10766969 B2	08 September 2020	
		CA 2849196 C	20 April 2021	
		CA 2849196 A1	23 May 2013	
		EP 2780375 A1	24 September 2014	
		HK 1198040 A0	06 March 2015	
		US 9150664 B2	06 October 2015	
		IL 232603 A1	30 June 2014	
		SG 10201704483 A1	28 July 2017	
		EP 2780375 B1	11 September 2019	
<hr/>				
WO	2020018820 A1	23 January 2020	CN 112423785 A	26 February 2021
			CA 3107126 A1	23 January 2020
			CL 2021000131 A1	02 July 2021
			BR 112021000186 A2	10 August 2021
			IL 279974 D0	01 March 2021
			AU 2019307928 A1	11 February 2021
			SG 11202100252 S A	25 February 2021
			US 2020024356 A1	23 January 2020
			MA 53168 A	26 May 2021
			CO 2021000188 A2	18 January 2021
			EP 3823664 A1	26 May 2021
			JP 2021531005 A	18 November 2021
			KR 20210034032 A	29 March 2021
			TW 202019966 A	01 June 2020
			PH 12021550031 A1	20 September 2021
			IN 202147006015	19 February 2021

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2021/135121

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
CN 103703024 A	02 April 2014	UA 117072 C2	11 June 2018
		BR 112013029893 A2	30 May 2017
		HU E044209 T2	28 October 2019
		ME 03440 B	20 January 2020
		UA 115122 C2	25 September 2017
		JP 2017206505 A	24 November 2017
		JP 6496349 B2	03 April 2019
		PT 2714733 T	23 May 2019
		RS 58765 B1	28 June 2019
		ES 2732213 T3	21 November 2019
		JP 2019142866 A	29 August 2019
		US 2014099318 A1	10 April 2014
		US 9587021 B2	07 March 2017
		UA 115402 C2	25 October 2017
		EP 2714733 A2	09 April 2014
		EP 2714733 A4	14 October 2015
		EP 2714733 B1	23 January 2019
		US 2017137519 A1	18 May 2017
		US 10150812 B2	11 December 2018
		JP 2014517844 A	24 July 2014
		JP 6141831 B2	07 June 2017
		US 2019040135 A1	07 February 2019
		US 11111299 B2	07 September 2021
		IL 259187 D0	31 July 2018
		IL 259187 A	28 February 2019
		CL 2016001254 A1	02 December 2016
		CN 107827985 A	23 March 2018
		CN 107722124 A	23 February 2018
		CL 2013003329 A1	04 July 2014
		CA 2836857 A1	29 November 2012
		CA 2836857 C	03 December 2019
		NZ 618021 A	27 February 2015
		AU 2019200159 A1	31 January 2019
		AU 2019200159 B2	12 March 2020
		SG 10201509588 T A	30 December 2015
		DK 2714733 T3	06 May 2019
		ZA 201308602 B	30 July 2014
		SG 195072 A1	30 December 2013
		AU 2017204545 A1	20 July 2017
		AU 2017204545 B2	15 November 2018
		EP 3492494 A1	05 June 2019
		SG 10201703425 R A	30 May 2017
		KR 20190105112 A	11 September 2019
		KR 20140033107 A	17 March 2014
		KR 102060389 B1	31 December 2019
		SI 2714733 T1	28 June 2019
		WO 2012162067 A2	29 November 2012
		WO 2012162067 A3	31 January 2013
		EC SP13013101 A	31 January 2014
		EA 033677 B1	15 November 2019

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2021/135121

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
		IL 264293 A	30 September 2020
		IN 377006 B	17 September 2021
		AU 2012259161 A1	12 December 2013
		MY 173899 A2	06 February 2012
		MX 2013013584 A	30 September 2014
		IN 201310078 P1	24 June 2016
		SG 195072 B	30 May 2017
		HK 1190725 A1	13 March 2020
		HK 40009624 A0	26 June 2020
		NZ 703939 A	29 January 2016
		MX 369220 B	31 October 2019
		CN 103703024 A	02 April 2014
		BR 122016016837 A2	27 August 2019
		CN 103703024 B	14 November 2017
		HK 1190725 A0	11 July 2014
		IL 229575 A	31 May 2018
		AU 2012259161 B	06 April 2017
<hr/>			
WO 2007042261 A2	19 April 2007	EP 1940881 A2	09 July 2008
		EP 1940881 B1	30 November 2016
		CA 2625440 A1	19 April 2007
		US 2009252683 A1	08 October 2009
		US 8236308 B2	07 August 2012
		EP 3178850 A1	14 June 2017
		EP 3178850 B1	13 January 2021
		DK 1940881 T3	20 February 2017
		EP 3770174 A1	27 January 2021
		ES 2856451 T3	27 September 2021
		WO 2007042261 A3	21 December 2007
		WO 2007042261 A9	07 May 2020
		AU 2006301492 A1	19 April 2007
		AU 2006301492 B2	09 June 2011
		JP 2009511521 A	19 March 2009
		JP 5686953 B2	18 March 2015
		US 2013129729 A1	23 May 2013
		US 2019070290 A1	07 March 2019
		ES 2616316 T3	12 June 2017
		SG 141561 A1	28 May 2008
<hr/>			

<p>A. 主题的分类</p> <p>C07K 16/28 (2006.01) i; A61K 39/395 (2006.01) i; A61P 35/02 (2006.01) i; A61P 37/00 (2006.01) i</p> <p>按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类</p>																							
<p>B. 检索领域</p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>C07K16;A61K39</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))</p> <p>CNXTX;WPABSC;OETXT;ENTXT;DWPI;ENTXTC;CNKI;PubMed;ISI web of knowledge;中国专利生物序列检索系统;Genbank;EMBL-EBI;STN:BCMA, CD3, 双抗, 双特异性抗体, bispecific antibody, SEQ ID NO:10, 12-15, 17-19, 22, 23, 26-28, 31-33, 36-37, 40, 43-44, 47, 50, 56, 57, 60-62, 65-66, 71-73, 76-78, 83-84, 87-89, 92-93, 95-97, 102-103, 106, 108, 111-112, 114-116, 119, 122, 125, 128, 131, 134, 135, 136, 138, 144, 147</p>																							
<p>C. 相关文件</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>类型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>CN 104114578 A (安进研发慕尼黑黑股份有限公司等) 2014年10月22日 (2014 - 10 - 22) 权利要求1-6, 15-24, 说明书第739-741段</td> <td>1-2, 4-16</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>CN 104114578 A (安进研发慕尼黑黑股份有限公司等) 2014年10月22日 (2014 - 10 - 22) 权利要求1-6, 15-24, 说明书第739-741段</td> <td>5-8, 10-16</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>WO 2020018820 A1 (REGENERON PHARMACEUTICALS INC) 2020年1月23日 (2020 - 01 - 23) 权利要求1-56, 说明书实施例1-2以及表1中的SEQ ID NO: 10和16</td> <td>1-2, 4, 6-7, 9-16</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>WO 2020018820 A1 (REGENERON PHARMACEUTICALS INC) 2020年1月23日 (2020 - 01 - 23) 权利要求1-56, 说明书实施例1-2以及表1中的SEQ ID NO: 10和16</td> <td>5-8, 10-16</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>CN 103703024 A (宏观基因有限公司) 2014年4月2日 (2014 - 04 - 02) 权利要求1和序列表</td> <td>5-8, 10-16</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>WO 2007042261 A2 (MICROMET AG) 2007年4月19日 (2007 - 04 - 19) 说明书序列表中SEQ ID NO: 110-118</td> <td>5-8, 10-16</td> </tr> </tbody> </table>			类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	X	CN 104114578 A (安进研发慕尼黑黑股份有限公司等) 2014年10月22日 (2014 - 10 - 22) 权利要求1-6, 15-24, 说明书第739-741段	1-2, 4-16	Y	CN 104114578 A (安进研发慕尼黑黑股份有限公司等) 2014年10月22日 (2014 - 10 - 22) 权利要求1-6, 15-24, 说明书第739-741段	5-8, 10-16	X	WO 2020018820 A1 (REGENERON PHARMACEUTICALS INC) 2020年1月23日 (2020 - 01 - 23) 权利要求1-56, 说明书实施例1-2以及表1中的SEQ ID NO: 10和16	1-2, 4, 6-7, 9-16	Y	WO 2020018820 A1 (REGENERON PHARMACEUTICALS INC) 2020年1月23日 (2020 - 01 - 23) 权利要求1-56, 说明书实施例1-2以及表1中的SEQ ID NO: 10和16	5-8, 10-16	Y	CN 103703024 A (宏观基因有限公司) 2014年4月2日 (2014 - 04 - 02) 权利要求1和序列表	5-8, 10-16	Y	WO 2007042261 A2 (MICROMET AG) 2007年4月19日 (2007 - 04 - 19) 说明书序列表中SEQ ID NO: 110-118	5-8, 10-16
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求																					
X	CN 104114578 A (安进研发慕尼黑黑股份有限公司等) 2014年10月22日 (2014 - 10 - 22) 权利要求1-6, 15-24, 说明书第739-741段	1-2, 4-16																					
Y	CN 104114578 A (安进研发慕尼黑黑股份有限公司等) 2014年10月22日 (2014 - 10 - 22) 权利要求1-6, 15-24, 说明书第739-741段	5-8, 10-16																					
X	WO 2020018820 A1 (REGENERON PHARMACEUTICALS INC) 2020年1月23日 (2020 - 01 - 23) 权利要求1-56, 说明书实施例1-2以及表1中的SEQ ID NO: 10和16	1-2, 4, 6-7, 9-16																					
Y	WO 2020018820 A1 (REGENERON PHARMACEUTICALS INC) 2020年1月23日 (2020 - 01 - 23) 权利要求1-56, 说明书实施例1-2以及表1中的SEQ ID NO: 10和16	5-8, 10-16																					
Y	CN 103703024 A (宏观基因有限公司) 2014年4月2日 (2014 - 04 - 02) 权利要求1和序列表	5-8, 10-16																					
Y	WO 2007042261 A2 (MICROMET AG) 2007年4月19日 (2007 - 04 - 19) 说明书序列表中SEQ ID NO: 110-118	5-8, 10-16																					
<p><input checked="" type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。 <input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p>																							
<p>* 引用文件的具体类型:</p> <p>“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件</p> <p>“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利</p> <p>“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)</p> <p>“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件</p> <p>“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件</p> <p>“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件</p> <p>“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性</p> <p>“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性</p> <p>“&” 同族专利的文件</p>																							
<p>国际检索实际完成的日期</p> <p>2022年1月11日</p>		<p>国际检索报告邮寄日期</p> <p>2022年2月25日</p>																					
<p>ISA/CN的名称和邮寄地址</p> <p>中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088</p> <p>传真号 (86-10)62019451</p>		<p>授权官员</p> <p>高赞</p> <p>电话号码 86-(20)-28950493</p>																					

C. 相关文件		
类型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
A	解志刚等. “基因工程双特异性抗体构建模式研究进展” 军事医学科学院院刊, 第28卷, 第4期, 2004年8月31日 (2004 - 08 - 31), ISSN: 1674-9960, 第375-378页	1-16

第1栏 核苷酸和/或氨基酸序列(续第1页第1. c项)

1. 关于国际申请中所公开的任何核苷酸和/或氨基酸序列, 国际检索是基于下列序列列表进行的:
- a. 作为国际申请的一部分提交的:
- 附件C/ST. 25文本文件形式
 - 纸件或图形文件形式
- b. 根据细则13之三. 1(a) 仅为国际检索目的以附件C/ST. 25文本文件形式与国际申请同时提交的:
- c. 仅为国际检索目的在国际申请日之后提交的:
- 附件C/ST. 25文本文件形式(细则13之三. 1(a))
 - 纸件或图形文件形式(细则13之三. 1(b)和行政规程第713段)
2. 另外, 在提交/提供了多个版本或副本的序列列表的情况下, 提供了关于随后提交的或附加的副本中的信息与申请时提交的作为申请一部分的序列列表的信息相同或未超出申请时提交的申请中的信息范围(如适用)的所需声明。
3. 补充意见:

第II栏 缺乏发明单一性的意见(续第1页第3项)

本国际检索单位在该国际申请中发现多项发明，即：

[1] 权利要求1-16涉及大量不同氨基酸序列的BCMA×CD3双特异性抗体或抗原结合部分、相应含有的BCMA抗体以及双特异性抗体的编码核酸、载体、细胞、组合物、抗体-药物偶联物、试剂盒及其用途。上述并列技术方案之间相同或相应的技术特征是特异性结合BCMA和CD3的双特异性抗体，该相同或相应的技术特征已经被现有技术公开，因而上述相同或相应的技术特征不是对现有技术做出贡献的特定技术特征。因此，上述并列技术方案之间不存在技术关联，不属于一个总的发明构思，因此不满足发明单一性的要求，不符合PCT实施细则13.1 的规定。

1. 由于申请人按时缴纳了被要求缴纳的全部附加检索费，本国际检索报告涉及全部可作检索的权利要求。
2. 由于无需付出有理由要求附加费的劳动即能对全部可检索的权利要求进行检索，本单位未通知缴纳任何加费。
3. 由于申请人仅按时缴纳了部分被要求缴纳的附加检索费，本国际检索报告仅涉及已缴费的那些权利要求，具体地说，是权利要求：
4. 申请人未按时缴纳被要求缴纳的附加检索费。因此，本国际检索报告仅涉及权利要求书中首先提及的发明；包含该发明的权利要求是：

对异议的意见

- 申请人缴纳了附加检索费，同时提交了异议书，适用时，缴纳了异议费。
- 申请人缴纳了附加检索费，同时提交了异议书，但未在通知书规定的时间期限内缴纳异议费。
- 缴纳附加检索费时未提交异议书。

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2021/135121

检索报告引用的专利文件	公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
CN 104114578 A	2014年10月22日	PT 2780375 T	2019年11月12日
		MX 2014005851 A	2015年1月19日
		US 2013156769 A1	2013年6月20日
		US 9340621 B2	2016年5月17日
		EA 201490931 A1	2014年8月29日
		EA 028162 B1	2017年10月31日
		BR 112014010940 A2	2017年5月16日
		ES 2749451 T3	2020年3月20日
		JP 2020202838 A	2020年12月24日
		LT 2780375 T	2019年11月11日
		HR P20191697 T1	2019年12月13日
		JP 2017195889 A	2017年11月2日
		UA 116766 C2	2018年5月10日
		JP 2018050627 A	2018年4月5日
		JP 6738314 B2	2020年8月12日
		JP 2014534242 A	2014年12月18日
		JP 6231007 B2	2017年11月15日
		EC SP14004893 A	2015年6月30日
		AP 201407529 A0	2014年3月31日
		AP 2014007529 A0	2014年3月31日
		JP 2015504306 A	2015年2月12日
		JP 6378087 B2	2018年8月22日
		SG 11201400671Y A	2014年4月28日
		RS 59373 B1	2019年11月29日
		IL 260189 D0	2018年7月31日
		CN 104169300 A	2014年11月26日
		MA 35449 B1	2014年9月1日
		CN 109485729 A	2019年3月19日
		IL 232636 D0	2014年6月30日
		ES 2751996 T3	2020年4月2日
		SG 11201401729P A	2014年9月26日
		WO 2013072406 A1	2013年5月23日
		AR 088883 A1	2014年7月16日
		CA 2850591 A1	2013年5月23日
		AU 2012327203 A1	2013年5月30日
		TN 2014000097 A1	2015年7月1日
		BR 112014010630 A2	2017年4月25日
		SG 10201704483R A	2017年7月28日
		UY 34453 A	2013年6月28日
		SG 10201606484S A	2016年10月28日
		MX 2014005852 A	2014年9月22日
		MX 349396 B	2017年7月26日
		NZ 622087 A	2016年6月24日
		PH 12014501091 A1	2014年7月28日
		EA 201490932 A1	2014年9月30日
		PL 2780375 T3	2020年1月31日
		ZA 201401615 B	2017年8月30日
		PE 20141564 A1	2014年11月29日
		DK 2780375 T3	2019年11月18日
		KR 20140105757	2014年9月2日

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2021/135121

检索报告引用的专利文件	公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
		TW 1679212 B	2019年12月11日
		AU 2012327200 B	2016年2月18日
		IL 232603 A	2018年7月31日
		GE 201806928 B	2018年11月26日
		KR 20200003934 A	2020年1月10日
		VN 39296 A	2014年9月25日
		AU 2012327200 B	2016年1月21日
		CN 104114578 B	2018年10月16日
		US 2013156770 A1	2013年6月20日
		TW 201326214 A	2013年7月1日
		US 2015023967 A1	2015年1月22日
		HK 1198040 A1	2020年5月29日
		KR 102229469 B	2021年3月18日
		VN 10027129 B	2021年1月25日
		ID 201503394 A	2015年8月7日
		ID 201603353 A	2016年5月13日
		ZA 201401615 A	2017年8月30日
		KR 20210032012 A	2021年3月23日
		PH 12014501076 A1	2014年6月23日
		IN 201402860 P1	2016年8月31日
		EP 3611193 A1	2020年2月19日
		AU 2012327200 A1	2013年5月30日
		MX 2014005852 A	2014年9月30日
		SG 10201606484 B	2017年6月12日
		KR 102062231 B	2020年1月3日
		US 10766969 B2	2020年9月8日
		CA 2849196 C	2021年4月20日
		CA 2849196 A1	2013年5月23日
		EP 2780375 A1	2014年9月24日
		HK 1198040 A0	2015年3月6日
		US 9150664 B2	2015年10月6日
		IL 232603 A1	2014年6月30日
		SG 10201704483 A1	2017年7月28日
		EP 2780375 B1	2019年9月11日
WO 2020018820 A1	2020年1月23日	CN 112423785 A	2021年2月26日
		CA 3107126 A1	2020年1月23日
		CL 2021000131 A1	2021年7月2日
		BR 112021000186 A2	2021年8月10日
		IL 279974 D0	2021年3月1日
		AU 2019307928 A1	2021年2月11日
		SG 11202100252S A	2021年2月25日
		US 2020024356 A1	2020年1月23日
		MA 53168 A	2021年5月26日
		CO 2021000188 A2	2021年1月18日
		EP 3823664 A1	2021年5月26日
		JP 2021531005 A	2021年11月18日
		KR 20210034032 A	2021年3月29日
		TW 202019966 A	2020年6月1日
		PH 12021550031 A1	2021年9月20日
		IN 202147006015	2021年2月19日

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2021/135121

检索报告引用的专利文件	公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
CN 103703024 A	2014年4月2日	UA 117072 C2	2018年6月11日
		BR 112013029893 A2	2017年5月30日
		HU E044209 T2	2019年10月28日
		ME 03440 B	2020年1月20日
		UA 115122 C2	2017年9月25日
		JP 2017206505 A	2017年11月24日
		JP 6496349 B2	2019年4月3日
		PT 2714733 T	2019年5月23日
		RS 58765 B1	2019年6月28日
		ES 2732213 T3	2019年11月21日
		JP 2019142866 A	2019年8月29日
		US 2014099318 A1	2014年4月10日
		US 9587021 B2	2017年3月7日
		UA 115402 C2	2017年10月25日
		EP 2714733 A2	2014年4月9日
		EP 2714733 A4	2015年10月14日
		EP 2714733 B1	2019年1月23日
		US 2017137519 A1	2017年5月18日
		US 10150812 B2	2018年12月11日
		JP 2014517844 A	2014年7月24日
		JP 6141831 B2	2017年6月7日
		US 2019040135 A1	2019年2月7日
		US 11111299 B2	2021年9月7日
		IL 259187 D0	2018年7月31日
		IL 259187 A	2019年2月28日
		CL 2016001254 A1	2016年12月2日
		CN 107827985 A	2018年3月23日
		CN 107722124 A	2018年2月23日
		CL 2013003329 A1	2014年7月4日
		CA 2836857 A1	2012年11月29日
		CA 2836857 C	2019年12月3日
		NZ 618021 A	2015年2月27日
		AU 2019200159 A1	2019年1月31日
		AU 2019200159 B2	2020年3月12日
		SG 10201509588T A	2015年12月30日
		DK 2714733 T3	2019年5月6日
		ZA 201308602 B	2014年7月30日
		SG 195072 A1	2013年12月30日
		AU 2017204545 A1	2017年7月20日
		AU 2017204545 B2	2018年11月15日
		EP 3492494 A1	2019年6月5日
		SG 10201703425R A	2017年5月30日
		KR 20190105112 A	2019年9月11日
		KR 20140033107 A	2014年3月17日
		KR 102060389 B1	2019年12月31日
		SI 2714733 T1	2019年6月28日
		WO 2012162067 A2	2012年11月29日
		WO 2012162067 A3	2013年1月31日
		EC SP13013101 A	2014年1月31日
		EA 033677 B1	2019年11月15日

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2021/135121

检索报告引用的专利文件	公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
		IL 264293 A	2020年9月30日
		IN 377006 B	2021年9月17日
		AU 2012259161 A1	2013年12月12日
		MY 173899 A2	2012年2月6日
		MX 2013013584 A	2014年9月30日
		IN 201310078 P1	2016年6月24日
		SG 195072 B	2017年5月30日
		HK 1190725 A1	2020年3月13日
		HK 40009624 A0	2020年6月26日
		NZ 703939 A	2016年1月29日
		MX 369220 B	2019年10月31日
		CN 103703024 A	2014年4月2日
		BR 122016016837 A2	2019年8月27日
		CN 103703024 B	2017年11月14日
		HK 1190725 A0	2014年7月11日
		IL 229575 A	2018年5月31日
		AU 2012259161 B	2017年4月6日
WO 2007042261 A2	2007年4月19日	EP 1940881 A2	2008年7月9日
		EP 1940881 B1	2016年11月30日
		CA 2625440 A1	2007年4月19日
		US 2009252683 A1	2009年10月8日
		US 8236308 B2	2012年8月7日
		EP 3178850 A1	2017年6月14日
		EP 3178850 B1	2021年1月13日
		DK 1940881 T3	2017年2月20日
		EP 3770174 A1	2021年1月27日
		ES 2856451 T3	2021年9月27日
		WO 2007042261 A3	2007年12月21日
		WO 2007042261 A9	2020年5月7日
		AU 2006301492 A1	2007年4月19日
		AU 2006301492 B2	2011年6月9日
		JP 2009511521 A	2009年3月19日
		JP 5686953 B2	2015年3月18日
		US 2013129729 A1	2013年5月23日
		US 2019070290 A1	2019年3月7日
		ES 2616316 T3	2017年6月12日
		SG 141561 A1	2008年5月28日