

权 利 要 求

1. 一种特异性识别肿瘤细胞表达的 EGFRvIII 或者过量表达的 EGFR 的抗体,其特征在
于,该抗体具有轻链可变区和重链可变区,且,
- 5 其轻链可变区的 CDR1 具有选自下组的氨基酸序列: SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 47,
SEQ ID NO: 55;
- 其轻链可变区的 CDR2 具有选自下组的氨基酸序列: SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 53;
其轻链可变区的 CDR3 具有选自下组的氨基酸序列: SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 48,
SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57;
- 10 其重链可变区的 CDR1 具有氨基酸序列: SEQ ID NO: 44;
- 其重链可变区的 CDR2 具有选自下组的氨基酸序列: SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 49,
SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 52;
- 其重链可变区的 CDR3 具有选自下组的氨基酸序列: SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 50。
2. 如权利要求 1 所述的抗体,其特征在在于,所述的抗体包括:
- 15 抗体(a),其轻链可变区具有 SEQ ID NO: 41 所示的 CDR1、SEQ ID NO: 42 所示的 CDR2、
SEQ ID NO: 43 所示的 CDR3;或其重链可变区具有 SEQ ID NO: 44 所示的 CDR1、SEQ ID NO:
45 所示的 CDR2、SEQ ID NO: 46 所示的 CDR3;
- 抗体(b),其轻链可变区具有 SEQ ID NO: 47 所示的 CDR1、SEQ ID NO: 42 所示的 CDR2、
SEQ ID NO: 48 所示的 CDR3;或其重链可变区具有 SEQ ID NO: 44 所示的 CDR1、SEQ ID NO:
20 49 所示的 CDR2、SEQ ID NO: 50 所示的 CDR3;
- 抗体(c),其轻链可变区具有 SEQ ID NO: 41 所示的 CDR1、SEQ ID NO: 42 所示的 CDR2、
SEQ ID NO: 48 所示的 CDR3;或其重链可变区具有 SEQ ID NO: 44 所示的 CDR1、SEQ ID NO:
51 所示的 CDR2、SEQ ID NO: 50 所示的 CDR3;
- 抗体(d),其轻链可变区具有 SEQ ID NO: 41 所示的 CDR1、SEQ ID NO: 42 所示的 CDR2、
25 SEQ ID NO: 43 所示的 CDR3;或其重链可变区具有 SEQ ID NO: 44 所示的 CDR1、SEQ ID NO:
52 所示的 CDR2、SEQ ID NO: 50 所示的 CDR3;
- 抗体(e),其轻链可变区具有 SEQ ID NO: 41 所示的 CDR1、SEQ ID NO: 42 所示的 CDR2、
SEQ ID NO: 43 所示的 CDR3;或其重链可变区具有 SEQ ID NO: 44 所示的 CDR1、SEQ ID NO:
45 所示的 CDR2、SEQ ID NO: 50 所示的 CDR3;
- 30 抗体(f),其轻链可变区具有 SEQ ID NO: 41 所示的 CDR1、SEQ ID NO: 53 所示的 CDR2、
SEQ ID NO: 54 所示的 CDR3;或其重链可变区具有 SEQ ID NO: 44 所示的 CDR1、SEQ ID NO:
51 所示的 CDR2、SEQ ID NO: 50 所示的 CDR3;
- 抗体(g),其轻链可变区具有 SEQ ID NO: 41 所示的 CDR1、SEQ ID NO: 42 所示的 CDR2、
SEQ ID NO: 54 所示的 CDR3;或其重链可变区具有 SEQ ID NO: 44 所示的 CDR1、SEQ ID NO:
35 51 所示的 CDR2、SEQ ID NO: 50 所示的 CDR3;
- 抗体(h),其轻链可变区具有 SEQ ID NO: 55 所示的 CDR1、SEQ ID NO: 42 所示的 CDR2、

SEQ ID NO: 56所示的CDR3;或其重链可变区具有SEQ ID NO: 44所示的CDR1、SEQ ID NO: 45所示的CDR2、SEQ ID NO: 50所示的CDR3;

抗体(i),其轻链可变区具有SEQ ID NO: 41所示的CDR1、SEQ ID NO: 53所示的CDR2、SEQ ID NO: 56所示的CDR3;或其重链可变区具有SEQ ID NO: 44所示的CDR1、SEQ ID NO: 52所示的CDR2、SEQ ID NO: 50所示的CDR3;

抗体(j),其轻链可变区具有SEQ ID NO: 41所示的CDR1、SEQ ID NO: 42所示的CDR2、SEQ ID NO: 56所示的CDR3;或其重链可变区具有SEQ ID NO: 44所示的CDR1、SEQ ID NO: 52所示的CDR2、SEQ ID NO: 50所示的CDR3;

抗体(k),其轻链可变区具有SEQ ID NO: 41所示的CDR1、SEQ ID NO: 42所示的CDR2、SEQ ID NO: 57所示的CDR3;或其重链可变区具有SEQ ID NO: 44所示的CDR1、SEQ ID NO: 52所示的CDR2、SEQ ID NO: 50所示的CDR3;或

抗体(l), 识别与(a)~(k)中任一项所述的抗体所识别的抗原决定部位相同的抗原决定部位。

3. 如权利要求2所述的抗体, 其特征在于, 所述的抗体的重链可变区的氨基酸序列如SEQ ID NO: 13中第124-239位所示;或所述的抗体的轻链可变区的氨基酸序列如SEQ ID NO: 13中第1-108位所示;

所述的抗体的重链可变区的氨基酸序列如SEQ ID NO: 59中第124-239位所示;或所述的抗体的轻链可变区的氨基酸序列如SEQ ID NO: 59中第1-108位所示;

所述的抗体的重链可变区的氨基酸序列如SEQ ID NO: 61中第124-239位所示;或所述的抗体的轻链可变区的氨基酸序列如SEQ ID NO: 61中第1-108位所示;

所述的抗体的重链可变区的氨基酸序列如SEQ ID NO: 63中第124-239位所示;或所述的抗体的轻链可变区的氨基酸序列如SEQ ID NO: 63中第1-108位所示;

所述的抗体的重链可变区的氨基酸序列如SEQ ID NO: 65中第124-239位所示;或所述的抗体的轻链可变区的氨基酸序列如SEQ ID NO: 65中第1-108位所示;

所述的抗体的重链可变区的氨基酸序列如SEQ ID NO: 67中第124-239位所示;或所述的抗体的轻链可变区的氨基酸序列如SEQ ID NO: 67中第1-108位所示;

所述的抗体的重链可变区的氨基酸序列如SEQ ID NO: 69中第124-239位所示;或所述的抗体的轻链可变区的氨基酸序列如SEQ ID NO: 69中第1-108位所示;

所述的抗体的重链可变区的氨基酸序列如SEQ ID NO: 71中第124-239位所示;或所述的抗体的轻链可变区的氨基酸序列如SEQ ID NO: 71中第1-108位所示;

所述的抗体的重链可变区的氨基酸序列如SEQ ID NO: 73中第124-239位所示;或所述的抗体的轻链可变区的氨基酸序列如SEQ ID NO: 73中第1-108位所示;

所述的抗体的重链可变区的氨基酸序列如SEQ ID NO: 75中第124-239位所示;或所述的抗体的轻链可变区的氨基酸序列如SEQ ID NO: 75中第1-108位所示;或

所述的抗体的重链可变区的氨基酸序列如SEQ ID NO: 77中第124-239位所示;或所述的抗体的轻链可变区的氨基酸序列如SEQ ID NO: 77中第1-108位所示。

- 4 如权利要求 2 所述的抗体，其特征在于，所述的抗体是抗体(a)；更佳的，所述的抗体的重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 13 中第 124-239 位所示；或所述的抗体的轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 13 中第 1-108 位所示。
5. 编码权利要求 1-4 任一所述的抗体的核酸。
- 5 6. 一种表达载体，其包含权利要求 5 所述的核酸。
7. 一种宿主细胞，其包含权利要求 6 所述的表达载体或基因组中整合有权利要求 5 所述的核酸。
8. 权利要求 1-4 任一所述的抗体的用途，用于制备特异性靶向表达 EGFRvIII 或过量表达的 EGFR 的肿瘤细胞的靶向性药物，抗体药物偶联物或多功能抗体；或
- 10 用于制备诊断肿瘤的试剂，该肿瘤表达 EGFRvIII 或过量表达的 EGFR；或
- 用于制备嵌合抗原受体修饰的免疫细胞；较佳地，所述免疫细胞包括：T 淋巴细胞、NK 细胞或者 NKT 淋巴细胞。
9. 一种多功能免疫缀合物，其特征在于，所述的多功能免疫缀合物包括：
- 权利要求 1-4 任一所述的抗体；以及
- 15 与之连接的功能性分子；所述的功能性分子选自：靶向肿瘤表面标志物的分子，抑制肿瘤分子，靶向免疫细胞的表面标志物的分子或可检测标记物。
10. 如权利要求 9 所述的多功能免疫缀合物，其特征在于，所述的靶向肿瘤表面标志物的分子是结合肿瘤表面标志物的抗体或配体；或
- 所述的抑制肿瘤分子是抗肿瘤的细胞因子或抗肿瘤的毒素；较佳地，所述的细胞因子包括：IL-12、IL-15、IFN-beta、TNF-alpha。
- 20 11. 如权利要求 9 所述的多功能免疫缀合物，其特征在于，所述的可检测标记物包括：荧光标记物、显色标记物。
12. 如权利要求 9 所述的多功能免疫缀合物，其特征在于，所述的靶向免疫细胞的表面标志物的分子是结合免疫细胞表面标志物的抗体或配体；较佳地，所述的免疫细胞表面标志物包括：CD3，CD16，CD28。
- 25 13. 如权利要求 12 所述的多功能免疫缀合物，其特征在于，所述的靶向免疫细胞的表面标志物的分子是结合 T 细胞表面标志物的抗体，其与权利要求 1-4 任一所述的抗体形成 T 细胞参与的双功能抗体。
14. 如权利要求 13 所述的多功能免疫缀合物，其特征在于，所述的结合免疫细胞表面标志物的抗体是抗 CD3 抗体。
- 30 15. 如权利要求 9 所述的多功能免疫缀合物，其特征在于，其是融合多肽，权利要求 1-4 任一所述的抗体以及与之连接的功能性分子之间，还包括连接肽。
16. 编码权利要求 9-15 任一所述的多功能免疫缀合物的核酸。
17. 权利要求 9-15 任一所述的多功能免疫缀合物的用途，用于制备抗肿瘤药物，或
- 35 用于制备诊断肿瘤的试剂，该肿瘤表达 EGFRvIII 或过量表达的 EGFR；或
- 用于制备嵌合抗原受体修饰的免疫细胞；较佳地，所述免疫细胞包括：T 淋巴细胞、

NK 细胞或者 NKT 淋巴细胞。

18. 包含权利要求 1-4 任一所述的抗体的嵌合抗原受体，其表达于免疫细胞表面，其特征在于，所述的嵌合抗原受体包含顺序连接的：权利要求 1-4 任一所述的抗体，跨膜区和胞内信号区。

5 19. 如权利要求 18 所述的嵌合抗原受体，其特征在于，所述的胞内信号区选自：CD3 ζ ，Fc ϵ RI γ ，CD27，CD28，CD137，CD134 的胞内信号区序列，或其组合。

20. 如权利要求 19 所述的嵌合抗原受体，其特征在于，所述的跨膜区包含 CD8 或 CD28 的跨膜区。

10 21. 如权利要求所述 19 的嵌合抗原受体，其特征在于，所述的免疫细胞包括：T 淋巴细胞，NK 细胞或 NKT 细胞。

22. 如权利要求 19 所述的嵌合抗原受体，其特征在于，所述的嵌合抗原受体包括如下的顺序连接的抗体，跨膜区和胞内信号区：

权利要求 1-4 任一所述的抗体、CD8 和 CD3 ζ ；

权利要求 1-4 任一所述的抗体、CD8、CD137 和 CD3 ζ ；

15 权利要求 1-4 任一所述的抗体、CD28 分子的跨膜区、CD28 分子的胞内信号区和 CD3 ζ ；
或

权利要求 1-4 任一所述的抗体、CD28 分子的跨膜区、CD28 分子的胞内信号区、CD137 和 CD3 ζ 。

20 23. 如权利要求 19 所述的嵌合抗原受体，其特征在于，所述的抗体是单链抗体或结构域抗体。

24. 如权利要求 19 所述的嵌合抗原受体，其特征在于，所述的嵌合抗原受体具有：

SEQ ID NO: 36 或其中第 285-601 位所示的氨基酸序列；或

SEQ ID NO: 37 或其中第 285-702 位所示的氨基酸序列；或

SEQ ID NO: 38 或其中第 285-744 位所示的氨基酸序列；或

25 SEQ ID NO: 39 或其中第 285-749 位所示的氨基酸序列；或

SEQ ID NO: 40 或其中第 285-791 位所示的氨基酸序列。

25. 编码权利要求 18-24 任一所述的嵌合抗原受体的核酸。

26. 一种表达载体，其特征在于，其包含权利要求 25 所述的核酸。

27. 一种病毒，其特征在于，所述的病毒包含权利要求 26 所述载体。

30 28. 权利要求 18-24 任一所述的嵌合抗原受体、或权利要求 25 所述的核酸、或权利要求 26 所述的表达载体、或权利要求 27 所述的病毒的用途，用于制备靶向表达 EGFRvIII 或者过量表达 EGFR 的肿瘤细胞的基因修饰的免疫细胞。

29. 一种基因修饰的免疫细胞，其特征在于，其转导有权利要求 25 所述的核酸，或权利要求 26 所述的表达载体或权利要求 27 所述的病毒；或

35 其表面表达权利要求 18-24 任一所述的嵌合抗原受体。

30. 如权利要求 29 所述的免疫细胞，其特征在于，其还携带外源的细胞因子的编码序

列；较佳地，所述的细胞因子包括：IL-12，IL-15 或 IL-21。

31. 如权利要求 29 所述的免疫细胞，其特征在于，其还表达另一种嵌合抗原受体，该受体不含有 CD3 ζ ，但含有 CD28 的胞内信号结构域、CD137 的胞内信号结构域或者这两者的组合。

- 5 32. 如权利要求 29 所述的免疫细胞，其特征在于，其还表达趋化因子受体；较佳地，所述的趋化因子受体包括：CCR2。

33. 如权利要求 29 所述的免疫细胞，其特征在于，其还表达能降低 PD-1 表达的 siRNA 或者阻断 PD-L1 的蛋白。

- 10 34. 如权利要求 29 所述的免疫细胞，其特征在于，其还表达安全开关；较佳地，所述的安全开关包括：iCaspase-9，Truncated EGFR 或 RQR8。

35. 权利要求 29-34 任一所述的基因修饰的免疫细胞的用途，其特征在于，用于制备抑制肿瘤的药物，所述的肿瘤是表达 EGFRvIII 或者过量表达 EGFR 的肿瘤。

36. 药物组合物，其特征在于，其包括：

- 15 权利要求 1-4 任一所述的抗体或编码该抗体的核酸；或
 权利要求 9-15 任一所述的免疫缀合物或编码该缀合物的核酸；或
 权利要求 18-24 任一所述的嵌合抗原受体或编码该嵌合抗原受体的核酸；或
 权利要求 29-34 任一所述的基因修饰的免疫细胞。