(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 119256017 A
(43)申请公布日 2025.01.03

(21)申请号 202380043072.1
(22)申请日 2023.06.21
(66)本国优先权数据
202210725979.3 2022.06.23 CN
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2024.11.26
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/CN2023/101778 2023.06.21
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2023/246885 ZH 2023.12.28
(71)申请人 江苏恒瑞医药股份有限公司
地址 222047 江苏省连云港市经济技术开发区昆仑山路7号
申请人 上海恒瑞医药有限公司
(72)发明人 叶鑫 姚青青 金薪盛 应华 陶维康
(74)专利代理机构 北京戈程知识产权代理有限公司 11314
专利代理师 程伟
(51)Int.Cl.
C07K 16/46(2006.01)
C07K 16/30(2006.01)
C07K 16/28(2006.01)
C07K 19/00(2006.01)
A61K 39/395(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)
C12N 15/13(2006.01)
C12N 5/10(2006.01)

(54)发明名称

特异性结合DLL3和CD3的抗原结合分子及其医药用途

(57)摘要

本披露涉及特异性结合DLL3和CD3的抗原结合分子及其医药用途,所述抗原结合分子可用于治疗癌症。

CN 119256017 A

(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
2023 年 12 月 28 日 (28.12.2023)

WIPO | PCT

(10) 国际公布号
WO 2023/246885 A1

(51) 国际专利分类号:
C07K 16/46 (2006.01) *A61K 39/395* (2006.01)
C07K 16/30 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01) *C12N 15/13* (2006.01)
C07K 19/00 (2006.01) *C12N 5/10* (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2023/101778

(22) 国际申请日: 2023 年 6 月 21 日 (21.06.2023)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
202210725979.3 2022年6月23日 (23.06.2022) CN

(71) 申请人: 江苏恒瑞医药股份有限公司(**JIANGSU HENGRUI PHARMACEUTICALS CO., LTD.**) [CN/CN]; 中国江苏省连云港市经济技术开发区昆仑山路7号, Jiangsu 222047 (CN)。上海恒瑞医药有限公司(**SHANGHAI HENGRUI PHARMACEUTICAL CO., LTD.**) [CN/CN]; 中国上海市闵行区文井路279号, Shanghai 200245 (CN)。

(72) 发明人:叶鑫 (**YE, Xin**); 中国上海市闵行区文井路279号, Shanghai 200245 (CN)。姚青青 (**YAO, Qingqing**); 中国上海市闵行区文井路279号, Shanghai 200245 (CN)。金薪盛 (**JIN, Xinsheng**); 中国上海市闵行区文井路279号, Shanghai 200245 (CN)。应华 (**YING, Hua**); 中国上海市闵行区文井路279号, Shanghai 200245 (CN)。陶维康 (**TAO, Weikang**); 中国上海市闵行区文井路279号, Shanghai 200245 (CN)。

(74) 代理人: 北京戈程知识产权代理有限公司 (**GE CHENG & CO., LTD.**); 中国北京市东城区东长安街1号东方广场东三办公楼10层, Beijing 100738 (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, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, 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, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, 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, ME, 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)。

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))。

WO 2023/246885 A1

(54) **Title:** ANTIGEN-BINDING MOLECULE SPECIFICALLY BINDING TO DLL3 AND CD3, AND PHARMACEUTICAL USE THEREOF

(54) 发明名称: 特异性结合DLL3和CD3的抗原结合分子及其医药用途

(57) **Abstract:** The present disclosure relates to an antigen-binding molecule specifically binding to DLL3 and CD3, and pharmaceutical use thereof. The antigen-binding molecule can be used for treating cancers.

(57) 摘要: 本披露涉及特异性结合DLL3和CD3的抗原结合分子及其医药用途，所述抗原结合分子可用于治疗癌症。

特异性结合 DLL3 和 CD3 的抗原结合分子及其医药用途

技术领域

本披露属于生物技术领域，更具体地，本披露涉及 DLL3/CD3 抗原结合分子及其应用。

背景技术

这里的陈述仅提供与本披露有关的背景信息，而不必然地构成现有技术。

小细胞肺癌（Small Cell Lung Cancer，SCLC）属于一种比较恶性的肺癌类型，占所有肺癌病例的 10%-15%。小细胞肺癌的肿瘤生长速度快，容易转移，5 年生存率低于 7%。小细胞肺癌的治疗药物比较局限，主要是化药，如用铂类/依托泊苷联用化疗。小细胞肺癌病人对化疗初期响应良好，但极易产生耐药和复发。近几年的免疫治疗，如 PD-L1 抗体和 PD1 抗体，对 SCLC 患者有一定的效果，但是有效率约为 15%。目前仍然还没有开发出特异性的靶向治疗药物。

DLL3 是一种抑制 Notch 的配体，在正常状态下，DLL3 处于高尔基体上，在癌细胞中（如小细胞肺癌细胞），DLL3 会表达在细胞表面，DLL3 以顺式方式结合 Notch，阻碍了细胞和细胞结合以及 Notch 在目标细胞的内吞，从而抑制了 Notch 信号通路，促进肿瘤细胞的生长。DLL3 主要表达于神经或者神经内分泌肿瘤，包括小细胞肺癌、大细胞神经内分泌癌、胃肠道神经内分泌瘤、小细胞膀胱癌、多形性胶质细胞瘤、转移性去势性前列腺癌、黑色素瘤等，尤其是 SCLC，超过 80% 的 SCLC 有 DLL3 的阳性表达，而正常肺癌组织及癌旁组织中不表达。这种表达的差异性使得 DLL3 成为治疗 SCLC 的一种极具潜力的治疗靶点。

CD3 是一种表达于 T 细胞上的同种型或异型二聚体抗原。功能性 CD3 由四条不同链：ε、ζ、δ 及 γ 中的两者进行二聚体结合来形成。CD3 二聚体排列包括 γ/ε、δ/ε 及 ζ/ζ。CD3 与 T 细胞受体复合物（TCR）结合且为 T 细胞活化所必需。因此，已提出使用活化 T 细胞的抗 CD3 抗体用于治疗癌症。然而，抗 CD3 抗体的给药可能会触发 T 细胞活化和相关的细胞因子释放，过度的细胞因子释放导致重度细胞因子释放综合征（CRS），其是抗 CD3 抗体在临床用药中的重要挑战。

发明内容

本披露提供了一种特异性结合 DLL3 和 CD3 抗原结合分子。

在一个方面，本披露提供了一种抗原结合分子，其包含至少一个特异性结合 DLL3 的抗原结合模块和至少一个特异性结合 CD3 的抗原结合模块，所述特异性结合 DLL3 的抗原结合模块包含重链可变区 DLL3-VH 和轻链可变区 DLL3-VL，所述特异性结合 CD3 的抗原结合模块包含重链可变区 CD3-VH 和轻链可变区 CD3-VL。

在一些实施方式中，如前所述的抗原结合分子，其中：

(i) 所述 DLL3-VH 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 分别包含 SEQ ID NO：12、56 或 57 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 分别包含 SEQ ID NO：13、63、64、65、66 或 67 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 的氨基酸序列，或

(ii) 所述 DLL3-VH 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 分别包含 SEQ ID NO：14、79、80、81 或 82 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 分别包含 SEQ ID NO：15 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 的氨基酸序列，或

(iii) 所述 DLL3-VH 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 分别包含 SEQ ID NO：16、91、92、93 或 94 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 分别包含 SEQ ID NO：17 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 的氨基酸序列，或

(iv) 所述 DLL3-VH 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 分别包含 SEQ ID NO：18、107、108、109、110、112、113、114 或 115 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 分别包含 SEQ ID NO：19 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前所述的抗原结合分子，其中：

(i) 所述 DLL3-VH 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 分别包含 SEQ ID NO：12 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 分别包含 SEQ ID NO：13 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 分别包含 SEQ ID NO：54 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 分别包含 SEQ ID NO：64 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 分别包含 SEQ ID NO：54 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 分别包

含 SEQ ID NO：63 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 分别包含 SEQ ID NO：56 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 分别包含 SEQ ID NO：65 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 分别包含 SEQ ID NO：56 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 分别包含 SEQ ID NO：66 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 分别包含 SEQ ID NO：56 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 分别包含 SEQ ID NO：67 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 分别包含 SEQ ID NO：57 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 分别包含 SEQ ID NO：65 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 分别包含 SEQ ID NO：57 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 分别包含 SEQ ID NO：66 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 分别包含 SEQ ID NO：57 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 分别包含 SEQ ID NO：67 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 的氨基酸序列；或

(ii) 所述 DLL3-VH 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 分别包含 SEQ ID NO：14 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 分

别包含 SEQ ID NO：15 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 分别包含 SEQ ID NO：81 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 分别包含 SEQ ID NO：77 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 分别包含 SEQ ID NO：79、80 或 82 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 分别包含 SEQ ID NO：77 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 的氨基酸序列；或

(iii) 所述 DLL3-VH 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 分别包含 SEQ ID NO：16 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 分别包含 SEQ ID NO：17 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 分别包含 SEQ ID NO：91 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 分别包含 SEQ ID NO：87 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 分别包含 SEQ ID NO：92、93 或 94 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 分别包含 SEQ ID NO：87 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 的氨基酸序列；或

(iv) 所述 DLL3-VH 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 分别包含 SEQ ID NO：18 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 分别包含 SEQ ID NO：19 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 分别包含 SEQ ID NO：109 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 分别包

含 SEQ ID NO：100 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 分别包含 SEQ ID NO：107、108、110、112、113、114 或 115 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 分别包含 SEQ ID NO：100 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 的氨基酸序列。

在一些实施方案中，所述 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2、DLL3-HCDR3、DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 根据 Kabat、IMGT、Chothia、AbM 或 Contact 编号规则定义。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

i) 所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21、69 或 70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：24、71、72 或 73 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 或 74 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

ii) 所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：26 或 84 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：27 或 85 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：28 或 83 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：29 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：30 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：31 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

iii) 所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：32、96、97、98 或 99 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：33 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：34 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：35 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：36 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

iv) 所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：37、117、118、119 或 120 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：38 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：39 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：35 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：40 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨

基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：24 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：69 或 70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：24 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21、69 或 70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：71 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21、69 或 70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：72 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21、69 或 70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：73 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21、69 或 70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：71 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：74 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21、69 或 70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：72 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：74 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21、69 或 70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23

的氨基酸序列的DLL3-LCDR1，包含SEQ ID NO：73的氨基酸序列的DLL3-LCDR2，和包含SEQ ID NO：74的氨基酸序列的DLL3-LCDR3。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述DLL3-VH具有：包含SEQ ID NO：20的氨基酸序列的DLL3-HCDR1，包含SEQ ID NO：21的氨基酸序列的DLL3-HCDR2，和包含SEQ ID NO：22的氨基酸序列的DLL3-HCDR3；和所述DLL3-VL具有：包含SEQ ID NO：23的氨基酸序列的DLL3-LCDR1，包含SEQ ID NO：71的氨基酸序列的DLL3-LCDR2，和包含SEQ ID NO：25的氨基酸序列的DLL3-LCDR3；或

所述DLL3-VH具有：包含SEQ ID NO：20的氨基酸序列的DLL3-HCDR1，包含SEQ ID NO：21的氨基酸序列的DLL3-HCDR2，和包含SEQ ID NO：22的氨基酸序列的DLL3-HCDR3；和所述DLL3-VL具有：包含SEQ ID NO：23的氨基酸序列的DLL3-LCDR1，包含SEQ ID NO：24的氨基酸序列的DLL3-LCDR2，和包含SEQ ID NO：25的氨基酸序列的DLL3-LCDR3；或

所述DLL3-VH具有：包含SEQ ID NO：20的氨基酸序列的DLL3-HCDR1，包含SEQ ID NO：21的氨基酸序列的DLL3-HCDR2，和包含SEQ ID NO：22的氨基酸序列的DLL3-HCDR3；和所述DLL3-VL具有：包含SEQ ID NO：23的氨基酸序列的DLL3-LCDR1，包含SEQ ID NO：72的氨基酸序列的DLL3-LCDR2，和包含SEQ ID NO：25的氨基酸序列的DLL3-LCDR3；或

所述DLL3-VH具有：包含SEQ ID NO：20的氨基酸序列的DLL3-HCDR1，包含SEQ ID NO：69的氨基酸序列的DLL3-HCDR2，和包含SEQ ID NO：22的氨基酸序列的DLL3-HCDR3；和所述DLL3-VL具有：包含SEQ ID NO：23的氨基酸序列的DLL3-LCDR1，包含SEQ ID NO：71的氨基酸序列的DLL3-LCDR2，和包含SEQ ID NO：74的氨基酸序列的DLL3-LCDR3；或

所述DLL3-VH具有：包含SEQ ID NO：20的氨基酸序列的DLL3-HCDR1，包含SEQ ID NO：70的氨基酸序列的DLL3-HCDR2，和包含SEQ ID NO：22的氨基酸序列的DLL3-HCDR3；和所述DLL3-VL具有：包含SEQ ID NO：23的氨基酸序列的DLL3-LCDR1，包含SEQ ID NO：71的氨基酸序列的DLL3-LCDR2，和包含SEQ ID NO：74的氨基酸序列的DLL3-LCDR3；或

所述DLL3-VH具有：包含SEQ ID NO：20的氨基酸序列的DLL3-HCDR1，包含SEQ ID NO：69的氨基酸序列的DLL3-HCDR2，和包含SEQ ID NO：22的氨基酸序列的DLL3-HCDR3；和所述DLL3-VL具有：包含SEQ ID NO：23的氨基酸序列的DLL3-LCDR1，包含SEQ ID NO：73的氨基酸序列的DLL3-LCDR2，和包含SEQ ID NO：74的氨基酸序列的DLL3-LCDR3；或

所述DLL3-VH具有：包含SEQ ID NO：20的氨基酸序列的DLL3-HCDR1，包含SEQ ID NO：70的氨基酸序列的DLL3-HCDR2，和包含SEQ ID NO：22的氨基酸序列的DLL3-HCDR3；和所述DLL3-VL具有：包含SEQ ID NO：23的氨

基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：73 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：74 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：69 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：71 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：71 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：26 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：85 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：83 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：29 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：30 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：31 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：26 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：27 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：83 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：29 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：30 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：31 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：84 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：27 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：83 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：29 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：30 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：31 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：84 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：85 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：83 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：29 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：30 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：31 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：26 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：27 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：28 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：29 的氨

基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：30 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：31 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：96 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：33 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：34 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：35 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：36 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：97 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：33 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：34 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：35 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：36 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：98 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：33 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：34 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：35 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：36 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：99 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：33 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：34 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：35 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：36 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：119 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：38 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：39 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：35 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：40 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：117 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：38 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：39 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：35 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：40 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：118 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：38 的

氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：39 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：35 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：40 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：120 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：38 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：39 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：35 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：40 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：71 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：24 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：26 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：85 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：83 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：29 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：30 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：31 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：96 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：33 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：34 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：35 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：36 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：119 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：38 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：39 的氨

基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：35 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：40 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，所述 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2、DLL3-HCDR3、DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 是根据 Kabat 编号规则定义的。

在一些实施方式中，如前任一项所述抗原结合分子在 25°C 条件下以小于 4×10^{-9}M、3×10^{-9}M、2×10^{-9}M、1×10^{-9}M、9×10^{-10}M、8×10^{-10}M、7×10^{-10}M、6×10^{-10}M、5×10^{-10}M、4×10^{-10}M、3×10^{-10}M、2×10^{-10}M、1×10^{-10}M、9×10^{-11}M 的 KD 结合人 DLL3，所述 KD 是通过表面等离子体共振法测量的。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述的 DLL3-VH 和 DLL3-VL 是人源化的，其包含人抗体的 FR 区。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

(i) 所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21、69 或 70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3，且所述 DLL3-VH 的 FR 区包含选自 1E、5Q、27Y、30T、38K、43K、48I、67A、68A、69L、71V、73K、75S、76N 和 93A 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；和

所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：24、71、72 或 73 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 或 74 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 1N、36L、42K、43S、44F、46G、69A、71Y、79Q 和 85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；或

(ii) 所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：26 或 84 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：27 或 85 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：28 或 83 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和

所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：29 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：30 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：31 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 42G、44V 和 71Y 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；或

(iii) 所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：32、96、97、98 或 99 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：33 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3，且所述 DLL3-VH 的 FR 区包含选自 1E、24T、44S、71V 和 73K 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；和

所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：34 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：35 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：36 的

氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 1N、9K、43S、68A 和 85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；或

(iv) 所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：37、117、118、119 或 120 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：38 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3，且所述 DLL3-VH 的 FR 区包含选自 1E、3R、5Q、7F、9P、10V、12V、40S、41H、44S、48I、67A、69L、71V、73K、75S 和 83T 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；和

所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：39 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：35 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：40 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 9K、43S、60D、68A、87H 和 100S 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其在 25°C 条件下以小于 4×10^{-9}M、3×10^{-9}M、2×10^{-9}M、1×10^{-9}M、9×10^{-10}M、8×10^{-10}M、7×10^{-10}M、6×10^{-10}M、5×10^{-10}M、4×10^{-10}M、3×10^{-10}M、2×10^{-10}M、1×10^{-10}M、9×10^{-11}M 的 KD 结合人 DLL3，所述 KD 是通过表面等离子体共振法测量的。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3，且所述 DLL3-VH 的 FR 区包含选自 1E、5Q、27Y、30T、38K、43K、48I、67A、68A、69L、71V、73K、75S、76N 和 93A 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：24 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 1N、36L、42K、43S、44F、46G、69A、71Y、79Q 和 85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：69 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3，且所述 DLL3-VH 的 FR 区包含选自 1E、5Q、27Y、30T、38K、43K、48I、67A、68A、69L、71V、73K、75S、76N 和 93A 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：24 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 1N、36L、42K、43S、44F、46G、69A、71Y、79Q 和 85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨

基酸序列的 DLL3-HCDR3，且所述 DLL3-VH 的 FR 区包含选自 1E、5Q、27Y、30T、38K、43K、48I、67A、68A、69L、71V、73K、75S、76N 和 93A 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：24 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 1N、36L、42K、43S、44F、46G、69A、71Y、79Q 和 85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO:21、69 或 70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3，且所述 DLL3-VH 的 FR 区包含选自 1E、5Q、27Y、30T、38K、43K、48I、67A、68A、69L、71V、73K、75S、76N 和 93A 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO:71 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 1N、36L、42K、43S、44F、46G、69A、71Y、79Q 和 85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO:21、69 或 70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3，且所述 DLL3-VH 的 FR 区包含选自 1E、5Q、27Y、30T、38K、43K、48I、67A、68A、69L、71V、73K、75S、76N 和 93A 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO:72 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 1N、36L、42K、43S、44F、46G、69A、71Y、79Q 和 85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO:21、69 或 70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3，且所述 DLL3-VH 的 FR 区包含选自 1E、5Q、27Y、30T、38K、43K、48I、67A、68A、69L、71V、73K、75S、76N 和 93A 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO:73 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 1N、36L、42K、43S、44F、46G、69A、71Y、79Q 和 85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO:21、69 或 70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：

22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3，且所述 DLL3-VH 的 FR 区包含选自 1E、5Q、27Y、30T、38K、43K、48I、67A、68A、69L、71V、73K、75S、76N 和 93A 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：71 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：74 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 1N、36L、42K、43S、44F、46G、69A、71Y、79Q 和 85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21、69 或 70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3，且所述 DLL3-VH 的 FR 区包含选自 1E、5Q、27Y、30T、38K、43K、48I、67A、68A、69L、71V、73K、75S、76N 和 93A 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：72 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：74 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 1N、36L、42K、43S、44F、46G、69A、71Y、79Q 和 85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21、69 或 70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3，且所述 DLL3-VH 的 FR 区包含选自 1E、5Q、27Y、30T、38K、43K、48I、67A、68A、69L、71V、73K、75S、76N 和 93A 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：73 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：74 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 1N、36L、42K、43S、44F、46G、69A、71Y、79Q 和 85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3，且所述 DLL3-VH 的 FR 区包含选自 1E、5Q、27Y、30T、38K、43K、48I、67A、68A、69L、71V、73K、75S、76N 和 93A 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：71 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 1N、36L、42K、43S、44F、46G、69A、71Y、79Q 和 85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3，且所述 DLL3-VH 的 FR 区包含选自 1E、5Q、27Y、30T、38K、43K、48I、67A、68A、69L、71V、73K、75S、76N 和 93A 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：24 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 1N、36L、42K、43S、44F、46G、69A、71Y、79Q 和 85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3，且所述 DLL3-VH 的 FR 区包含选自 1E、5Q、27Y、30T、38K、43K、48I、67A、68A、69L、71V、73K、75S、76N 和 93A 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：72 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 1N、36L、42K、43S、44F、46G、69A、71Y、79Q 和 85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：69 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3，且所述 DLL3-VH 的 FR 区包含选自 1E、5Q、27Y、30T、38K、43K、48I、67A、68A、69L、71V、73K、75S、76N 和 93A 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：71 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：74 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 1N、36L、42K、43S、44F、46G、69A、71Y、79Q 和 85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3，且所述 DLL3-VH 的 FR 区包含选自 1E、5Q、27Y、30T、38K、43K、48I、67A、68A、69L、71V、73K、75S、76N 和 93A 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：71 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：74 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 1N、36L、42K、43S、44F、46G、69A、71Y、79Q 和 85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：69 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3，且所述 DLL3-VH 的 FR 区包含选自 1E、5Q、27Y、30T、38K、43K、48I、67A、68A、69L、71V、73K、75S、76N 和 93A 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：73 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：74 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 1N、36L、42K、43S、44F、46G、69A、71Y、79Q 和 85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3，且所述 DLL3-VH 的 FR 区包含选自 1E、5Q、27Y、30T、38K、43K、48I、67A、68A、69L、71V、73K、75S、76N 和 93A 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：73 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：74 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 1N、36L、42K、43S、44F、46G、69A、71Y、79Q 和 85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：69 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3，且所述 DLL3-VH 的 FR 区包含选自 1E、5Q、27Y、30T、38K、43K、48I、67A、68A、69L、71V、73K、75S、76N 和 93A 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：71 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 1N、36L、42K、43S、44F、46G、69A、71Y、79Q 和 85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3，且所述 DLL3-VH 的 FR 区包含选自 1E、5Q、27Y、30T、38K、43K、48I、67A、68A、69L、71V、73K、75S、76N 和 93A 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：71 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 1N、36L、42K、43S、44F、46G、69A、71Y、79Q 和 85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：26 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：85 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：83 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：29 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：30 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：31 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 42G、44V 和 71Y 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：26 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：27 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：83 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：29 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：30 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：31 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 42G、44V 和 71Y 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：84 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：27 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：83 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：29 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：30 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：31 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 42G、44V 和 71Y 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：84 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：85 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：83 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：29 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：30 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：31 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 42G、44V 和 71Y 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：26 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：27 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：28 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：29 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：30 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：31 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 42G、44V 和 71Y 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：96 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：33 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3，且所述 DLL3-VH 的 FR 区包含选自 1E、24T、44S、71V 和 73K 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；和所述 DLL3-VL 具有：包含

SEQ ID NO：34 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：35 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：36 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3 且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 1N、9K、43S、68A 和 85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：119 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：38 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3，且所述 DLL3-VH 的 FR 区包含选自 1E、3R、5Q、7F、9P、10V、12V、40S、41H、44S、48I、67A、69L、71V、73K、75S 和 83T 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：39 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：35 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：40 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3 且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 9K、43S、60D、68A、87H 和 100S 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 CD3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：129 的氨基酸序列的 CD3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：130 的氨基酸序列的 CD3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：131 的氨基酸序列的 CD3-HCDR3；和所述 CD3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：132 的氨基酸序列的 CD3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：133 的氨基酸序列的 CD3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：134 的氨基酸序列的 CD3-LCDR3。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 CD3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：129 的氨基酸序列的 CD3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：130 的氨基酸序列的 CD3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：135 的氨基酸序列的 CD3-HCDR3；和所述 CD3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：132 的氨基酸序列的 CD3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：133 的氨基酸序列的 CD3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：134 的氨基酸序列的 CD3-LCDR3。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：50 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：50 的 FR 区包含选自 Q1E、Q43K、M48I、V67A、I69L、R71V、T73K 和 S76N 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：51 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：51 的 FR 区包含选自 Q1E、5Q、R38K、V68A、F69L、L71V、T73K、V75S 和 S76N 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：52 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：52 的 FR 区包含选自 F27Y、S30T、I69L、R71V、D73K 和 T93A 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：62 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：62 的 FR 区包含选自 F36L、A43S、P44F、S46G、T69A、F71Y 和 T85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：68 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：68 的 FR 区包含选自 Y36L、Q42K、L46G、T69A、F71Y、E79Q 和 V85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：78 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：78 的 FR 区包含一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：75 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：75 的 FR 区包含选自 K42G、P44V 和 F71Y 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：95 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：95 的 FR 区包含选自 Q1E、A24T、R44S、R71V 和 T73K 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：88 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：88 的 FR 区包含选自 D1N、D9K、P43S、G68A 和 V85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：116 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：116 的 FR 区包含选自 Q1E、Q3R、V5Q、S7F、A9P、E10V、K12V、A40S、P41H、R44S、M48I、V67A、I69L、R71V、T73K、A75S 和 R83T 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：100 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：100 的 FR 区包含选自 D9K、P43S、G68A、和 Y87H 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：103 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：103 的 FR 区包含选自 A43S、S60D 和 Q100S 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：56 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：56 的 FR 区包含一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：57 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：57 的 FR 包含区一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：63 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：63 的 FR 区包含一个或多个氨基酸取代；在一些实施方案中，所述的氨基酸取代选自 A43S 和 P44F 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：64 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：64 的 FR 区包含一个或多个氨基酸取代；在一些实施方案中，所述的氨基酸取代选自 A43S 和 P44F 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：65 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：65 的 FR 区包含一个或多个氨基酸取代；在一些实施方案中，所述的氨基酸取代选自 A43S 和 P44F 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：66 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：66 的 FR 区包含一个或多个氨基酸取代；在一些实施方案中，所述的氨基酸取代选自 A43S 和 P44F 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：67 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：67 的 FR 区包含一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：79、80、81 或 82 的氨基酸序列，或 SEQ ID NO：79、80、81 或 82 的变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：79、80、81 或 82 的 FR 区包含一个或多个氨基酸取代；和

所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：75 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：75 的 FR 区包含选自 K42G、P44V 和 F71Y 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：91、92、93 或 94 的氨基酸序列，或 SEQ ID NO：91、92、93 或 94 的变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：91、92、93 或 94 的 FR 区包含一个或多个氨基酸取代；和

所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：88 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：88 的 FR 区包含选自 D1N、D9K、P43S、G68A 和 V85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：107、108、109 或 110 的氨基酸序列，或 SEQ ID NO：107、108、109 或 110 的变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：107、108、109 或 110 的 FR 区包含一个或多个氨基酸取代；在一些实施方案中，所述的氨基酸取代选自 V5Q、S7F、A9P、E10V、K12V、A40S、P41H、M48I、V67A、A75S 和 R83T 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：112 的氨基酸序列，或 SEQ ID NO：112 的变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：112 的 FR 区包含一个或多个氨基酸取代；在一些实施方案中，所述的氨基酸取代选自 V5Q、A9P、K12V、A40S、P41H、4M8I、V67A 和 R83T 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：113 的氨基酸序列，或 SEQ ID NO：113 的变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：113 的 FR 区包含一个或多个氨基酸取代；在一些实施方案中，所述的氨基酸取代选自 V5Q、S7F、A9P、E10V、K12V、A40S、P41H、A75S 和 R83T 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：114 的氨基酸序列，或 SEQ ID NO：114 的变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：114 的 FR 区包含一个或多个氨基酸取代；在一些实施方案中，所述的氨基酸取代选自 V5Q、S7F、A9P、E10V、K12V、M48I、V67A、A75S 和 R83T 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：115 的氨基酸序列，或 SEQ ID NO：115 的变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：115 的 FR 区包含一个或多个氨基酸取代；在一些实施方案中，所述的氨基酸取代选自 V5Q、A9P、K12V、A40S、P41H、M48I 和 V67A 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：100 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：100 的 FR 区包含选自 D9K、P43S、G68A、和 Y87H 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：103 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：103 的 FR 区包含选自 A43S、S60D 和 Q100S 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

i) 所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：12、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56 或 57 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：13、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67 或 68 的氨基酸序列；或

ii) 所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：14、78、79、80、81 或 82 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：15、75、76 或 77 的氨基酸序列；或

iii) 所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：16、89、90、91、92、93、94 或 95 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：17、86、87 或 88 的氨基酸序列；或

iv) 所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：18、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115 或 116 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：19、100、101、102、103 或 104 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：43、44 或 45 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：58、59 或 60 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：47、48、49、53、54 或 55 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：59 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：43、44 或 45 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：60 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：46、48、53、54 或 55 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：61 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：54 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：63 或 64 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：56 或 57 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：65、 66 或 67 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：78 或 79 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：75、76 或 77 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：78、79、80、81 或 82 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：77 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：89、90、91、92、93 或 94 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：86 或 87 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：95 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：87 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：105、106、107、108、109、110 或 111 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：100、101 或 102 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：112、113、114 或 115 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：100、103 或 104 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：109 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：103 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

i) 所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：54 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：63 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：54 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：61 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：54 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：64 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：56 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：65 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：56 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：66 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：56 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：67 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：57 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：65 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：57 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：66 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：57 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：67 的氨基酸序列；或

ii) 所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：81 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：77 的氨基酸序列；或

iii) 所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：91 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：87 的氨基酸序列；或

iv) 所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：109 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：100 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

i) 所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：12 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：13 的氨基酸序列；或

ii) 所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：14 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：15 的氨基酸序列；或

iii) 所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：16 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：17 的氨基酸序列；或

iv) 所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：18 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：19 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：54 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：63 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：54 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：61 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：81 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：77 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：91 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：87 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：109 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：100 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 CD3-VH 包含 SEQ ID NO：136 的氨基酸序列，和所述 CD3-VL 包含 SEQ ID NO：137 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 CD3-VH 包含 SEQ ID NO：138 的氨基酸序列，和所述 CD3-VL 包含 SEQ ID NO：137 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述特异性结合 DLL3 的抗原结合模块或所述特异性结合 CD3 的抗原结合模块包含能够形成二聚体的 Titin 链和 Obscurin 链。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述特异性结合 DLL3 的抗原结合模块包含能够形成二聚体的 Titin 链和 Obscurin 链。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述特异性结合 CD3 的抗原结合模块包含能够形成二聚体的 Titin 链和 Obscurin 链。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述 Titin 链包含选自由 SEQ ID NO：192 至 SEQ ID NO：210 组成的组的氨基酸序列，所述 Obscurin 链包含选自由 SEQ ID NO：211 至 SEQ ID NO：251 组成的组的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述 Titin 链包含 SEQ ID NO：208 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述 Obscurin 链包含 SEQ ID NO：246 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述 Titin 链包含 SEQ ID NO：208 的氨基酸序列，和所述 Obscurin 链包含 SEQ ID NO：246 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述抗原结合分子包含 Fc 区。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述抗原结合分子包含人 IgG Fc 区。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述抗原结合分子包含人 IgG1 Fc 区。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述抗原结合分子包含 Fc 区，所述 Fc 区包含一个或多个能够减少 Fc 区与 Fcγ 受体结合的氨基酸取代。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述抗原结合分子包含 Fc 区，所述 Fc 区是人 IgG1 Fc 区，并且在 234 和 235 位置的氨基酸为 A，编号依据为 EU 索引。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述抗原结合分子包含 Fc 区，所述 Fc 区包含能够相互缔合的第一亚基 Fc1 和第二亚基 Fc2，所述 Fc1 和 Fc2 各自独立地具有一个或多个减少 Fc 区同源二聚化的氨基酸取代。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述抗原结合分子包含 Fc 区，所述 Fc 区包含能够相互缔合的第一亚基 Fc1 和第二亚基 Fc2，所述 Fc1 具有根据杵臼技术的凸起结构，和所述 Fc2 具有根据杵臼技术的孔结构。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述抗原结合分子包含 Fc 区，所述 Fc 区包含能够相互缔合的第一亚基 Fc1 和第二亚基 Fc2，所述 Fc1 具有根据杵臼技术的凸起结构，和所述 Fc2 具有根据杵臼技术的孔结构，所述 Fc1 在 366 位置的氨基酸为 W；并且所述 Fc2 在 366 位置的氨基酸为 S、在 368 位置的氨基酸为 A、和在 407 位置的氨基酸为 V，编号依据为 EU 索引。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述抗原结合分子包含 Fc 区，所述 Fc 区包含能够相互缔合的第一亚基 Fc1 和第二亚基 Fc2，所述 Fc1 具有根据杵臼技术的凸起结构，和所述 Fc2 具有根据杵臼技术的孔结构，其中，所述 Fc1 在 354 位置的氨基酸为 C 和在 366 位置的氨基酸为 W；并且所述 Fc2 在 349 位置的氨基酸为 C、在 366 位置的氨基酸为 S、在 368 位置的氨基酸为 A、和在 407 位置的氨基酸为 V，编号依据为 EU 索引。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述抗原结合分子包含 Fc 区，所述 Fc 区包含能够相互缔合的第一亚基 Fc1 和第二亚基 Fc2，其中，所述 Fc1 包含 SEQ ID NO：143 的氨基酸序列；和所述 Fc2 包含 SEQ ID NO：144 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述抗原结合分子包含 Fc 区，所述 Fc 区包含能够相互缔合的第一亚基 Fc1 和第二亚基 Fc2，其中，所述 Fc1 在 349 位置的氨基酸为 C、在 366 位置的氨基酸为 W 和在 237 位置的氨基酸为 A；并且所述 Fc2 在 354 位置的氨基酸为 C、在 366 位置的氨基酸为 S、在 368 位置的氨基酸为 A、在 407 位置的氨基酸为 V 和和在 237 位置的氨基酸为 A，编号依据为 EU 索引。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述抗原结合分子包含 Fc 区，所述 Fc 区包含能够相互缔合的第一亚基 Fc1 和第二亚基 Fc2，其中，所述 Fc1 包含 SEQ ID NO：145 的氨基酸序列；和所述 Fc2 包含 SEQ ID NO：146 的氨基酸序列。

应当理解，本公开中的序数词“第一”、“第二”、“式 a”、“式 b”、“Fc1”、“连接子 3”等仅用于区分不同的技术特征、元素、组件、步骤，不意图对水平、顺序、数量构成限制。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述抗原结合分子包含一个特异性结合 DLL3 的抗原结合模块和一个特异性结合 CD3 的抗原结合模块。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述抗原结合分子包含一个特异性结合 DLL3 的抗原结合模块和一个特异性结合 CD3 的抗原结合模块，其中：

所述特异性结合 DLL3 的抗原结合模块是 Fab；所述特异性结合 CD3 的抗原结合模块是经替换的 Fab，其包含能够形成二聚体的 Titin 链和 Obscurin 链。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述抗原结合分子包含一个特异性结合 DLL3 的抗原结合模块和一个特异性结合 CD3 的抗原结合模块，其中：

所述特异性结合 CD3 的抗原结合模块是 Fab，所述特异性结合 DLL3 的抗原结合模块是经替换的 Fab，其包含能够形成二聚体的 Titin 链和 Obscurin 链。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，所述抗原结合分子包含一条具有式(a)所示结构的第一链、一条具有式(b)所示结构的第二链、一条具有式(c)所示结构的第三链和一条具有式(d)所示结构的第四链，

(a) [DLL3-VH]-[连接子 1]-[Titin 链]/[Obscurin 链]-[Fc2]/[Fc1]，

(b) [DLL3-VL]-[连接子 2]-[Obscurin 链]/[Titin 链]，

(c) [CD3-VH]-[CH1]-[Fc1]/[Fc2]，

(d) [CD3-VL]-[CL]，

其中：所述连接子 1 和所述连接子 2 是相同或不同的肽连接子；式(a)、(b)、(c)和(d)所示的结构是从 N 端至 C 端排列的。“/”表示“或”，即 Fc1 和 Fc2 可互换位置，Titin 链和 Obscurin 链可互换位置。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，所述抗原结合分子包含一条具有式(a)所示结构的第一链、一条具有式(b)所示结构的第二链、一条具有式(c)所示结构的第三链和一条具有式(d)所示结构的第四链，

(a) [DLL3-VH]-[连接子 1]-[Titin 链]-[Fc2]，

(b) [DLL3-VL]-[连接子 2]-[Obscurin 链]，

(c) [CD3-VH]-[CH1]-[Fc1]，

(d) [CD3-VL]-[CL]，

其中：所述连接子 1 和所述连接子 2 是相同或不同的肽连接子；式(a)、(b)、(c)和(d)所示的结构是从 N 端至 C 端排列的；Fc1 和 Fc2 可互换位置，Titin 链和 Obscurin 链可互换位置。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，所述抗原结合分子包含一条具有式(a)所示结构的第一链、一条具有式(b)所示结构的第二链、一条具有式(c)所示结构的第三链和一条具有式(d)所示结构的第四链，

(a) [DLL3-VH]-[连接子 1]-[Titin 链]-[Fc2]，

(b) [DLL3-VL]-[连接子 2]-[Obscurin 链]，

(c) [CD3-VH]-[CH1]-[Fc1]，

(d) [CD3-VL]-[CL]，

其中：所述连接子 1 和所述连接子 2 是相同或不同的肽连接子；式(a)、(b)、(c)和(d)所示的结构是从 N 端至 C 端排列的。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，所述抗原结合分子包含一条具有式(a')所示结构的第一链、一条具有式(b')所示结构的第二链、一条具有式(c')所示结构的第三链和一条具有式(d')所示结构的第四链，

(a') [CD3-VH]-[连接子 1]-[Titin 链]/Obscurin 链]-[Fc2]/[Fc1]，

(b') [CD3-VL]-[连接子 2]-[Obscurin 链]/[Titin 链]，

(c') [DLL3-VH]-[CH1]-[Fc1]/[Fc2]，

(d') [DLL3-VL]-[CL]，

其中：所述连接子 1 和所述连接子 2 不存在，即所述连接子 1 和所述连接子 2 均是肽键；式(a')、(b')、(c')和(d')所示的结构是从 N 端至 C 端排列的。“/”表示“或”，即 Fc1 和 Fc2 可互换位置，Titin 链和 Obscurin 链可互换位置。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，所述抗原结合分子包含一条具有式(a')所示结构的第一链、一条具有式(b')所示结构的第二链、一条具有式(c')所示结构的第三链和一条具有式(d')所示结构的第四链，

(a') [CD3-VH]-[连接子 1]-[Titin 链]-[Fc2]，

(b') [CD3-VL]-[连接子 2]-[Obscurin 链]，

(c') [DLL3-VH]-[CH1]-[Fc1]，

(d') [DLL3-VL]-[CL]，

其中：所述连接子 1 和所述连接子 2 不存在，即所述连接子 1 和所述连接子 2 均是肽键；式(a')、(b')、(c')和(d')所示的结构是从 N 端至 C 端排列的；Fc1 和 Fc2 可互换位置，Titin 链和 Obscurin 链可互换位置。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，所述抗原结合分子包含一条具有式(a)所示结构的第一链、一条具有式(b)所示结构的第二链、一条具有式(c)所示结构的第三链和一条具有式(d)所示结构的第四链，

(a') [CD3-VH]-[连接子 1]-[Titin 链]-[Fc2]，

(b') [CD3-VL]-[连接子 2]-[Obscurin 链]，

(c') [DLL3-VH]-[CH1]-[Fc1]，

(d') [DLL3-VL]-[CL]，

其中：所述连接子 1 和所述连接子 2 不存在，即所述连接子 1 和所述连接子 2 均是肽键；式(a)、(b)、(c)和(d)所示的结构是从 N 端至 C 端排列的。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：24 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；和

所述 CD3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：129 的氨基酸序列的 CD3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：130 的氨基酸序列的 CD3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：131 或 135 的氨基酸序列的 CD3-HCDR3；和所述 CD3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：132 的氨基酸序列的 CD3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：133 的氨基酸序列的 CD3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：134 的氨基酸序列的 CD3-LCDR3。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：71 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；和

所述 CD3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：129 的氨基酸序列的 CD3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：130 的氨基酸序列的 CD3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：131 的氨基酸序列的 CD3-HCDR3；和所述 CD3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：132 的氨基酸序列的 CD3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：133 的氨基酸序列的 CD3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：134 的氨基酸序列的 CD3-LCDR3。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：71 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；和

所述的 CD3-VH 包含 SEQ ID NO：136 的氨基酸序列，和所述的 CD3-VL 包含 SEQ ID NO：137 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：26 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：85 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：83 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：29 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：30 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：31 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；和

所述 CD3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：129 的氨基酸序列的 CD3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：130 的氨基酸序列的 CD3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：131 或 135 的氨基酸序列的 CD3-HCDR3；和所述 CD3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：132 的氨基酸序列的 CD3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：133 的氨基酸序列的 CD3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：134 的氨基酸序列的 CD3-LCDR3。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：96 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：33 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：34 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：35 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：36 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；和

所述 CD3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：129 的氨基酸序列的 CD3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：130 的氨基酸序列的 CD3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：131 或 135 的氨基酸序列的 CD3-HCDR3；和所述 CD3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：132 的氨基酸序列的 CD3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：133 的氨基酸序列的 CD3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：134 的氨基酸序列的 CD3-LCDR3。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：96 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：33 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：34 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：35 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：36 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；和

所述 CD3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：129 的氨基酸序列的 CD3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：130 的氨基酸序列的 CD3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：131 的氨基酸序列的 CD3-HCDR3；和所述 CD3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：132 的氨基酸序列的 CD3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：133 的氨基酸序列的 CD3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：134 的氨基酸序列的 CD3-LCDR3。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：96 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：33 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：34 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：35 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：36 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；和

所述 CD3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：129 的氨基酸序列的 CD3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：130 的氨基酸序列的 CD3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：135 的氨基酸序列的 CD3-HCDR3；和所述 CD3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：132 的氨基酸序列的 CD3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：133 的氨基酸序列的 CD3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：134 的氨基酸序列的 CD3-LCDR3。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：119 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：38 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：39 的氨

基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：35 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：40 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；和

所述 CD3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：129 的氨基酸序列的 CD3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：130 的氨基酸序列的 CD3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：131 或 135 的氨基酸序列的 CD3-HCDR3；和所述 CD3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：132 的氨基酸序列的 CD3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：133 的氨基酸序列的 CD3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：134 的氨基酸序列的 CD3-LCDR3。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：96 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：33 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：34 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：35 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：36 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；和

所述 CD3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：129 的氨基酸序列的 CD3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：130 的氨基酸序列的 CD3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：131 的氨基酸序列的 CD3-HCDR3；和所述 CD3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：132 的氨基酸序列的 CD3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：133 的氨基酸序列的 CD3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：134 的氨基酸序列的 CD3-LCDR3。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述的 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：54 的氨基酸序列，和所述的 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：61 的氨基酸序列；并且所述的 CD3-VH 包含 SEQ ID NO：136 或 138 的氨基酸序列，和所述的 CD3-VL 包含 SEQ ID NO：137 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述的 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：54 的氨基酸序列，和所述的 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：63 的氨基酸序列；并且所述的 CD3-VH 包含 SEQ ID NO：136 或 138 的氨基酸序列，和所述的 CD3-VL 包含 SEQ ID NO：137 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述的 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：54 的氨基酸序列，和所述的 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：63 的氨基酸序列；并且所述的 CD3-VH 包含 SEQ ID NO：136 的氨基酸序列，和所述的 CD3-VL 包含 SEQ ID NO：137 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述的 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：81 的氨基酸序列，和所述的 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：77 的氨基酸序列；并且所述的 CD3-VH 包含 SEQ ID NO：136 或 138 的氨基酸序列，和所述的 CD3-VL 包含 SEQ ID NO：137 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述的 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：91 的氨基酸序列，和所述的 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：87 的氨基酸序列；并且所述的 CD3-VH 包含 SEQ ID NO：136 或 138 的氨基酸序列，和所述的 CD3-VL 包含 SEQ ID NO：137 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述的 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：109 的氨基酸序列，和所述的 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：100 的氨基酸序列；并且所述的 CD3-VH 包含 SEQ ID NO：136 或 138 的氨基酸序列，和所述的 CD3-VL 包含 SEQ ID NO：137 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述的 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：91 的氨基酸序列，和所述的 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：87 的氨基酸序列；并且所述的 CD3-VH 包含 SEQ ID NO：136 的氨基酸序列，和所述的 CD3-VL 包含 SEQ ID NO：137 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述的 Titin 链和 Obscurin 链为本披露中表 3-1 和表 3-2 中任意可以形成二聚体的 Titin 链和 Obscurin 链。在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述的 Titin 链包含如 SEQ ID NO：208 的氨基酸序列。在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述的 Obscurin 链包含如 SEQ ID NO：246 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述的连接子 1 和连接子 2 均为本领域已知的肽连接子，只要抗原结合分子能够展现出期望的抗原结合活性。例如，肽连接子可以是具有 1-50 或 3-20 个氨基酸残基的柔性肽。在一些实施方案中，所述肽连接子的长度为 3-15 个氨基酸残基。在一些实施方案中，所述肽连接子 1 和连接子 2 各自独立地具有(GGGGS)n 的结构，其中 n 是 1、2 或 3。在一些实施方案中，所述的连接子 1 和连接子 2 的序列均为 GGGGS（SEQ ID NO：147）。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述的 CH1 为 IgG 的 CH1 序列。在一些实施方案中，所述的 CH1 为 IgG1 的 CH1。在一些实施方案中，所述的 CH1 包含 SEQ ID NO：141 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述的 CL 为抗体的轻链恒定区。在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述的 CL 为 kappa 链或 lamada 链的轻链恒定区。在一些实施方式中，其中所述的 CL 包含 SEQ ID NO：142 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述抗原结合分子具有：

一条包含 SEQ ID NO：171 的氨基酸序列的第一链、一条包含 SEQ ID NO：172 的氨基酸序列的第二链、一条包含 SEQ ID NO：154 的氨基酸序列的第三链和一条包含 SEQ ID NO：155 的氨基酸序列的第四链；或

一条包含 SEQ ID NO：171 的氨基酸序列的第一链、一条包含 SEQ ID NO：172 的氨基酸序列的第二链、一条包含 SEQ ID NO：156 的氨基酸序列的第三链和一条包含 SEQ ID NO：155 的氨基酸序列的第四链；或

一条包含 SEQ ID NO：152 的氨基酸序列的第一链、一条包含 SEQ ID NO：153 的氨基酸序列的第二链、一条包含 SEQ ID NO：154 的氨基酸序列的第三链和一条包含 SEQ ID NO：155 的氨基酸序列的第四链；或

一条包含 SEQ ID NO：152 的氨基酸序列的第一链、一条包含 SEQ ID NO：153 的氨基酸序列的第二链、一条包含 SEQ ID NO：156 的氨基酸序列的第三链和一条包含 SEQ ID NO：155 的氨基酸序列的第四链；或

一条包含 SEQ ID NO：164 的氨基酸序列的第一链、一条包含 SEQ ID NO：165 的氨基酸序列的第二链、一条包含 SEQ ID NO：154 的氨基酸序列的第三链和一条包含 SEQ ID NO：155 的氨基酸序列的第四链；或

一条包含 SEQ ID NO：164 的氨基酸序列的第一链、一条包含 SEQ ID NO：165 的氨基酸序列的第二链、一条包含 SEQ ID NO：156 的氨基酸序列的第三链和一条包含 SEQ ID NO：155 的氨基酸序列的第四链；或

一条包含 SEQ ID NO：178 的氨基酸序列的第一链、一条包含 SEQ ID NO：179 的氨基酸序列的第二链、一条包含 SEQ ID NO：154 的氨基酸序列的第三链和一条包含 SEQ ID NO：155 的氨基酸序列的第四链；或

一条包含 SEQ ID NO：178 的氨基酸序列的第一链、一条包含 SEQ ID NO：179 的氨基酸序列的第二链、一条包含 SEQ ID NO：156 的氨基酸序列的第三链和一条包含 SEQ ID NO：155 的氨基酸序列的第四链。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述抗原结合分子具有：

一条包含 SEQ ID NO：171 的氨基酸序列的第一链、一条包含 SEQ ID NO：172 的氨基酸序列的第二链、一条包含 SEQ ID NO：154 的氨基酸序列的第三链和一条包含 SEQ ID NO：155 的氨基酸序列的第四链。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述抗原结合分子包含一个特异性结合 DLL3 的抗原结合模块和一个特异性结合 CD3 的抗原结合模块，所述特异性结合 DLL3 的抗原结合模块是 Fab；所述特异性结合 CD3 的抗原结合模块是 scFv。在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，所述抗原结合分子包含一条具有式(e)所示结构的第一链、一条具有式(f)所示结构的第二链和一条具有式(g)所示结构的第三链，

(e) [DLL3-VL]-[CL]，

(f) [DLL3-VH]-[CH1]-[Fc2]/[Fc1]，

(g) [CD3-VH]-[连接子 3]-[CD3-VL]- [连接子 4]-[Fc1]/[Fc2]，

其中：所述连接子 3 和所述连接子 4 是相同或不同的肽连接子；

式(e)、(f)和(g)所示的结构是从 N 端至 C 端排列的。“/”表示“或”，即 Fc1 和 Fc2 可互换位置。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，所述抗原结合分子包含一条具有式(e)所示结构的第一链、一条具有式(f)所示结构的第二链和一条具有式(g)所示结构的第三链，

(e) [DLL3-VL]-[CL]，

(f) [DLL3-VH]-[CH1]-[Fc2]，

(g) [CD3-VH]-[连接子 3]-[CD3-VL]- [连接子 4]-[Fc1]，

其中：所述连接子 3 和所述连接子 4 是相同或不同的肽连接子；

式(e)、(f)和(g)所示的结构是从 N 端至 C 端排列的；Fc1 和 Fc2 可互换位置。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，所述抗原结合分子包含一条具有式(e)所示结构的第一链、一条具有式(f)所示结构的第二链和一条具有式(g)所示结构的第三链，

(e) [DLL3-VL]-[CL]，

(f) [DLL3-VH]-[CH1]-[Fc2]，

(g) [CD3-VH]-[连接子 3]-[CD3-VL]- [连接子 4]-[Fc1]，

其中：所述连接子 3 和所述连接子 4 是相同或不同的肽连接子；

式(e)、(f)和(g)所示的结构是从 N 端至 C 端排列的。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述抗原结合分子包含一个特异性结合 DLL3 的抗原结合模块和一个特异性结合 CD3 的抗原结合模块，所述特异性结合 DLL3 的抗原结合模块是 scFv；所述特异性结合 CD3 的抗原结合模块是 Fab。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，所述抗原结合分子包含一条具有式(e')所示结构的第一链、一条具有式(f')所示结构的第二链和一条具有式(g')所示结构的第三链，

(e') [CD3-VL]-[CL]，

(f') [CD3-VH]-[CH1]-[Fc2]/[Fc1]，

(g') [DLL3-VH]-[连接子 3]-[DLL3-VL]- [连接子 4]-[Fc1]/[Fc2]，

其中：所述连接子 3 和所述连接子 4 是相同或不同的肽连接子；

式(e')、(f')和(g')所示的结构是从 N 端至 C 端排列的。“/”表示“或”。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，所述抗原结合分子包含一条具有式(e')所示结构的第一链、一条具有式(f')所示结构的第二链和一条具有式(g')所示结构的第三链，

(e') [CD3-VL]-[CL]，

(f') [CD3-VH]-[CH1]-[Fc2]，

(g') [DLL3-VH]-[连接子 3]-[DLL3-VL]- [连接子 4]-[Fc1]，

其中：所述连接子 3 和所述连接子 4 是相同或不同的肽连接子；

式(e')、(f')和(g')所示的结构是从 N 端至 C 端排列的；Fc1 和 Fc2 可互换位置。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，所述抗原结合分子包含一条具有式(e')所示结构的第一链、一条具有式(f')所示结构的第二链和一条具有式(g')所示结构的第三链，

(e') [CD3-VL]-[CL]，

(f') [CD3-VH]-[CH1]-[Fc2]，

(g') [DLL3-VH]-[连接子 3]-[DLL3-VL]- [连接子 4]-[Fc1]，

其中：所述连接子 3 和所述连接子 4 是相同或不同的肽连接子；

式(e')、(f')和(g')所示的结构是从 N 端至 C 端排列的。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：24 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；和

所述 CD3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：129 的氨基酸序列的 CD3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：130 的氨基酸序列的 CD3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：131 或 135 的氨基酸序列的 CD3-HCDR3；和所述 CD3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：132 的氨基酸序列的 CD3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：133 的氨基酸序列的 CD3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：134 的氨基酸序列的 CD3-LCDR3。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：26 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：85 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：83 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：29 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：30 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：31 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；和

所述 CD3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：129 的氨基酸序列的 CD3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：130 的氨基酸序列的 CD3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：131 或 135 的氨基酸序列的 CD3-HCDR3；和所述 CD3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：132 的氨基酸序列的 CD3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：133 的氨基酸序列的 CD3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：134 的氨基酸序列的 CD3-LCDR3。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：96 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：33 的

氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：34 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：35 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：36 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；和

所述 CD3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：129 的氨基酸序列的 CD3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：130 的氨基酸序列的 CD3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：131 或 135 的氨基酸序列的 CD3-HCDR3；和所述 CD3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：132 的氨基酸序列的 CD3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：133 的氨基酸序列的 CD3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：134 的氨基酸序列的 CD3-LCDR3。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：119 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：38 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：39 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：35 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：40 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；和

所述 CD3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：129 的氨基酸序列的 CD3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：130 的氨基酸序列的 CD3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：131 或 135 的氨基酸序列的 CD3-HCDR3；和所述 CD3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：132 的氨基酸序列的 CD3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：133 的氨基酸序列的 CD3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：134 的氨基酸序列的 CD3-LCDR3。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：96 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：33 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：34 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：35 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：36 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；和

所述 CD3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：129 的氨基酸序列的 CD3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：130 的氨基酸序列的 CD3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：135 的氨基酸序列的 CD3-HCDR3；和所述 CD3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：132 的氨基酸序列的 CD3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：133 的氨基酸序列的 CD3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：134 的氨基酸序列的 CD3-LCDR3。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述的 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：54 的氨基酸序列，和所述的 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：61 的氨基酸序列；并且所述的 CD3-VH 包含 SEQ ID NO：136 或 138 的氨基酸序列，和所述的 CD3-VL 包含 SEQ ID NO：137 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述的 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：54 的氨基酸序列，和所述的 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：63 的氨基酸序列；并且所述的 CD3-VH 包含 SEQ ID NO：136 或 138 的氨基酸序列，和所述的 CD3-VL 包含 SEQ ID NO：137 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述的 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：91 的氨基酸序列，和所述的 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：87 的氨基酸序列；并且所述的 CD3-VH 包含 SEQ ID NO：136 或 138 的氨基酸序列，和所述的 CD3-VL 包含 SEQ ID NO：137 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述的 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：81 的氨基酸序列，和所述的 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：77 的氨基酸序列；并且所述的 CD3-VH 包含 SEQ ID NO：136 或 138 的氨基酸序列，和所述的 CD3-VL 包含 SEQ ID NO：137 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述的 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：109 的氨基酸序列，和所述的 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：100 的氨基酸序列；并且所述的 CD3-VH 包含 SEQ ID NO：136 或 138 的氨基酸序列，和所述的 CD3-VL 包含 SEQ ID NO：137 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述的 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：91 的氨基酸序列，和所述的 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：87 的氨基酸序列；并且所述的 CD3-VH 包含 SEQ ID NO：138 的氨基酸序列，和所述的 CD3-VL 包含 SEQ ID NO：137 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述的连接子 3 和连接子 4 均为本领域已知的肽连接子，只要抗原结合分子能够展现出期望的抗原结合活性。例如，肽连接子可以是具有 1-50 或 3-20 个氨基酸残基的柔性肽。在一些实施方案中，所述肽连接子的长度为 3-15 个氨基酸残基。在一些实施方案中，所述肽连接子 3 和连接子 4 各自独立地具有(GGGGS)n 的结构，其中 n 是 1-5。在一些实施方案中，n 为 1、2、3 或 4。在一些实施方案中，所述的连接子 3 的序列为 GGGGSGGGGSGGGGS（SEQ ID NO：148）。在一些实施方案中，所述的连接子 4 的序列为 GGGGS（SEQ ID NO：147）。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述的 CH1 为 IgG 的 CH1 序列。在一些实施方案中，所述的 CH1 为 IgG1 的 CH1。在一些实施方案中，所述的 CH1 包含 SEQ ID NO：141 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述的 CL 为抗体的轻链恒定区。在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述的 CL 为 kappa 链或 lamada 链的轻链恒定区。在一些实施方式中，其中所述的 CL 包含 SEQ ID NO：142 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述抗原结合分子具有：

一条包含 SEQ ID NO：173 的氨基酸序列的第一链、一条包含 SEQ ID NO：174 的氨基酸序列的第二链和一条包含 SEQ ID NO：160 的氨基酸序列的第三链；或

一条包含 SEQ ID NO：173 的氨基酸序列的第一链、一条包含 SEQ ID NO：174 的氨基酸序列的第二链和一条包含 SEQ ID NO：159 的氨基酸序列的第三链；或

一条包含 SEQ ID NO：157 的氨基酸序列的第一链、一条包含 SEQ ID NO：158 的氨基酸序列的第二链和一条包含 SEQ ID NO：159 的氨基酸序列的第三链；或

一条包含 SEQ ID NO：157 的氨基酸序列的第一链、一条包含 SEQ ID NO：158 的氨基酸序列的第二链和一条包含 SEQ ID NO：160 的氨基酸序列的第三链；或

一条包含 SEQ ID NO：166 的氨基酸序列的第一链、一条包含 SEQ ID NO：167 的氨基酸序列的第二链和一条包含 SEQ ID NO：159 的氨基酸序列的第三链；或

一条包含 SEQ ID NO：166 的氨基酸序列的第一链、一条包含 SEQ ID NO：167 的氨基酸序列的第二链和一条包含 SEQ ID NO：160 的氨基酸序列的第三链；或

一条包含 SEQ ID NO：180 的氨基酸序列的第一链、一条包含 SEQ ID NO：181 的氨基酸序列的第二链和一条包含 SEQ ID NO：159 的氨基酸序列的第三链；或

一条包含 SEQ ID NO：180 的氨基酸序列的第一链、一条包含 SEQ ID NO：181 的氨基酸序列的第二链和一条包含 SEQ ID NO：160 的氨基酸序列的第三链。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述抗原结合分子具有：

一条包含 SEQ ID NO：173 的氨基酸序列的第一链、一条包含 SEQ ID NO：174 的氨基酸序列的第二链和一条包含 SEQ ID NO：160 的氨基酸序列的第三链。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述抗原结合分子包含一个特异性结合 DLL3 的抗原结合模块和一个特异性结合 CD3 的抗原结合模块，

所述抗原结合分子包含一条具有式(h)所示结构的第一链和一条具有式(i)所示结构的第二链，

(h) [DLL3-VL]-[连接子 5]- [CD3-VH]- [连接子 6]- [Fc1]/[Fc1]，

(i) [CD3-VL]- [连接子 7]- [DLL3-VH]- [连接子 8]-[Fc2]/[Fc2]，

其中：所述连接子 5、连接子 6、连接子 7 和连接子 8 是相同或不同的肽连接子；

式(h)和(i)所示的结构是从 N 端至 C 端排列的。“/”表示“或”，即 Fc1 和 Fc2 可互换位置。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述抗原结合分子包含一个特异性结合 DLL3 的抗原结合模块和一个特异性结合 CD3 的抗原结合模块，

所述抗原结合分子包含一条具有式(h)所示结构的第一链和一条具有式(i)所示结构的第二链，

(h) [DLL3-VL]-[连接子 5]- [CD3-VH]- [连接子 6]- [Fc1]，

(i) [CD3-VL]- [连接子 7]- [DLL3-VH]- [连接子 8]-[Fc2]，

其中：所述连接子 5、连接子 6、连接子 7 和连接子 8 是相同或不同的肽连接子；

式(h)和(i)所示的结构是从 N 端至 C 端排列的；Fc1 和 Fc2 可互换位置。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述抗原结合分子包含一个特异性结合 DLL3 的抗原结合模块和一个特异性结合 CD3 的抗原结合模块，

所述抗原结合分子包含一条具有式(h)所示结构的第一链和一条具有式(i)所示结构的第二链，

(h) [DLL3-VL]-[连接子 5]- [CD3-VH]- [连接子 6]- [Fc1]，

(i) [CD3-VL]- [连接子 7]- [DLL3-VH]- [连接子 8]-[Fc2]，

其中：所述连接子 5、连接子 6、连接子 7 和连接子 8 是相同或不同的肽连接子；

式(h)和(i)所示的结构是从 N 端至 C 端排列的。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述抗原结合分子包含一个特异性结合 DLL3 的抗原结合模块和一个特异性结合 CD3 的抗原结合模块，

所述抗原结合分子包含一条具有式(h')所示结构的第一链和一条具有式(i')所示结构的第二链，

(h') [CD3-VL]-[连接子 5]- [DLL3-VH]- [连接子 6]- [Fc1]/[Fc2]，

(I') [DLL3-VL]- [连接子 7]- [CD3-VH]- [连接子 8]-[Fc2]/[Fc1]，

其中：所述连接子 5、连接子 6、连接子 7 和连接子 8 是相同或不同的肽连接子；

式(h')和(i')所示的结构是从 N 端至 C 端排列的。“/”表示“或”。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述抗原结合分子包含一个特异性结合 DLL3 的抗原结合模块和一个特异性结合 CD3 的抗原结合模块，

所述抗原结合分子包含一条具有式(h')所示结构的第一链和一条具有式(i')所示结构的第二链，

(h') [CD3-VL]-[连接子 5]- [DLL3-VH]- [连接子 6]- [Fc1]，

(I') [DLL3-VL]- [连接子 7]- [CD3-VH]- [连接子 8]-[Fc2]，

其中：所述连接子 5、连接子 6、连接子 7 和连接子 8 是相同或不同的肽连接子；

式(h')和(i')所示的结构是从 N 端至 C 端排列的；Fc1 和 Fc2 可互换位置。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述抗原结合分子包含一个特异性结合 DLL3 的抗原结合模块和一个特异性结合 CD3 的抗原结合模块，

所述抗原结合分子包含一条具有式(h')所示结构的第一链和一条具有式(i')所示结构的第二链，

(h') [CD3-VL]-[连接子 5]- [DLL3-VH]- [连接子 6]- [Fc1]，

(I') [DLL3-VL]- [连接子 7]- [CD3-VH]- [连接子 8]-[Fc2]，

其中：所述连接子 5、连接子 6、连接子 7 和连接子 8 是相同或不同的肽连接子；

式(h')和(i')所示的结构是从 N 端至 C 端排列的。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：71 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；和

所述 CD3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：129 的氨基酸序列的 CD3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：130 的氨基酸序列的 CD3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：131 或 135 的氨基酸序列的 CD3-HCDR3；和所述 CD3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：132 的氨基酸序列的 CD3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：133 的氨基酸序列的 CD3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：134 的氨基酸序列的 CD3-LCDR3。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：24 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；和

所述 CD3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：129 的氨基酸序列的 CD3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：130 的氨基酸序列的 CD3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：131 或 135

的氨基酸序列的 CD3-HCDR3；和所述 CD3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：132 的氨基酸序列的 CD3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：133 的氨基酸序列的 CD3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：134 的氨基酸序列的 CD3-LCDR3。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：72 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；和

所述 CD3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：129 的氨基酸序列的 CD3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：130 的氨基酸序列的 CD3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：131 或 135 的氨基酸序列的 CD3-HCDR3；和所述 CD3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：132 的氨基酸序列的 CD3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：133 的氨基酸序列的 CD3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：134 的氨基酸序列的 CD3-LCDR3。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：69 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：71 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：74 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；和

所述 CD3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：129 的氨基酸序列的 CD3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：130 的氨基酸序列的 CD3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：131 或 135 的氨基酸序列的 CD3-HCDR3；和所述 CD3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：132 的氨基酸序列的 CD3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：133 的氨基酸序列的 CD3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：134 的氨基酸序列的 CD3-LCDR3。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：71 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：74 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；和

所述 CD3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：129 的氨基酸序列的 CD3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：130 的氨基酸序列的 CD3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：131 或 135 的氨基酸序列的 CD3-HCDR3；和所述 CD3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：132 的氨基酸序列的 CD3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：133 的氨基酸序列的 CD3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：134 的氨基酸序列的 CD3-LCDR3。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：69 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：73 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：74 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；和

所述 CD3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：129 的氨基酸序列的 CD3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：130 的氨基酸序列的 CD3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：131 或 135 的氨基酸序列的 CD3-HCDR3；和所述 CD3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：132 的氨基酸序列的 CD3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：133 的氨基酸序列的 CD3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：134 的氨基酸序列的 CD3-LCDR3。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：73 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：74 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；和

所述 CD3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：129 的氨基酸序列的 CD3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：130 的氨基酸序列的 CD3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：131 或 135 的氨基酸序列的 CD3-HCDR3；和所述 CD3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：132 的氨基酸序列的 CD3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：133 的氨基酸序列的 CD3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：134 的氨基酸序列的 CD3-LCDR3。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：69 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：71 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；和

所述 CD3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：129 的氨基酸序列的 CD3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：130 的氨基酸序列的 CD3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：131 或 135 的氨基酸序列的 CD3-HCDR3；和所述 CD3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：132 的氨基酸序列的 CD3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：133 的氨基酸序列的 CD3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：134 的氨基酸序列的 CD3-LCDR3。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：22 的

氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：71 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；和

所述 CD3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：129 的氨基酸序列的 CD3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：130 的氨基酸序列的 CD3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：131 或 135 的氨基酸序列的 CD3-HCDR3；和所述 CD3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：132 的氨基酸序列的 CD3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：133 的氨基酸序列的 CD3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：134 的氨基酸序列的 CD3-LCDR3。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：26 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：85 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：83 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：29 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：30 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：31 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；和

所述 CD3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：129 的氨基酸序列的 CD3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：130 的氨基酸序列的 CD3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：131 或 135 的氨基酸序列的 CD3-HCDR3；和所述 CD3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：132 的氨基酸序列的 CD3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：133 的氨基酸序列的 CD3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：134 的氨基酸序列的 CD3-LCDR3。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：96 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：33 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：34 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：35 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：36 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；和

所述 CD3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：129 的氨基酸序列的 CD3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：130 的氨基酸序列的 CD3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：131 或 135 的氨基酸序列的 CD3-HCDR3；和所述 CD3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：132 的氨基酸序列的 CD3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：133 的氨基酸序列的 CD3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：134 的氨基酸序列的 CD3-LCDR3。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：119 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：38 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：39 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：35 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：40 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；和

所述 CD3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：129 的氨基酸序列的 CD3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：130 的氨基酸序列的 CD3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：131 或 135 的氨基酸序列的 CD3-HCDR3；和所述 CD3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：132 的氨基酸序列的 CD3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：133 的氨基酸序列的 CD3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：134 的氨基酸序列的 CD3-LCDR3。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：96 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：33 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：34 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：35 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：36 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；和

所述 CD3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：129 的氨基酸序列的 CD3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：130 的氨基酸序列的 CD3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：135 的氨基酸序列的 CD3-HCDR3；和所述 CD3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：132 的氨基酸序列的 CD3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：133 的氨基酸序列的 CD3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：134 的氨基酸序列的 CD3-LCDR3。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：71 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；和

所述 CD3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：129 的氨基酸序列的 CD3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：130 的氨基酸序列的 CD3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：131 的氨基酸序列的 CD3-HCDR3；和所述 CD3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：132 的氨基酸序列的 CD3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：133 的氨基酸序列的 CD3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：134 的氨基酸序列的 CD3-LCDR3。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述的 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：54 的氨基酸序列，和所述的 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：61 的氨基酸序列；并且所述的 CD3-VH 包含 SEQ ID NO：136 或 138 的氨基酸序列，和所述的 CD3-VL 包含 SEQ ID NO：137 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述的 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：54 的氨基酸序列，和所述的 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：63 的氨基酸序列；并且所述的 CD3-VH 包含 SEQ ID NO：136 或 138 的氨基酸序列，和所述的 CD3-VL 包含 SEQ ID NO：137 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：54 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：64 的氨基酸序列；并且所述的 CD3-VH 包含 SEQ ID NO：136 或 138 的氨基酸序列，和所述的 CD3-VL 包含 SEQ ID NO：137 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：56 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：65 的氨基酸序列；并且所述的 CD3-VH 包含 SEQ ID NO：136 或 138 的氨基酸序列，和所述的 CD3-VL 包含 SEQ ID NO：137 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：56 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：66 的氨基酸序列；并且所述的 CD3-VH 包含 SEQ ID NO：136 或 138 的氨基酸序列，和所述的 CD3-VL 包含 SEQ ID NO：137 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：56 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：67 的氨基酸序列；并且所述的 CD3-VH 包含 SEQ ID NO：136 或 138 的氨基酸序列，和所述的 CD3-VL 包含 SEQ ID NO：137 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：57 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：65 的氨基酸序列；并且所述的 CD3-VH 包含 SEQ ID NO：136 或 138 的氨基酸序列，和所述的 CD3-VL 包含 SEQ ID NO：137 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：57 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：66 的氨基酸序列；并且所述的 CD3-VH 包含 SEQ ID NO：136 或 138 的氨基酸序列，和所述的 CD3-VL 包含 SEQ ID NO：137 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：57 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：67 的氨基酸序列；并且所述的 CD3-VH 包含 SEQ ID NO：136 或 138 的氨基酸序列，和所述的 CD3-VL 包含 SEQ ID NO：137 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述的 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：91 的氨基酸序列，和所述的 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：87 的氨基酸序列；并且所述的 CD3-VH 包含 SEQ ID NO：136 或 138 的氨基酸序列，和所述的 CD3-VL 包含 SEQ ID NO：137 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述的 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：81 的氨基酸序列，和所述的 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：77 的氨基酸序列；并且所述的 CD3-VH 包含 SEQ ID NO：136 或 138 的氨基酸序列，和所述的 CD3-VL 包含 SEQ ID NO：137 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述的 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：109 的氨基酸序列，和所述的 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：100 的氨基酸序列；并且所述的 CD3-VH 包含 SEQ ID NO：136 或 138 的氨基酸序列，和所述的 CD3-VL 包含 SEQ ID NO：137 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中：

所述的 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：54 的氨基酸序列，和所述的 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：63 的氨基酸序列；并且所述的 CD3-VH 包含 SEQ ID NO：136 的氨基酸序列，和所述的 CD3-VL 包含 SEQ ID NO：137 的氨基酸序列；

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述的连接子 5、连接子 6、连接子 7 和连接子 8 均为本领域已知的肽连接子，只要抗原结合分子能够展现出期望的抗原结合活性。例如，肽连接子可以是包含 1-50 或 3-20 个氨基酸残基的柔性肽。在一些实施方案中，所述肽连接子的长度为 1-15 个氨基酸残基。在一些实施方案中，所述连接子 5 具有(GGGS)nGm 的结构，其中 n 是 1-5，优选为 1、2 或 3；m 为 1-10，优选为 4、5、6、7 或 8。在一些实施方案中，所述连接子 5 的序列为 GGGSGGGG（SEQ ID NO：149）。在一些实施方案中，所述连接子连接子 6 和连接子 8 具有 Gm 的结构，其中 m 为 1-5，优选为 1、2 或 3。在一些实施方案中，连接子 6 和连接子 8 的序列为 G（SEQ ID NO：150）。在一些实施方案中，所述连接子 7 具有(GGGGS)nGm 的结构，其中 n 是 1-5，优选为 1、2 或 3；m 为 1-10，优选为 4、5、6、7 或 8。在一些实施方案中，连接子 7 的序列为 GGGGSGGGG（SEQ ID NO：151）。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述抗原结合分子具有：

一条包含 SEQ ID NO：185 的氨基酸序列的第一链和一条包含 SEQ ID NO：162 的氨基酸序列的第二链；或

一条包含 SEQ ID NO：161 的氨基酸序列的第一链和一条包含 SEQ ID NO：162 的氨基酸序列的第二链；或

一条包含 SEQ ID NO：163 的氨基酸序列的第一链和一条包含 SEQ ID NO：162 的氨基酸序列的第二链；或

一条包含 SEQ ID NO：259 的氨基酸序列的第一链和一条包含 SEQ ID NO：162 的氨基酸序列的第二链；或

一条包含 SEQ ID NO：260 的氨基酸序列的第一链和一条包含 SEQ ID NO：162 的氨基酸序列的第二链；或

一条包含 SEQ ID NO：168 的氨基酸序列的第一链和一条包含 SEQ ID NO：169 的氨基酸序列的第二链；或

一条包含 SEQ ID NO：170 的氨基酸序列的第一链和一条包含 SEQ ID NO：169 的氨基酸序列的第二链；或

一条包含 SEQ ID NO：175 的氨基酸序列的第一链和一条包含 SEQ ID NO：176 的氨基酸序列的第二链；或

一条包含 SEQ ID NO：177 的氨基酸序列的第一链和一条包含 SEQ ID NO：176 的氨基酸序列的第二链；或

一条包含 SEQ ID NO：182 的氨基酸序列的第一链和一条包含 SEQ ID NO：183 的氨基酸序列的第二链；或

一条包含 SEQ ID NO：184 的氨基酸序列的第一链和一条包含 SEQ ID NO：183 的氨基酸序列的第二链；或

一条包含 SEQ ID NO：186 的氨基酸序列的第一链和一条包含 SEQ ID NO：162 的氨基酸序列的第二链；或

一条包含 SEQ ID NO：187 的氨基酸序列的第一链和一条包含 SEQ ID NO：188 的氨基酸序列的第二链；或

一条包含 SEQ ID NO：187 的氨基酸序列的第一链和一条包含 SEQ ID NO：189 的氨基酸序列的第二链；或

一条包含 SEQ ID NO：190 的氨基酸序列的第一链和一条包含 SEQ ID NO：188 的氨基酸序列的第二链；或

一条包含 SEQ ID NO：190 的氨基酸序列的第一链和一条包含 SEQ ID NO：189 的氨基酸序列的第二链；或

一条包含 SEQ ID NO：191 的氨基酸序列的第一链和一条包含 SEQ ID NO：188 的氨基酸序列的第二链；或

一条包含 SEQ ID NO：191 的氨基酸序列的第一链和一条包含 SEQ ID NO：189 的氨基酸序列的第二链。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述抗原结合分子具有：

一条包含 SEQ ID NO：185 的氨基酸序列的第一链和一条包含 SEQ ID NO：162 的氨基酸序列的第二链。

在另一方面，本披露还提供一种抗 DLL3 抗体，其能够特异性结合 DLL3，所述的抗 DLL3 抗体包含重链可变区 DLL3-VH 和轻链可变区 DLL3-VL，其中：

(i) 所述 DLL3-VH 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 分别包含 SEQ ID NO：12、56 或 57 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 分别包含 SEQ ID NO：13、63、64、65、66 或 67 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 的氨基酸序列，或

(ii) 所述 DLL3-VH 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 分别包含 SEQ ID NO：14、79、80、81 或 82 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2

和 DLL3-LCDR3 分别包含 SEQ ID NO：15 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 的氨基酸序列，或

(iii) 所述 DLL3-VH 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 分别包含 SEQ ID NO：16、91、92、93 或 94 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 分别包含 SEQ ID NO：17 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 的氨基酸序列，或

(iv) 所述 DLL3-VH 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 分别包含 SEQ ID NO：18、107、108、109、110、112、113、114 或 115 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 分别包含 SEQ ID NO：19 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

(i) 所述 DLL3-VH 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 分别包含 SEQ ID NO：12 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 分别包含 SEQ ID NO：13 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 的氨基酸序列，或

所述 DLL3-VH 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 分别包含 SEQ ID NO：54 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 分别包含 SEQ ID NO：64 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 分别包含 SEQ ID NO：54 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 分别包含 SEQ ID NO：63 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 分别包含 SEQ ID NO：56 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 分别包含 SEQ ID NO：65 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 分别包含 SEQ ID NO：56 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 分别包

含 SEQ ID NO：66 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 分别包含 SEQ ID NO：56 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 分别包含 SEQ ID NO：67 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 分别包含 SEQ ID NO：57 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 分别包含 SEQ ID NO：65 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 分别包含 SEQ ID NO：57 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 分别包含 SEQ ID NO：66 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 分别包含 SEQ ID NO：57 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 分别包含 SEQ ID NO：67 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 的氨基酸序列；或

(ii) 所述 DLL3-VH 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 分别包含 SEQ ID NO：14 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 分别包含 SEQ ID NO：15 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 的氨基酸序列，或

所述 DLL3-VH 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 分别包含 SEQ ID NO：81 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 分别包含 SEQ ID NO：77 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 的氨基酸序列，或

所述 DLL3-VH 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 分别包含 SEQ ID NO：79、80 或 82 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3

分别包含 SEQ ID NO：77 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 的氨基酸序列；或

(iii) 所述 DLL3-VH 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 分别包含 SEQ ID NO：16 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 分别包含 SEQ ID NO：17 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 分别包含 SEQ ID NO：91 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 分别包含 SEQ ID NO：87 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 分别包含 SEQ ID NO：92、93 或 94 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 分别包含 SEQ ID NO：87 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 的氨基酸序列；或

(iv) 所述 DLL3-VH 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 分别包含 SEQ ID NO：18 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 分别包含 SEQ ID NO：19 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 分别包含 SEQ ID NO：109 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 分别包含 SEQ ID NO：100 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 分别包含 SEQ ID NO：107、108、110、112、113、114 或 115 中的 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2 和 DLL3-HCDR3 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 分别包含 SEQ ID NO：100 中的 DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 的氨基酸序列。

在一些实施方案中，所述 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2、DLL3-HCDR3、DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 根据 Kabat、IMGT、Chothia、AbM 或 Contact 编号规则定义。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：69 或 70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：24 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21、69 或 70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：71 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21、69 或 70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：72 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21、69 或 70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：73 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21、69 或 70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：71 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：74 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21、69 或 70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：72 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：74 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21、69 或 70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：73 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：74 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

ii) 所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：26 或 84 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：27 或 85 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：28 或 83 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：29 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：30 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：31 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

iii) 所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：32、96、97、98 或 99 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：33 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：34 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：35 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：36 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

iv) 所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：37、117、118、119 或 120 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：38 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：39 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：35 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：40 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

i) 所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：69 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：24 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：24 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21、69 或 70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：71 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21、69 或 70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23

的氨基酸序列的DLL3-LCDR1，包含SEQ ID NO：72的氨基酸序列的DLL3-LCDR2，和包含SEQ ID NO：25的氨基酸序列的DLL3-LCDR3；或

所述DLL3-VH具有：包含SEQ ID NO：20的氨基酸序列的DLL3-HCDR1，包含SEQ ID NO：21、69或70的氨基酸序列的DLL3-HCDR2和包含SEQ ID NO：22的氨基酸序列的DLL3-HCDR3；和所述DLL3-VL具有：包含SEQ ID NO：23的氨基酸序列的DLL3-LCDR1，包含SEQ ID NO：71的氨基酸序列的DLL3-LCDR2，和包含SEQ ID NO：74的氨基酸序列的DLL3-LCDR3；或

所述DLL3-VH具有：包含SEQ ID NO：20的氨基酸序列的DLL3-HCDR1，包含SEQ ID NO：21、69或70的氨基酸序列的DLL3-HCDR2和包含SEQ ID NO：22的氨基酸序列的DLL3-HCDR3；和所述DLL3-VL具有：包含SEQ ID NO：23的氨基酸序列的DLL3-LCDR1，包含SEQ ID NO：73的氨基酸序列的DLL3-LCDR2，和包含SEQ ID NO：74的氨基酸序列的DLL3-LCDR3；或

所述DLL3-VH具有：包含SEQ ID NO：20的氨基酸序列的DLL3-HCDR1，包含SEQ ID NO：21、69或70的氨基酸序列的DLL3-HCDR2和包含SEQ ID NO：22的氨基酸序列的DLL3-HCDR3；和所述DLL3-VL具有：包含SEQ ID NO：23的氨基酸序列的DLL3-LCDR1，包含SEQ ID NO：73的氨基酸序列的DLL3-LCDR2，和包含SEQ ID NO：25的氨基酸序列的DLL3-LCDR3；或

所述DLL3-VH具有：包含SEQ ID NO：20的氨基酸序列的DLL3-HCDR1，包含SEQ ID NO：21、69或70的氨基酸序列的DLL3-HCDR2和包含SEQ ID NO：22的氨基酸序列的DLL3-HCDR3；和所述DLL3-VL具有：包含SEQ ID NO：23的氨基酸序列的DLL3-LCDR1，包含SEQ ID NO：72的氨基酸序列的DLL3-LCDR2，和包含SEQ ID NO：74的氨基酸序列的DLL3-LCDR3；或

所述DLL3-VH具有：包含SEQ ID NO：20的氨基酸序列的DLL3-HCDR1，包含SEQ ID NO：21、69或70的氨基酸序列的DLL3-HCDR2和包含SEQ ID NO：22的氨基酸序列的DLL3-HCDR3；和所述DLL3-VL具有：包含SEQ ID NO：23的氨基酸序列的DLL3-LCDR1，包含SEQ ID NO：73的氨基酸序列的DLL3-LCDR2，和包含SEQ ID NO：74的氨基酸序列的DLL3-LCDR3。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗DLL3抗体，其中：

i) 所述DLL3-VH具有：包含SEQ ID NO：20的氨基酸序列的DLL3-HCDR1，包含SEQ ID NO：21的氨基酸序列的DLL3-HCDR2，和包含SEQ ID NO：22的氨基酸序列的DLL3-HCDR3；和所述DLL3-VL具有：包含SEQ ID NO：23的氨基酸序列的DLL3-LCDR1，包含SEQ ID NO：71的氨基酸序列的DLL3-LCDR2，和包含SEQ ID NO：25的氨基酸序列的DLL3-LCDR3；或

所述DLL3-VH具有：包含SEQ ID NO：20的氨基酸序列的DLL3-HCDR1，包含SEQ ID NO：21的氨基酸序列的DLL3-HCDR2，和包含SEQ ID NO：22的氨基酸序列的DLL3-HCDR3；和所述DLL3-VL具有：包含SEQ ID NO：23的氨

基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：24 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：72 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：69 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：71 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：74 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：71 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：74 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：69 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：73 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：74 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：73 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：74 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：69 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：71 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨

基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：71 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

ii) 所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：26 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：85 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：83 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：29 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：30 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：31 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：26 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：27 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：83 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：29 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：30 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：31 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：84 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：27 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：83 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：29 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：30 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：31 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：84 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：85 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：83 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：29 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：30 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：31 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：26 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：27 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：28 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：29 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：30 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：31 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

iii) 所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：96 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：33 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：34 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：35 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：36 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

iv) 所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：119 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：38 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：39 的氨

基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：35 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：40 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：71 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：24 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：26 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：85 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：83 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：29 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：30 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：31 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：96 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：33 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：34 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：35 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：36 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：119 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：38 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：39 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：35 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：40 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，所述 DLL3-HCDR1、DLL3-HCDR2、DLL3-HCDR3、DLL3-LCDR1、DLL3-LCDR2 和 DLL3-LCDR3 是根据 Kabat 编号规则定义的。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其在 25°C 条件下以小于 4×10^{-9}M、3×10^{-9}M、2×10^{-9}M、1×10^{-9}M、9×10^{-10}M、8×10^{-10}M、7×10^{-10}M、6×10^{-10}M、5×10^{-10}M、4×10^{-10}M、3×10^{-10}M、2×10^{-10}M、1×10^{-10}M、9×10^{-11}M 的 KD 结合人 DLL3，所述 KD 是通过表面等离子体共振法测量的。

在一些实施方式中，如前所述的抗 DLL3 抗体，其中：

(i) 所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21、69 或 70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3，且所述 DLL3-VH 的 FR 区包含选自 1E、5Q、27Y、30T、38K、43K、48I、67A、68A、69L、71V、73K、75S、76N 和 93A 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；和

所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：24、71、72 或 73 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 或 74 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 1N、36L、42K、43S、44F、46G、69A、71Y、79Q 和 85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；或

(ii) 所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：26 或 84 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：27 或 85 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：28 或 83 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和

所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：29 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：30 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：31 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 42G、44V 和 71Y 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；或

(iii) 所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：32、96、97、98 或 99 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：33 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3，且所述 DLL3-VH 的 FR 区包含选自 1E、24T、44S、71V 和 73K 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；和

所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：34 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：35 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：36 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 1N、9K、43S、68A 和 85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；或

(iv) 所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：37、117、118、119 或 120 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：38 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3，且所述 DLL3-VH 的 FR 区包含选自 1E、3R、5Q、7F、9P、10V、12V、40S、41H、44S、48I、67A、69L、71V、73K、75S 和 83T 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；和

所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：39 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：35 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：40 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 9K、43S、60D、68A、87H 和 100S 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗原结合分子，其在 25°C 条件下以小于 4×10^{-9}M、3×10^{-9}M、2×10^{-9}M、1×10^{-9}M、9×10^{-10}M、8×10^{-10}M、7×10^{-10}M、6×10^{-10}M、5×10^{-10}M、4×10^{-10}M、3×10^{-10}M、2×10^{-10}M、1×10^{-10}M、9×10^{-11}M 的 KD 结合人 DLL3，所述 KD 是通过表面等离子体共振法测量的。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3，且所述 DLL3-VH 的 FR 区包含选自 1E、5Q、27Y、30T、38K、43K、48I、67A、68A、69L、71V、73K、75S、76N 和 93A 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：24 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 1N、36L、42K、43S、44F、46G、69A、71Y、79Q 和 85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：69 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3，且所述 DLL3-VH 的 FR 区包含选自 1E、5Q、27Y、30T、38K、43K、48I、67A、68A、69L、71V、73K、75S、76N 和 93A 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：24 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 1N、36L、42K、43S、44F、46G、69A、71Y、79Q 和 85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3，且所述 DLL3-VH 的 FR 区包含选自 1E、5Q、27Y、30T、38K、43K、48I、67A、68A、69L、71V、73K、75S、76N 和 93A 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：24 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 1N、36L、42K、43S、44F、46G、69A、71Y、79Q 和 85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO:21、69 或 70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3，且所述 DLL3-VH 的 FR 区包含选自 1E、5Q、27Y、30T、38K、43K、48I、67A、68A、69L、71V、73K、75S、76N 和 93A 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO:71 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 1N、36L、42K、43S、44F、46G、69A、71Y、79Q 和 85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO:21、69 或 70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3，且所述 DLL3-VH 的 FR 区包含选自 1E、5Q、27Y、30T、38K、43K、48I、67A、68A、69L、71V、73K、75S、76N 和 93A 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO:72 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 1N、36L、42K、43S、44F、46G、69A、71Y、79Q 和 85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO:21、69 或 70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3，且所述 DLL3-VH 的 FR 区包含选自 1E、5Q、27Y、30T、38K、43K、48I、67A、68A、69L、71V、73K、75S、76N 和 93A 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO:73 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 1N、36L、42K、43S、44F、46G、69A、71Y、79Q 和 85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO:21、69 或 70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3，且所述 DLL3-VH 的 FR 区包含选自 1E、5Q、27Y、30T、38K、43K、48I、67A、68A、69L、71V、73K、75S、76N 和 93A 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO:71 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：74 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 1N、36L、42K、43S、44F、46G、69A、71Y、79Q 和 85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO:21、69 或 70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3，且所述 DLL3-VH 的 FR 区包含选自 1E、5Q、27Y、30T、38K、43K、48I、67A、68A、69L、71V、73K、75S、76N 和 93A 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO:72 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：74 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 1N、36L、42K、43S、44F、46G、69A、71Y、79Q 和 85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO:21、69 或 70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3，且所述 DLL3-VH 的 FR 区包含选自 1E、5Q、27Y、30T、38K、43K、48I、67A、68A、69L、71V、73K、75S、76N 和 93A 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO:73 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：74 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 1N、36L、42K、43S、44F、46G、69A、71Y、79Q 和 85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3，且所述 DLL3-VH 的 FR 区包含选自 1E、5Q、27Y、30T、38K、43K、48I、67A、68A、69L、71V、73K、75S、76N 和 93A 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：71 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 1N、36L、42K、43S、44F、46G、69A、71Y、79Q 和 85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3，且所述 DLL3-VH 的 FR 区包含选自 1E、5Q、27Y、30T、38K、43K、48I、67A、68A、69L、71V、73K、75S、76N 和 93A 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：72 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR

区包含选自 1N、36L、42K、43S、44F、46G、69A、71Y、79Q 和 85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：69 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3，且所述 DLL3-VH 的 FR 区包含选自 1E、5Q、27Y、30T、38K、43K、48I、67A、68A、69L、71V、73K、75S、76N 和 93A 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：71 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：74 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 1N、36L、42K、43S、44F、46G、69A、71Y、79Q 和 85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3，且所述 DLL3-VH 的 FR 区包含选自 1E、5Q、27Y、30T、38K、43K、48I、67A、68A、69L、71V、73K、75S、76N 和 93A 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：71 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：74 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 1N、36L、42K、43S、44F、46G、69A、71Y、79Q 和 85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：69 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3，且所述 DLL3-VH 的 FR 区包含选自 1E、5Q、27Y、30T、38K、43K、48I、67A、68A、69L、71V、73K、75S、76N 和 93A 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：73 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：74 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 1N、36L、42K、43S、44F、46G、69A、71Y、79Q 和 85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3，且所述 DLL3-VH 的 FR 区包含选自 1E、5Q、27Y、30T、38K、43K、48I、67A、68A、69L、71V、73K、75S、76N 和 93A 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：73 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：74 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR

区包含选自 1N、36L、42K、43S、44F、46G、69A、71Y、79Q 和 85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：69 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3，且所述 DLL3-VH 的 FR 区包含选自 1E、5Q、27Y、30T、38K、43K、48I、67A、68A、69L、71V、73K、75S、76N 和 93A 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：71 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 1N、36L、42K、43S、44F、46G、69A、71Y、79Q 和 85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3，且所述 DLL3-VH 的 FR 区包含选自 1E、5Q、27Y、30T、38K、43K、48I、67A、68A、69L、71V、73K、75S、76N 和 93A 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：71 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 1N、36L、42K、43S、44F、46G、69A、71Y、79Q 和 85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：26 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：85 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：83 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：29 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：30 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：31 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 42G、44V 和 71Y 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：26 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：27 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：83 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：29 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：30 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：31 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 42G、44V 和 71Y 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：84 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：85 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：83 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：29 的氨

基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：30 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：31 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 42G、44V 和 71Y 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：26 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：27 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：28 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：29 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：30 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：31 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3，且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 42G、44V 和 71Y 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：96 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：33 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3，且所述 DLL3-VH 的 FR 区包含选自 1E、24T、44S、71V 和 73K 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：34 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：35 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：36 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3 且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 1N、9K、43S、68A 和 85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：119 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：38 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3，且所述 DLL3-VH 的 FR 区包含选自 1E、3R、5Q、7F、9P、10V、12V、40S、41H、44S、48I、67A、69L、71V、73K、75S 和 83T 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：39 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：35 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：40 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3 且所述 DLL3-VL 的 FR 区包含选自 9K、43S、60D、68A、87H 和 100S 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：50 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：50 的 FR 区包含选自 Q1E、Q43K、M48I、V67A、I69L、R71V、T73K 和 S76N 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：51 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：51 的 FR 区包含选自 Q1E、5Q、R38K、V68A、F69L、L71V、T73K、V75S 和 S76N 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：52 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：52 的 FR 区包含选自 F27Y、S30T、I69L、R71V、D73K 和 T93A 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：62 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：62 的 FR 区包含选自 F36L、A43S、P44F、S46G、T69A、F71Y 和 T85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：68 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：68 的 FR 区包含选自 Y36L、Q42K、L46G、T69A、F71Y、E79Q 和 V85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：78 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：78 的 FR 区包含一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：75 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：75 的 FR 区包含选自 K42G、P44V 和 F71Y 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：95 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：95 的 FR 区包含选自 Q1E、A24T、R44S、R71V 和 T73K 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：88 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：88 的 FR 区包含选自 D1N、D9K、P43S、G68A 和 V85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：116 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：116 的 FR 区包含选自 Q1E、Q3R、V5Q、S7F、A9P、E10V、K12V、A40S、P41H、R44S、M48I、V67A、I69L、R71V、T73K、A75S 和 R83T 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：100 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：100 的 FR 区包含选自 D9K、P43S、G68A、和 Y87H 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：103 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：103 的 FR 区包含选自 A43S、S60D 和 Q100S 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：56 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：56 的 FR 区包含一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：57 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：57 的 FR 包含区一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：63 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：63 的 FR 区包含一个或多个氨基酸取代；在一些实施方案中，所述的氨基酸取代选自 A43S 和 P44F 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：64 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：64 的 FR 区包含一个或多个氨基酸取代；在一些实施方案中，所述的氨基酸取代选自 A43S 和 P44F 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：65 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：65 的 FR 区包含一个或多个氨基酸取代；在一些实施方案中，所述的氨基酸取代选自 A43S 和 P44F 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：66 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：66 的 FR 区包含一个或多个氨基酸取代；在一些实施方案中，所述的氨基酸取代选自 A43S 和 P44F 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：67 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：67 的 FR 区包含一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：79、80、81 或 82 的氨基酸序列，或 SEQ ID NO：79、80、81 或 82 的变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：79、80、81 或 82 的 FR 区包含一个或多个氨基酸取代；和

所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：75 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：75 的 FR 区包含选自 K42G、P44V 和 F71Y 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：91、92、93 或 94 的氨基酸序列，或 SEQ ID NO：91、92、93 或 94 的变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：91、92、93 或 94 的 FR 区包含一个或多个氨基酸取代；和

所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：88 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：88 的 FR 区包含选自 D1N、D9K、P43S、G68A 和 V85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：107、108、109 或 110 的氨基酸序列，或 SEQ ID NO：107、108、109 或 110 的变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：107、108、109 或 110 的 FR 区包含一个或多个氨基酸取代；在一些实施方案中，所述的氨基酸取代选自 V5Q、S7F、A9P、E10V、K12V、A40S、P41H、M48I、V67A、A75S 和 R83T 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：112 的氨基酸序列，或 SEQ ID NO：112 的变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：112 的 FR 区包含一个或多个氨基酸取代；在一些实施方案中，所述的氨基酸取代选自 V5Q、A9P、K12V、A40S、P41H、4M8I、V67A 和 R83T 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：113 的氨基酸序列，或 SEQ ID NO：113 的变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：113 的 FR 区包含一个或多个氨基酸取代；在一些实施方案中，所述的氨基酸取代选自 V5Q、S7F、A9P、E10V、K12V、A40S、P41H、A75S 和 R83T 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：114 的氨基酸序列，或 SEQ ID NO：114 的变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：114 的 FR 区包含一个或多个氨基酸取代；在一些实施方案中，所述的氨基酸取代选自 V5Q、S7F、A9P、E10V、K12V、M48I、V67A、A75S 和 R83T 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：115 的氨基酸序列，或 SEQ ID NO：115 的变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：115 的 FR 区包含一个或多个氨基酸取代；在一些实施方案中，所述的氨基酸取代选自 V5Q、A9P、K12V、A40S、P41H、M48I 和 V67A 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：100 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：100 的 FR 区包含选自 D9K、P43S、G68A、和 Y87H 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：103 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：103 的 FR 区包含选自 A43S、S60D 和 Q100S 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

i) 所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56 或 57 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：63、64、65、66 或 67 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：56 或 57 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：58、59、60、61、62、63、64、65、66、67 或 68 的氨基酸序列；或

ii) 所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：78、79、80、81 或 82 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：75、76 或 77 的氨基酸序列；或

iii) 所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：89、90、91、92、93、94 或 95 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：86、87 或 88 的氨基酸序列；或

iv) 所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115 或 116 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：100、101、102、103 或 104 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO:43、44 或 45 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：58、59 或 60 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：47、48、49、53、54 或 55 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：59 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO:43、44 或 45 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：60 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO： 46、48、53、54 或 55 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：61 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：54 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：63 或 64 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：56 或 57 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：65、 66 或 67 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如任一项前所述的抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：78 或 79 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：75、76 或 77 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：78、79、80、81 或 82 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：77 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：89、90、91、92、93 或 94 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：86 或 87 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：95 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：87 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：105、106、107、108、109、110 或 111 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：100、101 或 102 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：112、113、114 或 115 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：100、103 或 104 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：109 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：103 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

i) 所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：54 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：63 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：54 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：61 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：54 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：64 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：56 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：65 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：56 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：66 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：56 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：67 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：57 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：65 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：57 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：66 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：57 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：67 的氨基酸序列；或

ii) 所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：81 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：77 的氨基酸序列；或

iii) 所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：91 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：87 的氨基酸序列；或

iv) 所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：109 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：100 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前所述的抗 DLL3 抗体，其中：

i) 所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：12 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：13 的氨基酸序列；或

ii) 所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：14 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：15 的氨基酸序列；或

iii) 所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：16 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：17 的氨基酸序列；或

iv) 所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：18 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：19 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：54 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：63 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：54 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：61 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：81 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：77 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：91 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：87 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：109 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：100 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中所述的抗 DLL3 抗体是抗体片段。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中所述的抗体片段为 Fab、Fab'、F(ab')2、Fd、Fv、scFv、dsFv 或 dAb。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中所述的抗 DLL3 抗体包含重链恒定区和轻链恒定区。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中所述重链恒定区为人 IgG 的重链恒定区。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中所述轻链恒定区为人 κ 或 λ 的轻链恒定区。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中所述重链恒定区为人 IgG1 的重链恒定区。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中所述轻链恒定区为人 κ 的轻链恒定区。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中所述重链恒定区包含如 SEQ ID NO：41 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中所述轻链恒定区包含如 SEQ ID NO：42 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中所述的抗 DLL3 抗体包含重链和轻链，其中：

所述重链包含与 SEQ ID NO：121 具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%序列同一性的氨基酸序列，和所述轻链包含与 SEQ ID NO：122 具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%序列同一性的氨基酸序列；或

所述重链包含与 SEQ ID NO：123 具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%序列同一性的氨基酸序列，和所述轻链包含与 SEQ ID NO：124 具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%序列同一性的氨基酸序列；或

所述重链包含与 SEQ ID NO：125 具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%序列同一性的氨基酸序列，和所述轻链包含与 SEQ ID NO：126 具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%序列同一性的氨基酸序列；或

所述重链包含与 SEQ ID NO：127 具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%序列同一性的氨基酸序列，和所述轻链包含与 SEQ ID NO：128 具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%同一性的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中所述的抗 DLL3 抗体包含重链和轻链，其中：

所述重链包含 SEQ ID NO：121 的氨基酸序列，和所述轻链包含 SEQ ID NO：122 的氨基酸序列；或

所述重链包含 SEQ ID NO：123 的氨基酸序列，和所述轻链包含 SEQ ID NO：124 的氨基酸序列；

所述重链包含 SEQ ID NO：125 的氨基酸序列，和所述轻链包含 SEQ ID NO：126 的氨基酸序列；或

所述重链包含 SEQ ID NO：127 的氨基酸序列，和所述轻链包含 SEQ ID NO：128 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中所述的抗 DLL3 抗体包含重链和轻链，其中所述重链包含与 SEQ ID NO：121 的氨基酸序列，和所述轻链包含与 SEQ ID NO：122 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中所述的抗 DLL3 抗体包含重链和轻链，其中所述重链包含与 SEQ ID NO：125 的氨基酸序列，和所述轻链包含与 SEQ ID NO：126 的氨基酸序列。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中所述的抗 DLL3 抗体是双特异性抗体。

在一些实施方式中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中所述的抗 DLL3 抗体是双特异性抗体，所述双特异性抗体特异性结合 DLL3 和 CD3。

在另一个方面，本披露提供了一种药物组合物，其含有：治疗有效量的前述任一项所述的抗原结合分子或前述任一项所述的抗 DLL3 抗体，以及一种或更多种药学上可接受的载体、稀释剂、缓冲剂或赋形剂。在一些实施方案中，所述的药物组合物中还包含至少一种第二治疗剂。在一个实施例中，所述第二治疗剂是有利地与CD3/DLL3双特异性抗原结合分子组合的任何药剂。在一些实施方案中，所述第二治疗剂是能够特异性结合 CD28 的抗体。在一些实施方案中，所述第二治疗剂是能够特异性结合 CD28 和肿瘤细胞表面抗原（TAA）的双特异性抗体。在一些实施方案中，所述第二治疗剂是能够特异性结合 CD28 和 DLL3 的双特异性的抗体。

在另一个方面，本披露还提供分离的核酸，其编码前述任一项所述的抗原结合分子或前述任一项所述的抗 DLL3 抗体。

在另一个方面，本披露还提供载体，其包含前述的分离的核酸。

在另一个方面，本披露还提供一种宿主细胞，其包含前述的分离的核酸或载体。

在另一个方面，本披露还提供一种治疗肿瘤或癌症的方法，所述方法包括向受试者施用治疗有效量的前述任一项所述的抗原结合分子或前述任一项所述的抗DLL3 抗体或如前任一项所述的药物组合物。

在另一个方面，本披露还提供前述任一项所述的抗原结合分子或前述任一项所述的抗体或前述任一项所述的药物组合物在制备治疗肿瘤或癌症的药物中的用途。

在另一个方面，本披露还提供用作药物的前述任一项所述的抗原结合分子或前述任一项所述的抗 DLL3 抗体或如前任一项所述的药物组合物。在一些实施方案中，所述药物用于治疗肿瘤或癌症。

在一些实施方式中，如前任一项所述的肿瘤或癌症选自：头和颈鳞状细胞癌、头和颈癌、脑癌、神经胶质瘤、多形性成胶质细胞瘤、神经母细胞瘤、中枢神经系统癌、神经内分泌肿瘤、咽喉癌、咽鳞癌、口腔鳞癌、鼻咽癌、食管癌、甲状腺癌、恶性胸膜间皮瘤、肺癌、乳腺癌、肝癌、肝胆癌、胰腺癌、胃癌、胃肠道癌、肠癌、结肠癌、结肠直肠癌、肾癌、透明细胞肾细胞癌、卵巢癌、子宫内膜癌、子宫颈癌、膀胱癌、前列腺癌、睾丸癌、皮肤癌、黑色素瘤、大细胞肺癌、三阴性乳腺癌、淋巴瘤和小细胞肺癌。

在一些实施方式中，如前所述的所述的肿瘤或癌症是表达 DLL3 的癌症。

在一些实施方式中，如前所述的肿瘤或癌症是实体瘤。

在一些实施方式中，如前所述的肿瘤或癌症是肺癌。

在一些实施方式中，如前所述的肿瘤或癌症是小细胞肺癌。

在一些实施方案中，如前所述治疗肿瘤或癌症的方法，其进一步包括使用第二治疗剂。在一些实施方案中，所述第二治疗剂包括抗肿瘤药剂、放射疗法、抗体药物缀合物、双特异性抗体、与抗肿瘤药剂缀合的双特异性抗体、免疫检查点抑制剂或其组合。

在一些实施方案中，如前所述治疗肿瘤或癌症的方法，所述第二治疗剂是有利地与 CD3/DLL3 双特异性抗原结合分子组合的任何药剂。在一些实施方案中，所述第二治疗剂是能够特异性结合 CD28 的抗体。在一些实施方案中，所述第二治疗剂是能够特异性结合 CD28 和肿瘤细胞表面抗原（TAA）的双特异性抗体。在一些实施方案中，所述第二治疗剂是能够特异性结合 CD28 和 DLL3 的双特异性的抗体。

在一些实施方案中，如前所述治疗肿瘤或癌症的方法，所述的第二治疗剂与本披露所任一项所述的抗原结合分子同时施用、序贯施用或分开施用。

本披露提供的抗原结合分子，具有治疗活性、安全性、药物代谢动力学特性和成药性（如稳定性）好的特点。

附图说明

图 1A 显示 DLL3-CD3 双特异性抗体的 Format1 的结构示意图，其中 Ob 代表 Obscurin。

图 1B 显示 DLL3-CD3 双特异性抗体的 Format2 的结构示意图。

图 1C 显示 DLL3-CD3 双特异性抗体的 Format3 的结构示意图。

图 2A 显示双特异性抗体与 DLL1 结合的实验结果。结果显示，本披露的 DLL3-CD3 双特异性抗体不结合 DLL1。

图 2B 显示双特异性抗体与 DLL4 结合的实验结果。结果显示，本披露的 DLL3-CD3 双特异性抗体不结合 DLL4。

图 3 显示双特异性抗体对细胞的杀伤作用实验结果。结果显示，本披露的双特异性抗体对不表达 DLL3 的 H460 细胞无杀伤作用。

图 4A 显示双特异性抗体对 T 细胞的激活的实验结果，结果显示本披露的双特异性抗体在表达 DLL3 的 DLL3/H82 细胞存在时，具有明显的激活 T 细胞的作用。

图 4B 显示，当存在不表达 DLL3 的阴性细胞 H460 时，本披露的双特异性抗体不会激活 T 细胞。

图 5A 显示双特异性抗体的细胞因子释放的实验结果，结果显示，在 H1184 细胞存在的情况下，本披露的双特异性抗体刺激 PBMC 细胞分泌的 IFNγ 非常低。

图 5B 显示，在 H1184 细胞存在的情况下，本披露的双特异性抗体刺激 PBMC 细胞分泌的 IL-6 非常低。

具体实施方式

术语

本文所用的术语只是为了描述实施方案的目的，并非旨在进行限制。除非另外定义，本文所用的全部技术术语和科学术语具有与本披露所属领域的普通技术人员通常所理解的相同意义。

除非上下文另外清楚要求，否则在整个说明书和权利要求书中，应将词语“包含”、“具有”、“包括”等理解为具有包含意义，而不是排他性或穷举性意义；也即，“包括但不仅限于”的意义。除非另有说明，“包含”包括了“由……组成”。例如，对于包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，其明确的涵盖氨基酸序列如 SEQ ID NO：20 所示的 DLL3-HCDR1。

本披露所用氨基酸三字母代码和单字母代码如 *J.biol.chem*，243，p3558（1968）中所述。

术语“和/或”，例如“X 和/或 Y”应当理解为意指“X 和 Y”或“X 或 Y”并且应当被用来提供对两种含义或任一含义的明确支持。

除非被指定为来自非人物种(例如，“小鼠 CD3”、“小鼠 CD3 片段”、“猴 CD3”、“猴 CD3 片段”等)，否则如本文使用的“CD3”和“CD3 片段”是指众所周知的人 CD3 蛋白或其片段。

术语“氨基酸”是指天然存在的和合成的氨基酸，以及以与天然存在的氨基酸类似的方式起作用的氨基酸类似物和氨基酸模拟物。天然存在的氨基酸是由遗传密码编码的那些氨基酸，以及后来修饰的那些氨基酸，例如羟脯氨酸、γ-羧基谷氨酸和 O-磷酸丝氨酸。氨基酸类似物是指与天然存在的氨基酸具有相同基本化学结构（即与氢、羧基、氨基和 R 基团结合的 α 碳）的化合物，例如高丝氨酸、正亮氨酸、甲硫氨酸亚砜、甲硫氨酸甲基锍。此类类似物具有修饰的 R 基团（例如，正亮氨酸）或修饰的肽骨架，但保留与天然存在的氨基酸相同的基本化学结构。氨基酸模拟物是指具有与氨基酸的一般化学结构不同的结构，但是以与天然存在的氨基酸类似的方式起作用的化学化合物。

术语“氨基酸突变”包括氨基酸取代，缺失，插入和修饰。可以进行取代、缺失、插入和修饰的任意组合来实现最终构建体，只要最终构建体拥有期望的特性，例如降低或对 Fc 受体的结合。氨基酸序列缺失和插入包括在多肽链的氨基端和/或羧基端的缺失和插入。具体的氨基酸突变可以是氨基酸取代。在一个实施方式中，氨基酸突变是非保守性的氨基酸取代，即将一个氨基酸用具有不同结构和/或化学特性的另一种氨基酸替换。氨基酸取代包括由非天然存在的氨基酸或由 20 种天然氨基酸的衍生物（例如 4-羟脯氨酸、3-甲基组氨酸、鸟氨酸、高丝氨酸、5-羟赖氨酸）替换。可以使用本领域中公知的遗传或化学方法生成氨基酸突变。遗传方法可以包括定点诱变、PCR，基因合成等。预计基因工程以外的改变氨基酸侧链基团的方法，如化学修饰也是可用的。本文中可使用各种名称来指示同一氨基酸突变。本文中，可采用位置+氨基酸残基的方式表示特定位点的氨基酸残基，例如 366W，则表示在 366 位点上的氨基酸残基为 W。T366W 则表示第 366 位点上的氨基酸残基由原来的 T 突变为了 W。

术语“抗原结合分子”以最广义使用，涵盖各种特异性结合抗原的分子，包括但不限于抗体、其他具有抗原结合活性的多肽以及两者融合而成的抗体融合蛋白，只要它们展现出期望的抗原结合活性。本文的抗原结合分子包含可变区（VH）和可变区（VL），其共同构成抗原结合域。示例性的，本文中的抗原结合分子是双特异性抗原结合分子（例如：双特异性抗体）。

术语“抗体”以最广义使用，并且涵盖各种抗体结构，包括但不限于单克隆抗体，多克隆抗体；单特异性抗体，多特异性抗体（例如双特异性抗体），全长抗体和抗体片段（或抗原结合片段，或抗体片段，或抗原结合部分），只要它们展现出期望的抗原结合活性。根据上下文，技术人员能够确定“抗体”所指的具体含义。

“天然抗体”指天然存在的免疫球蛋白分子。例如，天然 IgG 抗体是约 150000 道尔顿的异四聚糖蛋白，由二硫键结合的两条轻链和两条重链构成。从 N 至 C 端，每条重链具有一个可变区（VH，又称作可变重域、重链可变区），接着是三个恒定域（CH1、CH2 和 CH3）。类似地，从 N 至 C 端，每条轻链具有一个可变区（VL，又称作可变轻域，或轻链可变域），接着是一个恒定轻域（轻链恒定区、CL）。术语“全长抗体”、“完整抗体”和“全抗体”在本文可互换使用，指具有与天然抗体结构基本类似的结构或具有含有如本文所限定的 Fc 区的重链的抗体。

术语“双特异性抗体”指能够对两个不同抗原或同一抗原的至少两个不同抗原表位特异性结合的抗体（包括抗体或其抗原结合片段，如单链抗体）。现有技术已公开了各种结构的双特异性抗体，根据 IgG 分子的完整性可分为 IgG 样双特异性抗体和抗体片段型双特异性抗体；根据抗原结合区域的数量，可分为二价、三价、四价或更多价的双特异性抗体，根据结构左右是否对称，可分为对称结构双特异性抗体和不对称结构双特异性抗体。其中，基于抗体片段的双特异性抗体，例如缺乏 Fc 片段的 Fab 片段，其通过将 2 个或多个 Fab 片段结合在一个分子中形成双特异性抗体，其具有较低的免疫原性，且分子量小，具有较高的肿瘤组织渗透性，该类型的典型的抗体结构如 F（ab）2、scFv-Fab、（scFv）2-Fab 等双特异性抗体；IgG 样双特异性抗体（例如具有 Fc 片段），这类抗体相对分子量较大，Fc 片段有助于抗体后期的纯化，并提高其溶解性、稳定性，Fc 部分还可能会与受体 FcRn 结合，增加抗体血清半衰期，典型的双特异性抗体结构模型如 KiH、CrossMAb、Triomab quadroma、FcΔAdp、ART-Ig、BiMAb、Biclonics、BEAT、DuoBody、Azymetric、XmAb、2：1 TCBs、1Fab-IgG TDB、FynomAb、two-in-one/DAF、scFv-Fab-IgG、DART-Fc、LP- DART、CODV-Fab-TL、HLE-BiTE、F(ab)2- CrossMAb、IgG-（scFv）2、Bs4Ab、DVD-Ig、Tetravalent- DART-Fc、（scFv）4-Fc、CODV-Ig、mAb2、F(ab)4- CrossMAb 等双特异性抗体（参见 Aran F. Labrijn 等，Nature Reviews Drug Discovery volume 18，pages585–608（2019）；Chen S1 等，J Immunol Res. 2019 Feb 11；2019：4516041）。

术语“可变区”或“可变域”指抗原结合分子中结合抗原的域。本文中，特异性结合 CD3 的抗原结合模块中的重链可变区标示为 CD3-VH，轻链可变区标示为 CD3-VL；特异性结合 CD3 的抗原结合模块中的重链可变区标示为 CD3-VH，轻链可变区标示为 CD3-VL。VH 和 VL 各包含四个保守的框架区（FR）和三个互补决定区（CDR）。其中，术语“互补决定区”或“CDR”指可变结构域内主要促成与抗原结合的区域；“框架”或“FR”是指除 CDR 残基之外的可变结构域残基。VH 包含 3 个 CDR 区：HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；VL 包含 3 个 CDR 区：LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。本文中，CD3-VH 中的 3 个 CDR 区分别标示为 CD3-HCDR1、CD3-HCDR2 和 CD3-HCDR3；CD3-VL 中的 3 个 CDR 区分别标示为 CD3-LCDR1、CD3-LCDR2 和 CD3-LCDR3；CD3-VH 中的 3 个 CDR 区分别标示为 CD3-HCDR1、

CD3-HCDR2 和 CD3-HCDR3；CD3-VL 中的 3 个 CDR 区分别标示为 CD3-LCDR1、CD3-LCDR2 和 CD3-LCDR3。每个 VH 和 VL 从 N 端到 C 端依次为：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。单个 VH 或 VL 可能足以赋予抗原结合特异性。

可以通过各种公知方案来确定 CDR 的氨基酸序列边界，例如："Kabat"编号规则（参见 Kabat 等（1991），"Sequences of Proteins of Immunological Interest"，第 5 版，Public Health Service，National Institutes of Health，Bethesda，MD）、"Chothia"编号规则、"ABM"编号规则、"contact"编号规则（参见 Martin, ACR. Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains[J]. 2001）和 ImMunoGenTics（IMGT）编号规则（Lefranc， M.P.等，Dev. Comp. Immunol.， 27，55-77（2003）；Front Immunol. 2018 Oct 16;9:2278）等；各种编号系统之间的对应关系是本领域技术人员熟知的。本披露的编号规则如下表 1 中所示。

表 1. CDR 编号系统之间的关系

CDR	IMGT	Kabat	AbM	Chothia	Contact
HCDR1	27-38	31-35	26-35	26-32	30-35
HCDR2	56-65	50-65	50-58	52-56	47-58
HCDR3	105-117	95-102	95-102	95-102	93-101
LCDR1	27-38	24-34	24-34	24-34	30-36
LCDR2	56-65	50-56	50-56	50-56	46-55
LCDR3	105-117	89-97	89-97	89-97	89-96

除非另有说明，本披露实施方案中的可变区和 CDR 序列均适用"Kabat"编号规则。

术语"抗体片段"或"抗原结合片段"指不同于完整抗体的分子，其包含完整抗体的部分，所述部分保留了完整抗体的抗原结合能力。抗体片段的实例包括但不限于 Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、$F(ab')_2$、单域抗体、单链 Fab（scFab）、双抗体、线性抗体、单链抗体分子（例如 scFv）；以及由抗体片段形成的多特异性抗体。

术语"Fc 区"或"片段可结晶区"用于定义抗体重链的 C 末端区域，包括天然 Fc 区和改造的 Fc 区。在一些实施方式中，Fc 区包含了相同或不同的两个亚基。在一些实施方式中，人 IgG 重链的 Fc 区定义为从 Cys226 位置处的氨基酸残基或从 Pro230 延伸至其羧基末端。用于本文所述抗体的合适天然序列 Fc 区包括人 IgG1、IgG2（IgG2A、IgG2B）、IgG3 和 IgG4。除非另有说明，Fc 区的编号规则为 EU 索引。

术语"Titin 链"是指 Titin 蛋白中一段长度为 78-118 个氨基酸的包含 Titin Ig-样 152 结构域的肽段或其功能变体，所述 Titin 链能够与 Obscurin Ig-样 1 或 Obscurin-样 Ig-样 1 结构域结合形成二聚化复合物。

术语"Obscurin 链"是指 Obscurin 蛋白上一段长度为 87-117 个氨基酸的包含 Obscurin Ig-样 1 结构域的肽段或其功能变体，或 Obscurin-样 1 蛋白上一段长度为 78-118 个氨基酸的包含 Obscurin-样 Ig-样 1 结构域的肽段或其功能变体。

所述 Obscurin 链能够与 Titin 链结合形成二聚化复合物。本披露的 Titin 链与 Obscurin 链可用于分别替换 Fab 中的 CH1 和 CL，形成经替换的 Fab（Fab-S），该替换不影响抗原结合分子与抗原的结合。

术语“嵌合”抗体指抗体中的重和/或轻链的一部分自特定的来源或物种衍生，而重和/或轻链的剩余部分自不同来源或物种衍生的抗体。

术语“人源化”抗体是保留非人抗体的反应性同时在人中具有较低免疫原性的抗体。例如，可以通过保留非人 CDR 区并用其人对应物（即，恒定区以及可变区的框架区部分）替换抗体的其余部分来实现。

术语“亲和力”是指分子（例如，抗体）的单个结合部位与其结合配体（例如，抗原）之间非共价相互作用的总体的强度。除非另外指明，如本文所用，“结合亲和力”是指内部结合亲和力，其反映出结合对（例如，抗体与抗原）的成员之间 1:1 相互作用。分子 X 对其配体 Y 的亲和力通常可以由平衡解离常数（KD）表示。亲和力可以通过本领域已知的常规方法（包括本文所述的那些）测量。术语“kassoc”或“ka”指特定抗体-抗原相互作用的缔合（association）速率，而如本文所使用的术语“kdis”或“kd”意在是指特定抗体-抗原相互作用的解离速率。如本文所使用的，术语“KD”指平衡解离常数，其获得自 kd 与 ka 的比率（即 kd/ka）并且表示为摩尔浓度（M）。可以使用本领域已知的方法测定抗体的 KD 值，例如表面等离子体共振法、ELISA 或溶液平衡滴定法（SET）。

术语“单克隆抗体”指基本上均质的抗体的群，即在该群中包含的抗体分子的氨基酸序列是相同的，除了可能少量存在的天然突变以外。相比之下，多克隆抗体制剂通常包含在其可变结构域具有不同氨基酸序列的多种不同抗体，其通常特异性针对不同表位。在一些实施方式中，本披露提供的抗体是单克隆抗体。

术语“抗原”是指能够由抗原结合分子（例如抗体）的选择性结合剂所结合的分子或分子部分。抗原可具有一个或多个能够与不同的抗原结合分子（例如抗体）相互作用的表位。

术语“表位”指能够与抗体或其抗原结合片段特异性结合的抗原上的区域（area 或 region）。表位可以由连续氨基酸（线性表位）形成或包含非连续氨基酸（构象表位），例如因抗原的折叠（即通过蛋白质性质的抗原的三级折叠）而使得非连续的氨基酸在空间上得以接近。构象表位和线性表位的差别在于：在变性溶剂的存在下，抗体对构象表位的结合丧失。表位包含处于独特空间构象的至少 3，至少 4，至少 5，至少 6，至少 7，或 8-10 个氨基酸。筛选结合特定表位的抗体（即那些结合相同表位的）可以使用本领域例行方法来进行，例如但不限于丙氨酸扫描，肽印迹（见 Meth. Mol. Biol. 248（2004）443-463），肽切割分析，表位切除，表位提取，抗原的化学修饰（见 *Prot. Sci.* 9（2000）487-496），和交叉阻断（见“Antibodies”，Harlow and Lane (Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harb., NY)）。

术语“能够特异性结合”、“特异性结合”或“结合”是指相比其他抗原或表位，抗原结合分子能够以更高的亲和力结合至某个抗原或表位。通常，抗体以约 1×10^{-7}M 或更小（例如约 1×10^{-8}M 或更小）的平衡解离常数（KD）结合抗原或表位。在一些实施方式中，抗体与抗原结合的 KD 为该抗体结合至非特异性抗原（例如 BSA、酪蛋白）的 KD 的 10%或更低（例如 1%）。可使用已知的方法来测量 KD，例如通过 FACS 或表面等离子体共振测定法所测量的。然而，特异性结合至抗原或其表位的抗体可能对其它相关的抗原具有交叉反应性，例如，对来自其它物种（同源）（诸如人或猴，例如食蟹猕猴（Macaca fascicularis）（cynomolgus，cyno）、黑猩猩（Pan troglodytes）（chimpanzee，chimp））或狨猴（Callithrix jacchus）（commonmarmoset，marmoset）的相应抗原具有交叉反应性。

术语“不结合”是指抗原结合分子不能够以上述特异性结合的方式结合至某个抗原或其表位。例如，当抗体以约 1×10^{-6}M 或更大的平衡解离常数（KD）结合抗原或其表位。

术语“抗原结合模块”指特异性结合目标抗原的多肽分子。具体的抗原结合模块包括抗体的抗原结合域，例如包含重链可变区和轻链可变区。术语“特异性结合 CD3 的抗原结合模块”是指能够以足够的亲和力结合 CD3 或其表位的模块，使得含有该模块的分子可用作靶向 CD3 的诊断剂和/或治疗剂。例如，特异性结合 CD3 的抗原结合模块具有以下的平衡解离常数（KD）：<约 10nM，其是通过表面等离子体共振测定法测量的。抗原结合模块包括如本文定义的抗体片段，例如 Fab，经替换的 Fab 或 scFv。

术语“连接子”指连接两个多肽片段的连接单元。在本文中，同一结构式中出现的连接子可以是相同或不同的。连接子可以是肽连接子，其包含一个或多个氨基酸，典型的包含约 1-30 个、2-24 个或 3-15 个氨基酸。应用于本文的连接子可以是相同或不同的。当“-”出现在结构式中，其表示两侧的单元直接通过共价键连接。

“Tm”是溶解变性温度（内源荧光）。当蛋白质变性（加热或变性剂作用）时，三级结构打开，芳香族氨基酸微环境发生变化，导致发射荧光光谱改变。本披露中，Tm1 是指荧光变化到最大值的一半时的温度。

“Tonset”是变性起始温度。意指蛋白质开始变性时的温度，即荧光值开始变化时的温度。

“Tagg”是聚集起始温度。通过静态光散射，在 266nm 和 473nm 两个波长下检测聚集体，监测到样品开始聚集时的温度。Tagg 266 指的是 266nm 下监测到聚集起始温度。

术语“核酸”在本文中可与术语“多核苷酸”互换使用，并且是指呈单链或双链形式的脱氧核糖核苷酸或核糖核苷酸及其聚合物。所述术语涵盖含有已知核苷酸类似物或修饰的骨架残基或连接的核酸，所述核酸是合成的、天然存在的和非天然存在的，具有与参考核酸相似的结合特性，并且以类似于参考核苷酸的方式代谢。

此类类似物的实例包括但不限于硫代磷酸酯、氨基磷酸酯、甲基膦酸酯、手性-甲基膦酸酯、2-O-甲基核糖核苷酸、肽-核酸（PNA）。“分离的”核酸指已经与其天然环境的组分分开的核酸分子。分离的核酸包括在下述细胞中含有的核酸分子，所述细胞通常含有该核酸分子，但该核酸分子存在于染色体外或存在于不同于其天然染色体位置的染色体位置处。编码所述抗原结合分子的分离的核酸指编码抗体重链和轻链（或其片段）的一个或更多个核酸分子，包括在单一载体或分开的载体中的这样的一个或更多个核酸分子，和存在于宿主细胞中一个或更多个位置的这样的一个或更多个核酸分子。除非另有说明，否则特定的核酸序列还隐含地涵盖其保守修饰的变体（例如，简并密码子取代）和互补序列以及明确指明的序列。具体地，如下详述，简并密码子取代可以通过产生如下序列而获得，在这些序列中，一个或多个所选的（或全部）密码子的第三位被简并碱基和/或脱氧肌苷残基取代。

应当理解，尽管本公开中没有提供具体的编码核苷酸序列，技术人员根据密码子规则和宿主密码子偏好性，能够在氨基酸序列的基础上确定对应的编码核苷酸序列。

术语“多肽”和“蛋白质”在本文中可互换使用，指氨基酸残基的聚合物。该术语适用于氨基酸聚合物，其中一个或多个氨基酸残基是天然存在的氨基酸相应的人工化学模拟物，以及适用于天然存在的氨基酸聚合物和非天然存在的氨基酸聚合物。除非另外说明，否则特定的多肽序列还隐含地涵盖其保守修饰的变体。

术语序列“同一性”指，当对两条序列进行最佳比对时，两条序列的氨基酸/核酸在等价位置相同的程度（百分比）。在比对过程中，必要时可允许引入间隙以获取最大序列同一性百分比，但任何保守性取代不视为构成序列同一性的一部分。为测定序列同一性百分比，比对可以通过本领域技术已知的技术来实现，例如使用公开可得到的计算机软件，诸如BLAST、BLAST-2、ALIGN、ALIGN-2或Megalign（DNASTAR）软件。本领域技术人员可确定适用于测量比对的参数，包括在所比较的序列全长上达成最大比对所需的任何算法。

术语“融合”或“连接”是指部件（例如抗原结合模块和 Fc 结构域）直接地或经由连接子共价连接。

术语“载体”意指能够转运与其连接的另一多核苷酸的多核苷酸分子。一种类型的载体是“质粒”，其是指环状双链 DNA 环，其中可以连接附加的 DNA 区段。另一种类型的载体是病毒载体，例如腺相关病毒载体（AAV 或 AAV2），其中另外的 DNA 区段可以连接到病毒基因组中。某些载体能够在引入它们的宿主细胞中自主复制（例如，具有细菌复制起点的细菌载体和附加型哺乳动物载体）。其他载体（例如，非附加型哺乳动物载体）可以在引入宿主细胞中后整合到宿主细胞的基因组中，从而与宿主基因组一起复制。术语“表达载体”或“表达构建体”是指适用于对宿主细胞进行转化且含有指导及/或控制（连同宿主细胞一起）与其可操作地

连接的一个或多个异源编码区的表达的核酸序列的载体。表达构建体可以包括但不限于影响或控制转录、翻译且在存在内含子时影响与其可操作地连接的编码区的 RNA 剪接的序列。

术语“宿主细胞”,“宿主细胞系”,和“宿主细胞培养物”可互换使用，并且指已经导入外源核酸的细胞，包括此类细胞的后代。宿主细胞包括“转化体”和“经转化的细胞”，其包括原代的经转化的细胞及自其衍生的后代，而不考虑传代的次数。后代在核酸内容物上可以与亲本细胞不完全相同，而是可以含有突变。本文中，该术语包括突变体后代，其与在原代转化细胞中筛选或选择的细胞具有相同的功能或生物学活性。宿主细胞包括原核和真核宿主细胞，其中真核宿主细胞包括但不限于哺乳动物细胞、昆虫细胞系植物细胞和真菌细胞。哺乳动物宿主细胞包括人、小鼠、大鼠、犬、猴、猪、山羊、牛、马和仓鼠细胞，包括但不限于中国仓鼠卵巢（CHO）细胞、NSO、SP2 细胞、HeLa 细胞、幼仓鼠肾（BHK）细胞、猴肾细胞（COS）、人肝细胞癌细胞（例如，Hep G2）、A549 细胞、3T3 细胞和 HEK-293 细胞。真菌细胞包括酵母和丝状真菌细胞，包括例如巴氏毕赤酵母（*Pichiapastoris*）、芬兰毕赤酵母（*Pichia finlandica*）、海藻毕赤酵母（*Pichia trehalophila*）、科克拉马毕赤酵母（*Pichia koclamae*）、膜状毕赤酵母（*Pichia membranaefaciens*）、小毕赤酵母（*Pichia minuta*）（*Ogataea minuta*、*Pichia lindneri*）、仙人掌毕赤酵母（*Pichiaopuntiae*）、耐热毕赤酵母（*Pichia thermotolerans*）、柳毕赤酵母（*Pichia salictaria*）、*Pichia guercuum*、皮杰普毕赤酵母（*Pichia pijperi*）、具柄毕赤酵母（*Pichia stiptis*）、甲醇毕赤酵母（*Pichia methanolica*）、毕赤酵母属、酿酒酵母（*Saccharomycescerevisiae*）、酿酒酵母属、多形汉逊酵母（*Hansenula polymorpha*）、克鲁维酵母属、乳酸克鲁维酵母（*Kluyveromyces lactis*）、白色念珠菌（*Candida albicans*）、构巢曲霉（*Aspergillus nidulans*）、黑曲霉（*Aspergillus niger*）、米曲霉（*Aspergillus oryzae*）、里氏木霉（*Trichoderma reesei*）、勒克氏菌（*Chrysosporium lucknowense*）、镰刀菌属（*Fusarium* sp.）、禾谷镰刀菌（*Fusarium gramineum*）、菜镰刀菌（*Fusarium venenatum*）、小立碗藓（*Physcomitrella patens*）和粗糙脉孢菌（*Neurospora crassa*）。毕赤酵母属、任何酿酒酵母属、多形汉逊酵母（*Hansenula polymorpha*）、任何克鲁维酵母属、白色念珠菌（*Candida albicans*）、任何曲霉属、里氏木霉（*Trichoderma reesei*）、勒克霉菌（*Chrysosporium lucknowense*）、任何镰刀菌属、解脂耶氏酵母（*Yarrowia lipolytica*）和粗糙脉孢菌（*Neurospora crassa*）。本专利的宿主细胞不包括在专利法中不授权的客体。

“任选”或“任选地”意味着随后所描述地事件或环境可以但不必发生，该说明包括该事件或环境发生或不发生的场合。

术语“药物组合物”表示含有一种或多种本文所述的抗原结合分子或抗体与其他化学组分的混合物，所述其他组分例如生理学/可药用的载体和赋形剂。

术语“药学上可接受的载体、稀释剂、缓冲剂或赋形剂” 指药物制剂中与活性成分不同的，且对受试者无毒的成分。药学上可接受的载体、稀释剂、缓冲剂或赋形剂包括但不限于缓冲剂、赋形剂、稳定剂或防腐剂。

术语“受试者”或“个体”包括人类和非人类动物。非人动物包括所有脊椎动物（例如哺乳动物和非哺乳动物）例如非人灵长类（例如，食蟹猴）、绵羊、狗、牛、鸡、两栖动物和爬行动物。除非明确指出，否则所述术语“患者”或“受试者”在本文中可互换地使用。如本文所使用的，术语“食蟹猴（cyno）”或“食蟹猴（cynomolgus）”是指食蟹猴（Macaca fascicularis）。在某些实施方案中，个体或受试者是人。

“施用”或“给予”，当其应用于动物、人、实验受试者、细胞、组织、器官或生物流体时，是指外源性药物、治疗剂、诊断剂或组合物与动物、人、受试者、细胞、组织、器官或生物流体的接触。

术语“样本”是指从受试者分离的类似流体、细胞、或组织的采集物，以及存在于受试者体内的流体、细胞或组织。示例性样本为生物流体，诸如血液、血清和浆膜液、血浆、淋巴液、尿液、唾液、囊液、泪液、排泄物、痰、分泌组织和器官的粘膜分泌物、阴道分泌物、腹水、胸膜、心包、腹膜、腹腔和其它体腔的流体、由支气管灌洗液收集的流体、滑液、与受试者或生物来源接触的液体溶液，例如细胞和器官培养基（包括细胞或器官条件培养基）、灌洗液等，组织活检样本、细针穿刺、手术切除的组织、器官培养物或细胞培养物。

“治疗（treatment 或 treat）”和“处理”（及其语法变型）指试图施加至所治疗个体的临床干预，并且可以为了预防目的、或者在临床病理学的过程期间进行实施。治疗的期望效果包括但不限于预防疾病的发生或复发，减轻症状，减轻/减少疾病的任何直接或间接病理后果，预防转移，降低疾病进展速率，改善或减轻疾病状态，和消退或改善的预后。在一些实施方案中，使用本披露的抗原结合分子来延迟疾病的形成或减缓疾病的进展。

术语“复发(recurrence)”、“复发(relapse)”“复发(relapsed)”是指癌症或疾病在疾病消失的临床评估之后的恢复。远处癌转移或局部复发的诊断可视为复发。

“有效量”一般是足以降低症状的严重程度及/或频率、消除这些症状及/或潜在病因、预防症状及/或其潜在病因出现及/或改良或改善由疾病状态引起或与其相关的损伤的量。在一些实施例中，有效量是治疗有效量或预防有效量。

“治疗有效量”是足以治疗疾病状态或症状、尤其与该疾病状态相关的状态或症状，或者以其他方式预防、阻碍、延迟或逆转该疾病状态或以任何方式与该疾病相关的任何其他不理想症状的进展的量。

“预防有效量”是当给予受试者时将具有预定预防效应，例如预防或延迟该疾病状态的发作（或复发），或者降低该疾病状态或相关症状的发作（或复发）可能性的量。完全治疗或预防效未必在给予一个剂量之后便发生，可能在给予一系列

剂量之后发生。因而，治疗或预防有效量可以一次或多次给予的方式给予。“治疗有效量”和“预防有效量”可取决于多种因素变化：诸如个体的疾病状态、年龄、性别和体重，以及治疗剂或治疗剂组合在个体中引发期望的应答的能力。有效治疗剂或治疗剂组合的示例性指标包括例如受试者改善的健康状况。

本披露的抗原结合分子

本披露提供了抗原结合分子，其具有诸多有利的特性，例如良好的体外杀伤活性、治疗活性、安全性、药物代谢动力学特性和成药性（如产率、纯度和稳定性等）。

示例性的抗原结合分子

本披露的抗原结合分子，包括特异性结合 DLL3 和 CD3 的双特异性抗原结合分子（例如双特异性抗体）和抗 DLL3 抗体。特别的，本披露的抗原结合分子具有如下任一的性质：

a．对 DLL3 的高亲和力。在一些实施方式中，所述抗 DLL3 抗体或抗原结合分子以小于 4×10^{-9}M、3×10^{-9}M、2×10^{-9}M、1×10^{-9}M、9×10^{-10}M、8×10^{-10}M、7×10^{-10}M、6×10^{-10}M、5×10^{-10}M、4×10^{-10}M、3×10^{-10}M、2×10^{-10}M、1×10^{-10}M、9×10^{-11}M 的 KD 结合人 DLL3，所述 KD 是通过表面等离子体共振法测量的。在一些实施方式中，所述抗抗原结合分与 DLL3 蛋白的结合 EC50 小于 0.5nM、0.4nM、0.3nM、0.2nM、0.1nM、0.09nM、0.08nM、0.07nM，所述 EC50 是通过 ELISA 检测的。

b．对细胞表面表达的 DLL3 的高亲和力。在一些实施方式中，所述抗 DLL3 抗体结合 H1184 细胞的 EC50 以小于 0.2nM、0.1nM、0.09nM、0.08nM、0.07nM、0.06nM、0.05nM、0.04nM。

c. 对表达 DLL3 的细胞的特异性杀伤作用。在一些实施方式中，所述抗原结合分子可特异性杀伤表达 DLL3 的 SHP77 细胞和 H1184 细胞，其中对 H1184 细胞的杀伤 IC50 小于 30pM、25pM、20pM、15pM、14pM、13pM、12pM、11pM、10pM、9pM、8pM、7pM。

d．对 T 细胞的体外激活活性。在一些实施方案中，所述的抗原结合分子以小于 20pM、19pM、18pM、17pM、16pM、15pM、14pM、13pM、12pM、11pM、10pM、9pM、8pM、7pM 的 EC50 激活 Jurkat Lucia™ NFAT 细胞。

e．诱导低水平的细胞因子（IL6 和 IFNγ）释放。

e. 更强的体内治疗活性。在一些实施方案中，所述的抗原结合分子可显著抑制小鼠 SHP77 和 H1184 细胞皮下移植瘤的生长。

本披露提供了一种抗原结合分子，其包含至少一个特异性结合 DLL3 的抗原结合模块和至少一个特异性结合 CD3 的抗原结合模块，所述特异性结合 DLL3 的抗原结合模块包含 DLL3-VH 和 DLL3-VL，所述特异性结合 CD3 的抗原结合模块包含 CD3-VH 和 CD3-VL。本披露还提供了一种抗 DLL3 抗体，其能够特异性结合 DLL3，所述的抗体包含 DLL3-VH 和 DLL3-VL。具体地，本文的实施例披露了抗

体系列 6、98、110 和 30。以下以抗体 6 和 110 为例描述本文的抗体或抗原结合分子。

特异性结合 DLL3 和 CD3 的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21、69 或 70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：24、71、72 或 73 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 或 74 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3。

特异性结合 DLL3 和 CD3 的抗原结合分子或抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：32、96、97、98 或 99 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：33 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：34 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：35 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：36 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3。

特异性结合 DLL3 和 CD3 的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 包含如 SEQ ID NO：20 所示的 DLL3-HCDR1、如 SEQ ID NO：21、69 或 70 所示的 DLL3-HCDR2 和如 SEQ ID NO：22 所示的 DLL3-HCDR3，和所述 DLL3-VL 包含如 SEQ ID NO：23 所示的 DLL3-LCDR1、如 SEQ ID NO：24、71、72 或 73 所示的 DLL3-LCDR2 和如 SEQ ID NO：25 或 74 所示的 DLL3-LCDR3。

特异性结合 DLL3 和 CD3 的抗原结合分子或抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VH 包含如 SEQ ID NO：20 所示的 DLL3-HCDR1、如 SEQ ID NO：32、96、97、98 或 99 所示的 DLL3-HCDR2 和如 SEQ ID NO：33 所示的 DLL3-HCDR3，和所述 DLL3-VL 如 SEQ ID NO：34 所示的 DLL3-LCDR1、如 SEQ ID NO：35 所示的 DLL3-LCDR2 和如 SEQ ID NO：36 所示的 DLL3-LCDR3。

特异性结合 DLL3 和 CD3 的抗原结合分子，其中：

所述 DLL3-VH 包含如 SEQ ID NO：20 所示的 DLL3-HCDR1，如 SEQ ID NO：21 所示的 DLL3-HCDR2，和如 SEQ ID NO：22 所示的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 包含如 SEQ ID NO：23 所示的 DLL3-LCDR1，如 SEQ ID NO：71 所示的 DLL3-LCDR2，和如 SEQ ID NO：25 所示的 DLL3-LCDR3。

特异性结合 DLL3 和 CD3 的抗原结合分子或抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VH 包含如 SEQ ID NO：20 所示的 DLL3-HCDR1，如 SEQ ID NO：21 所示的 DLL3-HCDR2，和如 SEQ ID NO：22 所示的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 包含如 SEQ ID NO：23 所示的 DLL3-LCDR1，如 SEQ ID NO：24 所示的 DLL3-LCDR2，和如 SEQ ID NO：25 所示的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 包含如 SEQ ID NO：20 所示 DLL3-HCDR1，如 SEQ ID NO：21 所示的 DLL3-HCDR2，和如 SEQ ID NO：22 所示的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 包含如 SEQ ID NO：23 所示的 DLL3-LCDR1，如 SEQ ID NO：72 所示的 DLL3-LCDR2，和如 SEQ ID NO：25 所示的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 包含如 SEQ ID NO:20 所示的 DLL3-HCDR1,如 SEQ ID NO：69 所示的 DLL3-HCDR2，和如 SEQ ID NO：22 所示的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 包含如 SEQ ID NO：23 所示的 DLL3-LCDR1，如 SEQ ID NO：71 所示的 DLL3-LCDR2，和如 SEQ ID NO：74 所示的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 包含如 SEQ ID NO:20 所示的 DLL3-HCDR1,如 SEQ ID NO：69 所示的 DLL3-HCDR2，和如 SEQ ID NO：22 所示的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 包含如 SEQ ID NO：23 所示的 DLL3-LCDR1，如 SEQ ID NO：24 所示的 DLL3-LCDR2，和如 SEQ ID NO：74 所示的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 包含如 SEQ ID NO:20 所示的 DLL3-HCDR1,如 SEQ ID NO：69 所示的 DLL3-HCDR2，和如 SEQ ID NO：22 所示的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 包含如 SEQ ID NO：23 所示的 DLL3-LCDR1，如 SEQ ID NO：71 所示的 DLL3-LCDR2，和如 SEQ ID NO：25 所示的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 包含如 SEQ ID NO:20 所示的 DLL3-HCDR1,如 SEQ ID NO：70 所示的 DLL3-HCDR2，和如 SEQ ID NO：22 所示的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 包含如 SEQ ID NO：23 所示的 DLL3-LCDR1，如 SEQ ID NO：71 所示的 DLL3-LCDR2，和如 SEQ ID NO：25 所示的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 包含如 SEQ ID NO:20 所示的 DLL3-HCDR1,如 SEQ ID NO：70 所示的 DLL3-HCDR2，和如 SEQ ID NO：22 所示的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 包含如 SEQ ID NO：23 所示的 DLL3-LCDR1，如 SEQ ID NO：24 所示的 DLL3-LCDR2，和如 SEQ ID NO：74 所示的 DLL3-LCDR3。

特异性结合 DLL3 和 CD3 的抗原结合分子或抗 DLL3 抗体，其中：

所述 DLL3-VH 包含如 SEQ ID NO:20 所示的 DLL3-HCDR1,如 SEQ ID NO：96 所示的 DLL3-HCDR2，和如 SEQ ID NO：33 所示的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 包含如 SEQ ID NO：34 所示的 DLL3-LCDR1，如 SEQ ID NO：35 所示的 DLL3-LCDR2，和如 SEQ ID NO：36 所示的 DLL3-LCDR3。

在一些实施方案中,如前所述的抗原结合分子或抗 DLL3 抗体,所述 DLL3-VH 和/或所述 DLL3-VL 是鼠源的或人源化的。在一些实施方案中，所述 DLL3-VH 和/或所述 DLL3-VL 是人源化的。

在一些实施方案中,所述人源化的 DLL3-VH 的 FR1、FR2、FR3 和 FR4 与 SEQ ID NO：50、51 或 52 的 FR1、FR2、FR3 和 FR4 具有至少 60%、70%、80%或 90% 的序列同一性;所述人源化的 DLL3-VL 的 FR1、FR2、FR3 和 FR4 与 SEQ ID NO：

62 或 68 的 FR1、FR2、FR3 和 FR4 具有至少 60%、70%、80%或 90%的序列同一性。

在一些实施方案中，所述人源化的 DLL3-VH 具有来源于 IGHV1-3*01、IGHV7-4-1*02 或 IGHV3-73*01 的 FR1、FR2、FR3 和来源于 IGHJ6*01 的 FR4，并且其是未被取代的或具有选自 1E、5Q、27Y、30T、38K、43K、48I、67A、68A、69L、71V、73K、75S、76N 和 93A 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；和/或所述人源化的 DLL3-VL 具有来源于 IGKV1-16*01 或 IGKV3-20*02 的 FR1、FR2、FR3 和来源于 IGKJ4*01 的 FR4，并且其是未被取代的或具有选自 1N、36L、42K、43S、44F、46G、69A、71Y、79Q 和 85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。在一些实施方案中，上述可变区中的氨基酸位置是根据 Kabat 编号规则定义的。

在一些实施方案中，所述人源化的 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：50 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：50 的 FR 区包含选自 1E、43K、48I、67A、69L、71V、73K 和 76N 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，所述人源化的 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：51 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：51 的 FR 区包含选自 1E、5Q、38K、68A、69L、71V、73K、75S 和 76N 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，所述人源化的 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：52 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：52 的 FR 区包含选自 27Y、30T69L、71V、73K 和 93A 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，所述人源化的 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：62 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：62 的 FR 区包含选自 36L、43S、44F、46G、69A、71Y 和 85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，所述人源化的 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：68 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：68 的 FR 区包含选自 36L、42K、46G、69A、71Y、79Q 和 85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，所述人源化的 DLL3-VH 的 FR1、FR2、FR3 和 FR4 与 SEQ ID NO：95 的 FR1、FR2、FR3 和 FR4 具有至少 60%、70%、80%或 90%的序列同一性；所述人源化的 DLL3-VL 的 FR1、FR2、FR3 和 FR4 与 SEQ ID NO：88 的 FR1、FR2、FR3 和 FR4 具有至少 60%、70%、80%或 90%的序列同一性。

在一些实施方案中，所述人源化的 DLL3-VH 具有来源于 IGHV1-3*01 的 FR1、FR2、FR3 和来源于 IGHJ6*01 的 FR4，并且其是未被取代的或具有选自 1E、24T、44S、71V 和 73K 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；和/或所述人源化的

DLL3-VL 具有来源于 IGKV4-1*01 的 FR1、FR2、FR3 和来源于 IGKJ2*01 的 FR4，并且其是未被取代的或具有选自 1N、9K、43S、68A 和 85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。在一些实施方案中，上述可变区中的氨基酸位置是根据 Kabat 编号规则定义的。

在一些实施方案中，所述人源化的 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：95 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：95 的 FR 区包含选自 1E、24T、44S、71V 和 73K 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。在一些实施方案中，所述人源化的 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：88 的氨基酸序列，或其变体。在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：88 的 FR 区包含选自 1N、9K、43S、68A 和 85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，所述人源化的 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：51 的氨基酸序列，或其变体；在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：51 的 FR 区包含选自 1E、38K、68A、69L、71V、73K、75S 和 76N 组成的组中的一个或多个氨基酸取代；和所述人源化的 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：63 的氨基酸序列，或其变体；在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：63 的 FR 区包含一个或多个氨基酸取代；在一些实施方案中，所述的氨基酸取代选自 43S 和 44F 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，所述人源化的 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：91 的氨基酸序列，或 SEQ ID NO：91 变体；在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：91 的 FR 区包含一个或多个氨基酸取代；和

所述人源化的 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：88 的氨基酸序列，或其变体；在一些实施方案中，所述变体为在 SEQ ID NO：88 的 FR 区包含选自 1N、9K、43S、68A 和 85D 组成的组中的一个或多个氨基酸取代。

在一些实施方案中，上述可变区和 CDR 是根据 Kabat 编号规则定义的。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述 DLL3-VH 的氨基酸序列与 SEQ ID NO：12、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56 或 57 具有至少 90%、95%、96%、97%、98%或 99%的序列同一性，和所述 DLL3-VL 的氨基酸序列与 SEQ ID NO：13、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67 或 68 具有至少 90%、95%、96%、97%、98%或 99%的序列同一性。在一些实施方案中，所述 DLL3-VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO：12、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56 或 57 所示，和所述 DLL3-VL 的氨基酸序列如 SEQ ID NO：13、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67 或 68 所示。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中所述 DLL3-VH 的氨基酸序列与 SEQ ID NO：43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56 或 57 具有至少 90%、95%、96%、97%、98%或 99%的序列同一性，和所

述 DLL3-VL 的氨基酸序列与 SEQ ID NO：63、64、65、66 或 67 具有至少 90%、95%、96%、97%、98%或 99%的序列同一性。在一些实施方案中，所述 DLL3-VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO：43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56 或 57 所示，和所述 DLL3-VL 的氨基酸序列如 SEQ ID NO：63、64、65、66 或 67 所示。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其中所述 DLL3-VH 的氨基酸序列与 SEQ ID NO：56 或 57 具有至少 90%、95%、96%、97%、98%或 99%的序列同一性，和所述 DLL3-VL 的氨基酸序列与 SEQ ID NO：58、59、60、61、62、63、64、65、66、67 或 68 具有至少 90%、95%、96%、97%、98%或 99%的序列同一性。在一些实施方案中，所述 DLL3-VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO：56 或 57 所示，和所述 DLL3-VL 的氨基酸序列如 SEQ ID NO：58、59、60、61、62、63、64、65、66、67 或 68 所示。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗原结合分子或抗 DLL3 抗体，所述 DLL3-VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO：54 所示，和所述 DLL3-VL 的氨基酸序列如 SEQ ID NO：63 所示；或

所述 DLL3-VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO：54 所示，和所述 DLL3-VL 的氨基酸序列如 SEQ ID NO：61 所示；或

所述 DLL3-VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO：54 所示，和所述 DLL3-VL 的氨基酸序列如 SEQ ID NO：64 所示；或

所述 DLL3-VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO：56 所示，和所述 DLL3-VL 的氨基酸序列如 SEQ ID NO：65 所示；或

所述 DLL3-VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO：56 所示，和所述 DLL3-VL 的氨基酸序列如 SEQ ID NO：67 所示；或

所述 DLL3-VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO：56 所示，和所述 DLL3-VL 的氨基酸序列如 SEQ ID NO：65 所示；或

所述 DLL3-VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO：57 所示，和所述 DLL3-VL 的氨基酸序列如 SEQ ID NO：65 所示；或

所述 DLL3-VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO：57 所示，和所述 DLL3-VL 的氨基酸序列如 SEQ ID NO：67 所示；或

所述 DLL3-VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO：57 所示，和所述 DLL3-VL 的氨基酸序列如 SEQ ID NO：65 所示。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗原结合分子或抗 DLL3 抗体，其中所述 DLL3-VH 的氨基酸序列与 SEQ ID NO：16、89、90、91、92、93、94 或 95 具有至少 90%、95%、96%、97%、98%或 99%的序列同一性，和所述 DLL3-VL 的氨基酸序列与 SEQ ID NO：17、86、87 或 88 具有至少 90%、95%、96%、97%、98%或 99%的序列同一性。在一些实施方案中，所述 DLL3-VH 的氨基酸序列如

SEQ ID NO：16、89、90、91、92、93、94 或 95 所示，和所述 DLL3-VL 的氨基酸序列如 SEQ ID NO：17、86、87 或 88 所示。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗原结合分子或抗 DLL3 抗体，所述 DLL3-VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO：91 所示，和所述 DLL3-VL 的氨基酸序列如 SEQ ID NO：87 所示。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗 DLL3 抗体，其包含重链和轻链，其中：

所述重链的氨基酸序列如 SEQ ID NO：121 所示，和所述轻链的氨基酸序列如 SEQ ID NO：122 所示；或

所述重链的氨基酸序列如 SEQ ID NO：125 所示，和所述轻链的氨基酸序列如 SEQ ID NO：126 所示。

在一些实施方案中，如前所述的抗原结合分子，其中：

i) 所述 CD3-VH 包含如 SEQ ID NO：129 所示的 CD3-HCDR1，如 SEQ ID NO：130 所示的 CD3-HCDR2，和如 SEQ ID NO：131 所示的 CD3-HCDR3；和所述 CD3-VL 包含如 SEQ ID NO：132 所示的 CD3-LCDR1，如 SEQ ID NO：133 所示的 CD3-LCDR2，和如 SEQ ID NO：134 所示的 CD3-LCDR3；或

ii)所述 CD3-VH 包含如 SEQ ID NO：129 所示的 CD3-HCDR1，如 SEQ ID NO：130 所示的 CD3-HCDR2，和如 SEQ ID NO：135 所示的 CD3-HCDR3；和所述 CD3-VL 包含如 SEQ ID NO：132 所示的 CD3-LCDR1，如 SEQ ID NO：133 所示的 CD3-LCDR2，和如 SEQ ID NO：134 所示的 CD3-LCDR3。

在一些实施方案中，上述可变区和 CDR 是根据 Kabat 编号规则定义的。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗原结合分子，所述 CD3-VH 和/或所述 CD3-VL 是鼠源的或人源化的。在一些实施方案中，所述 CD3-VH 和/或所述 CD3-VL 是人源化的。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗原结合分子，其中所述 CD3-VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO：136 或 138 所示，和所述 CD3-VL 的氨基酸序列 SEQ ID NO：137 所示。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗原结合分子，其包含：

如 SEQ ID NO：152 所示的第一链、如 SEQ ID NO：153 所示的第二链、如 SEQ ID NO：154 所示的第三链和如 SEQ ID NO：155 所示的第四链；或

如 SEQ ID NO：152 所示的第一链、如 SEQ ID NO：153 所示的第二链、如 SEQ ID NO：156 所示的第三链和如 SEQ ID NO：155 所示的第四链。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗原结合分子，其包含：

如 SEQ ID NO：157 所示的第一链、如 SEQ ID NO：158 所示的第二链和如 SEQ ID NO：159 所示的第三链；或

如 SEQ ID NO：157 所示的第一链、如 SEQ ID NO：158 所示的第二链和如 SEQ ID NO：160 所示的第三链。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗原结合分子，其包含：

如 SEQ ID NO：161 所示的第一链和如 SEQ ID NO：162 所示的第二链；或

如 SEQ ID NO：163 所示的第一链和如 SEQ ID NO：162 所示的第二链；或

如 SEQ ID NO：185 所示的第一链和如 SEQ ID NO：162 所示的第二链；或

如 SEQ ID NO：186 所示的第一链和如 SEQ ID NO：162 所示的第二链；或

如 SEQ ID NO：259 所示的第一链和如 SEQ ID NO：162 所示的第二链；或

如 SEQ ID NO：260 所示的第一链和如 SEQ ID NO：162 所示的第二链；或

如 SEQ ID NO：187 所示的第一链和如 SEQ ID NO：188 所示的第二链；或

如 SEQ ID NO：187 所示的第一链和如 SEQ ID NO：189 所示的第二链；或

如 SEQ ID NO：190 所示的第一链和如 SEQ ID NO：188 所示的第二链；或

如 SEQ ID NO：190 所示的第一链和如 SEQ ID NO：189 所示的第二链；或

如 SEQ ID NO：191 所示的第一链和如 SEQ ID NO：188 所示的第二链；或

如 SEQ ID NO：191 所示的第一链和如 SEQ ID NO：189 所示的第二链。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗原结合分子，其包含：

如 SEQ ID NO：171 所示的第一链、如 SEQ ID NO：172 所示的第二链、如 SEQ ID NO：154 所示的第三链和如 SEQ ID NO：155 所示的第四链；或

如 SEQ ID NO：171 所示的第一链、如 SEQ ID NO：172 所示的第二链、如 SEQ ID NO：156 所示的第三链和如 SEQ ID NO：155 所示的第四链。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗原结合分子，其包含：

如 SEQ ID NO：173 所示的第一链、如 SEQ ID NO：174 所示的第二链和如 SEQ ID NO：159 所示的第三链；或

如 SEQ ID NO：173 所示的第一链、如 SEQ ID NO：174 所示的第二链和如 SEQ ID NO：160 所示的第三链。

在一些实施方案中，如前任一项所述的抗原结合分子，其包含：

如 SEQ ID NO：175 所示的第一链和如 SEQ ID NO：176 所示的第二链；或

如 SEQ ID NO：177 所示的第一链和如 SEQ ID NO：176 所示的第二链。

根据本文实施例所披露的包含抗体系列 98 和 30 的抗原结合分子与以上所描述的抗体系列 6 和 110 具有同等的技术方案范围。

抗原结合分子的结构

本披露的双特异性抗原结合分子并不受限于特定的分子结构，只要其具有所期望的抗原结合功能。例如，本文的双特异性抗原结合分子可以是双价（1+1）的、三价（2+1）的或 4 价（2+2）的。抗原结合分子中的抗原结合模块可以是任意的具有抗原结合活性的抗体片段，其通过肽连接子融合。本披露的肽连接子（例如连接子 1 至 8）可以是任意适宜的肽链，只要抗原结合分子能够展现出期望的抗原

结合活性。例如，肽连接子可以是包含 1-50 或 3-20 个氨基酸残基的柔性肽。在一些实施方案中，所述肽连接子各自独立地具有(GGGGS)n 的结构，其中 n 是 1、2 或 3。在一些实施方案中，所述的连接子 1 和连接子 2 的序列均为 GGGGS（SEQ ID NO：147）。在一些实施方案中，所述的连接子 3 的序列为 GGGGSGGGGSGGGGS（SEQ ID NO：148）。在一些实施方案中，所述的连接子 4 的序列为 GGGGS（SEQ ID NO：147）。在一些实施方案中，所述连接子 5 的序列为 GGGSGGGG（SEQ ID NO：149）。在一些实施方案中，连接子 6 和连接子 8 的序列为 G（SEQ ID NO：150）。在一些实施方案中，连接子 7 的序列为 GGGGSGGGG（SEQ ID NO：151）。

示例性的，本披露的所述抗原结合分子具有式(a-1)所示结构的第一链、一条具有式(b-1)所示结构的第二链、一条具有式(c)所示结构的第三链和一条具有式(d)所示结构的第四链，

(a-1) [DLL3-VH]-[GGGGS]-[Titin 链]-[Fc2]，

(b-1) [DLL3-VL]-[GGGGS]-[Obscurin 链]，

(c) [CD3-VH]-[CH1]-[Fc1]，

(d) [CD3-VL]-[CL]，

式(a-1)、(b-1)、(c)和(d)所示的结构是从 N 端至 C 端排列的。

示例性的抗原结合分子包含：

一条如 SEQ ID NO：171 所示的第一链、一条如 SEQ ID NO：172 所示第二链、一条如 SEQ ID NO：154 所示的第三链和一条如 SEQ ID NO：155 所示的第四链；或

一条如 SEQ ID NO：171 所示的第一链、一条如 SEQ ID NO：172 所示的第二链、一条如 SEQ ID NO：156 所示的第三链和一条如 SEQ ID NO：155 所示的第四链；或

一条如 SEQ ID NO：152 所示的第一链、一条如 SEQ ID NO：153 所示的第二链、一条如 SEQ ID NO：154 所示的第三链和一条如 SEQ ID NO：155 所示的第四链；或

一条如 SEQ ID NO：152 所示的第一链、一条如 SEQ ID NO：153 所示的第二链、一条如 SEQ ID NO：156 所示的第三链和一条如 SEQ ID NO：155 所示的第四链；或

一条如 SEQ ID NO：164 所示的第一链、一条如 SEQ ID NO：165 所示的第二链、一条如 SEQ ID NO：154 所示的第三链和一条如 SEQ ID NO：155 所示的第四链；或

一条如 SEQ ID NO：164 所示的第一链、一条如 SEQ ID NO：165 所示的第二链、一条如 SEQ ID NO：156 所示的第三链和一条如 SEQ ID NO：155 所示的第四链；或

一条如 SEQ ID NO：178 所示的第一链、一条如 SEQ ID NO：179 所示的第二链、一条如 SEQ ID NO：154 所示的第三链和一条如 SEQ ID NO：155 所示的第四链；或

一条如 SEQ ID NO：178 所示的第一链、一条如 SEQ ID NO：179 所示的第二链、一条如 SEQ ID NO：156 所示的第三链和一条如 SEQ ID NO：155 所示的第四链。

示例性的，所述抗原结合分子包含一条具有式(e)所示结构的第一链、一条具有式(f)所示结构的第二链和一条具有式(g-1)所示结构的第三链，

(e) [DLL3-VL]-[CL]，

(f) [DLL3-VL]-[CH1]-[Fc2]，

(g-1) [CD3-VH]-[GGGGSGGGGSGGGGS]-[CD3-VL]- [GGGGS]-[Fc1]，

式(e)、(f)和(g-1)所示的结构是从 N 端至 C 端排列的。

示例性的抗原结合分子具有：

一条如 SEQ ID NO：173 所示的第一链、一条如 SEQ ID NO：174 所示的第二链和一条如 SEQ ID NO：160 所示的第三链；或

一条如 SEQ ID NO：173 所示的第一链、一条如 SEQ ID NO：174 所示的第二链和一条如 SEQ ID NO：159 所示的第三链；或

一条如 SEQ ID NO：157 所示的第一链、一条如 SEQ ID NO：158 所示的第二链和一条如 SEQ ID NO：159 所示的第三链；或

一条如 SEQ ID NO：157 所示的第一链、一条如 SEQ ID NO：158 所示的第二链和一条如 SEQ ID NO：160 所示的第三链；或

一条如 SEQ ID NO：166 所示的第一链、一条如 SEQ ID NO：167 所示的第二链和一条如 SEQ ID NO：159 所示的第三链；或

一条如 SEQ ID NO：166 所示的第一链、一条如 SEQ ID NO：167 所示的第二链和一条如 SEQ ID NO：160 所示的第三链；或

一条如 SEQ ID NO：180 所示的第一链、一条如 SEQ ID NO：181 所示的第二链和一条如 SEQ ID NO：159 所示的第三链；或

一条如 SEQ ID NO：180 所示的第一链、一条如 SEQ ID NO：181 所示的第二链和一条如 SEQ ID NO：160 所示的第三链。

示例性的，所述抗原结合分子包含一条具有式(i-1)所示结构的第一链和一条具有式(h-1)所示结构的第二链，

(h-1) [DLL3-VL]-[GGGSGGGG]- [CD3-VH]- [G]- [Fc1]，

(i-1) [CD3-VL]-[GGGGSGGGG]- [DLL3-VH]- [G]-[Fc2]，

式(h-1)和(i-1)所示的结构是从 N 端至 C 端排列的。

示例性的抗原结合分子具有：

一条如 SEQ ID NO：185 所示的第一链和一条如 SEQ ID NO：162 所示的第二链；或

一条如 SEQ ID NO：161 所示的第一链和一条如 SEQ ID NO：162 所示的第二链；或

一条如 SEQ ID NO：163 所示的第一链和一条如 SEQ ID NO：162 所示的第二链；或

一条如 SEQ ID NO：259 所示的第一链和一条如 SEQ ID NO：162 所示的第二链；或

一条如 SEQ ID NO：260 所示的第一链和一条如 SEQ ID NO：162 所示的第二链；或

一条如 SEQ ID NO：168 所示的第一链和一条如 SEQ ID NO：169 所示的第二链；或

一条如 SEQ ID NO：170 所示的第一链和一条如 SEQ ID NO：169 所示的第二链；或

一条如 SEQ ID NO：175 所示的第一链和一条如 SEQ ID NO：176 所示的第二链；或

一条如 SEQ ID NO：177 所示的第一链和一条如 SEQ ID NO：176 所示的第二链；或

一条如 SEQ ID NO：182 所示的第一链和一条如 SEQ ID NO：183 所示的第二链；或

一条如 SEQ ID NO：184 所示的第一链和一条如 SEQ ID NO：183 所示的第二链；或

一条如 SEQ ID NO：186 所示的第一链和一条如 SEQ ID NO：162 所示的第二链；或

一条如 SEQ ID NO：187 所示的第一链和一条如 SEQ ID NO：188 所示的第二链；或

一条如 SEQ ID NO：187 所示的第一链和一条如 SEQ ID NO：189 所示的第二链；或

一条如 SEQ ID NO：190 所示的第一链和一条如 SEQ ID NO：188 所示的第二链；或

一条如 SEQ ID NO：190 所示的第一链和一条如 SEQ ID NO：189 所示的第二链；或

一条如 SEQ ID NO：191 所示的第一链和一条如 SEQ ID NO：188 所示的第二链；或

一条如 SEQ ID NO：191 所示的第一链和一条如 SEQ ID NO：189 所示的第二链。

抗原结合分子的变体

在某些实施方案中，涵盖本文中提供的抗原结合分子的氨基酸序列变体。例如，可以期望改善抗体的结合亲和力和/或其它生物学特性。可以通过将合适的修饰引入编码抗体的核苷酸序列中，或者通过肽合成来制备抗体的氨基酸序列变体。此类修饰包括例如对抗原结合分子的氨基酸序列内的残基的删除、和/或插入、和/或取代。可以进行删除、插入、和取代的任何组合以得到最终的构建体，只要最终的构建体拥有期望的特征，例如抗原结合特性。

取代、插入、和删除变体

在某些实施方案中，提供了具有一处或多处氨基酸取代的抗原结合分子变体。可以在 CDR 和 FR 进行取代。保守取代在表 2 中在“优选的取代”的标题下显示。更实质的变化在表 2 中在“示例性取代”的标题下提供，并且如下文参照氨基酸侧链类别进一步描述的。可以将氨基酸取代引入感兴趣的抗体中，并且对产物筛选期望的活性，例如保留/改善的抗原结合，降低的免疫原性，或改善的 ADCC 或 CDC。

表 2. 氨基酸的取代

原始残基	示例性取代	优选的取代
Ala(A)	Val；Leu；Ile	Val
Arg(R)	Lys；Gln；Asn	Lys
Asn(N)	Gln；His；Asp,Lys；Arg	Gln
Asp(D)	Glu；Asn	Glu
Cys(C)	Ser；Ala	Ser
Gln(Q)	Asn；Glu	Asn
Glu(E)	Asp；Gln	Asp
Gly(G)	Ala	Ala
His(H)	Asn；Gln；Lys；Arg	Arg
Ile(I)	Leu；Val；Met；Ala；Phe；正亮氨酸	Leu
Leu(L)	正亮氨酸；Ile；Val；Met；Ala；Phe	Ile
Lys(K)	Arg；Gln；Asn	Arg
Met(M)	Leu；Phe；Ile	Leu
Phe(F)	Trp；Leu；Val；Ile；Ala；Tyr	Tyr
Pro(P)	Ala	Ala
Ser(S)	Thr	Thr
Thr(T)	Ser	Ser
Trp(W)	Tyr；Phe	Tyr
Tyr(Y)	Trp；Phe；Thr；Ser	Phe
Val(V)	Ile；Leu；Met；Phe；Ala；正亮氨酸	Leu

依照常见的侧链特性，氨基酸可以如下分组:

(1) 疏水性的：正亮氨酸，Met，Ala，Val，Leu，Ile；

(2) 中性，亲水性的：Cys，Ser，Thr，Asn，Gln；

(3) 酸性的：Asp，Glu；

(4) 碱性的：His，Lys，Arg；

(5) 影响链取向的残基：Gly，Pro；

(6) 芳香族的：Trp，Tyr，Phe。

非保守取代会是指用一个类别的成员替换另一个类别的成员。

一类取代变体涉及取代亲本抗体（例如人源化或人抗体）的一个或多个 CDR 残基。一般地，经选择用于进一步研究的所得变体相对于亲本抗体会具有某些生物学特性（例如升高的亲和力，降低的免疫原性）的改变（例如改善），和/或会基本上保留亲本抗体的某些生物学特性。一种示例性的取代变体是亲和力成熟的抗体，可以例如使用基于噬菌体展示的亲和力成熟技术(如本文所述的那些技术)，便利地产生所述抗体。简言之，将一个或多个 CDR 残基突变，并将变体抗体在噬菌体上展示，并对其筛选特定的生物学活性（例如结合亲和力）。可以对 CDR 做出改变（例如取代），例如以改善抗体亲和力。可以对 CDR“热点”，即在体细胞成熟过程期间以高频率经历突变的密码子所编码的残基，和/或接触抗原的残基做出此类改变，同时对所得的变体 VH 或 VL 测试结合亲和力。在亲和力成熟的一些实施方案中，通过多种方法（例如易错 PCR、链改组、或寡核苷酸指导的诱变）的任一种，将多样性引入所选择用于成熟的可变基因中。然后，创建次级文库。然后，筛选文库以鉴定具有期望的亲和力的任何抗体变体。另一种引入多样性的方法涉及 CDR 定向的方法，其中将几个 CDR 残基（例如一次 4-6 个残基）随机化。可以例如使用丙氨酸扫描诱变或建模来特异性鉴定涉及抗原结合的 CDR 残基。

在某些实施方案中，取代、插入或缺失可以在一个或多个 CDR 内发生，只要此类变化不实质性降低抗体结合抗原的能力。例如，可以对 CDR 做出保守变化（例如保守取代，如本文中提供的），其不实质性降低结合亲和力。在上文提供的变体 VH 和 VL 序列的某些实施方案中，每个 CDR 是未改变的，或者含有不超过 1、2 或 3 处氨基酸取代。

一种可用于鉴定抗体中可以作为诱变靶位的残基或区域的方法称作“丙氨酸扫描诱变”。在这种方法中，鉴定一个残基或残基组（例如带电荷的残基，诸如 Arg、Asp、His、Lys 和 Glu），并且替换为中性或带负电荷的氨基酸（例如，Ala 或聚丙氨酸)，以确定该抗体与抗原的相互作用是否受影响。可以在对初始取代显示功能敏感性的氨基酸位置引入进一步的取代。此外，可通过研究抗原-抗体复合物的晶体结构来鉴定抗体与抗原间的接触点。这些接触残基及邻近残基可以作为取代候选物被打靶或消除。可以筛选变体以确定它们是否含有期望的特性。

氨基酸序列插入包括：在氨基和/或羧基端融合 1 个残基或长度为 100 或更多个残基的多肽；和单个或多个氨基酸残基的序列内插入。在末端插入的例子包括具有 N 端甲硫氨酰基残基的抗体。抗体分子的其它插入变体包括，在抗体的 N 或 C 端融合有酶（或延长抗体的血清半衰期的多肽）的融合物。

Fab 的改造

在一个方面，本披露的抗原结合分子中，所述特异性结合 CD3 的抗原结合模块和所述特异性结合 DLL3 的抗原结合模块两者之一是经替换的 Fab，所述经替换的 Fab 包含重链可变区、轻链可变区、Titin 链和 Obscurin 链。在经替换的 Fab 中，Fab 原有的 CH1 和 CL 被 Titin 链和 Obscurin 链所替换。示例性的，Titin 链和 Obscurin 链的序列如表 3-1 和表 3-2 所示。本披露中，Titin 链和 Obscurin 链与重轻可变区与轻链可变区的组合都是可以互换的。

表 3-1. Titin 链的氨基酸序列

编号	SEQ ID NO	氨基酸序列
T.0	192	GIPPKIEALPSDISIDEGKVLTVACAFTGEPTPEVTWSCGGRKIHSQEQGRFHIENTDDLTTLIIMDVQKQDGGLYTLSLGNEFGSDSATVNIHIRSI
T.1	193	GIPPKIECLPSDISIDEGKVLTVASAFTGEPTPEVTWSTGGRKIHSQEQGRFHIENTDDLTTLIIMDVQKQDGGLYTLSLGNEFGSDSATVNIHIRSI
T.2	194	GIPPKIEALPSDISIDEGKCLTVASAFTGEPTPEVTWSTGGRKIHSQEQGRFHIENTDDLTTLIIMDVQKQDGGLYTLSLGNEFGSDSATVNIHIRSI
T.3	195	GIPPKIEALPSDISIDEGKVLTVASCFTGEPTPEVTWSTGGRKIHSQEQGRFHIENTDDLTTLIIMDVQKQDGGLYTLSLGNEFGSDSATVNIHIRSI
T.4	196	GIPPKIEALPSDISIDEGKVLCVASAFTGEPTPEVTWSTGGRKIHSQEQGRFHIENTDDLTTLIIMDVQKQDGGLYTLSLGNEFGSDSATVNIHIRSI
T.5	197	KAGIRGIPPKIECLPSDISIDEGKVLTVASAFTGEPTPEVTWSTGGRKIHSQEQGRFHIENTDDLTTLIIMDVQKQDGGLYTLSLGNEFGSDSATVNIHIRSI
T.6	198	KAGIRGIPPKIEALPSDISIDEGKVLTVACAFTGEPTPEVTWSCGGRKIHSQEQGRFHIENTDDLTTLIIMDVQKQDGGLYTLSLGNEFGSDSATVNIHIRSI
T.7	199	GIPPKIECLPSDISIDEGKVLTVASAFTGEPTPEVTWSTGGRKIHSQEQGRFHIENTDDLTTLIISDVQKQDGGLYSLSLGNEFGSDSATVNIHIRSI
T.8	200	GIPPKIECLPSDISIDEGKVLTVASAFTGEPTPEVTWSTGGRKIHSQEQGRFHIENTDDLTTLIIKDVQRQDGGLYTLTLRNEFGSDSATVNIHIRSI
T.9	201	GIWPKIECLPIDLSIDEGKVLMVASAFTGEPTPEVTWSTGGRKIHSQEQGRFHIENTDDLTTLIIMDVQKQDGGLYTLSLGMEFGSDSATVNIHIRSI
T.10	202	GIPPKIECLPIDISIDEGKVLTVASAFTGEPTPEVTWSTGGRKIHSQEQGRFHIENTDDLTTLIIKDVQKQDGGLYTLTLRNEFGSDSATVNIHIRSI
T.11	203	GIPPKIECLPSDISIDEGKVLTVASAFTGEPTPEVTWSTSGKKISSEEGGRFHIESTEDLTTLIIMDVQKQDGGVYTLSLGNDLGSDSATVNIHIRSI
T.12	204	GIPPKIECLPSDISIDEGKVLTVASAFTGEPTPEVTWSTGGRKIHSEEGGRFHIESTEDLTTLIIMDVQKQDGGVYTLSLGNEFGSDSATVNIHIRSI
T.13	205	GIPPKIECLPSDISIDEGKVLTVASAFTGEPTPEVTWSTGGRKIHSQEQGRFHIESTEDLTTLIIMDVQKQDGGVYTLSLGNEFGSDSATVN

		IHIRSI
T.14	206	GIPPKIECLPSDISIDEGKVLTVASAFTGEPTPEVTWSTGGRKIHSQEQGRFHIESTEDLTTLIISDVQKQDGGLYSLSLGNEFGSDSATVNIHIRSI
T.15	207	KAGIRGIPPKIECLPSDISIDEGKVLTVASAFTGEPTPEVTWSTGGRKIHSQEQGRFHIESTEDLTTLIISDVQKQDGGLYSLSLGNEFGSDSATVNIHIRSI
T.16	208	GIPPKIECLPIDISIDEGKVLTVASAFTGEPTPEVTWSTGGRKIHSQEQGRFHIENTDDSTTLTIKDVQKQDGGLYTLTLRNEFGSDSATVNIHIRSI
T.17	209	GIPPKIECLPIDISIDEGKCLTVASAFTGEPTPEVTWSTGGRKIHSQEQGRFHIENTDDSTTLTIKDVQKQDGGLYTLTLRNEFGSDSATVNIHIRSI
T.18	210	GIPPKIECLPIDISIDEGKVLTVASCFTGEPTPEVTWSTGGRKIHSQEQGRFHIENTDDSTTLTIKDVQKQDGGLYTLTLRNEFGSDSATVNIHIRSI

表 3-2. Obscurin 链的氨基酸序列

编号	SEQ ID NO	氨基酸序列
O.0	211	SGAPRFLTRPKAFVVSVGKDATLSCQIVGNPTPQVSWEKDQQPVAAGARFRLAQDGDLYRLTILDLALGDSGQYVCRARNAIGEAFAAVGLQVDAEA
OL.0	212	QGSPPCFLRFPRPVRVVSGAEAELKCVVLGEPPPVVVWEKGGQQLAASERLSFPADGAEHGLLLTAALPTDAGVYVCRARNAAGEAYAAAAVTVLEPP
O.1	213	SGAPRFLTRPKAFVVSVGKDATLSCQIVGNPTPQVSWEKDQQPVAAGARFRLAQDGDLYRLTILDLALGDSGQYVCRARNAIGEAFACVGLQVDAEA
O.2	214	SGCPRFLTRPKAFVVSVGKDATLSCQIVGNPTPQVSWEKDQQPVAAGARFRLAQDGDLYRLTILDLALGDSGQYVCRARNAIGEAFAAVGLQVDAEA
O.3	215	SGAPRFLTCPKAFVVSVGKDATLSCQIVGNPTPQVSWEKDQQPVAAGARFRLAQDGDLYRLTILDLALGDSGQYVCRARNAIGEAFAAVGLQVDAEA
O.4	216	SGAPRFLTRPKAFVVSVGKDATLSSQIVGNPTPQVSWEKDQQPVAAGARFRLAQDGDLYRLTILDLALGDSGQYVSRARNAIGEAFACVGLQVDAEA
O.5	217	SGCPRFLTRPKAFVVSVGKDATLSSQIVGNPTPQVSWEKDQQPVAAGARFRLAQDGDLYRLTILDLALGDSGQYVSRARNAIGEAFAAVGLQVDAEA
O.6	218	SGAPRFLTCPKAFVVSVGKDATLSSQIVGNPTPQVSWEKDQQPVAAGARFRLAQDGDLYRLTILDLALGDSGQYVSRARNAIGEAFAAVGLQVDAEA
O.7	219	SGAPRFKTRPKAFVVSVGKDATLSSQIVGNPTPQVSWEKDQQPVAAGARFRLAQDGDLYRLKILDLALGDSGQYVSRARNAIGEAFACVGLQVDAEA
O.8	220	SGAPRFKTRPKAFVVSVGKDATLSSQIVGNPTPQVSWEKDQQPVAAGARFRLAQDGDLYRLHILDLALGDSGQYVSRARNAIGEAFACVGLQVDAEA
O.9	221	SGAPRFLTRPLAFVVSVGKDATLSSQIVGNPTPQVSWEKDQQPVAAGARFRLAQDGDLYRLKILDLALGDSGQYVSRARNAIGEAFACVGLQVDAEA
O.10	222	SGAPRFLTRPLAFVVSVGKDATLSSQIVGNPTPQVSWEKDQQPVA

		AGARFRLAQDGDLYRLHILDLALGDSGQYVSRARNAIGEAFACVG LQVDAEA
O.11	223	DQPQFSGAPRFLTRPKAFVVSVGKDATLSSQIVGNPTPQVSWEKD QQPVAAGARFRLAQDGDLYRLTILDLALGDSGQYVSRARNAIGEA FACVGLQVDAEA
O.12	224	DQPQFSGAPRFKTRPKAFVVSVGKDATLSSQIVGNPTPQVSWEKD QQPVAAGARFRLAQDGDLYRLKILDLALGDSGQYVSRARNAIGE AFACVGLQVDAEA
O.13	225	DQPQFSGAPRFKTRPKAFVVSVGKDATLSSQIVGNPTPQVSWEKD QQPVAAGARFRLAQDGDLYRLHILDLALGDSGQYVSRARNAIGE AFACVGLQVDAEA
O.14	226	DQPQFSGAPRFRTRPKAFVVSVGKDATLSSQIVGNPTPQVSWEKD QQPVAAGARFRLAQDGDLYRLKILDLALGDSGQYVSRARNAIGE AFACVGLQVDAEA
O.15	227	DQPQFSGAPRFRTRPKAFVVSVGKDATLSSQIVGNPTPQVSWEKD QQPVAAGARFRLAQDGDLYRLHILDLALGDSGQYVSRARNAIGE AFACVGLQVDAEA
O.16	228	DQPQFSGAPRFLTRPKAFVVSVGKDATLSCQIVGNPTPQVSWEKD QQPVAAGARFRLAQDGDLYRLTILDLALGDSGQYVCRARNAIGE AFAAVGLQVDAEA
OL.1	229	QGSPPEFLRFPRPVRVVSGAEAELKCVVLGEPPPVVVWEKGGQQL AASERLSFPADGAEHGLLLTAALPTDAGCYVCRARNAAGEAYAA AAVTVLEPP
OL.2	230	QGSPPEFLRFPRPVRVVSGAEAELKCVVLGEPPPVVVWEKGGQQL AASERLSFPADGAEHGLLLTAALPTDAGVYVCRARNAACEAYAA AAVTVLEPP
OL.3	231	QGSPPEFLRFPRPVRVVSGAEAELKCVVLGEPPPVVVWEKGGQQL AASERLSFPADGAEHGLLLTAALPTDAGVYVCRARNAAGECYAA AAVTVLEPP
OL.4	232	QGSPPEFLRFPRPVRVVSGAEAELKSVVLGEPPPVVVWEKGGQQL AASERLSFPADGAEHGLLLTAALPTDAGCYVSRARNAAGEAYAA AAVTVLEPP
OL.5	233	QGSPPEFLRFPRPVRVVSGAEAELKSVVLGEPPPVVVWEKGGQQL AASERLSFPADGAEHGLLLTAALPTDAGVYVSRARNAACEAYAA AAVTVLEPP
OL.6	234	QGSPPEFLRFPRPVRVVSGAEAELKSVVLGEPPPVVVWEKGGQQL AASERLSFPADGAEHGLLLTAALPTDAGVYVSRARNAAGECYAA AAVTVLEPP
O.17	235	SGAPRFLTRPKSYTVSVGKDASLSSQIVGNPTPQVSWEKDQQPVA AGARFRLAQDGDLYRLKILDLALGDSGQYVSRARNAIGEAFACVG LQVDAEA
O.18	236	SEAPRFLTRPLAFVVSEGKDATLSSQIVGDPPPEVTWEKDQQPITA GARFRLAQDGDVYRLEILDLQLSDSGQYVSRARNAIGEAFACVGL QVDAEG
O.19	237	SGAPRFLTRPLAFVVSVGKLAMLSSQIVGNPTPQVSWEKDQQPVA AGARFRLLQDGDLYRLKILDLALGDSGQYVSRARNAIGEAFACVG LQVDAEA
O.20	238	SGAPRFLTRPLAFVVSVGKDATLSSQIVGNPTPQVSWEKDKQPVT AGARFRLAQDGDLYRLKILDLQLSDSGQYVSRARNAIGEAFACLG LQVDAEA
O.21	239	SGAPRFLTRPLAFVVSVGKDATLSSQIVGNPTPQVSWEKDQLPVT AGARFRLAQDGDLYRLKILDLTLSDSGQYVSRARNAIGEAFACVG LEVGAEA
O.22	240	SGAPRFLTRPLSYVVSVGKDASLSSQIVGNPTPQVSWEKDQLPVTA GARFRLAQDGDLYRLKILDLQLSDSGQYVSRARNAIGEAFACVGL

		EVGAEA
O.23	241	DQPQFSGAPRFLTRPLSYVVSVGKDASLSSQIVGNPTPQVSWEKD QLPVTAGARFRLAQDGDLYRLKILDLQLSDSGQYVSRARNAIGEA FACVGLEVGAEA
O.24	242	SGAPRFLTRPKAFVVSVGKDATLSSQIVGNPFPQVSWEKDKQPVT AGVRFRLAQDGDLYRLKILDLQLSDSGQYVSRARNAIGEAFACLG LQVDAEA
O.25	243	SGAPRFLTRPKASVVSVGKDATLSSQIVGNPFPQVSWEKDKQPVT AGVRFRLAQDGDLYRLKILDLQLSDSGQYVSRARNAHGEAFACL GLQVDAEA
O.26	244	SGCPRFLTRPKASVVSVGKDATLSSQIVGNPFPQVSWEKDKQPVT AGVRFRLAQDGDLYRLKILDLQLSDSGQYVSRARNAHGEAFACL GLQVDAEA
O.27	245	SGAPRFLTCPKASVVSVGKDATLSSQIVGNPFPQVSWEKDKQPVT AGVRFRLAQDGDLYRLKILDLQLSDSGQYVSRARNAHGEAFACL GLQVDAEA
O.28	246	SGAPRFLTRPKASVVSVGKDATLSCQIVGNPFPQVSWEKDKQPVT AGVRFRLAQDGDLYRLKILDLQLSDSGQYVCRARNAHGEAFACL GLQVDAEA
O.29	247	SGCPRFLTRPKASVVSVGKDATLSCQIVGNPFPQVSWEKDKQPVT AGVRFRLAQDGDLYRLKILDLQLSDSGQYVCRARNAHGEAFACL GLQVDAEA
O.30	248	SGAPRFLTCPKASVVSVGKDATLSCQIVGNPFPQVSWEKDKQPVT AGVRFRLAQDGDLYRLKILDLQLSDSGQYVCRARNAHGEAFACL GLQVDAEA
O.31	249	SGAPRFLTRPKASVVSVGKDATLSSQIVGNPFPQVSWEKDKQPVT AGVRFRLAQDGDLYRLKILDCQLSDSGQYVSRARNAHGEAFACL GLQCDAEA
O.32	250	SGCPRFLTRPKASVVSVGKDATLSSQIVGNPFPQVSWEKDKQPVT AGVRFRLAQDGDLYRLKILDCQLSDSGQYVSRARNAHGEAFACL GLQCDAEA
O.33	251	SGAPRFLTCPKASVVSVGKDATLSSQIVGNPFPQVSWEKDKQPVT AGVRFRLAQDGDLYRLKILDCQLSDSGQYVSRARNAHGEAFACL GLQCDAEA

Fc 区的改造

在一个方面，本披露的抗原结合分子的 Fc 区包含一个或多个氨基酸取代，所述一个或多个氨基酸取代减少其与 Fc 受体的结合，例如其与 Fcγ 受体的结合，并且降低或消除效应子功能。天然 IgG Fc 区，具体地是 IgG_1 Fc 区或 IgG_4 Fc 区，可能导致本披露的抗原结合分子靶向表达 Fc 受体的细胞，而不是表达抗原的细胞。本披露改造的Fc区表现出降低的对Fc受体的结合亲和力和/或降低的效应子功能。在一些实施方案中，改造的 Fc 区与天然 Fc 区相比，对 Fc 受体的结合亲和力下降50%、80%、90%或 95%以上。在一些实施方案中，所述的 Fc 受体是 Fcγ 受体。在一些实施方案中，所述 Fc 受体是人 Fcγ 受体，例如 FcγRI、FcγRIIa、FcγRIIB、FcγRIIIa。在一些实施方案中，改造的 Fc 区与天然 Fc 区相比，对补体，如 C1q 的结合亲和力也降低。在一些实施方案中，改造的 Fc 区与天然 Fc 区相比，对新生儿 Fc 受体（FcRn）的结合亲和力不降低。在一些实施例中，改造的 Fc 区具有降低的效应子功能，所述降低的效应子功能可以包括但不限于以下中的一个或多个：

降低的补体依赖性细胞毒性（CDC）、降低的抗体依赖性细胞介导的细胞毒性（ADCC）、降低的抗体依赖性细胞吞噬（ADCP）、减少的细胞因子分泌、减少的免疫复合物介导的抗原呈递细胞的抗原摄取、减少的与 NK 细胞的结合、减少的与巨噬细胞的结合、减少的与单核细胞的结合、减少的与多形核细胞的结合、减少的直接信号传导诱导性细胞凋亡、降低的树突细胞成熟或减少的 T 细胞引发。对于 IgG1 Fc 区，在 238、265、269、270、297、327 和 329 等位置的氨基酸残基取代可降低的效应子功能。在一些实施方案中，所述 Fc 区是人 IgG1 Fc 区，并且在 234 和 235 位置的氨基酸残基为 A，编号依据为 EU 索引。对于 IgG_4 Fc 区，在 228 等位置的氨基酸残基取代可降低的效应子功能。

抗原结合分子还可包含二硫键改造，例如第一亚基的 354C 和第二亚基的 349C。为增加抗原结合分子的血清半衰期，可以引入 252Y、254T 和 256E 的突变。

当抗原结合分子包含与 Fc 区的两个亚基融合的不同结合模块，可能导致不期望的同源二聚化。为了提高产率和纯度，因此在本披露的抗原结合分子的 Fc 区中引入促进异源二聚化的修饰将是有利的。在一些实施方式中，本披露的 Fc 区包含根据杵臼（knob-into-hole，KIH）技术的改造，该方法涉及在第一亚基的界面处引入凸起结构（knob）以及在第二亚基的界面处引入孔结构（hole）。使得所述凸起结构可以定位在孔结构中，促进异源二聚体的形成并抑制同源二聚体的产生。凸起结构是通过用较大侧链（例如酪氨酸或色氨酸）取代来自第一亚基的界面的小氨基酸侧链而构建的。而孔结构是通过用较小的氨基酸侧链（例如丙氨酸或苏氨酸）取代大氨基酸侧链而在第二亚基的界面中创建的。凸起结构和孔结构通过改变编码多肽的核酸来制备，可选的氨基酸取代如下表所示：

表 4. KIH 突变组合

第一亚基	T366Y	T366W	T394W	F405W	T366W	T366Y F405A	T366W F405W	F405W Y407A
第二亚基	Y407T	Y407A	F405A	T394S	T366S L368A Y407V	T394W Y407T	T394W Y407A	T366W T394S

除了杵臼技术外，用于修饰重链的 CH3 结构域以实现异源二聚化的其他技术也是本领域中已知的，例如 WO1996027011A1、WO1998050431、EP1870459、WO2007110205、WO2009089004、WO2010129304、WO201190754、WO2011143545、WO2012058768、WO2013157954 和 WO2013096291。

Fc 区的 C 末端可以是以氨基酸残基 PGK 结束的完整 C 末端；也可以是截短的 C 末端，例如在所述截短的 C 末端中去除了一个或两个 C 末端氨基酸残基。在一个优选的方面中，重链的 C 末端是以 PG 结束的缩短的 C 末端。因此，在一些实施方式中，完整抗体的组合物可以包括去除了所有 K447 残基和/或 G446+K447 残基的抗体群体。在一些实施方式中，完整抗体的组合物可以包括没有去除 K447

残基和/或 G446+K447 残基的抗体群体。在一些实施方式中，完整抗体的组合物具有带有和不带有 K447 残基和/或 G446+K447 残基的抗体混合物的抗体群体。

重组方法

抗原结合分子可以使用重组方法来产生。对于这些方法，提供编码抗原结合分子的一个或更多个分离的核酸。

在天然抗体、天然抗体片段或具有同源二聚体重链的双特异性抗体的情况下，需要两个核酸，一个用于轻链或其片段，一个用于重链或其片段。此类核酸编码包含抗体 VL 的氨基酸序列和/或包含抗体 VH 的氨基酸序列（例如抗体的轻链和/或重链）。这些核酸可以在相同的表达载体上或在不同的表达载体上。

在具有异二聚体重链的双特异性抗体的情况下，需要例如四个核酸，一个用于第一轻链，一个用于包含第一异源单体 Fc 区多肽的第一重链，一个用于第二轻链，并且一个用于包含第二异源单体 Fc 区多肽的第二重链。这四个核酸可包含在一个或更多个核酸分子或表达载体中，通常这些核酸位于两个或三个表达载体上，即一个载体可包含这些核酸中的多于一个。

在一个实施方案中，本披露提供了编码如前所述的抗体的分离的核酸。此类核酸可以独立地编码前述的任一多肽链。在另一方面中，本披露提供了包含此类核酸的一种或多种载体（例如表达载体）。在另一方面中，本披露提供了包含此类核酸的宿主细胞。在一个实施方案中，提供制备抗原结合分子的方法，其中所述方法包括，在适合抗体表达的条件下，培养包含编码所述抗体的核酸的宿主细胞，如上文所提供的，和任选地从宿主细胞（或宿主细胞培养基）回收所述抗体。

为了重组产生抗原结合分子，将编码蛋白的核酸分离并插入一个或更多个载体中，用于在宿主细胞中进一步克隆和/或表达。此类核酸可以使用常规程序容易地分离和测序（例如通过使用能够与编码抗体重链和轻链的基因特异性结合的寡核苷酸探针），或者通过重组方法产生或通过化学合成获得。

用于克隆或表达编码抗体的载体的适当宿主细胞包括本文描述的原核或真核细胞。例如，抗体可在细菌中产生，特别是当抗体不需要糖基化和 Fc 效应子功能时。在表达后，抗体可以在可溶级分中从细菌细胞糊状物分离，并且可进一步纯化。

除了原核生物以外，真核微生物诸如丝状真菌或酵母也是用于编码抗体的载体的合适的克隆或表达宿主，包括真菌和酵母菌株，其糖基化途径已经“人源化”，导致产生具有部分或完全人糖基化模式的抗体。适于表达（糖基化）抗体的合适的宿主细胞也可源自多细胞生物体（无脊椎动物和脊椎动物）；无脊椎动物细胞的例子包括植物和昆虫细胞。已经鉴定了许多杆状病毒株，其可与昆虫细胞联合使用，特别是用于草地贪夜蛾（*Spodoptera frugiperda*）细胞的转染；还可利用植物细胞培养物作为宿主，例如 US5959177、US 6040498、US6420548、US 7125978 和 US6417429；也可将脊椎动物细胞用作宿主，例如适应于在悬浮液中生长的哺

乳动物细胞系。适宜的哺乳动物宿主细胞系的其它例子是经 SV40 转化的猴肾 CV1 系（COS-7）；人胚肾系（293 或 293T 细胞）；幼仓鼠肾细胞（BHK）；小鼠塞托利（sertoli）细胞（TM4 细胞）；猴肾细胞（CV1）；非洲绿猴肾细胞（VERO-76）；人宫颈癌细胞（HELA）；犬肾细胞（MDCK）；水牛鼠（buffalo rat）肝细胞（BRL3A）；人肺细胞（W138）；人肝细胞（Hep G2）；小鼠乳房肿瘤（MMT 060562）；TRI 细胞；MRC 5 细胞；和 FS4 细胞。其它适宜的哺乳动物宿主细胞系包括中国仓鼠卵巢（CHO）细胞，包括 DHFR-CHO 细胞；以及骨髓瘤细胞系，如 Y0、NS0 和 Sp2/0。关于适合产生抗体的某些哺乳动物宿主细胞系的综述参见例如 Yazaki，P. 和 Wu，A.M.，*Methods in Molecular Biology*，Vol.248，Lo，B.K.C.（编），Humana Press，Totowa，NJ (2004)，第 255-268 页。

诊断与治疗组合物

在某些实施方案中，本披露提供的抗原结合分子可用于检测生物学样品中 DLL3 和/或 DLL3 的存在。在用于本文时，术语“检测”涵盖定量或定性检测。在某些实施方案中，生物学样品包含细胞或组织，诸如肿瘤组织。

在一个实施方案中，提供了在诊断或检测方法中使用的抗原结合分子。在又一方面，提供了检测生物学样品中 DLL3 和/或 DLL3 的存在的方法。在某些实施方案中，该方法包括在适宜条件下使生物学样品与抗原结合分子接触，并检测是否在检测试剂与抗原之间形成复合物。此类方法可以是体外或体内方法。在一个实施方案中，使用抗原结合分子来选择适合治疗的受试者，例如 DLL3 和/或 DLL3 是用于选择患者的生物标志物。

可使用本披露的抗原结合分子来诊断的示例性病症，例如肿瘤或癌症。

在某些实施方案中，提供了经标记的抗原结合分子。标记物包括但不限于直接检测的标记物或模块（诸如荧光、发色、电子致密、化学发光、和放射性标记物），和间接检测的模块（例如，经由酶反应或分子相互作用间接检测的模块，诸如酶或配体）。

在另外的方面，提供包含所述抗原结合分子的药物组合物，例如，用于以下任何治疗方法。在一个方面，药物组合物包含本文提供的任何抗原结合分子和药学上可接受的载体。在另一个方面，药物组合物包含本文提供的任何抗原结合分子和至少一种另外的治疗剂。

本披露所述的抗原结合分子的药物组合物通过以下制备：将具有所需纯度的此类抗原结合分子与一种或更多种任选的药学上可接受的载体混合，所述药物组合物为冻干组合物或水溶液的形式。用于体内施用的制剂一般是无菌的。无菌性可容易地实现，例如通过穿过无菌滤膜过滤。

治疗方法与施用途径

本文提供的任何抗原结合分子可用于治疗方法。

在又一个方面，本披露提供抗原结合分子在药物的制造或制备中的用途。在一个实施方案中，所述药物用于治疗增殖性疾病或肿瘤。并且所述药物是以对上述疾病的有效量的形式存在的。在一些实施方式中，所述有效量是单位日剂量或单位周剂量。在一个此类实施方案中，所述用途进一步包括向受试者施用有效量的至少一种另外的治疗剂（例如一种、两种、三种、四种、五种或六种另外的治疗剂）。根据任意以上实施方案的“受试者”可以是人。

在又一个方面，提供包含所述抗原结合分子的药物组合物，例如，其用于以上任何制药用途或治疗方法。在另一个实施方案中，药物组合物还包含至少一种另外的治疗剂。

本披露的抗原结合分子可单独使用或与其他试剂联合用于治疗。例如，本披露的抗原结合分子可与至少一种另外的治疗剂共同施用。在一些实施方案中，所述的另外的治疗剂是特异性结合 DLL3 和 CD28 的双特异性抗体。

本披露的抗原结合分子（和任何另外的治疗剂）可通过任何合适的手段施用，包括肠胃外、肺内和鼻内，并且如果需要局部治疗，则病灶内施用。肠胃外输注包括肌肉内、静脉内、动脉内、腹膜内或皮下施用。给药可以通过任何适当的途径，例如，通过注射，诸如静脉内或皮下注射，这部分取决于施用是短期的还是长期的。本文考虑多种给药时间方案，包括但不限于，单次或在多个时间点多次施用，推注施用和脉冲输注。

本披露的抗原结合分子将以符合良好医疗实践的方式配制、给药和施用。在此背景下考虑的因素包括所治疗的具体病症、所治疗的具体哺乳动物、个体患者的临床状况、病症的起因、试剂的递送部位、施用方法、施用时间安排以及医学从业者已知的其他因素。抗原结合分子无需但任选地与目前用于预防或治疗所述病症的一种或更多种试剂一起配制。此类其它试剂的有效量取决于药物组合物中存在的抗原结合分子的量、病症或治疗的类型以及上文讨论的其它因素。这些通常以与本文所述相同的剂量和施用路径使用，或以本文所述剂量的约 1 至 99％使用，或以任何剂量使用，并通过经验/临床确定为合适的任何途径使用。

为了预防或治疗疾病，本披露的抗原结合分子（当单独使用或与一种或更多种其他另外的治疗剂组合使用时）的适当的剂量将取决于待治疗的疾病的类型，治疗分子的类型，疾病的严重性和病程，是为预防还是治疗目的施用，之前的治疗，患者的临床病史和对治疗分子的响应，和主治医师的判断。治疗分子恰当地以一次或经过一系列治疗施用于患者。取决于疾病的类型和严重性，约 1μg/kg 至 15mg/kg 的抗原结合分子可以是用于施用至患者的初始候选剂量，不管例如是通过一次或更多次分开的施用还是通过连续输注。一种典型的每日剂量可能在约 1μg/kg 至 100mg/kg 或更多的范围内，这取决于上文提及的因素。相应的，以 50kg 体重为例，示例性的单位日剂量为 50μg -5g。

制品（药盒）

在本披露的另一方面中，提供一种制品，所述制品包含可用于治疗、预防和/或诊断上述病症的材料。该制品包含容器和在容器上或与容器联合的标签或包装插页（package insert）。合适的容器包括，例如，瓶子、管形瓶、注射器、IV 溶液袋等。容器可以自各种材料诸如玻璃或塑料形成。容器装有单独或与另一种组合物组合有效治疗，预防和/或诊断疾患的组合物，并且可具有无菌的存取口（例如，容器可以是具有由皮下注射针可刺穿的塞子的静脉内溶液袋或管形瓶）。组合物中的至少一种活性试剂是本披露的抗原结合分子。标签或包装插页指示使用该组合物是来治疗选择的病况。此外，制品可以包含：(a) 其中装有组合物的第一容器，其中所述组合物包含本披露的抗原结合分子；和 (b)其中装有组合物的第二容器，其中所述组合物包含另外的细胞毒性剂或其他方面的治疗剂。本披露的该实施方案中的制品可进一步包含包装插页，所述包装插页指示所述组合物可以用于治疗特定病况。备选地，或另外地，制品可进一步包含第二（或第三）容器，所述第二（或第三）容器包含药学上可接受的缓冲液。从商业和用户立场，它可进一步包括所需的其他材料，包括其他缓冲剂、稀释剂、滤器、针头和注射器。

实施例与测试例

以下结合实施例和测试例进一步描述本披露，但这些实施例和测试例并非限制着本披露的范围。本披露实施例和测试例中未注明具体条件的实验方法，通常按照常规条件，如冷泉港的抗体技术实验手册，分子克隆手册；或按照原料或商品制造厂商所建议的条件。未注明具体来源的试剂，为市场购买的常规试剂。

实施例 1. 含有 Titin 链/Obscurin 链的抗原结合分子

本披露的 Titin 链/Obscurin 链可以来源于任意适宜的多肽，包括来源于 WO2021139758（通过援引完整收入本文）和 CN202110527339.7 及将其作为优先权文件的专利（通过援引完整收入本文）中的多肽。构建双特异性抗体，其中 CL 为 WO2021139758 中的 kappa 轻链恒定区，Titin 链和 Obscurin 链的氨基酸序列见表 3-1 和表 3-2，连接子序列包括 GGGGS（SEQ ID NO：147）、ASTKG（SEQ ID NO：255）或 RTVAS（SEQ ID NO：256），本实施例中的 Fc1、Fc2、CH1 的氨基酸序列如下所示。

> 实施例 1-Fc1（knob，SEQ ID NO：143）

DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

> 实施例 1-Fc2（hole，SEQ ID NO：144）

DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF
NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEW
ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN
HYTQKSLSLSPGK

> 实施例 1-CH1（SEQ ID NO：141）。

1.1 DI 双特异性抗体

参照 WO2021139758 的实施例 5，构建抗 hNGF 和 hRANKL 的 DI 双特异性抗体：DI-2 至 DI-20，其包含如下所述的第一重链、第二重链、第一轻链和第二轻链：

第一重链：从 N 端到 C 端依次为：[VH1-I]-[连接子 1]-[Obscurin 链]-[Fc2]，

第一轻链：从 N 端到 C 端依次为：[VL1-I]-[连接子 2]-[Titin 链]，

第二重链：从 N 端到 C 端依次为：[VH2-D]-[CH1]-[Fc1]，和

第二轻链：从 N 端到 C 端依次为：[VL2-D]-[CL]；

其中，VH1-I 和 VL1-I 分别为 WO2021139758 中 I0 的重链可变区和轻链可变区，VH2-D 和 VL2-D 分别为 WO2021139758 中 D0 的重链可变区和轻链可变区。本实施例中 DI 双特异性抗体中 Obscurin 链、Titin 链、连接子 1、连接子 2 结构见下表 5。

表 5. DI 双特异性抗体中 Obscurin 链/ Titin 链和连接子对应表

编号	第一重链		第一轻链	
	Obscurin 链	连接子 1	Titin 链	连接子 2
DI-2	O.20	GGGGS	T.10	GGGGS
DI-3	O.25	GGGGS	T.16	GGGGS
DI-4	O.26	GGGGS	T.17	GGGGS
DI-5	O.27	GGGGS	T.18	GGGGS
DI-6	O.28	GGGGS	T.16	GGGGS
DI-7	O.29	GGGGS	T.17	GGGGS
DI-8	O.30	GGGGS	T.18	GGGGS
DI-9	O.31	GGGGS	T.16	GGGGS
DI-10	O.32	GGGGS	T.17	GGGGS
DI-11	O.33	GGGGS	T.18	GGGGS
DI-12	O.25	ASTKG	T.16	RTVAS
DI-13	O.26	ASTKG	T.17	RTVAS
DI-14	O.27	ASTKG	T.18	RTVAS
DI-15	O.28	ASTKG	T.16	RTVAS
DI-16	O.29	ASTKG	T.17	RTVAS
DI-17	O.30	ASTKG	T.18	RTVAS
DI-18	O.31	ASTKG	T.16	RTVAS
DI-19	O.32	ASTKG	T.17	RTVAS
DI-20	O.33	ASTKG	T.18	RTVAS

注：表格中 Titin 链和 Obscurin 链的编号见表 3-1 和表 3-2。

采用 WO2021139758 的测试例 4 中的方法检测 DI-2 至 DI-20 双特异性抗体与其抗原的结合活性。对抗体进行热稳定性研究。研究方法：用 PBS 将抗体的浓度稀释至 5 mg/mL，采用高通量微分扫描荧光仪（UNCHAINED，规格型号：Unit）测定其热稳定性。实验结果表明，改造后的双特异性抗体对抗原的结合活性没有显著变化；并且，与 DI-2 相比，DI-4 至 DI-8、DI-10 至 DI-16、DI-20 的 Tm1 (°C)、Tonset (°C)有明显的提升，双特异性抗体的热稳定性更优。

表 6. DI 双特异性抗体的结合活性检测

编号	RANKL	NGF	编号	RANKL	NGF
	EC50(nM)			EC50(nM)	
DI-2	0.3832	6.633	DI-12	0.4125	6.5156
DI-3	0.3613	5.7730	DI-13	0.4440	5.5420
DI-4	0.3959	6.2930	DI-14	0.4182	3.2610
DI-5	0.3290	6.1890	DI-15	0.2206	5.2800
DI-6	0.2509	5.6720	DI-16	0.1474	5.5140
DI-7	0.2557	6.6430	DI-17	0.2329	6.7270
DI-8	0.3643	7.6250	DI-18	0.2662	5.9080
DI-9	0.2944	8.4950	DI-19	0.1843	5.9280
DI-10	0.3460	7.1660	DI-20	0.3184	6.4250
DI-11	0.3721	10.9600			

表 7. DI 双特异性抗体的热稳定性实验结果

编号	Tm1 (°C)	Tonset (°C)	编号	Tm1 (°C)	Tonset (°C)
DI-2	55.6	48.3	DI-11	57.35	-
DI-4	60.1	52.493	DI-12	59.9	51.726
DI-5	61	51.967	DI-13	61	50.988
DI-6	60.8	53.012	DI-14	61.2	52.191
DI-7	60.34	52.003	DI-15	60.41	50.558
DI-8	60.61	50.425	DI-16	61.5	50.691
DI-10	60.2	52.766	DI-20	60.7	51.859

采用 10mM 乙酸，pH5.5，9%蔗糖的缓冲液配制含 DI 双特异性抗体的溶液，将溶液置于 40°C恒温箱中孵育四周，结束后将抗体浓度浓缩至孵育开始时浓度，观察溶液沉淀情况。实验结果表明，DI-2 双特异性抗体组溶液出现沉淀，DI-3 至 DI-7 相比 DI-2 具有更好的稳定性。

表 8. DI 双特异性抗体的沉淀

编号	开始浓度	第 4 周浓缩到浓度	溶液沉淀情况
DI-2	20 mg/ml	20 mg/ml	出现沉淀
DI-3	20 mg/ml	20 mg/ml	无沉淀
DI-4	60 mg/ml	60 mg/ml	无沉淀
DI-5	25 mg/ml	25 mg/ml	无沉淀

DI-6	60 mg/ml	60 mg/ml	无沉淀
DI-7	16 mg/ml	16 mg/ml	无沉淀

1.2 PL 双特异性抗体

构建抗 hPDL1 和 hCTLA4 的 PL 双特异性抗体：PL-1 至 PL-19，其包含如下所述的第一重链、第二重链、第一轻链和第二轻链：

第一重链：从 N 端到 C 端依次为：[VH1-P]-[连接子 1]-[Obscurin 链]-[Fc1]，

第一轻链：从 N 端到 C 端依次为：[VL1-P]-[连接子 2]-[Titin 链]，

第二重链：从 N 端到 C 端依次为：[VH2-L]-[CH1]-[Fc2]，和

第二轻链：从 N 端到 C 端依次为：[VL2-L]-[CL]；

其中，VH1-P 和 VL1-P 分别为 WO2020177733A1 中 h1831K 抗体的重链可变区和轻链可变区，VH2-L 和 VL2-L 的氨基酸序列如下所示。

> VH2-L（SEQ ID NO：257）

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYTMHWVRQAPGKGLEWVTFISYDGNNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAIYYCARTGWLGPFDYWGQGTLVTVSS

> VL2-L（SEQ ID NO：258）

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPWTFGQGTKVEIK。

本实施例中 PL 双特异性抗体中 Obscurin 链、Titin 链、连接子 1、连接子 2 结构见下表。

表 9. PL 双特异性抗体中 Obscurin 链/ Titin 链和连接子对应表

编号	第一重链		第一轻链	
	Obscurin 链	连接子 1	Titin 链	连接子 2
PL-1	O.20	GGGGS	T.10	GGGGS
PL-2	O.25	GGGGS	T.16	GGGGS
PL-3	O.26	GGGGS	T.17	GGGGS
PL-4	O.27	GGGGS	T.18	GGGGS
PL-5	O.28	GGGGS	T.16	GGGGS
PL-6	O.29	GGGGS	T.17	GGGGS
PL-7	O.30	GGGGS	T.18	GGGGS
PL-8	O.31	GGGGS	T.16	GGGGS
PL-9	O.32	GGGGS	T.17	GGGGS
PL-10	O.33	GGGGS	T.18	GGGGS
PL-11	O.25	ASTKG	T.16	RTVAS
PL-12	O.26	ASTKG	T.17	RTVAS
PL-13	O.27	ASTKG	T.18	RTVAS
PL-14	O.28	ASTKG	T.16	RTVAS
PL-15	O.29	ASTKG	T.17	RTVAS

PL-16	O.30	ASTKG	T.18	RTVAS
PL-17	O.31	ASTKG	T.16	RTVAS
PL-18	O.32	ASTKG	T.17	RTVAS
PL-19	O.33	ASTKG	T.18	RTVAS

注：表格中 Titin 链和 Obscurin 链的编号见表 3-1 和表 3-2。

参照 WO2021139758 中测试例 4 中的 ELISA 方法检测 PL 双特异性抗体的结合活性，其中 hPDL1、hCTLA4 抗原购自：Sino biology。对抗体进行热稳定性研究。方法：用 PBS 将抗体的浓度稀释至 1.4-3 mg/mL，采用高通量微分扫描荧光仪（UNCHAINED，规格型号：Unit）测定其热稳定性。实验结果表明，PL 双特异性抗体对抗原仍具有良好的结合活性；并且，与 PL-1 相比，PL-2 至 PL-19 的 Tm1 (°C)、Tagg 266 (°C)、Tonset (°C)有明显的提升，双特异性抗体的热稳定性更优。

表 10. PL 双特异性抗体的结合活性检测

编号	hPDL1	hCTLA4	编号	hPDL1	hCTLA4
	EC50(nM)			EC50(nM)	
PL-1	1.6	16.5	PL-11	0.6	5.6
PL-2	0.5	8.0	PL-12	0.5	8.0
PL-3	0.6	7.9	PL-13	0.5	4.4
PL-4	0.7	6.5	PL-14	1.3	6.0
PL-5	0.7	6.7	PL-15	1.4	3.2
PL-6	0.8	5.3	PL-16	1.7	34.9
PL-7	0.5	7.3	PL-17	1.4	6.2
PL-8	1.4	14.5	PL-18	1.6	6.7
PL-9	0.6	5.5	PL-19	1.6	6.5
PL-10	0.6	6.9			

表 11. PL 双特异性抗体的热稳定性实验结果

编号	Tm1 (°C)	Tagg 266 (°C)	Tonset (°C)	编号	Tm1 (°C)	Tagg 266 (°C)	Tonset (°C)
PL-1	61.64	64.82	52.566	PL-11	65.88	-	57.976
PL-2	66.20	66.55	58.317	PL-12	65.54	67.94	-
PL-3	64.07	68.28	57.661	PL-13	71.85	68.17	58.581
PL-4	70.71	67.29	56.246	PL-14	74.18	69.42	58.589
PL-5	74.56	68.11	58.407	PL-15	70.96	69.91	58.622
PL-6	70.43	70.12	61.069	PL-16	63.48	68.98	58.702
PL-7	68.46	67.41	63.031	PL-17	70.15	69.86	56.193
PL-8	65.00	-	-	PL-18	-	69.43	-
PL-9	69.24	67.83	58.597	PL-19	-	69.52	57.766
PL-10	69.63	68.12	56.788				

1.3 HJ 双特异性抗体

构建抗 hIL5 和 hTSLP 的 HJ 双特异性抗体：HJ-3 至 HJ11，其包含如下所述的第一重链、第二重链、第一轻链和第二轻链：

第一重链：从 N 端到 C 端依次为：[VH1-H]-[连接子 1]-[Titin 链]-[Fc1]，

第一轻链：从 N 端到 C 端依次为：[VL1-H]-[连接子 2]-[Obscurin 链]，

第二重链：从 N 端到 C 端依次为：[VH2-J]-[CH1]-[Fc2]，和

第二轻链：从 N 端到 C 端依次为：[VL2-J]-[CL]；

其中，VH1-H 和 VL1-H 分别为 WO2021139758 中 H0 的重链可变区和轻链可变区，VH2-J 和 VL2-J 分别为 WO2021139758 中 J1 的重链可变区和轻链可变区。本实施例中 HJ 双特异性抗体中 Obscurin 链、Titin 链、连接子 1、连接子 2 结构见下表。

表 12. HJ 双特异性抗体中 Obscurin 链/Titin 链和连接子对应表

编号	第一重链		第一轻链	
	Titin 链	连接子 1	Obscurin 链	连接子 2
HJ-3	T.10	GGGGS	O.20	GGGGS
HJ-5	T.16	GGGGS	O.25	GGGGS
HJ-6	T.16	GGGGS	O.27	GGGGS
HJ-7	T.16	GGGGS	O.28	GGGGS
HJ-8	T.16	ASTKG	O.25	RTVAS
HJ-9	T.16	ASTKG	O.27	RTVAS
HJ-10	T.16	ASTKG	O.28	RTVAS
HJ-11	T.16	ASTKG	O.29	RTVAS

参照 WO2021139758 中测试例 4 中的方法检测 HJ 双特异性抗体的抗原结合活性。对抗体的热稳定性进行研究，方法：用 10mM 乙酸 pH5.5、9%蔗糖的缓冲液配制 HJ 双特异性抗体稀释溶液，然后通过超滤浓缩的方法将双特异性抗体浓缩，获得不同浓度的 HJ 双特异性抗体溶液（HJ 双特异性抗体的浓度见表 13-2），然后将浓缩溶液置于 40℃恒温箱中孵育，第 0 天（也即 40℃孵育开始前，D0），第 7 天（40℃孵育第 7 天，D7），第 14 天（40℃孵育第 14 天，D14），第 21 天（40℃孵育第 21 天，D21）和第 28 天（40℃孵育第 28 天，D28）检测样品的 SEC 纯度，40℃孵育 28 天后，马上取样检测样品 CE-SDS 纯度。实验结果表明，本披露构建的 HJ 双特异性抗体对抗原的结合活性没有显著变化；并且，与 HJ-3 相比，HJ-5 至 HJ-11 双特异性抗体的热稳定性更优。

表 13-1. HJ 双特异性抗体的结合活性检测

编号	hIL5	hTSLP	编号	hIL5	hTSLP
	EC50(nM)			EC50(nM)	
HJ-3	17.38	3.234	HJ-8	18.74	3.332
HJ-5	15.96	2.639	HJ-9	10.86	3.184

HJ-6	37.05	2.884	HJ-10	20.81	3.173
HJ-7	17.69	2.182	HJ-11	9.464	3.005

表 13-2. HJ 双特异性抗体加速稳定性实验结果

编号	D0 浓度（mg/mL）	D0 SEC 纯度（%）	D28 SEC 纯度（%）	D28△ SEC 纯度（%）	D28 非还原 CE-SDS 纯度（%）
HJ-3	50	98	84	14	67
HJ-5	60.8	98.09	93.86	4.23	82.93
HJ-6	54	98.14	89.68	8.46	80.76
HJ-7	56.8	97.7	92.72	4.98	85.47
HJ-8	62.6	93.39	84.28	9.11	73.03
HJ-9	53.5	90.01	85.93	4.08	80.32
HJ-10	69.8	90.9	88.31	2.59	80.4
HJ-11	50.4	92.55	90.89	1.66	82.96

实施例 2. DLL3 抗原及检测用蛋白和稳转细胞株的制备

2.1 高表达 DLL3 的细胞株构建

包含 SEQ ID NO：1-2 的 pCDH 慢病毒表达载体质粒（由 GENEWIZ 公司合成），pCDH 质粒分别与 pVSVG，pCMV 慢病毒包装载体用 Lipofectamine 3000(Invitrogen, L3000015)转染试剂转染至 293T 细胞(中科院细胞库, GNHu17)中，收集含有病毒的培养基上清，过滤并进行超高速离心，弃去上清后，用 0.2mL 无菌 PBS 重悬。使用浓缩后的病毒分别感染中国仓鼠卵巢细胞 CHO-s（Invitrogen, R80007），DMS53(ATCC, CRL-2062)和 H82(ATCC, HTB-175)，经嘌呤霉素（puromycin）筛选两至三周，再进行 FACS 单细胞分选。将挑选出的单克隆细胞株扩大培养，冻存，以便后续实验。

包含表达 LUC 和 GFP 基因的 pCDH-CMV-MCS-EF1-puro 慢病毒表达载体质粒（由 GENEWIZ 公司合成），pCDH 质粒分别与 pVSVG，pCMV 慢病毒包装载体用 Lipofectamine 3000(Invitrogen, L3000015)转染试剂转染至 293T 细胞(中科院细胞库, GNHu17)中，收集含有病毒的培养基上清，过滤并进行超高速离心，弃去上清后，用 0.2mL 无菌 PBS 重悬。使用浓缩后的病毒分别感染 SHP77（ATCC, CRL-2195），H1184(ATCC，CRL-5858)，H460(中国科学院细胞库，TCHu205)经嘌呤霉素（puromycin）筛选两至三周，再进行 FACS 单细胞分选。将挑选出的单克隆细胞株扩大培养，冻存，以便后续实验。

使用的相关蛋白序列如下：

1.人 DLL3 全长蛋白（SEQ ID NO: 1）：

MVSPRMSGLLSQTVILALIFLPQTRPAGVFELQIHSFGPGPGPGAPRSPCSAR
LPCRLFFRVCLKPGLSEEAAESPCALGAALSARGPVYTEQPGAPAPDLPLPDGLL

QVPFRDAWPGTFSFIIETWREELGDQIGGPAWSLLARVAGRRRLAAGGPWARD
IQRAGAWELRFSYRARCEPPAVGTACTRLCRPRSAPSRCGPGLRPCAPLEDECE
APLVCRAGCSPEHGFCEQPGECRCLEGWTGPLCTVPVSTSSCLSPRGPSSATTGC
LVPGPGPCDGNPCANGGSCSETPRSFECTCPRGFYGLRCEVSGVTCADGPCFNG
GLCVGGADPDSAYICHCPPGFQGSNCEKRVDRCSLQPCRNGGLCLDLGHALRC
RCRAGFAGPRCEHDLDDCAGRACANGGTCVEGGGAHRCSCALGFGGRDCRER
ADPCAARPCAHGGRCYAHFSGLVCACAPGYMGARCEFPVHPDGASALPAAPP
GLRPGDPQRYLLPPALGLLVAAGVAGAALLLVHVRRRGHSQDAGSRLLAGTPE
PSVHALPDALNNLRTQEGSGDGPSSSVDWNRPEDVDPQGIYVISAPSIYAREVA
TPLFPPLHTGRAGQRQHLLFPYPSSILSVK

2. 食蟹猴 DLL3 全长蛋白（SEQ ID NO: 2）：

MVSPRMSRLLSQTVILALIFIPQARPAGVFELQIHSFGPGPGPGAPRSPCSAR
GPCRLFFRVCLKPGLSEEAAESPCALGAALSARGPVYTEQPEAPAPDLPLPNGLL
QVPFRDAWPGTFSLIIETWREELGDQIGGPAWSLLARVTRRRRLAAGGPWARDI
QRAGAWELRFSYRARCELPAVGTACTRLCRPRSAPSRCGPGLRPCAPLEDECEA
PPVCRAGCSLEHGFCEQPGECRCLEGWTGPLCMVPVSTSSCLGLRGPSSTTTGC
LVPGPGPCDGNPCANGGSCSETPGSFECTCPRGFYGLRCEVSGVTCADGPCFNG
GLCVGGADPDSAYICHCPPGFQGSNCEKRVDRCSLQPCRNGGLCLDLGHALRC
RCRAGFAGPRCEHDLDDCAGRACANGGTCVEGGGAHRCSCALGFGGRNCRER
ADPCAARPCAHGGRCYAHFSGLVCACAPGYMGARCEFPVHPDGVSALPAAPP
GLRPGDPQRYLLPPALGLLVAAGVAGAALLLVHVRRRGHAQDAGSRLLAGTP
EPSVHALPDALNNLRTQEGPGDVPSSSVDWNRPEDVDSRGIYVISAPSIYAREV
AMPLFPPLHTGRAGQRQNLLFPFPSSILSVK

3. 大鼠 DLL3 全长蛋白（SEQ ID NO: 3）：

MVSLQVSSLPQTLILAFLLPQALPAGVFELQIHSFGPGPGPGTPRSPCNARG
PCRLFFRVCLKPGVSQEAAESLCALGAALSTSGPVYTEQPGVPAAALSLPDGLV
RVPFLDAWPGTFSLIIETWREQLGERAAGPAWNLLARVAGRRRLAAGAPWAR
DVQRTGAWELHFSYRARCEPPAVGAACARLCRSRSAPSRCGPGLRPCTPFPDEC
EAPRESLTVCRAGCSPEHGYCEEPDECHCLEGWTGPLCTVPVSTSSCLNSRVSG
PAGTGCLLPGPGPCDGNPCANGGSCSETPGSFECACPRGFYGPRCEVSGVTCAD
GPCFNGGLCVGGEDPDSAYVCHCPPAFQGSNCERRVDRCSLQPCQNGGLCLDL
GHALRCRCRAGFAGPRCEHDLDDCAGRACANGGTCVEGGGARRCSCALGFGG
RDCRERADPCASRPCAHGGRCYAHFSGLVCACAPGYMGVRCEFAVRPDGADA
VPAAPRGLRQADSQRFLLPPALGLLAAAALAGAALLLIHVRRRGPGRDTGTRL
LSGTREPSVHTLPDALNNLRLQDGAGDGPTSSADWNHPEDGDSRSIYVIPAPSIY
AREA

4. 小鼠 DLL3 全长蛋白（SEQ ID NO: 4）：

MVSLQVSPLSQTLILAFLLPQALPAGVFELQIHSFGPGPGLGTPRSPCNARG
PCRLFFRVCLKPGVSQEATESLCALGAALSTSVPVYTEHPGESAAALPLPDGLV
RVPFRDAWPGTFSLVIETWREQLGEHAGGPAWNLLARVVGRRRLAAGGPWAR
DVQRTGTWELHFSYRARCEPPAVGAACARLCRSRSAPSRCGPGLRPCTPFPDEC
EAPSVCRPGCSPEHGYCEEPDECRCLEGWTGPLCTVPVSTSSCLNSRVPGPAST
GCLLPGPGPCDGNPCANGGSCSETSGSFECACPRGFYGLRCEVSGVTCADGPCF
NGGLCVGGEDPDSAYVCHCPPGFQGSNCEKRVDRCSLQPCQNGGLCLDLGHA
LRCRCRAGFAGPRCEHDLDDCAGRACANGGTCVEGGGSRRCSCALGFGGRDC
RERADPCASRPCAHGGRCYAHFSGLVCACAPGYMGVRCEFAVRPDGADAVPA
APRGLRQADPQRFLLPPALGLLVAAGLAGAALLVIHVRRRGPGQDTGTRLLSG
TREPSVHTLPDALNNLRLQDGAGDGPSSSADWNHPEDGDSRSIYVIPAPSIYARE
DWLIQVLF

5. 人 DLL1 全长蛋白（SEQ ID NO: 5）：

MGSRCALALAVLSALLCQVWSSGVFELKLQEFVNKKGLLGNRNCCRGGA
GPPPCACRTFFRVCLKHYQASVSPEPPCTYGSAVTPVLGVDSFSLPDGGGADSA
FSNPIRFPFGFTWPGTFSLIIEALHTDSPDDLATENPERLISRLATQRHLTVGEEW
SQDLHSSGRTDLKYSYRFVCDEHYYGEGCSVFCRPRDDAFGHFTCGERGEKVC
NPGWKGPYCTEPICLPGCDEQHGFCDKPGECKCRVGWQGRYCDECIRYPGCLH
GTCQQPWQCNCQEGWGGLFCNQDLNYCTHHKPCKNGATCTNTGQGSYTCSC
RPGYTGATCELGIDECDPSPCKNGGSCTDLENSYSCTCPPGFYGKICELSAMTC
ADGPCFNGGRCSDSPDGGYSCRCPVGYSGFNCEKKIDYCSSSPCSNGAKCVDL
GDAYLCRCQAGFSGRHCDDNVDDCASSPCANGGTCRDGVNDFSCTCPPGYTG
RNCSAPVSRCEHAPCHNGATCHERGHRYVCECARGYGGPNCQFLLPELPPGPA
VVDLTEKLEGQGGPFPWVAVCAGVILVLMLLLGCAAVVVCVRLRLQKHRPPA
DPCRGETETMNNLANCQREKDISVSIIGATQIKNTNKKADFHGDHSADKNGFK
ARYPAVDYNLVQDLKGDDTAVRDAHSKRDTKCQPQGSSGEEKGTPTTLRGGE
ASERKRPDSGCSTSKDTKYQSVYVISEEKDECVIATEV

6. 人 DLL4 全长蛋白（SEQ ID NO: 6）：

MAAASRSASGWALLLLVALWQQRAAGSGVFQLQLQEFINERGVLASGRP
CEPGCRTFFRVCLKHFQAVVSPGPCTFGTVSTPVLGTNSFAVRDDSSGGGRNPL
QLPFNFTWPGTFSLIIEAWHAPGDDLRPEALPPDALISKIAIQGSLAVGQNWLLD
EQTSTLTRLRYSYRVICSDNYYGDNCSRLCKKRNDHFGHYVCQPDGNLSCLPG
WTGEYCQQPICLSGCHEQNGYCSKPAECLCRPGWQGRLCNECIPHNGCRHGTC
STPWQCTCDEGWGGLFCDQDLNYCTHHSPCKNGATCSNSGQRSYTCTCRPGY
TGVDCELELSECDSNPCRNGGSCKDQEDGYHCLCPPGYYGLHCEHSTLSCADS
PCFNGGSCRERNQGANYACECPPNFTGSNCEKKVDRCTSNPCANGGQCLNRGP

SRMCRCRPGFTGTYCELHVSDCARNPCAHGGTCHDLENGLMCTCPAGFSGRR
CEVRTSIDACASSPCFNRATCYTDLSTDTFVCNCPYGFVGSRCEFPVGLPPSFPW
VAVSLGVGLAVLLVLLGMVAVAVRQLRLRRPDDGSREAMNNLSDFQKDNLIP
AAQLKNTNQKKELEVDCGLDKSNCGKQQNHTLDYNLAPGPLGRGTMPGKFPH
SDKSLGEKAPLRLHSEKPECRISAICSPRDSMYQSVCLISEERNECVIATEV。

2. 2 抗原的制备

以人 DLL3（Uniprot, Q9NYJ7）、食蟹猴 DLL3（Uniprot, A0A2K5WSR4）和小鼠 DLL3（Uniprot, O88516）序列为模板，设计含有不同标签的人 DLL3 ECD 融合蛋白，分别克隆到 pTT5 载体上，经 293E 细胞表达后，获得抗原。相关蛋白氨基酸序列如下：

1. His-hDLL3(ECD)（SEQ ID NO: 7）：

METDTLLLWVLLLWVPGSTGHHHHHHHHHHGGGGGSGGGGSAGVFELQ
IHSFGPGPGPGAPRSPCSARLPCRLFFRVCLKPGLSEEAAESPCALGAALSARGP
VYTEQPGAPAPDLPLPDGLLQVPFRDAWPGTFSFIIETWREELGDQIGGPAWSLL
ARVAGRRRLAAGGPWARDIQRAGAWELRFSYRARCEPPAVGTACTRLCRPRS
APSRCGPGLRPCAPLEDECEAPLVCRAGCSPEHGFCEQPGECRCLEGWTGPLCT
VPVSTSSCLSPRGPSSATTGCLVPGPGPCDGNPCANGGSCSETPRSFECTCPRGF
YGLRCEVSGVTCADGPCFNGGLCVGGADPDSAYICHCPPGFQGSNCEKRVDRC
SLQPCRNGGLCLDLGHALRCRCRAGFAGPRCEHDLDDCAGRACANGGTCVEG
GGAHRCSCALGFGGRDCRERADPCAARPCAHGGRCYAHFSGLVCACAPGYM
GARCEFPVHPDGASALPAAPPGLRPGDPQRYL

注：点划线为信号肽序列，单划线为 his 标签和连接子，双划线为 DLL3 胞外区。

2. Fc-hDLL3(ECD)（SEQ ID NO: 8）：

METDTLLLWVLLLWVPGSTGEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS
TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF
LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSA
GVFELQIHSFGPGPGPGAPRSPCSARLPCRLFFRVCLKPGLSEEAAESPCALGAA
LSARGPVYTEQPGAPAPDLPLPDGLLQVPFRDAWPGTFSFIIETWREELGDQIGG
PAWSLLARVAGRRRLAAGGPWARDIQRAGAWELRFSYRARCEPPAVGTACTR
LCRPRSAPSRCGPGLRPCAPLEDECEAPLVCRAGCSPEHGFCEQPGECRCLEGW
TGPLCTVPVSTSSCLSPRGPSSATTGCLVPGPGPCDGNPCANGGSCSETPRSFEC
TCPRGFYGLRCEVSGVTCADGPCFNGGLCVGGADPDSAYICHCPPGFQGSNCE
KRVDRCSLQPCRNGGLCLDLGHALRCRCRAGFAGPRCEHDLDDCAGRACANG

GTCVEGGGAHRCSCALGFGGRDCRERADPCAARPCAHGGRCYAHFSGLVCAC
APGYMGARCEFPVHPDGASALPAAPPGLRPGDPQRYL

注：点划线为信号肽序列，单划线为 Fc 标签和连接子，双划线为 DLL3 胞外区。

3. hDLL3(ECD)-strep twin（SEQ ID NO: 9）：

METDTLLLWVLLLWVPGSTGAGVFELQIHSFGPGPGPGAPRSPCSARLPCR
LFFRVCLKPGLSEEAAESPCALGAALSARGPVYTEQPGAPAPDLPLPDGLLQVP
FRDAWPGTFSFIIETWREELGDQIGGPAWSLLARVAGRRRLAAGGPWARDIQR
AGAWELRFSYRARCEPPAVGTACTRLCRPRSAPSRCGPGLRPCAPLEDECEAPL
VCRAGCSPEHGFCEQPGECRCLEGWTGPLCTVPVSTSSCLSPRGPSSATTGCLVP
GPGPCDGNPCANGGSCSETPRSFECTCPRGFYGLRCEVSGVTCADGPCFNGGLC
VGGADPDSAYICHCPPGFQGSNCEKRVDRCSLQPCRNGGLCLDLGHALRCRCR
AGFAGPRCEHDLDDCAGRACANGGTCVEGGGAHRCSCALGFGGRDCRERADP
CAARPCAHGGRCYAHFSGLVCACAPGYMGARCEFPVHPDGASALPAAPPGLR
PGDPQRYLWSHPQFEKGGGSGGGSGGSAWSHPQFEK

注：点划线为信号肽序列，双划线为 DLL3 胞外区，单划线为 strep twin 标签。

4. cynoDLL3(ECD)-strep twin（SEQ ID NO: 10）：

METDTLLLWVLLLWVPGSTGAGVFELQIHSFGPGPGPGAPRSPCSARGPCR
LFFRVCLKPGLSEEAAESPCALGAALSARGPVYTEQPEAPAPDLPLPNGLLQVPF
RDAWPGTFSLIIETWREELGDQIGGPAWSLLARVTRRRRLAAGGPWARDIQRA
GAWELRFSYRARCELPAVGTACTRLCRPRSAPSRCGPGLRPCAPLEDECEAPPV
CRAGCSLEHGFCEQPGECRCLEGWTGPLCMVPVSTSSCLGLRGPSSTTTGCLVP
GPGPCDGNPCANGGSCSETPGSFECTCPRGFYGLRCEVSGVTCADGPCFNGGLC
VGGADPDSAYICHCPPGFQGSNCEKRVDRCSLQPCRNGGLCLDLGHALRCRCR
AGFAGPRCEHDLDDCAGRACANGGTCVEGGGAHRCSCALGFGGRNCRERADP
CAARPCAHGGRCYAHFSGLVCACAPGYMGARCEFPVHPDGVSALPAAPPGLR
PGDPQRYLWSHPQFEKGGGSGGGSGGSAWSHPQFEK

注：点划线为信号肽序列，双划线为 DLL3 胞外区，单划线为 strep twin 标签。

5. mouDLL3(ECD)-strep twin（SEQ ID NO: 11）：

METDTLLLWVLLLWVPGSTGAGVFELQIHSFGPGPGLGTPRSPCNARGPCR
LFFRVCLKPGVSQEATESLCALGAALSTSVPVYTEHPGESAAALPLPDGLVRVP
FRDAWPGTFSLVIETWREQLGEHAGGPAWNLLARVVGRRRLAAGGPWARDV
QRTGTWELHFSYRARCEPPAVGAACARLCRSRSAPSRCGPGLRPCTPFPDECEA
PSVCRPGCSPEHGYCEEPDECRCLEGWTGPLCTVPVSTSSCLNSRVPGPASTGCL
LPGPGPCDGNPCANGGSCSETSGSFECACPRGFYGLRCEVSGVTCADGPCFNGG
LCVGGEDPDSAYVCHCPPGFQGSNCEKRVDRCSLQPCQNGGLCLDLGHALRCR
CRAGFAGPRCEHDLDDCAGRACANGGTCVEGGGSRRCSCALGFGGRDCRERA

DPCASRPCAHGGRCYAHFSGLVCACAPGYMGVRCEFAVRPDGADAVPAAPRG
LRQADPQRFLWSHPQFEKGGGSGGGSGGSAWSHPQFEK

注：点划线为信号肽序列，双划线为 DLL3 胞外区，单划线为 strep twin 标签。

实施例 3. 抗人 DLL3 抗体的制备

3.1 抗人 DLL3 杂交瘤抗体的筛选和鉴定

通过杂交瘤技术制备针对人 DLL3 的单克隆抗体，免疫方式如下：

第一组，以 His-hDLL3(ECD)（SEQ ID NO：7）为免疫原，用 TiterMax® Gold Adjuvant（Sigma Cat No. T2684）与 Thermo Imject® Alum（Thermo Cat No. 77161）佐剂交叉免疫。抗原与佐剂（TiterMax® Gold Adjuvant）比例为 1:1，抗原与佐剂（Thermo Imject® Alum）比例为 3:1，50μg/只/次(首次免疫)，25μg/只/次（加强免疫）。用 ELISA 方法确定小鼠血清中的抗体滴度。

第二组小鼠的免疫抗原为 DLL3-CHO-s 细胞和 Fc-hDLL3(ECD)（SEQ ID NO：8），免疫方式为细胞和蛋白抗原交替免疫。细胞免疫按照每只小鼠腹膜内注射 0.1mL 生理盐水稀释至 10^8/mL 浓度的细胞液。Fc-hDLL3(ECD)抗原用 TiterMax® Gold Adjuvant（Sigma Cat No. T2684）与 Thermo Imject® Alum（Thermo Cat No. 77161）佐剂交叉免疫。抗原与佐剂（TiterMax® Gold Adjuvant）比例为 1:1，抗原与佐剂（Thermo Imject® Alum）比例为 3:1，50μg/只/次(首次免疫)，25μg/只/次（加强免疫）。用 ELISA 方法确定小鼠血清中的抗体滴度。

采用优化的电融合方法将脾淋巴细胞与骨髓瘤细胞 Sp2/0 细胞（ATCC® CRL-8287™）进行融合得到杂交瘤细胞。根据杂交瘤细胞生长密度，用结合 DLL3 蛋白的 ELISA 方法和结合 DLL3 CHO-s 细胞 FACS 方法进行杂交瘤培养上清检测。选择结合人 DLL3 蛋白，猴 DLL3 蛋白以及 DLL3 CHO-s 细胞，同时不结合野生型 CHO-s 细胞的克隆及时进行冻存扩增保种和一到二次亚克隆直至获得单细胞克隆。通过以上实验筛选得到杂交瘤克隆 mAb6，mAb98 和 mAb110。

将杂交瘤克隆扩培养，提取 RNA，利用 mouse-Ig 的简并引物进行反转录扩增（RT-PCR），最后得到抗体的可变区序列。

mAb6 重链可变区（SEQ ID NO: 12）：

EVQLQQSGPVLVKPGASVKMSCKASGYTFTDYYMNWVKQSHGKSLEWI
GIINPYSGVTIYNHKFKGKATLTVDKSSNTAYMELNSLTSEDSAVYYCARQDSL
LDYAMDYWGQGTSVTVSS

mAb6 轻链可变区（SEQ ID NO: 13）：

DILMTQSPSSMSVSLGDTVSITCHASQGISGNMGWLQQKPGKSFKGLIYHG
ANLEDGVPSRFSGSGSGADYSLTISSLESEDFADYYCVQYAQFPYTFGGGTKLEI
K

mAb98 重链可变区（SEQ ID NO: 14）：

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSDYGIHWVRQAPEKGLEWVA YISSGGYTIYYADTVKGRFTISRDNAKNTLFLQMTSLRSEDTAMYYCARGDYD DIFYTMDYWGQGTSVTVSS

mAb98 轻链可变区（SEQ ID NO: 15）：

DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASRDITKFLNWYQQKPDGTVKLLIYYTS RLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLDQEDIATYFCQQGNTLPWTFGGGTKLDIK

mAb110 重链可变区（SEQ ID NO: 16）：

EVQLQQSGPVLVKPGASVKMSCKTSGYTFTDYYMNWVKQSHGKSLEWIG IINPYNGGTSYTQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELNSLTSEDSTVYFCARHFYDS SYLTYSTMDYWGQGTSVTVSS

mAb110 轻链可变区（SEQ ID NO: 17）：

NIVMTQSPKSMSMSVGERVTLSCKASENVGIFVSWYQQKPKQSPKLLIYG ASNRYTGVPDRFTGSGSATDFTLTISSVQAEDLADYYCGQSHSYPLTFGTGTKL ELK。

3.2 免疫库筛选抗体的方案及抗体序列

将经免疫获得的小鼠脾细胞采用 Trizol 试剂提取总 RNA，并反转录合成 cDNA。以 cDNA 为模板采用简并引物扩增抗体的重轻链可变区序列，并将扩增的片段构建于优化的噬菌体展示载体，随后将构建完成的载体电击转化大肠杆菌 TG1 菌株，即获得 DLL3 免疫文库。将获得 DLL3 免疫文库包装噬菌体，采用生物素标记的人 DLL3 蛋白进行两轮文库筛选。将筛选获得的单克隆，接种于 96 孔板中包装噬菌体。采用 ELISA 检测可结合人 DLL3 蛋白和猴 DLL3 蛋白的噬菌体，并将对应的单克隆进行测序分析，最终获得抗 DLL3 的抗体的可变区序列。

mAb30 重链可变区（SEQ ID NO: 18）：

EVRLQQFGPVLVKPGASVKMSCKASGYTFTDYYMNWVKQSHGKSLEWIG IINPYNGDTSYNQKFRGKATLTVDKSSSTAYMELNSLTSEDSAVYYCARYHYG PHLEGYFDVWGTGTTLTVSS

mAb30 轻链可变区（SEQ ID NO: 19）：

DIVMTQSPKSMSMSVGERVTLSCKASENVGYVSWYQQKPEQSPKLLIYGA SNRYTGVPDRFTGSGSATDFTLTISSVQAEDLADYHCGQSYSYPLTFGSGTKLEI K。

表 14. 抗体的 CDR

抗体	名称	序列	序列编号
mAb6	HCDR1	DYYMN	SEQ ID NO：20
	HCDR2	IINPYSGVTIYNHKFKG	SEQ ID NO：21
	HCDR3	QDSLLDYAMDY	SEQ ID NO：22
	LCDR1	HASQGISGNMG	SEQ ID NO：23
	LCDR2	HGANLED	SEQ ID NO：24

	LCDR3	VQYAQFPYT	SEQ ID NO：25
mAb98	HCDR1	DYGIH	SEQ ID NO：26
	HCDR2	YISSGGYTIYYADTVKG	SEQ ID NO：27
	HCDR3	GDYDDIFYTMDY	SEQ ID NO：28
	LCDR1	RASRDITKFLN	SEQ ID NO：29
	LCDR2	YTSRLHS	SEQ ID NO：30
	LCDR3	QQGNTLPWT	SEQ ID NO：31
mAb110	HCDR1	DYYMN	SEQ ID NO：20
	HCDR2	IINPYNGGTSYTQKFKG	SEQ ID NO：32
	HCDR3	HFYDSSYLTYSTMDY	SEQ ID NO：33
	LCDR1	KASENVGIFVS	SEQ ID NO：34
	LCDR2	GASNRYT	SEQ ID NO：35
	LCDR3	GQSHSYPLT	SEQ ID NO：36
mAb30	HCDR1	DYYMN	SEQ ID NO：20
	HCDR2	IINPYNGDTSYNQKFRG	SEQ ID NO：37
	HCDR3	YHYGPHLEGYFDV	SEQ ID NO：38
	LCDR1	KASENVGYVS	SEQ ID NO：39
	LCDR2	GASNRYT	SEQ ID NO：35
	LCDR3	GQSYSYPLT	SEQ ID NO：40

注：VH/VL 的 CDR 的氨基酸残基由 Kabat 编号系统确定并注释。

将鼠抗体的重链可变区和轻链可变区分别克隆到包含 SEQ ID NO: 41 所示的人 IgG1 重链恒定区和 SEQ ID NO: 42 所示的 κ 轻链恒定区的 pTT5 载体质粒，然后转染 HEK293 细胞，得到了抗 DLL3 的嵌合抗体 M6CHI，M98CHI，M110CHI 和 P30CHI。

人 IgG1 重链恒定区（SEQ ID NO：41）：

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK

人 κ 轻链恒定区(hκ)(SEQ ID NO：42）：

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC。

实施例 4. 抗 DLL3 单克隆抗体的人源化

通过比对 Kabat 人类抗体重轻链可变区种系基因数据库，分别挑选同源性高的重、轻链可变区种系基因作为模板，将鼠源抗体的 CDR 分别嫁接（graft）到相应

的人源模板中，形成次序为FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4的可变区序列。并对可变区的某些氨基酸进行氨基酸取代，再与恒定区重组（示例性的，与SEQ ID NO：41所示的人IgG1重链恒定区和SEQ ID NO：42所示的人κ轻链恒定区），获得全长的人源化抗体。

4-1. mAb6抗体的人源化

mAb6抗体的人种系轻链模版为IGKV1-16*01或IGKV3-20*02和IGKJ4*01，人种系重链模版为IGHV1-3*01、IGHV7-4-1*02或IGHV3-73*01和IGHJ6*01。任选地，对人源化抗体的轻链可变区上第1、36、42、43、44、46、52、56、69、71、79、85和/或94位的氨基酸残基进行取代；和/或对人源化抗体的重链可变区上第1、27、30、38、43、48、67、68、69、71、73、75、76、93、56、58和/或5位的氨基酸残基进行取代。

表15. mAb6鼠源抗体的人源化模板及相应点突变

hu **VL**		hu **VH**	
VL1	Graft (IGKV1-16*01) + F36L, S46G	VH1	Graft(IGHV1-3*01) + Q1E, R71V, T73K
VL2	Graft(IGKV1-16*01) + F36L, S46G, T69A, F71Y	VH2	Graft(IGHV1-3*01) + Q1E, I69L, R71V, T73K, S76N
VL3	Graft(IGKV1-16*01) + F36L, A43S, P44F, S46G, T69A, F71Y	VH3	Graft(IGHV1-3*01) + Q1E, M48I, V67A, I69L, R71V, T73K, S76N
VL4	Graft(IGKV1-16*01) + F36L, S46G, T69A, F71Y, T85D	VH4	Graft(IGHV1-3*01) + Q1E, Q43K，I69L, R71V, T73K, S76N
VL5	Graft (IGKV1-16*01)	VH5	Graft(IGHV7-4-1*02) + Q1E, L71V, T73K, F69L
VL6	Graft(IGKV1-16*01) + F36L, S46G, T69A, F71Y, T85D +D56E	VH6	Graft(IGHV7-4-1*02) + Q1E, F69L, L71V, T73K, V75S, S76N
VL7	Graft(IGKV1-16*01) + F36L, S46G, T69A, F71Y, T85D +D56S	VH7	Graft(IGHV3-73*01) + F27Y, S30T, I69L, R71V, D73K,T93A
VL8	Graft(IGKV1-16*01) + F36L, S46G, T69A, F71Y, T85D +F94Y, D56E	VH8	Graft(IGHV1-3*01)
VL9	Graft(IGKV1-16*01) + F36L, S46G, T69A, F71Y, T85D +F94Y, D1N, A52R, D56E	VH9	Graft(IGHV7-4-1*02)
VL10	Graft(IGKV3-20*02)+ Y36L,Q42K,L46G,T69A,F71Y,E79Q,V85D + D56E	VH10	Graft(IGHV3-73*01)

VL11	Graft(IGKV3-20*02) + D56E	VH11	Graft(IGHV7-4-1*02) + Q1E, R38K, F69L, L71V, T73K,V75S, S76N
		VH12	Graft(IGHV7-4-1*02) + Q1E, V68A, F69L, L71V, T73K, V75S, S76N，
		VH13	Graft(IGHV7-4-1*02) + Q1E, F69L, L71V, T73K, V75S, S76N，R38K,V68A
		VH14	Graft(IGHV7-4-1*02) + Q1E, F69L, L71V, T73K, V75S, S76N，-V68A +I58T
		VH15	Graft(IGHV7-4-1*02) + Q1E, F69L, L71V, T73K, V75S, S76N , -V68A +V56S, V5Q
FR4	IGKJ4*01	FR4	IGHJ6*01

注：表中的氨基酸位置按照为 kabat 编号，F36L 表示依照 Kabat 编号系统，将 36 位 F 突变为 L 下同。

获得的 hu6 人源化抗体可变区的序列如下：

hu6 VH1(SEQ ID NO: 43)

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQRLEWMGIINPYSGVTIYNHKFKGRVTITVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARQDSLLDYAMDYWGQGTTVTVSS

hu6 VH2(SEQ ID NO: 44)

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQRLEWMGIINPYSGVTIYNHKFKGRVTLTVDKSANTAYMELSSLRSEDTAVYYCARQDSLLDYAMDYWGQGTTVTVSS

hu6 VH3(SEQ ID NO: 45)

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQRLEWIGIINPYSGVTIYNHKFKGRATLTVDKSANTAYMELSSLRSEDTAVYYCARQDSLLDYAMDYWGQGTTVTVSS

hu6 VH4(SEQ ID NO: 46)

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGKRLEWMGIINPYSGVTIYNHKFKGRVTLTVDKSANTAYMELSSLRSEDTAVYYCARQDSLLDYAMDYWGQGTTVTVSS

hu6 VH5(SEQ ID NO: 47)

EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQGLEWMGIINPYSGVTIYNHKFKGRFVLSVDKSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARQDSLLDYAMDYWGQGTTVTVSS

hu6 VH6(SEQ ID NO: 48)

EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQGLEWM
GIINPYSGVTIYNHKFKGRFV**L**S**V**D**K**S**SN**TAYLQISSLKAEDTAVYYCARQDSL
LDYAMDYWGQGTTVTVSS

hu6 VH7(SEQ ID NO: 49)

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASG**Y**TF**T**DYYMNWVRQASGKGLEWV
GIINPYSGVTIYNHKFKGRFT**L**S**V**D**K**SKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYC**A**RQDS
LLDYAMDYWGQGTTVTVSS

hu6VH8(SEQ ID NO: 50) (Graft IGHV1-3*01)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQRLEW
MGIINPYSGVTIYNHKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARQDS
LLDYAMDYWGQGTTVTVSS

hu6VH9(SEQ ID NO: 51) (Graft IGHV7-4-1*02)

QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQGLEWM
GIINPYSGVTIYNHKFKGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARQDSLL
DYAMDYWGQGTTVTVSS

hu6VH10(SEQ ID NO: 52) (Graft IGHV3-73*01)

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSDYYMNWVRQASGKGLEWV
GIINPYSGVTIYNHKFKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTRQDSL
LDYAMDYWGQGTTVTVSS

hu6VH11 (SEQ ID NO: 53)

EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWV**K**QAPGQGLEWM
GIINPYSGVTIYNHKFKGRFV**L**S**V**D**K**S**SN**TAYLQISSLKAEDTAVYYCARQDSL
LDYAMDYWGQGTTVTVSS

hu6VH12(SEQ ID NO: 54)

EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQGLEWM
GIINPYSGVTIYNHKFKGRF**AL**S**V**D**K**S**SN**TAYLQISSLKAEDTAVYYCARQDSL
LDYAMDYWGQGTTVTVSS

hu6VH13(SEQ ID NO: 55)

EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWV**K**QAPGQGLEWM
GIINPYSGVTIYNHKFKGRF**AL**S**V**D**K**S**SN**TAYLQISSLKAEDTAVYYCARQDSL
LDYAMDYWGQGTTVTVSS

hu6VH14(SEQ ID NO: 56)

EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQGLEWM
GIINPYSGVT**T**YNHKFKGRF**AL**S**V**D**K**S**SN**TAYLQISSLKAEDTAVYYCARQDSL
LDYAMDYWGQGTTVTVSS

hu6VH15(SEQ ID NO: 57)

EVQLQQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQGLEWM GIINPYSGSTIYNHKFKGRFALSVDKSSNTAYLQISSLKAEDTAVYYCARQDSLL DYAMDYWGQGTTVTVSS

hu6 VL1(SEQ ID NO: 58)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQGISGNMGWLQQKPGKAPKGLIYH GANLEDGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCVQYAQFPYTFGGGTKV EIK

hu6 VL2 (SEQ ID NO: 59)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQGISGNMGWLQQKPGKAPKGLIYH GANLEDGVPSRFSGSGSGADYTLTISSLQPEDFATYYCVQYAQFPYTFGGGTKV EIK

hu6 VL3 (SEQ ID NO: 60)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQGISGNMGWLQQKPGKSFKGLIYHG ANLEDGVPSRFSGSGSGADYTLTISSLQPEDFATYYCVQYAQFPYTFGGGTKVE IK

hu6 VL4 (SEQ ID NO: 61)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQGISGNMGWLQQKPGKAPKGLIYH GANLEDGVPSRFSGSGSGADYTLTISSLQPEDFADYYCVQYAQFPYTFGGGTKV EIK

hu6VL5 (SEQ ID NO: 62) (Graft IGKV1-16*01)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQGISGNMGWFQQKPGKAPKSLIYHG ANLEDGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCVQYAQFPYTFGGGTKVEI K

hu6VL6(SEQ ID NO: 63)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQGISGNMGWLQQKPGKAPKGLIYH GANLEEGVPSRFSGSGSGADYTLTISSLQPEDFADYYCVQYAQFPYTFGGGTKV EIK

hu6VL7(SEQ ID NO: 64)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQGISGNMGWLQQKPGKAPKGLIYH GANLESGVPSRFSGSGSGADYTLTISSLQPEDFADYYCVQYAQFPYTFGGGTKV EIK

hu6VL8(SEQ ID NO: 65)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQGISGNMGWLQQKPGKAPKGLIYH GANLEEGVPSRFSGSGSGADYTLTISSLQPEDFADYYCVQYAQYPYTFGGGTK VEIK

hu6VL9(SEQ ID NO: 66)

NIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQGISGNMGW**L**QQKPGKAPK**G**LIYH G**R**NLE**E**GVPSRFSGSGSG**A**D**Y**TLTISSLQPEDFA**D**YYCVQYAQ**Y**PYTFGGGTK VEIK

hu6VL10(SEQ ID NO: 67)

Graft(IGKV3-20*02)+ Y36L,Q42K,L46G,T69A,F71Y,E79Q,V85D + D56E

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCHASQGISGNMGW**L**QQKPG**K**APR**G**LIYHG ANLE**E**GIPARFSGSGSG**A**D**Y**TLTISRL**Q**PEDFA**D**YYCVQYAQFPYTFGGGTKVE IK

hu6VL11(SEQ ID NO: 68) Graft(IGKV3-20*02)+ D56E

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCHASQGISGNMGWYQQKPGQAPRLLIYHG ANLE**E**GIPARFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCVQYAQFPYTFGGGTKVEI K

注：单下划线部分为 CDR，双下划线处为氨基酸取代位点，其余部分为 FR 区，下同。

mAb6 的人源化抗体的 CDR 如下：

表 16. mAb6 人源化抗体的 CDR

可变区	CDR	序列	SEQ ID NO
hu6VH14	HCDR2	INPYSGVT**T**YNHKFKG	69
hu6VH15	HCDR2	INPYSG**S**TIYNHKFKG	70
hu6VL6/VL8/VL10/VL11	LCDR2	HGANLE**E**	71
hu6VL7	LCDR2	HGANLE**S**	72
hu6VL9	LCDR2	HG**R**NLE**E**	73
hu6VL8/VL9	LCDR3	VQYAQ**Y**PYT	74

3-2. mAb98 的人源化

mAb98 抗体的人种系轻链模版为 IGKV1-39*01 和 IGKJ4*01，人种系重链模版为 IGHV3-7*01 和 IGHJ6*01。任选地，对人源化抗体的轻链可变区上第 42、44 和/或 71 位的氨基酸残基进行取代；和/或对人源化抗体的重链可变区上第 34、57 和/或 98 位的氨基酸残基进行取代。

表 17. mAb98 鼠源抗体的人源化模板及相应点突变

hu98**VL**		hu98**VH**	
VL1	Graft(IGKV1-39*01)	VH1	Graft(IGHV3-7*01)
VL2	Graft(IGKV1-39*01) + P44V, F71Y	VH2	Graft(IGHV3-7*01) + D98E
VL3	Graft(IGKV1-39*01) + K42G,P44V,F71Y	VH3	Graft(IGHV3-7*01) + I34M, D98E
		VH4	Graft(IGHV3-7*01) + I57S, D98E
		VH5	Graft(IGHV3-7*01) + I34M, I57S, D98E
FR4	IGKJ4*01	FR4	IGHJ6*01

获得的 hu98 人源化抗体可变区的序列如下：

hu98VL1 Graft(IGKV1-39*01) (SEQ ID NO: 75)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRDITKFLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGNTLPWTFGGGTKVEIK

hu98VL2 Graft(IGKV1-39*01) + P44V, F71Y (SEQ ID NO: 76)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRDITKFLNWYQQKPGKA**V**KLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTD**Y**TLTISSLQPEDFATYYCQQGNTLPWTFGGGTKVEIK

hu98VL3 Graft(IGKV1-39*01) + K42G, P44V, F71Y(SEQ ID NO: 77)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRDITKFLNWYQQKPG**G**A**V**KLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTD**Y**TLTISSLQPEDFATYYCQQGNTLPWTFGGGTKVEIK

hu98VH1 Graft(IGHV3-7*01) (SEQ ID NO: 78)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGIHWVRQAPGKGLEWVAYISSGGYTIYYADTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGDYDDIFYTMDYWGQGTTVTVSS

hu98VH2 Graft(IGHV3-7*01) + D98E(SEQ ID NO: 79)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGIHWVRQAPGKGLEWVAYISSGGYTIYYADTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGDY**E**DIFYTMDYWGQGTTVTVSS

hu98VH3(SEQ ID NO: 80)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYG**M**HWVRQAPGKGLEWVAYISSGGYTIYYADTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGDY**E**DIFYTMDYWGQGTTVTVSS

hu98VH4(SEQ ID NO: 81)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGIHWVRQAPGKGLEWVAYISSGGYT**S**YYADTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGDY**E**DIFYTMDYWGQGTTVTVSS

hu98VH5(SEQ ID NO: 82)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYG**M**HWVRQAPGKGLEWVAYISSGGYT**S**YYADTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGDY**E**DIFYTMDYWGQGTTVTVSS。

表 18. hu98 的 CDR

可变区	CDR	序列	SEQ ID NO
hu98VH2/VH3/VH4/VH5	HCDR3	GDY**E**DIFYTMDY	83
hu98VH3/VH5	HCDR1	DYG**M**H	84
hu98VH4/VH5	HCDR2	YISSGGYT**S**YYADTVKG	85

3-3. mAb110 的人源化

mAb110 抗体的人种系轻链模版为 IGKV4-1*01 和 IGKJ2*01，人种系重链模版为 IGHV1-3*01 和 IGHJ6*01。任选地，对人源化抗体的轻链可变区上第 1、9、43、68 和/或 85 位的氨基酸残基进行取代；和/或对人源化抗体的重链可变区上第 1、24、44、71、73、54 和/或 55 位的氨基酸残基进行取代。

表 19. mAb110 鼠源抗体的人源化模板及相应点突变

hu110**VL**		hu110**VH**	
VL1	Graft(IGKV4-1*01) + P43S,G68A	VH1	Graft(IGHV1-3*01) + R71V,T73K + Q1E
VL2	Graft(IGKV4-1*01) + D1N, D9K, P43S, G68A,V85D	VH2	Graft(IGHV1-3*01) + A24T,R44S,R71V,T73K + Q1E
VL3	Graft(IGKV4-1*01)	VH3	Graft(IGHV1-3*01) + A24T,R44S,R71V,T73K + Q1E,N54Q
		VH4	Graft(IGHV1-3*01) + A24T,R44S,R71V,T73K + Q1E,N54S
		VH5	Graft(IGHV1-3*01) + A24T,R44S,R71V,T73K + Q1E,N54T
		VH6	Graft(IGHV1-3*01) + A24T,R44S,R71V,T73K + Q1E,G55V
		VH7	Graft(IGHV1-3*01)
FR4	IGKJ2*01	FR4	IGHJ6*01

获得的 hu110 人源化抗体可变区的序列如下：

hu110VL1 Graft(IGKV4-1*01) + P43S,G68A(SEQ ID NO: 86)

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASENVGIFVSWYQQKPGQ**S**PKLLIYGASNRYTGVPDRFSGSGS**A**TDFTLTISSLQAEDVAVYYCGQSHSYPLTFGQGTKLEIK

hu110VL2 Graft(IGKV4-1*01) + D1N,D9K,P43S,G68A,V85D(SEQ ID NO: 87)

NIVMTQSP**K**SLAVSLGERATINCKASENVGIFVSWYQQKPGQ**S**PKLLIYGASNRYTGVPDRFSGSGS**A**TDFTLTISSLQAEDVA**D**YYCGQSHSYPLTFGQGTKLEIK

hu110VL3 Graft(IGKV4-1*01): (SEQ ID NO: 88)

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASENVGIFVSWYQQKPGQPPKLLIYGASNRYTGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCGQSHSYPLTFGQGTKLEIK

hu110VH1 Graft(IGHV1-3*01) + R71V,T73K + Q1E(SEQ ID NO: 89)

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQRLEWMGIINPYNGGTSYTQKFKGRVTIT**V**D**K**SASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARHFYDSSYLTYSTMDYWGQGTTVTVSS

hu110VH2 Graft(IGHV1-3*01) + A24T,R44S,R71V,T73K + Q1E(SEQ ID NO: 90)

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKTSGYTFTDYYMNWVRQAPGQSLEW MGIINPYNGGTSYTQKFKGRVTITVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARHF YDSSYLTYSTMDYWGQGTTVTVSS

hu110VH3 Graft(IGHV1-3*01) + A24T,R44S,R71V,T73K + Q1E,N54Q(SEQ ID NO: 91)

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKTSGYTFTDYYMNWVRQAPGQSLEW MGIINPYQGGTSYTQKFKGRVTITVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARHF YDSSYLTYSTMDYWGQGTTVTVSS

hu110VH4 Graft(IGHV1-3*01) + A24T,R44S,R71V,T73K + Q1E,N54S(SEQ ID NO: 92)

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKTSGYTFTDYYMNWVRQAPGQSLEW MGIINPYSGGTSYTQKFKGRVTITVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARHF YDSSYLTYSTMDYWGQGTTVTVSS

hu110VH5 Graft(IGHV1-3*01) + A24T,R44S,R71V,T73K + Q1E,N54T(SEQ ID NO: 93)

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKTSGYTFTDYYMNWVRQAPGQSLEW MGIINPYTGGTSYTQKFKGRVTITVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARHF YDSSYLTYSTMDYWGQGTTVTVSS

hu110VH6 Graft(IGHV1-3*01) + A24T,R44S,R71V,T73K + Q1E,G55V(SEQ ID NO: 94)

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKTSGYTFTDYYMNWVRQAPGQSLEW MGIINPYNVGTSYTQKFKGRVTITVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARHF YDSSYLTYSTMDYWGQGTTVTVSS

hu110VH7 Graft(IGHV1-3*01) (SEQ ID NO: 95)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQRLEW MGIINPYNGGTSYTQKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARHF YDSSYLTYSTMDYWGQGTTVTVSS。

表 20. hu110 的 CDR

可变区	CDR	序列	序列号
hu110VH3	HCDR2	IINPY**Q**GGTSYTQKFKG	96
hu110VH4	HCDR2	IINPY**S**GGTSYTQKFKG	97
hu110VH5	HCDR2	IINPY**T**GGTSYTQKFKG	98
hu110VH6	HCDR2	IINPYN**V**GTSYTQKFKG	99

3-4. mAb30 的人源化

mAb30 抗体的人种系轻链模版为 IGKV4-1*01 或 IGKV1-39*01 和 IGKJ2*01，人种系重链模版为 IGHV1-3*01 和 IGHJ6*01。任选地，对人源化抗体的轻链可变区上第 9、43、60、68、87 和/或 100 位的氨基酸残基进行取代；和/或对人源化抗体的重链可变区上第 1、3、5、7、9、10、12、40、44、41、48、67、69、71、73、75、83、54 和/或 55 位的氨基酸残基进行取代。

表 21. mAb30 鼠源抗体的人源化模板及相应点突变

hu30VL		hu30VH	
VL1	Graft(IGKV4-1*01)	VH1	Graft(IGHV1-3*01) + R44S,R71V,T73K + Q1E
VL2	Graft(IGKV4-1*01) + G68A,Y87H	VH2	Graft(IGHV1-3*01) + Q3R,R44S,I69L,R71V,T73K+ Q1E
VL3	Graft(IGKV4-1*01) + D9K,P43S,G68A,Y87H	VH3	Graft(IGHV1-3*01) + Q3R,R44S,I69L,R71V,T73K + Q1E,N54Q
VL4	Graft(IGKV1-39*01)	VH4	Graft(IGHV1-3*01) + Q3R,R44S,I69L,R71V,T73K + Q1E,N54S
VL5	Graft(IGKV1-39*01) + A43S,S60D,Q100S	VH5	Graft(IGHV1-3*01) + Q3R,R44S,I69L,R71V,T73K + Q1E,N54T
		VH6	Graft(IGHV1-3*01) + Q3R,R44S,I69L,R71V,T73K + Q1E,G55V
		VH7	Graft(IGHV1-3*01) + Q3R,V5Q,A9P,E10V,K12V,R44S,I69L, R71V,T73K + Q1E
		VH8	Graft(IGHV1-3*01) + Q3R,S7F,E10V,R44S,I69L,R71V,T73K, A75S + Q1E,N54T
		VH9	Graft(IGHV1-3*01) + Q3R, R44S, M48I, V67A , I69L,R71V,T73K + Q1E,N54T
		VH10	Graft(IGHV1-3*01) + Q3R,A40S,P41H,R44S,I69L,R71V,T73 K + Q1E,N54T
		VH11	Graft(IGHV1-3*01) + Q3R,S7F,E10V,R44S,I69L,R71V,T73K, A75S,R83T + Q1E,N54T
		VH12	Graft(IGHV1-3*01)
FR4	IGKJ2*01	FR4	IGHJ6*01

获得的 hu30 人源化抗体可变区的序列如下：

hu30VL1 Graft(IGKV4-1*01) (SEQ ID NO: 100)

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASENVGYVSWYQQKPGQPPKLLIYGASNRYTGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCGQSYSYPLTFGQGTKLEIK

hu30VL2 Graft(IGKV4-1*01) + G68A,Y87H (SEQ ID NO: 101)

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASENVGYVSWYQQKPGQPPKLLIYGA SNRYTGVPDRFSGSGSATDFTLTISSLQAEDVAVYHCGQSYSYPLTFGQGTKL EIK

hu30VL3 Graft(IGKV4-1*01) + D9K,P43S,G68A,Y87H (SEQ ID NO: 102)

DIVMTQSPKSLAVSLGERATINCKASENVGYVSWYQQKPGQSPKLLIYGA SNRYTGVPDRFSGSGSATDFTLTISSLQAEDVAVYHCGQSYSYPLTFGQGTKL EIK

hu30VL4 Graft(IGKV1-39*01) (SEQ ID NO: 103)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASENVGYVSWYQQKPGKAPKLLIYGA SNRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCGQSYSYPLTFGQGTKLEI K

hu30VL5 Graft(IGKV1-39*01) + A43S,S60D,Q100S (SEQ ID NO: 104)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASENVGYVSWYQQKPGKSPKLLIYGA SNRYTGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCGQSYSYPLTFGSGTKLEI K

hu30VH1 Graft(IGHV1-3*01) + R44S,R71V,T73K + Q1E (SEQ ID NO: 105)

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQSLEW MGIINPYNGDTSYNQKFRGRVTITVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARYH YGPHLEGYFDVWGQGTTVTVSS

hu30VH2 Graft(IGHV1-3*01) + Q3R,R44S,I69L,R71V,T73K + Q1E (SEQ ID NO: 106)

EVRLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQSLEW MGIINPYNGDTSYNQKFRGRVTLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARY HYGPHLEGYFDVWGQGTTVTVSS

hu30VH3 Graft(IGHV1-3*01) + Q3R,R44S,I69L,R71V,T73K + Q1E,N54Q (SEQ ID NO: 107)

EVRLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQSLEW MGIINPYQGDTSYNQKFRGRVTLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARY HYGPHLEGYFDVWGQGTTVTVSS

hu30VH4 Graft(IGHV1-3*01) + Q3R,R44S,I69L,R71V,T73K + Q1E,N54S (SEQ ID NO: 108)

EVRLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQSLEW MGIINPYSGDTSYNQKFRGRVTLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARY HYGPHLEGYFDVWGQGTTVTVSS

hu30VH5 Graft(IGHV1-3*01) + Q3R,R44S,I69L,R71V,T73K + Q1E,N54T (SEQ ID NO: 109)

EVRLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQSLEW MGIINPYTGDTSYNQKFRGRVTLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARY HYGPHLEGYFDVWGQGTTVTVSS

hu30VH6 Graft(IGHV1-3*01) + Q3R,R44S,I69L,R71V,T73K + Q1E,G55V (SEQ ID NO: 110)

EV**R**LVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQ**S**LEW MGIINPYN**V**DTSYNQKFRGRVT**L**T**V**D**K**SASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARY HYGPHLEGYFDVWGQGTTVTVSS

hu30VH7 Graft(IGHV1-3*01) + Q3R,V5Q, A9P, E10V, K12V, R44S, I69L, R71V, T73K + Q1E (SEQ ID NO: 111)

EV**R**L**Q**QSG**P**V**V**KPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQ**S**LEW MGIINPYNGDTSYNQKFRGRVT**L**T**V**D**K**SASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARY HYGPHLEGYFDVWGQGTTVTVSS

hu30VH8 Graft(IGHV1-3*01) + Q3R, S7F, E10V, R44S, I69L, R71V, T73K, A75S + Q1E,N54T (SEQ ID NO: 112)

EV**R**LVQ**F**GA**V**VKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQ**S**LEW MGIINPY**T**GDTSYNQKFRGRVT**L**T**V**D**K**S**S**STAYMELSSLRSEDTAVYYCARY HYGPHLEGYFDVWGQGTTVTVSS

hu30VH9 Graft(IGHV1-3*01) + Q3R,R44S,M48I,V67A,I69L,R71V,T73K + Q1E,N54T (SEQ ID NO: 113)

EV**R**LVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQ**S**LEW**I** GIINPY**T**GDTSYNQKFRGR**A**T**L**T**V**D**K**SASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARYH YGPHLEGYFDVWGQGTTVTVSS

hu30VH10 Graft(IGHV1-3*01) + Q3R,A40S,P41H,R44S,I69L,R71V,T73K + Q1E,N54T (SEQ ID NO: 114)

EV**R**LVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQ**SH**GQ**S**LEW MGIINPY**T**GDTSYNQKFRGRVT**L**T**V**D**K**SASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARY HYGPHLEGYFDVWGQGTTVTVSS

hu30VH11 Graft(IGHV1-3*01) + Q3R, S7F, E10V, R44S, I69L, R71V, T73K, A75S, R83T + Q1E,N54T (SEQ ID NO: 115)

EV**R**LVQ**F**GA**V**VKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQ**S**LEW MGIINPY**T**GDTSYNQKFRGRVT**L**T**V**D**K**S**S**STAYMELSSL**T**SEDTAVYYCARY HYGPHLEGYFDVWGQGTTVTVSS

hu30VH12 Graft(IGHV1-3*01) (SEQ ID NO: 116)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQRLEW MGIINPYNGDTSYNQKFRGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARYH YGPHLEGYFDVWGQGTTVTVSS。

表 22. hu30 的 CDR

可变区	CDR	序列	序列号
hu30VH3	HCDR2	IINPY**Q**GDTSYNQKFRG	SEQ ID NO：117
hu30VH4	HCDR2	IINPY**S**GDTSYNQKFRG	SEQ ID NO：118
hu30VH5/VH8/VH9 /VH10/VH11	HCDR2	IINPY**T**GDTSYNQKFRG	SEQ ID NO：119
hu30VH6	HCDR2	IINPYN**V**DTSYNQKFRG	SEQ ID NO：120

将人源化抗体的重链可变区和轻链可变区分别与重链恒定区和轻链恒定区重组，示例性的重链恒定区的序列为 SEQ ID NO：41，轻链恒定区的序列为 SEQ ID NO：42，获得全长的人源化抗体。具体的人源化抗体的可变区组合见下表。

表 23-1. mAb6 的人源化抗体

可变区	VL1	VL2	VL3	VL4	VL5
VH1	hu6L1H1	hu6L2H1	hu6L3H1	hu6L4H1	hu6L5H1
VH2	hu6L1H2	hu6L2H2	hu6L3H2	hu6L4H2	hu6L5H2
VH3	hu6L1H3	hu6L2H3	hu6L3H3	hu6L4H3	hu6L5H3
VH4	hu6L1H4	hu6L2H4	hu6L3H4	hu6L4H4	hu6L5H4
VH5	hu6L1H5	hu6L2H5	hu6L3H5	hu6L4H5	hu6L5H5
VH6	hu6L1H6	hu6L2H6	hu6L3H6	hu6L4H6	hu6L5H6
VH7	hu6L1H7	hu6L2H7	hu6L3H7	hu6L4H7	hu6L5H7
VH8	hu6L1H8	hu6L2H8	hu6L3H8	hu6L4H8	hu6L5H8
VH9	hu6L1H9	hu6L2H9	hu6L3H9	hu6L4H9	hu6L5H9
VH10	hu6L1H10	hu6L2H10	hu6L3H10	hu6L4H10	hu6L5H10
VH11	hu6L1H11	hu6L2H11	hu6L3H11	hu6L4H11	hu6L5H11
VH12	hu6L1H12	hu6L2H12	hu6L3H12	hu6L4H12	hu6L5H12
VH13	hu6L1H13	hu6L2H13	hu6L3H13	hu6L4VH13	hu6L5H13
VH14	hu6L1H14	hu6L2H14	hu6L3H14	hu6L4VH14	hu6L5H14
VH15	hu6L1H15	hu6L2H15	hu6L3H15	hu6L4VH15	hu6L5H15

注：hu6L1H1 表示该抗体包含重链可变区 hu6VH1 和轻链可变区 hu6VL1，且其重链恒定区的序列为 SEQ ID NO：41，轻链恒定区的序列为 SEQ ID NO：42，其他类推。

表 23-2. mAb6 的人源化抗体

可变区	VL6	VL7	VL8	VL9	VL10	VL11
VH1	hu6L6H1	hu6L7H1	hu6L8H1	hu6L9H1	hu6L10H1	hu6L11H1
VH2	hu6L6H2	hu6L7H2	hu6L8H2	hu6L9H2	hu6L10H2	hu6L11H2
VH3	hu6L6H3	hu6L7H3	hu6L8H3	hu6L9H3	hu6L10H3	hu6L11H3
VH4	hu6L6H4	hu6L7H4	hu6L8H4	hu6L9H4	hu6L10H4	hu6L11H4
VH5	hu6L6H5	hu6L7H5	hu6L8H5	hu6L9H5	hu6L10H5	hu6L11H5
VH6	hu6L6H6	hu6L7H6	hu6L8H6	hu6L9H6	hu6L10H6	hu6L11H6
VH7	hu6L6H7	hu6L7H7	hu6L8H7	hu6L9H7	hu6L10H7	hu6L11H7
VH8	hu6L6H8	hu6L7H8	hu6L8H8	hu6L9H8	hu6L10H8	hu6L11H8
VH9	hu6L6H9	hu6L7H9	hu6L8H9	hu6L9H9	hu6L10H9	hu6L11H9
VH10	hu6L6H10	hu6L7H10	hu6L8H10	hu6L9H10	hu6L10H10	hu6L11H10
VH11	hu6L6H11	hu6L7H11	hu6L8H11	hu6L9H11	hu6L10H11	hu6L11H11
VH12	hu6L6H12	hu6L7H12	hu6L8H12	hu6L9H12	hu6L10H12	hu6L11H12
VH13	hu6L6H13	hu6L7H13	hu6L8H13	hu6L9VH13	hu6L10H13	hu6L11H13
VH14	hu6L6H14	hu6L7H14	hu6L8H14	hu6L9VH14	hu6L10H14	hu6L11H14
VH15	hu6L6H15	hu6LH15	hu6L8H15	hu6L9VH15	hu6L10H15	hu6L11H15

表 23-3. mAb98 的人源化抗体

可变区	VL1	VL2	VL3
VH1	hu98L1H1	hu98L2H1	hu98L3H1
VH2	hu98L1H2	hu98L2H2	hu98L3H2
VH3	hu98L1H3	hu98L2H3	hu98L3H3
VH4	hu98L1H4	hu98L2H4	hu98L3H4
VH5	hu98L1H5	hu98L2H5	hu98L3H5

注：hu98L1H1 表示该抗体包含重链可变区 hu98VH1 和轻链可变区 hu98VL1，且其重链恒定区的序列为 SEQ ID NO：41，轻链恒定区的序列为 SEQ ID NO：42，其他类推。

表 23-4. mAb110 的人源化抗体

可变区	VL1	VL2	VL3
VH1	hu110L1H1	hu110L2H1	hu110L3H1
VH2	hu110L1H2	hu110L2H2	hu110L3H2
VH3	hu110L1H3	hu110L2H3	hu110L3H3
VH4	hu110L1H4	hu110L2H4	hu110L3H4
VH5	hu110L1H5	hu110L2H5	hu110L3H5
VH6	hu110L1H6	hu110L2H6	hu110L3H6
VH7	hu110L1H7	hu110L2H7	hu110L3H7

注：hu110L1H1 表示该抗体包含重链可变区 hu110VH1 和轻链可变区 hu110VL1，且其重链恒定区的序列为 SEQ ID NO：41，轻链恒定区的序列为 SEQ ID NO：42，其他类推。

表 23-5. mAb30 的人源化抗体

可变区	VL1	VL2	VL3	VL4	VL5
VH1	hu30L1H1	hu30L2H1	hu30L3H1	hu30L4H1	hu30L5H1
VH2	hu30L1H2	hu30L2H2	hu30L3H2	hu30L4H2	hu30L5H2
VH3	hu30L1H3	hu30L2H3	hu30L3H3	hu30L4H3	hu30L5H3
VH4	hu30L1H4	hu30L2H4	hu30L3H4	hu30L4H4	hu30L5H4
VH5	hu30L1H5	hu30L2H5	hu30L3H5	hu30L4H5	hu30L5H5
VH6	hu30L1H6	hu30L2H6	hu30L3H6	hu30L4H6	hu30L5H6
VH7	hu30L1H7	hu30L2H7	hu30L3H7	hu30L4H7	hu30L5H7
VH8	hu30L1H8	hu30L2H8	hu30L3H8	hu30L4H8	hu30L5H8
VH9	hu30L1H9	hu30L2H9	hu30L3H9	hu30L4H9	hu30L5H9
VH10	hu30L1H10	hu30L2H10	hu30L3H10	hu30L4H10	hu30L5H10
VH11	hu30L1H11	hu30L2H11	hu30L3H11	hu30L4H11	hu30L5H11
VH12	hu30L1H12	hu30L2H12	hu30L3H12	hu30L4H12	hu30L5H12

注：hu30L1H1 表示该抗体包含重链可变区 hu30VH1 和轻链可变区 hu30VL1，且其重链恒定区的序列为 SEQ ID NO：41，轻链恒定区的序列为 SEQ ID NO：42，其他类推。

分别克隆、表达、纯化上述抗体，经蛋白结合实验（测试例 3)、细胞结合实验（测试例 2)、Biacore (测试例 1)，最终选出活性较好的人源化抗体。示例性的人源化抗体的重、轻链氨基酸序列如下：

Hu6（也称 hu6L4H12）重链（SEQ ID NO：121）：

EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQGLEWMGIINPYSGVTIYNHKFKGRFALSVDKSSNTAYLQISSLKAEDTAVYYCARQDSLLDYAMDYWGQGTTVTVSS*ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*

Hu6（也称 hu6L4H12）轻链（SEQ ID NO：122）：

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQGISGNMGWLQQKPGKAPKGLIYHGANLEDGVPSRFSGSGSGADYTLTISSLQPEDFADYYCVQYAQFPYTFGGGTKVEIK*RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC*

Hu98（也称 hu98L3H4）重链（SEQ ID NO：123）：

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGIHWVRQAPGKGLEWVAYISSGGYT**S**YYADTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGDY**E**DIFYTMDYWGQGTTVTVSS*ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK*

Hu98（也称 hu98L3H4）轻链（SEQ ID NO：124）：

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRDITKFLNWYQQKPGGAVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNTLPWTFGGGTKVEIK*RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC*

Hu110（也称 hu110L2H3）重链（SEQ ID NO：125）：

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKTSGYTFTDYYMNWVRQAPGQSLEWMGIINPY**Q**GGTSYTQKFKGRVTITVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARHFYD

SSYLTYSTMDYWGQGTTVTVSS*ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK*

Hu110（也称 hu110L2H3）轻链（SEQ ID NO：126）：

NIVMTQSPKSLAVSLGERATINCKASENVGIFVSWYQQKPGQSPKLLIYGA SNRYTGVPDRFSGSGSATDFTLTISSLQAEDVADYYCGQSHSYPLTFGQGTKLEI K*RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV TEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC*

Hu30（也称 hu30L1H5）重链（SEQ ID NO：127）：

EVRLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQSLEWM GIINPYTGDTSYNQKFRGRVTLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARYHY GPHLEGYFDVWGQGTTVTVSS*ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK*

Hu30（也称 hu30L1H5）轻链（SEQ ID NO：128）：

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASENVGYVSWYQQKPGQPPKLLIYGAS NRYTGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCGQSYSYPLTFGQGTKLEI K*RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV TEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC*

注：序列中下划线部分为可变区，斜体部分为恒定区。

实施例 5. 抗 DLL3-CD3 双特异性抗体的制备

5.1 本披露使用的 CD3 抗体

本披露的 CD3 结合部分可以来源于任意适宜的抗体。具体的，本披露的实施例采用的是 S107E 和 I2C，其可变区及 CDR 序列如下：

表 24. S107E 的 CDR

抗体	名称	序列	编号
S107E	HCDR1	KYAMN	SEQ ID NO：129
	HCDR2	RIRSKYNNYATYYADSVKD	SEQ ID NO：130

	HCDR3	HGNFGN**E**YISYWAY	SEQ ID NO：131
	LCDR1	GSSTGAVTSGNYPN	SEQ ID NO：132
	LCDR2	GTKFLAP	SEQ ID NO：133
	LCDR3	VLWYSNRWV	SEQ ID NO：134
I2C	HCDR1	KYAMN	SEQ ID NO：129
	HCDR2	RIRSKYNNYATYYADSVKD	SEQ ID NO：130
	HCDR3	HGNFGNSYISYWAY	SEQ ID NO：135
	LCDR1	GSSTGAVTSGNYPN	SEQ ID NO：132
	LCDR2	GTKFLAP	SEQ ID NO：133
	LCDR3	VLWYSNRWV	SEQ ID NO：134

S107E 可变区序列如下：

> S107E-VH（SEQ ID NO：136）

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWV
ARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR
HGNFGN**E**YISYWAYWGQGTLVTVSS

> S107E-VL（SEQ ID NO：137）

QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLI
GGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG
GTKLTVL

I2C 可变区序列如下：

>I2C-VH（SEQ ID NO：138）

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVA
RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRH
GNFGNSYISYWAYWGQGTLVTVSS

> I2C-VL（SEQ ID NO：137）

QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLI
GGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG
GTKLTVL

注：下划线部分为 CDR。

>S107E-scFv（SEQ ID NO：139）：

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWV
ARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR
HGNFGNEYISYWAYWGQGTLVTVSS*GGGGSGGGGSGGGGS*QTVVTQEPSLTV
SPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSG
SLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL

>I2C-scFv（SEQ ID NO：140）：

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWV
ARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR
HGNFGN**S**YISYWAYWGQGTLVTVSS*GGGGSGGGGSGGGGS*QTVVTQEPSLTV
SPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSG
SLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL

注：双下划线部分为连接子。

5.2 本披露的 DLL3-CD3 双特异性抗体的结构

本披露的 DLL3-CD3 双特异性抗体分子的结构为 Format1、Format2 和 Format3，具体结构如下：

1. Format1 为非对称结构 Hot-Ig，完整分子共四条链，四条链均不相同，具体如下：

链 1：VL(anti-DLL3)-连接子 1-Obscurin

链 2：VH(anti-DLL3)-连接子 1-Titin- IgG1Fc(Hole, L234A, L235A, Y349C,T366S, L368A,Y407V)；

链 3：VH(anti-CD3)-IgG1(CH1)-IgG1Fc(Knob, L234A /L235A/S354C/T366W)；

链 4：VL(anti-CD3)-hλ；

其示意图如图 1A 所示，其中 Ob 代表 Obscurin。

2. Format2 为非对称结构分子 Y body，完整分子包含 3 条链，具体如下：

链 1：VL(anti-DLL3)-hκ

链 2：VH(anti-DLL3-IgG1(CH1)- IgG1Fc(Hole, L234A / L235A /Y349C /T366S /L368A /Y407V)；

链 3：VH(anti-CD3)-连接子 2-VL(anti-CD3)-连接子 1-IgG1Fc(Knob, L234A/ L235A/ S354C/T366W)；

其示意图如图 1B 所示。

3. Format3 为 diabody，完整分子包含两条链，具体如下：

链 1：VL(anti-DLL3)-连接子 3- VH(anti-CD3)- 连接子 4-Fc (Knob, L234A，L235A，G237A，Y349C，T366W)

链 2：VL(anti-CD3)-连接子 5-VH(anti-DLL3)- 连接子 4-Fc (hole, L234A，L235A，G237A，S354C，T366S，L368A，Y407A)；

其示意图如图 1C 所示。

相关序列如下：

> IgG_1(CH1)（SEQ ID NO：141）

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC

> hλ（SEQ ID NO：142）

GQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVK AGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPT EC

> IgG1Fc(Knob, L234A/L235A/S354C/T366W)（SEQ ID NO：143）

DKTHTCPPCPAPE[redacted]GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP[redacted]REEMTKNQVSL[redacted]CLVKGFYPSDI

AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH
EALHNHYTQKSLSLSPGK

> IgG1Fc(Hole, L234A, L235A, Y349C,T366S, L368A,Y407V)（SEQ ID NO：144）

DKTHTCPPCPAPE[redacted]GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE
VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV[redacted]TLPPSREEMTKNQVSL[redacted]C[redacted]VKGFYPSDIA
VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL[redacted]SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE
ALHNHYTQKSLSLSPGK

> Obscurin（SEQ ID NO：246）

SGAPRFLTRPKASVVSVGKDATLSCQIVGNPFPQVSWEKDKQPVTAGVRF
RLAQDGDLYRLKILDLQLSDSGQYVCRARNAHGEAFACLGLQVDAEA

> Titin（SEQ ID NO：208）

GIPPKIECLPIDISIDEGKVLTVASAFTGEPTPEVTWSTGGRKIHSQEQGRFHI
ENTDDSTTLTIKDVQKQDGGLYTLTLRNEFGSDSATVNIHIRSI

>Fc (Knob, L234A，L235A，G237A，Y349C，T366W)(SEQ ID NO：145)

CPPCPAPE**AA**G**A**PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA
LPAPIEKTISKAKGQPREPQV**C**TLPPSREEMTKNQVSL**W**CLVKGFYPSDIAVEW
ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN
HYTQKSLSLSPGK

>Fc (hole, L234A, L235A，G237A，S354C，T366S，L368A，Y407V) (SEQ ID NO：146)

CPPCPAPE**AA**G**A**PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA
LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP**C**REEMTKNQVSL**S**C**A**VKGFYPSDIAVEW
ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL**V**SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN
HYTQKSLSLSPGK

>连接子 1(SEQ ID NO：147)

GGGGS

>连接子 2(SEQ ID NO：148)

GGGGSGGGGSGGGGS

>连接子 3(SEQ ID NO：149)

GGGSGGGG

>连接子 4(SEQ ID NO：150)

G

>连接子 5(SEQ ID NO：151)

GGGGSGGGG。

基于 mAb6、mAb98、mAb110、mAb30 人源化抗体氨基酸序列，分别构建了如下所示的双特异性抗体。

表 25. 本披露的双特异性抗体

编号	链 1	链 2	链 3	链 4
hu6-S107E-hot Ig Format 1	hu6VL-G4S-Obscurin	hu6VH-G4S-Titin-hole	S107EVH-CH1-knob	CD3VL-hλ
	SEQ ID NO：152	SEQ ID NO：153	SEQ ID NO：154	SEQ ID NO：155
hu6-I2C-hot Ig Format 1	hu6VL-G4S-Obscurin	hu6VH-G4S-Titin-hole	I2CVH-CH1-knob	CD3VL-hλ
	SEQ ID NO：152	SEQ ID NO：153	SEQ ID NO：156	SEQ ID NO：155
hu6-S107E-Y body Format 2	hu6VL-hκ	hu6VH-CH1-hole	S107E_scFv-knob	
	SEQ ID NO：157	SEQ ID NO：158	SEQ ID NO：159	
hu6-I2C-Y body Format 2	hu6VL-hκ	hu6VH-CH1-hole	I2C_scFv-knob	
	SEQ ID NO：157	SEQ ID NO：158	SEQ ID NO：160	
hu6-S107E-diabody Format 3	hu6VL-S107EVH-knob	CD3VL-hu6VH-hole		
	SEQ ID NO：161	SEQ ID NO：162		
hu6-I2C-diabody Format 3	hu6VL-I2CVH-knob	CD3VL-hu6VH-hole		
	SEQ ID NO：163	SEQ ID NO：162		
hu98-S107E-hot Ig Format 1	hu98VL-G4S-Obscurin	hu98VH-G4S-Titin-hole	S107EVH-CH1-knob	CD3VL-hλ
	SEQ ID NO：164	SEQ ID NO：165	SEQ ID NO：154	SEQ ID NO：155
hu98-I2C-hot Ig Format 1	hu98VL-G4S-Obscurin	hu98VH-G4S-Titin-hole	I2CVH-CH1-knob	CD3VL-hλ
	SEQ ID NO：164	SEQ ID NO：165	SEQ ID NO：156	SEQ ID NO：155
hu98-S107E-Y body Format 2	hu98VL-hκ	hu98VH-CH1-hole	S107E_scFv-knob	
	SEQ ID NO：166	SEQ ID NO：167	SEQ ID NO：159	
hu98-I2C-Y body Format 2	hu98VL-hκ	hu98VH-CH1-hole	I2C_scFv-knob	
	SEQ ID NO：166	SEQ ID NO：167	SEQ ID NO：160	
hu98-S107E-diabody Format 3	hu98VL-S107EVH-knob	CD3VL-hu98VH-hole		
	SEQ ID NO：168	SEQ ID NO：169		
hu98-I2C-diabody Format 3	hu98VL-I2CVH-knob	CD3VL-hu98VH-hole		
	SEQ ID NO：170	SEQ ID NO：169		
hu110-S107E-hot Ig	hu110VL-G4S-Obscurin	hu110VH-G4S-Titin-hole	S107EVH-CH1-knob	CD3VL-hλ

Format 1	SEQ ID NO：171	SEQ ID NO：172	SEQ ID NO：154	SEQ ID NO：155
hu110-I2C-hot Ig Format 1	hu110VL-G4S-Obscurin	hu110VH-G4S-Titin-hole	I2CVH-CH1-knob	CD3VL-hλ
	SEQ ID NO：171	SEQ ID NO：172	SEQ ID NO：156	SEQ ID NO：155
hu110-S107E-Y body	hu110VL-hκ	hu110VH-CH1-hole	S107E_scFv-knob	
Format 2	SEQ ID NO：173	SEQ ID NO：174	SEQ ID NO：159	
hu110-I2C-Y body	hu110VL-hκ	hu110VH-CH1-hole	I2C_scFv-knob	
Format 2	SEQ ID NO：173	SEQ ID NO：174	SEQ ID NO：160	
hu110-S107E-diabody	hu110VL-S107EVH-knob	CD3VL-hu110VH-hole		
Format 3	SEQ ID NO：175	SEQ ID NO：176		
hu110-I2C-diabody	hu110VL-I2CVH-knob	CD3VL-hu110VH-hole		
Format 3	SEQ ID NO：177	SEQ ID NO：176		
hu30-S107E-hot Ig	hu30VL-G4S-Obscurin	hu30VH-G4S-Titin-hole	S107EVH-CH1-knob	CD3VL-hλ
Format 1	SEQ ID NO：178	SEQ ID NO：179	SEQ ID NO：154	SEQ ID NO：155
hu30-I2C-hot Ig Format 1	hu30VL-G4S-Obscurin	hu30VH-G4S-Titin-hole	I2CVH-CH1-knob	CD3VL-hλ
	SEQ ID NO：178	SEQ ID NO：179	SEQ ID NO：156	SEQ ID NO：155
hu30-S107E-Y body	hu30VL-hκ	hu30VH-CH1-hole	S107E_scFv-knob	
Format 2	SEQ ID NO：180	SEQ ID NO：181	SEQ ID NO：159	
hu30-I2C-Y body Format 2	hu30VL-hκ	hu30VH-CH1-hole	I2C_scFv-knob	
	SEQ ID NO：180	SEQ ID NO：181	SEQ ID NO：160	
hu30-S107E-diabody	hu30VL-S107EVH-knob	CD3VL-hu30VH-hole		
Format 3	SEQ ID NO：182	SEQ ID NO：183		
hu30-I2C-diabody Format 3	hu30VL-I2CVH-knob	CD3VL-hu30VH-hole		
	SEQ ID NO：184	SEQ ID NO：183		
hu6(D56E)-S107E-diabody	hu6VL (D56E)-S107EVH-knob	CD3VL-hu6VH-hole		
Format 3	SEQ ID NO：185	SEQ ID NO：162		
hu6(D56S)-S107E-diabody	hu6VL (D56S)-S107EVH-knob	CD3VL-hu6VH-hole		
Format 3	SEQ ID NO：186	SEQ ID NO：162		
hu6(L8H14)-S107E-diabody	hu6VL8-S107EVH-knob	CD3VL-hu6VH14-hole		
Format 3	SEQ ID NO：187	SEQ ID NO：188		

hu6(L8H15)-S107E-diabody Format 3	hu6VL8-S107EVH-knob	CD3VL-hu6VH15-hole		
	SEQ ID NO：187	SEQ ID NO：189		
hu6(L9H14)-S107E-diabody Format 3	hu6VL9-S107EVH-knob	CD3VL-hu6VH14-hole		
	SEQ ID NO：190	SEQ ID NO：188		
hu6(L9H15)-S107E-diabody Format 3	hu6VL9-S107EVH-knob	CD3VL-hu6VH15-hole		
	SEQ ID NO：190	SEQ ID NO：189		
hu6(L10H14)-S107E-diabody Format 3	hu6VL10-S107EVH-knob	CD3VL-hu6VH14-hole		
	SEQ ID NO：191	SEQ ID NO：188		
hu6(L10H15)-S107E-diabody Format 3	hu6VL10-S107EVH-knob	CD3VL-hu6VH15-hole		
	SEQ ID NO：191	SEQ ID NO：189		
hu6(D56E)-I2C-diabody Format 3	hu6VL (D56E)-I2CVH-knob	CD3VL-hu6VH-hole		
	SEQ ID NO：259	SEQ ID NO：162		
hu6(D56S)-I2C-diabody Format 3	hu6VL (D56S)-I2CVH-knob	CD3VL-hu6VH-hole		
	SEQ ID NO：260	SEQ ID NO：162		

注：hu6-S107E-hot Ig 表示该分子采用 mAb6 及其人源化抗体的可变区作为 DLL3 结合域，S107E 的可变区作为 CD3 结合域，采用 hot Ig 作为分子结构。其余类推。

本披露 DLL3-CD3 双特异性抗体的氨基酸序列如下：

> hu6VL-G4S-Obscurin（SEQ ID NO：152）

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQGISGNMGWLQQKPGKAPKGLIYHG
ANLEDGVPSRFSGSGSGADYTLTISSLQPEDFADYYCVQYAQFPYTFGGGTKVE
IK*GGGGS*SGAPRFLTRPKASVVSVGKDATLSCQIVGNPFPQVSWEKDKQPVTAG
VRFRLAQDGDLYRLKILDLQLSDSGQYVCRARNAHGEAFACLGLQVDAEA

> hu6VH-G4S-Titin-hole（SEQ ID NO：153）

EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQGLEWM
GIINPYSGVTIYNHKFKGRFALSVDKSSNTAYLQISSLKAEDTAVYYCARQDSLL
DYAMDYWGQGTTVTVSS*GGGGS*GIPPKIECLPIDISIDEGKVLTVASAFTGEPTP
EVTWSTGGRKIHSQEQGRFHIENTDDSTTLTIKDVQKQDGGLYTLTLRNEFGSD
SATVNIHIRSIDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD
VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG
KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVK
GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVF
SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

> S107EVH-CH1-knob（SEQ ID NO：154）

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWV
ARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR
HGNFGNEYISYWAYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC
NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE**AA**GGPSVFLFPPKPKDTLMIS
RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL
TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP**C**REEMT
KNQVSL**W**CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV
DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

> CD3VL-hλ（SEQ ID NO：155）

QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLI
GGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG
GTKLTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGS
PVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTV
APTEC

> I2CVH-CH1-knob（SEQ ID NO：156）

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWV
ARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR
HGNFGN**S**YISYWAYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC
NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMIS
RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL
TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMT
KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV
DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

> hu6VL-hκ（SEQ ID NO：157）

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQGISGNMGWLQQKPGKAPKGLIYHG
ANLEDGVPSRFSGSGSGADYTLTISSLQPEDFADYYCVQYAQFPYTFGGGTKVE
IKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE
C

> hu6VH-CH1-hole（SEQ ID NO：158）

EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQGLEWM
GIINPYSGVTIYNHKFKGRFALSVDKSSNTAYLQISSLKAEDTAVYYCARQDSLL
DYAMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP

VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS
NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC
VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLS
CAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQ
GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

> S107E_scFv-knob（SEQ ID NO：159）

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWV
ARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR
HGNFGNEYISYWAYWGQGTLVTVSS*GGGGSGGGGSGGGGS*QTVVTQEPSLTV
SPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSG
SLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL*GGGGS*DKTH
TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH
YTQKSLSLSPGK

> I2C_scFv-knob（SEQ ID NO：160）

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWV
ARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR
HGNFGN**S**YISYWAYWGQGTLVTVSS*GGGGSGGGGSGGGGS*QTVVTQEPSLTV
SPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSG
SLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL*GGGGS*DKTH
TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH
YTQKSLSLSPGK

> hu6VL-S107EVH-knob（SEQ ID NO：161）

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQGISGNMGWLQQKPGKAPKGLIYHG
ANLEDGVPSRFSGSGSGADYTLTISSLQPEDFADYYCVQYAQFPYTFGGGTKVE
IK*GGGSGGGG*EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPG
KGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTA
VYYCVRHGNFGNEYISYWAYWGQGTLVTVSS*G*CPPCPAPEAAGAPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS
TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTL

PPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF
LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

>CD3VL-hu6VH-hole（SEQ ID NO：162）

QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGT
KFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTK
LTVL*GGGGSGGGG*EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVR
QAPGQGLEWMGIINPYSGVTIYNHKFKGRFALSVDKSSNTAYLQISSLKAEDTA
VYYCARQDSLLDYAMDYWGQGTTVTVSS*G*CPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR
VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPC
REEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVS
KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

>hu6VL-I2CVH-knob（SEQ ID NO：163）

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQGISGNMGWLQQKPGKAPKGLIYHG
ANLEDGVPSRFSGSGSGADYTLTISSLQPEDFADYYCVQYAQFPYTFGGGTKVE
IK*GGGSGGGG*EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPG
KGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTA
VYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLVTVSS*G*CPPCPAPEAAGAPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS
TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTL
PPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF
LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

> hu98VL-G4S-Obscurin（SEQ ID NO：164）

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRDITKFLNWYQQKPGGAVKLLIYYT
SRLHSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNTLPWTFGGGTKVEI
K*GGGGS*SGAPRFLTRPKASVVSVGKDATLSCQIVGNPFPQVSWEKDKQPVTAG
VRFRLAQDGDLYRLKILDLQLSDSGQYVCRARNAHGEAFACLGLQVDAEA

> hu98VH-G4S-Titin-hole（SEQ ID NO：165）

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGIHWVRQAPGKGLEWVAYISS
GGYTSYYADTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGDYEDIFY
TMDYWGQGTTVTVSS*GGGGS*GIPPKIECLPIDISIDEGKVLTVASAFTGEPTPEVT
WSTGGRKIHSQEQGRFHIENTDDSTTLTIKDVQKQDGGLYTLTLRNEFGSDSAT
VNIHIRSIDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH
EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFY

PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCS
VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

>hu98VL-hκ（SEQ ID NO：166）

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRDITKFLNWYQQKPGGAVKLLIYYT
SRLHSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNTLPWTFGGGTKVEI
KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE
C

> hu98VH-CH1-hole（SEQ ID NO：167）

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGIHWVRQAPGKGLEWVA
YISSGGYTSYYADTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGDYE
DIFYTMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP
SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC
VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLS
CAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQ
GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

> hu98VL-S107EVH-knob（SEQ ID NO：168）

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRDITKFLNWYQQKPGGAVKLLIYYTSRL
HSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNTLPWTFGGGTKVEIK*G*
*GGSGGGG*EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGL
EWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYY
CVRHGNFGNEYISYWAYWGQGTLVTVSS*G*CPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR
VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSR
EEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

> CD3VL-hu98VH-hole（SEQ ID NO：169）

QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGT
KFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTK
LTVL*GGGGSGGGG*EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGIHWVRQA
PGKGLEWVAYISSGGYTSYYADTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAV
YYCARGDYEDIFYTMDYWGQGTTVTVSS*G*CPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR
VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPC

REEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVS
KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

> hu98VL-I2CVH-knob（SEQ ID NO：170）

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASRDITKFLNWYQQKPGGAVKLLIYYTSRL
HSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNTLPWTFGGGTKVEIK*G*
*GGSGGGG*EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGL
EWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYY
CVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLVTVSS*G*CPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR
VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSR
EEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

> hu110VL-G4S-Obscurin（SEQ ID NO：171）

NIVMTQSPKSLAVSLGERATINCKASENVGIFVSWYQQKPGQSPKLLIYGA
SNRYTGVPDRFSGSGSATDFTLTISSLQAEDVADYYCGQSHSYPLTFGQGTKLEI
K*GGGGS*SGAPRFLTRPKASVVSVGKDATLSCQIVGNPFPQVSWEKDKQPVTAG
VRFRLAQDGDLYRLKILDLQLSDSGQYVCRARNAHGEAFACLGLQVDAEA

> hu110VH-G4S-Titin-hole（SEQ ID NO：172）

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKTSGYTFTDYYMNWVRQAPGQSLEWM
GIINPYQGGTSYTQKFKGRVTITVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARHFYD
SSYLTYSTMDYWGQGTTVTVSS*GGGGS*GIPPKIECLPIDISIDEGKVLTVASAFT
GEPTPEVTWSTGGRKIHSQEQGRFHIENTDDSTTLTIKDVQKQDGGLYTLTLRN
EFGSDSATVNIHIRSIDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT
CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSL
SCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

> hu110VL-hκ（SEQ ID NO：173）

NIVMTQSPKSLAVSLGERATINCKASENVGIFVSWYQQKPGQSPKLLIYGA
SNRYTGVPDRFSGSGSATDFTLTISSLQAEDVADYYCGQSHSYPLTFGQGTKLEI
KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE
C

> hu110VH-CH1-hole（SEQ ID NO：174）

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKTSGYTFTDYYMNWVRQAPGQSLEWM
GIINPYQGGTSYTQKFKGRVTITVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARHFYDS

SYLTYSTMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK
PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT
CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLS
CAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

> hu110VL-S107EVH-knob（SEQ ID NO：175）

NIVMTQSPKSLAVSLGERATINCKASENVGIFVSWYQQKPGQSPKLLIYGASNR
YTGVPDRFSGSGSATDFTLTISSLQAEDVADYYCGQSHSYPLTFGQGTKLEIK*G*
*GGSGGGG*EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGL
EWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYY
CVRHGNFGNEYISYWAYWGQGTLVTVSS*G*CPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR
VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSR
EEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

> CD3VL-hu110VH-hole（SEQ ID NO：176）

QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLI
GGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG
GTKLTVL*GGGGSGGGG*EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKTSGYTFTDYYMN
WVRQAPGQSLEWMGIINPYQGGTSYTQKFKGRVTITVDKSASTAYMELSSLRS
EDTAVYYCARHFYDSSYLTYSTMDYWGQGTTVTVSS*G*CPPCPAPEAAGAPSVF
LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ
VYTLPPCREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS
DGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

> hu110VL-I2CVH-knob（SEQ ID NO：177）

NIVMTQSPKSLAVSLGERATINCKASENVGIFVSWYQQKPGQSPKLLIYGA
SNRYTGVPDRFSGSGSATDFTLTISSLQAEDVADYYCGQSHSYPLTFGQGTKLEI
K*GGGSGGGG*EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPG
KGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTA
VYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLVTVSS*G*CPPCPAPEAAGAPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS
TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTL

PPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF
LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

> hu30VL-G4S-Obscurin（SEQ ID NO：178）

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASENVGYVSWYQQKPGQPPKLLIYGAS
NRYTGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCGQSYSYPLTFGQGTKLEI
K*GGGGS*SGAPRFLTRPKASVVSVGKDATLSCQIVGNPFPQVSWEKDKQPVTAG
VRFRLAQDGDLYRLKILDLQLSDSGQYVCRARNAHGEAFACLGLQVDAEA

> hu30VH-G4S-Titin-hole（SEQ ID NO：179）

EVRLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQSLEWM
GIINPYTGDTSYNQKFRGRVTLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARYHY
GPHLEGYFDVWGQGTTVTVSS*GGGGS*GIPPKIECLPIDISIDEGKVLTVASAFTG
EPTPEVTWSTGGRKIHSQEQGRFHIENTDDSTTLTIKDVQKQDGGLYTLTLRNE
FGSDSATVNIHIRSIDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC
VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLS
CAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQ
GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

> hu30VL-hκ（SEQ ID NO：180）

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASENVGYVSWYQQKPGQPPKLLIYGAS
NRYTGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCGQSYSYPLTFGQGTKLEI
KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE
C

> hu30VH-CH1-hole（SEQ ID NO：181）

EVRLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNWVRQAPGQSLEWMGIIN
PYTGDTSYNQKFRGRVTLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARYHYGPHL
EGYFDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV
TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN
TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV
VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW
LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLSC
AVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

> hu30VL-S107EVH-knob（SEQ ID NO：182）

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASENVGYVSWYQQKPGQPPKLLIYGAS
NRYTGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCGQSYSYPLTFGQGTKLEI

KGGGSGGGGEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPG
KGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTA
VYYCVRHGNFGNEYISYWAYWGQGTLVTVSSGCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS
TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTL
PPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF
LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

> CD3VL-hu30VH-hole（SEQ ID NO：183）

QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLI
GGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG
GTKLTVLGGGGSGGGGEVRLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMN
WVRQAPGQSLEWMGIINPYTGDTSYNQKFRGRVTLTVDKSASTAYMELSSLRS
EDTAVYYCARYHYGPHLEGYFDVWGQGTTVTVSSGCPPCPAPEAAGAPSVFLF
PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY
NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY
TLPPCREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
FFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

> hu30VL-I2CVH-knob（SEQ ID NO：184）

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASENVGYVSWYQQKPGQPPKLLIYGAS
NRYTGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCGQSYSYPLTFGQGTKLEI
KGGGSGGGGEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPG
KGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTA
VYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLVTVSSGCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS
TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTL
PPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF
LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

> hu6VL (D56E) -S107EVH-knob（hu6(D56E)-S107E-diabody-C1（SEQ ID NO：185）

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQGISGNMGWLQQKPGKAPKGLIYHG
ANLEEGVPSRFSGSGSGADYTLTISSLQPEDFADYYCVQYAQFPYTFGGGTKVE
IKGGGSGGGGEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPG
KGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTA
VYYCVRHGNFGNEYISYWAYWGQGTLVTVSSGCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS
TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTL

PPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF
LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

> hu6VL (D56E) -I2CVH-knob（SEQ ID NO：259）

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQGISGNMGWLQQKPGKAPKGLIYHG
ANLEEGVPSRFSGSGSGADYTLTISSLQPEDFADYYCVQYAQFPYTFGGGTKVE
IK*GGGSGGGG*EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPG
KGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTA
VYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLVTVSS*G*CPPCPAPEAAGAPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS
TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTL
PPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF
LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

> hu6VL (D56S) -I2CVH-knob（SEQ ID NO：260）

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQGISGNMGWLQQKPGKAPKGLIYHG
ANLESGVPSRFSGSGSGADYTLTISSLQPEDFADYYCVQYAQFPYTFGGGTKVEI
K*GGGSGGGG*EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPG
KGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTA
VYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLVTVSS*G*CPPCPAPEAAGAPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS
TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTL
PPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF
LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

> hu6VL(D56S) -S107EVH-knob（SEQ ID NO：186）

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQGISGNMGWLQQKPGKAPKGLIYHG
ANLESGVPSRFSGSGSGADYTLTISSLQPEDFADYYCVQYAQFPYTFGGGTKVEI
K*GGGSGGGG*EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPG
KGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTA
VYYCVRHGNFGNEYISYWAYWGQGTLVTVSS*G*CPPCPAPEAAGAPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS
TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTL
PPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF
LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

> hu6VL8 -S107EVH-knob (SEQ ID NO：187）

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQGISGNMGWLQQKPGKAPKGLIYHG
ANLEEGVPSRFSGSGSGADYTLTISSLQPEDFADYYCVQYAQYPYTFGGGTKVE
IK*GGGSGGGG*EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPG

KGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTA
VYYCVRHGNFGNEYISYWAYWGQGTLVTVSS*G*CPPCPAPEAAGAPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS
TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTL
PPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF
LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

> CD3VL-hu6VH14-hole （SEQ ID NO：188）

QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLI
GGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG
GTKLTVL*GGGGSGGGG*EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMNW
VRQAPGQGLEWMGIINPYSGVTTYNHKFKGRFALSVDKSSNTAYLQISSLKAE
DTAVYYCARQDSLLDYAMDYWGQGTTVTVSS*G*CPPCPAPEAAGAPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS
TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPCREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF
LVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

>CD3VL-hu6VH15-hole（SEQ ID NO：189）

QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLI
GGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG
GTKLTVL*GGGGSGGGG*EVQL**Q**QSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMN
WVRQAPGQGLEWMGIINPYSG**S**TIYNHKFKGRFALSVDKSSNTAYLQISSLKAE
DTAVYYCARQDSLLDYAMDYWGQGTTVTVSS*G*CPPCPAPEAAGAPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS
TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPCREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF
LVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

>hu6VL9-S107EVH-knob（SEQ ID NO：190）

NIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQGISGNMGWLQQKPGKAPKGLIYHG
RNLE**E**GVPSRFSGSGSGADYTLTISSLQPEDFADYYCVQYAQ**Y**PYTFGGGTKVE
IK*GGGSGGGG*EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPG
KGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTA
VYYCVRHGNFGNEYISYWAYWGQGTLVTVSS*G*CPPCPAPEAAGAPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS
TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTL
PPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF
LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

>hu6VL10-S107EVH-knob（SEQ ID NO：191）

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCHASQGISGNMGWLQQKPGKAPRGLIYHG
ANLEEGIPARFSGSGSGADYTLTISRLQPEDFADYYCVQYAQFPYTFGGGTKVE
IK*GGGSGGGG*EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPG
KGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTA
VYYCVRHGNFGNEYISYWAYWGQGTLVTVSS*G*CPPCPAPEAAGAPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS
TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTL
PPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF
LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK。

本披露中使用的对照分子 AMG-75，其参考 WO2017021349 制备；BI-764532 其参考 WO2019234220 制备。对照分子的序列如下：

AMG-757（SEQ ID NO：252）：

QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKCLEWIGYV
YYSGTTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCASIAVTGFYF
DYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERVTLSCRAS
QRVNNNYLAWYQQRPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEP
EDFAVYYCQQYDRSPLTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKL
SCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTI
SRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLVTV
SSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPN
WVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYY
CVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYR
CVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR
EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGGSGGGGSG
GGGSGGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC
VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQD
WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT
CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

BI-764532:

> BI-764532 链 1（SEQ ID NO：253）：

DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRASQGISNYLVWFQQKPGKAPKRLIYAV
SSLYSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHDSYPYTFGQGTKLEIK
RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ
ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
GGGGSEGKSSGSGSESKSTEGKSSGSGSESKSTGGGGSQVQLVQSGAEVKKPG
ASVKVSCKASGYTFTSYYVHWVRQAPGQGLEWMVIINPGGGTTSYAQKFLGR
VTMTRDTSTNTVYMELKSLRSEDTAVYYCARGEAVTGNYFYYGMDVWGQGT
TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS
GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKS
CDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS
NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIA
VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE
ALHNHYTQKSLSLSPG

> BI-764532 链 2（SEQ ID NO：254）：

EAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQEKPGQLPRGLIG
GTNKRAPWVPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPEDEAEYFCALWYSNLWVFGGG
TKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVKVAWKADGSP
VNTGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVA
PAECSGGGGSEGKSSGSGSESKSTEGKSSGSGSESKSTGGGGSEVQLVESGGGL
VQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYY
ADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAY
WGQGTLVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN
SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK
RVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH
EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCS
VMHEALHNRFTQKSLSLSPG。

测试例

测试例 1：Biacore 抗体亲和力测定

用 Protein A 生物传感芯片(Cat. # 29127556，Cytiva)亲和捕获待测抗体 18 秒，然后于芯片表面流经抗原人 DLL3（ACRO，DLL3-H52H4），食蟹猴 DLL3（KACTUS，DLL-RM103），小鼠 DLL3（KACTUS，DLL-MM103），人 CD3D&3E（ACRO，CDD-H52W1）和猴 CD3D&3E（ACRO，CDD-C52W4）180 秒，然后解离 600 秒。

用 Biacore 8K(Cytiva)仪器实时检测反应信号获得结合和解离曲线。在每个实验循环解离完成后，用 10 mM 甘氨酸-盐酸溶液（pH 1.5，Cat. # BR-1003-54，Cytiva)将芯片洗净再生。数据拟合模型采用 1:1 Model。结果见表 26-1 至表 26-9。

表 26-1. 抗体与人 DLL3 的亲和力（基于克隆 6）

抗体	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
M6CHI	9.65E+05	6.57E-04	6.81E-10
hu6L1H1	7.98E+05	2.25E-03	2.81E-09
hu6L1H2	7.87E+05	1.73E-03	2.19E-09
hu6L1H3	8.12E+05	2.24E-03	2.76E-09
hu6L2H1	7.09E+05	1.55E-03	2.19E-09
hu6L2H2	7.04E+05	1.16E-03	1.64E-09
hu6L2H3	6.95E+05	1.39E-03	2.01E-09
hu6L3H1	7.15E+05	1.44E-03	2.02E-09
hu6L3H2	7.16E+05	1.14E-03	1.59E-09
hu6L3H3	7.18E+05	1.35E-03	1.88E-09
hu6L4H4	7.43E+05	1.08E-03	1.45E-09
hu6L2H5	8.10E+05	7.84E-04	9.69E-10
hu6L2H6	8.63E+05	7.56E-04	8.77E-10
hu6L2H7	6.70E+05	2.05E-03	3.06E-09
hu6L2H11	2.06E+06	7.49E-04	3.63E-10
hu6L2H12	1.98E+06	9.13E-04	4.61E-10
hu6L2H13	2.10E+06	8.03E-04	3.82E-10
hu6L4H6	1.91E+06	8.11E-04	4.24E-10
hu6L4H11	2.14E+06	6.72E-04	3.14E-10
hu6L4H12	2.06E+06	8.05E-04	3.91E-10
hu6L4H13	2.16E+06	6.95E-04	3.22E-10

表 26-2. 抗体与人 DLL3 的亲和力（基于克隆 98）

抗体	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
M98CHI	1.59E+06	6.82E-04	4.29E-10
hu98L1H1	1.55E+06	1.71E-03	1.10E-09
hu98L1H2	1.56E+06	3.07E-03	1.97E-09
hu98L2H1	1.45E+06	3.89E-04	2.69E-10
hu98L2H2	1.22E+06	6.68E-04	5.50E-10
hu98L3H1	1.60E+06	3.72E-04	2.32E-10
hu98L3H2	1.58E+06	7.32E-04	4.64E-10
hu98L3H4	1.36E+06	1.51E-03	1.11E-09
hu98L3H5	1.42E+06	1.73E-03	1.22E-09

表 26-3.抗体与人 DLL3 的亲和力（基于克隆 110）

抗体	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)

hu110L1H1	6.14E+05	4.17E-05	6.80E-11
hu110L1H2	5.20E+05	4.26E-05	8.19E-11
hu110L1H3	5.64E+05	4.75E-05	8.43E-11
hu110L1H4	5.27E+05	4.80E-05	9.11E-11
hu110L1H5	4.54E+05	6.41E-05	1.41E-10
hu110L1H6	5.20E+05	5.32E-05	1.02E-10
hu110L2H1	5.09E+05	5.84E-05	1.15E-10
hu110L2H2	5.21E+05	6.25E-05	1.20E-10
hu110L2H3	5.50E+05	6.45E-05	1.17E-10
hu110L2H4	4.96E+05	5.11E-05	1.03E-10
hu110L2H5	4.34E+05	8.96E-05	2.06E-10
hu110L2H6	4.11E+05	6.86E-05	1.67E-10

表 26-4. 抗体与人 DLL3 的亲和力（基于克隆 30）

抗体	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
hu30L1H1	8.57E+05	7.87E-04	9.19E-10
hu30L1H2	9.89E+05	1.31E-03	1.32E-09
hu30L1H3	9.29E+05	1.85E-03	1.99E-09
hu30L1H4	9.05E+05	1.16E-03	1.28E-09
hu30L1H5	1.23E+06	1.17E-03	9.52E-10
hu30L1H6	1.04E+06	1.43E-03	1.38E-09
hu30L1H7	9.85E+05	1.15E-03	1.16E-09
hu30L1H8	4.25E+05	1.09E-03	2.57E-09
hu30L1H9	4.19E+05	9.81E-04	2.34E-09
hu30L1H10	4.40E+05	9.64E-04	2.19E-09
hu30L1H11	4.14E+05	1.17E-03	2.83E-09
hu30L2H1	8.67E+05	5.71E-04	6.58E-10
hu30L2H2	9.14E+05	9.21E-04	1.01E-09
hu30L2H3	9.81E+05	1.38E-03	1.41E-09
hu30L2H4	9.66E+05	1.04E-03	1.07E-09
hu30L2H5	9.35E+05	9.07E-04	9.69E-10
hu30L2H6	9.15E+05	9.88E-04	1.08E-09
hu30L2H7	9.00E+05	9.83E-04	1.09E-09
hu30L3H1	1.63E+06	5.90E-04	3.62E-10
hu30L3H2	8.55E+05	7.62E-04	8.91E-10
hu30L3H3	1.05E+06	1.31E-03	1.25E-09
hu30L3H4	1.08E+06	9.56E-04	8.82E-10
hu30L3H5	1.12E+06	8.20E-04	7.35E-10
hu30L3H6	9.52E+05	8.94E-04	9.39E-10
hu30L3H7	1.05E+06	8.53E-04	8.15E-10
hu30L4H5	4.40E+05	9.20E-04	2.09E-09
hu30L4H8	3.43E+05	9.42E-04	2.74E-09
hu30L4H9	3.92E+05	1.01E-03	2.57E-09

hu30L4H10	4.27E+05	9.19E-04	2.16E-09
hu30L4H11	3.98E+05	1.13E-03	2.84E-09
hu30L5H5	4.46E+05	8.82E-04	1.98E-09
hu30L5H8	4.00E+05	1.02E-03	2.54E-09
hu30L5H9	3.99E+05	9.89E-04	2.48E-09
hu30L5H10	4.64E+05	9.49E-04	2.05E-09
hu30L5H11	3.91E+05	1.20E-03	3.06E-09

表 26-5. 双特异性抗体与人 DLL3 的亲和力

抗体	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
hu6(D56E)-S107E-diabody	4.22E+05	4.62E-04	1.09E-09
hu6(D56E)-I2C-diabody	4.22E+05	4.83E-04	1.14E-09
hu110-S107E-hot Ig	2.49E+05	2.82E-05	1.13E-10
hu110-I2C-hot Ig	2.28E+05	2.72E-05	1.19E-10
hu110-I2C-Y body	2.13E+05	2.66E-05	1.25E-10

表 26-6. 双特异性抗体与食蟹猴 DLL3 的亲和力

抗体	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
hu6(D56E)-S107E-diabody	2.64E+05	4.88E-04	1.85E-09
hu6(D56E)-I2C-diabody	2.51E+05	4.93E-04	1.96E-09
hu110-S107E-hot Ig	1.23E+05	6.43E-05	5.23E-10
hu110-I2C-hot Ig	1.02E+05	6.26E-05	6.16E-10
hu110-I2C-Y body	8.81E+04	6.71E-05	7.62E-10

表 26-7. 双特异性抗体与小鼠 DLL3 的亲和力

抗体	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
hu6(D56E)-S107E-diabody	3.78E+05	4.51E-03	1.19E-08
hu6(D56E)-I2C-diabody	3.47E+05	4.85E-03	1.40E-08
hu110-S107E-hot Ig	不结合		
hu110-I2C-hot Ig	不结合		
hu110-I2C-Y body	不结合		

表 26-8. 双特异性抗体与人 CD3 的亲和力

抗体	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
hu6(D56E)-S107E-diabody	1.93E+05	1.12E-02	5.82E-08
hu6(D56E)-I2C-diabody	1.12E+06	2.13E-03	1.90E-09
hu110-S107E-hot Ig	1.60E+05	7.49E-03	4.67E-08
hu110-I2C-hot Ig	8.81E+05	1.68E-03	1.91E-09
hu110-I2C-Y body	9.44E+05	2.87E-03	3.04E-09

表 26-9. 双特异性抗体与食蟹猴 CD3 的亲和力

抗体	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
hu6(D56E)-S107E-diabody	2.66E+05	1.23E-02	4.60E-08

hu6(D56E)-I2C-diabody	1.32E+06	2.04E-03	1.54E-09
hu110-S107E-hot Ig	1.77E+05	7.00E-03	3.96E-08
hu110-I2C-hot Ig	9.99E+05	1.49E-03	1.50E-09
hu110-I2C-Y body	1.12E+06	2.61E-03	2.32E-09

结果显示，本披露的特异性结合 DLL3 的人源化抗体，嵌合抗体与人 DLL3 均具有良好亲和力；双特异性抗体与人和食蟹猴的 DLL3 和 CD3 均具有良好的亲和力。

测试例 2：DLL3 细胞水平的 FACS 结合实验

将表达 DLL3 的小细胞肺癌细胞系 H1184（ATCC，货号 CRL-5858），DLL3/H82，DLL3/SHP77，hDLL3/CHO-s，cynoDLL3/CHO-s 细胞，表达 CD3 的细胞 Jurkat（ATCC，TIB-152）用 FACS 缓冲液（1%BSA + pH 7.4 PBS）制备成 1×10^6/mL 的细胞悬液，100μL/孔加入 96 孔圆底板中。300g 离心 5 分钟，去除上清。加入不同浓度待测抗体，100μL/孔。放于 4°C冰箱中避光孵育 1 小时。300g 离心洗涤 3 次后，加入工作浓度的 APC anti-human IgG Fc (BioLegend，410712)或者 PE F(ab')2-羊抗人 IgG (invitrogen, H10104)，放于 4°C冰箱中避光孵育 40 分钟。300g 离心洗涤 3 次后，在 Invitrogen 流式细胞仪上检测几何平均数荧光强度，计算抗体对表达 DLL3 的细胞的结合 EC50 值。结果见表 27-1 至 27-6。

表 27-1. 抗体与表达人 DLL3 的 H1184 细胞的结合活性

抗体	Emax	EC50 (nM)
hu6L2H2	2193	0.06
hu6L4H4	2312	0.06
hu6L2H5	2486	0.06
hu6L2H6	2422	0.05
hu6L2H7	2196	0.07
hu6L2H11	1959	0.04
hu6L2H12	2145	0.10
hu6L2H13	2105	0.10
hu6L4H11	2188	0.07
hu6L4H12	2131	0.05
hu6L4H13	2118	0.09

表 27-2. 抗体与表达人 DLL3 的 H1184 细胞的结合活性

抗体	Emax	EC50
hu98L1H1	2818	0.09
hu98L2H1	2466	0.06
hu98L2H2	2307	0.04
hu98L3H1	2439	0.05
hu98L3H2	2346	0.04

hu98L3H4	1599	0.05
hu98L3H5	1543	0.05

表 27-3. 抗体与过表达人 DLL3 的 H82 细胞的结合活性

抗体	Emax	EC50 (nM)
hu110L1H1	4467.96	1.15
hu110L1H2	4697.79	1.31
hu110L1H3	4562.33	1.15
hu110L1H4	4581.31	1.51
hu110L1H5	4610.74	1.61
hu110L1H6	4616.13	1.66
hu110L2H1	4719.05	1.25
hu110L2H2	4754.73	1.25
hu110L2H3	4574.56	1.32
hu110L2H4	4597.66	1.41
hu110L2H5	4673.18	1.71
hu110L2H6	5193.43	1.40

表 27-4.抗体与过表达人 DLL3 的 H82 细胞的结合活性

抗体	Emax	EC50(nM)
hu30L1H1	5866	0.74
hu30L1H2	6049	0.86
hu30L1H3	5558	0.75
hu30L1H4	5358	0.57
hu30L1H5	6799	0.88
hu30L1H6	5751	0.56
hu30L2H1	5741	0.89
hu30L2H2	4914	0.61
hu30L2H3	4724	0.59
hu30L2H4	5441	0.54
hu30L2H5	5573	0.65
hu30L2H6	5422	0.69
hu30L2H7	5583	0.83
hu30L3H1	5530	0.51
hu30L3H2	5386	0.44
hu30L3H3	5303	0.43
hu30L3H4	5338	0.43
hu30L3H5	5251	0.43
hu30L3H6	5340	0.46
hu30L3H7	5448	0.43

表 27-5. 抗体与表达人 DLL3 的 SHP77 细胞的结合活性

抗体	Emax	EC50(nM)
hu30L1H5	1543	6.45
hu30L1H8	1375	5.67
hu30L1H10	1630	7.99
hu30L4H5	1460	5.44
hu30L4H8	1422	5.3
hu30L4H9	1370	9.94
hu30L4H11	1519	7.82
hu30L5H5	1610	7.48
hu30L5H9	1561	9.6

表 27-6. 双特异性抗体与细胞的结合活性

抗体	hDLL3/CHO-S EC50(nM)	CynoDLL3/CHO-S EC50(nM)	Jurkat EC50(nM)
hu6(D56E)-S107E-diabody	1.00	1.17	13.62
hu6(D56E)-I2C-diabody	3.48	2.97	4.61
hu110-S107E-hot Ig	5.07	5.01	7.74
hu110-I2C-Y body	4.52	4.92	3.83
hu110-I2C-hot Ig	4.91	4.92	3.27

结果显示，本披露的抗 DLL3 人源化抗体与表达人 DLL3 的细胞具有良好结合能力；双特异性抗体对表达人和食蟹猴的 DLL3 细胞以及 CD3 的细胞有良好的结合能力。

测试例 3：DLL3 蛋白水平的 ELISA 结合实验

将 streptavidin(abcam，ab136200，1μg/ml)包板，100μL/孔，4°C过夜。用 PBST 溶液(PBS 含 0.1%吐温 20)250μL/孔，洗板 3 次。5%牛奶封闭，250μL/孔，37°C 封闭 2 小时。用 PBST 溶液 250μL/孔，洗板 3 次。加入生物素化的 DLL3 抗原(1μg/mL)（SEQ ID NO：9），37°C 孵育 1 小时。使用 PBST 溶液 250μL/孔，洗板 3 次。配制抗体(最高浓度 400 nM，4 倍梯度稀释)，37°C 孵育 1 小时。使用 PBST 溶液 250μL/孔，洗板 6 次。加入工作浓度的 human IgG (H+L)-HRP（Jackson, 109-035-003，1：4000 稀释）抗体，100μL/孔，37°C 孵育 1 小时。使用 PBST 溶液 250μL/孔，洗板 6 次。加入 TMB (KPL, 5120-0077)显色液 100μL/孔， 室温显色 5-10 分钟。加入 1M H_2SO_4，100μL /孔，中止显色，酶标仪（Molecular Devices, VERSA max）450nm 读数。

表 28. 双特异性抗体与人 DLL3 蛋白的结合活性

抗体	EC50(nM)	Emax

hu6(D56E)-S107E-diabody	0.49	0.33
hu6(D56E)-I2C-diabody	0.49	0.36
hu110-S107E-hot Ig	0.11	0.45
hu110-I2C-Y body	0.07	0.48
hu110-I2C-hot Ig	0.08	0.48

结果显示，本披露的双特异性抗体对人 DLL3 蛋白有良好的亲和力。

测试例 4：DLL1 和 DLL4 蛋白的 ELISA 结合实验

将 DLL1(ACRO，DL1-H52H8，1μg/mL)和 DLL4(ACRO，DL4-H5227，1μg/mL)包板，100μL/孔，4°C过夜。用 PBST 溶液(PBS 含 0.1%吐温 20)250μL/孔，洗板 3 次。5%牛奶封闭，250μL/孔，37ºC 封闭 2 小时。用 PBST 溶液 250μL/孔，洗板 3 次。加入待检测抗体(最高浓度 100 nM，4 倍梯度稀释)，37ºC 孵育 1 小时。使用 PBST 溶液 250μL/孔，洗板 6 次。加入工作浓度的 human IgG (H+L)-HRP（Jackson, 109-035-003，1：4000 稀释）抗体，100μL/孔，37ºC 孵育 1 小时。使用 PBST 溶液 250μL/孔，洗板 6 次。加入 TMB (KPL, 5120-0077)显色液 100μL/孔， 室温显色 5-10 分钟。加入 1M H_2SO_4，100μL /孔，中止显色，酶标仪（Molecular Devices, VERSA max）450nm 读数，结果见图 2A-图 2B。

结果显示，本披露的双特异性抗体未检测到结合人 DLL1 和 DLL4 蛋白。

测试例 5. 本披露的双特异性抗体对细胞的杀伤活性

本测试例研究了双特异性抗体作为 T 细胞衔接分子对肿瘤细胞的杀伤活性。用表达 LUC-GFP 的 SHP77、H1184 和 H460 稳转细胞系作为靶细胞来检测本披露的双特异性抗体的靶点特异性细胞毒活性。

SHP77/lucG 细胞培养在 1640+10% FBS+10 μg/mL 嘌呤霉素（puromycin）完全培养基中，一周传代 2-3 次。H1184/lucG 细胞培养在 1640+5% FBS+10 μg/mL 嘌呤霉素（puromycin）完全培养基中，一周传代 1 次。H460/lucG 细胞培养在 1640+10% FBS 完全培养基中，一周传代 2-3 次。冻存 PBMC（妙顺生物）复苏后用 1640+10% FBS 完全培养基重悬，置于 T75 培养瓶培养 4 小时（密度为 2E6 cells/mL）。PBMC 收集离心后用 1640+10% FBS 重悬、计数，调整细胞数为 1.5E6 cells/mL。将上述 PBMC 悬液和靶细胞悬液按照等体积混合，每孔加入 100 μL 确保 E:T Ratio 为 10:1。另外设置 PBMC ONLY 组，将上述 PBMC 悬液和 1640+10% FBS 完全培养基按照等体积混合。抗体用 1640+10% FBS 培养基稀释，起始浓度为 600 nM (6x 终浓度)，5 倍稀释，9 个剂量点, 每孔加入 20 μL。处理好的细胞放在 37°C, 5% CO_2 的培养箱培养 48 小时。取出培养板，1000 rpm 离心 3 分钟，吸取 50 μL 上清于新的 3788 板中用于检测细胞因子检测，-20°C 保存。在培养板中加入 50 μL ONE-GloTMLuciferase (Promega, E6120)，室温孵育 5 分钟后，用 Vendor 检测 Luminescence，计算抗体在不同浓度下的杀伤作用。使用 Graphpad Prism8.0 软件

根据抗体的对数浓度和信号值做出量效曲线图，得出抗体介导杀伤的 IC50。将只有靶细胞、PBMC 不加抗体的孔设为 0%抑制，计算抗体的最大抑制率 Imax。结果见表 29-1 至表 29-4，表 30 及图 3。

表 29-1. 抗体对 SHP77 的细胞毒活性

实验一	**Imax(%)**	**IC50(pM)**
hu6-S107E-diabody	99	69.85
hu6-I2C-diabody	100	7.50
hu98-I2C-diabody	100	13.47

表 29-2. 抗体对 SHP77 的细胞毒活性

实验二	**Imax(%)**	**IC50(pM)**
AMG-757	74	74.66
hu6-I2C-diabody	75	33.14
hu6(D56E)-I2C-diabody	78	20.25
hu6(D56S)-I2C-diabody	78	24.49

表 29-3. 抗体对 SHP77 的细胞毒活性

实验三	**Imax(%)**	**IC50(pM)**
hu6(D56E)-S107E-diabody	96	83.04
hu6(L8H14)-S107E-diabody	93	3596.22
hu6(L8H15)-S107E-diabody	97	294.78
hu6(L9H14)-S107E-diabody	98	1576.15
hu6(L9H15)-S107E-diabody	96	168.09
hu6(L10H14)-S107E-diabody	95	307.53
hu6(L10H15)-S107E-diabody	95	85.57

表 29-4. 抗体对 SHP77 的细胞毒活性

实验四	**Imax(%)**	**IC50(pM)**
hu6(D56E)-I2C-diabody	99	4.17
hu110-I2C-Y body	100	33.82
hu110-I2C-hot Ig	96	22.18
BI-764532	97	44.63

表 30. 双特异性抗体对 H1184 细胞的杀伤

抗体	**Imax(%)**	**IC50(pM)**
hu6(D56E)-S107E-diabody	97	19.68
hu110-I2C-Y body	98	6.42
hu110-S107E-hot Ig	92	29.54

结果显示，本披露的双特异性抗体对表达 DLL3 的细胞 SHP77 和 H1184 有较强的杀伤作用；而对不表达 DLL3 的 H460 细胞无杀伤作用（图 3）。

测试例 6. 本披露的双特异性抗体的体外 T 细胞激活活性

H82/DLL3 细胞培养在 1640+10% FBS 完全培养基中，一周传代 2-3 次，传代比例 1:3 左右。H460 细胞培养在 1640+10% FBS 完全培养基中，一周传代 2-3 次，传代比例 1:10 左右。Jurkat Lucia™ NFAT 细胞(InvivoGen)培养在 1640+10% FBS+100μg/ml zeocin(InvivoGen, ant-zn-1)完全培养基中，一周传代 2-3 次，传代比例 1:10 左右。收集 Jurkat Lucia™ NFAT 细胞，1000 rpm 离心 3 分钟，重悬、计数，调整细胞数为 1E6 cells/mL。收集靶细胞 H82/DLL3 细胞，1000 rpm 离心 3 分钟，重悬、计数，调整细胞数为 2E5 cells/mL。收集 H82/DLL3 和 H460 细胞，1000 rpm 离心 3 分钟，重悬、计数，调整细胞数为 4E5 cells/mL。将上述 Jurkat Lucia™ NFAT 和靶细胞按照等体积混合，每孔加入 100 μL，确保 H82/DLL3 细胞 E:T Ratio 为 5:1，H82/DLL3 和 H460 细胞 E:T Ratio 为 2.5:1。抗体用 1640+10% FBS 培养基稀释，起始浓度为 600nM (6×终浓度)，5 倍稀释，9 个剂量点, 每孔加入 20 μL。处理好的细胞放在 37°C, 5% CO_2 的培养箱培养 5 小时。用 25 mL 的 ddH_2O 溶解 QUANTI-Luc™ Gold 试剂(Invivogen, rep-qlcg5)。加入 50μL QUANTI-Luc™ Gold，室温孵育 5 分钟后，用 Vendor 检测 Luminescence，计算抗体在不同浓度下对 Jurkat Lucia™ NFAT 细胞的激活作用。使用 Graphpad Prism8.0 软件做图，结果见图 4A 至图 4B 和表 31。

激活倍数的公式 N=待测抗体的荧光读值/阴性孔的荧光读值

表 31. 双特异性抗体对 T 细胞的激活结果

抗体	激活倍数	EC50(pM)
hu6(D56E)-S107E-diabody	22.20	15.21
hu110-I2C Y body	20.18	6.36
hu110-S107E hot Ig	17.98	17.69

结果显示，本披露的双特异性抗体只有在存在表达 DLL3 的 DLL3/H82 细胞时，才会激活 T 细胞；当存在不表达 DLL3 的阴性细胞 H460 时，不会激活 T 细胞。

测试例 7. 本披露的双特异性抗体的细胞因子释放水平

1. 本披露的双特异性抗体的细胞因子 IFNγ 释放水平

使用 HTRF 法检测在 DLL3/CD3 双抗在 H1184 细胞存在的情况下，分别刺激 PBMC 中细胞因子 IFNγ 分泌情况。

取出细胞杀伤实验中（测试例 5）收集的冻存于-20℃冰箱的上清，常温解冻，震荡混匀。使用无菌水溶解 IFNγ 标准品粉末，使用 1640+10% FBS 培养基稀释标准品至需要的浓度。取出要检测 IFNγ 的试剂盒(CISBIO, 62HIFNGPEG)，平衡试剂盒至常温，使用 detection buffer 稀释试剂盒中的两个检测抗体（20 倍稀释）。取 16 μL 细胞上清（10 倍稀释用于 IFNγ 检测）及 IFNγ 标准品于 96 孔板中，加入 4 μL 稀释好的对应的检测抗体；震荡混匀，1000 rpm 离心 1 分钟，常温孵育过夜。

取出孵育过夜的样品，1000 rpm 离心 1 分钟，使用 PHERAstar 多功能酶标仪读取 665 nm 和 620nm 的吸收值。用 Graphpad Prism 8 分析数据，结果见图 5A。

结果显示，本披露的双特异性抗体释放 IFNγ 的水平非常低。

2. 本披露的双特异性抗体的细胞因子 IL-6 释放水平

使用 ELISA 法检测在 DLL3/CD3 双抗在 H1184 细胞存在的况下，刺激 PBMC 中细胞因子 IL-6 分泌的情况。

取出细胞杀伤实验中（测试例 5）收集的冻存于-20℃冰箱的上清，常温解冻，震荡混匀，样品使用样品稀释液稀释 5 倍备用。细胞因子检测前，取出 IL-6 ELISA 试剂盒（欣博盛生物科技有限公司，EHC007.96）常温平衡，根据说明书分别稀释 IL-6 标准品和进行检测测量 OD450 值，用 Graphpad Prism 8 分析数据。结果见图 5B。

结果显示，本披露的双特异性抗体释放 IL6 的水平非常低，说明本披露的双特异性抗体具有更好的安全性。

体内活性评价

测试例 8. 本披露的双特异性抗体在 SHP77 皮下移植瘤模型中的药效

本披露采用重度联合免疫缺陷 NOG 小鼠接种 SHP-77 细胞，接种后腹腔注射人 PBMC，成瘤后分组给药。

NOG 小鼠，雌性，体重 15-17 g 左右，购自维通利华。SHP-77 细胞来自 ATCC。人 PBMCs 购自于妙顺（上海）生物科技有限公司，货号：ID#A10S115034。

将 SHP-77 细胞（4×10^6 个/只小鼠）100 μL 接种于 NOG 小鼠右肋部皮下。接种当天，复苏冻存的 hPBMC。接种第 2 天，每只小鼠腹腔注射 hPBMC 5×10^6/100 μL 的细胞悬液。接种 8 天后，待肿瘤体积在~120 mm^3 后去除体重、肿瘤过大和过小的，按肿瘤体积将小鼠随机分为 5 组，每组 8 只，当天开始给等摩尔量的抗体，给药量如表 32 所示。通过腹腔注射相应等摩尔量的抗体，每 5 天给药 1 次，共给药 3 次，给药到第 15 天。每周测 2 次瘤体积，称体重，记录数据。

肿瘤体积（V）计算公式为：$V=1/2\times L_{长}\times L_{短}^2$

相对肿瘤增殖率 $T/C(\%)=(T-T_0)/(C-C_0)\times100\%$，其中 T、C 为实验结束时治疗组和对照组的肿瘤体积；T_0、C_0 为实验开始时的肿瘤体积。

抑瘤率 TGI(%)=100- T/C(%)。

表 32. 抗体在 SHP77 皮下移植瘤模型中的药效（给药后第 15 天）

分组	剂量（mg/kg）	抑瘤率 TGI（%）
溶媒	/	/
AMG-757	1	87

hu6(D56E)-S107E-diabody	0.96	107
hu110-S107E-hot Ig	1.38	94
hu110-I2C-Y body	1.19	106

结果显示，本披露的双特异性抗体可以显著抑制 SHP-77 移植瘤的生长。

测试例 9. 本披露的双特异性抗体在 H1184 皮下移植瘤模型中的药效

本披露采用重度联合免疫缺陷 NOG 小鼠接种 H1184 细胞，接种后腹腔注射人 PBMC，成瘤后分组给药。

NOG 小鼠，雌性，体重 15-17 g 左右，购自维通利华。H1184 细胞来自 ATCC。人 PBMCs 购自于妙顺（上海）生物科技有限公司，货号：ID#A10S115034。

将 H1184 细胞（3.5×10^6 个，含 50%MatriGel）200 μL/只接种于 NOG 小鼠右肋部皮下。接种第 11 天，复苏 8 支冻存 hPBMC（ID#A10S115034）。接种第 12 天，每只小鼠腹腔注射人 PBMC 5×10^6/100 μL 的细胞悬液。接种 18 天后，待肿瘤体积在~140 mm^3 后去除体重、肿瘤过大和过小的，按肿瘤体积将小鼠随机分为组，每组 8 只，当天开始给等摩尔量的抗体，给药量如表 33 所示。通过腹腔注射抗体，共给药 4 次，每周 2 次。每周测 2 次瘤体积，称体重，记录数据。

使用 Excel 统计软件记录数据：平均值以 avg 计算；SD 值以 STDEV 计算；SEM 值以 STDEV/SQRT（每组动物数）计算；采用 GraphPad Prism 软件作图，采用 Two-way ANOVA、One-way ANOVA、t-test 对数据进行统计学分析。

肿瘤体积（V）计算公式为：$V=1/2\times L_{长}\times L_{短}^2$

相对肿瘤增殖率 $T/C(\%)=(T-T_0)/(C-C_0)\times100\%$，其中 T、C 为实验结束时治疗组和对照组的肿瘤体积；T_0、C_0 为实验开始时的肿瘤体积。

抑瘤率 TGI(%)=100- T/C(%)。

表 33. 抗体在 H1184 皮下移植瘤模型中的药效（给药后第 15 天）

分组	剂量（mg/kg）	抑瘤率 TGI（%）
溶媒	/	/
AMG-757	1	13
hu6(D56E)-S107E-diabody	0.96	55
hu110-I2C-Y body	1.19	52

结果显示，本披露的双特异性抗体可以显著抑制 H1184 移植瘤的生长。

虽然为了清楚的理解，已经借助于附图和实例详细描述了上述发明，但是描述和实例不应当解释为限制本披露的范围。本文中引用的所有专利和科学文献的公开内容通过引用完整地清楚结合。

权利要求书

1. 一种特异性结合 DLL3 和 CD3 的抗原结合分子，其包含至少一个特异性结合 DLL3 的抗原结合模块和至少一个特异性结合 CD3 的抗原结合模块，

所述特异性结合 DLL3 的抗原结合模块包含重链可变区 DLL3-VH 和轻链可变区 DLL3-VL，

所述特异性结合 CD3 的抗原结合模块包含重链可变区 CD3-VH 和轻链可变区 CD3-VL；其中：

i) 所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21、69 或 70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：71、24、72 或 73 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 或 74 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

ii) 所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：26 或 84 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：85 或 27 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：83 或 28 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：29 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：30 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：31 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

iii) 所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：96、32、97、98 或 99 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：33 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：34 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：35 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：36 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

iv) 所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：119、37、117、118 或 120 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：38 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：39 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：35 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：40 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；

优选地，

i) 所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：71 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：24 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：72 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：69 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：71 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：74 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：71 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：74 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：69 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：73 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：74 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：73 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：74 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：69 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：71 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：71 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

ii) 所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：26 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：85 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：83 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：29 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：30 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：31 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：26 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：27 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：83 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：29 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：30 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：31 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：84 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：27 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：83 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：29 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：30 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：31 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：84 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：85 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：83 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：29 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：30 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：31 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：26 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：27 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：28 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：29 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：30 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：31 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

iii) 所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：96 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：33 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：34 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：35 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：36 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

iv) 所述DLL3-VH具有：包含SEQ ID NO:20的氨基酸序列的DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：119 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：38 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：39 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：35 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：40 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；

更优选地，

所述抗原结合分子在 25°C 条件下以小于 4×10^{-9}M 的 KD 结合人 DLL3，所述 KD 是通过表面等离子体共振法测量的。

2. 根据权利要求 1 所述的特异性结合 DLL3 和 CD3 的抗原结合分子，其中：

i) 所述 CD3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：129 的氨基酸序列的 CD3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：130 的氨基酸序列的 CD3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：131 的氨基酸序列的 CD3-HCDR3；和所述 CD3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：132 的氨基酸序列的 CD3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：133 的氨基酸序列的 CD3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：134 的氨基酸序列的 CD3-LCDR3；或

ii）所述 CD3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：129 的氨基酸序列的 CD3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：130 的氨基酸序列的 CD3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：135 的氨基酸序列的 CD3-HCDR3；和所述 CD3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：132 的氨基酸序列的 CD3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：133 的氨基酸序列的 CD3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：134 的氨基酸序列的 CD3-LCDR3。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的特异性结合 DLL3 和 CD3 的抗原结合分子，其中：

i) 所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：54、12、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、55、56 或 57 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：63、13、58、59、60、61、62、64、65、66、67 或 68 的氨基酸序列；或

ii) 所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：81、14、78、79、80 或 82 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：77、15、75 或 76 的氨基酸序列；或

iii) 所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：91、16、89、90、92、93、94 或 95 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：87、17、86 或 88 的氨基酸序列；或

iv) 所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：109、18、105、106、107、108、110、111、112、113、114、115 或 116 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：100、19、101、102、103 或 104 的氨基酸序列；

优选地，

i) 所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：54 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：63 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：54 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：61 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：54 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：64 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：56 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：65 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：56 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：66 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：56 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：67 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：57 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：65 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：57 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：66 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：57 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：67 的氨基酸序列；或

ii) 所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：81 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：77 的氨基酸序列；或

iii) 所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：91 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：87 的氨基酸序列；或

iv) 所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：109 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：100 的氨基酸序列。

4. 根据权利要求 1 至 3 中任一项所述的特异性结合 DLL3 和 CD3 的抗原结合分子，其中：

i) 所述 CD3-VH 包含 SEQ ID NO：136 的氨基酸序列，和所述 CD3-VL 包含 SEQ ID NO：137 的氨基酸序列；或

ii) 所述 CD3-VH 包含 SEQ ID NO：138 的氨基酸序列，和所述 CD3-VL 包含 SEQ ID NO：137 的氨基酸序列。

5. 根据权利要求 1 至 4 中任一项所述的特异性结合 DLL3 和 CD3 的抗原结合分子，其中：

所述特异性结合 DLL3 的抗原结合模块包含能够形成二聚体的 Titin 链和 Obscurin 链；或

所述特异性结合 CD3 的抗原结合模块包含能够形成二聚体的 Titin 链和 Obscurin 链；

优选地，

所述 Titin 链包含选自由 SEQ ID NO：192 至 SEQ ID NO：210 组成的组的氨基酸序列，

所述 Obscurin 链包含选自由 SEQ ID NO：211 至 SEQ ID NO：251 组成的组的氨基酸序列；

更优选地，

所述 Titin 链包含 SEQ ID NO：208 的氨基酸序列，和所述 Obscurin 链包含 SEQ ID NO：246 的氨基酸序列。

6. 根据权利要求 1 至 5 中任一项所述的特异性结合 DLL3 和 CD3 的抗原结合分子，其包含 Fc 区，所述 Fc 区优选为人 IgG Fc 区，进一步优选为人 IgG1 Fc 区；

更优选地，所述 Fc 区包含一个或多个能够减少 Fc 区与 Fcγ 受体结合的氨基酸取代；

最优选地，所述 Fc 区是人 IgG1 Fc 区，并且在 234 和 235 位置的氨基酸为 A，编号依据为 EU 索引。

7. 根据权利要求 1 至 6 中任一项所述的特异性结合 DLL3 和 CD3 的抗原结合分子，其包含 Fc 区，所述 Fc 区包含能够相互缔合的第一亚基 Fc1 和第二亚基 Fc2，所述 Fc1 和 Fc2 各自独立地具有一个或多个减少 Fc 区同源二聚化的氨基酸取代；

优选地，所述 Fc1 具有根据杵臼技术的凸起结构，和所述 Fc2 具有根据杵臼技术的孔结构；

更优选地，所述 Fc1 在 366 位置的氨基酸为 W；并且所述 Fc2 在 366 位置的氨基酸为 S，在 368 位置的氨基酸为 A，和在 407 位置的氨基酸为 V，编号依据为 EU 索引；

最优选地，所述 Fc1 包含 SEQ ID NO：143 的氨基酸序列；和所述 Fc2 包含 SEQ ID NO：144 的氨基酸序列；或所述 Fc1 包含 SEQ ID NO：145 的氨基酸序列；和所述 Fc2 包含 SEQ ID NO：146 的氨基酸序列。

8. 根据权利要求 7 所述的特异性结合 DLL3 和 CD3 的抗原结合分子，其中所述抗原结合分子包含一个特异性结合 DLL3 的抗原结合模块和一个特异性结合 CD3 的抗原结合模块，所述特异性结合 DLL3 的抗原结合模块是经替换的 Fab，其包含能够形成二聚体的 Titin 链和 Obscurin 链；和所述特异性结合 CD3 的抗原结合模块是 Fab；或

所述特异性结合 DLL3 的抗原结合模块是 Fab，和所述特异性结合 CD3 的抗原结合模块是经替换的 Fab，其包含能够形成二聚体的 Titin 链和 Obscurin 链；

优选地，

所述特异性结合 DLL3 和 CD3 的抗原结合分子包含一条具有式(a)所示结构的第一链、一条具有式(b)所示结构的第二链、一条具有式(c)所示结构的第三链和一条具有式(d)所示结构的第四链，

式(a) [DLL3-VH]-[连接子 1]-[Titin 链]-[Fc2]，

式(b) [DLL3-VL]-[连接子 2]-[Obscurin 链]，

式(c) [CD3-VH]-[CH1]-[Fc1]，

式(d) [CD3-VL]-[CL]，

其中：所述连接子 1 和连接子 2 是相同或不同的肽连接子；或所述连接子 1 和/或连接子 2 不存在；

式(a)、(b)、(c)和(d)所示的结构是从 N 端至 C 端排列的；

所述 Titin 链和所述 Obscurin 链是可互换的；

所述 Fc1 和所述 Fc2 是可互换的；

更优选地，所述特异性结合 DLL3 和 CD3 的抗原结合分子具有：

一条包含 SEQ ID NO：171 的氨基酸序列的第一链、一条包含 SEQ ID NO：172 的氨基酸序列的第二链、一条包含 SEQ ID NO：154 的氨基酸序列的第三链和一条包含 SEQ ID NO：155 的氨基酸序列的第四链；或

一条包含 SEQ ID NO：171 的氨基酸序列的第一链、一条包含 SEQ ID NO：172 的氨基酸序列的第二链、一条包含 SEQ ID NO：156 的氨基酸序列的第三链和一条包含 SEQ ID NO：155 的氨基酸序列的第四链；或

一条包含 SEQ ID NO：152 的氨基酸序列的第一链、一条包含 SEQ ID NO：153 的氨基酸序列的第二链、一条包含 SEQ ID NO：154 的氨基酸序列的第三链和一条包含 SEQ ID NO：155 的氨基酸序列的第四链；或

一条包含 SEQ ID NO：152 的氨基酸序列的第一链、一条包含 SEQ ID NO：153 的氨基酸序列的第二链、一条包含 SEQ ID NO：156 的氨基酸序列的第三链和一条包含 SEQ ID NO：155 的氨基酸序列的第四链；或

一条包含 SEQ ID NO：164 的氨基酸序列的第一链、一条包含 SEQ ID NO：165 的氨基酸序列的第二链、一条包含 SEQ ID NO：154 的氨基酸序列的第三链和一条包含 SEQ ID NO：155 的氨基酸序列的第四链；或

一条包含 SEQ ID NO：164 的氨基酸序列的第一链、一条包含 SEQ ID NO：165 的氨基酸序列的第二链、一条包含 SEQ ID NO：156 的氨基酸序列的第三链和一条包含 SEQ ID NO：155 的氨基酸序列的第四链；或

一条包含 SEQ ID NO：178 的氨基酸序列的第一链、一条包含 SEQ ID NO：179 的氨基酸序列的第二链、一条包含 SEQ ID NO：154 的氨基酸序列的第三链和一条包含 SEQ ID NO：155 的氨基酸序列的第四链；或

一条包含 SEQ ID NO：178 的氨基酸序列的第一链、一条包含 SEQ ID NO：179 的氨基酸序列的第二链、一条包含 SEQ ID NO：156 的氨基酸序列的第三链和一条包含 SEQ ID NO：155 的氨基酸序列的第四链。

9. 根据权利要求 7 所述的特异性结合 DLL3 和 CD3 的抗原结合分子，其中所述抗原结合分子包含一个特异性结合 DLL3 的抗原结合模块和一个特异性结合 CD3 的抗原结合模块，所述特异性结合 DLL3 的抗原结合模块是 Fab；所述特异性结合 CD3 的抗原结合模块是 scFv；

优选地，

所述特异性结合 DLL3 和 CD3 的抗原结合分子包含一条具有式(e)所示结构的第一链、一条具有式(f)所示结构的第二链和一条具有式(g)所示结构的第三链，

式(e) [DLL3-VL]-[CL]，

式(f) [DLL3-VH]-[CH1]-[Fc2]，

式(g) [CD3-VH]-[连接子 3]-[CD3-VL]- [连接子 4]-[Fc1]，

其中：所述连接子 3 和连接子 4 是相同或不同的肽连接子；

式(e)、(f)和(g)所示的结构是从 N 端至 C 端排列的；

所述 Fc1 和所述 Fc2 是可互换的；

更优选地，所述特异性结合 DLL3 和 CD3 的抗原结合分子具有：

一条包含 SEQ ID NO：173 的氨基酸序列的第一链、一条包含 SEQ ID NO：174 的氨基酸序列的第二链和一条包含 SEQ ID NO：160 的氨基酸序列的第三链；或

一条包含 SEQ ID NO：173 的氨基酸序列的第一链、一条包含 SEQ ID NO：174 的氨基酸序列的第二链和一条包含 SEQ ID NO：159 的氨基酸序列的第三链；或

一条包含 SEQ ID NO：157 的氨基酸序列的第一链、一条包含 SEQ ID NO：158 的氨基酸序列的第二链和一条包含 SEQ ID NO：159 的氨基酸序列的第三链；或

一条包含 SEQ ID NO：157 的氨基酸序列的第一链、一条包含 SEQ ID NO：158 的氨基酸序列的第二链和一条包含 SEQ ID NO：160 的氨基酸序列的第三链；或

一条包含 SEQ ID NO：166 的氨基酸序列的第一链、一条包含 SEQ ID NO：167 的氨基酸序列的第二链和一条包含 SEQ ID NO：159 的氨基酸序列的第三链；或

一条包含 SEQ ID NO：166 的氨基酸序列的第一链、一条包含 SEQ ID NO：167 的氨基酸序列的第二链和一条包含 SEQ ID NO：160 的氨基酸序列的第三链；或

一条包含 SEQ ID NO：180 的氨基酸序列的第一链、一条包含 SEQ ID NO：181 的氨基酸序列的第二链和一条包含 SEQ ID NO：159 的氨基酸序列的第三链；或

一条包含 SEQ ID NO：180 的氨基酸序列的第一链、一条包含 SEQ ID NO：181 的氨基酸序列的第二链和一条包含 SEQ ID NO：160 的氨基酸序列的第三链。

10. 根据权利要求 7 所述的特异性结合 DLL3 和 CD3 的抗原结合分子，其中所述抗原结合分子包含一个特异性结合 DLL3 的抗原结合模块和一个特异性结合 CD3 的抗原结合模块，

所述特异性结合 DLL3 和 CD3 的抗原结合分子包含一条具有式(h)所示结构的第一链和一条具有式(i)所示结构的第二链，

式(h) [DLL3-VL]-[连接子 5]- [CD3-VH]- [连接子 6]- [Fc1]，

式(i) [CD3-VL]- [连接子 7]- [DLL3-VH]- [连接子 8]-[Fc2]，

其中：所述连接子 5、连接子 6、连接子 7 和连接子 8 是相同或不同的肽连接子；

式(h)和(i)所示的结构是从 N 端至 C 端排列的；

所述 Fc1 和所述 Fc2 是可互换的；

优选地，其中：

i) 所述的 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：54 的氨基酸序列，和所述的 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：63 的氨基酸序列；并且所述的 CD3-VH 包含 SEQ ID NO：136 或 138 的氨基酸序列，和所述的 CD3-VL 包含 SEQ ID NO：137 的氨基酸序列；或

所述的 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：54 的氨基酸序列，和所述的 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：61 的氨基酸序列；并且所述的 CD3-VH 包含 SEQ ID NO：136 或 138 的氨基酸序列，和所述的 CD3-VL 包含 SEQ ID NO：137 的氨基酸序列；或

所述的 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：54 的氨基酸序列，和所述的 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：64 的氨基酸序列；并且所述的 CD3-VH 包含 SEQ ID NO：136 或 138 的氨基酸序列，和所述的 CD3-VL 包含 SEQ ID NO：137 的氨基酸序列；或

所述的 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：56 的氨基酸序列，和所述的 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：65 的氨基酸序列；并且所述的 CD3-VH 包含 SEQ ID NO：136 或 138 的氨基酸序列，和所述的 CD3-VL 包含 SEQ ID NO：137 的氨基酸序列；或

所述的 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：56 的氨基酸序列，和所述的 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：66 的氨基酸序列；并且所述的 CD3-VH 包含 SEQ ID NO：136 或 138 的氨基酸序列，和所述的 CD3-VL 包含 SEQ ID NO：137 的氨基酸序列；或

所述的 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：56 的氨基酸序列，和所述的 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：67 的氨基酸序列；并且所述的 CD3-VH 包含 SEQ ID NO：136 或 138 的氨基酸序列，和所述的 CD3-VL 包含 SEQ ID NO：137 的氨基酸序列；或

所述的 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：57 的氨基酸序列，和所述的 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：65 的氨基酸序列；并且所述的 CD3-VH 包含 SEQ ID NO：136 或 138 的氨基酸序列，和所述的 CD3-VL 包含 SEQ ID NO：137 的氨基酸序列；或

所述的 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：57 的氨基酸序列，和所述的 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：66 的氨基酸序列；并且所述的 CD3-VH 包含 SEQ ID NO：136 或 138 的氨基酸序列，和所述的 CD3-VL 包含 SEQ ID NO：137 的氨基酸序列；或

所述的 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：57 的氨基酸序列，和所述的 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：67 的氨基酸序列；并且所述的 CD3-VH 包含 SEQ ID NO：136 或 138 的氨基酸序列，和所述的 CD3-VL 包含 SEQ ID NO：137 的氨基酸序列；或

ii) 所述的 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：91 的氨基酸序列，和所述的 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：87 的氨基酸序列；并且所述的 CD3-VH 包含 SEQ ID NO：136 或 138 的氨基酸序列，和所述的 CD3-VL 包含 SEQ ID NO：137 的氨基酸序列；或

iii) 所述的 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：81 的氨基酸序列，和所述的 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：77 的氨基酸序列；并且所述的 CD3-VH 包含 SEQ ID NO：136 或 138 的氨基酸序列，和所述的 CD3-VL 包含 SEQ ID NO：137 的氨基酸序列；或

iv) 所述的 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：109 的氨基酸序列，和所述的 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：100 的氨基酸序列；并且所述的 CD3-VH 包含 SEQ ID NO：136 或 138 的氨基酸序列，和所述的 CD3-VL 包含 SEQ ID NO：137 的氨基酸序列；

更优选地，所述特异性结合 DLL3 和 CD3 的抗原结合分子具有：

一条包含 SEQ ID NO：185 的氨基酸序列的第一链和一条包含 SEQ ID NO：162 的氨基酸序列的第二链；或

一条包含 SEQ ID NO：161 的氨基酸序列的第一链和一条包含 SEQ ID NO：162 的氨基酸序列的第二链；或

一条包含 SEQ ID NO：163 的氨基酸序列的第一链和一条包含 SEQ ID NO：162 的氨基酸序列的第二链；或

一条包含 SEQ ID NO：259 的氨基酸序列的第一链和一条包含 SEQ ID NO：162 的氨基酸序列的第二链；或

一条包含 SEQ ID NO：260 的氨基酸序列的第一链和一条包含 SEQ ID NO：162 的氨基酸序列的第二链；或

一条包含 SEQ ID NO：168 的氨基酸序列的第一链和一条包含 SEQ ID NO：169 的氨基酸序列的第二链；或

一条包含 SEQ ID NO：170 的氨基酸序列的第一链和一条包含 SEQ ID NO：169 的氨基酸序列的第二链；或

一条包含 SEQ ID NO：175 的氨基酸序列的第一链和一条包含 SEQ ID NO：176 的氨基酸序列的第二链；或

一条包含 SEQ ID NO：177 的氨基酸序列的第一链和一条包含 SEQ ID NO：176 的氨基酸序列的第二链；或

一条包含 SEQ ID NO：182 的氨基酸序列的第一链和一条包含 SEQ ID NO：183 的氨基酸序列的第二链；或

一条包含 SEQ ID NO：184 的氨基酸序列的第一链和一条包含 SEQ ID NO：183 的氨基酸序列的第二链；或

一条包含 SEQ ID NO：186 的氨基酸序列的第一链和一条包含 SEQ ID NO：162 的氨基酸序列的第二链；或

一条包含 SEQ ID NO：187 的氨基酸序列的第一链和一条包含 SEQ ID NO：188 的氨基酸序列的第二链；或

一条包含 SEQ ID NO：187 的氨基酸序列的第一链和一条包含 SEQ ID NO：189 的氨基酸序列的第二链；或

一条包含 SEQ ID NO：190 的氨基酸序列的第一链和一条包含 SEQ ID NO：188 的氨基酸序列的第二链；或

一条包含 SEQ ID NO：190 的氨基酸序列的第一链和一条包含 SEQ ID NO：189 的氨基酸序列的第二链；或

一条包含 SEQ ID NO：191 的氨基酸序列的第一链和一条包含 SEQ ID NO：188 的氨基酸序列的第二链；或

一条包含 SEQ ID NO：191 的氨基酸序列的第一链和一条包含 SEQ ID NO：189 的氨基酸序列的第二链。

11. 一种抗 DLL3 抗体，其能够特异性结合 DLL3，所述的抗 DLL3 抗体包含重链可变区 DLL3-VH 和轻链可变区 DLL3-VL，其中：

i) 所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21、69 或 70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：71 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：69 或 70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：24 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21、69 或 70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：72 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21、69 或 70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：73 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21、69 或 70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：71 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：74 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21、69 或 70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：72 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：74 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21、69 或 70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2 和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：73 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：74 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

ii) 所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：26 或 84 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：85 或 27 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：83 或 28 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：29 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：30 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：31 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

iii) 所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：96、32、97、98 或 99 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：33 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：34 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：35 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：36 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

iv) 所述DLL3-VH具有：包含SEQ ID NO：20的氨基酸序列的DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：119、37、117、118 或 120 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：38 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：39 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：35 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：40 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；

优选地，

i) 所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：71 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：21 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：72 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：69 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：71 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：74 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：71 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：74 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：69 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：73 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：74 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：73 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：74 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：69 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：71 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：70 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：22 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：23 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：71 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：25 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

ii) 所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：26 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：85 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：83 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：29 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：30 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：31 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：26 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：27 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：83 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：29 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：30 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：31 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：84 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：27 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：83 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：29 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：30 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：31 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：84 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：85 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：83 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：29 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：30 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：31 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：26 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：27 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：28 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：29 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：30 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：31 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

iii) 所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：96 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：33 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：34 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：35 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：36 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；或

iv) 所述 DLL3-VH 具有：包含 SEQ ID NO：20 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR1，包含 SEQ ID NO：119 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR2，和包含 SEQ ID NO：38 的氨基酸序列的 DLL3-HCDR3；和所述 DLL3-VL 具有：包含 SEQ ID NO：39 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR1，包含 SEQ ID NO：35 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR2，和包含 SEQ ID NO：40 的氨基酸序列的 DLL3-LCDR3；

更优选地，

所述抗 DLL3 抗体在 25°C 条件下以小于 4×10^{-9}M 的 KD 结合人 DLL3，所述 KD 是通过表面等离子体共振法测量的。

12. 根据权利要求 11 所述的抗 DLL3 抗体，所述的抗 DLL3 抗体包含重链可变区 DLL3-VH 和轻链可变区 DLL3-VL，其中：

i) 所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：54、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、55、56 或 57 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：63、64、65、66 或 67 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：56 或 57 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：58、59、60、61、62、63、64、65、66、67 或 68 的氨基酸序列；或

ii) 所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：81、78、79、80 或 82 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：77、75 或 76 的氨基酸序列；或

iii) 所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：91、89、90、92、93、94 或 95 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：87、86 或 88 的氨基酸序列；或

iv) 所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：109、105、106、107、108、110、111、112、113、114、115 或 116 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：100、101、102、103 或 104 的氨基酸序列；

优选地，

i) 所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：54 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：63 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：54 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：61 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：54 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：64 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：56 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：65 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：56 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：66 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：56 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：67 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：57 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：65 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：57 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：66 的氨基酸序列；或

所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：57 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：67 的氨基酸序列；或

ii) 所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：81 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：77 的氨基酸序列；或

iii) 所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：91 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：87 的氨基酸序列；或

iv) 所述 DLL3-VH 包含 SEQ ID NO：109 的氨基酸序列，和所述 DLL3-VL 包含 SEQ ID NO：100 的氨基酸序列。

13. 根据权利要求 11 或 12 所述的抗 DLL3 抗体，其中所述的抗 DLL3 抗体是抗体片段；优选地，所述的抗体片段为 Fab、Fab'、F(ab')2、Fd、Fv、scFv、dsFv 或 dAb。

14. 根据权利要求 11 至 13 中任一项所述的抗 DLL3 抗体，其包含重链恒定区和轻链恒定区；优选地，所述重链恒定区包含 SEQ ID NO：41 的氨基酸序列，和/或所述轻链恒定区包含 SEQ ID NO：42 的氨基酸序列。

15. 根据权利要求 14 所述的抗 DLL3 抗体，其包含重链和轻链，其中：

所述重链包含与 SEQ ID NO：121 具有至少 85%序列同一性的氨基酸序列，和所述轻链包含与 SEQ ID NO：122 具有至少 85%序列同一性的氨基酸序列；或

所述重链包含与 SEQ ID NO：123 具有至少 85%序列同一性的氨基酸序列，和所述轻链包含与 SEQ ID NO：124 具有至少 85%序列同一性的氨基酸序列；或

所述重链包含与 SEQ ID NO：125 具有至少 85%序列同一性的氨基酸序列，和所述轻链包含与 SEQ ID NO：126 具有至少 85%序列同一性的氨基酸序列；或

所述重链包含与 SEQ ID NO：127 具有至少 85%序列同一性的氨基酸序列，和所述轻链包含与 SEQ ID NO：128 具有至少 85%序列同一性的氨基酸序列；

优选地，

所述重链包含 SEQ ID NO：121 的氨基酸序列，和所述轻链包含 SEQ ID NO：122 的氨基酸序列；或

所述重链包含 SEQ ID NO：123 的氨基酸序列，和所述轻链包含 SEQ ID NO：124 的氨基酸序列；或

所述重链包含 SEQ ID NO：125 的氨基酸序列，和所述轻链包含 SEQ ID NO：126 的氨基酸序列；或

所述重链包含 SEQ ID NO：127 的氨基酸序列，和所述轻链包含 SEQ ID NO：128 的氨基酸序列。

16. 一种药物组合物，其含有：

治疗有效量的权利要求 1 至 10 中任一项所述的特异性结合 DLL3 和 CD3 的抗原结合分子，或权利要求 11 至 15 中任一项所述的抗 DLL3 抗体，以及一种或更多种药学上可接受的载体、稀释剂、缓冲剂或赋形剂。

17. 分离的核酸，其编码权利要求 1 至 10 中任一项所述的特异性结合 DLL3 和 CD3 的抗原结合分子，或权利要求 11 至 15 中任一项所述的抗 DLL3 抗体。

18. 一种宿主细胞，其包含如权利要求 17 所述的分离的核酸。

19. 根据权利要求 1 至 10 中任一项所述的特异性结合 DLL3 和 CD3 的抗原结合分子，或权利要求 11 至 15 中任一项所述的抗 DLL3 抗体，或根据权利要求 16 所述的药物组合物在制备用于治疗肿瘤或癌症的药物中的用途；优选地，其中所述肿瘤或癌症选自：

头和颈鳞状细胞癌、头和颈癌、脑癌、神经胶质瘤、多形性成胶质细胞瘤、神经母细胞瘤、中枢神经系统癌、神经内分泌肿瘤、咽喉癌、咽鳞癌、口腔鳞癌、鼻咽癌、食管癌、甲状腺癌、恶性胸膜间皮瘤、肺癌、乳腺癌、肝癌、肝胆癌、胰腺癌、胃癌、胃肠道癌、肠癌、结肠癌、结肠直肠癌、肾癌、透明细胞肾细胞癌、卵巢癌、子宫内膜癌、子宫颈癌、膀胱癌、前列腺癌、睾丸癌、皮肤癌、黑色素瘤、大细胞肺癌、三阴性乳腺癌、淋巴瘤和小细胞肺癌；

更优选地，其中所述的肿瘤或癌症是表达 DLL3 的肿瘤或癌症。

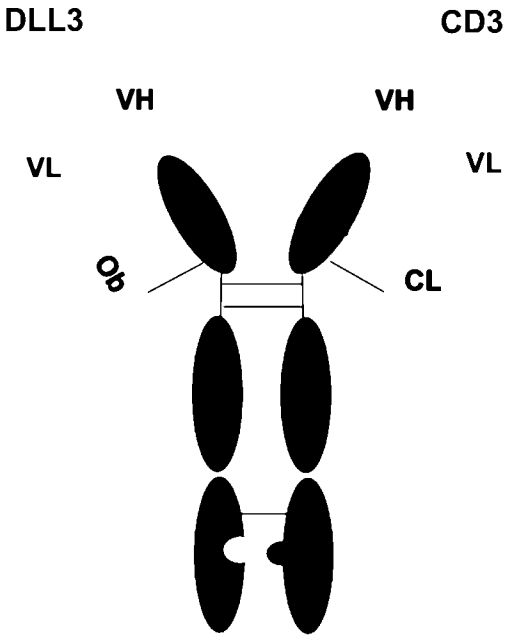

图 1A

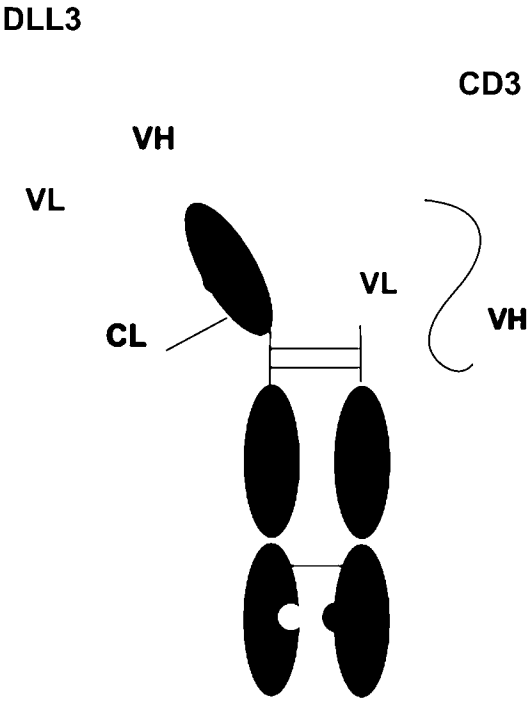

图 1B

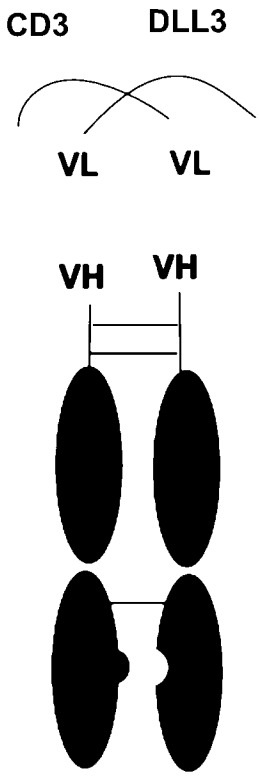

图 1C

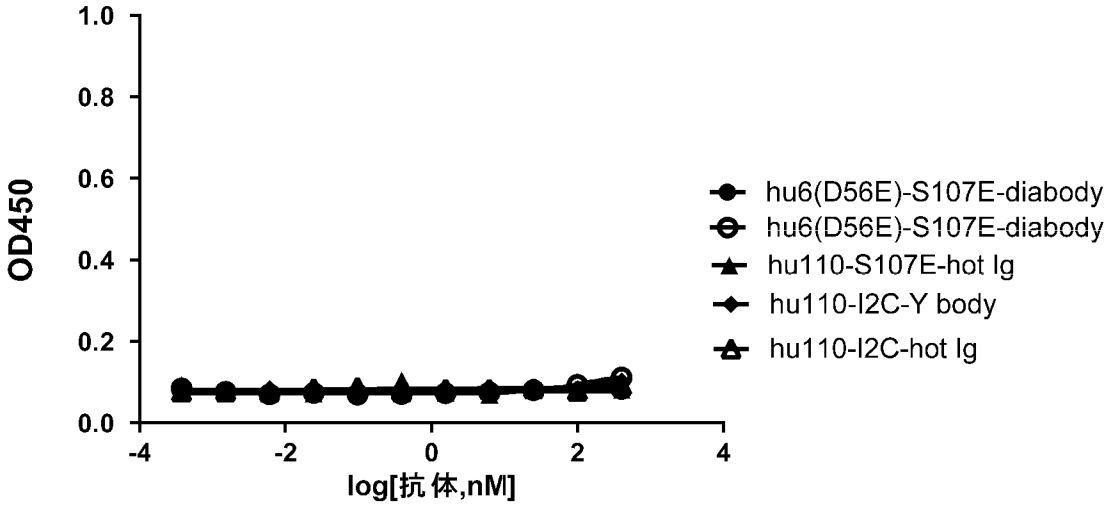
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
OD450
-4
-2
0
2
4
log[抗体,nM]
hu6(D56E)-S107E-diabody
hu6(D56E)-S107E-diabody
hu110-S107E-hot Ig
hu110-I2C-Y body
hu110-I2C-hot Ig

图 2A

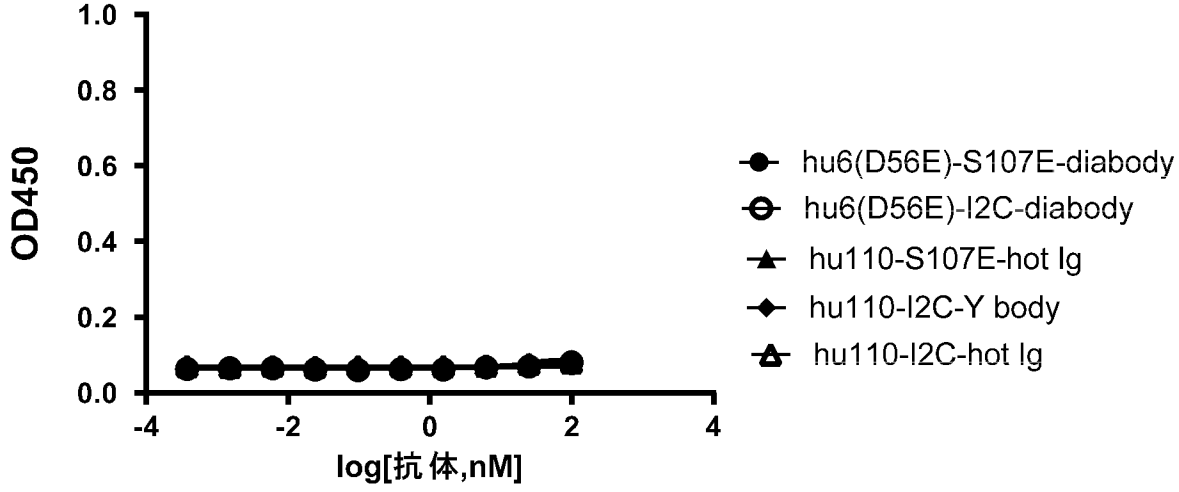
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
OD450
-4
-2
0
2
4
log[抗体,nM]
hu6(D56E)-S107E-diabody
hu6(D56E)-I2C-diabody
hu110-S107E-hot Ig
hu110-I2C-Y body
hu110-I2C-hot Ig

图 2B

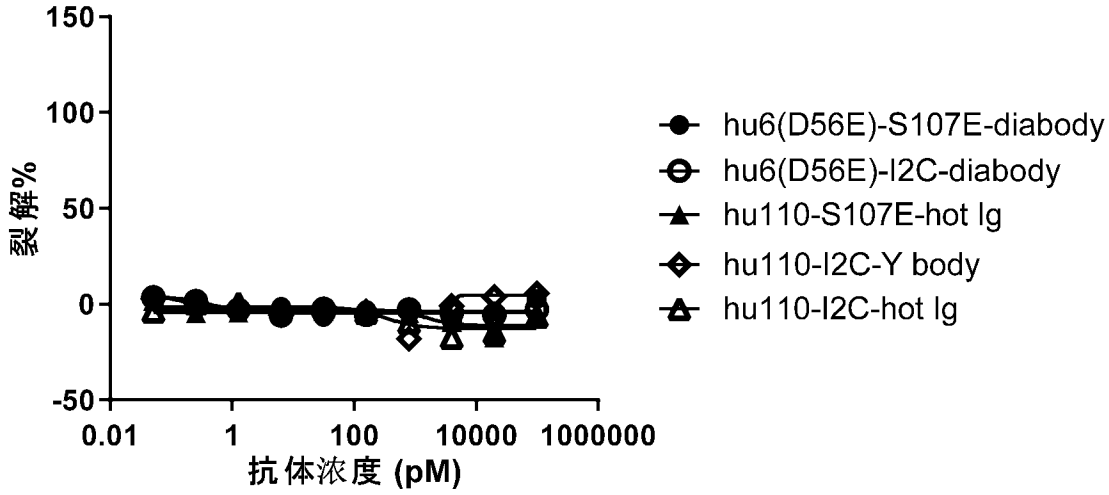
150
100
50
0
-50
裂解%
0.01
1
100
10000
1000000
抗体浓度 (pM)
hu6(D56E)-S107E-diabody
hu6(D56E)-I2C-diabody
hu110-S107E-hot Ig
hu110-I2C-Y body
hu110-I2C-hot Ig

图 3

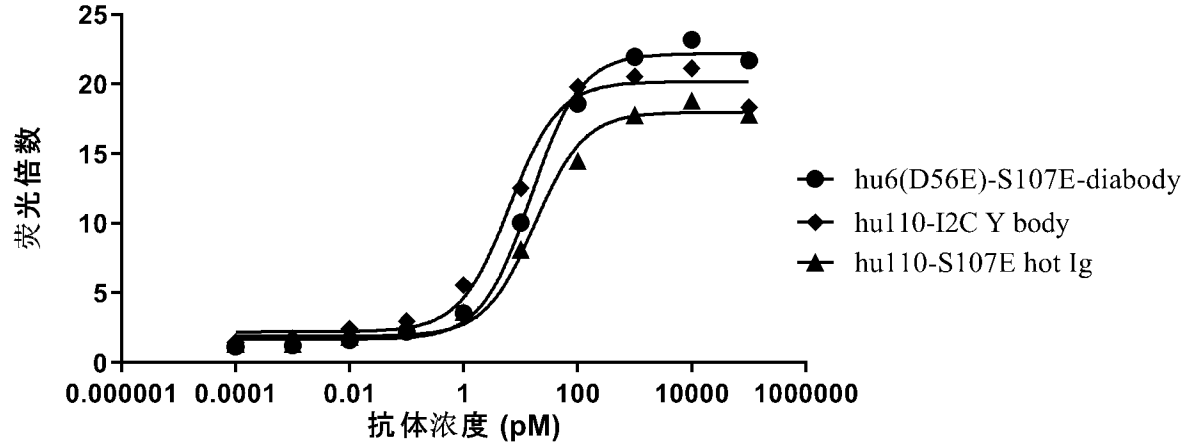
25
20
15
10
5
0
荧光倍数
0.000001
0.0001
0.01
1
100
10000
1000000
抗体浓度 (pM)
hu6(D56E)-S107E-diabody
hu110-I2C Y body
hu110-S107E hot Ig

图 4A

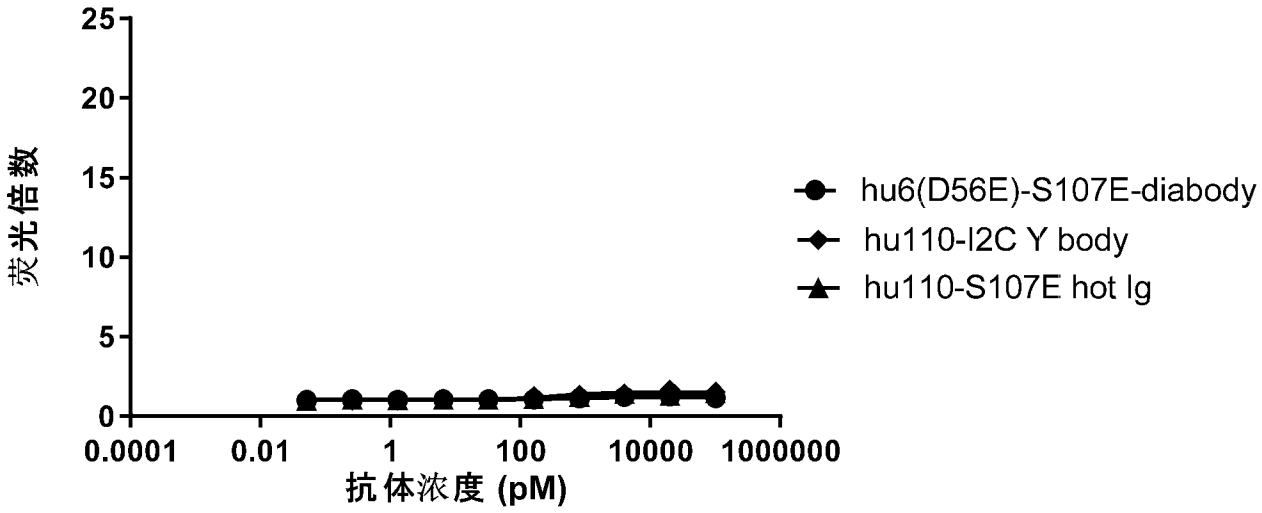
荧光倍数
25
20
15
10
5
0
0.0001
0.01
1
100
10000
1000000
抗体浓度 (pM)
hu6(D56E)-S107E-diabody
hu110-I2C Y body
hu110-S107E hot Ig

图 4B

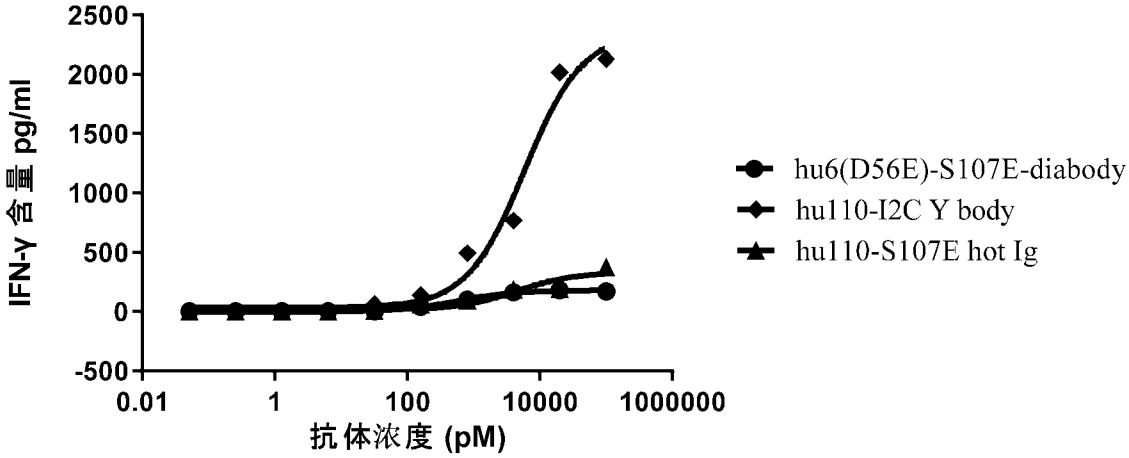
IFN-γ 含量 pg/ml
2500
2000
1500
1000
500
0
-500
0.01
1
100
10000
1000000
抗体浓度 (pM)
hu6(D56E)-S107E-diabody
hu110-I2C Y body
hu110-S107E hot Ig

图 5A

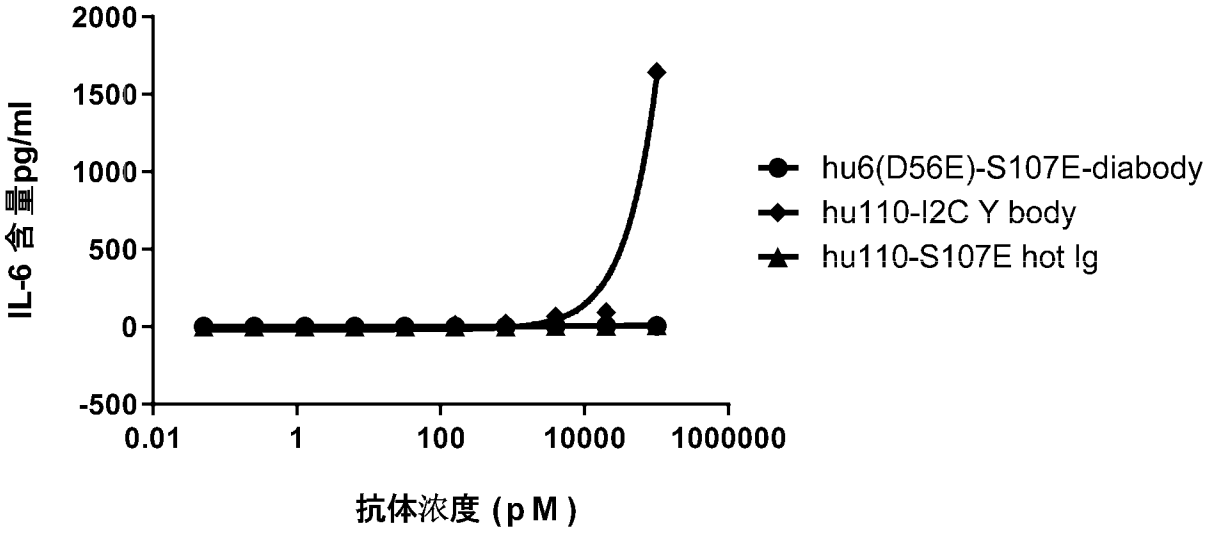
2000
1500
1000
500
0
-500
IL-6 含量pg/ml
0.01
1
100
10000
1000000
抗体浓度（pM）
hu6(D56E)-S107E-diabody
hu110-I2C Y body
hu110-S107E hot Ig

图 5B

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2023/101778

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07K 16/46(2006.01)i; C07K 16/30(2006.01)i; C07K 16/28(2006.01)i; C07K 19/00(2006.01)i; A61K 39/395(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i; C12N 15/13(2006.01)i; C12N 5/10(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)

IPC: C07K A61K A61P C12N

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; CNABS; ENTXTC; WPABSC; VEN; ENTXT; CJFD; CNKI; 万方, WANFANG; 读秀, DUXIU; ISI_Web of Science; NCBI; EMBL; STNext; 中国专利生物序列检索系统, China Patents Biological Sequence Database: 恒瑞, DLL3, CD3, 双特异性, 抗体, 序列检索, Hengrui, bispecific, antibody

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 112513092 A (BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH) 16 March 2021 (2021-03-16) claims 1-41	1-19
A	CN 108271376 A (AMGEN RESEARCH MUNICH GMBH) 10 July 2018 (2018-07-10) claims 1-28	1-19

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☑ 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
"D" document cited by the applicant in the international application
"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	Date of mailing of the international search report
28 September 2023	**07 October 2023**

Name and mailing address of the ISA/CN	Authorized officer
China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) **China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088**	Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2023/101778

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.
   b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13*ter*.1(a)),
      ☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.

2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2023/101778

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
CN 112513092 A	16 March 2021	IL 279235 A	31 January 2021
		KR 20210018311 A	17 February 2021
		MX 2020013348 A	09 March 2021
		CA 3099956 A1	12 December 2019
		JOP 13 March 2020 A1	06 December 2020
		ECSP 20084864 A	31 May 2021
		PH 12020552080 A1	31 May 2021
		CR 20200601 A	26 January 2021
		CL 2020003105 A1	11 June 2021
		MA 52742 A	14 April 2021
		BR 112020022898 A2	23 February 2021
		JP 2021526816 A	11 October 2021
		JP 7133043 B2	07 September 2022
		US 2022251236 A1	11 August 2022
		AU 2019280900 A1	19 November 2020
		US 2019375849 A1	12 December 2019
		US 11332541 B2	17 May 2022
		CO 2020015172 A2	21 December 2020
		PE 20210321 A1	16 February 2021
		EP 3802598 A1	14 April 2021
		JP 2022180379 A	06 December 2022
		SG 11202011134 XA	30 December 2020
		TW 202016151 A	01 May 2020
		WO 2019234220 A1	12 December 2019
CN 108271376 A	10 July 2018	IL 296409 A	01 November 2022
		CL 2020003046 A1	09 April 2021
		EP 3328889 A1	06 June 2018
		EP 3328889 B1	23 June 2021
		ES 2884211 T3	10 December 2021
		JP 2021000088 A	07 January 2021
		JP 6827583 B2	10 February 2021
		US 2017037130 A1	09 February 2017
		US 10294300 B2	21 May 2019
		CL 2018000267 A1	05 October 2018
		ZA 202006983 B	29 March 2023
		AU 2016302569 A1	07 December 2017
		AU 2016302569 B2	25 August 2022
		HUE 055112 T2	28 October 2021
		US 2020332002 A1	22 October 2020
		US 11591396 B2	28 February 2023
		BR 112018000475 A2	18 September 2018
		JP 2021061859 A	22 April 2021
		JP 7166368 B2	07 November 2022
		MA 42530 A	24 March 2021
		MA 42530 B1	30 September 2021
		MX 2021009793 A	08 September 2021
		LT 3328889 T	10 August 2021
		TW 201708261 A	01 March 2017
		TWI 793062 B	21 February 2023
		KR 20180033501 A	03 April 2018

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2023/101778

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
		KR	102404077	B1	02 June 2022
		TN	2017000549	A1	12 April 2019
		US	2021309743	A1	07 October 2021
		NZ	737339	A	30 September 2022
		SG	10201911548	QA	30 January 2020
		EP	3865514	A1	18 August 2021
		SI	3328889	T1	30 September 2021
		MY	184895	A	30 April 2021
		HK	1249525	A1	02 November 2018
		RS	62248	B1	30 September 2021
		CR	20180066	A	29 May 2018
		WO	2017021349	A1	09 February 2017
		KR	20220075455	A	08 June 2022
		AU	2022268314	A1	15 December 2022
		JP	2018527908	A	27 September 2018
		JP	6824245	B2	03 February 2021
		PT	3328889	T	25 August 2021
		CO	2018000877	A2	19 April 2018
		MX	2018001154	A	23 May 2018
		HRP	20211073	T1	01 October 2021
		US	2019263907	A1	29 August 2019
		US	10683351	B2	16 June 2020
		MD	3328889	T2	31 October 2021
		JP	2022191477	A	27 December 2022
		IL	256871	A	29 March 2018
		IL	256871	B	01 October 2022
		IL	256871	B2	01 February 2023
		PH	12018500241	A1	13 August 2018
		CA	2986848	A1	09 February 2017
		DK	3328889	T3	23 August 2021
		PL	3328889	T3	06 December 2021
		PE	20181152	A1	17 July 2018
		JO	3671	B1	27 August 2020

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2023/101778

A. 主题的分类

C07K 16/46(2006.01)i; C07K 16/30(2006.01)i; C07K 16/28(2006.01)i; C07K 19/00(2006.01)i; A61K 39/395(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i; C12N 15/13(2006.01)i; C12N 5/10(2006.01)i

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

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

IPC: C07K A61K A61P C12N

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

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）)

CNTXT;CNABS;ENTXTC;WPABSC;VEN;ENTXT;CJFD;CNKI;万方;读秀;ISI_Web of Science;NCBI;EMBL;STNext;中国专利生物序列检索系统: 恒瑞，DLL3，CD3，双特异性，抗体，序列检索，Hengrui，bispecific，antibody

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	CN 112513092 A (勃林格殷格翰国际有限公司) 2021年3月16日 (2021-03-16) 权利要求1-41	1-19
A	CN 108271376 A (安进研发（慕尼黑）股份有限公司) 2018年7月10日 (2018-07-10) 权利要求1-28	1-19

☐ 其余文件在C栏的续页中列出。

☑ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:
"A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件
"D" 申请人在国际申请中引证的文件
"E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利
"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）
"O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件
"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
"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
"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
"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
"&" 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期	国际检索报告邮寄日期
2023年9月28日	2023年10月7日
ISA/CN的名称和邮寄地址 中国国家知识产权局 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088	受权官员 李黎 电话号码 (+86) 0512-88996459

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2023/101778

第I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表进行的：

a. ☑ 作为国际申请的一部分提交的：

b. ☐ 为国际检索的目的在国际申请日之后提交（细则13之三.1(a)），

☐ 附有说明序列表不超出所提交国际申请公开范围的声明。

2. ☐ 本报告是在没有收到符合WIPO ST.26标准的序列表的情况下，考虑了国际申请中披露的任何核苷酸和/或氨基酸序列，在可进行有意义检索的范围内做出的。

3. 补充意见：

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2023/101778

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	112513092	A	2021年3月16日	IL	279235	A	2021年1月31日
				KR	20210018311	A	2021年2月17日
				MX	2020013348	A	2021年3月9日
				CA	3099956	A1	2019年12月12日
				JOP	20200313	A1	2020年12月6日
				ECSP	20084864	A	2021年5月31日
				PH	12020552080	A1	2021年5月31日
				CR	20200601	A	2021年1月26日
				CL	2020003105	A1	2021年6月11日
				MA	52742	A	2021年4月14日
				BR	112020022898	A2	2021年2月23日
				JP	2021526816	A	2021年10月11日
				JP	7133043	B2	2022年9月7日
				US	2022251236	A1	2022年8月11日
				AU	2019280900	A1	2020年11月19日
				US	2019375849	A1	2019年12月12日
				US	11332541	B2	2022年5月17日
				CO	2020015172	A2	2020年12月21日
				PE	20210321	A1	2021年2月16日
				EP	3802598	A1	2021年4月14日
				JP	2022180379	A	2022年12月6日
				SG	11202011134	XA	2020年12月30日
				TW	202016151	A	2020年5月1日
				WO	2019234220	A1	2019年12月12日
CN	108271376	A	2018年7月10日	IL	296409	A	2022年11月1日
				CL	2020003046	A1	2021年4月9日
				EP	3328889	A1	2018年6月6日
				EP	3328889	B1	2021年6月23日
				ES	2884211	T3	2021年12月10日
				JP	2021000088	A	2021年1月7日
				JP	6827583	B2	2021年2月10日
				US	2017037130	A1	2017年2月9日
				US	10294300	B2	2019年5月21日
				CL	2018000267	A1	2018年10月5日
				ZA	202006983	B	2023年3月29日
				AU	2016302569	A1	2017年12月7日
				AU	2016302569	B2	2022年8月25日
				HUE	055112	T2	2021年10月28日
				US	2020332002	A1	2020年10月22日
				US	11591396	B2	2023年2月28日
				BR	112018000475	A2	2018年9月18日
				JP	2021061859	A	2021年4月22日
				JP	7166368	B2	2022年11月7日
				MA	42530	A	2021年3月24日
				MA	42530	B1	2021年9月30日
				MX	2021009793	A	2021年9月8日
				LT	3328889	T	2021年8月10日
				TW	201708261	A	2017年3月1日
				TWI	793062	B	2023年2月21日
				KR	20180033501	A	2018年4月3日

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2023/101778

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)
		KR	102404077	B1	2022年6月2日
		TN	2017000549	A1	2019年4月12日
		US	2021309743	A1	2021年10月7日
		NZ	737339	A	2022年9月30日
		SG	10201911548	QA	2020年1月30日
		EP	3865514	A1	2021年8月18日
		SI	3328889	T1	2021年9月30日
		MY	184895	A	2021年4月30日
		HK	1249525	A1	2018年11月2日
		RS	62248	B1	2021年9月30日
		CR	20180066	A	2018年5月29日
		WO	2017021349	A1	2017年2月9日
		KR	20220075455	A	2022年6月8日
		AU	2022268314	A1	2022年12月15日
		JP	2018527908	A	2018年9月27日
		JP	6824245	B2	2021年2月3日
		PT	3328889	T	2021年8月25日
		CO	2018000877	A2	2018年4月19日
		MX	2018001154	A	2018年5月23日
		HRP	20211073	T1	2021年10月1日
		US	2019263907	A1	2019年8月29日
		US	10683351	B2	2020年6月16日
		MD	3328889	T2	2021年10月31日
		JP	2022191477	A	2022年12月27日
		IL	256871	A	2018年3月29日
		IL	256871	B	2022年10月1日
		IL	256871	B2	2023年2月1日
		PH	12018500241	A1	2018年8月13日
		CA	2986848	A1	2017年2月9日
		DK	3328889	T3	2021年8月23日
		PL	3328889	T3	2021年12月6日
		PE	20181152	A1	2018年7月17日
		JO	3671	B1	2020年8月27日