(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
2025 年 2 月 20 日 (20.02.2025)

WIPO | PCT

(10) 国际公布号
WO 2025/035451 A1

(51) 国际专利分类号:
C07K 16/28 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2023/113535

(22) 国际申请日: 2023 年 8 月 17 日 (17.08.2023)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(71) 申请人: 上海君实生物医药科技股份有限公司 **(SHANGHAI JUNSHI BIOSCIENCES CO., LTD.)** [CN/CN]; 中国上海市浦东新区中国（上海）自由贸易试验区海趣路36、58号2号楼13层, Shanghai 201210 (CN)。

(72) 发明人: 周进伟 **(ZHOU, Jinwei)**; 中国江苏省苏州市吴江经济技术开发区长安路东侧（吴江科技创业园内）, Jiangsu 215002 (CN)。 刘丹丹 **(LIU, Dandan)**; 中国江苏省苏州市吴江经济技术开发区长安路东侧（吴江科技创业园内）, Jiangsu 215002 (CN)。 彭静 **(PENG, Jing)**; 中国江苏省苏州市吴江经济技术开发区长安路东侧（吴江科技创业园内）, Jiangsu 215002 (CN)。 何阳 **(HE, Yang)**; 中国江苏省苏州市吴江经济技术开发区长安路东侧（吴江科技创业园内）, Jiangsu 215002 (CN)。 周岳华 **(ZHOU, Yuehua)**; 中国江苏省苏州市吴江经济技术开发区长安路东侧（吴江科技创业园内）, Jiangsu 215002 (CN)。 冯辉 **(FENG, Hui)**; 中国江苏省苏州市吴江经济技术开发区长安路东侧（吴江科技创业园内）, Jiangsu 215002 (CN)。 姚盛 **(YAO, Sheng)**; 中国江苏省苏州市吴江经济技术开发区长安路东侧（吴江科技创业园内）, Jiangsu 215002 (CN)。 沈懿娟 **(SHEN, Yijuan)**; 中国江苏省苏州市吴江经济技术开发区长安路东侧（吴江科技创业园内）, Jiangsu 215002 (CN)。

(74) 代理人: 上海专利商标事务所有限公司 **(SHANGHAI PATENT & TRADEMARK LAW OFFICE, LLC)**; 中国上海市徐汇区桂平路435号, Shanghai 200233 (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 2025/035451 A1

(54) **Title:** ANTI-CD93 ANTIBODY, AND COMPOSITION AND USE THEREOF

(54) 发明名称: 抗CD93抗体、其组合物及用途

(57) **Abstract:** The present invention provides an anti-CD93 antibody, and a composition and a use thereof. The present invention further provides a polynucleotide molecule encoding the antibody or an antigen-binding fragment thereof of the present application, an expression vector and a host cell for expressing the antibody or the antigen-binding fragment thereof of the present application, and a use of the antibody or the antigen-binding fragment thereof of the present application.

(57) 摘要: 本发明提供抗CD93抗体、其组合物及用途。本发明还提供了编码本申请的抗体或其抗原结合片段的多核苷酸分子，用于表达本申请的抗体或其抗原结合片良的表达载体和宿主细胞，以及本申请的看体或其看原结合片段的用途。

抗 CD93 抗体、其组合物及用途

技术领域

本发明属于医药技术领域，具体涉及抗 CD93 抗体、其组合物及用途。

背景技术

CD93（有称为C1q R1、C1q R、C1q RP、MXRA4或ECSM3）是一种跨膜糖蛋白，由C型凝集素结构域、表皮生长因子（EGF）样结构域、高度糖基化的粘蛋白样结构域组成的胞外区结构域（第24-580位氨基酸序列），跨膜结构域（第581-601位氨基酸序列）和短细胞质结构域（第601-652位氨基酸序列）组成，主要表达于内皮细胞、血小板、干细胞和骨髓细胞（粒细胞和单核细胞）。

最新的研究发现CD93和胰岛素样生长因子结合蛋白7（IGFBP7）之间的相互作用对于异常肿瘤血管的形成非常重要。用抗CD93单克隆抗体来抑制这种相互作用，能够改善化疗药物的抗癌效果，还能够增加肿瘤内效应T细胞数量，从而增加肿瘤对免疫检查点抑制剂的敏感性。

目前未有抗CD93的单抗药物进入临床前，需要新型抗CD93抗体。

发明内容

本发明提供抗 CD93 抗体或其抗原结合片段，其具有阻断 CD93 与 IGFBP7 结合的功能。本发明提供的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段可作为独立的疗法或与其它疗法/或其他抗癌药剂联合，用于 CD93 介导的疾病如癌症的治疗。

在一个方面，本发明提供一种抗 CD93 抗体或其抗原结合片段，所述抗 CD93 抗体或其抗原结合片段包含的重链可变区 CDR（HCDR）为由 Kabat、Chothia、AbM、Contact、North 或 IMGT 定义、优选 Kabat 定义的 SEQ ID NO：1、9、17 或 39 的 HCDR1 或与该 HCDR1 具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的序列，HCDR2 或与该 HCDR2 具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的序列，和 HCDR3 或与该 HCDR3 具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的序列；和/或，所述抗 CD93 抗体或其抗原结合片段包含的轻链可变区 CDR（LCDR）为由 Kabat、Chothia、AbM、Contact、North 或 IMGT 定义、优选 Kabat 定义的 SEQ ID NO：5、13、21、28、31、32 或 36 的 LCDR1 或与该 LCDR1 具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的序列，LCDR2 或与该 LCDR2 具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的序列，和 LCDR3 或与该 LCDR3 具有 1、2 或 3 个氨基酸差

异的序列。

在另一方面，本发明提供一种分离的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段，其具有以下特性中的至少一种：(I)与本发明任一实施方式所述的抗体或其抗原结合片段结合相同、完全重叠或部分重叠的人 CD93 蛋白的表位；(II) 与本发明任一实施方式所述的抗体或其抗原结合片段竞争结合人 CD93 蛋白的表位。

在又一个方面，本发明提供了多核苷酸分子，其编码本文所述的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段。

在又一个方面，本发明提供了核酸构建物，其含有本发明任一实施方案所述的多核苷酸分子。

在又一方面，本发明提供了表达载体，其包含本文所述的多核苷酸分子或核酸构建物；优选地，所述载体为真核表达载体。

在又一个方面，本发明提供了宿主细胞，其包含本文所述的多核苷酸分子或本文所述的表达载体，和/或表达本文任一实施方案所述的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段。

在又一个方面，本发明提供了制备本文所述的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段的方法，所述方法包括在适合于所述抗体或其抗原结合片段表达的条件下培养本文所述的宿主细胞，允许其表达所述抗体或其抗原结合片段，并从所述宿主细胞回收所表达的抗体或其抗原结合片段。

在又一个方面，本发明提供了本文任一实施方式所述的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段的制备方法制备得到的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段。

在又一个方面，本发明提供了药物组合物，其包含本文所述的抗CD93抗体或其抗原结合片段、本文所述的多核苷酸分子、本文所述的核酸构建物或表达载体、本文所述的宿主细胞、本文所述的多特异性抗体、或本文所述的单链抗体，和药学上可接受的载体或赋形剂。

在又一个方面，本发明提供了一种药物组合，其包含本文所述的抗体或其抗原结合片段、本文所述的多核苷酸分子、本文所述的核酸构建物或表达载体、本文所述的宿主细胞、本文所述的多特异性抗体、本文所述的单链抗体、或本文所述的药物组合物，以及一种或多种另外的治疗剂。优选地，所述治疗剂为抗PD-1抗体、PD-L1抗体和抗CTLA4抗体中的一种或其组合。

在又一个方面，本发明提供了本文所述的抗体或其抗原结合片段、本文所述的多核苷酸分子、本文所述的核酸构建物或表达载体、本文所述的宿主细胞、本文所述的多特异性抗体、本文所述的单链抗体、本文所述的药物组合物或本文所述的药物组合在制备用于治疗和/或预防CD93介导的疾病或病症的药物中的用途。

在又一个方面，本发明提供了用于治疗和/或预防CD93介导的疾病或病症的本文所述的抗体或其抗原结合片段、本文所述的多核苷酸分子、本文所述的核酸构建物或表达载体、本

文所述的宿主细胞、本文所述的多特异性抗体、本文所述的单链抗体、本文所述的药物组合物或本文所述的药物组合。

在又一个方面，本发明提供了一种治疗和/或预防 CD93 介导的疾病或病症的方法，其包括向有需要的受试者施用治疗或预防有效量的本文所述的抗体或其抗原结合片段、本文所述的核酸构建物或多核苷酸分子、本文所述的表达载体、本文所述的宿主细胞、本文所述的多特异性抗体、本文所述的单链抗体、本文所述的药物组合物或本文所述的药物组合。

在又一个方面，本发明提供了一种试剂盒，其包括本文所述的抗体或其抗原结合片段、本文所述的核酸构建物或多核苷酸分子、本文所述的表达载体、本文所述的宿主细胞、本文所述的多特异性抗体、本文所述的单链抗体、本文所述的药物组合物或本文所述的药物组合，优选其进一步包括给药装置。

在又一个方面，本发明提供了一种使用本文所述的抗体或其抗原结合片段或含有所述抗体或其抗原结合片段的检测组合物检测 CD93 在样品中的存在的方法。在一些实施方式中，所述方法包括使本文所述的抗体或其抗原结合片段或者含有所述抗体或其抗原结合片段的检测组合物与所述样品接触的步骤。

本文各方面的更详细的描述如下文所述。

附图说明

图1：抗CD93嵌合抗体的细胞水平的结合实验结果图。

图2：抗CD93嵌合抗体阻断IGFBP7蛋白与人CD93结合的阻断实验结果图。

图3：抗CD93人源化抗体的细胞水平的结合实验结果图。

图4：抗CD93人源化抗体阻断IGFBP7蛋白与人CD93结合的阻断实验结果图。

图5：抗CD93嵌合抗体与人CD93结合的实验结果图。

图6：抗CD93嵌合抗体阻断IGFBP7蛋白与人CD93结合的阻断实验结果图。

图7：抗CD93单克隆抗体与CHO hCD93细胞的结合实验结果图。

图8：抗CD93单克隆抗体阻断IGFBP7与CHO hCD93细胞的结合实验结果图。

具体实施方式

定义

除非另有说明，本发明的实施将采用分子生物学(包括重组技术)、微生物学、细胞生物学、生物化学和免疫学的常规技术，这些都在本领域的技术范围内。

为了可以更容易地理解本发明，某些科技术语具体定义如下。除非本文其它部分另有明确定义，否则本文所用的科技术语都具有本发明所属领域普通技术人员通常理解的含义。关于本领域的定义及术语，专业人员具体可参考 Current Protocols in Molecular Biology

(Ausubel)。氨基酸残基的缩写是本领域中所用的指代20个常用L-氨基酸之一的标准3字母和/或1字母代码。本文（包括权利要求书）所用单数形式包括其相应的复数形式，除非文中另有明确规定。

术语“约”在与数字数值联合使用时意为涵盖具有比指定数字数值小5%的下限和比指定数字数值大5%的上限的范围内的数字数值，包括但不限于±5%、±2%、±1%和±0.1%，因为这些变化适于进行所公开的方法。

术语“和/或”应理解为意指可选项中的任一项或可选项中的任意两项或更多项的组合。

如本文所用，术语“或”应被理解为与如上定义的“和／或”具有相同的含义。例如，当分离列表中的项目时，“或”或“和／或”应被解释为包容性的，即，包括数量或元素列表中的至少一个，但也包括多于一个，以及任选地，额外的未列出的项目。只有明确指出相反的术语下，例如“只有一个”或“的确一个”或者在权利要求中使用“由．．．组成”时，将指的是仅列出的一个数字或列表的一个元素。

除非明确指出相反的情况，否则如本文所用，词“一”和“一个”应理解为“至少一个”。

术语“百分比(%)氨基酸序列同一性”或简称“同一性”定义为在将氨基酸序列进行比对(并在必要时导入空位)以获取最大百分比序列同一性，且不将任何保守取代视为序列同一性的部分之后，候选氨基酸序列中的氨基酸残基与参比氨基酸序列中的相同氨基酸残基的百分比。可使用本领域各种方法进行序列比对以便测定百分比氨基酸序列同一性，例如，使用公众可得到的计算机软件如BLAST、BLAST-2、ALIGN或MEGALIGN(DNASTAR)软件。本领域技术人员可以决定测量比对的适宜参数，包括对所比较的序列全长获得最大比对所需的任何算法。

术语“活性”或“生物活性”，或术语“生物性质”或“生物特征”此处可互换使用，包括但不限于表位/抗原亲和力和特异性、在体内或体外中和或拮抗CD93活性的能力、IC_{50}、抗体的体内稳定性和抗体的免疫原性质。本领域公知的抗体的其它可鉴定的生物学性质或特征包括，例如，交叉反应性(即通常与靶定肽的非人同源物，或与其它蛋白质或组织的交叉反应性)，和保持哺乳动物细胞中蛋白质高表达水平的能力。使用本领域公知的技术观察、测定或评估前面提及的性质或特征，所述技术包括但不局限于ELISA、FACS或BIACORE等离子体共振分析、不受限制的体外或体内中和测定、受体结合、细胞因子或生长因子的产生和/或分泌、信号转导和不同来源(包括人类、灵长类或任何其它来源)的组织切片的免疫组织化学。

术语“抗体”是指具有所需生物活性的任何形式的抗体。因此，其以最广义使用，具体包括但不限于单克隆抗体（包括全长单克隆抗体）、多克隆抗体、多特异性抗体（例如双特异性抗体）、人源化抗体、全人抗体、嵌合抗体和骆驼源化单结构域抗体。

术语“分离的抗体”是指结合化合物的纯化状态，且在这种情况下意指该分子基本不含其

它生物分子，例如核酸、蛋白质、脂质、糖或其它物质例如细胞碎片和生长培养基。术语“分离（的）”并非意指完全不存在这类物质或不存在水、缓冲液或盐，除非它们以明显干扰本文所述结合化合物的实验或治疗应用的量存在。

术语“单克隆抗体”是指获自基本均质抗体群的抗体，即组成该群的各个抗体除可少量存在的可能天然存在的突变之外是相同的。单克隆抗体是高度特异性的，针对单一抗原表位。相比之下，常规（多克隆）抗体制备物通常包括大量针对不同表位（或对不同表位有特异性）的抗体。修饰语“单克隆”表明获自基本均质抗体群的抗体的特征，且不得解释为需要通过任何特定方法产生抗体。

术语“全长抗体”，是指在天然存在时包含至少四条肽链的免疫球蛋白分子：两条重(H)链和两条轻(L)链通过二硫键互相连接。每一条重链由重链可变区（在本文中缩写为 VH)和重链恒定区（在本文中缩写为 CH)组成。重链恒定区由 3 个结构域 CH1、CH2 和 CH3 组成。每一条轻链由轻链可变区（在本文中缩写为 VL)和轻链恒定区组成。轻链恒定区由一个结构域 CL 组成。VH 和 VL 区可被进一步细分为具有高可变性的互补决定区（CDR)和其间隔以更保守的称为框架区（FR)的区域。每一个 VH 或 VL 区由按下列顺序：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4 从氨基末端至羧基末端排列的 3 个 CDR 和 4 个 FR 组成。重链和轻链的可变区含有与抗原相互作用的结合结构域。抗体的恒定区可介导免疫球蛋白对宿主组织或因子（包括免疫系统的各种细胞（例如，效应细胞）和经典补体系统的第一组分（Clq))的结合。

抗体的可变区 CDR 的精确氨基酸序列边界可使用许多公知的方案的任何方案来确定，包括基于抗体的三维结构和 CDR 环的拓扑学的 Chothia（Chothia 等，1989，Nature 342:877-883；Al-Lazikani 等，“Standard conformations for the canonical structures of immunoglobulins”，Journal of Molecular Biology，273，927-948，1997）、基于抗体序列可变性的 Kabat（Kabat 等，Sequences of Proteins of Immunological Interest，第 4 版，U.S. Department of Health and Human Services，National Institutes of Health (1987)），AbM（University of Bath），Contact（University College London），国际 ImMunoGeneTics database（IMGT)）（1999 Nucleic Acids Research，27，209-212），以及基于利用大量晶体结构的近邻传播聚类（affinity propagation clustering）的 North。

除非另有说明，否则本发明抗体的 CDR 可以由本领域的技术人员根据本领域的任何方案（例如不同的指派系统或组合）确定边界。在一些实施方式中，本发明抗体的 CDR 由 Kabat、Chothia、AbM、Contact、North 或 IMGT 定义。在一些实施方式中，本发明抗体的 CDR 由 Kabat 定义。

应该注意，基于不同的指派系统获得的同一抗体的可变区的 CDR 的边界可能有所差异。即不同指派系统下定义的同一抗体可变区的 CDR 序列有所不同。因此，在涉及用本发明定

义的具体 CDR 序列限定抗体时，所述抗体的范围还涵盖了这样的抗体，其可变区序列包含所述的具体 CDR 序列，但是由于应用了不同的方案（例如不同的指派系统或组合）而导致其所声称的 CDR 边界与本发明所定义的具体 CDR 边界不同。

具有不同特异性（即，针对不同抗原的不同结合位点）的抗体具有不同的 CDR。然而，尽管 CDR 在抗体与抗体之间是不同的，但是 CDR 内只有有限数量的氨基酸位置直接参与抗原结合。使用 Kabat、Chothia、AbM、Contact 和 North 方法中的至少两种，可以确定最小重叠区域，从而提供用于抗原结合的“最小结合单位”。最小结合单位可以是 CDR 的一个子部分。正如本领域技术人员明了，通过抗体的结构和蛋白折叠，可以确定 CDR 序列其余部分的残基。因此，本发明也考虑本文所给出的任何 CDR 的变体。例如，在一个 CDR 的变体中，最小结合单位的氨基酸残基可以保持不变，而根据 Kabat 或 Chothia 定义的其余 CDR 残基可以被保守氨基酸残基替代。

术语抗体（“亲代抗体”）的“抗原结合片段”包括抗体的片段或衍生物，通常包括亲代抗体的抗原结合区或可变区（例如一个或多个 CDR)的至少一个片段，其保持亲代抗体的至少一些结合特异性。抗原结合片段的实例包括但不限于 Fab，Fab'，$F(ab')_2$ 和 Fv 片段；双抗体；线性抗体；单链抗体分子，例如 sc-Fv；由抗体片段形成的纳米抗体（nanobody)和多特异性抗体。当抗原的结合活性在摩尔浓度基础上表示时，结合片段或衍生物通常保持其抗原结合活性的至少 10%。优选结合片段或衍生物保持亲代抗体的抗原结合亲和力的至少 20%、50%、70%、80%、90%、95%或 100%或更高。还预期抗体的抗原结合片段可包括不明显改变其生物活性的保守或非保守氨基酸取代（称为抗体的“保守变体”或“功能保守变体”）。术语“结合化合物”是指抗体及其结合片段两者。

术语“单链 Fv”或“scFv”抗体是指包含抗体的 VH 和 VL 结构域的抗体片段，其中这些结构域存在于单条多肽链中。Fv 多肽一般还包含 VH 和 VL 结构域之间的多肽接头，其使 scFv 能够形成用于抗原结合的所需结构。

术语“结构域抗体”是只含有重链可变区或轻链可变区的免疫功能性免疫球蛋白片段。在某些情况下，两个或更多个 VH 区与肽接头共价连接形成二价结构域抗体。二价结构域抗体的 2 个 VH 区可靶向相同或不同的抗原。

术语“二价抗体”包含 2 个抗原结合部位。在某些情况下，2 个结合部位具有相同的抗原特异性。然而，二价抗体可以是双特异性的。

术语“双抗体”是指具有两个抗原结合部位的小抗体片段，所述片段包含在同一多肽链（VH-VL 或 VL-VH)中与轻链可变结构域(VL)连接的重链可变结构域（VH)。通过使用短得不允许在同一链的两个结构域之间配对的接头，迫使该结构域与另一链的互补结构域配对并产生两个抗原结合部位。

术语“鼠源抗体”或“杂交瘤抗体”在本公开中为根据本领域知识和技能制备的抗人 CD93

的单克隆抗体。制备时用 CD93 抗原注射试验对象，然后分离表达具有所需序列或功能特性的抗体的杂交瘤。

术语“嵌合抗体”是具有第一抗体的可变结构域和第二抗体的恒定结构域的抗体，其中第一抗体和第二抗体来自不同物种。通常，可变结构域获自啮齿动物等的抗体（“亲代抗体”），而恒定结构域序列获自人抗体，使得与亲代啮齿动物抗体相比，所得嵌合抗体在人受试者中诱导不良免疫应答的可能性较低。

术语“人源化抗体”是指含有来自人和非人（例如小鼠、大鼠）抗体的序列的抗体形式。一般而言，人源化抗体包含基本所有的至少一个、通常两个可变结构域，其中所有或基本所有的超变环相当于非人免疫球蛋白的超变环，而所有或基本所有的构架（FR)区是人免疫球蛋白序列的构架区。人源化抗体任选可包含至少一部分的人免疫球蛋白恒定区（Fc)。

术语“全人抗体”是指只包含人免疫球蛋白蛋白质序列的抗体。如在小鼠中、在小鼠细胞中或在来源于小鼠细胞的杂交瘤中产生，则全人抗体可含有鼠糖链。同样，“小鼠抗体”是指仅包含小鼠免疫球蛋白序列的抗体。或者，如果在大鼠中、在大鼠细胞中或在来源于大鼠细胞的杂交瘤中产生，则全人抗体可含有大鼠糖链。同样，“大鼠抗体”是指仅包含大鼠免疫球蛋白序列的抗体。

“同种型”抗体是指由重链恒定区基因提供的抗体种类（例如，IgM、IgE、IgG 诸如 IgGl、IgG2 或 IgG4)。同种型还包括这些种类之一的修饰形式，其中修饰已被产生来改变 Fc 功能，例如以增强或减弱效应子功能或对 Fc 受体的结合。

本文术语“Fc 区”用于定义包含至少一部分恒定区的免疫球蛋白重链的 C 端区域。该术语包括天然序列 Fc 区和变异 Fc 区。在一些实施方式中，人 IgG 重链 Fc 区从 Cys226 或 Pro230 延伸至重链的羧基末端。但是，Fc 区的 C 端赖氨酸（Lys447）可能存在或不存在（此段中的编号是根据 EU 编号系统，也称为 EU 索引，如 Rabat 等人，Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991）。

术语“表位”指能够与抗体特异性结合的蛋白质决定簇。表位通常由各种化学活性表面分子诸如氨基酸或糖侧链组成，并且通常具有特定三维结构特征以及特定电荷特征。构象性表位和非构象性表位的区别在于在变性溶剂存在下，与前者而非与后者的结合丧失。

本文中所描述的术语“交叉反应”指的是对人类、猴、和/或鼠源(小鼠或大鼠)相同靶分子的抗原片段的结合。因此，“交叉反应”应被理解为与在不同物种中表达的相同分子 X 的种属间反应。识别人 CD93、猴、和/或鼠 CD93(小鼠或大鼠)的单克隆抗体的交叉反应特异性可通过 FACS 分析确定。

“亲和力”或“结合亲和力”指反映结合对子的成员之间相互作用的固有结合亲和力。分子 X 对其配偶物 Y 的亲和力可以通常由平衡解离常数(K_D)代表，平衡解离常数是解离速率常

数和结合速率常数(分别是 k_{dis} 和 k_{on})的比值。亲和力可以由本领域已知的常见方法测量。用于测量亲和力的一个具体方法是本文中的 ForteBio 动力学结合测定法。

术语“不结合”蛋白或细胞是指，不与蛋白或细胞结合，或者不以高亲和力与其结合，即结合蛋白或细胞的 K_D 为 1.0×10^{-6} M 或更高，更优选 1.0×10^{-5} M 或更高，更优选 1.0×10^{-4} M 或更高、1.0×10^{-3} M 或更高，更优选 1.0×10^{-2} M 或更高。

术语“高亲和性”对于 IgG 抗体而言，是指对于抗原的 K_D 为 1.0×10^{-6} M 或更低，优选 5.0×10^{-8} M 或更低，更优选 1.0×10^{-8} M 或更低、5.0×10^{-9} M 或更低，更优选 1.0×10^{-9} M 或更低。对于其他抗体亚型，“高亲和性”结合可能会变化。例如，IgM 亚型的“高亲和性”结合是指 K_D 为 10^{-6} M 或更低，优选 10^{-7} M 或更低，更优选 10^{-8} M 或更低。

术语“核酸”、“多核苷酸”、“核酸分子”以及“多核苷酸分子”是指脱氧核糖核酸（DNA)或核糖核酸（RNA)及其呈单链或双链形式的聚合物。除非明确地限制，否则术语包括具有与参照核酸相似的结合性质并且以与天然存在的核苷酸相似的方式被代谢的含有已知的天然核苷酸的类似物的核酸(参见，属于 Kariko 等人的美国专利 No. 8,278,036，其公开了尿苷被假尿苷替代的 mRNA 分子，合成所述 mRNA 分子的方法以及用于在体内递送治疗性蛋白的方法）。除非另有所指，否则特定核酸序列还隐含地包括其保守修饰的变体（例如，简并密码子取代）、等位基因、直系同源物、SNP 和互补序列以及明确指出的序列。具体地，简并密码子取代可通过生成其中一个或多个选择的（或全部）密码子的第三位被混合碱基和/或脱氧肌苷残基取代的序列来实现（Batzer 等人，Nucleic Acid Res. 19:5081 (1991)；Ohtsuka 等人，J. Biol. Chem. 260:2605-2608 (1985);和 Rossolini 等人，Mol. Cell. Probes 8:91-98(1994))。

“构建体”是指任何重组多核苷酸分子(诸如质粒、粘粒、病毒、自主复制多核苷酸分子、噬菌体或线性或环状单链或双链 DNA 或 RNA 多核苷酸分子），衍生自任何来源，能够与基因组整合或自主复制，构成如下多核苷酸分子，其中已经以功能操作的方式连接（即，可操作地连接）一或多个多核苷酸分子。重组构建体通常会包含可操作地连接至转录起始调节序列的本发明的多核苷酸，这些序列会导引多核苷酸在宿主细胞中的转录。可使用异源及非异源(即，内源)启动子两者导引本发明的核酸的表达。

“载体”是指任何重组多核苷酸构建体，该构建体可用于转化的目的（即将异源 DNA 引入到宿主细胞中）。一种类型的载体为“质粒”，是指环状双链 DNA 环，可将额外 DNA 区段连接至该环中。另一类型的载体为病毒载体，其中可将额外 DNA 区段连接至病毒基因组中。某些载体能够在被引入到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及游离型哺乳动物载体）。在引入到宿主细胞中后，其他载体(例如，非游离型哺乳动物载体) 整合至宿主细胞的基因组中，且因此与宿主基因组一起复制。此外，某些载体能够导引被操作性连接的基因的表达。本文将此类载体称为“表达载体”。

本文所用术语“表达载体”是指能够在转化、转染或转导至宿主细胞中时复制及表达目的

基因的核酸分子。表达载体包含一或多个表型选择标记及复制起点，以确保维护载体及以在需要的情况下于宿主内提供扩增。

用于细胞或受体的“活化”、“刺激”和“处理”可具有相同含义，例如细胞或受体用配体活化、刺激或处理，除非上下文另外或明确规定。“配体”包括天然和合成配体，例如细胞因子、细胞因子变体、类似物、突变蛋白和来源于抗体的结合化合物。“配体”还包括小分子，例如细胞因子的肽模拟物和抗体的肽模拟物。“活化”可指通过内部机制以及外部或环境因素调节的细胞活化。“应答/反应”，例如细胞、组织、器官或生物体的应答，包括生化或生理行为（例如生物区室内的浓度、密度、粘附或迁移、基因表达速率或分化状态）的改变，其中改变与活化、刺激或处理有关，或者与例如遗传编程等内部机制有关。

如本文中所用，术语任何疾病或病症的“治疗”或“医治”在一个实施方式中是指改善疾病或病症（即，减缓或阻止或减少疾病的进展或其临床症状的至少一个）。在另一个实施方式中，“治疗”或“医治”是指缓解或改善至少一个身体参数，包括可能不能被患者辨别出的那些物理参数。在另一个实施方式中，“治疗”或“医治”是指在身体上（例如，可辨别的症状的稳定）、生理上（例如，身体参数的稳定）或在这两方面调节疾病或病症。除非在本文中明确描述，否则用于评估疾病的治疗和/或预防的方法在本领域中通常是已知的。

“受试者”包括任何人或非人动物。术语“非人动物”包括所有脊椎动物，例如哺乳动物和非哺乳动物，诸如非人灵长类动物、绵羊、狗、猫、马、牛、鸡、两栖动物、爬行动物等。如本文中所用，术语“cyno”或“食蟹猴”是指食蟹猴。

“联合”一种或多种其它治疗剂的施用包括同时(共同)施用和任意次序的连续施用。

“治疗有效量”、“治疗有效剂量”和“有效量”是指本发明的 CD93 抗体或其抗原结合片段当单独或与其它治疗药物组合给予细胞、组织或受试者时，有效预防或改善一种或多种疾病或病况的症状或该疾病或病况的发展的量。治疗有效剂量还指足以导致症状改善的抗体或其抗原结合片段的量，例如治疗、治愈、预防或改善相关医学病况或者提高这类病况的治疗、治愈、预防或改善的速度的量。当对个体施用单独给予的活性成分时，治疗有效剂量仅是指该成分。当组合施用时，治疗有效剂量是指引起治疗效果的活性成分的综合量，不论是组合、依次给予还是同时给予。治疗剂的有效量将导致诊断标准或参数提高至少 10%，通常至少 20%，优选至少约 30%，更优选至少 40%，最优选至少 50%。

“药学上可接受的载体”是指药物制剂或组合物中除活性成分以外的对受试者无毒的成分。药学上可接受的载体包括但不限于缓冲剂，赋形剂，稳定剂或防腐剂。

术语“癌症”在本文中用于指表现出异常高水平的增殖和生长的一组细胞。癌症可能是良性的（也称为良性肿瘤），恶性前或恶性。癌细胞可以是实体癌细胞或白血病癌细胞。本文使用的术语“肿瘤”是指包含癌症的一个或多个细胞。术语“肿瘤生长”在本文中用于指代包含癌症的一种或多种细胞的增殖或生长，其导致癌症的大小或程度的相应增加。

抗 CD93 抗体及其抗原结合片段

本发明提供了特异性结合 CD93 的抗体或其抗原结合片段。术语“抗 CD93 抗体”、“抗 CD93”、“CD93 抗体”或“结合 CD93 的抗体”是指能够以足够的亲合力结合 CD93 蛋白或其片段以致所述抗体可以用作靶向 CD93 的诊断剂和/或治疗剂。

在一些实施方式中，本发明提供了结合 CD93 蛋白的抗体。

在一些实施方式中，本发明抗体结合人 CD93 蛋白。

在一些实施方式中，本发明的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段包含的重链可变区 CDR（HCDR）为由 Kabat、Chothia、AbM、Contact、North 或 IMGT 定义、优选 Kabat 定义的 SEQ ID NO：1、9、17 或 39 的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3，和/或，其包含的轻链可变区 CDR（LCDR）为由 Kabat、Chothia、AbM、Contact、North 或 IMGT 定义、优选 Kabat 定义的 SEQ ID NO：5、13、21、28、31、32 或 36 的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。

在一些实施方式中，本发明的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段包含的重链可变区 CDR（HCDR）为由 Kabat、Chothia、AbM、Contact、North 或 IMGT 定义、优选 Kabat 定义的 SEQ ID NO：1 的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3，和/或，其包含的轻链可变区 CDR（LCDR）为由 Kabat、Chothia、AbM、Contact、North 或 IMGT 定义、优选 Kabat 定义的 SEQ ID NO：5 的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。

在一些实施方式中，本发明的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段包含的重链可变区 CDR（HCDR）为由 Kabat、Chothia、AbM、Contact、North 或 IMGT 定义、优选 Kabat 定义的 SEQ ID NO：9 的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3，和/或，其包含的轻链可变区 CDR（LCDR）为由 Kabat、Chothia、AbM、Contact、North 或 IMGT 定义、优选 Kabat 定义的 SEQ ID NO：13 的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。

在一些实施方式中，本发明的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段包含的重链可变区 CDR（HCDR）为由 Kabat、Chothia、AbM、Contact、North 或 IMGT 定义、优选 Kabat 定义的 SEQ ID NO：17 的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3，和/或，其包含的轻链可变区 CDR（LCDR）为由 Kabat、Chothia、AbM、Contact、North 或 IMGT 定义、优选 Kabat 定义的 SEQ ID NO：21 的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。

在一些实施方式中，本发明的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段包含的重链可变区 CDR（HCDR）为由 Kabat、Chothia、AbM、Contact、North 或 IMGT 定义、优选 Kabat 定义的 SEQ ID NO：40 的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3，和/或，其包含的轻链可变区 CDR（LCDR）为由 Kabat、Chothia、AbM、Contact、North 或 IMGT 定义、优选 Kabat 定义的 SEQ ID NO：32 的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。

在一些实施方式中，本发明的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段包含的重链可变区 CDR

（HCDR）和轻链可变区 CDR（LCDR）分别为下述各组的序列所示的重链可变区和轻链可变区中由 Kabat、Chothia、AbM、Contact、North 或 IMGT 定义的 HCDR 和 LCDR 序列，优选为 Kabat 定义的 HCDR 和 LCDR 序列：

组的编号	轻链可变区（序列编号）	重链可变区（序列编号）
1	28	37
2		38
3		39
4		40
5	31	41
6		42
7		43
8		44
9	32	41
10		42
11		43
12		44
13	36	45
14		46
15		47
16		48
17	25	39
18	26	
19	27	

在一些实施方案中，本发明的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段包含的重链可变区 CDR（HCDR）为由 Kabat 定义的 SEQ ID NO：1、9、17 或 39 的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3，和/或，其包含的轻链可变区 CDR（LCDR）为由 Kabat 定义的 SEQ ID NO：5、13、21、28、31、32 或 36 的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。

在一些实施方式中，本发明的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段中，HCDR1 含有 SEQ ID NO：2、10 或 18 所示的氨基酸序列，HCDR2 含有 SEQ ID NO：3、11 或 19 或 57 所示的氨基酸序列，HCDR3 含有 SEQ ID NO：4、12 或 20 所示的氨基酸序列，和/或，LCDR1 含

有 SEQ ID NO：6、14、22、53、54 或 55 所示的氨基酸序列，LCDR2 含有 SEQ ID NO：7、15 或 23 所述的氨基酸序列，LCDR3 含有 SEQ ID NO：8、16、24 或 56 所述的氨基酸序列。

在一些实施方案中，本发明的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段中，其重链可变区包含：(I)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3 或 57、和 SEQ ID NO: 4 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3，或与 SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3 或 57、和 SEQ ID NO:4 所示氨基酸序列分别具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或(II)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 11 和 SEQ ID NO: 12 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3，或与 SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11 和 SEQ ID NO:12 所示氨基酸序列分别具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或(III)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 19 和 SEQ ID NO: 20 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3，或与 SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19 和 SEQ ID NO:20 所示氨基酸序列分别具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；和/或其轻链可变区包含：(I)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:6 或 53 或 54 或 55、SEQ ID NO:7 和 SEQ ID NO:8 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3，或与 SEQ ID NO:6 或 53 或 54 或 55、SEQ ID NO:7 和 SEQ ID NO:8 所示氨基酸序列分别具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或(II)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15 和 SEQ ID NO:16 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3，或与 SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15 和 SEQ ID NO:16 所示氨基酸序列分别具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或(III)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、和 SEQ ID NO:24 或 56 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3，或与 SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、和 SEQ ID NO:24 或 56 所示氨基酸序列分别具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。

在一些实施方式中，本发明的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 以及轻链可变区 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3，其中，所述 HCDR1 含有 SEQ ID NO：2 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，所述 HCDR2 含有 SEQ ID NO：3 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，所述 HCDR3 含有 SEQ ID NO：4 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，所述 LCDR1 含有 SEQ ID NO：6 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，所述 LCDR2 含有 SEQ ID NO：7 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，所述 LCDR3 含有 SEQ ID NO：8 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列。

在一些实施方式中，本发明的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 以及轻链可变区 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3，其中，所述 HCDR1 含有

SEQ ID NO：10 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，所述 HCDR2 含有 SEQ ID NO：11 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，所述 HCDR3 含有 SEQ ID NO：12 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，所述 LCDR1 含有 SEQ ID NO：14 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，所述 LCDR2 含有 SEQ ID NO：15 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，所述 LCDR3 含有 SEQ ID NO：16 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列。

在一些实施方式中，本发明的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 以及轻链可变区 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3，其中，所述 HCDR1 含有 SEQ ID NO：18 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，所述 HCDR2 含有 SEQ ID NO：19 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，所述 HCDR3 含有 SEQ ID NO：20 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，所述 LCDR1 含有 SEQ ID NO：22 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，所述 LCDR2 含有 SEQ ID NO：23 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，所述 LCDR3 含有 SEQ ID NO：24 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列。

在一些实施方式中，本发明的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 以及轻链可变区 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3，其中，所述 HCDR1 含有 SEQ ID NO：2 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，所述 HCDR2 含有 SEQ ID NO：3 或 57 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，所述 HCDR3 含有 SEQ ID NO：4 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，所述 LCDR1 含有 SEQ ID NO：53 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，所述 LCDR2 含有 SEQ ID NO：7 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，所述 LCDR3 含有 SEQ ID NO：8 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列。

在一些实施方式中，本发明的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 以及轻链可变区 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3，其中，所述 HCDR1 含有 SEQ ID NO：10 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，所述 HCDR2 含有 SEQ ID NO：11 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，所述 HCDR3 含有 SEQ ID NO：12 所示的氨基酸序列或与此

氨基酸序列具有1、2或3个氨基酸差异的氨基酸序列，所述LCDR1含有SEQ ID NO：54或55所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有1、2或3个氨基酸差异的氨基酸序列，所述LCDR2含有SEQ ID NO：15所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有1、2或3个氨基酸差异的氨基酸序列，所述LCDR3含有SEQ ID NO：16所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有1、2或3个氨基酸差异的氨基酸序列。

在一些实施方式中，本发明的抗CD93抗体或其抗原结合片段包含重链可变区HCDR1、HCDR2和HCDR3以及轻链可变区LCDR1、LCDR2和LCDR3，其中，所述HCDR1含有SEQ ID NO：18所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有1、2或3个氨基酸差异的氨基酸序列，所述HCDR2含有SEQ ID NO：19所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有1、2或3个氨基酸差异的氨基酸序列，所述HCDR3含有SEQ ID NO：20所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有1、2或3个氨基酸差异的氨基酸序列，所述LCDR1含有SEQ ID NO：22所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有1、2或3个氨基酸差异的氨基酸序列，所述LCDR2含有SEQ ID NO：23所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有1、2或3个氨基酸差异的氨基酸序列，所述LCDR3含有SEQ ID NO：56所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有1、2或3个氨基酸差异的氨基酸序列。

在一些实施方式中，本发明的抗CD93抗体或其抗原结合片段包含重链可变区HCDR1、HCDR2和HCDR3以及轻链可变区LCDR1、LCDR2和LCDR3，其中，所述HCDR1含有SEQ ID NO：2所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有1、2或3个氨基酸差异的氨基酸序列，所述HCDR2含有SEQ ID NO： 57所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有1、2或3个氨基酸差异的氨基酸序列，所述HCDR3含有SEQ ID NO：4所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有1、2或3个氨基酸差异的氨基酸序列，所述LCDR1含有SEQ ID NO：6所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有1、2或3个氨基酸差异的氨基酸序列，所述LCDR2含有SEQ ID NO：7所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有1、2或3个氨基酸差异的氨基酸序列，所述LCDR3含有SEQ ID NO：8所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有1、2或3个氨基酸差异的氨基酸序列。

在一些实施方式中，本发明的抗CD93抗体或其抗原结合片段包含重链可变区HCDR1、HCDR2和HCDR3以及轻链可变区LCDR1、LCDR2和LCDR3，其中，所述HCDR1含有SEQ ID NO：2所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有1、2或3个氨基酸差异的氨基酸序列，所述HCDR2含有SEQ ID NO：3所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有1、2或3个氨基酸差异的氨基酸序列，所述HCDR3含有SEQ ID NO：4所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有1、2或3个氨基酸差异的氨基酸序列，所述LCDR1含有SEQ ID NO：55所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有1、2或3个氨基酸差异的氨基酸序列，所述LCDR2含有SEQ ID NO：15所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有1、2或3个氨基酸差异的氨

基酸序列，所述 LCDR3 含有 SEQ ID NO：16 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列。

在一些实施方式中，本发明的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区和/或轻链可变区：

所述重链可变区包含：

(I)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3 或 57、SEQ ID NO: 4 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或

(II) 氨基酸序列分别如 SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 11 和 SEQ ID NO: 12 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或

(III)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 19 和 SEQ ID NO: 20 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；

所述轻链可变区包含：

(I)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:6 或 53 或 54 或 55、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或

(II)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15 和 SEQ ID NO:16 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或

(III)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24 或 56 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。

在一些实施方式中，本发明的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 以及轻链可变区 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3，其中，所述 HCDR1 含有 SEQ ID NO：2 所示的氨基酸序列，所述 HCDR2 含有 SEQ ID NO：3 所示的氨基酸序列，所述 HCDR3 含有 SEQ ID NO：4 所示的氨基酸序列，所述 LCDR1 含有 SEQ ID NO：6 所示的氨基酸序列，所述 LCDR2 含有 SEQ ID NO：7 所示的氨基酸序列，所述 LCDR3 含有 SEQ ID NO：8 所示的氨基酸序列。

在一些实施方式中，本发明的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 以及轻链可变区 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3，其中，所述 HCDR1 含有 SEQ ID NO：10 所示的氨基酸序列，所述 HCDR2 含有 SEQ ID NO：11 所示的氨基酸序列，所述 HCDR3 含有 SEQ ID NO：12 所示的氨基酸序列，所述 LCDR1 含有 SEQ ID NO：14 所示的氨基酸序列，所述 LCDR2 含有 SEQ ID NO：15 所示的氨基酸序列，所述 LCDR3 含有 SEQ ID NO：16 所示的氨基酸序列。

在一些实施方式中，本发明的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 以及轻链可变区 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3，其中，所述 HCDR1 含有 SEQ ID NO：18 所示的氨基酸序列，所述 HCDR2 含有 SEQ ID NO：19 所示的氨基酸序列，

所述 HCDR3 含有 SEQ ID NO：20 所示的氨基酸序列，所述 LCDR1 含有 SEQ ID NO：22 所示的氨基酸序列，所述 LCDR2 含有 SEQ ID NO：23 所示的氨基酸序列，所述 LCDR3 含有 SEQ ID NO：24 所示的氨基酸序列。

在一些实施方式中，本发明的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 以及轻链可变区 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3，其中，所述 HCDR1 含有 SEQ ID NO：2 所示的氨基酸序列，所述 HCDR2 含有 SEQ ID NO：3 或 57 所示的氨基酸序列，所述 HCDR3 含有 SEQ ID NO：4 所示的氨基酸序列，所述 LCDR1 含有 SEQ ID NO：53 所示的氨基酸序列，所述 LCDR2 含有 SEQ ID NO：7 所示的氨基酸序列，所述 LCDR3 含有 SEQ ID NO：8 所示的氨基酸序列。

在一些实施方式中，本发明的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 以及轻链可变区 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3，其中，所述 HCDR1 含有 SEQ ID NO：10 所示的氨基酸序列，所述 HCDR2 含有 SEQ ID NO：11 所示的氨基酸序列，所述 HCDR3 含有 SEQ ID NO：12 所示的氨基酸序列，所述 LCDR1 含有 SEQ ID NO：54 或 55 所示的氨基酸序列，所述 LCDR2 含有 SEQ ID NO：15 所示的氨基酸序列，所述 LCDR3 含有 SEQ ID NO：16 所示的氨基酸序列。

在一些实施方式中，本发明的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 以及轻链可变区 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3，其中，所述 HCDR1 含有 SEQ ID NO：18 所示的氨基酸序列，所述 HCDR2 含有 SEQ ID NO：19 所示的氨基酸序列，所述 HCDR3 含有 SEQ ID NO：20 所示的氨基酸序列，所述 LCDR1 含有 SEQ ID NO：22 所示的氨基酸序列，所述 LCDR2 含有 SEQ ID NO：23 所示的氨基酸序列，所述 LCDR3 含有 SEQ ID NO：56 所示的氨基酸序列。

在一些实施方式中，本发明的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 以及轻链可变区 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3，其中，所述 HCDR1 含有 SEQ ID NO：2 所示的氨基酸序列，所述 HCDR2 含有 SEQ ID NO： 57 所示的氨基酸序列，所述 HCDR3 含有 SEQ ID NO：4 所示的氨基酸序列，所述 LCDR1 含有 SEQ ID NO：6 所示的氨基酸序列，所述 LCDR2 含有 SEQ ID NO：7 所示的氨基酸序列，所述 LCDR3 含有 SEQ ID NO：8 所示的氨基酸序列。

在一些实施方式中，本发明的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 以及轻链可变区 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3，其中，所述 HCDR1 含有 SEQ ID NO：2 所示的氨基酸序列，所述 HCDR2 含有 SEQ ID NO：3 所示的氨基酸序列，所述 HCDR3 含有 SEQ ID NO：4 所示的氨基酸序列，所述 LCDR1 含有 SEQ ID NO：55 所示的氨基酸序列，所述 LCDR2 含有 SEQ ID NO：15 所示的氨基酸序列，所述 LCDR3 含有 SEQ ID NO：16 所示的氨基酸序列。

在一些实施方式中，本发明的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段的重链可变区包含 SEQ ID NO：1、9、17、37-48 中任一所示的氨基酸序列或包含与 SEQ ID NO：1、9、17、37-48 中任一所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列，和/或，其轻链可变区包含 SEQ ID NO：5、13、21、25-36 中任一所示的氨基酸序列或包含与 SEQ ID NO：5、13、21、25-36 中任一所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列。

在一些实施方式中，本发明所述的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区，其中：

(I) 所述重链可变区包含如 SEQ ID NO:1 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和所述轻链可变区包含如 SEQ ID NO:5 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 5 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；或

(II) 所述重链可变区包含如 SEQ ID NO:9 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 9 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和所述轻链可变区包含如 SEQ ID NO:13 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO:13 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；或

(III) 所述重链可变区包含如 SEQ ID NO:17 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 17 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和所述轻链可变区包含如 SEQ ID NO:21 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 21 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列。

在一些实施方式中，本发明所述的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段包含：重链可变区，其包含如 SEQ ID NO:37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47 或 48 中任一项所示的氨基酸序列；和轻链可变区，其包含如 SEQ ID NO:25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35 或 36 中任一项所示的氨基酸序列。

在一些实施方式中，本发明所述的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段包含：重链可变区，其包含与 SEQ ID NO: 37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47 或 48 中任一项所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和轻链可变区，其包含与 SEQ ID NO: 25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35 或 36 中任一项所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列。

在一些实施方式中，本发明所述抗 CD93 抗体或其抗原结合片段的重链可变区和轻链可变区的氨基酸序列分别选自以下任意一组的序列编号所示的重链可变区的氨基酸序列或与该氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列和轻链可变区的氨基酸序列或与该氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的

氨基酸序列：

组的编号	轻链可变区（序列编号）	重链可变区（序列编号）
1	25	37
2		38
3		39
4		40
5	26	37
6		38
7		39
8		40
9	27	37
10		38
11		39
12		40
13	28	37
14		38
15		39
16		40
17	29	41
18		42
19		43
20		44
21	30	41
22		42
23		43
24		44
25	31	41
26		42
27		43
28		44
29	32	41
30		42

31		43
32		44
33	33	45
34		46
35		47
36		48
37	34	45
38		46
39		47
40		48
41	35	45
42		46
43		47
44		48
45	36	45
46		46
47		47
48		48

在一些实施方式中，本发明所述的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段，其包含：

(I) 重链，其包含如 SEQ ID NO:49 或 51 中任一项所示的氨基酸序列，和轻链，其包含如 SEQ ID NO:50 或 52 中任一项所示的氨基酸序列；或

(II) 重链，其包含如 SEQ ID NO: 49 或 51 中任一项所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列，和轻链，其包含如 SEQ ID NO: 50 或 52 中任一项所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；或

(III) 氨基酸序列如 SEQ ID NO: 49 所示的重链和氨基酸序列如 SEQ ID NO:50 所示的轻链，或

(IV) 氨基酸序列如 SEQ ID NO: 51 所示的重链和氨基酸序列如 SEQ ID NO:52 所示的轻链。

在另一个方面，本发明提供了一种分离的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段，其具有以下特性中的一种或多种：(1)所结合的人 CD93 蛋白的表位与本文所述的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段结合相同、完全重叠或部分重叠；(2)与本文所述的抗 CD93 抗体或其抗原结合

片段竞争结合人 CD93 蛋白的表位。

在一些实施方式中，本发明所述的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段为鼠源抗体、嵌合抗体、人源化抗体、全人抗体，或其抗原结合片段。

在一些实施方式中，本发明所述抗体为鼠源抗体或嵌合抗体。在一些实施方式中，本发明所述抗体进一步包含源自鼠源抗体的重链框架区和/或轻链框架区。

在一些实施方式中，本发明所述抗体为人源化抗体。在一些实施方式中，本发明所述抗体包含源自人免疫球蛋白的重链框架区（例如，人重链胚系基因所编码的氨基酸序列中所包含的重链框架区），和/或轻链框架区（例如，人轻链胚系基因所编码的氨基酸序列中所包含的轻链框架区）。所述重链框架区和/或轻链框架区任选地包含一个或多个（例如，1 个、2 个、3 个、4 个、5 个、6 个、7 个、8 个、9 个或 10 个）从人源残基至鼠源残基的回复突变。

在一些实施方式中，本发明所述的抗体是单克隆抗体。

在一些实施方式中，所述抗原结合片段选自：Fab；Fab'；$F(ab')_2$；Fv 片段；双抗体；线性抗体；单链抗体分子，例如 sc-Fv；由抗体片段形成的纳米抗体和多特异性抗体。

可采用用于产生抗体的任何合适方法来产生本发明的抗体。任何合适形式的 CD93 都可用作产生抗体的免疫原（抗原）。通过举例而非限制，任何 CD93 变体或其片段都可用作免疫原。在一些实施方式中，产生鼠源的单克隆抗人 CD93 抗体的杂交瘤细胞可通过本领域公知的方法产生。

来源于啮齿动物（如小鼠）的抗体在体内用作治疗药物时可能引起不需要的抗体免疫原性，重复使用导致人体产生针对治疗性抗体的免疫应答，这类免疫应答至少导致丧失治疗功效，而严重的则导致潜在致死过敏反应。降低啮齿动物抗体的免疫原性的一种方法包括嵌合抗体的产生，其中将小鼠可变区与人恒定区融合（Liu 等（1987)Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84 :3439-43)。然而，嵌合抗体中的完整啮齿动物可变区的保留仍可能在患者中引起有害的免疫原性。将啮齿动物可变结构域的互补决定区（CDR)环移植到人构架上（即人源化）已被用于进一步将啮齿动物序列减至最低（Jones 等（1986)Nature 321 :522；Verhoeyen 等（1988)Science 239:1534）。

在一些实施方式中，本发明的嵌合或人源化抗体可基于所述制备的鼠单克隆杂交瘤抗体的序列来制备。编码重链和轻链免疫球蛋白的 DNA 可以从目标鼠杂交瘤中获得，并且使用标准分子生物学技术进行工程改造以包含非鼠（例如人）免疫球蛋白序列。

在一些实施方式中，本发明所述的嵌合 CD93 抗体，可使用本领域已知的方法将杂交瘤来源的免疫球蛋白重链和轻链可变区与人 IgG 恒定区有效连接（参见例如属于 Cabilly 等人的美国专利 No.4,816,567)，获得嵌合型重链和嵌合型轻链来制备。在一些实施方式中，本发明的嵌合抗体包含的恒定区可选自任何人 IgG 亚型，如 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4，优选 IgG4。

在一些实施方式中，本发明的嵌合 CD93 抗体可由嵌合型轻链与嵌合型重链表达质粒“混合和匹配”转染表达细胞获得，此类“混合和匹配”的抗体的 CD93 结合可使用上述结合测定和其它常规结合测定（例如，ELISA)来进行测试。

本发明所述的人源化抗体，可以使用本领域已知的方法将鼠源 CDR 区插入人种系框架区。参见 Winter 等人的美国专利 No.5,225,539 及 Queen 等人的美国专利 No.5,530,101；5,585,089；5,693,762 和 6,180,370。

在一些实施方式中，本发明的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段中的 3 个 HCDR 序列和 3 个 LCDR 序列中的一个或多个序列与前文所定义的相应的 3 个 HCDR 序列和 3 个 LCDR 序列相比，具有氨基酸差异。本文中，所述氨基酸差异包括氨基酸缺失、插入或置换。在一些实施方式中，本发明的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段的 3 个 HCDR 序列和 3 个 LCDR 序列中的一个或多个序列与前文所定义的相应的 3 个 HCDR 序列和 3 个 LCDR 序列相比，具有 1、2 或 3 个氨基酸选自氨基酸缺失、氨基酸插入和氨基酸取代的氨基酸差异。

在一些实施方式中，本发明的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段的框架区与本文所公开的具体序列中相应的框架区相比，具有 1、2、3、4 或 5 个氨基酸选自氨基酸缺失、氨基酸插入和氨基酸取代的氨基酸差异。

在一些实施方式中，本发明提供通过 1 个或多个（如 1-10 个、1-5 个或 1-3 个）氨基酸缺失、插入和/或取代后与本文具体公开的相应的各 CDR 序列、各重链可变区、各轻链可变区、各重链以及各轻链具有至少约 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%同一性的 CDR 序列、重链可变区、轻链可变区、重链以及轻链。

应理解的是，这些氨基酸差异的引入不会影响到所得抗 CD93 抗体或其抗原结合片段的生物学活性，包括以足够的亲合力结合 CD93 蛋白或其片段以致所述抗体可以用作靶向 CD93 的诊断剂和/或治疗剂的活性。换言之，突变所得的抗体或其抗原结合片段与突变前的抗体或其抗原结合片段相比，至少保留了突变前的抗体或其抗原结合片段与 CD93 蛋白或其片段结合亲合力。

在一些实施方式中，本文所述的抗 CD93 抗体是 IgG 抗体，例如 IgG1，IgG2，IgG3 或 IgG4 抗体或其修饰形式，如以下部分所述。

在一些实施方式中，可在本文中所提供的抗 CD93 抗体的 Fc 区中引入一个或多个氨基酸修饰，以此产生 Fc 区变体。Fc 区变体可包含在一或多个氨基酸位置处包含氨基酸修饰(例如置换)的人 Fc 区序列(例如人 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 Fc 区)。

在一些实施方式中，可能需要产生经半胱氨酸工程改造的抗体，例如“硫代 MAb”，其中抗体的一或多个残基经半胱氨酸残基置换。

在一些实施方式中，本文中所提供的抗体可进一步经修饰为含有本领域中已知且轻易获得的其他非蛋白质部分。适合抗体衍生作用的部分包括，但不限于，水溶性聚合物。水溶

性聚合物的非限制性实例包括，但不限于，聚乙二醇(PEG)、乙二醇/丙二醇共聚物、羧甲基纤维素、葡聚糖、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮、聚-1，3-二烷、聚-1，3，6-三烷、乙烯/马来酸酐共聚物、聚氨基酸(均聚物或无规共聚物)、及葡聚糖或聚(n-乙烯基吡咯烷酮)聚乙二醇、丙二醇均聚物、聚环氧丙烷/氧化乙烯共聚物、聚氧乙基化多元醇(例如甘油)、聚乙烯醇、及其混合物。

在一些实施方式中，本文提供一种多特异性抗体。所述多特异性抗体包含具有不同于本文中所提供的抗 CD03 抗体的结合特异性的第二功能模块（例如第二抗体），从而能够结合至少两个不同的结合位点和/或靶分子。因此，本发明还提供了一种包含本文所述抗体或其抗原结合片段的轻链可变区和重链可变区的多特异性抗体。

在一些实施方式中，本文中提供一种单链抗体，其包含本文所述抗 CD93 抗体或其抗原结合片段的轻链可变区和重链可变区。

多核苷酸分子及抗体表达

在又一个方面，本发明提供了一种多核苷酸分子，其编码本文所述的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段。本发明也包括该多核苷酸分子的全长互补序列。所述多核苷酸分子可以包含编码抗体的轻链可变区和/或重链可变区的氨基酸序列的多核苷酸分子，或包含编码抗体的轻链和/或重链的氨基酸序列的多核苷酸分子。在一些实施方式中，编码本发明抗体的多核苷酸分子包括已通过核苷酸缺失、插入或置换突变的，但仍然与上文中所述的序列中描绘的 CDR 对应编码区具有至少约 60%、70%、80%、90%或 95%同一性的多核苷酸分子。

在又一个方面，本发明提供一种核酸构建物，其含有本文所述的多核苷酸分子。核酸构建物可以是例如表达盒，其含有与所述多核苷酸分子可操作性连接的启动子和转录终止子。在一些实施方案中，所述核酸构建物为表达载体。

在又一个方面，本发明提供了一种表达载体，其包含如本文所述的多核苷酸分子或核酸构建物。优选地，所述载体为真核表达载体。在一些实施方式中，如本文所述的多核苷酸分子包含在一个或多个表达载体中。

在又一个方面，本发明提供了一种宿主细胞，其包含如本文所述的多核苷酸分子或如本文所述的表达载体和/或表达本文任一实施方式所述的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段。优选地，所述宿主细胞是真核细胞，更优选哺乳动物细胞。

在又一个方面，本发明提供了一种用于制备如本文所述的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段的方法，所述方法包括在适合于所述抗体或其抗原结合片段表达的条件下在本文所述的宿主细胞中表达所述抗体或其抗原结合片段，并从所述宿主细胞回收所表达的抗体或其抗原结合片段。

本发明提供用于表达本发明的重组抗体的哺乳动物宿主细胞，包括可获自美国典型培

养物保藏中心（ATCC)的许多永生化细胞系。这些尤其包括中国仓鼠卵巢（CHO)细胞、NS0、SP2/0 细胞、HeLa 细胞、幼仓鼠肾（BHK)细胞、猴肾细胞（COS)、人肝细胞癌细胞、A549 细胞、293T 细胞和许多其它细胞系。哺乳动物宿主细胞包括人、小鼠、大鼠、狗、猴、猪、山羊、牛、马和仓鼠细胞。通过测定哪种细胞系具有高表达水平来选择特别优选的细胞系。

在一个实施方式中，本发明提供制备抗 CD93 抗体的方法，其中所述方法包括，将表达载体导入哺乳动物宿主细胞中时，通培养所述宿主细胞足够的时间以允许抗体在宿主细胞中表达，或者更优选允许抗体分泌到宿主细胞生长的培养基中，从而制备得到抗体。可采用标准蛋白质纯化方法从培养基中回收抗体。

很可能由不同细胞系表达或在转基因动物中表达的抗体彼此具有不同的糖基化。然而，由本文提供的核酸分子编码的或包含本文提供的氨基酸序列的所有抗体是本发明的组成部分，而不论抗体的糖基化如何。同样，在某些实施方式中，非岩藻糖基化抗体是有利的，因为它们通常在体外和体内具有比其岩藻糖基化对应物更强力的功效，并且不可能是免疫原性的，因为它们的糖结构是天然人血清 IgG 的正常组分。

药物组合物和试剂盒

在又一个方面，本发明提供了一种药物组合物，其包含如本文所述的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段、本文所述的核酸构建物或多核苷酸分子、本文所述的表达载体、本文所述的宿主细胞、或本文所述的多特异性抗体或单链抗体，和药学上可接受的载体或赋形剂。应理解，本发明提供的抗 CD93 抗体或其药物组合物可以整合制剂中合适的运载体、赋形剂和其他试剂以联合给药，从而提供改善的转移、递送、耐受等。

术语“药物组合物”指这样的制剂，其允许包含在其中的活性成分的生物学活性有效的形式存在，并且不包含对施用所述制剂的受试者具有不可接受的毒性的另外的成分。

可以通过将具有所需纯度的本发明的抗 CD93 抗体与一种或多种任选的药用辅料(Remington' s Pharmaceutical Sciences，第 16 版，Osol, A.编辑(1980))混合来制备包含本文所述的抗 CD93 抗体的药物制剂，优选地以水溶液或冻干制剂的形式。

本发明的药物组合物或制剂还可以包含一种或多种其它活性成分，所述活性成分是被治疗的特定适应症所需的，优选具有不会不利地影响彼此的互补活性的那些活性成分。在一些实施方式中，其它的活性成分为化疗剂、免疫检查点抑制剂、生长抑制剂、抗生素或已知的各种抗肿瘤或抗癌剂，所述活性成分以对于目的用途有效的量合适地组合存在。在一些实施方式中，本发明的药物组合物还包含编码抗 CD93 抗体的多核苷酸分子的组合物。

在又一个方面，本发明提供了一种药物组合，其包含本文所述的抗体或其抗原结合片段、本文所述的多核苷酸分子或核酸构建物、本文所述的表达载体、本文所述的宿主细胞、本文所述的多特异性抗体或单链抗体、或本文所述的药物组合物，以及一种或多种另外的治疗

剂。

在又一个方面，本发明提供了一种试剂盒，其包括本文所述的抗体或其抗原结合片段、本文所述的多核苷酸分子或核酸构建物、本文所述的表达载体、本文所述的宿主细胞、或本文所述的多特异性抗体或单链抗体、或本文所述的药物组合物或药物组合。

在一些实施方式中，所述试剂盒为检测试剂盒，其含有本文所述的抗体或其抗原结合片段或者含有所述抗体或其抗原结合片段的检测组合物。任选地，所述抗体或其抗原结合片段可被本领域熟知的标记物标记。

医药用途及治疗方法

本文提供的任何抗 CD93 抗体或其抗原结合片段均可用于治疗方法。还应当理解，在讨论“抗体”时，也包括包含抗体或其抗原结合片段的组合物。本发明的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段可以治疗有效量或预防有效量用于本发明任一实施方式所述的治疗或预防方法中。

在又一个方面，本发明提供了本文所述的抗体或其抗原结合片段、本文所述的多核苷酸分子或核酸构建物、本文所述的表达载体、本文所述的宿主细胞、或本文所述的多特异性抗体或单链抗体、或本文所述的药物组合物或药物组合在制备用于治疗和/或预防 CD93 介导的疾病或病症的药物中的用途。

在又一个方面，本发明提供了用于治疗和/或预防 CD93 介导的疾病或病症的本文所述的抗体或其抗原结合片段、本文所述的多核苷酸分子或核酸构建物、本文所述的表达载体、本文所述的宿主细胞、或本文所述的多特异性抗体或单链抗体、或本文所述的药物组合物或药物组合。

在又一个方面，本发明提供了一种治疗和/或预防 CD93 介导的疾病或病症的方法，其包括向有需要的受试者施用本文所述的抗体或其抗原结合片段、本文所述的多核苷酸分子或核酸构建物、本文所述的表达载体、本文所述的宿主细胞、或本文所述的多特异性抗体或单链抗体、或本文所述的药物组合物或药物组合。

在一些实施方式中，所述 CD93 介导的疾病或病症包括由 CD93 和胰岛素样生长因子结合蛋白 7（IGFBP7）之间的相互作用而导致的疾病或病症，如异常肿瘤血管。

优选地，所述 CD93 介导的疾病或病症为癌症；更优选地，所述癌症的特征包括异常的肿瘤脉管系统；进一步优选地，所述癌症选自结直肠癌、非小细胞肺癌、胶质母细胞瘤、肾细胞癌、宫颈癌、卵巢癌、输卵管癌、腹膜癌、乳腺癌、前列腺癌、膀胱癌、口腔鳞状细胞癌、头颈部鳞状细胞癌、脑肿瘤、骨癌、黑色素瘤。

在一些实施方式中，本发明给药方式包括但不限于口服、静脉内、皮下、肌内、动脉内、关节内(例如在关节炎关节中)、通过吸入、气雾剂递送或肿瘤内给予等。

用于诊断和检测的方法

在又一个方面，本发明提供了一种使用本文所述的抗体或其抗原结合片段检测 CD93 在样品中的存在的方法。术语“检测”包括定量或定性检测。在一些实施方式中，所述样品是生物样品。在某些实施方式中，生物样品是血、血清或生物来源的其他液体样品。在某些实施方式中，生物样品包含细胞或组织。所述方法包括使本文所述的抗体或其抗原结合片段或含有所述抗体或其抗原结合片段的检测组合物与样品接触的步骤，以及检测是否存在所述抗体或其抗原结合片段与 CD93 结合产生的结合物或结合信号的步骤。用于检测用途时，本文所述的抗体或其抗原结合片段可被标记，以指示是否形成了所述结合物。在某些实施方式中，所述方法可以用于诊断目的，或者非诊断目的。

在又一个方面，本发明提供了本文所述的抗体或其抗原结合片段或者含有所述抗体或其抗原结合片段的检测组合物在制备检测 CD93 在样品中的存在的检测试剂的用途。

本发明包括所述特定实施方式的所有组合。本发明的进一步实施方式及可应用性的完整范畴将自下文所提供的详细描述变得显而易见。然而，应理解，尽管详细描述及特定实施例指示本发明的优选实施方式，但仅以说明的方式提供这些描述及实施例，因为本发明的精神及范畴内的各种改变及修改将自此详细描述对熟悉此项技术者变得显而易见。出于所有目的，包括引文在内的本文所引用的所有公开物、专利及专利申请将以引用的方式全部并入本文。

本发明的抗体可以通过本领域技术人员所熟知的多种方法来制备，包括下面列举的具体实施方式、其与其他方法的结合所形成的实施方式以及本领域技术上人员所熟知的等同替换方式，优选的实施方式包括但不限于本发明的实施例。

实施例

通过以下实施例对本发明进行说明，但并不旨在对本发明作出任何限制。本文已经详细描述了本发明，其中也公开了其具体实施方式。对本领域的技术人员而言，在不脱离本发明精神和范围的情况下针对本发明具体实施方式进行各种变化和改进将是显而易见的。

实施例 1、用于抗 CD93 抗体活性检测的重组蛋白的制备

通过常规 PCR 技术扩增编码 CD93 胞外结构域的 cDNA 序列，利用常规的克隆技术，将扩增片段克隆到自主构建的真核表达质粒系统（MX2-mFc，包含鼠源 IgG2a Fc 域）中，其含嘌呤霉素筛选体系，从而产生重组融合蛋白表达质粒 hCD93 ECD mFC。利用表达细胞 293E 表达并纯化获取 hCD93 ECD mFC 重组蛋白。

其中人 CD93 胞外结构域（CD93 ECD）氨基酸序列为第 Ala24-Lys580 位氨基酸（UniProtKB/Swiss-Prot: Q9NPY3.3），用于本发明抗体的活性检测。

实施例 2、小鼠杂交瘤细胞的制备

2.1、免疫动物

将 CD93-Fc 重组蛋白作为抗原免疫 5 只 BALB/c 小鼠（购自 Simonsen Laboritories of Gilroy，雌性 BALB/c，8 周）。在初次免疫后（50ug/只），每隔 1 周或 2 周进行一次加强免疫（25ug/只），共进行 6 次免疫。

2.2、细胞融合

在最后一针加强免疫后第四天，取小鼠腹股沟淋巴结，腘窝淋巴结和脾脏，在生理盐水中碾磨后取富含淋巴细胞的悬浮液，按常规电转方法将其与小鼠骨髓瘤细胞 Sp2/0 融合。将融合产物在含 1:50 HAT (次黄嘌呤、氨甲蝶呤和胸腺嘧啶核苷) 的 DMEM 完全培养基中培养 5 天以筛选成功融合的细胞(杂交瘤细胞)。然后换成含 1:50 HT (次黄嘌呤和胸腺嘧啶核苷)的 DMEM 完全培养基直至筛选结束。

DMEM 完全培养基配比是：15%FBS(胎牛血清)+1:50 L-谷氨酰胺+100U/mL 青链霉素+1:100 OPI（草酰乙酸、丙酮酸和胰岛素），培养箱条件是 8% CO_2，37°C。

实施例 3、小鼠杂交瘤细胞的筛选和所得抗 CD93 鼠源抗体的性能检测

在 9600 株不同多克隆杂交瘤细胞中，通过结合 ELISA，筛选出 181 株杂交瘤细胞，其分泌的抗体可与 hCD93 特异地结合。在这 181 株结合阳性的杂交瘤细胞中，有 15 株杂交瘤细胞表达的抗体可在 FACS 中阻断 IGFBP7 与表达在细胞表面的 hCD93 结合。随后的 ELISA 阻断实验中，在上述的多克隆细胞株中确定了 7 株能够阻断 hCD93 与 IGFBP7 结合。

上述 ELISA 包括：96 孔 MaxiSorp 板（赛默飞世尔 Nunc）包被 2ug/mL hCD93（鼠 Fc 标签，君盟制备）后以 1% BSA 封闭。将终浓度为 0.5ug/ml 的 Igfbp7 与杂交瘤培养液上清在微孔板上共孵育 30 分钟。再将混合物转移至 MaxiSorp 板上孵育 30 分钟。用辣根过氧化物酶标记的羊抗人二抗检测。

上述 FACS 包括：将自主构建的过表达人 CD93 的细胞 CHO CD93 与染色缓冲液（PBS+1%FBS）配置的 hIGFBP7 mFc 蛋白溶液（0.5 μg/ml），以及不同浓度的抗 CD93 杂交瘤抗体在 4℃条件下共孵育 30 min。然后用染色缓冲液洗去未结合的抗体，再将细胞与用染色缓冲液配置的含 1%（v/v）的羊抗鼠 IgG Fc 荧光二抗（Jackson ImmunoResearch）在 4℃条件下避光孵育 30 分钟。最后用流式细胞仪收集细胞，检测细胞表面结合的荧光抗体。用 FlowJo 分析原始数据得到 MFI 值，并用 GraphPad Prism 软件进行四参数拟合曲线得出 IC50 值。

通过亚克隆筛选得到 7 株阻断型单克隆细胞株。将其分泌的抗体进行了纯化和分析。从单克隆杂交瘤细胞提取 mRNA，对抗体可变区进行了测序。确定 7 个序号分别是 1H2.3、

2A6.5、2D9.4、3D9.7、3E2.7、4B5.3 和 4C5.4。

实施例 4、抗 CD93 鼠源抗体的可变区序列的测定（根据 Kabat 或 IMGT 表示）

用基于简并引物 PCR 的方法，测定抗 CD93 鼠源抗体的可变区对应的 DNA 编码序列。培养候选杂交瘤细胞，1000 rpm 离心收集细胞，并以 Trizol 提取总 RNA。以此为模板合成第一链 cDNA，之后以第一链 cDNA 作为后续模板，PCR 扩增对应的可变区 DNA 编码序列。扩增反应中所使用的引物序列与抗体的可变区第一框架区和恒定区互补(Larrick，J.W.等, 1990, Scand. J. Immunol., 32, 121-128 和 Coloma, J.J.等, (1991)BioTechniques, 11, 152-156)。在 50 μl 反应体系中，分别加入 cDNA 1 μl，10×PCR 缓冲液 5 μl，上游及下游引物各 1 μl (25 pmol)，dNTP 1 μl，25 mmol PL MgCl2 1μl，H2O 39 μl，95℃预变性 10 min，加 Taq 酶 1 μl，进入温度循环，进行 PCR 扩增。反应条件为 94℃变性 1 min，58℃退火 1 min，72℃延伸 15 s，共 32 个循环，然后 72℃保温 10 min。回收并纯化 PCR 产物。对扩增产物测序，得到抗人 CD93 鼠源抗体的重链可变区和轻链可变区氨基酸序。

用 NCBI Ig-Blast(http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/igblast/)在种系和重排 Ig 可变区序列数据库中搜索共有序列。基于 Kabat（Wu,T.T 及 Kabat, E.A. 1970 J. Exp. Med., 132:211-250）及 IMGT 系统（Lefranc M.-P.等人，1999 Nucleic Acids Research, 27, 209-212），藉由序列批注及藉由基于因特网的序列分析（http://www.imgt.org/IMGT_vquest/vquest 与 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/igblast/)鉴定互补决定区（CDR）氨基酸序列。

经选择的抗 CD93 鼠源抗体的对应嵌合抗体如下表 1 所示。

表 1：鼠源抗体与嵌合抗体的对应表

杂交瘤编号	嵌合抗体编号
1H2.3	TAB1913-1
2A6.5	TAB1913-2
2D9.4	TAB1913-3
3D9.7	TAB1913-4
3E2.7	TAB1913-5
4B5.3	TAB1913-6
4C5.4	TAB1913-7

实施例 5、抗 CD93 嵌合抗体的构建

考虑杂交瘤细胞表达抗体的表达量、活性、类型等，选择抗人 CD93 鼠源抗体 TAB1913-1，TAB1913-2，TAB1913-3，TAB1913-4，TAB1913-5，TAB1913-6，TAB1913-7 的轻链和

重链可变区构建抗 CD93 嵌合抗体。

从人 B 淋巴细胞（来自北京血液研究所）中克隆重链恒定区 IgG4 和轻链恒定区 κ 的编码序列，引入 pCDNA3.1 质粒中，分别形成载体 HXT1S-KDL 和 HXT2。前述抗 CD93 鼠源抗体的重链和轻链可变区编码序列由 tsingke 公司合成，通过 BSPQI 酶切，分别亚克隆至 HXT4S 和 HXT2。将各种嵌合型重链和轻链表达质粒混合配对转染表达细胞（CHOK1 18，苏州君盟），获得 49 种抗人 CD93 嵌合抗体，其编号和配对方式具体见表 2。后续的实验材料均由此系列质粒转染细胞后提取获得。

表 2：嵌合抗体的编号及其重链和轻链可变区的来源

	HXT4S-TAB1913-1-HC	HXT4S-TAB1913-2-HC	HXT4S-TAB1913-3-HC	HXT4S-TAB1913-4-HC	HXT4S-TAB1913-5-HC	HXT4S-TAB1913-6-HC	HXT4S-TAB1913-7-HC
HXT2-TAB1913-1-LC	C1	C8	C15	C22	C29	C36	C43
HXT2-TAB1913-2-LC	C2	C9	C16	C23	C30	C37	C44
HXT2-TAB1913-3-LC	C3	C10	C17	C24	C31	C38	C45
HXT2-TAB1913-4-LC	C4	C11	C18	C25	C32	C39	C46
HXT2-TAB1913-5-LC	C5	C12	C19	C26	C33	C40	C47
HXT2-TAB1913-6-LC	C6	C13	C20	C27	C34	C41	C48
HXT2-TAB1913-7-LC	C7	C14	C21	C28	C35	C42	C49

实施例 6、嵌合抗体的筛选

6.1 抗 CD93 嵌合抗体与人 CHO-CD93 表达细胞的结合

将过表达人 CD93 的 CHO-CD93 细胞（CHO-K1 细胞购自 ATCC 细胞库，编号 CCL-61。在此细胞基础上自主构建了过表达 CD93 的稳转细胞株，CD93 的氨基酸序列来自 NCBI 登录号 NP_036204.2）分别与不同浓度的抗 CD93 嵌合抗体(起始浓度为 50μg/ml，3 倍稀释，共 10 个浓度梯度)在 4°C 条件下孵育 30 min，然后用染色缓冲液（PBS+1%FBS）洗去未结

合的抗体，并与染色缓冲液配制的含 1%（v/v）的荧光二抗 goat anti-human IgG PE（SouthernBiotech，Cat#2040-09）在 4℃条件下避光孵育 30 分钟。最后用流式细胞仪（BD 公司， CantoII型号）收集细胞，检测细胞表面结合的荧光抗体。用 FlowJo 分析原始数据得到 MFI 值，并用通过 GraphPad 拟合抗体剂量依赖性的结合曲线并计算 EC50。

如图 1 和表 3 所示，本发明大部分抗 CD93 嵌合抗体均能够以高亲和力与 CHO-CD93 细胞表面高表达的人 CD93 结合，其中以 C17、C33 的结合 top 值最高，而 C21 没有结合活性。

表 3：抗 CD93 嵌合抗体的细胞水平亲和力（EC_{50}）

嵌合抗体	EC_{50}（ng/ml）	相对(C1)活性%	Top 值 (MFI-PE)
C1	136	100.0	119313
C9	375.7	36.2	116677
C11	305	44.6	117824
C17	218.4	62.3	161513
C21	57098	0.2	1129
C23	384.9	35.3	100408
C25	294.1	46.2	116912
C33	99.13	137.2	154012
C36	66.66	204.0	101492
C40	58.29	233.3	115268
C41	68.95	197.2	123021
C49	72.47	187.7	79353

6.2 抗 CD93 嵌合抗体阻断 IGFBP7 蛋白与人 CD93 表达细胞结合

将过表达人 CD93 的细胞 CHO-CD93 与染色缓冲液（PBS+1%FBS）配制的 hIGFBP7 mFc 蛋白溶液（君实自主表达的，Lot#20200318，工作浓度 10 μg/ml），以及不同浓度的抗 CD93 嵌合抗体(起始浓度为 50 μg/ml，3 倍稀释，10 个浓度梯度）在 4℃条件下共孵育 30 min。然后用染色缓冲液洗去未结合的抗体，再将细胞与用染色缓冲液配制的含 1%（v/v）的 goat anti-mouse IgG Fc 荧光二抗（Jackson ImmunoResearch，Cat#115-175-071）在 4℃条件下避光孵育 30 分钟。最后用流式细胞仪（BD 公司， CantoII型号）收集细胞，检测细胞表面结合的荧光抗体。用 FlowJo 分析原始数据得到 MFI 值，并用 GraphPad Prism 软件进行四参数拟合曲线得出 IC50 值。

如图 2 和表 4 所示，以下 12 个嵌合抗体中，C17、C21、C36、C40、C41 均不能有效阻断 hIGFBP7 蛋白与 CHO-CD93 细胞的结合，其它抗体则可以阻断 hIGFBP7 蛋白与 CHO-CD93 细胞的结合。

表 4：抗 CD93 嵌合抗体阻断 hIGFBP7 蛋白与 CHO-CD93 细胞结合的能力（IC50）

嵌合抗体	IC_{50}（ng/ml）	相对(C1)活性%
C1	142.9	100.0
C9	872.3	16.4
C11	337.9	42.3
C17	NA	NA
C21	NA	NA
C23	789.3	18.1
C25	852.7	16.8
C33	298.1	47.9
C36	NA	NA
C40	NA	NA
C41	NA	NA
C49	123.8	115.4

选择 C1、C33、C49 个嵌合抗体的重链和轻链分别开展人源化设计和改造。嵌合抗体序列如下：

C1-VH: TAB1913-1HC

EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCATSGFIFSDYFMYWVRQTPEKRLEWIAYITNGGGGTYYPDTVKGRFTISRDNAKNTLYLQMSRLMSEDTAMYYCARDYYGSGAWFAYWGQGTLVTVSA (SEQ ID NO:1)；

CDR1: DYFMY (SEQ ID NO:2)；

CDR2: YITNGGGGTYYPDTVKG (SEQ ID NO:3)；

CDR3: DYYGSGAWFAY (SEQ ID NO:4)；

C1-VL: TAB1913-1LC

DVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSLIHRNGDTYLHWFLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKITRVEAEDLGVYFCSQSTHVPPWTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO:5)；

CDR1: RSSQSLIHRNGDTYLH (SEQ ID NO:6)；

CDR2: KVSNRFS (SEQ ID NO:7)；

CDR3: SQSTHVPPWT (SEQ ID NO:8)；

C33-VH: TAB1913-5HC

QVQLQQSGPELVRPGVSVKISCKGSSYTFTDYALHWVRQSHAKSLEWIGFINTDYGN THFNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELARLTSEDSAVYYCARNYYGNSWGYAMDYWGQ GTSVTVSS (SEQ ID NO:9)；

CDR1: DYALH (SEQ ID NO:10)；

CDR2: FINTDYGNTHFNQKFKG (SEQ ID NO:11)；

CDR3: NYYGNSWGYAMDY (SEQ ID NO:12)；

C33-VL: TAB1913-5LC

DIVMTQAAFSNPVTLGTSASISCRSNKSLLHSNGLTYLYWYLQKPGQSPQLLIYQMS NLASGVPDRFSSSGSGTDFTLRISRVEAEDVGVYYCAQNLEVPWTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO:13)；

CDR1: RSNKSLLHSNGLTYLY (SEQ ID NO:14)；

CDR2: QMSNLAS (SEQ ID NO:15)；

CDR3: AQNLEVPWT (SEQ ID NO:16)；

C49-VH: TAB1913-7HC

QVQLQQSGAELARPGASVKLSCKASGYTFTSYWMQWVKQRPGQGLEWIGAIYPGD GDTRYTQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLASEDSAVYYCARHYYGYDMDSWGQGT SVTVSS (SEQ ID NO:17)；

CDR1: SYWMQ (SEQ ID NO:18)；

CDR2: AIYPGDGDTRYTQKFKG (SEQ ID NO:19)；

CDR3: HYYGYDMDS (SEQ ID NO:20)；

C49-VL: TAB1913-7LC

DIVLTQSPATLSVTPGDSVSLSCRASQSISNNLHWYQQKSHESPRLLIKFTSQSISGIPS RFSGSGSGTDFTLSINNVETEDFGMYFCQQSNGWPYTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO:21)；

CDR1: RASQSISNNLH (SEQ ID NO:22)；

CDR2: FTSQSIS (SEQ ID NO:23)；

CDR3: QQSNGWPYT (SEQ ID NO:24)。

实施例 7、抗体可变区的人源化改造

对于抗体可变区的人源化改造，首先在 NCBI (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/igblast/)网站

中的人类免疫球蛋白基因数据库搜寻与鼠抗体的 cDNA 序列同源的人类种系 IgG 基因，再藉由 Kabat 编号系统或 IMGT 编号系统定义可变区 CDR 的氨基酸序列及其精确边界。原则上将与鼠源抗体具有高同源性的人类 IGHV 选为人源化模板，藉由 CDR 嫁接实施抗体可变区的人源化。

根据上述获得的鼠源抗体的序列，进行人源化改造。简言之，人源化改造过程涉及以下步骤：A、把鼠源抗体的基因序列与人胚胎系抗体基因序列进行比对，找出同源性高的序列；B、分析考察 HLA-DR 亲和性，选出亲和力低的人胚胎系框架序列；C、利用计算机模拟技术，应用分子对接分析可变区及其周边的框架氨基酸序列，考察其空间立体结合方式。通过计算静电力，范德华力，亲疏水性和熵值，分析鼠源抗体基因序列中可与人 CD93 作用以及维护空间构架的关键氨基酸个体，将其嫁接回已经选择的人胚胎系基因框架，并在此基础上标配出必须保留的框架区氨基酸位点，合成人源化抗体。在此基础上得到了多种人源化抗体可变区，将设计的人源化抗 CD93 抗体可变区进行自我配对组合，获得 48 种人源化抗 CD93 抗体，其编号和轻链可变区和重链可变区的氨基酸序列具体见下。

TAB1913-1LC-1

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISC**RSSQSLIHRNGDTYLH**WFQQRPGQSPRLLIY**KVS NRFS**GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFC**SQSTHVPPWT**FGQGTKLEIK (SEQ ID NO:25)

TAB1913-1LC-2

DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISC**RSSQSLIHRNGDTYLH**WFLQKPGQSPQLLIY**KVSN RFS**GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFC**SQSTHVPPWT**FGQGTKLEIK (SEQ ID NO:26)

TAB1913-1LC-3

DVVMTQTPLSLSVTPGQPASISC**RSSQSLIHRNGDTYLH**WFLQKPGQSPQLLIY**KVS NRFS**GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC**SQSTHVPPWT**FGQGTKLEIK (SEQ ID NO:27)

TAB1913-1LC-4

DVVMTQTPLSLPVTPGEPASISC**RSSQSLIHRNADTYLH**WFLQKPGQSPQLLIY**KVS NRFS**GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFC**SQSTHVPPWT**FGQGTKLEIK (SEQ ID NO:28)（SEQ ID NO:53：**RSSQSLIHRNADTYLH**）

TAB1913-5LC-1

DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC**RSNKSLLHSNGLTYLY**WYLQKPGQSPQLLIY**QMS NLAS**GVPDRFSSSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC**AQNLEVPWT**FGQGTKLEIK (SEQ ID NO:29)

TAB1913-5LC-2

DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISC**RSNKSLLHSNGLTYLY**WYLQKPGQSPQLLIY**QMS**
NLASGVPDRFSSSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC**AQNLEVPWT**FGQGTKLEIK (SEQ ID NO:30)

TAB1913-5LC-3

DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISC**RSNKSLLHSNALTYLY**WYLQKPGQSPQLLIY**QMS**
NLASGVPDRFSSSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC**AQNLEVPWT**FGQGTKLEIK (SEQ ID NO:31)（SEQ ID NO:54：**RSNKSLLHSNALTYLY**）

TAB1913-5LC-4

DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISC**RSDKSLLHSNALTYLY**WYLQKPGQSPQLLIY**QMS**
NLASGVPDRFSSSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC**AQNLEVPWT**FGQGTKLEIK (SEQ ID NO:32)（SEQ ID NO:55：**RSDKSLLHSNALTYLY**）

TAB1913-7LC-1

EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITC**RASQSISNNLH**WYQQKPDQSPKLLIK**FTSQSIS**GVP
SRFSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAATYYC**QQSNGWPYT**FGQGTKLEIK (SEQ ID NO:33)

TAB1913-7LC-2

EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITC**RASQSISNNLH**WYQQKPDQSPKLLIK**FTSQSIS**GVP
SRFSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAATYFC**QQSNGWPYT**FGQGTKLEIK (SEQ ID NO:34)

TAB1913-7LC-3

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC**RASQSISNNLH**WYQQKPGQAPRLLIK**FTSQSIS**GIP
ARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYFC**QQSNGWPYT**FGQGTKLEIK (SEQ ID NO:35)

TAB1913-7LC-4

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC**RASQSISNNLH**WYQQKPGQAPRLLIK**FTSQSIS**GIP
ARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYFC**QQSNAWPYT**FGQGTKLEIK (SEQ ID NO:36)（SEQ ID NO:56：**QQSNAWPYT**）

TAB1913-1HC-1

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFIFS**DYFMY**WVRQAPGKGLEWVS**YITNGG**
GGTYYPDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**DYYGSGAWFAY**WG
QGTLVTVSS (SEQ ID NO:37)

TAB1913-1HC-2

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGFIFS**DYFMY**WVRQAPGKGLEWVS**YITNGG**
GGTYYPDTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**DYYGSGAWFAY**WG
QGTLVTVSS (SEQ ID NO:38)

TAB1913-1HC-3

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGFIFS**DYFMY**WVRQAPGKGLEWVS**YITNAG GGTYYPDTVKG**RFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**DYYGSGAWFAY**WG QGTLVTVSS (SEQ ID NO:39)（SEQ ID NO:57：**NAGGGTYYPDTVKG**）

TAB1913-1HC-4

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGFIFS**DYFMY**WVRQAPGKGLEWVS**YITNGG GGTYYPDTVKG**RFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**DYYGSGAWFAY**WG QGTLVTVSS (SEQ ID NO:40)

TAB1913-5HC-1

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFS**DYALH**WVRQAPGQGLEWMG**FINTD YGNTHFNQKFKG**RVTITVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR**NYYGNSWGYAMDY** WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:41)

TAB1913-5HC-2

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFT**DYALH**WVRQAPGQGLEWMG**FINTD YGNTHFNQKFKG**RVTITVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR**NYYGNSWGYAMDY** WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:42)

TAB1913-5HC-3

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT**DYALH**WVRQAPGQRLEWMG**FINTD YGNTHFNQKFKG**RVTITVDKSSSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR**NYYGNSWGYAMDY** WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:43)

TAB1913-5HC-4

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT**DYALH**WVRQAPGQGLEWMG**FINTD YGNTHFNQKFKG**RVTMTTDKSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCAR**NYYGNSWGYAMD Y**WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:44)

TAB1913-7HC-1

EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFT**SYWMQ**WVRQMPGKGLEWMG**AIYPG DGDTRYTQKFKG**QVTISADKSSSTAYLQWSSLKASDTAMYYCAR**HYYGYDMDS**WGQ GTLVTVSS (SEQ ID NO:45)

TAB1913-7HC-2

EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFT**SYWMQ**WVRQMPGKGLEWMG**AIYPG DGDTRYTQKFKG**QVTLSADKSSSTAYLQWSSLKASDTAMYYCAR**HYYGYDMDS**WGQ GTLVTVSS (SEQ ID NO:46)

TAB1913-7HC-3

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFS**SYWMQ**WVRQAPGQGLEWMG**AIYPG DGDTRYTQKFKG**RVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR**HYYGYDMDS**WGQG TLVTVSS (SEQ ID NO:47)

TAB1913-7HC-4

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFT**SYWMQ**WVRQAPGQGLEWMG**AIYP GDGDTRYTQKFKG**RVTLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR**HYYGYDMDS**WG QGTLVTVSS (SEQ ID NO:48)

实施例 8、抗 CD93 人源化抗体的构建

各种嵌合型重链和轻链表达质粒混合配对转染表达细胞，获得 48 种抗人 CD93 人源化抗体，其编号和配对方式具体见表 5。后续的实验材料均由此系列质粒转染细胞后提取获得。

表 5：人源化抗 CD93 抗体的编号及其重链轻链可变区的来源

组合一	**1HC-1**	**1HC-2**	**1HC-3**	**1HC-4**
1LC-1	hu1	hu13	hu25	hu37
1LC-2	hu2	hu14	hu26	hu38
1LC-3	hu3	hu15	hu27	hu39
1LC-4	hu4	hu16	hu28	hu40
组合二	**5HC-1**	**5HC-2**	**5HC-3**	**5HC-4**
5LC-1	**hu53**	**hu65**	**hu77**	**hu89**
5LC-2	**hu54**	hu66	hu78	hu90
5LC-3	**hu55**	hu67	hu79	hu91
5LC-4	**hu56**	hu68	hu80	hu92
组合三	**7HC-1**	**7HC-2**	**7HC-3**	**7HC-4**
7LC-1	**hu105**	**hu117**	**hu129**	**hu141**
7LC-2	**hu106**	hu118	hu130	hu142
7LC-3	**hu107**	hu119	hu131	hu143
7LC-4	**hu108**	hu120	hu132	hu144

示例性的 Hu37 和 Hu92 的轻链、重链氨基酸序列如下所示。

Hu37-HC：

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGFIFSDYFMYWVRQAPGKGLEWVSYITNGGG GTYYPDTVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDYYGSGAWFAYWGQG

TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP
ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP
REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT
LPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK* (SEQ ID NO:49);

Hu37-LC:

DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLIHRNGDTYLHWFQQRPGQSPRLLIYKVSN
RFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCSQSTHVPPWTFGQGTKLEIKRTVAAP
SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY
SLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC* (SEQ ID NO:50);

hu92-HC:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYALHWVRQAPGQGLEWMGFINTD
YGNTHFNQKFKGRVTMTTDKSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARNYYGNSWGYAMDY
WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG
VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTC
PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN
AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE
PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL
YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK* (SEQ ID NO:51);

hu92-LC:

DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSDKSLLHSNALTYLYWYLQKPGQSPQLLIYQMSN
LASGVPDRFSSSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCAQNLEVPWTFGQGTKLEIKRTVAAP
SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY
SLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC* (SEQ ID NO:52)。

实施例 9、人源化抗 CD93 抗体的筛选

9.1 抗 CD93 人源化抗体与人 CHO-CD93 表达细胞的结合

将过表达人 CD93 的 CHO-CD93 细胞（CHO-K1 细胞购自 ATCC 细胞库，编号 CCL-61。在此细胞基础上自主构建了过表达 CD93 的稳转细胞株，CD93 的氨基酸序列来自 NCBI 登录号 NP_036204.2）分别与不同浓度的抗 CD93 人源化抗体(起始浓度为 10μg/ml，3 倍稀释，共 10 个浓度梯度)在 4°C 条件下孵育 30 min，然后用染色缓冲液（PBS+1%FBS）洗去未结合的抗体，并与染色缓冲液配制的含 1%（v/v）的荧光二抗 goat anti-human IgG PE

（SouthernBiotech，Cat#2040-09）在 4℃条件下避光孵育 30 分钟。最后用流式细胞仪（BD 公司，CantoII型号）收集细胞，检测细胞表面结合的荧光抗体。用 FlowJo 分析原始数据得到 MFI 值，并用通过 GraphPad 拟合抗体剂量依赖性的结合曲线并计算 EC50。其中 C1 作为实验阳性对照。

如图 3(A~D)和表 6-1、6-2、6-3 和 6-4 所示，本发明抗 CD93 人源化抗体均能够以高亲和力与 CHO-CD93 细胞表面高表达的人 CD93 结合。

表 6-1：抗 CD93 人源化抗体的细胞水平亲和力（EC_{50}）

抗体	**EC_{50} (μg/ml)**	相对(C1)活性%	Top 值(MFI-PE)
C1	0.07677	100.00	187984
hu1	0.1087	70.63	226477
hu2	0.1006	76.31	211731
hu3	0.1337	57.42	219176
hu4	0.1132	67.82	228700
hu13	0.1514	50.71	212771
hu14	0.105	73.11	198434
hu15	0.1819	42.20	230029
hu16	0.1234	62.21	205723
hu25	0.1212	63.34	175097
hu26	0.1144	67.11	163939
hu27	0.1413	54.33	183275
hu28	0.1184	64.84	187809
hu37	0.1179	65.11	182062

表 6-2：抗 CD93 人源化抗体的细胞水平亲和力（EC_{50}）

抗体	**EC_{50}(μg/ml)**	相对（C1）活性%	Top 值(MFI-PE)
C1	0.4157	100.00	2307842
hu38	0.313	132.81	1424207
hu39	0.4696	88.52	1687834
hu40	0.679	61.22	1807315
hu53	0.2292	181.37	1765572
hu54	0.7453	55.78	1498747
hu55	0.3969	104.74	2218128

hu56	0.4911	84.65	2554897
hu65	0.4527	91.83	2356484
hu66	0.7615	54.59	1079001
hu67	0.3238	128.38	1056538
hu68	0.403	103.15	555534
hu77	0.6707	61.98	1394533
hu90	0.248	167.62	1833325
hu91	0.3222	129.02	1992549
hu92	0.2738	151.83	2064503
hu105	0.236	176.14	1490302
hu106	0.6208	66.96	1816700
hu107	0.2818	147.52	1714003

表 6-3：抗 CD93 人源化抗体的细胞水平亲和力（EC_{50}）

抗体	**EC_{50}(μg/ml)**	相对（C1）活性%	**Top 值(MFI-PE)**
C1	0.07084	100.00	39942
hu108	0.11	64.40	62819
hu117	0.07961	88.98	49462
hu118	0.06241	113.51	53266
hu119	0.09656	73.36	50262
hu120	0.07126	99.41	48346
hu132	0.07013	101.01	80561
hu141	0.05812	121.89	42555
hu142	0.06391	110.84	41894
hu143	0.04904	144.45	56030
hu144	0.07492	94.55	54562

表 6-4：抗 CD93 人源化抗体的细胞水平亲和力（EC_{50}）

抗体	**EC_{50}(μg/ml)**	相对（C1）活性%	**Top 值(MFI-PE)**
C1	0.08547	100.00	288690
hu78	0.06687	127.82	295603

hu79	0.06767	126.30	311821
hu80	0.08024	106.52	326552
hu89	0.08981	95.17	336745
hu129	0.03228	264.78	138477
hu130	0.0566	151.01	205712
hu131	0.06094	140.25	229969

6.2 抗 CD93 人源化抗体阻断 IGFBP7 蛋白与人 CD93 表达细胞结合

将过表达人 CD93 的细胞 CHO-CD93 与染色缓冲液（PBS+1%FBS）配制的 hIGFBP7 mFc 蛋白溶液（君实自主表达的，Lot#20200318，工作浓度 10 μg/ml），以及不同浓度的抗 CD93 人源化抗体 (起始浓度为 50 μg/ml，3 倍稀释，10 个浓度梯度）在 4℃条件下共孵育 30 min。然后用染色缓冲液洗去未结合的抗体，再将细胞与用染色缓冲液配制的含 1%（v/v）的 goat anti-mouse IgG Fc 荧光二抗（Jackson ImmunoResearch，Cat#115-175-071）在 4℃条件下避光孵育 30 分钟。最后用流式细胞仪（BD 公司， CantoII型号）收集细胞，检测细胞表面结合的荧光抗体。用 FlowJo 分析原始数据得到 MFI 值，并用 GraphPad Prism 软件进行四参数拟合曲线得出 IC50 值。其中 C1 作为实验阳性对照。

如图 4（A~C）和表 7-1、7-2 和 7-3 所示，本发明抗 CD93 人源化抗体均能够有效阻断 hIGFBP7 蛋白与 CHO-CD93 细胞的结合。

表 7-1：抗 CD93 人源化抗体阻断 hIGFBP7 蛋白与 CHO-CD93 细胞结合的能力（IC_{50}）

抗体	IC_{50}(μg/ml)	相对(C1)活性%	Top 值(MFI-APC)
C1	0.9804	100.00	28279
hu1	2.152	45.56	34106
hu2	2.066	47.45	34590
hu3	3.071	31.92	25466
hu4	2.743	35.74	33502
hu13	2.424	40.45	32657
hu14	1.589	61.70	35042
hu15	1.888	51.93	34607
hu16	2.028	48.34	26648
hu142	0.4822	203.32	29976
hu143	0.5002	196.00	24143

hu144	0.531	184.63	22444

表 7-2：抗 CD93 人源化抗体阻断 hIGFBP7 蛋白与 CHO-CD93 细胞结合的能力（IC_{50}）

抗体	IC50(μg/ml)	相对（C1)活性	Top 值(MFI-APC)
hu25	0.3442	71.09	18260
hu26	0.295	82.95	14636
hu27	0.2861	85.53	12479
hu28	0.4004	61.11	12618
hu37	0.1075	227.63	22387
hu38	0.2998	81.62	13281
hu39	0.3486	70.20	12113
hu40	0.2566	95.36	12727
hu53	0.1759	139.11	10845
hu54	0.2577	94.96	20864
hu55	0.2004	122.11	11120
hu56	0.201	121.74	10618
hu65	0.1261	194.05	9765
hu66	0.1234	198.30	10058
hu67	0.1014	241.32	10163
hu68	0.1223	200.08	11257
hu77	0.12	203.92	20247
hu90	0.2008	121.86	15138
hu91	0.08328	293.83	23107
hu92	0.08505	287.71	17521
hu105	0.1463	167.26	17799
hu106	0.3008	81.35	15413
hu107	0.2169	112.82	13887
C1	0.2447	100.00	16901

表 7-3：抗 CD93 人源化抗体阻断 hIGFBP7 蛋白与 CHO-CD93 细胞结合的能力（IC_{50}）

抗体	IC_{50}(μg/ml)	相对（C1）活性	Top 值(MFI-APC)

hu78	~0.1929	501.04	31200
hu79	0.4947	195.37	37305
hu80	0.4871	198.42	29765
hu89	0.5592	172.84	28511
hu108	0.8166	118.36	33886
hu117	0.3718	259.95	35412
hu118	0.7163	134.93	27486
hu119	0.5911	163.51	28863
hu120	0.7932	121.85	30375
hu129	0.6878	140.52	37522
hu130	0.5436	177.80	36958
hu131	0.4943	195.53	37844
hu132	0.5081	190.22	23905
hu141	0.3441	280.88	29640
C1	0.9665	100.00	28540

实施例 10、抗 hCD93 单克隆抗体与 CD93 蛋白的结合

使用 PBS（厂家：Hyclone，货号：SH30256.01）稀释人 CD93(His Tag)（厂家：苏州君盟）至 2.0 μg/mL，以 100 μl/孔加入酶标板，37°C 恒温培养箱中静置包被 90 min；洗板；加入 200 μl/孔 2% BSA 至板内，置 37°C 恒温培养箱内孵育 90 min；洗板；用 2% BSA 分别稀释抗体（hu37、7B10 和 H3L3；本文所用的 7B10 和 H3L3 分别为 WO2022067262A1 中公开的 7B10 和 H3L3）至 10000 ng/ml，以 3 倍梯度稀释至 0.056 ng/ml。所有样品以 100 μl/孔加入酶标板中，置 37°C 恒温培养箱内孵育 60 min；洗板；将辣根过氧化物酶（HRP）偶联的羊抗人抗体 IgG（厂家：Sigma，货号：A0170）(Fc 特异性)用 2% BSA 稀释 5000 倍，以 100 μl/孔加入酶标板，置 37°C 恒温培养箱内孵育 60 min；洗板；加入显色液 TMB（厂家：Sigma，货号：T2885）0.1 mg/ml，100 μl/孔，避免气泡，37°C 避光显色 15 min；最后加 2M 的盐酸溶液终止反应，100 μl/孔，避免气泡，10 min 内完成酶标仪读数（检测波长 450 nm；参比波长 620 nm），使用四参数对数回归（4PL）模型拟合 EC_{50}。

如图 5 所示，hu37、Ref1（17B10）和 Ref2（H3L3）抗体均能够以高亲和力与 hCD93 结合，hu37、Ref1（17B10）和 Ref2（H3L3）的结合活性相当。

实施例 11、抗 hCD93 单克隆抗体阻断 IGFBP7 与 CD93 蛋白的结合

使用 PBS（厂家：Hyclone，货号：SH30256.01）稀释人 CD93(His Tag)（厂家：苏州君盟）至 2μg/mL，以 100 μl/孔加入酶标板，37°C 恒温培养箱中静置包被 90 min；洗板；加入 200 μl/孔 2% BSA 至板内，置 37°C 恒温培养箱内孵育 90 min；洗板；用 2% BSA 稀释人 IGFBP7(mFc Tag)(厂家：苏州君盟)至 0.3 μg/mL，再用 0.3 μg/mL 的人 IGFBP7(mFc Tag)稀释样品至 100000 ng/ml，以 2.5 倍梯度稀释至 4.19 ng/ml。所有样品以 100 μl/孔加入酶标板中，置 37°C 恒温培养箱内孵育 60 min；洗板；将辣根过氧化物酶（HRP）偶联的羊抗鼠抗体 IgG（厂家：Sigma，货号：A2554）(Fc 特异性)用 2% BSA 稀释 5000 倍，以 100 μl/孔加入酶标板，置 37°C 恒温培养箱内孵育 60 min；洗板；加入显色液 TMB（厂家：Sigma，货号：T2885）0.1 mg/ml，100 μl/孔，避免气泡，37°C 避光显色 15 min；最后加 2M 的盐酸溶液终止反应，100 μl/孔，避免气泡，10 min 内完成酶标仪读数（检测波长 450 nm；参比波长 620 nm），使用四参数对数回归（4PL）模型拟合 IC_{50}。

如图 6 所示， Ref1（17B10）和 Ref2（H3L3）抗体均不能阻断 IGFBP7 与 CHO hCD93 细胞表面的 hCD93 结合，hu37 能够有效阻断 IGFBP7 与 CHO hCD93 细胞表面的 hCD93 结合，IC_{50} 为 745.6ng/mL。

实施例 12、抗 hCD93 单克隆抗体与 CHO hCD93 细胞的结合

将 CHO hCD93 细胞（稳定表达 hCD93 的 CHO-K1 细胞，hCD93 阳性）与不同浓度的 hCD93 单克隆抗体 hu37 (起始浓度为 3.3μg/ml，3 倍稀释，共 10 个浓度梯度)在 4°C 孵育 30 min，然后洗涤并与荧光标记的二抗在 4°C条件下避光孵育 30 分钟。最后用流式细胞仪（BD Fortessa）收集细胞，检测细胞表面结合的荧光抗体。用 FlowJo 分析原始数据得到 MFI 值，并通过 GraphPad 拟合抗体剂量依赖性的结合曲线（图 1）并计算 EC_{50}，阳性对照为 Ref1（17B10）和 Ref2（H3L3）抗体；阴性对照为抗 KLH hu-IgG1 抗体。

如图 7 所示，hu37、Ref1（17B10）和 Ref2（H3L3）抗体均能够以高亲和力与 CHO hCD93 细胞表面的 hCD93 结合，EC_{50} 分别为 144.2 ng/mL、 150.3 ng/mL 和 128.6 ng/mL，hu37、Ref1（17B10）和 Ref2（H3L3）的结合活性相当。

实施例 13、抗 hCD93 单克隆抗体阻断 IGFBP7 与 CHO hCD93 细胞的结合

将 CHO hCD93 细胞（稳定表达 hCD93 的 CHO-K1 细胞，hCD93 阳性）与不同浓度的 hCD93 单克隆抗体 hu37 (起始浓度为 30μg/ml，3 倍稀释，共 10 个浓度梯度)和 15μg/ml hIGFBP7（CD93 配体）在 4°C 孵育 30 min，然后洗涤并与荧光标记的二抗在 4°C条件下避光孵育 30 分钟。最后用流式细胞仪（BD Fortessa）收集细胞，检测细胞表面结合的荧光抗体。用 FlowJo 分析原始数据得到 MFI 值，并通过 GraphPad 拟合抗体剂量依赖性的抑制曲线（图 2）并计算 IC_{50}，阳性对照为 Ref1（17B10）和 Ref2（H3L3）抗体；阴性对照为抗

KLH hu-IgG1 抗体。

如图 8 所示， Ref1（17B10）和 Ref2（H3L3）抗体均不能阻断 IGFBP7 与 CHO hCD93 细胞表面的 hCD93 结合，hu37 能够有效阻断 IGFBP7 与 CHO hCD93 细胞表面的 hCD93 结合，IC_{50} 为 559.9ng/ml。

权 利 要 求 书

1．一种抗 CD93 抗体或其抗原结合片段，其特征在于，所述抗 CD93 抗体或其抗原结合片段包含的重链可变区 CDR（HCDR）为由 Kabat、Chothia、AbM、Contact、North 或 IMGT 定义、优选 Kabat 定义的 SEQ ID NO：1、9、17 或 39 的 HCDR1 或与该 HCDR1 具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的序列，HCDR2 或与该 HCDR2 具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的序列，和 HCDR3 或与该 HCDR3 具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的序列；和/或，所述抗 CD93 抗体或其抗原结合片段包含的轻链可变区 CDR（LCDR）为由 Kabat、Chothia、AbM、Contact、North 或 IMGT 定义、优选 Kabat 定义的 SEQ ID NO：5、13、21、28、31、32 或 36 的 LCDR1 或与该 LCDR1 具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的序列，LCDR2 或与该 LCDR2 具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的序列，和 LCDR3 或与该 LCDR3 具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的序列。

2．如权利要求 1 所述的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段，其特征在于，

所述抗 CD93 抗体或其抗原结合片段包含的重链可变区 CDR（HCDR）为由 Kabat、Chothia、AbM、Contact、North 或 IMGT 定义、优选 Kabat 定义的 SEQ ID NO：1 的 HCDR1 或与该 HCDR1 具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的序列，HCDR2 或与该 HCDR2 具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的序列，和 HCDR3 或与该 HCDR3 具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的序列；和/或，其包含的轻链可变区 CDR（LCDR）为由 Kabat、Chothia、AbM、Contact、North 或 IMGT 定义、优选 Kabat 定义的 SEQ ID NO：5 的 LCDR1 或与该 LCDR1 具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的序列，LCDR2 或与该 LCDR2 具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的序列，和 LCDR3 或与该 LCDR3 具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的序列；或

所述抗 CD93 抗体或其抗原结合片段包含的重链可变区 CDR（HCDR）为由 Kabat、Chothia、AbM、Contact、North 或 IMGT 定义、优选 Kabat 定义的 SEQ ID NO：9 的 HCDR1 或与该 HCDR1 具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的序列，HCDR2 或与该 HCDR2 具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的序列，和 HCDR3 或与该 HCDR3 具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的序列；和/或，其包含的轻链可变区 CDR（LCDR）为由 Kabat、Chothia、AbM、Contact、North 或 IMGT 定义、优选 Kabat 定义的 SEQ ID NO：13 的 LCDR1 或与该 LCDR1 具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的序列，LCDR2 或与该 LCDR2 具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的序列，和 LCDR3 或与该 LCDR3 具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的序列；或

所述抗 CD93 抗体或其抗原结合片段包含的重链可变区 CDR（HCDR）为由 Kabat、Chothia、AbM、Contact、North 或 IMGT 定义、优选 Kabat 定义的 SEQ ID NO：17 的 HCDR1 或与该 HCDR1 具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的序列，HCDR2 或与该 HCDR2 具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的序列，和 HCDR3 或与该 HCDR3 具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的序列；和

/或，其包含的轻链可变区 CDR（LCDR）为由 Kabat、Chothia、AbM、Contact、North 或 IMGT 定义、优选 Kabat 定义的 SEQ ID NO：21 的 LCDR1 或与该 LCDR1 具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的序列，LCDR2 或与该 LCDR2 具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的序列，和 LCDR3 或与该 LCDR3 具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的序列；或

所述抗 CD93 抗体或其抗原结合片段包含的重链可变区 CDR（HCDR）为由 Kabat、Chothia、AbM、Contact、North 或 IMGT 定义、优选 Kabat 定义的 SEQ ID NO：40 的 HCDR1 或与该 HCDR1 具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的序列，HCDR2 或与该 HCDR2 具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的序列，和 HCDR3 或与该 HCDR3 具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的序列；和/或，其包含的轻链可变区 CDR（LCDR）为由 Kabat、Chothia、AbM、Contact、North 或 IMGT 定义、优选 Kabat 定义的 SEQ ID NO：32 的 LCDR1 或与该 LCDR1 具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的序列，LCDR2 或与该 LCDR2 具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的序列，和 LCDR3 或与该 LCDR3 具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的序列。

3．如权利要求 1 所述的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段，其特征在于，所述抗 CD93 抗体或其抗原结合片段包含的重链可变区 CDR（HCDR）和轻链可变区 CDR（LCDR）分别为下述第 1-19 组的各组序列所示的重链可变区和轻链可变区中由 Kabat、Chothia、AbM、Contact、North 或 IMGT 定义、优选 Kabat 定义的 HCDR1 或与该 HCDR1 具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的序列，HCDR2 或与该 HCDR2 具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的序列，和 HCDR3 或与该 HCDR3 具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的序列，和 LCDR1 或与该 LCDR1 具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的序列，LCDR2 或与该 LCDR2 具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的序列，和 LCDR3 或与该 LCDR3 具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的序列：

组的编号	轻链可变区（序列编号）	重链可变区（序列编号）
1	28	37
2		38
3		39
4		40
5	31	41
6		42
7		43
8		44
9	32	41
10		42

11		43
12		44
13	36	45
14		46
15		47
16		48
17	25	39
18	26	
19	27	

4．如权利要求 1 所述的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段，其特征在于，所述抗 CD93 抗体或其抗原结合片段中，

HCDR1 含有 SEQ ID NO：2、10 或 18 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，HCDR2 含有 SEQ ID NO：3、11 或 19 或 57 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，HCDR3 含有 SEQ ID NO：4、12 或 20 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，和/或，

LCDR1 含有 SEQ ID NO：6、14、22、53、54 或 55 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，LCDR2 含有 SEQ ID NO：7、15 或 23 所述的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，LCDR3 含有 SEQ ID NO：8、16、24 或 56 所述的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列。

5．如权利要求 1 所述的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段，其特征在于，所述抗 CD93 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区和/或轻链可变区，其中：

所述重链可变区包含：

(I)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3 或 57、SEQ ID NO: 4 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或

(II) 氨基酸序列分别如 SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 11 和 SEQ ID NO: 12 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或

(III)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 19 和 SEQ ID NO: 20 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；

所述轻链可变区包含：

(I)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:6 或 53 或 54 或 55、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或

(II)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15 和 SEQ ID NO:16 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或

(III)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24 或 56 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。

6．如权利要求 1 所述的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段，其特征在于，

所述抗 CD93 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 以及轻链可变区 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3，其中，所述 HCDR1 含有 SEQ ID NO：2 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，所述 HCDR2 含有 SEQ ID NO：3 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，所述 HCDR3 含有 SEQ ID NO：4 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，所述 LCDR1 含有 SEQ ID NO：6 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，所述 LCDR2 含有 SEQ ID NO：7 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，所述 LCDR3 含有 SEQ ID NO：8 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列；或

所述抗 CD93 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 以及轻链可变区 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3，其中，所述 HCDR1 含有 SEQ ID NO：10 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，所述 HCDR2 含有 SEQ ID NO：11 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，所述 HCDR3 含有 SEQ ID NO：12 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，所述 LCDR1 含有 SEQ ID NO：14 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，所述 LCDR2 含有 SEQ ID NO：15 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，所述 LCDR3 含有 SEQ ID NO：16 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列；或

所述抗 CD93 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 以及轻链可变区 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3，其中，所述 HCDR1 含有 SEQ ID NO：18 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，所述 HCDR2 含有 SEQ ID NO：19 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，所述 HCDR3 含有 SEQ ID NO：20 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，所述 LCDR1 含有 SEQ ID NO：22 所示的氨基酸序列或

与此氨基酸序列具有1、2或3个氨基酸差异的氨基酸序列，所述LCDR2含有SEQ ID NO：23所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有1、2或3个氨基酸差异的氨基酸序列，所述LCDR3含有SEQ ID NO：24所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有1、2或3个氨基酸差异的氨基酸序列；或

所述抗CD93抗体或其抗原结合片段包含重链可变区HCDR1、HCDR2和HCDR3以及轻链可变区LCDR1、LCDR2和LCDR3，其中，所述HCDR1含有SEQ ID NO：2所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有1、2或3个氨基酸差异的氨基酸序列，所述HCDR2含有SEQ ID NO：3或57所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有1、2或3个氨基酸差异的氨基酸序列，所述HCDR3含有SEQ ID NO：4所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有1、2或3个氨基酸差异的氨基酸序列，所述LCDR1含有SEQ ID NO：53所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有1、2或3个氨基酸差异的氨基酸序列，所述LCDR2含有SEQ ID NO：7所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有1、2或3个氨基酸差异的氨基酸序列，所述LCDR3含有SEQ ID NO：8所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有1、2或3个氨基酸差异的氨基酸序列；或

所述抗CD93抗体或其抗原结合片段包含重链可变区HCDR1、HCDR2和HCDR3以及轻链可变区LCDR1、LCDR2和LCDR3，其中，所述HCDR1含有SEQ ID NO：10所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有1、2或3个氨基酸差异的氨基酸序列，所述HCDR2含有SEQ ID NO：11所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有1、2或3个氨基酸差异的氨基酸序列，所述HCDR3含有SEQ ID NO：12所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有1、2或3个氨基酸差异的氨基酸序列，所述LCDR1含有SEQ ID NO：54或55所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有1、2或3个氨基酸差异的氨基酸序列，所述LCDR2含有SEQ ID NO：15所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有1、2或3个氨基酸差异的氨基酸序列，所述LCDR3含有SEQ ID NO：16所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有1、2或3个氨基酸差异的氨基酸序列；或

所述抗CD93抗体或其抗原结合片段包含重链可变区HCDR1、HCDR2和HCDR3以及轻链可变区LCDR1、LCDR2和LCDR3，其中，所述HCDR1含有SEQ ID NO：18所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有1、2或3个氨基酸差异的氨基酸序列，所述HCDR2含有SEQ ID NO：19所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有1、2或3个氨基酸差异的氨基酸序列，所述HCDR3含有SEQ ID NO：20所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有1、2或3个氨基酸差异的氨基酸序列，所述LCDR1含有SEQ ID NO：22所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有1、2或3个氨基酸差异的氨基酸序列，所述LCDR2含有SEQ ID NO：23所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有1、2或3个氨基酸差异的氨基酸序列，所述LCDR3含有SEQ ID NO：56所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有1、2或3个氨基酸

差异的氨基酸序列；或

所述抗 CD93 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 以及轻链可变区 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3，其中，所述 HCDR1 含有 SEQ ID NO：2 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，所述 HCDR2 含有 SEQ ID NO： 57 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，所述 HCDR3 含有 SEQ ID NO：4 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，所述 LCDR1 含有 SEQ ID NO：6 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，所述 LCDR2 含有 SEQ ID NO：7 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，所述 LCDR3 含有 SEQ ID NO：8 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列；或

所述抗 CD93 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 以及轻链可变区 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3，其中，所述 HCDR1 含有 SEQ ID NO：2 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，所述 HCDR2 含有 SEQ ID NO：3 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，所述 HCDR3 含有 SEQ ID NO：4 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，所述 LCDR1 含有 SEQ ID NO：55 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，所述 LCDR2 含有 SEQ ID NO：15 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列，所述 LCDR3 含有 SEQ ID NO：16 所示的氨基酸序列或与此氨基酸序列具有 1、2 或 3 个氨基酸差异的氨基酸序列。

7．如权利要求 1 所述的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段，其特征在于，所述抗 CD93 抗体或其抗原结合片段的重链可变区包含 SEQ ID NO：1、9、17、37-48 中任一所示的氨基酸序列或包含与 SEQ ID NO：1、9、17、37-48 中任一所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列，和/或，其轻链可变区包含 SEQ ID NO：5、13、21、25-36 中任一所示的氨基酸序列或包含与 SEQ ID NO：5、13、21、25-36 中任一所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列。

8．如权利要求 1 所述的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段，其特征在于，所述抗 CD93 抗体或其抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区，其中：

(I) 所述重链可变区包含如 SEQ ID NO:1 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和所述轻链可变区包含如 SEQ ID NO:5 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 5 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；或

(II) 所述重链可变区包含如 SEQ ID NO:9 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 9 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和所述轻链可变区包含如 SEQ ID NO:13 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO:13 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；或

(III) 所述重链可变区包含如 SEQ ID NO:17 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 17 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和所述轻链可变区包含如 SEQ ID NO:21 所示的氨基酸序列，或包含与 SEQ ID NO: 21 所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列。

9．如权利要求 1 所述的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段，其特征在于，

所述抗 CD93 抗体或其抗原结合片段包含：重链可变区，其包含如 SEQ ID NO:37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47 或 48 中任一项所示的氨基酸序列；和轻链可变区，其包含如 SEQ ID NO:25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35 或 36 中任一项所示的氨基酸序列；或

所述抗 CD93 抗体或其抗原结合片段包含：重链可变区，其包含与 SEQ ID NO: 37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47 或 48 中任一项所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和轻链可变区，其包含与 SEQ ID NO: 25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35 或 36 中任一项所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；或

所述抗 CD93 抗体或其抗原结合片段的重链可变区和轻链可变区的氨基酸序列分别选自以下任意一组的序列编号所示的重链可变区的氨基酸序列或与该氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列和轻链可变区的氨基酸序列或与该氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列：

组的编号	轻链可变区（序列编号）	重链可变区（序列编号）
1	25	37
2		38
3		39
4		40
5	26	37
6		38
7		39
8		40
9	27	37

10		38
11		39
12		40
13	28	37
14		38
15		39
16		40
17	29	41
18		42
19		43
20		44
21	30	41
22		42
23		43
24		44
25	31	41
26		42
27		43
28		44
29	32	41
30		42
31		43
32		44
33	33	45
34		46
35		47
36		48
37	34	45
38		46
39		47
40		48
41	35	45

42		46
43		47
44		48
45	36	45
46		46
47		47
48		48

10. 如权利要求 1 所述的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段，其特征在于，所述抗 CD93 抗体或其抗原结合片段包含：

(I) 重链，其包含如 SEQ ID NO:49 或 51 中任一项所示的氨基酸序列，和轻链，其包含如 SEQ ID NO:50 或 52 中任一项所示的氨基酸序列；或

(II) 重链，其包含与 SEQ ID NO: 49 或 51 中任一项所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列，和轻链，其包含与 SEQ ID NO: 50 或 52 中任一项所示的氨基酸序列具有至少 95%，96%，97%，98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；或

(III) 氨基酸序列如 SEQ ID NO: 49 所示的重链和氨基酸序列如 SEQ ID NO:50 所示的轻链，或

(IV) 氨基酸序列如 SEQ ID NO: 51 所示的重链和氨基酸序列如 SEQ ID NO:52 所示的轻链。

11. 如权利要求 1-10 中任一项所述的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段，其特征在于，所述抗 CD93 抗体为鼠源抗体、嵌合抗体、人源化抗体或全人抗体；优选地，所述抗原结合片段选自：Fab；Fab'；$F(ab')_2$；Fv 片段；双抗体；线性抗体；单链抗体分子，例如 sc-Fv；由抗体片段形成的纳米抗体和多特异性抗体。

12. 如权利要求 1-11 中任一项所述的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段，其特征在于，所述抗 CD93 抗体或其抗原结合片段为 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4，优选为 IgG1 亚型或 IgG4 亚型。

13. 一种分离的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段，其具有以下特性中的至少一种：

(Ⅰ)与权利要求 1-12 中任一项所述的抗体或其抗原结合片段结合相同、完全重叠或部分重叠的人 CD93 蛋白的表位；

(Ⅱ) 与权利要求 1-12 中任一项所述的抗体或其抗原结合片段竞争结合人 CD93 蛋白的表位。

14．一种多核苷酸分子，其编码如权利要求 1-12 中任一项所述的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段或如权利要求 13 所述的分离的抗体或其抗原结合片段。

15．一种核酸构建物，其含有权利要求 14 所述的多核苷酸分子；优选地，所述核酸构建物为表达载体，更优选为真核表达载体。

16．一种宿主细胞，其包含如权利要求 14 所述的多核苷酸分子或如权利要求 15 所述的表达载体和/或表达权利要求 1-13 中任一项所述的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段；优选地，所述宿主细胞是真核细胞，更优选哺乳动物细胞。

17. 权利要求 1-12 中任一项所述的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段或如权利要求 13 所述的分离的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段的制备方法，其特征在于，所述方法包括在适合于所述抗体或其抗原结合片段表达的条件下培养权利要求 16 所述的宿主细胞，以及从所述宿主细胞回收所表达的抗体或其抗原结合片段。

18．一种单链抗体或多特异性抗体，其特征在于，所述单链抗体或多特异性抗体包含如权利要求 1-12 中任一项所述的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段或如权利要求 13 所述的分离的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段的轻链可变区和重链可变区。

19．一种药物组合物，其包含权利要求 1-12 中任一项所述的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段、权利要求 13 所述的分离的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段、权利要求 14 所述的多核苷酸分子、权利要求 15 所述的核酸构建物、权利要求 16 所述的宿主细胞、采用权利要求 17 所述的方法制备得到的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段、或权利要求 18 所述的单链抗体或多特异性抗体，和药学上可接受的载体或赋形剂。

20．一种药物组合，其包含权利要求 1-12 中任一项所述的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段、权利要求 13 所述的分离的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段、权利要求 14 所述的多核苷酸分子、权利要求 15 所述的核酸构建物、权利要求 16 所述的宿主细胞、采用权利要求 17 所述的方法制备得到的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段、权利要求 18 所述的单链抗体或多特异性抗体、或权利要求 19 所述的药物组合物，以及一种或多种另外的治疗剂；优选地，所述治疗剂为抗 PD-1 抗体、PD-L1 抗体和抗 CTLA4 抗体中的一种或其组合。

21．权利要求 1-12 中任一项所述的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段、权利要求 13 所述的分离的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段、权利要求 14 所述的多核苷酸分子、权利要求 15 所述的核酸构建物、权利要求 16 所述的宿主细胞、采用权利要求 17 所述的方法制备得到的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段、权利要求 18 所述的单链抗体或多特异性抗体、或权利要求 19 所述的药物组合物在制备用于治疗和/或预防 CD93 介导的疾病或病症的药物中的用途；优选地，所述疾病或病症为癌症；更优选地，所述癌症的特征为具有异常的肿瘤脉管系统；进一步优选地，所述癌症选自结直肠癌、非小细胞肺癌、胶质母细胞瘤、肾细胞癌、宫颈癌、卵巢癌、输卵管癌、腹膜癌、乳腺癌、前列腺癌、膀胱癌、口腔鳞状细胞癌、头颈部

鳞状细胞癌、脑肿瘤、骨癌和黑色素瘤。

22．一种试剂盒，其包括权利要求 1-12 中任一项所述的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段、权利要求 13 所述的分离的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段、权利要求 14 所述的多核苷酸分子、权利要求 15 所述的核酸构建物、权利要求 16 所述的宿主细胞、采用权利要求 17 所述的方法制备得到的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段、权利要求 18 所述的单链抗体或多特异性抗体、权利要求 19 所述的药物组合物、或权利要求 20 所述的药物组合。

23．检测 CD93 在样品中的存在的方法，包括使如权利要求 1-12 中任一项所述的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段、权利要求 13 所述的分离的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段、采用权利要求 17 所述的方法制备得到的抗 CD93 抗体或其抗原结合片段、或者含有所述抗 CD93 抗体或其抗原结合片段的检测组合物与所述样品接触的步骤。

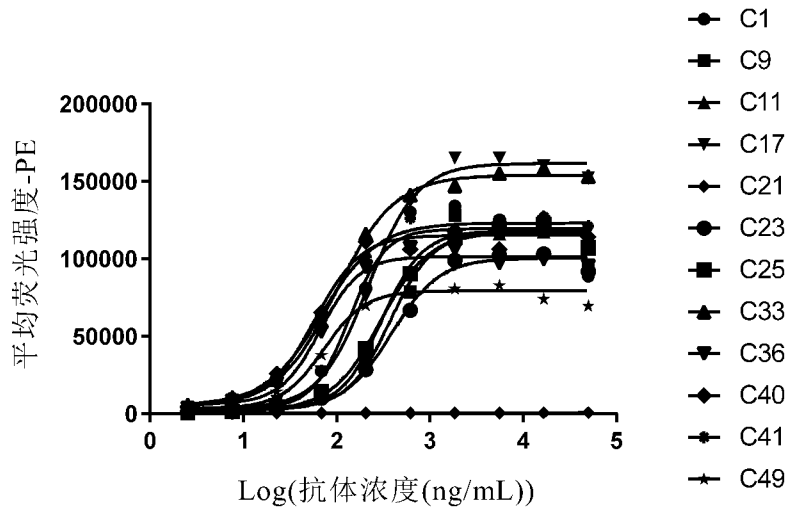

平均荧光强度-PE
200000
150000
100000
50000
0
0
1
2
3
4
5
Log(抗体浓度(ng/mL))
C1
C9
C11
C17
C21
C23
C25
C33
C36
C40
C41
C49

图 1

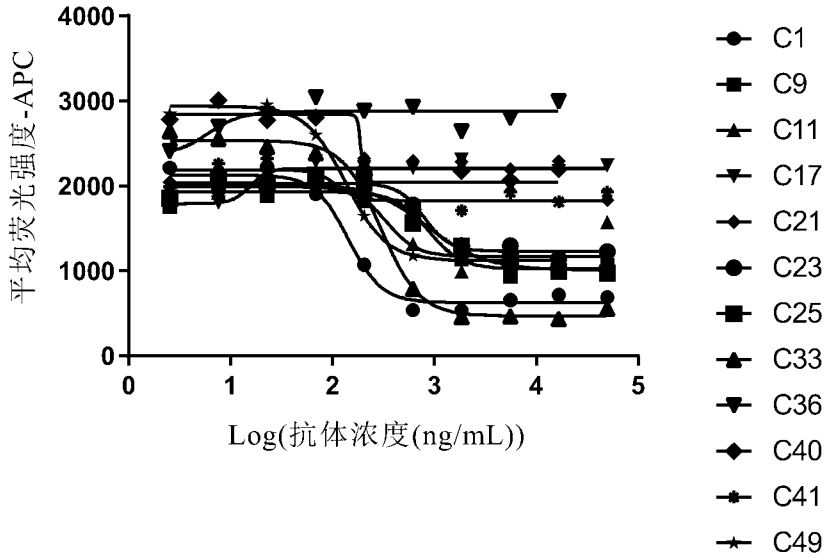

平均荧光强度-APC
4000
3000
2000
1000
0
0
1
2
3
4
5
Log(抗体浓度(ng/mL))
C1
C9
C11
C17
C21
C23
C25
C33
C36
C40
C41
C49

图 2

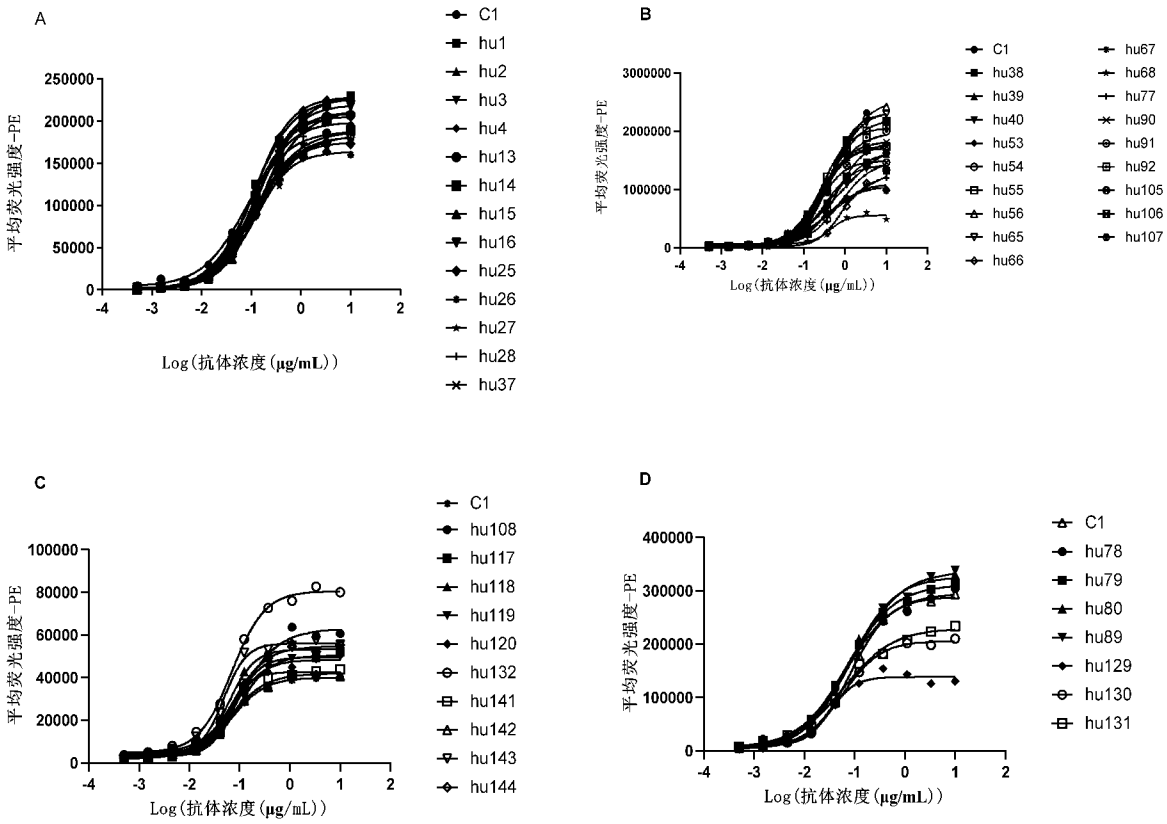

A
平均荧光强度-PE
250000
200000
150000
100000
50000
0
-4 -3 -2 -1 0 1 2
Log(抗体浓度(μg/mL))
C1
hu1
hu2
hu3
hu4
hu13
hu14
hu15
hu16
hu25
hu26
hu27
hu28
hu37
B
平均荧光强度-PE
3000000
2000000
1000000
0
-4 -3 -2 -1 0 1 2
Log(抗体浓度(μg/mL))
C1
hu38
hu39
hu40
hu53
hu54
hu55
hu56
hu65
hu66
hu67
hu68
hu77
hu90
hu91
hu92
hu105
hu106
hu107
C
平均荧光强度-PE
100000
80000
60000
40000
20000
0
-4 -3 -2 -1 0 1 2
Log(抗体浓度(μg/mL))
C1
hu108
hu117
hu118
hu119
hu120
hu132
hu141
hu142
hu143
hu144
D
平均荧光强度-PE
400000
300000
200000
100000
0
-4 -3 -2 -1 0 1 2
Log(抗体浓度(μg/mL))
C1
hu78
hu79
hu80
hu89
hu129
hu130
hu131

图 3

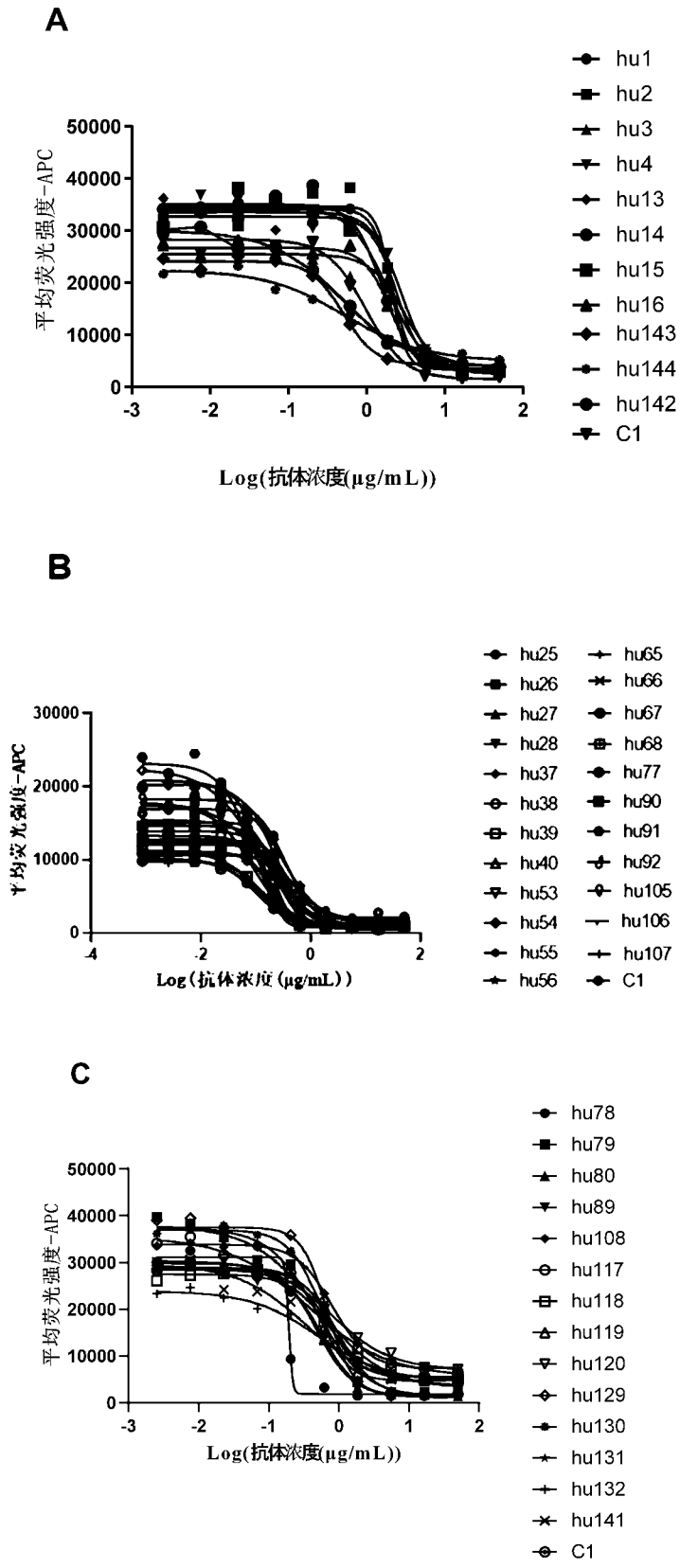
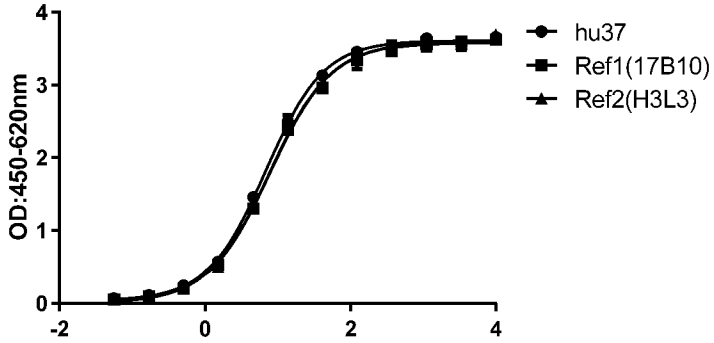

A
平均荧光强度-APC
50000
40000
30000
20000
10000
0
-3
-2
-1
0
1
2
Log(抗体浓度(μg/mL))
hu1
hu2
hu3
hu4
hu13
hu14
hu15
hu16
hu143
hu144
hu142
C1
B
平均荧光强度-APC
30000
20000
10000
0
-4
-2
0
2
Log(抗体浓度(μg/mL))
hu25
hu26
hu27
hu28
hu37
hu38
hu39
hu40
hu53
hu54
hu55
hu56
hu65
hu66
hu67
hu68
hu77
hu90
hu91
hu92
hu105
hu106
hu107
C1
C
平均荧光强度-APC
50000
40000
30000
20000
10000
0
-3
-2
-1
0
1
2
Log(抗体浓度(μg/mL))
hu78
hu79
hu80
hu89
hu108
hu117
hu118
hu119
hu120
hu129
hu130
hu131
hu132
hu141
C1

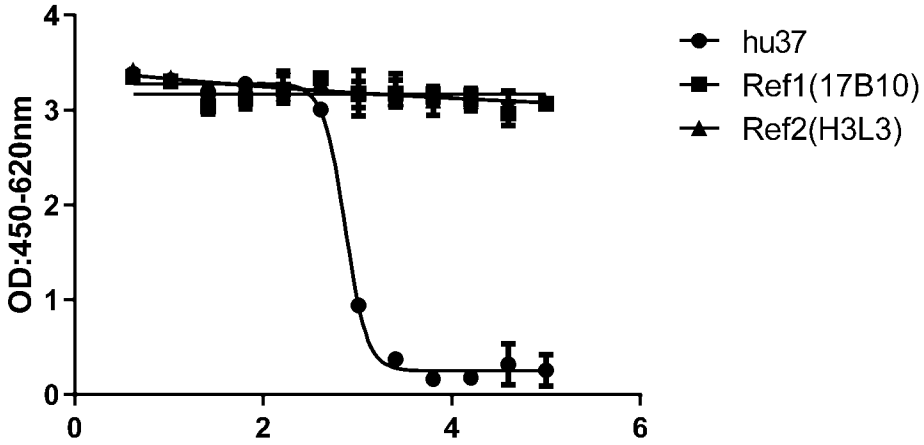
图 4



Log(抗体浓度(ng/mL))

	hu37	Ref1(17B10)	Ref2(H3L3)
EC50	6.850	7.726	7.904

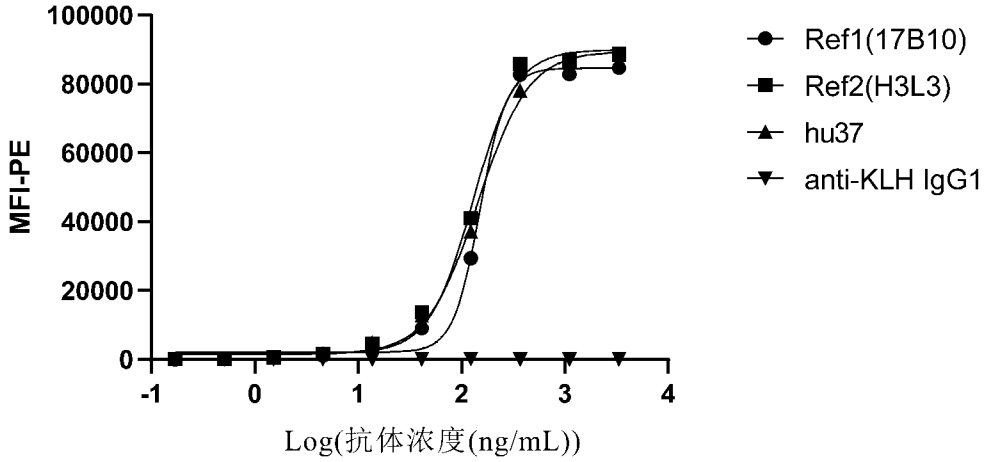
图 5



Log(抗体浓度(ng/mL))

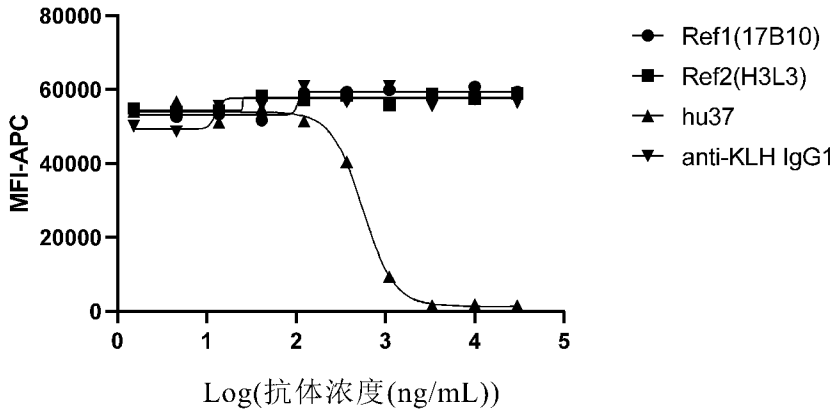
	hu37	Ref1(17B10)	Ref2(H3L3)
IC50	745.6	~ 0.000	9.493e-037

图 6



	Ref1(17B10)	Ref2(H3L3)	hu37
EC50	150.3	128.6	144.2

图 7



	Ref1(17B10)	Ref2(H3L3)	hu37	anti-KLH IgG1
IC50	NA	NA	559.9	NA

图 8

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2023/113535

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07K16/28(2006.01)i; A61K39/00(2006.01)i; A61P35/00(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC: C07K, A61K, A61P

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)

CNABS, SIPOABS, DWPI, CNTXT, WOTXT, USTXT, EPTXT, JPTXT, KRTXT, CNKI, Web of Science, Elsevier Science, STN, GenBank, EMBL, 中国专利生物序列检索系统, China Patent Biological Sequence Search System, 必应搜索, Bing Search, 超星读秀, CHAOXING DUXIU: CD93, C1qR1, C1qR, C1qRP, MXRA4, ECSM3, cluster of differentiation 93, 抗体, antibody, 对SEQ ID NOs: 1, 5进行序列检索, search for SEQ ID NOs: 1 and 5

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2023017066 A1 (UCME BIOSCIENCE S.R.L) 16 February 2023 (2023-02-16) see claims 1-18	1-12, 14-23 (in part)
A	WO 2021247769 A1 (DYNAMICURE BIOTECHNOLOGY LLC) 09 December 2021 (2021-12-09) see claims 1-45, and description, embodiments 2-10	1-12, 14-23 (in part)
A	US 2012039911 A1 (PARK YOUNG WOO et al.) 16 February 2012 (2012-02-16) see claims 1-34	1-12, 14-23 (in part)
A	CN 114615994 A (YALE UNIVERSITY et al.) 10 June 2022 (2022-06-10) see claims 1-19	1-12, 14-23 (in part)
A	WO 2022067262 A1 (DYNAMICURE BIOTECHNOLOGY LLC) 31 March 2022 (2022-03-31) see claims 1-49	1-12, 14-23 (in part)

☑ 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
13 November 2023	**12 January 2024**
Name and mailing address of the ISA/CN **China National Intellectual Property Administration (ISA/CN)** **China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088**	Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2023/113535

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2022026763 A1 (DYNAMICURE BIOTECHNOLOGY LLC) 03 February 2022 (2022-02-03) see claims 1-45	1-12, 14-23 (in part)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2023/113535

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

International application No.
PCT/CN2023/113535

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☑ Claims Nos.: **13**
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

Claim 13 sets forth an isolated anti-CD93 antibody, wherein the antibody is defined in view of the characteristics of an epitope sequence. However, in the absence of the determination of the epitope sequence, defining the antibody in view of the characteristics of the epitope sequence would render the scope of protection of said claim unclear; therefore, said claim does not comply with PCT Article 6.

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

Invention 1: claims 1-23 (in part) relate to an anti-CD93 antibody or an antigen-binding fragment thereof, comprising an amino acid sequence of a heavy chain variable region as shown in SEQ ID NO: 37 and an amino acid sequence of a light chain variable region as shown in SEQ ID NO: 25.

Invention 2: claims 1-23 (in part) relate to an anti-CD93 antibody or an antigen-binding fragment thereof, comprising an amino acid sequence of a heavy chain variable region as shown in SEQ ID NO: 37 and an amino acid sequence of a light chain variable region as shown in SEQ ID NO: 26.

…

Invention 143: claims 1-23 (in part) relate to an anti-CD93 antibody or an antigen-binding fragment thereof, comprising an amino acid sequence of a heavy chain variable region as shown in SEQ ID NO: 48 and an amino acid sequence of a light chain variable region as shown in SEQ ID NO: 35.

Invention 144: claims 1-23 (in part) relate to an anti-CD93 antibody or an antigen-binding fragment thereof, comprising an amino acid sequence of a heavy chain variable region as shown in SEQ ID NO: 48 and an amino acid sequence of a light chain variable region as shown in SEQ ID NO: 36.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2023/113535

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

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☑ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.: **the parts of claims 1-23 that relate to an anti-CD93 antibody, or an antigen-binding fragment thereof, comprising: HCDR1, HCDR2 and HCDR3 in a heavy chain variable region sequence as shown in SEQ ID NO: 1, and LCDR1, LCDR2 and LCDR3 in a light chain variable region sequence as shown in SEQ ID NO 5.**

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2023/113535

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
WO 2023017066 A1	16 February 2023	WO 2023017368 A1	16 February 2023
		IT 202100021764 A1	11 February 2023
WO 2021247769 A1	09 December 2021	BR 112022024629 A2	23 February 2023
		CO 2022019183 A2	19 May 2023
		US 2023235075 A1	27 July 2023
		CA 3185858 A1	09 December 2021
		AU 2021283345 A1	02 February 2023
		KR 20230037532 A	16 March 2023
		JP 2023529842 A	12 July 2023
		TW 202210515 A	16 March 2022
		IL 298735 A	01 February 2023
		EP 4157462 A1	05 April 2023
US 2012039911 A1	16 February 2012	EP 2392352 A2	07 December 2011
		EP 2392352 A4	26 June 2013
		EP 2392352 B1	25 October 2017
		WO 2010087594 A2	05 August 2010
		WO 2010087594 A3	21 October 2010
		WO 2010087594 A9	10 November 2011
		JP 2012516322 A	19 July 2012
		JP 5752052 B2	22 July 2015
		US 8993343 B2	31 March 2015
CN 114615994 A	10 June 2022	MX 2022003689 A	14 June 2022
		AU 2020351754 A1	17 March 2022
		WO 2021062128 A1	01 April 2021
		US 2022235136 A1	28 July 2022
		IL 290920 A	01 April 2022
		BR 112022005711 A2	21 June 2022
		CA 3153524 A1	01 April 2021
		EP 4034167 A1	03 August 2022
		EP 4034167 A4	12 April 2023
		JP 2022548980 A	22 November 2022
		KR 20220070276 A	30 May 2022
		MX 2022003689 A	14 June 2022
		AU 2020351754 A1	17 March 2022
		WO 2021062128 A1	01 April 2021
		US 2022235136 A1	28 July 2022
		IL 290920 A	01 April 2022
		BR 112022005711 A2	21 June 2022
		CA 3153524 A1	01 April 2021
		EP 4034167 A1	03 August 2022
		EP 4034167 A4	12 April 2023
		JP 2022548980 A	22 November 2022
		KR 20220070276 A	30 May 2022
WO 2022067262 A1	31 March 2022	AR 123628 A1	28 December 2022
		EP 4217069 A1	02 August 2023
		CA 3197179 A1	31 March 2022
		TW 202229347 A	01 August 2022
		AU 2021349280 A1	20 April 2023
		AU 2021349280 A9	27 April 2023

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2023/113535

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
WO 2022026763 A1	03 February 2022	JP 2023536461 A	25 August 2023
		US 2023322935 A1	12 October 2023
		EP 4188550 A1	07 June 2023
		TW 202221029 A	01 June 2022
		KR 20230133832 A	19 September 2023
		CA 3190328 A1	03 February 2022
		CO 2023001767 A2	09 June 2023
		IL 300121 A	01 March 2023
		AU 2021315665 A1	16 March 2023

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2023/113535

A. 主题的分类

C07K16/28(2006.01)i；A61K39/00(2006.01)i；A61P35/00(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

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））

CNABS, SIPOABS, DWPI, CNTXT, WOTXT, USTXT, EPTXT, JPTXT, KRTXT, CNKI, Web of Science, Elsevier Science, STN, GenBank, EMBL,中国专利生物序列检索系统,必应搜索,超星读秀：CD93, C1qR1, C1qR, C1qRP, MXRA4, ECSM3, cluster of differentiation 93，抗体，antibody, 对SEQ ID NOs:1,5进行序列检索

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	WO 2023017066 A1 (UCME BIOSCIENCE S.R.L) 2023年2月16日 (2023 - 02 - 16) 参见权利要求1-18	1-12,14-23(部分)
A	WO 2021247769 A1 (DYNAMICURE BIOTECHNOLOGY LLC) 2021年12月9日 (2021 - 12 - 09) 参见权利要求1-45、说明书实施例2-10	1-12,14-23(部分)
A	US 2012039911 A1 (PARK YOUNG WOO等) 2012年2月16日 (2012 - 02 - 16) 参见权利要求1-34	1-12,14-23(部分)
A	CN 114615994 A (耶鲁大学等) 2022年6月10日 (2022 - 06 - 10) 参见权利要求1-19	1-12,14-23(部分)
A	WO 2022067262 A1 (DYNAMICURE BIOTECHNOLOGY LLC) 2022年3月31日 (2022 - 03 - 31) 参见权利要求1-49	1-12,14-23(部分)
A	WO 2022026763 A1 (DYNAMICURE BIOTECHNOLOGY LLC) 2022年2月3日 (2022 - 02 - 03) 参见权利要求1-45	1-12,14-23(部分)

☐ 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11月13日	2024年1月12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 周洋 电话号码 (+86) 010-62089439

国际申请号
PCT/CN2023/113535

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

国际申请号
PCT/CN2023/113535

第II栏　某些权利要求被认为是不能检索的意见(续第1页第2项)

根据条约第17条(2)(a)，对某些权利要求未做国际检索报告的理由如下:

1. ☐ 权利要求：
因为它们涉及不要求本单位进行检索的主题，即：

2. ☑ 权利要求： 13
因为它们涉及国际申请中不符合规定的要求的部分，以致不能进行任何有意义的国际检索， 具体地说：

权利要求13请求保护一种分离的抗CD93抗体，其中以结合表位序列的特性来限定所述抗体。然而，在没有确定所述表位序列的情形下，以结合所述表位序列的特性来限定所述抗体，会使该权利要求的保护范围不清楚，不符合PCT第6条的规定。

3. ☐ 权利要求：
因为它们是从属权利要求，并且没有按照细则6.4(a)第2句和第3句的要求撰写。

第III栏　缺乏发明单一性的意见(续第1页第3项)

本国际检索单位在该国际申请中发现多项发明，即：

第1项：权利要求1-23（部分），涉及一种抗CD93抗体或其抗原结合片段，其包含SEQ ID NO：37所示的重链可变区的氨基酸序列和SEQ ID NO：25所示的轻链可变区的氨基酸序列。

第2项：权利要求1-23（部分），涉及一种抗CD93抗体或其抗原结合片段，其包含SEQ ID NO：37所示的重链可变区的氨基酸序列和SEQ ID NO：26所示的轻链可变区的氨基酸序列。

……

第143项：权利要求1-23（部分），涉及一种抗CD93抗体或其抗原结合片段，其包含SEQ ID NO：48所示的重链可变区的氨基酸序列和SEQ ID NO：35所示的轻链可变区的氨基酸序列。

第144项：权利要求1-23（部分），涉及一种抗CD93抗体或其抗原结合片段，其包含SEQ ID NO：48所示的重链可变区的氨基酸序列和SEQ ID NO：36所示的轻链可变区的氨基酸序列。

1. ☐ 由于申请人按时缴纳了被要求缴纳的全部附加检索费，本国际检索报告涉及全部可作检索的权利要求。

2. ☐ 由于无需付出有理由要求附加费的劳动即能对全部可检索的权利要求进行检索，本单位未通知缴纳任何加费。

3. ☐ 由于申请人仅按时缴纳了部分被要求缴纳的附加检索费，本国际检索报告仅涉及已缴费的那些权利要求，具体地说，是权利要求：

4. ☑ 申请人未按时缴纳被要求缴纳的附加检索费。因此，本国际检索报告仅涉及权利要求书中首先提及的发明；包含该发明的权利要求是： 权利要求1-23涉及包含SEQ ID NO：1的重链可变区序列中的HCDR1、HCDR2和HCDR3，以及SEQ ID NO：5的轻链可变区序列中的LCDR1、LCDR2和LCDR3的抗CD93抗体或其抗原结合片段的部分

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

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2023/113535

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)
WO	2023017066	A1	2023年2月16日	WO	2023017368	A1	2023年2月16日
				IT	202100021764	A1	2023年2月11日
WO	2021247769	A1	2021年12月9日	BR	112022024629	A2	2023年2月23日
				CO	2022019183	A2	2023年5月19日
				US	2023235075	A1	2023年7月27日
				CA	3185858	A1	2021年12月9日
				AU	2021283345	A1	2023年2月2日
				KR	20230037532	A	2023年3月16日
				JP	2023529842	A	2023年7月12日
				TW	202210515	A	2022年3月16日
				IL	298735	A	2023年2月1日
				EP	4157462	A1	2023年4月5日
US	2012039911	A1	2012年2月16日	EP	2392352	A2	2011年12月7日
				EP	2392352	A4	2013年6月26日
				EP	2392352	B1	2017年10月25日
				WO	2010087594	A2	2010年8月5日
				WO	2010087594	A3	2010年10月21日
				WO	2010087594	A9	2011年11月10日
				JP	2012516322	A	2012年7月19日
				JP	5752052	B2	2015年7月22日
				US	8993343	B2	2015年3月31日
CN	114615994	A	2022年6月10日	MX	2022003689	A	2022年6月14日
				AU	2020351754	A1	2022年3月17日
				WO	2021062128	A1	2021年4月1日
				US	2022235136	A1	2022年7月28日
				IL	290920	A	2022年4月1日
				BR	112022005711	A2	2022年6月21日
				CA	3153524	A1	2021年4月1日
				EP	4034167	A1	2022年8月3日
				EP	4034167	A4	2023年4月12日
				JP	2022548980	A	2022年11月22日
				KR	20220070276	A	2022年5月30日
				MX	2022003689	A	2022年6月14日
				AU	2020351754	A1	2022年3月17日
				WO	2021062128	A1	2021年4月1日
				US	2022235136	A1	2022年7月28日
				IL	290920	A	2022年4月1日
				BR	112022005711	A2	2022年6月21日
				CA	3153524	A1	2021年4月1日
				EP	4034167	A1	2022年8月3日
				EP	4034167	A4	2023年4月12日
				JP	2022548980	A	2022年11月22日
				KR	20220070276	A	2022年5月30日
WO	2022067262	A1	2022年3月31日	AR	123628	A1	2022年12月28日
				EP	4217069	A1	2023年8月2日
				CA	3197179	A1	2022年3月31日
				TW	202229347	A	2022年8月1日
				AU	2021349280	A1	2023年4月20日
				AU	2021349280	A9	2023年4月27日

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2023/113535

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)
WO	2022026763	A1	2022年2月3日	JP	2023536461	A	2023年8月25日
				US	2023322935	A1	2023年10月12日
				EP	4188550	A1	2023年6月7日
				TW	202221029	A	2022年6月1日
				KR	20230133832	A	2023年9月19日
				CA	3190328	A1	2022年2月3日
				CO	2023001767	A2	2023年6月9日
				IL	300121	A	2023年3月1日
				AU	2021315665	A1	2023年3月16日