

(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



(10) 国际公布号
WO 2021/052465 A1

(43) 国际公布日
2021年3月25日 (25.03.2021)

- (51) 国际专利分类号:
C07K 16/28 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2020/116191
- (22) 国际申请日: 2020年9月18日 (18.09.2020)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
201910889707.5 2019年9月20日 (20.09.2019) CN
- (71) 申请人: 上海普铭生物科技有限公司(SHANGHAI PUREMAB BIO-TECH CO., LTD.) [CN/CN]; 中国上海市自由贸易试验区法拉第路86号、蔡伦路230号1幢东侧3层, Shanghai 201210 (CN).
- (72) 发明人: 任红媛(REN, Hongyuan); 中国上海市自由贸易试验区法拉第路86号、蔡伦路230号1幢东侧3层, Shanghai 201210 (CN)。高攀(GAO, Pan); 中国上海市自由贸易试验区法拉第路86号、蔡伦路230号1幢东侧3层, Shanghai 201210 (CN)。林鉴(LIN, Jian); 中国上海市自由贸易试验区法拉第路86号、蔡伦路230号1幢东侧3层, Shanghai 201210 (CN)。王骊淳(WANG, Lichun); 中国上海市自由贸易试验区法拉第路86号、蔡

伦路230号1幢东侧3层, Shanghai 201210 (CN)。徐晓红(XU, Xiaohong); 中国上海市自由贸易试验区法拉第路86号、蔡伦路230号1幢东侧3层, Shanghai 201210 (CN)。吴建(WU, Jian); 中国上海市自由贸易试验区法拉第路86号、蔡伦路230号1幢东侧3层, Shanghai 201210 (CN)。邓小芳(DENG, Xiaofang); 中国上海市自由贸易试验区法拉第路86号、蔡伦路230号1幢东侧3层, Shanghai 201210 (CN)。毕建军(BI, Jianjun); 中国上海市自由贸易试验区法拉第路86号、蔡伦路230号1幢东侧3层, Shanghai 201210 (CN)。王晋(WANG, Jin); 中国上海市自由贸易试验区法拉第路86号、蔡伦路230号1幢东侧3层, Shanghai 201210 (CN)。陶春艳(TAO, Chunyan); 中国上海市自由贸易试验区法拉第路86号、蔡伦路230号1幢东侧3层, Shanghai 201210 (CN)。王雪(WANG, Xue); 中国上海市自由贸易试验区法拉第路86号、蔡伦路230号1幢东侧3层, Shanghai 201210 (CN)。

- (74) 代理人: 北京瑞恒信达知识产权代理事务所(普通合伙)(LEADING INTELLECTUAL PROPERTY FIRM); 中国北京市西城区新街口街道平安里大街28号中海国际中心1802室, Beijing 100034 (CN)。

(54) Title: ANTI-HUMAN CD38 ANTIBODY AND APPLICATION THEREOF

(54) 发明名称: 抗人CD38抗体及其应用

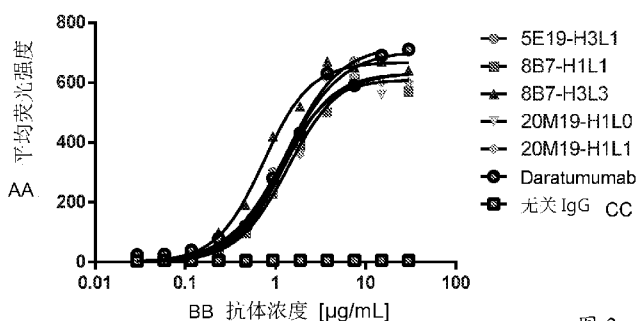


图 3

AA AVERAGE FLUORESCENT INTENSITY
BB ANTIBODY CONCENTRATION
CC IRRELEVANT IGG

(57) Abstract: Provided are an antibody molecule binding to human CD38 or a fragment thereof, and an application thereof in the prevention and treatment of diseases. The antibody molecule is an anti-human CD38 antibody molecule obtained by screening after immunizing mice and fusing same with myeloma cells to produce hybridoma cells.

(57) 摘要: 提供了一种结合人CD38的抗体分子或其片段及其在预防或治疗疾病中的应用。该抗体分子是经过免疫小鼠, 与骨髓瘤细胞融合产生杂交瘤细胞后, 筛选得到的抗人CD38抗体分子。



WO 2021/052465 A1

(81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

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))。

抗人 CD38 抗体及其应用

本专利申请要求于 2019 年 9 月 20 日提交的申请号为 CN201910889707.5 的中国发明专利申请的优先权权益，在此将其全部内容引入作为参考。

技术领域

本发明属于生物医药领域，涉及一种新的抗 CD38 抗体或其功能性片段。本发明还涉及所述抗体或其功能性片段的应用。

背景技术

CD38 为一种 II 型跨膜糖蛋白，分子量 46KD，包括 C 端胞外区（258 个氨基酸）、跨膜区（21 个氨基酸）和 N 端（21 个氨基酸），功能表现为受体介导的粘附和信号传导，以及经由其胞外酶活性介导钙动员，催化环状 ADP 核糖(cADPR)和 ADPR 的形成。

CD38 在多发性骨髓瘤细胞（MM）上均一性地高表达，而在正常淋巴细胞和骨髓细胞以及一些非造血起源的组织上低表达。由于 CD38 属于跨膜糖蛋白，具有体外酶活性，同时还具有受体和粘连分子的作用，因而是 MM 治疗的理想靶点；基于其独特的作用机制、低毒性和单剂活性，CD38 抗体也适用于联合方案。目前，有多个研究正在探索以 CD38 抗体为基础的疗法应用于新确诊的高危的 MM 患者的疗效。除此之外，CD38 抗体用于其他血液性恶性肿瘤（急性淋巴细胞白血病、NK/T 细胞淋巴瘤和急性髓性白血病）的治疗效果也在研究当中。

目前有多家制药公司在研发针对 CD38 的单克隆抗体，此类抗体通过抗体依赖性细胞介导的细胞毒效应（ADCC）、补体依赖的细胞毒效应（CDC）、抗体依赖的细胞吞噬作用（ADPC）以及直接抑制 CD38 的酶活性来达到抗 MM 的机制。目前，处于临床试验阶段或已获批的 CD38 抗体包括 Daratumumab（Darzalex）、Isatuximab、MOR-202 和 TAK-079 等。

在目前针对 CD38 开发的单克隆抗体药物中，强生的 Darzalex 是全球获批的首个 CD38 介导性、溶细胞性的抗体药物，具有广谱杀伤活性，可靶向结合多发性骨髓瘤及多种实体瘤细胞表面高度表达的跨膜胞外酶 CD38 分子，通过多种免疫介导的作用机制诱导肿瘤细胞的快速死亡，包括互补依赖

性细胞毒作用 (CDC)、抗体依赖性细胞介导的细胞毒作用 (ADCC) 和抗体依赖性细胞吞噬作用 (ADCP) 以及通过细胞凋亡 (apoptosis)。此外, Darzalex 也已被证明能够靶向肿瘤微环境中的免疫抑制细胞从而表现出免疫调节活性。除了多发性骨髓瘤, Darzalex 也有潜力治疗高表达 CD38 分子的其他类型肿瘤, 包括弥漫性大 B 细胞淋巴瘤 (DLBCL)、慢性淋巴细胞白血病 (CLL)、急性淋巴细胞白血病 (ALL)、浆细胞性白血病 (PCL)、急性髓性白血病 (AML)、滤泡性淋巴瘤 (FL) 和套细胞淋巴瘤 (MCL) 等。

此外, 新的抗 CD38 抗体的开发和应用是本领域所需要的。

发明内容

本发明要解决的技术问题是, 通过杂交瘤筛选和人源化技术, 获得特异性结合 CD38、特别是人 CD38 的高亲和力抗体。

针对上述技术问题, 本发明的目的是提供一种特异性结合 CD38、特别是人 CD38 的抗体或其片段, 并基于该抗体或其片段, 提供其用途。本发明所述抗体分子的“片段”涵盖抗体的各种功能性片段, 例如其抗原结合部分, 如 Fab、F(ab')₂ 或 scFv 片段。

具体而言, 本发明提供以下技术方案。

一方面, 本发明提供一种抗体分子或其片段, 具有以下重链 CDRs 区:

VH-CDR1: 具有 SEQ ID NO:16 所示氨基酸序列或在 SEQ ID NO:16 所示氨基酸序列的基础上进行一个或几个氨基酸突变;

VH-CDR2: 具有 SEQ ID NO:17 所示氨基酸序列或在 SEQ ID NO:17 所示氨基酸序列的基础上进行一个或几个氨基酸突变;

VH-CDR3: 具有 SEQ ID NO:18 所示氨基酸序列或在 SEQ ID NO:18 所示氨基酸序列的基础上进行一个或几个氨基酸突变;

以及, 以下轻链 CDRs 区:

VL-CDR1: 具有 SEQ ID NO:4 所示氨基酸序列或在 SEQ ID NO:4 所示氨基酸序列的基础上进行一个或几个氨基酸突变;

VL-CDR2: 具有 SEQ ID NO:5 所示氨基酸序列或在 SEQ ID NO:5 所示氨基酸序列的基础上进行一个或几个氨基酸突变;

VL-CDR3: 具有 SEQ ID NO:19 所示氨基酸序列或在 SEQ ID NO:19 所示氨基酸序列的基础上进行一个或几个氨基酸突变;

其中，所述抗体 CDRs 区的氨基酸突变使突变后抗体 6 个 CDRs 组合能够形成抗原结合位点，且至少部分的保留了 CDRs 区突变前抗体分子或其片段的生物活性。

优选的，本发明所述抗体分子或其片段，其中所述 CDRs 区突变前抗体分子或其片段包括 SEQ ID NO:16 所示的 VH-CDR1、SEQ ID NO:17 所示的 VH-CDR2、SEQ ID NO:18 所示的 VH-CDR3、SEQ ID NO:4 所示的 VL-CDR1、SEQ ID NO:5 所示的 VL-CDR2、SEQ ID NO:19 所示的 VL-CDR3。

优选的，本发明所述的抗体或其片段，所述抗体分子或其片段特异性结合细胞膜表面 CD38，且能够通过结合细胞膜表面 CD38 诱导 CD38+细胞凋亡。

优选的，本发明所述的抗体分子或其片段，所述抗体分子或其片段对于 CD38+细胞具有抗体依赖性细胞介导的细胞毒作用 (ADCC)、补体依赖性细胞毒作用 (CDC)。

优选的，本发明所述的抗体分子或其片段，所述抗体分子或其片段能够与至少一种选自下组的抗体分子竞争结合 CD38: Daratumumab、Isatuximab、Mor202。

在一个实施方式中，本发明所述的抗体分子或其片段，所述抗体分子或其片段包含重链可变区 (VH)，其中所述重链可变区包含选自如 SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 16、SEQ ID NO: 20、SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 41 和 SEQ ID NO: 147 所示的 CDR1 (VH-CDR1)，选自如 SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 17、SEQ ID NO: 21、SEQ ID NO: 27、SEQ ID NO: 32、SEQ ID NO: 37 和 SEQ ID NO: 42 所示的 CDR2 (VH-CDR2)，和选自如 SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 22、SEQ ID NO: 28、SEQ ID NO: 33、SEQ ID NO: 38、SEQ ID NO: 43、SEQ ID NO: 46、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 48 和 SEQ ID NO: 137 所示的 CDR3 (VH-CDR3)；和所述抗体分子或其片段包含轻链可变区 (VL)，其中所述轻链可变区包含选自如 SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO: 23、SEQ ID NO: 29、SEQ ID NO: 34、SEQ ID NO: 39、SEQ ID NO: 44、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 136 和 SEQ ID NO: 148 所示的 CDR1 (VL-CDR1)，选自如 SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 24 和 SEQ ID NO: 35 所示的 CDR2 (VL-CDR2)，选自如 SEQ

ID NO: 6、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 15、SEQ ID NO: 19、SEQ ID NO: 25、SEQ ID NO: 30、SEQ ID NO: 36、SEQ ID NO: 40、SEQ ID NO: 45、SEQ ID NO: 138 和 SEQ ID NO: 139 所示的 CDR3 (VL-CDR3)。

根据本发明的具体实施方式，所述重链可变区可包含选自以下的 CDR 组合 (VH-CDR1、VH-CDR2、VH-CDR3)：

(1) 如 SEQ ID NO: 1 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 2 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 3 所示的 VH-CDR3；

(2) 如 SEQ ID NO: 7 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 8 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 9 所示的 VH-CDR3；

(3) 如 SEQ ID NO: 11 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 12 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 13 所示的 VH-CDR3；

(4) 如 SEQ ID NO: 16 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 17 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 18 所示的 VH-CDR3；

(5) 如 SEQ ID NO: 20 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 21 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 22 所示的 VH-CDR3；

(6) 如 SEQ ID NO: 26 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 27 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 28 所示的 VH-CDR3；

(7) 如 SEQ ID NO: 31 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 32 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 33 所示的 VH-CDR3；

(8) 如 SEQ ID NO: 26 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 37 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 38 所示的 VH-CDR3；

(9) 如 SEQ ID NO: 41 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 42 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 43 所示的 VH-CDR3；

(10) 如 SEQ ID NO: 11 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 12 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 46 所示的 VH-CDR3；

(11) 如 SEQ ID NO: 11 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 12 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 47 所示的 VH-CDR3；

(12) 如 SEQ ID NO: 11 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 12 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 48 所示的 VH-CDR3；

(13) 如 SEQ ID NO: 16 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 17 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 137 所示的 VH-CDR3；

(14) 如 SEQ ID NO: 147 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 42 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 43 所示的 VH-CDR3;

和/或, 所述抗体分子或其片段包含轻链可变区 (VL), 其中所述轻链可变区可包含选自以下的 CDR 组合 (VL-CDR1、VL-CDR2、VL-CDR3):

(1) 如 SEQ ID NO: 4 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 5 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 6 所示的 VL-CDR3;

(2) 如 SEQ ID NO: 4 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 5 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 10 所示的 VL-CDR3;

(3) 如 SEQ ID NO: 14 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 5 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 15 所示的 VL-CDR3;

(4) 如 SEQ ID NO: 4 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 5 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 19 所示的 VL-CDR3;

(5) 如 SEQ ID NO: 23 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 24 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 25 所示的 VL-CDR3;

(6) 如 SEQ ID NO: 29 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 24 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 30 所示的 VL-CDR3;

(7) 如 SEQ ID NO: 34 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 35 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 36 所示的 VL-CDR3;

(8) 如 SEQ ID NO: 39 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 24 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 40 所示的 VL-CDR3;

(9) 如 SEQ ID NO: 44 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 24 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 45 所示的 VL-CDR3;

(10) 如 SEQ ID NO: 49 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 24 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 40 所示的 VL-CDR3;

(11) 如 SEQ ID NO: 4 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 5 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 138 所示的 VL-CDR3;

(12) 如 SEQ ID NO: 136 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 35 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 36 所示的 VL-CDR3;

(13) 如 SEQ ID NO: 136 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 35 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 139 所示的 VL-CDR3;

(14) 如 SEQ ID NO: 148 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 24 所示的

VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 45 所示的 VL-CDR3。

优选地，所述抗体分子或其片段中的重链可变区包含选自 SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 52、SEQ ID NO: 54、SEQ ID NO: 56、SEQ ID NO: 58、SEQ ID NO: 60、SEQ ID NO: 62、SEQ ID NO: 64、SEQ ID NO: 66、SEQ ID NO: 68 至 SEQ ID NO: 88、SEQ ID NO: 140 至 SEQ ID NO: 142 中任一个所示的氨基酸序列或与所示的氨基酸序列具有至少 75% 同一性的氨基酸序列；和/或

轻链可变区包含选自 SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 53、SEQ ID NO: 55、SEQ ID NO: 57、SEQ ID NO: 59、SEQ ID NO: 61、SEQ ID NO: 63、SEQ ID NO: 65、SEQ ID NO: 67、SEQ ID NO: 89 至 SEQ ID NO: 105、SEQ ID NO: 134 和 SEQ ID NO: 135、SEQ ID NO: 143 至 SEQ ID NO: 146 中任一个所示的氨基酸序列或与所示的氨基酸序列具有至少 75% 同一性的氨基酸序列。

根据本发明的具体实施方式，所述抗体分子或其片段包含选自以下的 CDR 组合：

(1) 如 SEQ ID NO: 1 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 2 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 3 所示的 VH-CDR3；如 SEQ ID NO: 4 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 5 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 6 所示的 VL-CDR3；

(2) 如 SEQ ID NO: 7 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 8 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 9 所示的 VH-CDR3；如 SEQ ID NO: 4 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 5 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 10 所示的 VL-CDR3；

(3) 如 SEQ ID NO: 11 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 12 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 13 所示的 VH-CDR3；如 SEQ ID NO: 14 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 5 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 15 所示的 VL-CDR3；

(4) 如 SEQ ID NO: 16 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 17 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 18 所示的 VH-CDR3；如 SEQ ID NO: 4 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 5 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 19 所示的 VL-CDR3；

(5) 如 SEQ ID NO: 20 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 21 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 22 所示的 VH-CDR3；如 SEQ ID NO: 23 所示的

VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 24 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 25 所示的 VL-CDR3;

(6) 如 SEQ ID NO: 26 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 27 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 28 所示的 VH-CDR3; 如 SEQ ID NO: 29 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 24 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 30 所示的 VL-CDR3;

(7) 如 SEQ ID NO: 31 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 32 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 33 所示的 VH-CDR3; 如 SEQ ID NO: 34 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 35 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 36 所示的 VL-CDR3;

(8) 如 SEQ ID NO: 26 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 37 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 38 所示的 VH-CDR3; 如 SEQ ID NO: 39 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 24 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 40 所示的 VL-CDR3;

(9) 如 SEQ ID NO: 41 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 42 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 43 所示的 VH-CDR3; 如 SEQ ID NO: 44 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 24 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 45 所示的 VL-CDR3;

(10) 如 SEQ ID NO: 11 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 12 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 47 所示的 VH-CDR3; 如 SEQ ID NO: 14 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 5 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 15 所示的 VL-CDR3;

(11) 如 SEQ ID NO: 16 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 17 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 137 所示的 VH-CDR3; 如 SEQ ID NO: 4 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 5 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 19 所示的 VL-CDR3;

(12) 如 SEQ ID NO: 16 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 17 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 137 所示的 VH-CDR3; 如 SEQ ID NO: 4 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 5 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 138 所示的 VL-CDR3;

(13) 如 SEQ ID NO: 31 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 32 所示的

VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 33 所示的 VH-CDR3；如 SEQ ID NO: 136 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 35 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 36 所示的 VL-CDR3；

(14) 如 SEQ ID NO: 147 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 42 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 43 所示的 VH-CDR3；如 SEQ ID NO: 44 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 24 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 45 所示的 VL-CDR3；

优选地，所述抗体分子或其片段包含的重链可变区和轻链可变区可选自以下组合：

(1) 如 SEQ ID NO: 50 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 50 所示的氨基酸序列具有至少 75% 同一性的氨基酸序列；和，如 SEQ ID NO: 51 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 51 所示的氨基酸序列具有至少 75% 同一性的氨基酸序列；

(2) 如 SEQ ID NO: 52 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 52 所示的氨基酸序列具有至少 75% 同一性的氨基酸序列；和，如 SEQ ID NO: 53 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 53 所示的氨基酸序列具有至少 75% 同一性的氨基酸序列；

(3) 如 SEQ ID NO: 54 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 54 所示的氨基酸序列具有至少 75% 同一性的氨基酸序列；和，如 SEQ ID NO: 55 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 55 所示的氨基酸序列具有至少 75% 同一性的氨基酸序列；

(4) 如 SEQ ID NO: 56 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 56 所示的氨基酸序列具有至少 75% 同一性的氨基酸序列；和，如 SEQ ID NO: 57 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 57 所示的氨基酸序列具有至少 75% 同一性的氨基酸序列；

(5) 如 SEQ ID NO: 58 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 58 所示的氨基酸序列具有至少 75% 同一性的氨基酸序列；和，如 SEQ ID NO: 59 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 59 所示的氨基酸序列具有至少 75% 同一性的氨基酸序列；

(6) 如 SEQ ID NO: 60 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 60 所示的氨基酸序列具有至少 75% 同一性的氨基酸序列；和，如 SEQ ID NO: 61 所示

的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 61 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；

(7) 如 SEQ ID NO: 62 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 62 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；和，如 SEQ ID NO: 63 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 63 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；

(8) 如 SEQ ID NO: 64 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 64 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；和，如 SEQ ID NO: 65 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 65 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；

(9) 如 SEQ ID NO: 66 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 66 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；和，如 SEQ ID NO: 67 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 67 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；

(10) 如 SEQ ID NO: 69 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 69 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；和，如 SEQ ID NO: 90 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 90 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；

(11) 如 SEQ ID NO: 71 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 71 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；和，如 SEQ ID NO: 90 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 90 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；

(12) 如 SEQ ID NO: 74 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 74 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；和，如 SEQ ID NO: 92 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 92 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；

(13) 如 SEQ ID NO: 75 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 75 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；和，如 SEQ ID NO: 94 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 94 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；

(14) 如 SEQ ID NO: 76 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 76 所示的

氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；和，如 SEQ ID NO: 94 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 94 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；

(15) 如 SEQ ID NO: 77 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 77 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；和，如 SEQ ID NO: 95 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 95 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；

(16) 如 SEQ ID NO: 83 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 83 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；和，如 SEQ ID NO: 102 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 102 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；

(17) 如 SEQ ID NO: 84 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 84 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；和，如 SEQ ID NO: 102 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 102 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；

(18) 如 SEQ ID NO: 85 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 85 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；和，如 SEQ ID NO: 134 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 134 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；

(19) 如 SEQ ID NO: 88 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 88 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；和，如 SEQ ID NO: 103 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 103 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；

(20) 如 SEQ ID NO: 88 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 88 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；和，如 SEQ ID NO: 104 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 104 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；

(21) 如 SEQ ID NO: 140 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 140 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；和，如 SEQ ID NO: 143 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 143 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；

(22) 如 SEQ ID NO: 141 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 141 所示的氨基酸序列具有至少 75% 同一性的氨基酸序列；和，如 SEQ ID NO: 144 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 144 所示的氨基酸序列具有至少 75% 同一性的氨基酸序列；

(23) 如 SEQ ID NO: 142 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 142 所示的氨基酸序列具有至少 75% 同一性的氨基酸序列；和，如 SEQ ID NO: 144 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 144 所示的氨基酸序列具有至少 75% 同一性的氨基酸序列。

本发明的抗体分子或其片段可以是单克隆抗体、单链抗体、双功能抗体、单域抗体、纳米抗体、完全或部分人源化的抗体或者嵌合抗体等任意形式，或者，所述抗体分子或其片段可以是半抗体或半抗体的抗原结合片段，例 scFv、BsFv、dsFv、(dsFv)₂、Fab、Fab'、F(ab')₂ 或 Fv；关于抗体的片段，特别优选抗体的抗原结合片段。

优选地，所述抗体分子或其片段还包含人或鼠的恒定区，优选包含人或鼠的轻链恒定区(CL)和/或重链恒定区(CH)；

更优选地，所述抗体分子或其片段包含选自 IgG、IgA、IgM、IgD 或 IgE 的重链恒定区和/或 κ 或 λ 型轻链恒定区。

根据本发明的具体实施方式，所述抗体分子为单克隆抗体，优选为鼠源、嵌合或人源化的单克隆抗体；优选地，所述单克隆抗体的重链恒定区为 IgG1 或 IgG4 亚型，轻链恒定区为 κ 型；

优选地，所述单克隆抗体的重链恒定区包含如 SEQ ID NO: 106 所示的氨基酸序列或者与所述氨基酸序列具有至少 75% 同一性的氨基酸序列；

优选地，所述单克隆抗体的轻链恒定区包含如 SEQ ID NO: 107 所示氨基酸序列或者与所述氨基酸序列具有至少 75% 同一性的氨基酸序列。

本文所提出的“至少 75% 同一性”为例如至少 80%、优选至少 85%、更优选至少 90%、进一步优选至少 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98% 或甚至 99% 同一性等 ≥ 75% 的任何百分比的同一性。

基于本发明的抗体分子或其片段，本发明还提供包含本发明的抗体或其片段的缀合物或融合蛋白。该缀合物或融合蛋白可包含通过化学或物理方法结合于本发明所述抗体或其片段的其他部分，例如细胞表面受体、小分子化合物如氨基酸和糖类、小分子聚合物或对本发明所述抗体进行修饰的任何其

它部分，或者甚至是活性蛋白或多肽。

另一方面，本发明还提供一种核酸分子，其编码本发明任意抗体或其片段中的重链CDR、轻链CDR、轻链可变区、重链可变区、重链或轻链。

还一方面，本发明提供一种载体，其包含本发明的核酸分子。所述载体可以为真核表达载体、原核表达载体、人工染色体及噬菌体载体等。本发明的载体或核酸分子可以用于转化或转染宿主细胞或以任何方式进入宿主细胞内，用于保存或表达抗体等目的。

因此，另一方面，本发明提供一种宿主细胞，所述宿主细胞包含本发明的核酸分子和/或载体，或者所述宿主细胞被本发明的核酸分子和/或载体转化或转染。宿主细胞可以是任何原核或真核细胞，例如细菌或昆虫、真菌、植物或动物细胞。

基于本发明的公开内容，本发明提供的抗体分子或其片段以及相应的缀合物或融合蛋白、核酸分子、载体和/或宿主细胞可以通过使用本领域已知的任何常规技术方法获得。所述抗体分子或其片段、缀合物或融合蛋白、核酸分子、载体和/或宿主细胞可以被包含在药物组合物中，更特别地被包含在药物制剂中，从而根据实际需要用于各种目的。

因此，在又一方面，本发明还提供一种药物组合物，所述药物组合物包含本发明所述的抗体分子或其片段、缀合物或融合蛋白、核酸分子、载体和/或宿主细胞，以及任选的药学上可接受的辅料。

还一方面，本发明提供上述抗体分子或其片段、缀合物或融合蛋白、核酸分子、载体、宿主细胞和/或药物组合物在制备药物中的用途，所述药物用于治疗与CD38表达相关或由CD38介导的疾病；

优选地，所述疾病为恶性血液肿瘤，优选为多发性骨髓瘤或非霍奇金淋巴瘤。

另外，本发明提供一种预防或治疗与CD38表达相关或由CD38介导的疾病的方法，所述方法包括给有此需要的受试者施用本发明的抗体分子或其片段、缀合物或融合蛋白、核酸分子、载体、宿主细胞和/或药物组合物，以及任选的其他药物或手段。该任选的其他药物或手段是指可以与本发明抗体分子或其片段、缀合物或融合蛋白、核酸分子、载体、宿主细胞和/或药物组合物联合施用的其他免疫增强药物或手段，例如小分子化药、靶向药、抗体等重组蛋白药、疫苗、ADC、溶瘤病毒、基因和核酸治疗药物和放射疗法。二

者的联合施用可以采取任意形式进行，例如同时、连续或间隔一定时间进行。

优选地，所述疾病为恶性血液肿瘤，优选为多发性骨髓瘤或非霍奇金淋巴瘤。所述受试者为哺乳类动物，优选地，所述受试者为人。

再一方面，本发明提供一种试剂盒，所述试剂盒包括本发明的抗体分子或其片段、缀合物或融合蛋白、核酸分子、载体、宿主细胞和/或药物组合物。

术语“CD38”，又称环腺苷二磷酸核糖水解酶，是具有长 C 末端细胞外结构域和短 N 末端细胞质结构域的 II 型跨膜糖蛋白。在造血细胞中，功能作用的分类被认为是 CD38 介导的信号传导的结果，包括淋巴细胞增殖、细胞因子释放、B 细胞和骨髓细胞发育和存活的调控，以及树突状细胞成熟的诱导。CD38 在许多造血系统恶性疾病中以及来源于各种造血系统恶性疾病的细胞系中失调，造血系统恶性疾病包括非霍奇金氏淋巴瘤(non-Hodgkin' s lymphoma, NHL)、伯基特氏淋巴瘤(Burkitt' s lymphoma, BL)、多发性骨髓瘤(MM)、B 慢性淋巴细胞白血病(B-CLL)、B 和 T 急性淋巴母细胞白血病(ALL)、T 细胞淋巴瘤(TCL)、急性骨髓性白血病(AML)、毛细胞白血病(HCL)、霍奇金氏淋巴瘤(HL)及慢性骨髓性白血病(CML)。另一方面，造血系统的最原始的多能干细胞是 CD38⁻。尽管近期在抗癌剂的发现和研发方面取得了进展，但涉及 CD38 表达性肿瘤的许多癌症形式仍具有不良预后。

术语“氨基酸突变”在本文中意思指多肽序列中的氨基酸取代、插入和/或缺失，或针对以化学方式连接至蛋白质的部分的改变。举例来说，突变可以是衔接至蛋白质的碳水化合物或 PEG 结构的改变。“氨基酸突变”在本文中意思指多肽序列中的氨基酸取代、插入和/或缺失。为清楚起见，除非另外说明，否则氨基酸突变通常是针对 DNA 编码的氨基酸，例如在 DNA 和 RNA 中具有密码子的 20 种氨基酸。

如本文所使用，“氨基酸取代”或“取代”在本文中意思指亲本多肽序列中特定位置处的氨基酸被不同氨基酸置换。确切地说，在一些实施方案中，取代是针对特定位置处非天然存在的氨基酸，这些氨基酸不是生物体内天然存在的或是任何生物体中的。举例来说，取代 E272Y 是指 272 位的谷氨酸被酪氨酸置换的变体多肽，在此情形中是 Fc 变体。为清楚起见，蛋白质被工程改造成改变核酸编码序列但不改变起始氨基酸 (例如 CGG(编码精氨酸)变为 CGA(仍编码精氨酸)，用以增加宿主生物体表达水平)不是“氨基酸取代”；也就是说，尽管产生了编码同一蛋白质的新基因，但如果该蛋白质在

其起始的特定位置处具有相同氨基酸，就不是氨基酸取代。

如本文所使用，“氨基酸插入”或“插入”意思指在亲本多肽序列中的特定位置处添加氨基酸序列。举例来说，-233E 或 233E 指示在 233 位后并且在 234 位前插入谷氨酸。另外，-233ADE 或 A233ADE 指示在 233 位后并且在 234 位前插入 AlaAspGlu。

如本文所使用，“氨基酸缺失”或“缺失”意思指去除亲本多肽序列中特定位置处的氨基酸序列。举例来说，G236-或 G236#或 G236del 指示在 236 位处的甘氨酸缺失。另外，EDA233-或 EDA233#表示自 233 位开始缺失序列 GluAspAla。

如本文所使用，“残基”意思指蛋白质中的位置及其相关氨基酸的身份。举例来说，天冬酰胺 297(又称为 Asn297 或 N297)是在人类抗体 IgG1 中 297 位的残基。

术语“ADCC”或“抗体依赖性细胞介导的细胞毒性”意思指表达 FcγR 的非特异性细胞毒性细胞识别靶细胞上结合的抗体并且随后使靶细胞溶解的细胞介导的反应。ADCC 与结合至 FcγRIIIa 相关；增加与 FcγRIIIa 的结合引起 ADCC 活性的增加。

术语“CDC”或“补体依赖的细胞毒性”是指 IgG 和 IgM 抗体的效应功能，当与表面抗原结合时引发典型的补体途径，包括形成膜攻击复合体以及靶细胞裂解。本发明的抗体，与 CD38 结合时，引发对 CD38+癌细胞的 CDC。

术语“抗体”应理解是涵盖包含两个免疫球蛋白重链和两个免疫球蛋白轻链的抗体分子(即，“完全抗体分子”)以及其抗原结合片段。如本文所用，术语抗体的“抗原结合部分”、抗体的“抗原结合片段”和类似术语，包括特异性结合抗原以形成复合物的任何天然存在、酶促可获得、合成或基因工程改造的多肽或糖蛋白。如本文所用，术语抗体的“抗原结合片段”或“抗体片段”是指抗体中保留特异性结合于溶血素 A 的能力的一个或多个片段。抗体片段可以包括 Fab 片段、F(ab')₂ 片段、Fv 片段、dAb 片段、含有 CDR 的片段或经分离的 CDR。抗体的抗原结合片段可以使用任何适合的标准技术衍生自例如完全抗体分子，所述适合的标准技术是如蛋白水解消化或涉及 DNA 编码抗体可变和(视情况)恒定域的操纵和表达的重组基因工程改造技术。这类 DNA 是已知的和/或是从例如商业来源、DNA 文库(包括例如噬菌

体-抗体文库)轻易可获得的或可以是合成的。可以化学方式或通过使用分子生物学技术对 DNA 进行测序和操纵,例如将一个或多个可变和/或恒定域布置成适合的组态,或引入密码子;形成半胱氨酸残基;修饰、添加或去除氨基酸等。

抗原结合片段的非限制性实例包括:(i)Fab 片段;(ii) $F(ab')_2$ 片段;(iii)Fd 片段;(iv)Fv 片段;(v)单链 Fv(scFv)分子;(vi)dAb 片段;和(vii)由模拟抗体的高变区的氨基酸残基组成的最小识别单位(例如经分离的互补决定区(CDR),如 CDR3 肽),或限制性 FR3-CDR3-FR4 肽。如以下的其它工程改造分子也涵盖于如本文所用的表述“抗原结合片段”内:结构域-特异性抗体、单-结构域抗体、结构域-缺失抗体、嵌合抗体、CDR-接枝抗体、双功能抗体、三功能抗体、四功能抗体、微型抗体、纳米抗体(nanobody)(例如单价纳米抗体、二价纳米抗体等)、小模块化免疫药物(SMIP)和鲨鱼可变 IgNAR 结构域。

抗体的抗原结合片段将典型地包含至少一个可变域。可变域可以具有任何尺寸或氨基酸组成,且通常将包含至少一个 CDR,其邻近一个或多个构架序列或与其同框。在 VH 结构域与 VL 结构域相缔合的抗原结合片段中,VH 和 VL 结构域可以任何适合的排列相对于彼此定位。举例来说,可变区可以是二聚的且含有 VH-VH、VH-VL 或 VL-VL 二聚体。或者,抗体的抗原结合片段可以含有单聚 VH 或 VL 结构域。

在某些实施例中,抗体的抗原结合片段可以含有共价键联到至少一个恒定域的至少一个可变域。本发明的抗体的抗原结合片段内可以发现的可变和恒定域的非限制性、示例性组态包括:(i)VH-CH1;(ii)VH-CH2;(iii)VH-CH3;(iv)VH-CH1-CH2;(v)VH-CH1-CH2-CH3;(vi)VH-CH2-CH3;(vii)VH-CL;(viii)VL-CH1 ; (ix)VL-CH2 ; (x)VL-CH3 ; (xi)VL-CH1-CH2 ; (xii)VL-CH1-CH2-CH3;(xiii)VL-CH2-CH3;和(xiv)VL-CL。在可变和恒定域的包括上文所列的示例性组态中的任一个的任何组态中,可变和恒定域可彼此直接键联或可以通过完全或部分铰链或连接符区键联。铰链区可以由至少 2(例如 5、10、15、20、40、60 或更多)个氨基酸组成,其在单一多肽分子中在邻近可变和/或恒定域之间产生柔性或半柔性键联。此外,本发明抗体的抗原结合片段可以包含上文所列的可变和恒定域组态中的任一个彼此非共价缔合和/或与一个或多个单聚 VH 或 VL 结构域(例如通过二硫键)的同二聚体或异二聚体(或其它多聚体)。

就完全抗体分子来说，抗原结合片段可以是单特异性或多特异性的(例如双特异性)。抗体的多特异性抗原结合片段将典型地包含至少两个不同的可变域，其中各可变域能够特异性结合于单独的抗原或相同抗原上不同的表位。任何多特异性抗体格式(包括本文所公开的示例性双特异性抗体格式)均可适合于使用所属领域中可用的常规技术在本发明的抗体的抗原结合片段的背景下使用。

在本发明中，利用杂交瘤技术获得鼠抗体，通过抗体活性分析(ELISA结合，与对照抗体的表位竞争，亲和力动力学)获得候选鼠抗体；然后，将编码候选鼠抗体轻重链可变区的序列克隆至编码人抗体轻重链恒定区的序列上游，进行哺乳动物细胞表达，制备得到嵌合抗体，之后通过抗体活性分析，验证嵌合抗体对效应细胞的互补依赖性细胞毒作用(CDC)、抗体依赖性细胞介导的细胞毒作用(ADCC)，以及对 Duadi-luc 的细胞凋亡活性验证；继而根据 Germline 数据库选择人源化模板，进行抗体序列的人源化设计，获得的人源化抗体再次通过抗体活性分析，重复验证人源化改造抗体对效应细胞的互补依赖性细胞毒作用(CDC)、抗体依赖性细胞介导的细胞毒作用(ADCC)，以及对 Duadi-luc 的细胞凋亡活性等体外细胞学实验验证；再进行人源化抗体的体外理化性质分析，最终获得亲和力和特异性与对照抗体相当或者优于对照抗体的抗 CD38 人源化全新抗体序列。

实验证明，本发明提供的抗体分子与已知抗体具有接近或一致的抗原结合识别表位，同时还与已知抗体具有相同或者更好的功能活性，包括体外 ADCC、CDC 和 Daudi 细胞凋亡活性等。

附图说明

以下，结合附图来详细说明本发明的实施方案，其中：

图 1 显示了 CD38 表达细胞株的流式细胞术鉴定结果，其中，图 1A：细胞株 CHO blank；图 1B：细胞株 1-T-12；图 1C：细胞株 1-T-14。

图 2 显示了杂交瘤细胞的第一轮(图 2A)和第二轮(图 2B)融合筛选结果。

图 3 显示了本发明抗体与细胞表面表达的抗原 CD38 的结合活性。

图 4 显示了本发明抗体的抗体依赖性细胞毒性，其中，图 4A：8B7 人源化抗体；图 4B：20M19 人源化抗体；图 4C：32A7 人源化抗体；图 4D：

5E19 人源化抗体。

图 5 显示了本发明抗体的抗原表位分析结果，其中，图 5A：相对于 Daratumumab；图 5B：相对于 Mor202；图 5C：相对于 Isatuximab。

图 6 显示了本发明抗体的血清稳定性结果，其中，图 6A：Daratumumab；图 6B：8B7-H3L3；图 6C：17H13-H2L2；图 6D：20M19-H1L1。

实施发明的最佳方式

以下参照具体的实施例来说明本发明。本领域技术人员能够理解，这些实施例仅用于说明本发明，其不以任何方式限制本发明的范围。

下述实施例中的实验方法，如无特殊说明，均为常规方法。下述实施例中所用的药材原料、试剂材料等，如无特殊说明，均为市售购买产品。其中：

人单克隆抗体 IgG1 亚类的重链恒定区序列见 SEQ ID NO: 106 和 SEQ ID NO: 126，人单克隆抗体 κ 亚类的轻链恒定区序列见 SEQ ID NO: 107 和 SEQ ID NO: 127。

重组人 CD38 蛋白，购自 ACRO biosystem，Cat No: CD8-H5224。

实施例 1 对照抗体的合成与表达

将全合成的 Daratumumab、Isatuximab 和 Mor202 抗体轻链可变区和重链可变区基因分别克隆至装有人-kappa 轻链恒定区和人 IgG1 重链恒定区编码基因上游的真核表达载体中，分别获得 Daratumumab、Isatuximab 和 Mor202 轻、重链表达质粒。将获得的质粒转入大肠杆菌扩增，分离获得大量含 Daratumumab、Isatuximab 或 Mor202 抗体轻链和重链的质粒，将二者与 PEI 混合后共转染入 HEK293 细胞中。

细胞转染 5-6 天，取培养上清，利用 Mabselect 亲和层析柱对表达上清进行纯化，获得 Daratumumab、Isatuximab 和 Mor202 抗体重组蛋白。

Daratumumab：序列参见 SEQ ID NO: 128 至 SEQ ID NO: 129。

Isatuximab：序列参见 SEQ ID NO: 130 至 SEQ ID NO: 131。

Mor202：序列参见 SEQ ID NO: 132 至 SEQ ID NO: 133。

实施例 2 CD38 抗原表达细胞株的制备

制备了人 CD38 高表达 CHO 细胞株 1-T-14 和人 CD38 低表达 CHO 细胞

株 1-T-12。

通过 PCR 的方法，从含有 CD38 cDNA 的载体（北京义翘神州，Cat: HG10818-UT）中克隆出 CD38 基因的阅读框，并将 CD38 基因的阅读框（已经测序验证正确序列）通过酶切的方法克隆入含有谷氨酰氨合成酶（GS）筛选基因的的稳定表达载体中，电转染（Nucleofector IIb, Lonza）悬浮培养的 CHO-K1 细胞，将转染后的细胞置于含有 50 μ M MSX（Sigma, Cat: M5379）的 CD CHO AGTTM 培养基（Gibco, Cat: 12490-025）中，接种于 96 孔细胞培养板，37 $^{\circ}$ C，5% CO₂ 静置培养 2-3 周，通过 MSX 加压筛选，从镜下预筛、放大培养，最终通过流式细胞分析(FACS)挑选出 2 个克隆(1-T-12 和 1-T-14)，进行放大培养和冻存。

两个细胞株与阴性对照 CHO 细胞株（CHO-blank）的流式细胞术鉴定结果见图 1，平均荧光强度（MFI）数值见表 1。

表 1 CD38 抗原表达细胞株的表达（FACS）

细胞株	MFI
CHO blank	391.3
1-T-12	66006.4
1-T-14	133008

实施例 3 杂交瘤细胞的筛选和鉴定

1. 小鼠免疫

8-10 周龄 Balb/c 小鼠，采用弗氏佐剂和水溶佐剂两种免疫方法，弗氏佐剂在第 0 天和第 14 天给小鼠进行两次腹腔免疫注射，水溶佐剂在第 0 天和第 21 天给 8-10 周龄 Balb/c 小鼠进行两次肌肉免疫注射小鼠，免疫抗原为：人 CD38 重组蛋白，由 Acro biosytem 生物科技有限公司在 HEK293 细胞中重组表达。第一次免疫剂量为 50 μ g，第二次免疫剂量为 25 μ g。免疫前取小鼠血清作为检测时的阴性对照，弗氏佐剂在初次免疫后第 28 天，水溶佐剂在初次免疫后第 35 天尾静脉取血，用包被重组人 CD38 蛋白的 96 孔酶标板以 ELISA 法检测血清滴度；血清滴度达到融合要求的小鼠加强免疫，将 25 μ g 抗原用 D-PBS 稀释成 500 μ l，腹腔注射。初次免疫后第 18-38 天取血清滴度高的小鼠的脾细胞用于下一步的细胞融合。

2. 细胞融合及杂交瘤制备

2.1 骨髓瘤细胞准备

培养融合所需骨髓瘤细胞 P3X63Ag8.653 在 500ml 三角培养瓶至细胞密度 $0.8-1.0E+6$ 密度时，换液至完全杂交瘤培养基中备用。

2.2 淋巴结和 B 淋巴细胞制备

选取滴度达到要求的小鼠，摘除眼球采血，并分离血清作为抗体检测时的阳性对照血清；并无菌取小鼠脾脏，按照常规方法制备 B 淋巴细胞悬液。

2.3 电融合 (Electro Cell Fusion, ECF)

骨髓瘤细胞 P3X63Ag8.653 和 B 淋巴细胞以 4:1 的比例混合后进行电击融合。电击后，将细胞放入 37°C CO_2 培养箱内，静止 30 分钟，1000RPM，室温离心 10 分钟，用 360ml 杂交瘤选择培养基重悬细胞后，铺板至 384 孔板内，确保铺板密度为 8000~20000 细胞/孔。第 2-3 天后换液一次，第 7-10 天进行阳性杂交瘤筛选。

2.4 阳性杂交瘤筛选 (FACS)

将融合后的杂交瘤细胞培养于 384 孔板中，取上清用 FACS 分析杂交瘤细胞分泌的抗体，筛选得到若干克隆，该克隆能够结合人 CD38 高表达株 1-T-14 而不能结合 CHO-blank 细胞。通过有限稀释的方法将筛选到的克隆单细胞化，3 轮之后得到的每个杂交瘤细胞克隆只分泌一个抗体。

第一轮和第二轮融合筛选结果见图 2。

实施例 4 鼠源单克隆抗体的可变区序列鉴定、抗人 CD38 嵌合抗体的制备以及抗体筛选

将分泌抗人 CD38 抗体的杂交瘤细胞扩大培养后，按照 RNAfast200 试剂盒（上海飞捷生物技术有限公司）说明书步骤提取细胞总 RNA；利用 $5\times$ PrimeScript RT Master Mix (Takara) 将杂交瘤细胞总 RNA 反转录成 cDNA；使用简并引物 (Anke Krebber.1997) 和 Extaq PCR 试剂 (Takara) 扩增抗体轻链可变区 IgVL(κ) 和重链可变区 VH 序列；利用 PCR clean-up Gel extraction 试剂盒 (Macherey-Nagel 公司) 纯化 PCR 扩增产物；按照 pClone007 Simple Vector Kit 试剂盒 (擎科生物科技有限公司) 说明书将扩增 PCR 产物连接至 T 载体并转化大肠杆菌感受态细胞，菌株扩增、抽提质粒后进行 DNA 测序获得单克隆抗体可变区序列。

将鼠源抗人 CD38 单克隆抗体的重链可变区序列和公开发表的人单克隆

抗体 IgG1 亚类的重链恒定区序列拼接在一起，构建到哺乳动物细胞表达载体 pCDNA3.4 中；将鼠源抗人 CD38 单克隆抗体的轻链可变区序列和公开发表的人单克隆抗体 κ 亚类的轻链恒定区序列拼接在一起，构建到哺乳动物细胞表达载体 pCDNA3.1 中。将构建好的抗人 CD38 嵌合抗体的重链载体和轻链载体配对混合，使用聚乙烯亚胺 (PEI) 转染 HEK293 细胞，约 7 天后收集细胞上清，使用 Mabselect 纯化得到抗人 CD38 嵌合抗体蛋白。

得到的嵌合抗体在本文以“鼠源抗体命名-xiIgG”表示。

对获取的鼠源抗体和嵌合抗体进行杂交瘤细胞培养上清或纯化得到的抗体的抗原 ELISA 结合实验、Octet 结合实验、体外细胞结合实验、体外细胞学实验（补体依赖性细胞毒性(CDC)和抗体依赖性细胞毒性(ADCC)）等单克隆抗体的筛选（实验操作见下文），将鼠源抗体与相应的嵌合抗体彼此验证，综合各个实验的结合，筛选得到部分鼠源抗体及其嵌合抗体。

来自部分鼠源抗体的轻重链可变区（VH 和 VL）序列如下所示，其中重链和轻链的抗原互补决定簇（CDR）以下划线示出。

鼠源抗体 2H17：

>2H17_VH (SEQ ID NO: 50)

QVQLKQSGPGLVQPSQSLSITCTVSGFSLTSYGVHWVRQSPGKGLEWLGVI
IWRGGSTDYNAAFMSRLSITKDNSKSQVFFKMNSLQADDTAIYYCAKGM
ITTGYAMDYWGQGTSVTVSS

>2H17_VL (SEQ ID NO: 51)

DIQMTQSSSSFSVSLGDRVTITCKASEDIYNRLAWYQQKPGNAPRLLISGA
TSLETGVPSRFSGSGSGKDYTLTITSLQTEDVATYYCQQYWSTPTFGGGTK
 LEIK

鼠源抗体 4J1：

>4J1_VH (SEQ ID NO: 52)

QVQLKQSGPGLVQPSQSLSITCTVSGFSLTSFGIHWVRQSPGKGLEWLGVI
WRGGSTDYNAAFSLRSLITKDNSKSQVFFKINSLRADDTAIFYCAKSMITT
GYAMDYWGQGTSVTVSS

>4J1_VL (SEQ ID NO: 53)

DIQMTQSSSSFSVSLGDRVTITCKASEDIYNRLAWYQQKPGNAPRLLISGA

TSLETGVPSRFSGSGSGKDYILSITSLQTEDVATYYCQQYWSTPWTFGGGT
KLEIK

鼠源抗体 5E19:

>5E19_VH (SEQ ID NO: 54)

QVQLKQSGPGLVQPSQSLSITCTVSGFSLTNYGVHWLRQSPGKGLEWLG
VIWRGGSTDYSAAFMSRLNITKDNSKSQVFFKMNSLQADDTAIYYCAKT
TLTRVWYCDVWGAGTTVTVSS

>5E19_VL (SEQ ID NO: 55)

DIQMTQSSSSFSVSLGDRVTITCKSSEDIYNRLAWYQQKPGNAPRLLISGA
TSLETGVPSRFSGSGSGKDYTLSITSLQTEDVVTYYCQQYWNTPLTFGAG
TKLELK

鼠源抗体 8B7:

>8B7_VH (SEQ ID NO: 56)

QVQLKQSGPGLVQPSQSLSITCTVSGFSLLSYGVHWVWRQSPGKGLEWLG
VIWRGGSADYNAAFMSRLSITKDNSKSQVFFKMNSLQADDTAIYYCAKS
MITTGFTLDYWGQGTSTVTVSS

>8B7_VL (SEQ ID NO: 57)

DIQMTQSSSSFSVSLGDRVTITCKKASEDIYNRLAWYQQKPGHAPRLLISGA
TSLETGVPSRFSGSGSGKDYTLSITSLQTEDVATYYCQQFWNTPWTFGGG
TKLEIK

鼠源抗体 13D15:

>13D15_VH (SEQ ID NO: 58)

QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNFGMNWVKQAPGKGLKWM
GWINTYTGEPTNADDFKGRFAFSLETSASTAYLQINNKNEDMATYFCAR
KGFAYWGQGTTLVTVSA

>13D15_VL (SEQ ID NO: 59)

DIVLTQSPASLAVSLGQRTTISCRASESVDSYGNSFMHWYQQKPGQPPKLL
IYRASNLESGIPARFSGSGSRTDFTLTINPVEADDVATYYCQQINEDPFTFGS

GTKLEIK

鼠源抗体 15A10:

>15A10_VH (SEQ ID NO: 60)

QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNWKQAPGKGLKWM
GWINTYTAEPTYADDFKGRFAFSLEASASTAYLQINNLKNEDMATYFCAR
KYGGYWGQGTTLVSS

>15A10_VL (SEQ ID NO: 61)

DIVLTQSPPSLAVSLGQRATISCRASESVDSYGNSFIHWYQQKPGQSPKLLI
YRASNLESGIPARFSGSGSRTDFTLTINPVEADDVATYYCQQVNEDPLTFG
 AGTKLELK

鼠源抗体 17H13:

>17H13_VH (SEQ ID NO: 62)

QVQLQQSGAELAKPGASVKMSCKASGYTFTNYWMNWKQRPQGGLW
IGYIIPSTDYTEYNQKFKDKATLTADKSSGTAYMQLSSLTSEDSAVYYCSR
YPYRGYAMDYWGQGTSTVTVSS

>17H13_VL (SEQ ID NO: 63)

QIVLTQSPALMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMYWYQQKPRSSPKPWIYLT
SNLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSEAEADAATYYCQQWSTNPWTFGGG
 TKLELK

鼠源抗体 20M19:

>20M19_VH (SEQ ID NO: 64)

QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNWKQAPGKGLKWM
GWINTYTGEPTVADDFKGRFAFSLDTSASTAYLQINNLKNEDTATYFCAR
NPGWFAYWGQGTTLVTVSA

>20M19_VL (SEQ ID NO: 65)

DIVLTQSPVFLAVSLGQRATISCRASESVDNYGNSFMHWYQQKPGQPPKL
LIYRASNLESGIPARFSGSGSRTDFTLTINPVEADDVATYYCQQSHEAPWTF
 GGGTRLEIK

鼠源抗体 32A7:

>32A7_VH (SEQ ID NO: 66)

QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYNLTNYGMNWVKQAPGKGLKWM
GWINTYTGEPYADDFKGRFAFSLETSASTAYLQINNLIK⁶⁶NEDTATYFCARY
PGWFAYWGQGLVTVSA

>32A7_VL (SEQ ID NO: 67)

DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCR⁶⁷TSESVD⁶⁷SYGNSFMHWYQQKPGQPPKLL
IYRASNLESGIPARFSGSGSRTDFTLTINPVEADDVATYYCQ⁶⁷QSNEDPWTFG
GGTKLEIK

结果显示，具有上述轻重链的所有鼠源抗体相对于其他鼠源抗体，具有更为良好的与人CD38重组蛋白的结合作用，细胞结合实验效果明显，并具有较强的补体依赖性细胞毒性和抗体依赖性细胞毒性；并且，在转为嵌合抗体以后，均保留了鼠源抗体的作用，并且结合活性与对照抗体Daratumumab或Isatuximab相近或更高。

实施例 5 抗人 CD38 鼠源抗体的人源化与人源化抗体制备

综合Kabat、Chothia的抗体编码方案，确定鼠源抗体的重链和轻链的6个抗原互补决定簇（CDR）的氨基酸序列区域及支撑抗体保守三维构象的框架区域（framework region）。

随后通过分析搜索已知人源抗体序列，选择与鼠源抗体最为相似接近的人源抗体重链可变区序列，如IGHV1|IGHJ4*01，选择其抗体框架区序列作为模板，将鼠源抗体重链CDR与人源抗体框架区结合，最终生成人源化抗体重链可变区序列。同样过程，生成人源化抗体轻链可变区序列。

上述过程中发现，鼠源抗体CDR直接移植至人框架区的抗体常出现结合活性急剧下降，因此需要将框架区个别氨基酸从人源的改回鼠源的。在确定回复突变位点时，一是对照设计好的人源化抗体序列和原始的鼠源抗体序列，检查有哪些氨基酸的不同；二是检查这些氨基酸是否对支持抗体结构起重要作用或者对与抗原的结合起重要作用。对于人源化设计后的序列，同时还需要检查是否有一些潜在的翻译后修饰位点，如N（天冬酰胺）糖基化位点、N脱酰胺化位点、D（天冬氨酸）异构化位点等。

将人源化抗体重链可变区基因构建到含人单克隆抗体 IgG1 亚类的重链恒定区基因的哺乳动物细胞表达载体中；轻链可变区基因构建到含人单克隆抗体 κ 亚类的轻链恒定区基因的哺乳动物细胞表达载体中。构建好的抗人 CD38 人源化抗体的重链载体和轻链载体配对混合，使用聚乙烯亚胺（PEI）转染 HEK293 细胞，约 7 天后收集细胞上清，使用 Mabselect 纯化得到抗人 CD38 人源化抗体蛋白。

人源化改造得到的部分轻重链可变区序列如下所示，其中重链和轻链的抗原互补决定簇（CDR）以下划线示出。

>5E19_VH_hz0 (SEQ ID NO: 68)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFSLTNYGVHWVRQAPGKGLEWV
AVIWRGGSTDYSAAFMSRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR
TTLTRVWYCDVWGQGTLVTVSS

>5E19_VH_hz1 (SEQ ID NO: 69)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFSLTNYGVHWVRQAPGKGLEWV
AVIWRGGSTDYSAAFMSRFTISKDNSKNTVYLYQMNSLRAEDTAVYYCAK
TTLTRVWYCDVWGQGTLVTVSS

>5E19_VH_hz2 (SEQ ID NO: 70)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAVSGFSLTNYGVHWVRQAPGKGLEWV
AVIWRGGSTDYSAAFMSRFTISKDNSKNTVYLYQMNSLRAEDTAVYYCAK
TTLTRVWYFDVWGQGTLVTVSS

>5E19_VH_hz3 (SEQ ID NO: 71)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAVSGFSLTNYGVHWVRQAPGKGLEWV
AVIWRGGSTDYSAAFMSRFTISKDNSKNTVYLYQMNSLRAEDTAVYYCAK
TTLTRVWYVDVWGQGTLVTVSS

>5E19_VH_hz4 (SEQ ID NO: 72)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAVSGFSLTNYGVHWVRQAPGKGLEWV
AVIWRGGSTDYSAAFMSRFTISKDNSKNTVYLYQMNSLRAEDTAVYYCAK

TTLTRVWYYDVWGQGLTVTVSS

>5E19_VL_hz0 (SEQ ID NO: 89)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKSSEDIYNRLAWYQQKPGKAPKLLIYGATSLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYWNTPLTFGQGT
KVEIK

>5E19_VL_hz1 (SEQ ID NO: 90)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKSSEDIYNRLAWYQQKPGKAPKLLIYGATSLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQQYWNTPLTFGQGT
KVEIK

>8B7_VH_hz0 (SEQ ID NO: 73)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFSLLSYGVHWVRQAPGKGLEWVAVIWRGGSADYNAAFMSRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR
SMITGFTLDYWGQGLTVTVSS

>8B7_VH_hz1 (SEQ ID NO: 74)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFSLLSYGVHWVRQAPGKGLEWVAVIWRGGSADYNAAFMSRFTISKDNSKNTVYLYLQMNSLRAEDTAVYYCA
KSMITGFTLDYWGQGLTVTVSS

>8B7_VH_hz3 (SEQ ID NO: 75)

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAVSGFSLLSYGVHWVRQAPGKGLEWVAVIWRGGSADYNAAFMSRFTISKDNSKSTVYLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK
SMITGFTLDYWGQGLTVTVSS

>8B7_VH_hz4 (SEQ ID NO: 76)

EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAVSGFSLLSYGVHWVRQAPGKGLEWVAVIWRGGSADYNAAFMSRFTISKDNSKSTVYLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKS
MITGFTLDYWGQGLTVTVSS

>8B7_VH_hz5 (SEQ ID NO: 77)

EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAVSGFSLLSYGVHWVWRQAPGKGLEWVA
VIWRGGSADYNAAFMSRFTISKDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKS
MITTGFTLDYWGQGTLVTVSS

>8B7_VH_hz6 (SEQ ID NO: 78)

EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAVSGFSLLSYGVHWVWRQAPGKGLEWVA
VIWRGGSADYNAAFMSRFTISRDNSKSTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKS
MITTGFTLDYWGQGTLVTVSS

>8B7_VH_hz7 (SEQ ID NO: 79)

EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAVSGFSLLSYGVHWVWRQAPGKGLEWVA
VIWRGGSADYNAAFMSRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAKS
MITTGFTLDYWGQGTLVTVSS

>8B7_VH_hz8 (SEQ ID NO: 80)

EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAVSGFSLLSYGVHWVWRQAPGKGLEWVA
VIWRGGSADYNAAFMSRFTISKDNSKSTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKS
MITTGFTLDYWGQGTLVTVSS

>8B7_VH_hz9 (SEQ ID NO: 81)

EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAVSGFSLLSYGVHWVWRQAPGKGLEWVA
VIWRGGSADYNAAFMSRFTISKDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAKS
MITTGFTLDYWGQGTLVTVSS

>8B7_VH_hz10 (SEQ ID NO: 82)

EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAVSGFSLLSYGVHWVWRQAPGKGLEWVA
VIWRGGSADYNAAFMSRFTISRDNSKSTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAKS
MITTGFTLDYWGQGTLVTVSS

>8B7_VL_hz0 (SEQ ID NO: 91)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKKASEDIYNRLAWYQQKPGKAPKLLIYG
ATSLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQFWNTPWTFFGPGT
KLEIK

>8B7_VL_hz1 (SEQ ID NO: 92)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKKASEDIYNRLAWYQQKPGKAPKLLISGA
TSLETGVPSRFSGSGSGKDYTFTISSLQPEDVATYYCQQFWNTPWTFFGPGT
KLEIK

>8B7_VL_hz2 (SEQ ID NO: 93)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKKASEDIYNRLAWYQQKPGKAPKLLIYG
ATSLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQFWNTPWTFFGQG
TKVEIK

>8B7_VL_hz3 (SEQ ID NO: 94)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKKASEDIYNRLAWYQQKPGKAPKLLISGA
TSLETGVPSRFSGSGSGKDYTFTISSLQPEDVATYYCQQFWNTPWTFFGQG
TKVEIK

>8B7_VL_hz4 (SEQ ID NO: 95)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKKASEDIYNRLAWYQQKPGKAPKLLIYG
ATSLETGVPSRFSGSGSGKDFTFTISSLQPEDIATYYCQQFWNTPWTFFGQG
TKVEIK

>8B7_VL_hz5 (SEQ ID NO: 96)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKKASEDIYNRLAWYQQKPGKAPKLLIYG
ATSLETGVPSRFSGSGSGTDYTFTISSLQPEDIATYYCQQFWNTPWTFFGQG
TKVEIK

>8B7_VL_hz6 (SEQ ID NO: 97)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASEDIYNRLAWYQQKPGKAPKLLIYG
ATSLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDVATYYCQQFWNTPWTFGQG
TKVEIK

>8B7_VL_hz7 (SEQ ID NO: 98)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASEDIYNRLAWYQQKPGKAPKLLIYG
ATSLETGVPSRFSGSGSGKDYTFTISSLQPEDVATYYCQQFWNTPWTFGQG
TKVEIK

>8B7_VL_hz8 (SEQ ID NO: 99)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASEDIYNRLAWYQQKPGKAPKLLIYG
ATSLETGVPSRFSGSGSGKDFTFTISSLQPEDVATYYCQQFWNTPWTFGQG
TKVEIK

>8B7_VL_hz9 (SEQ ID NO: 100)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASEDIYNRLAWYQQKPGKAPKLLIYG
ATSLETGVPSRFSGSGSGTDYTFTISSLQPEDVATYYCQQFWNTPWTFGQG
TKVEIK

>17H13_VH_hz0 (SEQ ID NO: 83)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMNWVRQAPGQGLEW
MGYIIPSTDYTEYNQKFKDRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCA
RYPYRGYAMDYWGQGTLVTVSS

>17H13_VH_hz1 (SEQ ID NO: 84)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMNWVRQAPGQGLEW
MGYIIPSTDYTEYNQKFKDRVTMTKDNSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCS
RYPYRGYAMDYWGQGTLVTVSS

>17H13_VH_hz2 (SEQ ID NO: 85)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMNWVRQAPGQRLEW

MGYIIPSTDYTEYNQKFKDRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR
YPYRGYAMDYWGQGTTVTVSS

>17H13_VH_hz3 (SEQ ID NO: 86)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMNWVRQAPGQRLEW
MGYIIPSTDYTEYNQKFKDRVTITADKSAGTAYMELSSLRSEDTAVYYCSR
YPYRGYAMDYWGQGTTVTVSS

>17H13_VL_hz0 (SEQ ID NO: 101)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSVSMYWYQKPGQAPRLLIYLTSN
LASGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQWSTNPWTFGGQGTKV
EIK

>17H13_VL_hz1 (SEQ ID NO: 102)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSVSMYWYQKPGQAPRPLIYLTSN
LASGIPARFSGSGSGTDYTLTISSLEPEDAAVYYCQQWSTNPWTFGGQGTK
VEIK

>17H13_VL_hz2 (SEQ ID NO: 134)

QIVLTQSPATLSLSPGERATLTCSASSVSMYWYQKPGQAPRPWIYLTS
NLASGVPARFSGSGSGTSYTLTISSELEPEDFAVYYCQQWSTNPWTFGGQGT
KVEIK

>17H13_VL_hz3 (SEQ ID NO: 135)

QIVLTQSPATLSLSPGERATLTCSASSVSMYWYQKPGSSRPWIYLTSN
LASGVPARFSGSGSGTSYTLTISSELEPEDFAVYYCQQWSTNPWTFGGGQTK
VEIK

>20M19_VH_hz0 (SEQ ID NO: 87)

QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWVRQAPGQGLEW
MGWINTYTGEPTVADDFKGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCA

RNPGWFAYWGQGLTVTVSS

>20M19_VH_hz1 (SEQ ID NO: 88)

QIQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWVRQAPGQGLEWM
GWINTYTGEPTVADDFKGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCAR
NPGWFAYWGQGLTVTVSS

>20M19_VL_hz0 (SEQ ID NO: 103)

DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVDNYGNSFMHWYQQKPGQPPKL
LIYRASNLESGVPARFSGSGSRTDFTLTINPVEANDTANYYCQQSHEAPWT
FGQGTKVEIK

>20M19_VL_hz1 (SEQ ID NO: 104)

DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVDNYGNSFMHWYQQKPGQPPKL
LIYRASNLESGVPARFSGSGSRTDFTLTINPVEANDTANYYCQQSHEAPWT
FGQGTKVEIK

>20M19_VL_hz2 (SEQ ID NO: 105)

DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRASESVDNYGNTFMHWYQQKPGQPPKL
LIYRASNLESGVPARFSGSGSRTDFTLTINPVEAGDTANYYCQQSHEAPWT
FGQGTKVEIK

>32A7_VH_hz0 (SEQ ID NO: 140)

QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYNLTNYGMNWVRQAPGQGLEW
MGWINTYTGEPTYADDFKGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCA
RYPGWFAYWGQGLTVTVSS

>32A7_VH_hz1 (SEQ ID NO: 141)

QIQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYNLTNYGMNWVRQAPGQGLEW
MGWINTYTGEPTYADDFKGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCA
RYPGWFAYWGQGLTVTVSS

>32A7_VH_hz2 (SEQ ID NO: 142)

QIQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYALTNYGMNWVRQAPGQGLEWM
GWINTYTGEPYADDFKGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCAR
YPGWFAYWGQGLVTVSS

>32A7_VL_hz0 (SEQ ID NO: 143)

DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRTSESVDSYGNSFMHWYQQKPGQPPKLL
IYRASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYYCQQSNEDPWTF
GQGTKVEIK

>32A7_VL_hz1 (SEQ ID NO: 144)

DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRTSESVDSYGNSFMHWYQQKPGQPPKLL
IYRASNLESGVPARFSGSGSRTDFTLTINPVEANDTANYYCQQSNEDPWTF
GQGTKVEIK

>32A7_VL_hz2 (SEQ ID NO: 145)

DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRTSESVDSYGNTFMHWYQQKPGQPPKLL
IYRASNLESGVPARFSGSGSRTDFTLTINPVEANDTANYYCQQSNEDPWTF
GQGTKVEIK

>32A7_VL_hz3 (SEQ ID NO: 146)

DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRTSESVDSYGNTFMHWYQQKPGQPPKLL
IYRASNLESGVPARFSGSGSRTDFTLTINPVEAQTANYYCQQSNEDPWTF
GQGTKVEIK

将人源化抗体命名为“鼠源抗体命名-HmLn”，其中 m 和 n 分别为 VH 和 VL 的人源化(hz)改造序列 (VH_hz 和 VL_hz) 编号。

实施例 6 抗人 CD38 抗体与抗原的体外结合验证与体外细胞学试验

1. Octet 结合实验

进行本发明的抗体和对照抗体Daratumumab (Dara) 与重组人CD38蛋白的Octet结合实验。

利用ForteBio (BLITZ pro1.1.0.28) 仪器, 采用抗人抗体捕获法测定抗体亲和力。测定时将抗人抗体Fc段的捕获抗体 (AHC) 生物探针浸泡于PBS 10 min; 将200 μ l稀释后的抗体样品 (包括本发明的嵌合抗体、人源化抗体以及对照抗体Daratumumab; 抗体工作浓度为15 μ g/mL) 上样到AHC生物探针上, 然后在PBS中平衡100s, 进一步将AHC探针与不同稀释浓度的人CD38蛋白 (ACRO biosystem, Cat No.CD8-H5224) 进行结合反应, 结合时间600s, 之后将AHC探针转移至PBS中, 进行解离反应, 时间为600s。实验完毕, 扣除空白对照响应值, 用软件进行1:1 Langmuir结合模式拟合, 计算抗原抗体结合的动力学常数。

结果见表2至表5。

表2 抗体与重组人CD38蛋白的体外结合活性

抗体	浓度(nM)	响应	KD (M)	kon (1/Ms)	kdis (1/s)	RMax
4J1-xiIgG	100	0.4598	3.31E-08	2.85E+05	9.44E-03	0.6097
4J1-H0L0	100	-0.01	-	2.32E+05	-	0.0001
4J1-H0L1	100	-0.0089	-	1.09E+06	-	0.0001
Dara	100	0.2098	2.44E-07	4.53E+04	1.11E-02	0.7031

表3 抗体与重组人CD38蛋白的体外结合活性

抗体	浓度(nM)	响应	KD (M)	kon (1/Ms)	kdis(1/s)	RMax
5E19-xiIgG	100	0.3799	2.79E-08	4.70E+05	1.31E-02	0.4941
5E19-H0L0	100	-0.0155	-	8.33E+04	-	0.0032
5E19-H0L1	100	0.0184	-	2.26E+05	5.13E-01	0.5128
5E19-H1L0	100	0.1096	1.30E-06	6.44E+04	8.39E-02	1.6077
5E19-H1L1	100	0.338	7.76E-08	3.17E+05	2.46E-02	0.6181
Dara	100	0.2225	1.60E-07	7.29E+04	1.16E-02	0.5712

表4 抗体与重组人CD38蛋白的体外结合活性

抗体	浓度(nM)	响应	KD (M)	kon (1/Ms)	kdis (1/s)	RMax
8B7-xiIgG	100	0.5302	2.16E-09	3.35E+05	7.23E-04	0.537

8B7-H0L0	100	-0.0161	-	1.53E+06	-	0.0002
8B7-H0L1	100	-0.0019	-	1.65E+07	-	0.0339
8B7-H1L0	100	0.0552	-	5.32E+04	1.43E-01	1.6895
8B7-H1L1	100	0.4727	1.89E-08	2.52E+05	4.76E-03	0.5589
Dara	100	0.2156	1.54E-07	8.16E+04	1.26E-02	0.5496

表5 抗体与重组人CD38蛋白的体外结合活性

抗体	浓度(nM)	响应	KD (M)	kon (1/Ms)	kdis (1/s)	RMax
17H13-xiIgG	100	0.2662	2.29E-08	2.87E+05	6.56E-03	0.3266
17H13-H0L0	100	-0.0063	-	1.96E+06	-	0.0001
17H13-H0L1	100	0.2254	6.16E-08	1.64E+05	1.01E-02	0.3658
17H13-H1L0	100	0.0053	-	8.49E+03	7.90E-01	8.1272
17H13-H1L1	100	0.2275	3.94E-08	3.08E+05	1.21E-02	0.3203
Dara	100	0.2159	1.43E-07	8.83E+04	1.26E-02	0.5239

实验结果显示，部分人源化改造抗体保留了与人CD38重组蛋白的结合活性。

2. 体外细胞结合实验

进行本发明的抗体和对照抗体Daratumumab (Dara) 与CD38蛋白的体外细胞结合实验。

将抗人CD38抗体从100nM的起始浓度开始做2倍的梯度倍比稀释，共16个浓度点，各个浓度点的抗体取10 μ l加入384孔板。取细胞表面表达CD38的CHO细胞株1-T-14，用含0.5% BSA的PBS洗涤细胞一次，100g室温离心5分钟，重悬细胞为密度约2x10⁶个细胞/ml，取10 μ l加入到已加抗体的384孔板的孔中。4 $^{\circ}$ C孵育1小时后，加入荧光标记的羊抗人IgG二抗。继续于4 $^{\circ}$ C孵育1小时后，用流式细胞仪分析细胞群的平均荧光强度。

结果见图3和表6。

表6 抗体与抗原的结合活性

抗体	EC50 (μ g/ml)
8B7-H3L3	0.7368
5E19-H3L1	0.9533
20M19-H1L0	1.101

20M19-H1L1	1.221
Dara	1.279
8B7-H1L1	1.375
无关抗体	-

3. 体外细胞学试验

3.1 补体依赖性细胞毒性(CDC)

使用Quidel公司的商品化人血清全补体，分析本发明的抗体和对照抗体Daratumumab (Dara) 针对稳定表达人CD38的CHO细胞株1-T-14诱导补体依赖性细胞毒性(CDC)的能力。

将细胞分别与终浓度50 μ g/ml至7.6ng/ml的抗体和对照抗体混匀，然后将溶于细胞培养基RPMI-1640中的6.25%人血清全补体加入细胞中，在37 $^{\circ}$ C下孵育3小时。其后，通过CCK-8试剂盒进行细胞毒性检测，最终通过MD酶标仪检测450nm吸光度。通过吸光值采用softmax pro7软件进行4参数拟合曲线，计算样品的EC50。

结果见表7。

表7 抗体的补体依赖性细胞毒性

板号	抗体	EC50 (ng/mL)	相对活性 (%)
P1	Dara	154.5	100.0
P1	8B7-H1L1	177.4	87.1
P1	8B7-H3L3	214.5	72.0
P2	Dara	144.5	100.0
P2	20M19-H1L0	234.9	61.5
P2	20M19-H1L1	239.6	60.3
P3	Dara	126.4	100.0
P3	32A7-H1L1	303.2	41.7
P3	32A7-H2L1	203.5	62.1
P4	Dara	125.9	100.0
P4	5E19-H3L1	192.6	65.4
P4	无关抗体	~	~

3.2 抗体依赖性细胞毒性(ADCC)

检测本发明的抗体和对照抗体Daratumumab (Dara) 针对稳定表达人CD38的CHO细胞株1-T-14诱导抗体依赖性细胞毒性(ADCC)。

使用工程改造的Jurkat细胞作为效应细胞，该细胞稳定表达FcγRIIIa-FcεRIα杂合受体，由NFAT应答元件驱动表达萤火虫萤光素酶。抗体在ADCC作用机制中的生物活性通过NFAT通路活化产生的萤光素酶定量。

将1.5E5个效应细胞分别与终浓度33μg/ml至85pg/ml的本发明的抗体和对照抗体Daratumumab混匀，然后将2.5E4个靶细胞即稳定表达人CD38的CHO细胞株1-T-14（效应细胞与靶细胞E:T比例为6:1）加入其中，在37℃下孵育16小时。其后，通过Promega公司试剂盒Bio-Glo™ Luciferase Assay System进行检测，最终通过MD酶标仪检测LUM值，并使用下式进行诱导倍数和EC50计算。

$$\text{诱导倍数} = (\text{受检孔读值} - \text{背景值}) / (\text{阴性对照孔读值} - \text{背景值})$$

诱导倍数采用 prism7 软件进行 4 参数拟合曲线，计算样品的 EC50。

结果见图4和表8。

表 8 抗体的抗体依赖性细胞毒性

板号	抗体	EC50 (ng/mL)	相对活性 (%)
P1	Dara	31.76	100.0
P1	8B7-H1L1	60.59	52.4
P1	8B7-H3L3	37.94	83.7
P2	Dara	39.01	100.0
P2	20M19-H1L0	31.55	123.6
P2	20M19-H1L1	41.63	93.7
P3	Dara	32.59	100.0
P3	32A7-H1L1	60.23	54.1
P3	32A7-H2L1	56.42	57.8
P4	Dara	31.61	100.0
P4	5E19-H3L1	51.46	61.4
P4	无关抗体	~	~

实施例9 抗人CD38人源化抗体的体外结合亲和力和动力学实验

采用GE公司BIAcore仪器S200测定抗体抗原相互作用力。

参考GE公司Biotin CAPture Kit (货号28-9202-34, Lot. 10265137) 操作说明, 首先在传感芯片CAP分析通道和对照样品通道都偶联His标签的人CD38蛋白抗原, 然后在分析通道和对照样品通道一起流过梯度稀释的抗体样品(起始浓度20nM, 1:3稀释8个浓度点, 并且设定0.741nM浓度点重复), 测定抗体抗原结合后发生的光反应值。经仪器软件拟合分析, 最终得到抗体的结合常数 K_{on} 和解离常数 K_{off} , 以及亲和力常数 KD 。

结果见表9。

表9 人源化改造抗体的结合动力学

	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
20M19-H1L1	1.049E+6	7.136E-4	6.804E-10
8B7-H3L3	6.623E+5	0.001197	1.808E-9
8B7-H4L3	1.277E+6	0.002919	2.287E-9

实施例10 抗人CD38人源化抗体的细胞凋亡活性测定

材料: Daudi-Luc (ATCC, Cat No.CCL-213) 细胞

试剂盒: Alex Fluor™ 488 Annexin V/Dead细胞凋亡试剂盒 (invitrogen, Cat:V13245, Lot:1923636)

工具抗体: AffinipureF(ab')₂ Fragment Goat-anti-human IgG Fc_γ Fragment Specific (Immo Research, Cat: 109-006-008, Lot:129913, Conc. 1.3mg/ml)

实验步骤:

用预冷的PBS洗1遍Daudi细胞, 然后以 1×10^5 /孔将细胞种入96孔板内, 加入0.7nM抗CD38抗体孵育30分钟。加入5 μ g/ml羊抗人的工具抗体至96孔板内, 4 $^{\circ}$ C孵育24小时。用预冷的PBS洗2遍细胞后, 弃掉上清, 用100 μ l 1x Annexin溶液重悬细胞。加入5 μ l Alexa Fluor® 488 annexin V和1 μ L 100 μ g/mL PI工作溶液至96孔板内, 室温避光孵育15分钟。用400 μ l 1X annexin结合溶液终止反应后, 将96孔板放置于冰上, 最后用流式细胞分析仪测量荧光激发530nM和发射488nM的读值。

结果见表10。

表10 本发明抗体的细胞凋亡活性

		形式	晚期凋亡 细胞 (%)	早期凋亡 细胞 (%)	早期和晚期 凋亡细胞 (%)
Daratumumab (对照抗体 1)	A00	交联	3.21	11	14.21
		非交联	2.91	4.06	6.97
Isatuximab (对照抗体 2)	A01	交联	4.15	11.52	15.67
		非交联	2.74	22.94	25.68
Mor202 (对照抗体 3)	A02	交联	3.25	5.53	8.78
		非交联	2.48	1.74	4.22
8B7-H3L3	A08-33	交联	4.39	10.69	15.08
		非交联	2.6	2.7	5.3
8B7-H4L3	A08-43	交联	25.39	27.01	52.4
		非交联	2.86	2.4	5.26
8B7-H5L4	A08-54	交联	2.83	7.24	10.07
		非交联	2.45	2.1	4.55
20M19-H1L1	A20-11	交联	3.6	15.01	18.61
		非交联	3	18.21	21.21
	仅细胞 (PI+Annexin V)	交联	1.66	1.38	3.04
		非交联	2.06	1.91	3.97
	未染细胞 (仅 PI)	交联	0.04	0	0.04
		非交联	0.04	0	0.04
	未染细胞 (仅 Annexin V)	交联	0.76	3.19	3.95
		非交联	0.63	2.75	3.38

表中的“交联”和“非交联”分别为桥接 Fab 和不桥接 Fab 的形式。

实施例 11 抗人 CD38 人源化抗体的成药性表征

1. 抗体表位分析

采用 Fortebio 公司的 In tandem 方法进行本发明抗体的抗原表位分析。简言之，先用本发明的含鼠源抗体的单克隆上清液结合抗原细胞即人 CD38 高

表达CHO细胞株1-T-14，然后加入对照抗体与鼠源抗体竞争与抗原表位的结合。检测所标记的对照抗体的结合信号，对照抗体的结合信号越低，越能证明鼠源抗体占据了对照抗体识别的抗原表位，本发明的抗体与对照抗体的抗原结合表位靠近或一致。

本发明的抗体与Daratumumab、Mor202、Isatuximab的竞争结果分别见图5。

实验证明，本发明的抗体与抗原的结合位点与对照抗体的表位是一致的。

2. 抗体单体率分析

实验仪器：UPLC CLASS ACQUITYH (WATERS)

分析柱：TSKgel G3000SWXL 7.8*300 (TOSHI, Cat No 003C03326C)

分析溶液：DPBS (GIBCO, Cat No. 14190-136, Lot#1967705)

分析方法：将50 μ l浓度为1mg/ml的抗体进样至预平衡好的层析柱内，室温，0.7ml/min的流速流动35min，并同时检测机器A280和A214的吸收值，进入根据出峰时间和出峰体积来判断抗体的单体含量和比例。

结果见表11。

表11 本发明抗体的主峰保留时间和单体率

	抗体	SEC (280nm)		SEC (214nm)		MALS
		主峰的保留时间(min)	% 单体	主峰的保留时间(min)	% 单体	KDa
1	5E19-H3L1	12.527	100.00%	12.529	98.57%	142.8
2	8B7-H1L1	12.353	100.00%	12.351	98.86%	144.4
3	8B7-H3L3	12.272	100.00%	12.271	98.82%	144.6
4	20M19-H1L0	11.376	100.00%	11.378	99.23%	151.4
5	20M19-H1L1	11.616	100.00%	11.617	99.15%	152.4
6	Dara	12.618	99.24%	12.619	97.27%	147.1

3. 抗体疏水性质分析

实验仪器：ARC (Waters)

实验用分析柱：TSKgel Butyl-NPR(4.6mmX3.5cm, Cat No 14947)

分析溶液：a. 20mM Histidine, pH6.0; b. 20mM Histidine, 1.6M (NH₄)₂SO₄

分析方法：根据疏水层析柱使用说明，来分析抗体的疏水性质。

结果见表12。

表12 本发明抗体的疏水性质

	抗体	HIC	
		主峰的保留时间 (Min)	(NH ₄)SO ₄ 浓度 (M)
1	8B7-H3L3	16.28	0.81
2	17H13-H2L2	17.66	0.67
3	32A7-xiIgG	14.74	0.96
4	32A7-H0L0	14.89	0.95
5	20M19-H1L0	16.55	0.78
6	20M19-H1L1	16.35	0.80

4. 抗体体外猴(cyno)血清稳定性研究

实验材料：待测抗体，FBS，抗原人CD38重组蛋白，anti-huIgG Fab单克隆抗体(Sigma, I5260-1ML)，HRP标记山羊抗人IgG二抗(Jackson, code:109-035-098)。

实验仪器：37℃培养箱，酶标仪。

实验步骤：

样品制备：

- 1)待测抗体调浓度至20μg/ml，过滤除菌，分装为250μl/管备用；
- 2)FBS等体积加入分装好的待测抗体，即终浓度为50%血清浓度，10μg/ml抗体浓度；
- 3)共制备7个样品，封口膜封口，放置于37℃，全程需保持无菌；
- 4)分别于第0天、3天、7天、10天、14天、21天取样放置于4℃保存待测，其中第21天取样应至少在4℃放置一天。

检测方法：

1)分别PBS包被结合抗原、anti-IgG Fab单克隆抗体于96孔酶联板，0.2μg/ml，100μl/孔，4℃过夜；

2)配置所需试剂：

封闭液 5%BSA+PBS

抗体稀释液 5%BSA+PBS+50%FBS

酶联板洗涤液 0.1% Tween+PBS

- 3) 包被好的酶联板PBS清洗三遍, 300 μ l/孔, 洗去游离的未包被抗原;
- 4) 加入封闭液, 200 μ l/孔, 37 $^{\circ}$ C封闭1h;
- 5) 待测抗体使用抗体稀释液稀释至2 μ g/ml, 并3倍稀释共8个梯度;
- 6) 倒掉封闭液, 两种包被方法的酶联板分别加入稀释好的抗体, 100 μ l/孔, 于37 $^{\circ}$ C孵育1h;
- 7) PBST洗板3遍;
- 8) 1:5000稀释二抗, 加入洗涤好的酶联板中, 100 μ l/孔, 37 $^{\circ}$ C孵育40min;
- 9) PBST洗板3遍;
- 10) TMB显色, 100 μ l/孔, 避光10min;
- 11) 加入50 μ l 2M HCL终止, 450nm读数。

结果处理:

根据ELISA显色值制定结合曲线, 观察放置不同时间的结合曲线变化, 评估放置后抗体结合活性稳定性。

结果见图6。

5. 抗体小鼠体内药物代谢分析

实验材料: 待测抗体, 小鼠不同时间点采集的血清, 待测抗体的结合抗原人CD38, 抗体标准品Dara, anti-huIgG Fab单克隆抗体(Sigma, I5260-1ML), HRP标记山羊抗人IgG二抗(Jackson, code:109-035-098)。

实验方法:

血清收集:

1) 雌性Balb/C小鼠, 3只/组, 分别于尾静脉或者腹腔给药, 200 μ g待测抗体/只;

2) 按照实验设计时间点尾静脉采血, 收集血样, 室温放置30min以上, 4000rpm, 15min收集血清, -20 $^{\circ}$ C保存, 为防止血清蒸发, 最后血清收集体积尽量大于20 μ l;

3) 最后一次收集血清至少于-20 $^{\circ}$ C冻存24h。

检测方法:

1) 分别PBS包被结合抗原、anti-IgG Fab单克隆抗体于96孔酶联板, 0.2 μ g/ml, 100 μ l/孔, 4 $^{\circ}$ C过夜;

2) 配置所需试剂:

封闭液 5%BSA+PBS

抗体稀释液 5%BSA+PBS+20%空白小鼠血清

酶联板洗涤液 0.1% Tween+PBS

3) 包被好的酶联板PBS清洗三遍, 300 μ l/孔;

4) 加入封闭液, 200 μ l/孔, 37 $^{\circ}$ C封闭1h;

5) 起始血清使用封闭液稀释至合适浓度, 用含有相同血清浓度的抗体稀释液稀释至合适的浓度范围, 具体浓度的稀释倍数需根据预实验来调整, 原则上使检测的血清最终显色值在标曲显色值范围内;

6) 抗体稀释液稀释抗体标准品, 标准品的稀释仍然根据预实验来调整, 使标准品拟合出线性曲线(如有合适软件, 也可拟合出S形曲线)。

7) 倒掉封闭液, 两种包被方法的酶联板分别加入稀释好的抗体标准品与待测血清, 100 μ l/孔, 于37 $^{\circ}$ C孵育1h;

8) PBST洗板3遍;

9) 1:5000稀释二抗, 加入洗涤好的酶联板中, 100 μ l/孔, 37 $^{\circ}$ C孵育40min;

10) PBST洗板3遍;

11) TMB显色, 100 μ l/孔, 避光10min;

12) 加入50 μ l 2M HCL终止, 450nm读数。

结果见表13。

表13-1 本发明抗体的小鼠体内药物代谢性质

	Dara		8B7-H3L3		17H13-H2L2		20M19-H1L1	
	200 μ g/小鼠, IV		200 μ g/小鼠, IV		200 μ g/小鼠, IV		200 μ g/小鼠, IV	
时间点(h)	1	2	5	6	9	10	13	14
0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
4	136.20	138.38	101.38	134.20	132.18	139.90	130.62	119.26
24	91.82	91.52	75.80	86.08	97.50	98.28	75.54	76.62
96	72.71	78.85	64.43	70.20	91.81	81.43	59.64	55.55
144	66.24	49.11	54.76	60.95	76.01	79.71	49.48	43.85
192	1.78	NA	42.06	46.98	59.85	56.43	33.66	39.55
计算的 t1/2 (h)	90.00	160.77	217.00	208.00	265.89	251.40	164.00	187.50
浓度: μ g/ml								

NA: 低于检测下限, 检测下限为 9.77ng/ml

表 13-2 本发明抗体的小鼠体内药物代谢性质

	Dara		8B7-H3L3		17H13-H2L2		20M19-H1L1	
	200 μ g/小鼠, IP		200 μ g/小鼠, IP		200 μ g/小鼠, IP		200 μ g/小鼠, IP	
时间点(h)	3	4	7	8	11	12	15	16
0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
4	87.80	93.50	83.26	89.58	106.40	99.76	98.30	67.24
24	92.18	90.54	76.00	84.72	120.36	99.06	80.70	57.10
96	76.70	82.42	67.81	72.73	98.83	93.00	60.25	47.57
144	54.01	55.15	64.84	59.33	87.77	77.35	50.06	39.84
192	NA	NA	56.95	52.69	83.62	68.33	37.97	34.04
计算的 t1/2 (h)	221.34	226.77	431.00	247.64	414.75	360.35	162.00	228.17
浓度: μ g/ml								
NA: 低于检测下限, 检测下限为 9.77ng/ml								

以上对本发明具体实施方式的描述并不限制本发明, 本领域技术人员可以根据本发明作出各种改变或变形, 只要不脱离本发明的精神, 均应属于本发明所附权利要求的范围。

权 利 要 求

1. 一种抗体分子或其片段，其特征在于，具有以下重链 CDRs 区：

VH-CDR1：具有 SEQ ID NO:16 所示氨基酸序列或在 SEQ ID NO:16 所示氨基酸序列的基础上进行一个或几个氨基酸突变；

VH-CDR2：具有 SEQ ID NO:17 所示氨基酸序列或在 SEQ ID NO:17 所示氨基酸序列的基础上进行一个或几个氨基酸突变；

VH-CDR3：具有 SEQ ID NO:18 所示氨基酸序列或在 SEQ ID NO:18 所示氨基酸序列的基础上进行一个或几个氨基酸突变；

以及，以下轻链 CDRs 区：

VL-CDR1：具有 SEQ ID NO:4 所示氨基酸序列或在 SEQ ID NO:4 所示氨基酸序列的基础上进行一个或几个氨基酸突变；

VL-CDR2：具有 SEQ ID NO:5 所示氨基酸序列或在 SEQ ID NO:5 所示氨基酸序列的基础上进行一个或几个氨基酸突变；

VL-CDR3：具有 SEQ ID NO:19 所示氨基酸序列或在 SEQ ID NO:19 所示氨基酸序列的基础上进行一个或几个氨基酸突变；

其中，所述抗体 CDRs 区的氨基酸突变使突变后抗体 6 个 CDRs 组合能够形成抗原结合位点，且至少部分的保留了 CDRs 区突变前抗体分子或其片段的生物活性。

2. 根据权利要求 1 所述抗体分子或其片段，其特征在于，所述 CDRs 区突变前抗体分子或其片段包括 SEQ ID NO:16 所示的 VH-CDR1、SEQ ID NO:17 所示的 VH-CDR2、SEQ ID NO:18 所示的 VH-CDR3、SEQ ID NO:4 所示的 VL-CDR1、SEQ ID NO:5 所示的 VL-CDR2、SEQ ID NO:19 所示的 VL-CDR3。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的抗体或其片段，其特征在于，所述抗体分子或其片段特异性结合细胞膜表面 CD38，且能够通过结合细胞膜表面 CD38 诱导 CD38+细胞凋亡。

4. 根据权利要求 1 或 2 所述的抗体分子或其片段，其特征在于，所述抗体分子或其片段对于 CD38+细胞具有抗体依赖性细胞介导的细胞毒作用（ADCC）、补体依赖性细胞毒作用（CDC）。

5. 根据权利要求 1 或 2 所述的抗体分子或其片段，其特征在于所述抗体

分子或其片段能够与至少一种选自下组的抗体分子竞争结合 CD38：
Daratumumab、Isatuximab、Mor202。

6. 一种抗体分子或其片段，所述抗体分子或其片段包含重链可变区（VH），其中所述重链可变区包含选自如 SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 16、SEQ ID NO: 20、SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 41 和 SEQ ID NO: 147 所示的 CDR1（VH-CDR1），选自如 SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 12、SEQ ID NO: 17、SEQ ID NO: 21、SEQ ID NO: 27、SEQ ID NO: 32、SEQ ID NO: 37 和 SEQ ID NO: 42 所示的 CDR2（VH-CDR2），和选自如 SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 22、SEQ ID NO: 28、SEQ ID NO: 33、SEQ ID NO: 38、SEQ ID NO: 43、SEQ ID NO: 46、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 48 和 SEQ ID NO: 137 所示的 CDR3（VH-CDR3）；和

所述抗体分子或其片段包含轻链可变区（VL），其中所述轻链可变区包含选自如 SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO: 23、SEQ ID NO: 29、SEQ ID NO: 34、SEQ ID NO: 39、SEQ ID NO: 44、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 136 和 SEQ ID NO: 148 所示的 CDR1（VL-CDR1），选自如 SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 24 和 SEQ ID NO: 35 所示的 CDR2（VL-CDR2），选自如 SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 15、SEQ ID NO: 19、SEQ ID NO: 25、SEQ ID NO: 30、SEQ ID NO: 36、SEQ ID NO: 40、SEQ ID NO: 45、SEQ ID NO: 138 和 SEQ ID NO: 139 所示的 CDR3（VL-CDR3）。

7. 根据权利要求 6 所述的抗体分子或其片段，其特征在于，所述重链可变区包含选自以下的 CDR 组合：

(1) 如 SEQ ID NO: 1 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 2 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 3 所示的 VH-CDR3；

(2) 如 SEQ ID NO: 7 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 8 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 9 所示的 VH-CDR3；

(3) 如 SEQ ID NO: 11 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 12 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 13 所示的 VH-CDR3；

(4) 如 SEQ ID NO: 16 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 17 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 18 所示的 VH-CDR3；

(5) 如 SEQ ID NO: 20 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 21 所示的

VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 22 所示的 VH-CDR3；

(6) 如 SEQ ID NO: 26 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 27 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 28 所示的 VH-CDR3；

(7) 如 SEQ ID NO: 31 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 32 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 33 所示的 VH-CDR3；

(8) 如 SEQ ID NO: 26 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 37 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 38 所示的 VH-CDR3；

(9) 如 SEQ ID NO: 41 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 42 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 43 所示的 VH-CDR3；

(10) 如 SEQ ID NO: 11 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 12 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 46 所示的 VH-CDR3；

(11) 如 SEQ ID NO: 11 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 12 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 47 所示的 VH-CDR3；

(12) 如 SEQ ID NO: 11 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 12 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 48 所示的 VH-CDR3；

(13) 如 SEQ ID NO: 16 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 17 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 137 所示的 VH-CDR3；

(14) 如 SEQ ID NO: 147 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 42 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 43 所示的 VH-CDR3；

和/或，所述抗体分子或其片段包含轻链可变区 (VL)，其中所述轻链可变区包含选自以下的 CDR 组合：

(1) 如 SEQ ID NO: 4 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 5 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 6 所示的 VL-CDR3；

(2) 如 SEQ ID NO: 4 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 5 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 10 所示的 VL-CDR3；

(3) 如 SEQ ID NO: 14 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 5 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 15 所示的 VL-CDR3；

(4) 如 SEQ ID NO: 4 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 5 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 19 所示的 VL-CDR3；

(5) 如 SEQ ID NO: 23 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 24 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 25 所示的 VL-CDR3；

(6) 如 SEQ ID NO: 29 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 24 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 30 所示的 VL-CDR3;

(7) 如 SEQ ID NO: 34 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 35 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 36 所示的 VL-CDR3;

(8) 如 SEQ ID NO: 39 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 24 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 40 所示的 VL-CDR3;

(9) 如 SEQ ID NO: 44 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 24 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 45 所示的 VL-CDR3;

(10) 如 SEQ ID NO: 49 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 24 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 40 所示的 VL-CDR3;

(11) 如 SEQ ID NO: 4 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 5 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 138 所示的 VL-CDR3;

(12) 如 SEQ ID NO: 136 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 35 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 36 所示的 VL-CDR3;

(13) 如 SEQ ID NO: 136 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 35 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 139 所示的 VL-CDR3;

(14) 如 SEQ ID NO: 148 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 24 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 45 所示的 VL-CDR3。

8. 根据权利要求 6 或 7 所述的抗体分子或其片段, 其特征在于, 所述重链可变区包含选自 SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 52、SEQ ID NO: 54、SEQ ID NO: 56、SEQ ID NO: 58、SEQ ID NO: 60、SEQ ID NO: 62、SEQ ID NO: 64、SEQ ID NO: 66、SEQ ID NO: 68 至 SEQ ID NO: 88、SEQ ID NO: 140 至 SEQ ID NO: 142 中任一个所示的氨基酸序列或与所示的氨基酸序列具有至少 75% 同一性的氨基酸序列; 和/或

所述轻链可变区包含选自 SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 53、SEQ ID NO: 55、SEQ ID NO: 57、SEQ ID NO: 59、SEQ ID NO: 61、SEQ ID NO: 63、SEQ ID NO: 65、SEQ ID NO: 67、SEQ ID NO: 89 至 SEQ ID NO: 105、SEQ ID NO: 134 和 SEQ ID NO: 135、SEQ ID NO: 143 至 SEQ ID NO: 146 中任一个所示的氨基酸序列或与所示的氨基酸序列具有至少 75% 同一性的氨基酸序列。

9. 根据权利要求 6 至 8 中任一项所述的抗体分子或其片段, 其特征在于, 所述抗体分子或其片段包含选自以下的 CDR 组合:

(1) 如 SEQ ID NO: 1 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 2 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 3 所示的 VH-CDR3；如 SEQ ID NO: 4 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 5 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 6 所示的 VL-CDR3；

(2) 如 SEQ ID NO: 7 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 8 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 9 所示的 VH-CDR3；如 SEQ ID NO: 4 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 5 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 10 所示的 VL-CDR3；

(3) 如 SEQ ID NO: 11 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 12 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 13 所示的 VH-CDR3；如 SEQ ID NO: 14 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 5 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 15 所示的 VL-CDR3；

(4) 如 SEQ ID NO: 16 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 17 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 18 所示的 VH-CDR3；如 SEQ ID NO: 4 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 5 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 19 所示的 VL-CDR3；

(5) 如 SEQ ID NO: 20 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 21 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 22 所示的 VH-CDR3；如 SEQ ID NO: 23 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 24 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 25 所示的 VL-CDR3；

(6) 如 SEQ ID NO: 26 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 27 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 28 所示的 VH-CDR3；如 SEQ ID NO: 29 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 24 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 30 所示的 VL-CDR3；

(7) 如 SEQ ID NO: 31 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 32 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 33 所示的 VH-CDR3；如 SEQ ID NO: 34 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 35 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 36 所示的 VL-CDR3；

(8) 如 SEQ ID NO: 26 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 37 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 38 所示的 VH-CDR3；如 SEQ ID NO: 39 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 24 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 40 所示的

VL-CDR3;

(9) 如 SEQ ID NO: 41 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 42 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 43 所示的 VH-CDR3; 如 SEQ ID NO: 44 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 24 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 45 所示的 VL-CDR3;

(10) 如 SEQ ID NO: 11 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 12 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 47 所示的 VH-CDR3; 如 SEQ ID NO: 14 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 5 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 15 所示的 VL-CDR3;

(11) 如 SEQ ID NO: 16 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 17 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 137 所示的 VH-CDR3; 如 SEQ ID NO: 4 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 5 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 19 所示的 VL-CDR3;

(12) 如 SEQ ID NO: 16 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 17 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 137 所示的 VH-CDR3; 如 SEQ ID NO: 4 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 5 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 138 所示的 VL-CDR3;

(13) 如 SEQ ID NO: 31 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 32 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 33 所示的 VH-CDR3; 如 SEQ ID NO: 136 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 35 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 36 所示的 VL-CDR3;

(14) 如 SEQ ID NO: 147 所示的 VH-CDR1、如 SEQ ID NO: 42 所示的 VH-CDR2、如 SEQ ID NO: 43 所示的 VH-CDR3; 如 SEQ ID NO: 44 所示的 VL-CDR1、如 SEQ ID NO: 24 所示的 VL-CDR2、如 SEQ ID NO: 45 所示的 VL-CDR3;

优选地, 所述抗体分子或其片段包含的重链可变区和轻链可变区选自以下组合:

(1) 如 SEQ ID NO: 50 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 50 所示的氨基酸序列具有至少 75% 同一性的氨基酸序列; 和, 如 SEQ ID NO: 51 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 51 所示的氨基酸序列具有至少 75% 同一性的氨基酸序列;

(2) 如 SEQ ID NO: 52 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 52 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；和，如 SEQ ID NO: 53 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 53 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；

(3) 如 SEQ ID NO: 54 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 54 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；和，如 SEQ ID NO: 55 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 55 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；

(4) 如 SEQ ID NO: 56 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 56 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；和，如 SEQ ID NO: 57 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 57 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；

(5) 如 SEQ ID NO: 58 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 58 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；和，如 SEQ ID NO: 59 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 59 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；

(6) 如 SEQ ID NO: 60 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 60 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；和，如 SEQ ID NO: 61 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 61 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；

(7) 如 SEQ ID NO: 62 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 62 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；和，如 SEQ ID NO: 63 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 63 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；

(8) 如 SEQ ID NO: 64 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 64 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；和，如 SEQ ID NO: 65 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 65 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；

(9) 如 SEQ ID NO: 66 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 66 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；和，如 SEQ ID NO: 67 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 67 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性

的氨基酸序列；

(10) 如 SEQ ID NO: 69 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 69 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；和，如 SEQ ID NO: 90 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 90 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；

(11) 如 SEQ ID NO: 71 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 71 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；和，如 SEQ ID NO: 90 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 90 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；

(12) 如 SEQ ID NO: 74 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 74 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；和，如 SEQ ID NO: 92 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 92 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；

(13) 如 SEQ ID NO: 75 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 75 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；和，如 SEQ ID NO: 94 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 94 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；

(14) 如 SEQ ID NO: 76 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 76 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；和，如 SEQ ID NO: 94 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 94 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；

(15) 如 SEQ ID NO: 77 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 77 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；和，如 SEQ ID NO: 95 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 95 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；

(16) 如 SEQ ID NO: 83 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 83 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；和，如 SEQ ID NO: 102 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 102 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；

(17) 如 SEQ ID NO: 84 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 84 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；和，如 SEQ ID NO: 102 所

示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 102 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；

(18) 如 SEQ ID NO: 85 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 85 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；和，如 SEQ ID NO: 134 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 134 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；

(19) 如 SEQ ID NO: 88 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 88 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；和，如 SEQ ID NO: 103 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 103 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；

(20) 如 SEQ ID NO: 88 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 88 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；和，如 SEQ ID NO: 104 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 104 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；

(21) 如 SEQ ID NO: 140 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 140 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；和，如 SEQ ID NO: 143 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 143 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；

(22) 如 SEQ ID NO: 141 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 141 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；和，如 SEQ ID NO: 144 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 144 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；

(23) 如 SEQ ID NO: 142 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 142 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列；和，如 SEQ ID NO: 144 所示的氨基酸序列或与如 SEQ ID NO: 144 所示的氨基酸序列具有至少 75%同一性的氨基酸序列。

10. 根据权利要求 6 至 9 中任一项所述的抗体分子或其片段，其特征在于，所述抗体分子或其片段为单克隆抗体、单链抗体、双功能抗体、单域抗体、纳米抗体、完全或部分人源化的抗体或者嵌合抗体等任意形式，或者，所述抗体分子或其片段为半抗体或半抗体的抗原结合片段，例 scFv、BsFv、dsFv、(dsFv)₂、Fab、Fab'、F(ab')₂ 或 Fv；

优选地，所述抗体分子或其片段还包含人或鼠的恒定区，优选包含人或鼠的轻链恒定区(CL)和/或重链恒定区(CH)；

更优选地，所述抗体分子或其片段包含选自 IgG、IgA、IgM、IgD 或 IgE 的重链恒定区和/或 κ 或 λ 型轻链恒定区。

11. 根据权利要求 6 至 10 中任一项所述的抗体分子或其片段，其特征在于，所述抗体分子为单克隆抗体，优选为鼠源、嵌合或人源化的单克隆抗体；优选地，所述单克隆抗体的重链恒定区为 IgG1 或 IgG4 亚型，轻链恒定区为 κ 型；

优选地，所述单克隆抗体的重链恒定区包含如 SEQ ID NO: 106 所示的氨基酸序列或者与所述氨基酸序列具有至少 75% 同一性的氨基酸序列；

优选地，所述单克隆抗体的轻链恒定区包含如 SEQ ID NO: 107 所示氨基酸序列或者与所述氨基酸序列具有至少 75% 同一性的氨基酸序列。

12. 一种缀合物或融合蛋白，所述缀合物或融合蛋白包含权利要求 1 至 11 中任一项所述的抗体分子或其片段。

13. 一种核酸分子，其编码权利要求 1 至 11 中任一项所述的抗体分子或其片段或者编码所述抗体分子或其片段中包含的重链 CDR、轻链 CDR、轻链可变区、重链可变区、重链或轻链。

14. 一种载体，其包含权利要求 13 所述的核酸分子。

15. 一种宿主细胞，所述宿主细胞包含权利要求 13 所述的核酸分子和/或权利要求 14 所述的载体，或者所述宿主细胞被权利要求 13 所述的核酸分子和/或权利要求 14 所述的载体转化或转染。

16. 一种药物组合物，其包含权利要求 1 至 11 中任一项所述的抗体分子或其片段、权利要求 12 所述的缀合物或融合蛋白、权利要求 13 所述的核酸分子、权利要求 14 所述的载体或权利要求 15 所述的宿主细胞，以及任选地药学上可接受的辅料。

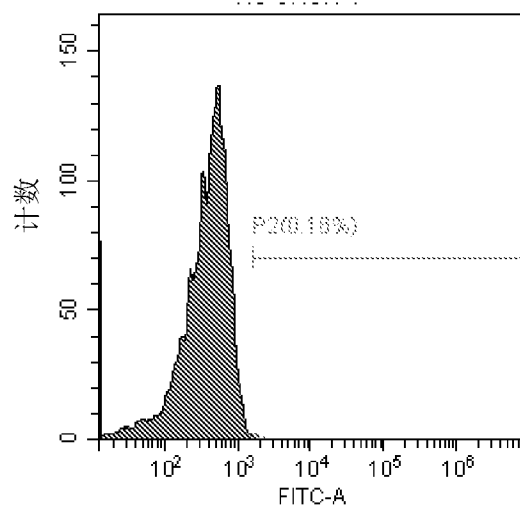
17. 权利要求 1 至 11 中任一项所述的抗体分子或其片段、权利要求 12 所述的缀合物或融合蛋白、权利要求 13 所述的核酸分子、权利要求 14 所述的载体或权利要求 15 所述的宿主细胞在制备药物中的用途，所述药物用于治疗与 CD38 高表达相关的疾病；

优选地，所述疾病为恶性血液肿瘤，优选为多发性骨髓瘤或非霍奇金淋巴瘤。

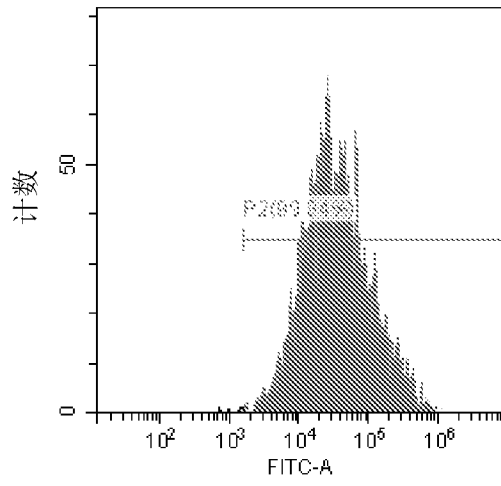
18. 一种试剂盒,所述试剂盒包括权利要求1至11中任一项所述的抗体分子或其片段、权利要求12所述的缀合物或融合蛋白、权利要求13所述的核酸分子、权利要求14所述的载体、权利要求15所述的宿主细胞或权利要求16所述的药物组合物。

19. 一种预防或治疗与CD38表达相关或由CD38介导的疾病的方法,所述方法包括给有此需要的受试者施用本发明的抗体分子或其片段、缀合物或融合蛋白、核酸分子、载体、宿主细胞和/或药物组合物,以及任选的其他药物或手段。

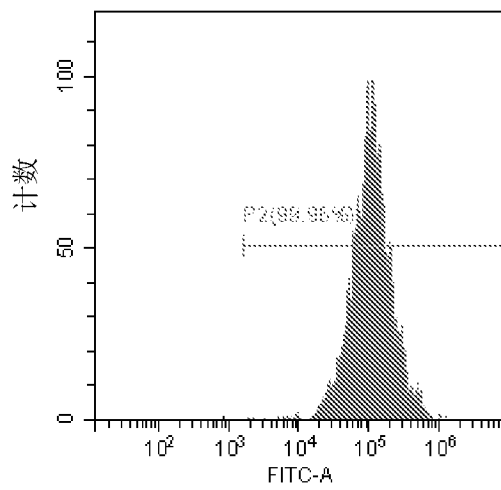
1/6



1A



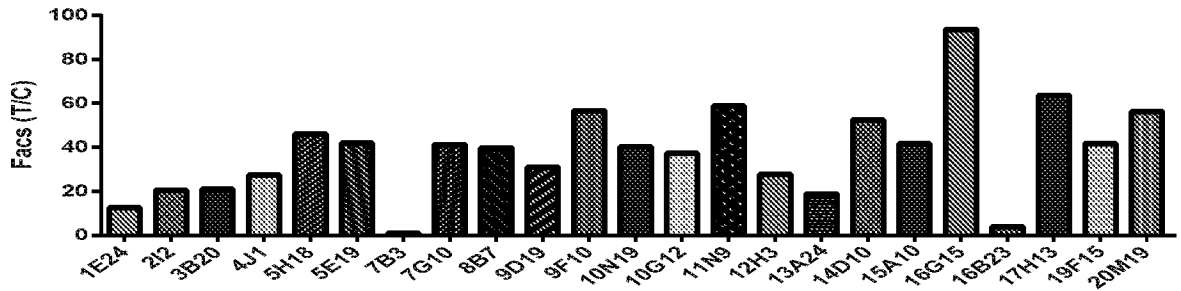
1B



1C

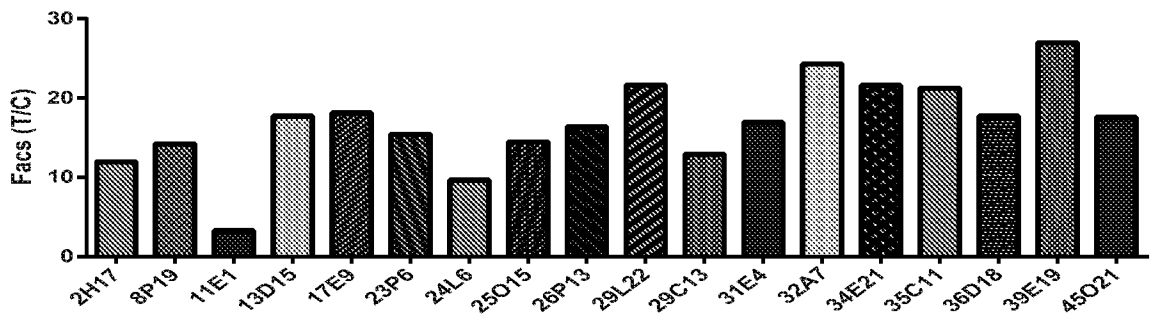
图 1

2/6



阳性杂交瘤克隆

2A



阳性杂交瘤克隆

2B

图 2

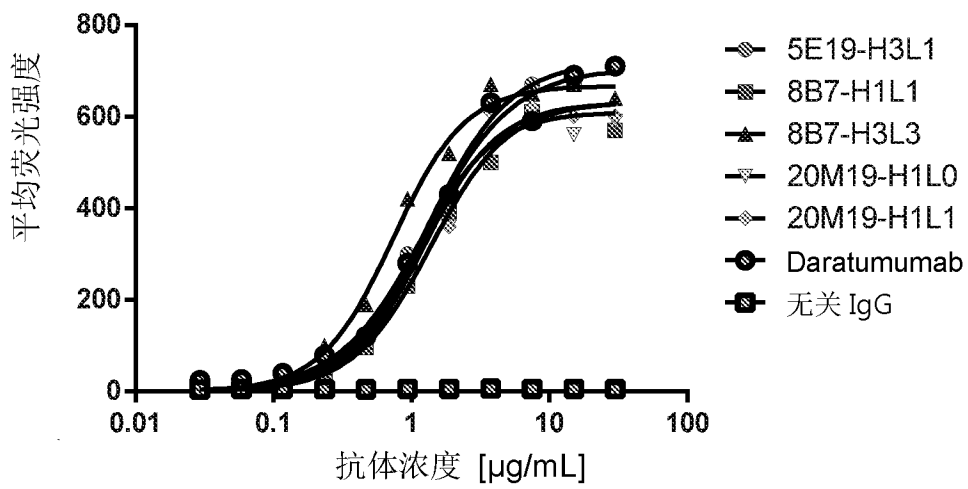
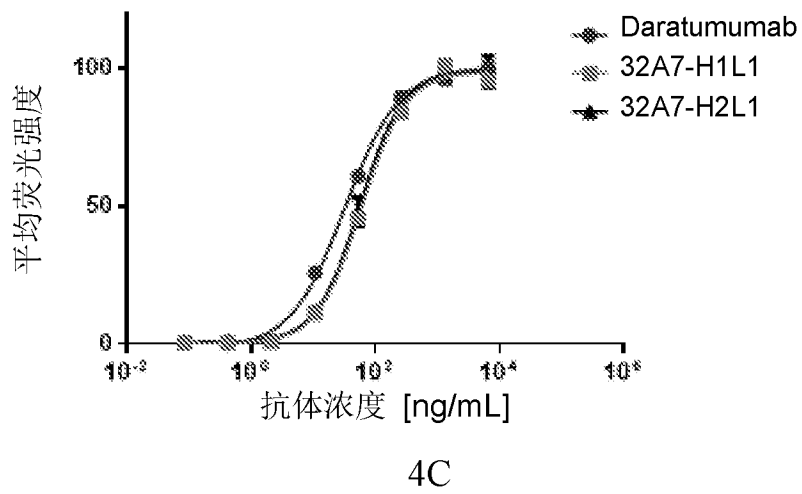
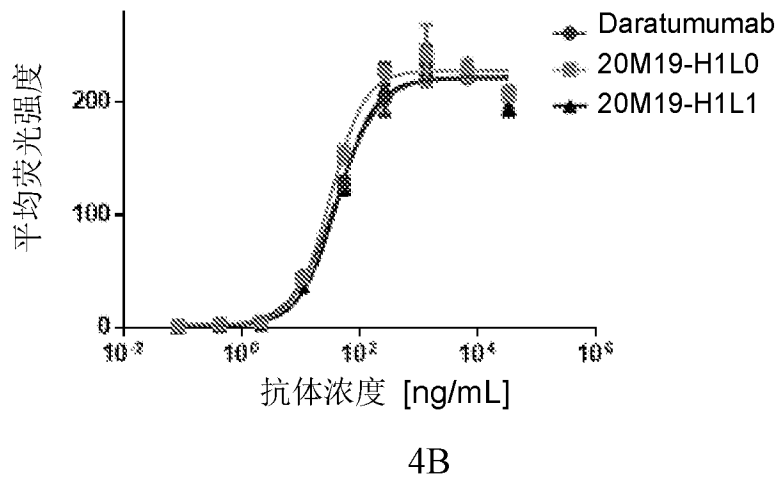
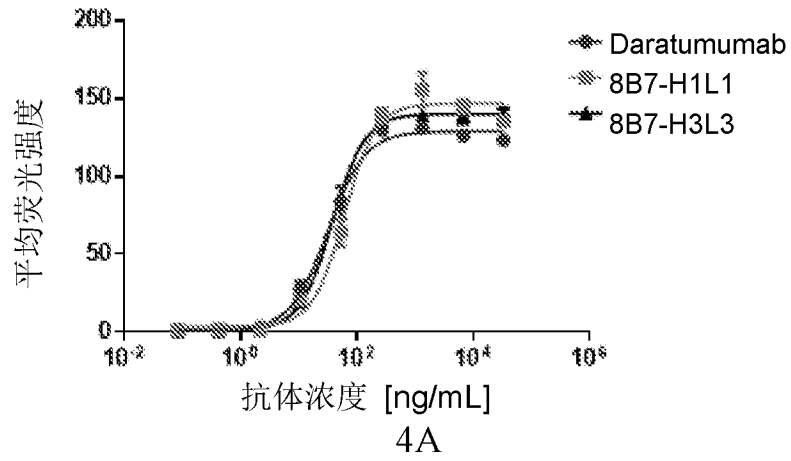


图 3

3/6

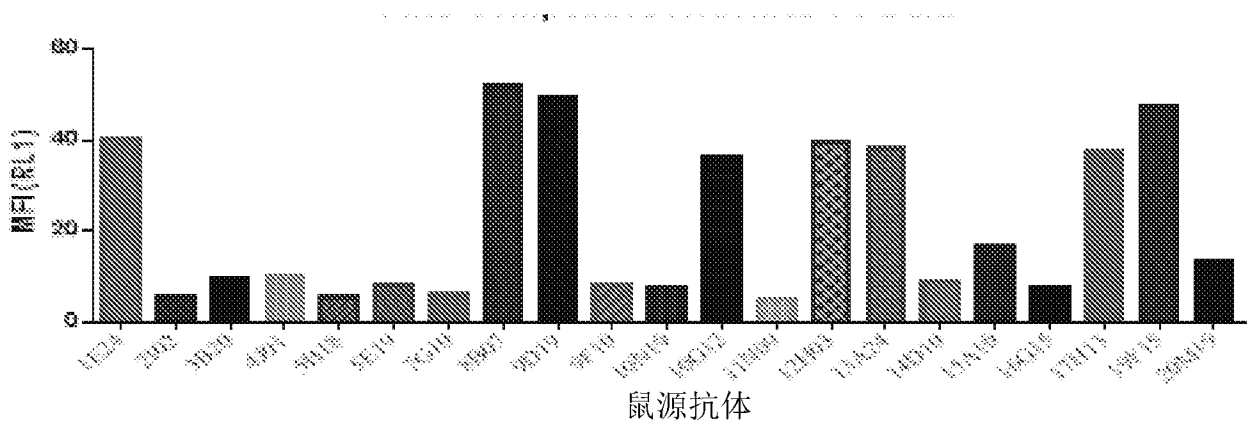


4/6

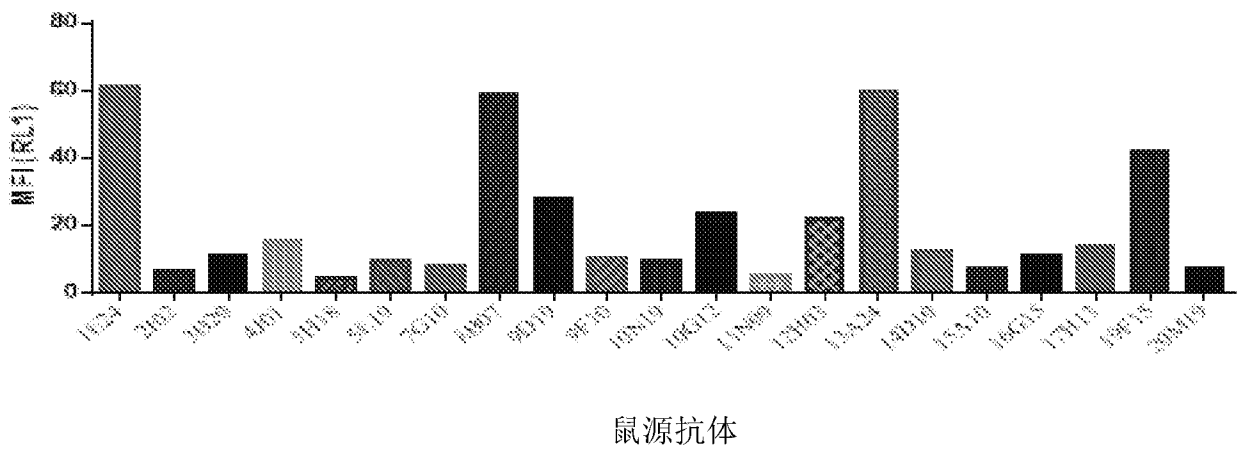


4D

图 4

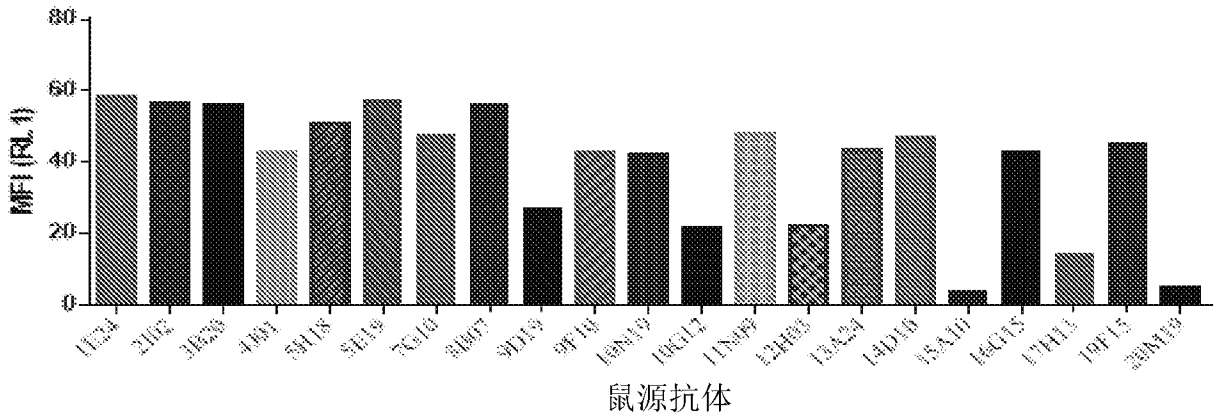


5A



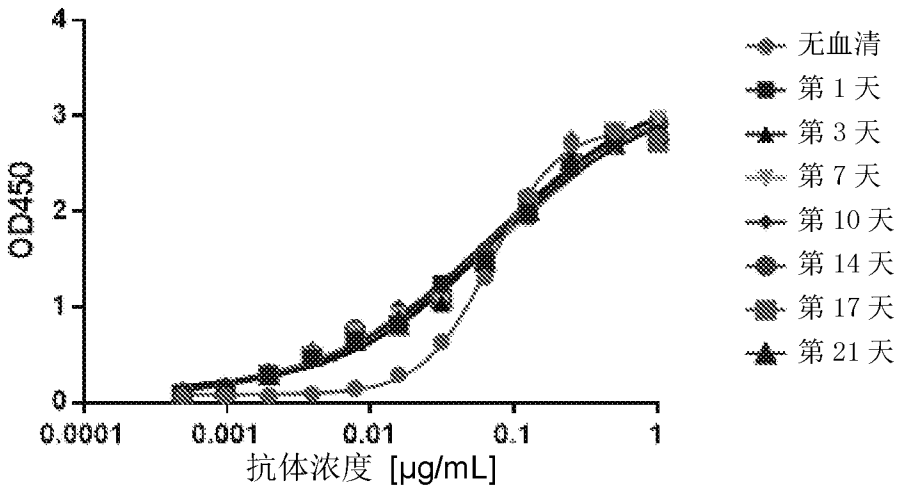
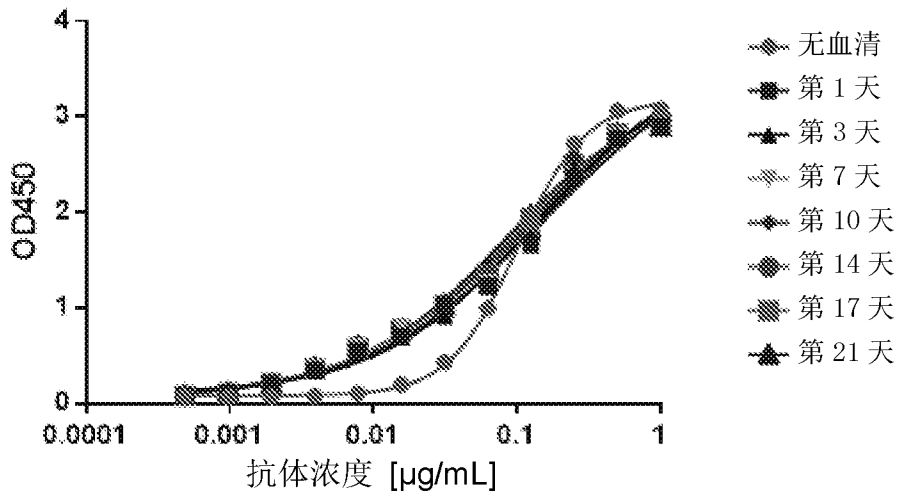
5B

5/6



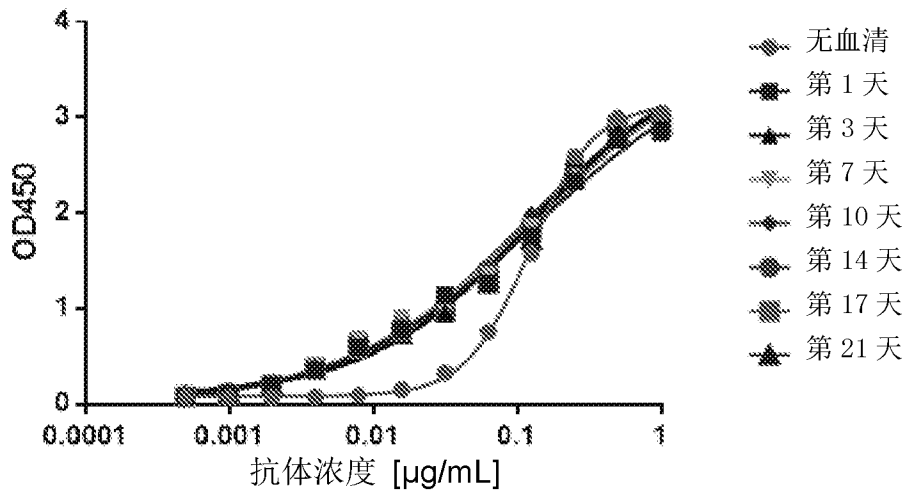
5C

图5

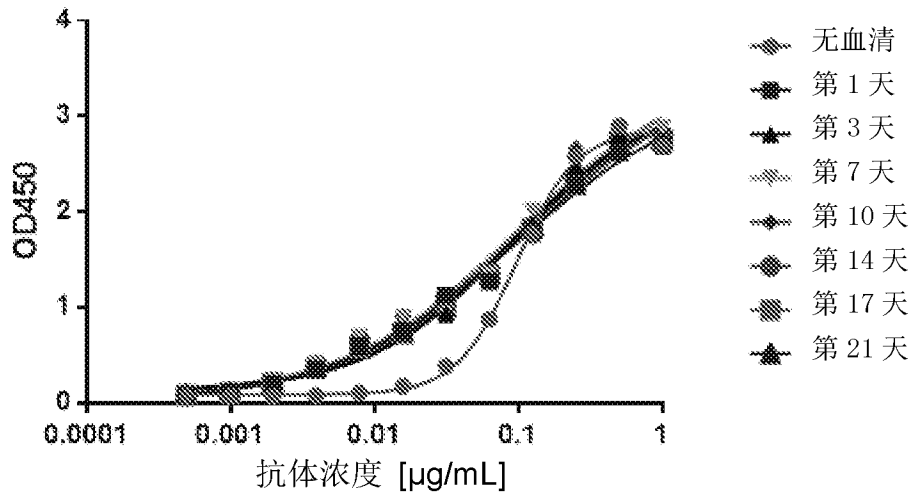


6B

6/6



6C



6D

图6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2020/116191

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
C07K 16/28(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)j		
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) C07K; 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) Database: CNABS, VEN(DWPI+SIPOABS), CNTXT, EPTXT, USTXT, WOTXT, CNKI, 百度学术, BAIDU XUESHU, ISI-WEB OF SCIENCE, PubMed, Genbank+EMBL+DDBJ, 中国专利生物序列检索系统, Chinese Patent Biological Sequence Retrieval System; Search terms: CD38, 环腺苷二磷酸核糖水解酶, cADPRH, 抗体, 单抗, antibody, antibodies, mab?, mcab?, CDR, 互补决定区, sequence search on SEQ ID NOS: 4-5 and 16-19		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 109053892 A (SUZHOU STAINWEI BIOTECH INC.) 21 December 2018 (2018-12-21) see the abstract, and description, paragraphs [0024]-[0058]	1-5, and 6-18 (in part)
A	WO 2012092612 A1 (TAKEDA PHARMACEUTICAL COMPANY LIMITED et al.) 05 July 2012 (2012-07-05) see entire document	1-5, and 6-18 (in part)
A	高欣等 (GAO, Xin et al.). "抗CD38单克隆抗体治疗多发性骨髓瘤研究进展 (Advances in Anti-CD38 Monoclonal Antibody in the Treatment of Multiple Myeloma)" <i>现代肿瘤医学 (Journal of Modern Oncology)</i> , Vol. 27, No. 9, 02 April 2019 (2019-04-02), ISSN: 1672-4992, see pp. 1617-1619	1-5, and 6-18 (in part)
A	ELLIS, JH et al. "Engineered Anti-CD38 Monoclonal Antibodies for Immunotherapy of Multiple Myeloma" <i>Journal of Immunology</i> , Vol. 155, No. 2, 15 July 1995 (1995-07-15), ISSN: 0022-1767, see pp. 925-935	1-5, and 6-18 (in part)
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 10 December 2020		Date of mailing of the international search report 23 December 2020
Name and mailing address of the ISA/CN China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088 China Facsimile No. (86-10)62019451		Authorized officer Telephone No.

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

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

Box No. 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.: **19**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
[1] Claim 19 relates to a method for treatment of the human or animal body.
2. Claims Nos.:
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:
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:

- [1] Invention 1: claims 1-5 and 6-18 (in part) relate to an antibody molecule or fragments thereof, comprising the amino acid sequence shown in SEQ ID No:16 or VH-CDR1 mutated by one or more amino acids on the basis thereof, the amino acid sequence shown in No:17 or VH-CDR2 mutated by one or more amino acids on the basis thereof, the amino acid sequence shown in No:18 or VH-CDR3 mutated by one or more amino acids on the basis thereof, the amino acid sequence shown in No:4 or VL-CDR1 mutated by one or more amino acids on the basis thereof, the amino acid sequence shown in No:5 or VL-CDR2 mutated by one or more amino acids on the basis thereof, and the amino acid sequence shown in No:19 or VL-CDR3 mutated by one or more amino acids on the basis thereof;
- [2] Invention 2-347490, claims 6-18 (in part) respectively relate to an antibody molecule or fragments thereof, comprising a heavy chain variable region (VH) and a light chain variable region (VL), wherein VH comprises CDR1(VH-CDR1) selected from the sequence shown in SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:26, SEQ ID NO:31, SEQ ID NO:41 and SEQ ID NO:147; CDR2(VH-CDR2) selected from the sequence shown in SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:21, SEQ ID NO:27, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:37 and SEQ ID NO:42; CDR3(VH-CDR3) selected from the sequence shown in SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:13, SEQ ID NO:18, SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:33, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:43, SEQ ID NO:46, SEQ ID NO:47, SEQ ID NO:48 and SEQ ID NO:137; VL comprises CDR1(VL-CDR1) selected from the sequence shown in SEQ ID No: 4, SEQ ID No: 14, SEQ ID No: 23, SEQ ID No: 29, SEQ ID No: 34, SEQ ID No: 39, SEQ ID No: 44, SEQ ID No: 49, SEQ ID No: 136 and SEQ ID No: 148; CDR2(VL-CDR2) selected from the sequence shown in SEQ ID No: 5, SEQ ID No: 24 and SEQ ID No: 35, and CDR3(VL-CDR3) selected from the sequence shown in SEQ ID No: 6, SEQ ID No: 10, SEQ ID No: 15, SEQ ID No: 19, SEQ ID No: 25, SEQ ID No: 30, SEQ ID No: 36, SEQ ID No: 40, SEQ ID No: 45, SEQ ID No: 138 and SEQ ID No: 139, namely, respectively relate to the mutual combination of the selected sequences of VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2, VL-CDR3 and the technical scheme of invention 1 is removed.
- [3] Because the sequence combinations of VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 and VL-CDR3 involved in invention 1-347490 are different, and the structures of antibody molecules or fragments formed thereby are different, therefore the inventions do not share a same or corresponding special technical feature, are not so technically linked as to form a single general inventive concept, and do not meet the requirement of PCT Rule 13.1, 13.2 and 13.3.

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.: **1-5, 6-18 (in part)**

- 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/CN2020/116191

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	109053892	A	21 December 2018	WO	2020056790	A1	26 March 2020
WO	2012092612	A1	05 July 2012	US	9790285	B2	17 October 2017
				HU	E038535	T2	29 October 2018
				BR	112013017009	A2	25 July 2017
				EP	3284754	A1	21 February 2018
				EA	201390993	A1	30 December 2013
				EP	2658871	A1	06 November 2013
				JP	2014509837	A	24 April 2014
				JP	6563446	B2	21 August 2019
				JP	5843884	B2	13 January 2016
				US	2015203587	A1	23 July 2015
				JP	2018029581	A	01 March 2018
				US	10336833	B2	02 July 2019
				KR	20190015764	A	14 February 2019
				SG	191211	A1	31 July 2013
				PL	2658870	T3	30 November 2018
				EP	3284755	A1	21 February 2018
				MX	350903	B	25 September 2017
				EP	2658870	A1	06 November 2013
				AR	084747	A1	05 June 2013
				US	2015291702	A1	15 October 2015
				US	8362211	B2	29 January 2013
				JP	2019205454	A	05 December 2019
				NZ	705848	A	29 July 2016
				CO	6761368	A2	30 September 2013
				KR	101945002	B1	07 February 2019
				PL	2658871	T3	30 November 2018
				TW	201247705	A	01 December 2012
				KR	20140032963	A	17 March 2014
				AU	2011351921	B2	13 April 2017
				LT	2658871	T	10 September 2018
				JP	2020022464	A	13 February 2020
				KR	102070326	B1	29 January 2020
				CA	2822061	A1	05 July 2012
				JP	6148984	B2	14 June 2017
				MY	160499	A	15 March 2017
				JP	2018019689	A	08 February 2018
				AU	2017204571	B2	19 September 2019
				ES	2674175	T3	27 June 2018
				AU	2019264573	A1	05 December 2019
				WO	2012092616	A1	05 July 2012
				EP	2658871	B1	02 May 2018
				JP	6425635	B2	21 November 2018
				US	2014155584	A1	05 June 2014
				KR	20200009142	A	29 January 2020
				ES	2690095	T3	19 November 2018
				JP	6621447	B2	18 December 2019
				HK	1250735	A1	11 January 2019
				CN	103282383	A	04 September 2013
				MA	34763	B1	03 December 2013

<p>A. 主题的分类</p> <p>C07K 16/28(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i</p> <p>按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类</p>																	
<p>B. 检索领域</p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>C07K; A61P</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))</p> <p>数据库: CNABS, VEN(DWPI+SIP0ABS), CNTXT, EPTXT, USTXT, WOTXT, CNKI, 百度学术, ISI-WEB OF SCIENCE, PubMed, Genbank+EMBL+DBJ, 中国专利生物序列检索系统; 检索词: CD38, 环腺苷二磷酸核糖水解酶, cADPRH, 抗体, 单抗, antibody, antibodies, mab?, mcab?, CDR, 互补决定区, 对序列SEQ ID N0s:4-5、16-19的检索</p>																	
<p>C. 相关文件</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>类型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>A</td> <td>CN 109053892 A (苏州思坦维生物技术股份有限公司) 2018年 12月 21日 (2018 - 12 - 21) 参见说明书摘要、说明书第[0024]-[0058]段</td> <td>1-5, 6-18 (部分)</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>WO 2012092612 A1 (TAKEDA PHARMACEUTICAL等) 2012年 7月 5日 (2012 - 07 - 05) 参见全文</td> <td>1-5, 6-18 (部分)</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>高欣等. “抗CD38单克隆抗体治疗多发性骨髓瘤研究进展” 现代肿瘤医学, 第27卷, 第9期, 2019年 4月 2日 (2019 - 04 - 02), ISSN: 1672-4992, 参见第1617-1619页</td> <td>1-5, 6-18 (部分)</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>ELLIS, JH等. “Engineered anti-CD38 monoclonal antibodies for immunotherapy of multiple myeloma” JOURNAL OF IMMUNOLOGY, 第155卷, 第2期, 1995年 7月 15日 (1995 - 07 - 15), ISSN: 0022-1767, 参见第925-935页</td> <td>1-5, 6-18 (部分)</td> </tr> </tbody> </table>			类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	A	CN 109053892 A (苏州思坦维生物技术股份有限公司) 2018年 12月 21日 (2018 - 12 - 21) 参见说明书摘要、说明书第[0024]-[0058]段	1-5, 6-18 (部分)	A	WO 2012092612 A1 (TAKEDA PHARMACEUTICAL等) 2012年 7月 5日 (2012 - 07 - 05) 参见全文	1-5, 6-18 (部分)	A	高欣等. “抗CD38单克隆抗体治疗多发性骨髓瘤研究进展” 现代肿瘤医学, 第27卷, 第9期, 2019年 4月 2日 (2019 - 04 - 02), ISSN: 1672-4992, 参见第1617-1619页	1-5, 6-18 (部分)	A	ELLIS, JH等. “Engineered anti-CD38 monoclonal antibodies for immunotherapy of multiple myeloma” JOURNAL OF IMMUNOLOGY, 第155卷, 第2期, 1995年 7月 15日 (1995 - 07 - 15), ISSN: 0022-1767, 参见第925-935页	1-5, 6-18 (部分)
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求															
A	CN 109053892 A (苏州思坦维生物技术股份有限公司) 2018年 12月 21日 (2018 - 12 - 21) 参见说明书摘要、说明书第[0024]-[0058]段	1-5, 6-18 (部分)															
A	WO 2012092612 A1 (TAKEDA PHARMACEUTICAL等) 2012年 7月 5日 (2012 - 07 - 05) 参见全文	1-5, 6-18 (部分)															
A	高欣等. “抗CD38单克隆抗体治疗多发性骨髓瘤研究进展” 现代肿瘤医学, 第27卷, 第9期, 2019年 4月 2日 (2019 - 04 - 02), ISSN: 1672-4992, 参见第1617-1619页	1-5, 6-18 (部分)															
A	ELLIS, JH等. “Engineered anti-CD38 monoclonal antibodies for immunotherapy of multiple myeloma” JOURNAL OF IMMUNOLOGY, 第155卷, 第2期, 1995年 7月 15日 (1995 - 07 - 15), ISSN: 0022-1767, 参见第925-935页	1-5, 6-18 (部分)															
<p><input type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。 <input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p>																	
<p>* 引用文件的具体类型:</p> <p>“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件</p> <p>“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利</p> <p>“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)</p> <p>“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件</p> <p>“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件</p> <p>“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件</p> <p>“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性</p> <p>“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性</p> <p>“&” 同族专利的文件</p>																	
<p>国际检索实际完成的日期</p> <p>2020年 12月 10日</p>		<p>国际检索报告邮寄日期</p> <p>2020年 12月 23日</p>															
<p>ISA/CN的名称和邮寄地址</p> <p>中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088</p> <p>传真号 (86-10)62019451</p>		<p>授权官员</p> <p>徐益君</p> <p>电话号码 86-(010)-62411083</p>															

第1栏 核苷酸和/或氨基酸序列(续第1页第1. c项)

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

第II栏 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: 19
因为它们涉及不要求本单位进行检索的主题,即:
[1] 权利要求19涉及人体或动物体的治疗方法。
2. 权利要求:
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:
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:

- [1] 发明1: 权利要求1-5、6-18(部分),涉及一种抗体分子或其片段,其具有SEQ ID NO:16所示氨基酸序列或在其基础上进行一个或几个氨基酸突变的VH-CDR1、SEQ ID NO:17所示氨基酸序列或在其基础上进行一个或几个氨基酸突变的VH-CDR2、SEQ ID NO:18所示氨基酸序列或在其基础上进行一个或几个氨基酸突变的VH-CDR3、SEQ ID NO:4所示氨基酸序列或在其基础上进行一个或几个氨基酸突变的VL-CDR1、SEQ ID NO:5所示氨基酸序列或在其基础上进行一个或几个氨基酸突变的VL-CDR2、SEQ ID NO:19所示氨基酸序列或在其基础上进行一个或几个氨基酸突变的VL-CDR3;
- [2] 发明2-347490,权利要求6-18(部分),分别涉及一种抗体分子或其片段,其包含重链可变区(VH)和轻链可变区(VL),其中VH包含选自如SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:41和SEQ ID NO:147所示的CDR1(VH-CDR1),选自如SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:37和SEQ ID NO:42所示的CDR2(VH-CDR2),和选自如SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:38、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:46、SEQ ID NO:47、SEQ ID NO:48和SEQ ID NO:137所示的CDR3(VH-CDR3),VL包含选自如SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:136和SEQ ID NO:148所示的CDR1(VL-CDR1),选自如SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:24和SEQ ID NO:35所示的CDR2(VL-CDR2),选自如SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:36、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:138和SEQ ID NO:139所示的CDR3(VL-CDR3),也就是说,分别涉及上述VH-CDR1、VH-CDR2、VH-CDR3、VL-CDR1、VL-CDR2、VL-CDR3各自所选序列的相互组合且除去发明1的技术方案。
- [3] 由于发明1-347490之间涉及的VH-CDR1、VH-CDR2、VH-CDR3、VL-CDR1、VL-CDR2、VL-CDR3的序列组合不同,进而所形成的抗体分子或其片段的结构不同,因而上述各项发明之间没有相同或者相应的特定技术特征,不存在技术关联,不属于一个总的发明构思,不符合PCT实施细则13.1、13.2和13.3的规定。

第III栏 缺乏发明单一性的意见(续第1页第3项)

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：1-5，6-18（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/CN2020/116191

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	109053892	A	2018年 12月 21日	WO	2020056790	A1	2020年 3月 26日
WO	2012092612	A1	2012年 7月 5日	US	9790285	B2	2017年 10月 17日
				HU	E038535	T2	2018年 10月 29日
				BR	112013017009	A2	2017年 7月 25日
				EP	3284754	A1	2018年 2月 21日
				EA	201390993	A1	2013年 12月 30日
				EP	2658871	A1	2013年 11月 6日
				JP	2014509837	A	2014年 4月 24日
				JP	6563446	B2	2019年 8月 21日
				JP	5843884	B2	2016年 1月 13日
				US	2015203587	A1	2015年 7月 23日
				JP	2018029581	A	2018年 3月 1日
				US	10336833	B2	2019年 7月 2日
				KR	20190015764	A	2019年 2月 14日
				SG	191211	A1	2013年 7月 31日
				PL	2658870	T3	2018年 11月 30日
				EP	3284755	A1	2018年 2月 21日
				MX	350903	B	2017年 9月 25日
				EP	2658870	A1	2013年 11月 6日
				AR	084747	A1	2013年 6月 5日
				US	2015291702	A1	2015年 10月 15日
				US	8362211	B2	2013年 1月 29日
				JP	2019205454	A	2019年 12月 5日
				NZ	705848	A	2016年 7月 29日
				CO	6761368	A2	2013年 9月 30日
				KR	101945002	B1	2019年 2月 7日
				PL	2658871	T3	2018年 11月 30日
				TW	201247705	A	2012年 12月 1日
				KR	20140032963	A	2014年 3月 17日
				AU	2011351921	B2	2017年 4月 13日
				LT	2658871	T	2018年 9月 10日
				JP	2020022464	A	2020年 2月 13日
				KR	102070326	B1	2020年 1月 29日
				CA	2822061	A1	2012年 7月 5日
				JP	6148984	B2	2017年 6月 14日
				MY	160499	A	2017年 3月 15日
				JP	2018019689	A	2018年 2月 8日
				AU	2017204571	B2	2019年 9月 19日
				ES	2674175	T3	2018年 6月 27日
				AU	2019264573	A1	2019年 12月 5日
				WO	2012092616	A1	2012年 7月 5日
				EP	2658871	B1	2018年 5月 2日
				JP	6425635	B2	2018年 11月 21日
				US	2014155584	A1	2014年 6月 5日
				KR	20200009142	A	2020年 1月 29日
				ES	2690095	T3	2018年 11月 19日
				JP	6621447	B2	2019年 12月 18日
				HK	1250735	A1	2019年 1月 11日
				CN	103282383	A	2013年 9月 4日
				MA	34763	B1	2013年 12月 3日