(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 116406379 A
(43)申请公布日 2023.07.07

(21)申请号 202180066955.5
(22)申请日 2021.10.21
(30)优先权数据
63/104,377 2020.10.22 US
63/220,948 2021.07.12 US
63/253,858 2021.10.08 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2023.03.29
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2021/056018 2021.10.21
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2022/087243 EN 2022.04.28
(71)申请人 瑞泽恩制药公司
地址 美国纽约州
(72)发明人 C·戴利 F·德尔菲诺 A·韩 T·尼托利 L·张
(74)专利代理机构 北京市君合律师事务所 11517
专利代理师 吴瑜 吕学辰
(51)Int.Cl.
C07K 16/30(2006.01)

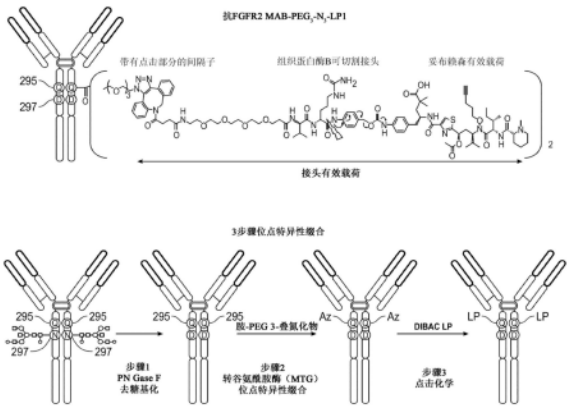
权利要求书13页 说明书130页
序列表36页 附图14页

(54)发明名称

抗FGFR2抗体和其使用方法

(57)摘要

本文提供了与成纤维细胞生长因子受体2(FGFR2)结合的单克隆抗体和其抗原结合片段以及其使用方法和其使用方法。还包含抗体-药物缀合物(ADC)以及使用所述抗体-药物缀合物进行治疗的方法,所述抗体-药物缀合物包括与细胞毒性剂、放射性核素或其它部分连接的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段。



CN 116406379 A

1.一种与FGFR2结合的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或其抗原结合片段表现出以下特性中的一种或多种特性:

(a)是完全人类单克隆抗体;

(b)如通过表面等离子体共振测量的,以等于或小于2.5×10^{-8}M的K_D与FGFR2b结合;

(c)相对于hFGFR2c而选择性地与hFGFR2b结合;以及

(d)包括三个重链CDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3),所述三个重链CDR包含在SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:22的重链可变区(HCVR)氨基酸序列或与其至少90%相同的氨基酸序列内;以及三个轻链CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3),所述三个轻链CDR包含在SEQ ID NO:10或SEQ ID NO:28的轻链可变区(LCVR)氨基酸序列或与其至少90%相同的氨基酸序列内。

2.根据权利要求1所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,其包括:三个重链CDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3),所述三个重链CDR包含在SEQ ID NO:2的重链可变区(HCVR)氨基酸序列或与其至少90%相同的氨基酸序列内;以及三个轻链CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3),所述三个轻链CDR包含在SEQ ID NO:10的轻链可变区(LCVR)氨基酸序列或与其至少90%相同的氨基酸序列内。

3.根据权利要求2所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,其中所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段具有以下特性中的一种或多种特性:

(a)是完全人类单克隆抗体;

(b)如通过表面等离子体共振测量的,以等于或小于2.5×10^{-8}M的K_D与FGFR2b结合;

(c)如通过表面等离子体共振测量的半衰期(t1/2)大于约10分钟;以及

(d)相对于hFGFR2c而选择性地与hFGFR2b结合。

4.根据权利要求2所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,其中HCDR1包括SEQ ID NO:4的氨基酸序列或包括两个或更少个氨基酸取代的SEQ ID NO:4的氨基酸序列;HCDR2包括SEQ ID NO:6的氨基酸序列或包括两个或更少个氨基酸取代的SEQ ID NO:6的氨基酸序列;HCDR3包括SEQ ID NO:8的氨基酸序列或包括两个或更少个氨基酸取代的SEQ ID NO:8的氨基酸序列;LCDR1包括SEQ ID NO:12的氨基酸序列或包括两个或更少个氨基酸取代的SEQ ID NO:12的氨基酸序列;LCDR2包括SEQ ID NO:14的氨基酸序列或包括两个或更少个氨基酸取代的SEQ ID NO:14的氨基酸序列;并且LCDR3包括SEQ ID NO:16的氨基酸序列或包括两个或更少个氨基酸取代的SEQ ID NO:16的氨基酸序列。

5.根据权利要求2所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,其中HCDR1包括SEQ ID NO:4的氨基酸序列;HCDR2包括SEQ ID NO:6的氨基酸序列;HCDR3包括SEQ ID NO:8的氨基酸序列;LCDR1包括SEQ ID NO:12的氨基酸序列;LCDR2包括SEQ ID NO:14的氨基酸序列;并且LCDR3包括SEQ ID NO:16的氨基酸序列。

6.根据权利要求2所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,其中所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括:HCVR,所述HCVR包括SEQ ID NO:2的氨基酸序列或与其至少95%相同的氨基酸序列;以及LCVR,所述LCVR包括SEQ ID NO:10的氨基酸序列或与其至少95%相同的氨基酸序列。

7.根据权利要求2所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,其中所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括:HCVR,所述HCVR包括SEQ ID NO:2的氨基酸序列;以及LCVR,所述LCVR包括SEQ ID NO:10的氨基酸序列。

8.根据权利要求1所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，其包括：三个重链CDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3)，所述三个重链CDR包含在SEQ ID NO:22的重链可变区(HCVR)氨基酸序列或与其至少90％相同的氨基酸序列内；以及三个轻链CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3)，所述三个轻链CDR包含在SEQ ID NO:28的轻链可变区(LCVR)氨基酸序列或与其至少90％相同的氨基酸序列内。

9.根据权利要求8所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，其中所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段具有以下特性中的一种或多种特性：

(a)是完全人类单克隆抗体；

(b)如通过表面等离子体共振测量的，以等于或小于8.9×10^{-9}M的K_D与FGFR2b结合；

(c)如通过表面等离子体共振测量的半衰期(t1/2)大于约25分钟；以及

(d)相对于hFGFR2c而选择性地与hFGFR2b结合。

10.根据权利要求8所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，其中HCDR1包括SEQ ID NO:24的氨基酸序列或包括两个或更少个氨基酸取代的SEQ ID NO:24的氨基酸序列；HCDR2包括SEQ ID NO:6的氨基酸序列或包括两个或更少个氨基酸取代的SEQ ID NO:6的氨基酸序列；HCDR3包括SEQ ID NO:26的氨基酸序列或包括两个或更少个氨基酸取代的SEQ ID NO:26的氨基酸序列；LCDR1包括SEQ ID NO:30的氨基酸序列或包括两个或更少个氨基酸取代的SEQ ID NO:30的氨基酸序列；LCDR2包括SEQ ID NO:32的氨基酸序列或包括两个或更少个氨基酸取代的SEQ ID NO:32的氨基酸序列；并且LCDR3包括SEQ ID NO:34的氨基酸序列或包括两个或更少个氨基酸取代的SEQ ID NO:34的氨基酸序列。

11.根据权利要求8所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，其中HCDR1包括SEQ ID NO:24的氨基酸序列；HCDR2包括SEQ ID NO:6的氨基酸序列；HCDR3包括SEQ ID NO:26的氨基酸序列；LCDR1包括SEQ ID NO:30的氨基酸序列；LCDR2包括SEQ ID NO:32的氨基酸序列；并且LCDR3包括SEQ ID NO:34的氨基酸序列。

12.根据权利要求8所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，其中所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括：HCVR，所述HCVR包括SEQ ID NO:22的氨基酸序列或与其至少95％相同的氨基酸序列；以及LCVR，所述LCVR包括SEQ ID NO:28的氨基酸序列或与其至少95％相同的氨基酸序列。

13.根据权利要求8所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，其中所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括：HCVR，所述HCVR包括SEQ ID NO:22的氨基酸序列；以及LCVR，所述LCVR包括SEQ ID NO:28的氨基酸序列。

14.一种药物组合物，其包括治疗有效量的根据权利要求1至13中任一项所述的一种或多种分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段以及一种或多种药学上可接受的赋形剂。

15.一种核酸分子，其编码根据权利要求1至13中任一项所述的与FGFR2结合的人单克隆抗体或其片段。

16.一种表达载体，其包括根据权利要求15所述的编码与FGFR2结合的人单克隆抗体或其片段的核酸分子。

17.一种宿主细胞，其含有根据权利要求11所述的表达载体。

18.根据权利要求1至13中任一项所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，其中所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段与细胞毒素缀合。

19.根据权利要求18所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,其中所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段表现出以下特性中的一种或多种特性:

(a)相对于表达hFGFR2c的细胞而选择性地对表达hFGFR2b的细胞具有细胞毒性;

(b)如通过表面等离子体共振测量的,以等于或小于4.8×10^{-8}M的K_D与FGFR2b结合;

(c)如通过表面等离子体共振测量的半衰期(t1/2)大于约7分钟;以及

(d)以剂量依赖性方式诱导FGFR2b阳性肿瘤的消退。

20.根据权利要求18所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,其中所述细胞毒素选自由以下组成的组:生物毒素、化疗剂和放射性同位素。

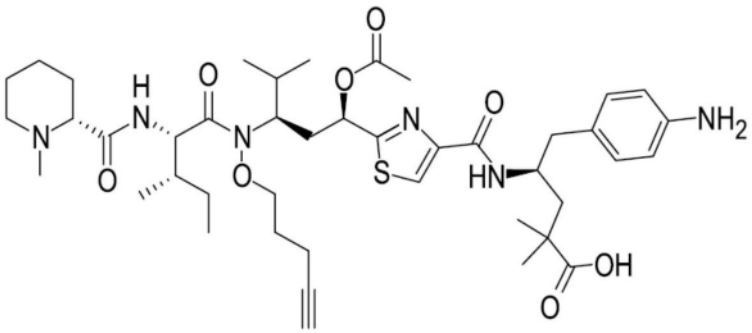
21.根据权利要求20所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,其中所述细胞毒素是妥布赖森(tubulysin)、美登素类化合物(maytansinoid)或喜树碱(camptothecin)。

22.根据权利要求1至13中任一项所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,其中所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段通过接头与细胞毒素缀合。

23.根据权利要求22所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,其中所述细胞毒素是妥布赖森。

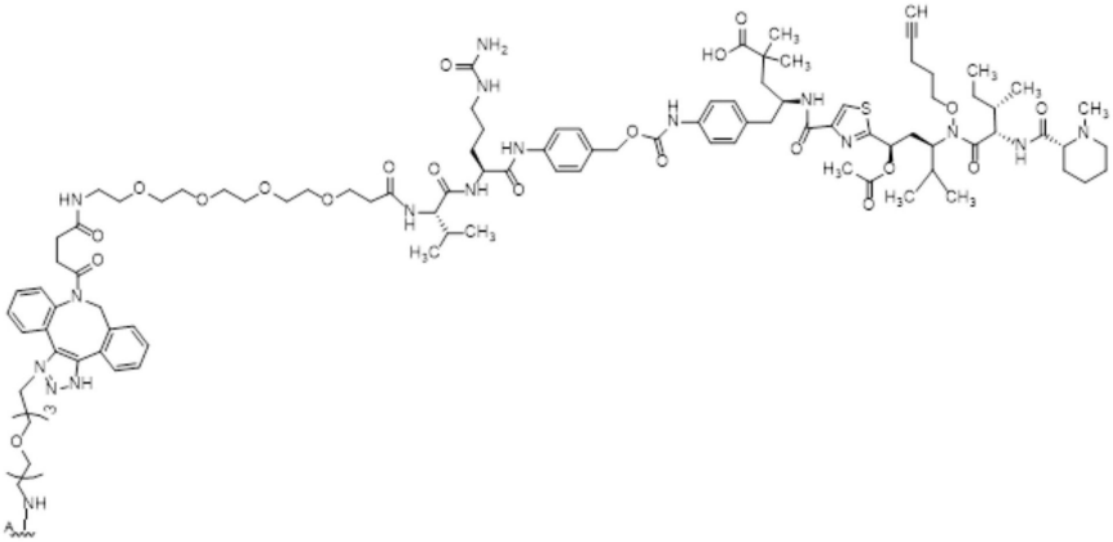
24.根据权利要求23所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,其中所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段通过叠氮基-PEG_3-胺接头与妥布赖森缀合。

25.根据权利要求23所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,其中所述妥布赖森是:



。

26.根据权利要求25所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,其中所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段与



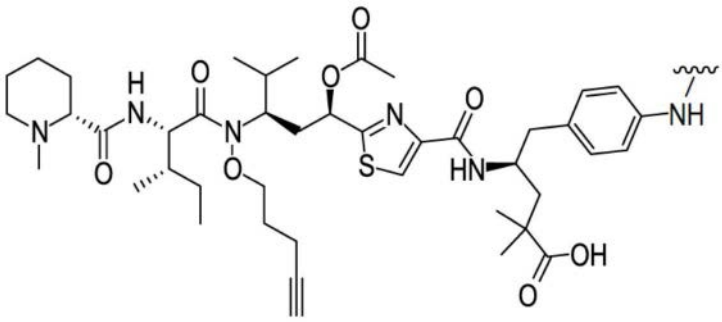
或其区域异构体缀合，其中是与重链谷氨酰胺的键。

27.根据权利要求23所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，其中所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段通过Q295与妥布赖森缀合。

28.根据权利要求27所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，其中所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段进一步包括通过Q297缀合的妥布赖森。

29.根据权利要求23所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，

其中所述妥布赖森是



其中是与所述接头的键。

30.根据权利要求29所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，其中所述接头包括缬氨酸-瓜氨酸部分和PAB部分。

31.根据权利要求29或30所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，其包括：三个重链CDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3)，所述三个重链CDR包含在SEQ ID NO:2的HCVR氨基酸序列内；以及三个轻链CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3)，所述三个轻链CDR包含在SEQ ID NO:10的LCVR氨基酸序列内。

32.根据权利要求29或30所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，其包括：HCDR1，所述HCDR1具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列；HCDR2，所述HCDR2具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列；HCDR3，所述HCDR3具有SEQ ID NO:8的氨基酸序列；LCDR1，所述LCDR1具有SEQ ID NO:12的氨基酸序列；LCDR2，所述LCDR2具有SEQ ID NO:14的氨基酸序列；以及LCDR3，所述LCDR3具有SEQ ID NO:16的氨基酸序列。

33.根据权利要求29或30所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，其包括：HCVR，所述HCVR包括SEQ ID NO:2的氨基酸序列；以及LCVR，所述LCVR包括SEQ ID NO:10的氨基酸序列。

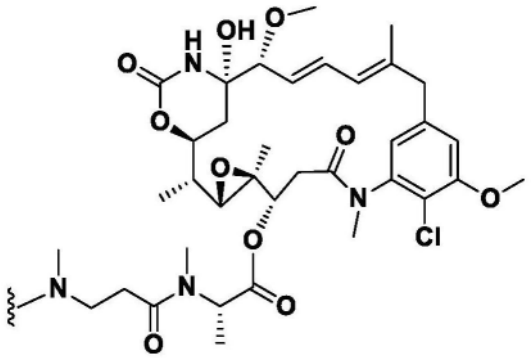
34.根据权利要求29或30所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，其包括：三个重链CDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3)，所述三个重链CDR包含在SEQ ID NO:22的HCVR氨基酸序列内；以及三个轻链CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3)，所述三个轻链CDR包含在SEQ ID NO:28的LCVR氨基酸序列内。

35.根据权利要求29或30所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，其包括：HCDR1，所述HCDR1具有SEQ ID NO:24的氨基酸序列；HCDR2，所述HCDR2具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列；HCDR3，所述HCDR3具有SEQ ID NO:26的氨基酸序列；LCDR1，所述LCDR1具有SEQ ID NO:30的氨基酸序列；LCDR2，所述LCDR2具有SEQ ID NO:32的氨基酸序列；以及LCDR3，所述LCDR3具有SEQ ID NO:34的氨基酸序列。

36.根据权利要求29或30所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，其包括：HCVR，所述HCVR包括SEQ ID NO:22的氨基酸序列；以及LCVR，所述LCVR包括SEQ ID NO:28的氨基酸序列。

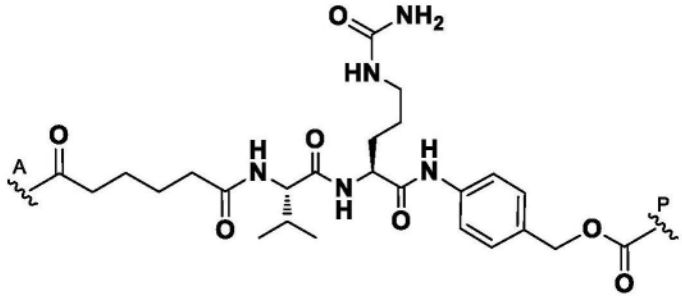
37.根据权利要求22所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，其中细胞毒性剂是美登素类化合物。

38.根据权利要求37所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，其中所述美登素类化合物是



其中〰是与所述接头的键。

39.根据权利要求38所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，其中所述接头是：



其中标有^{A}〰的键表示与所述抗体或其抗原结合片段的键并且标有^{P}〰的键表示与所述美登素类化合物的键。

40.根据权利要求38或39所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，其包括：三个重链CDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3)，所述三个重链CDR包含在SEQ ID NO:2的HCVR氨基酸序列内；以及三个轻链CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3)，所述三个轻链CDR包含在SEQ ID NO:10的LCVR氨基酸序列内。

41.根据权利要求38或39所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，其包括：HCDR1，所述HCDR1具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列；HCDR2，所述HCDR2具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列；HCDR3，所述HCDR3具有SEQ ID NO:8的氨基酸序列；LCDR1，所述LCDR1具有SEQ ID NO:12的氨基酸序列；LCDR2，所述LCDR2具有SEQ ID NO:14的氨基酸序列；以及LCDR3，所述LCDR3具有SEQ ID NO:16的氨基酸序列。

42.根据权利要求38或39所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，其包括：HCVR，所述HCVR包括SEQ ID NO:2的氨基酸序列；以及LCVR，所述LCVR包括SEQ ID NO:10的氨基酸序列。

43.根据权利要求38或39所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，其包括：三个重链CDR

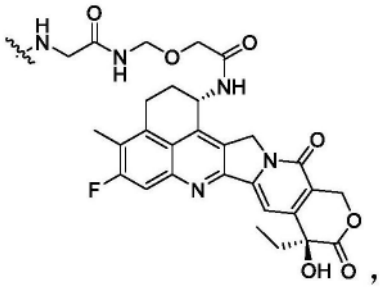
(HCDR1、HCDR2和HCDR3)，所述三个重链CDR包含在SEQ ID NO:22的HCVR氨基酸序列内；以及三个轻链CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3)，所述三个轻链CDR包含在SEQ ID NO:28的LCVR氨基酸序列内。

44.根据权利要求38或39所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，其包括：HCDR1，所述HCDR1具有SEQ ID NO:24的氨基酸序列；HCDR2，所述HCDR2具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列；HCDR3，所述HCDR3具有SEQ ID NO:26的氨基酸序列；LCDR1，所述LCDR1具有SEQ ID NO:30的氨基酸序列；LCDR2，所述LCDR2具有SEQ ID NO:32的氨基酸序列；以及LCDR3，所述LCDR3具有SEQ ID NO:34的氨基酸序列。

45.根据权利要求38或39所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，其包括：HCVR，所述HCVR包括SEQ ID NO:22的氨基酸序列；以及LCVR，所述LCVR包括SEQ ID NO:28的氨基酸序列。

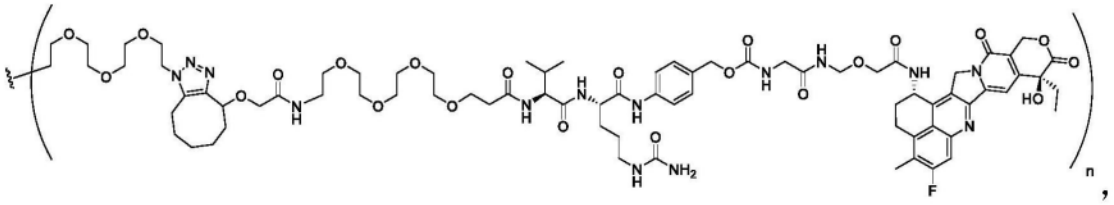
46.根据权利要求22所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，其中所述细胞毒性剂是喜树碱类似物。

47.根据权利要求22所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，其中所述细胞毒性剂是



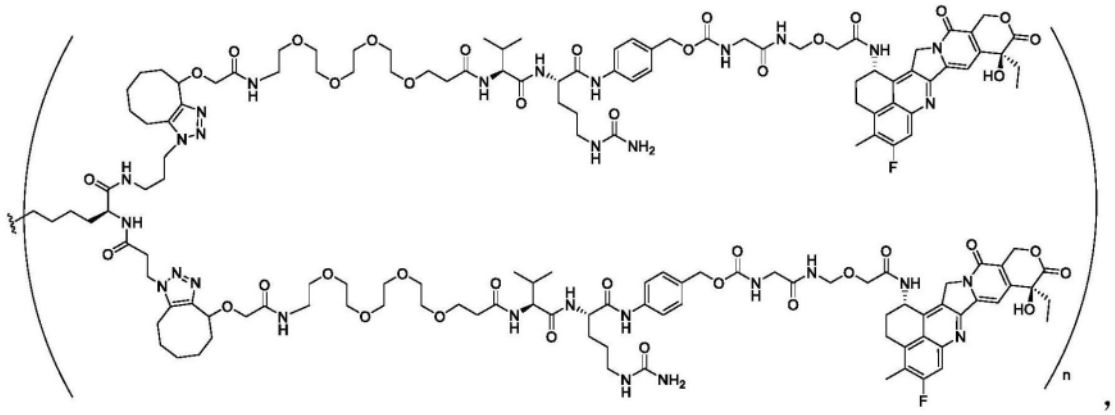
其中〰表示与接头的连接点。

48.根据权利要求46所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，其中所述抗体或其抗原结合片段与以下缀合：



其中〰是与所述抗体或其抗原结合片段的谷氨酰胺残基的键并且n是4。

49.根据权利要求46所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，其中所述抗体或其抗原结合片段与以下缀合：



其中 〰 是与所述抗体或其抗原结合片段的谷氨酰胺残基的键并且n是4。

50.根据权利要求47至49中任一项所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，其包括：三个重链CDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3)，所述三个重链CDR包含在SEQ ID NO:2的HCVR氨基酸序列内；以及三个轻链CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3)，所述三个轻链CDR包含在SEQ ID NO:10的LCVR氨基酸序列内。

51.根据权利要求47至49中任一项所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，其包括：HCDR1，所述HCDR1具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列；HCDR2，所述HCDR2具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列；HCDR3，所述HCDR3具有SEQ ID NO:8的氨基酸序列；LCDR1，所述LCDR1具有SEQ ID NO:12的氨基酸序列；LCDR2，所述LCDR2具有SEQ ID NO:14的氨基酸序列；以及LCDR3，所述LCDR3具有SEQ ID NO:16的氨基酸序列。

52.根据权利要求47至49中任一项所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，其包括：HCVR，所述HCVR包括SEQ ID NO:2的氨基酸序列；以及LCVR，所述LCVR包括SEQ ID NO:10的氨基酸序列。

53.根据权利要求47至49中任一项所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，其包括：三个重链CDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3)，所述三个重链CDR包含在SEQ ID NO:22的HCVR氨基酸序列内；以及三个轻链CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3)，所述三个轻链CDR包含在SEQ ID NO:28的LCVR氨基酸序列内。

54.根据权利要求47至49中任一项所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，其包括：HCDR1，所述HCDR1具有SEQ ID NO:24的氨基酸序列；HCDR2，所述HCDR2具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列；HCDR3，所述HCDR3具有SEQ ID NO:26的氨基酸序列；LCDR1，所述LCDR1具有SEQ ID NO:30的氨基酸序列；LCDR2，所述LCDR2具有SEQ ID NO:32的氨基酸序列；以及LCDR3，所述LCDR3具有SEQ ID NO:34的氨基酸序列。

55.根据权利要求47至49中任一项所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，其包括：HCVR，所述HCVR包括SEQ ID NO:22的氨基酸序列；以及LCVR，所述LCVR包括SEQ ID NO:28的氨基酸序列。

56.一种药物组合物，其包括根据权利要求18至55中任一项所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段和药学上可接受的载体。

57.一种治疗患有过表达FGFR2的肿瘤的受试者的癌症的方法，所述方法包括向所述受试者施用根据权利要求18至55中任一项所述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段。

58.根据权利要求57所述的方法，其中所述癌症选自由以下组成的组：乳腺浸润性导管

癌、胃腺癌、食管腺癌、结肠腺癌和胃食管结合部腺癌。

59.根据权利要求57所述的方法，其进一步包括向所述受试者施用第二抗癌治疗剂。

60.一种治疗受试者的癌症、减少受试者的肿瘤生长和/或引起受试者的肿瘤消退的方法，所述方法包括向有需要的受试者施用包括抗FGFR2抗体或其抗原结合片段和细胞毒素的抗体-药物缀合物(ADC)，其中所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括：

(i)HCDR1，所述HCDR1具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列；HCDR2，所述HCDR2具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列；HCDR3，所述HCDR3具有SEQ ID NO:8的氨基酸序列；LCDR1，所述LCDR1具有SEQ ID NO:12的氨基酸序列；LCDR2，所述LCDR2具有SEQ ID NO:14的氨基酸序列；以及LCDR3，所述LCDR3具有SEQ ID NO:16的氨基酸序列；或

(ii)HCDR1，所述HCDR1具有SEQ ID NO:24的氨基酸序列；HCDR2，所述HCDR2具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列；HCDR3，所述HCDR3具有SEQ ID NO:26的氨基酸序列；LCDR1，所述LCDR1具有SEQ ID NO:30的氨基酸序列；LCDR2，所述LCDR2具有SEQ ID NO:32的氨基酸序列；以及LCDR3，所述LCDR3具有SEQ ID NO:34的氨基酸序列。

61.根据权利要求60所述的方法，其中所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括：HCVR，所述HCVR包括SEQ ID NO:2的氨基酸序列；以及LCVR，所述LCVR包括SEQ ID NO:10的氨基酸序列。

62.根据权利要求60所述的方法，其中所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括：HCVR，所述HCVR包括SEQ ID NO:22的氨基酸序列；以及LCVR，所述LCVR包括SEQ ID NO:28的氨基酸序列。

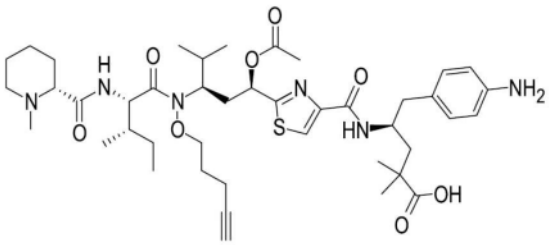
63.根据权利要求60至62-中任一项所述的方法，其中所述细胞毒素选自由以下组成的组：生物毒素、化疗剂和放射性同位素。

64.根据权利要求60至63-中任一项所述的方法，其中所述细胞毒素是妥布赖森、美登素类化合物或喜树碱。

65.根据权利要求60至64-中任一项所述的方法，其中所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段通过接头与细胞毒素缀合。

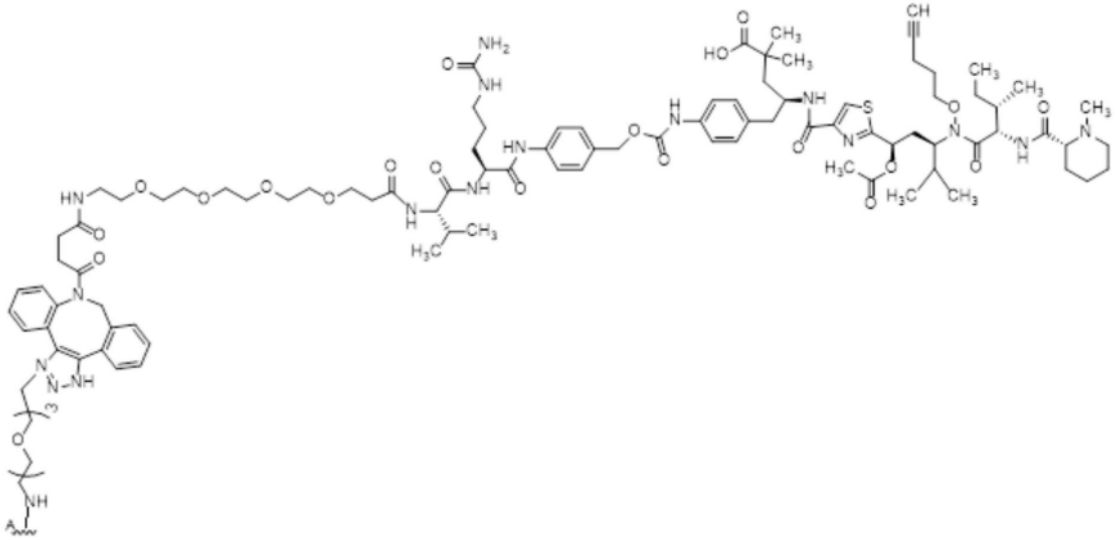
66.根据权利要求65所述的方法，其中所述细胞毒素是妥布赖森。

67.根据权利要求66所述的方法，其中所述妥布赖森是



。

68.根据权利要求65所述的方法，其中所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段与



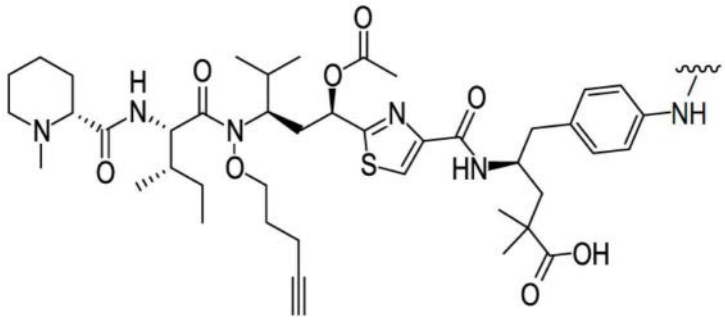
或其区域异构体缀合，其中 $\overset{A}{\sim}$ 是与重链谷氨酰胺的键。

69.根据权利要求66所述的方法，其中所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段通过Q295与妥布赖森缀合。

70.根据权利要求69所述的方法，其中所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段进一步包括通过Q297缀合的妥布赖森。

71.根据权利要求66所述的方法，

其中所述妥布赖森是



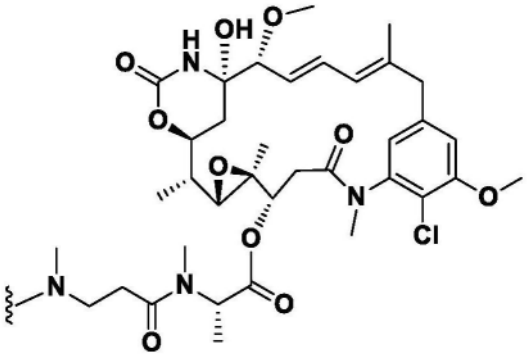
其中 $\sim$ 是与所述接头的键。

72.根据权利要求71所述的方法，其中所述接头包括缬氨酸-瓜氨酸部分和PAB部分。

73.根据权利要求66至71-中任一项所述的方法，其中所述妥布赖森通过接头与所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段缀合，其中所述接头是叠氮基-PEG_3-胺。

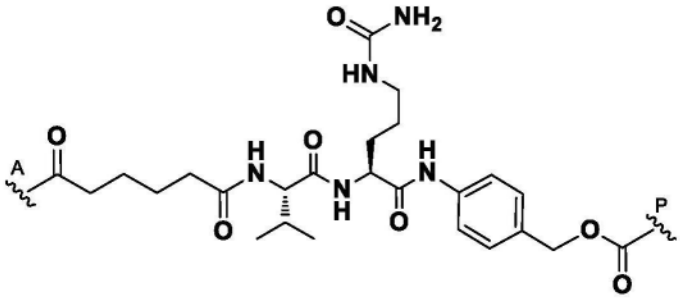
74.根据权利要求65所述的方法，其中细胞毒性剂是美登素类化合物。

75.根据权利要求74所述的方法，其中所述美登素类化合物是：



其中~~是与所述接头的键。

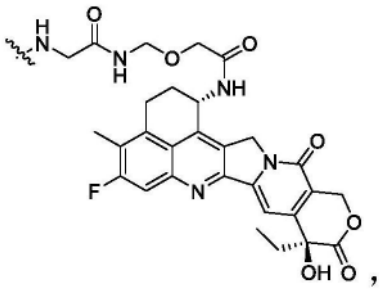
76.根据权利要求75所述的方法,其中所述接头是



其中标有~~A的键表示与所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段的键并且标有~~P的键表示与所述细胞毒素的键。

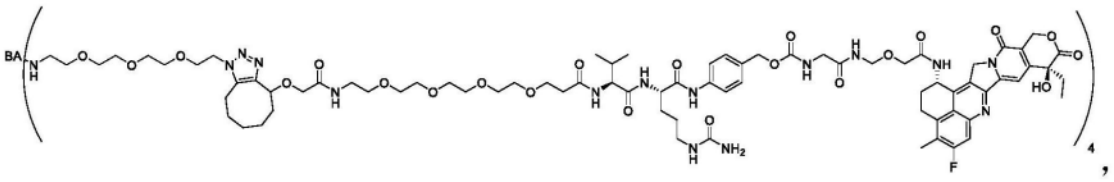
77.根据权利要求55所述的方法,其中所述细胞毒素是喜树碱类似物。

78.根据权利要求77所述的方法,其中所述喜树碱类似物是



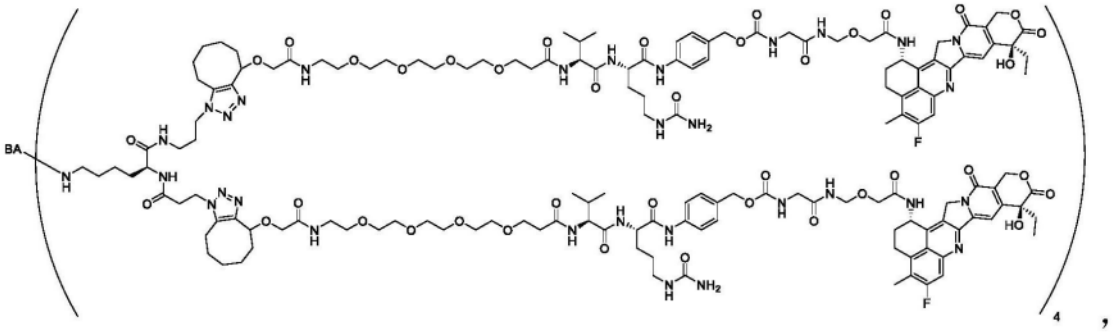
其中~~表示与接头的连接点。

79.根据权利要求76所述的方法,其中所述ADC是:



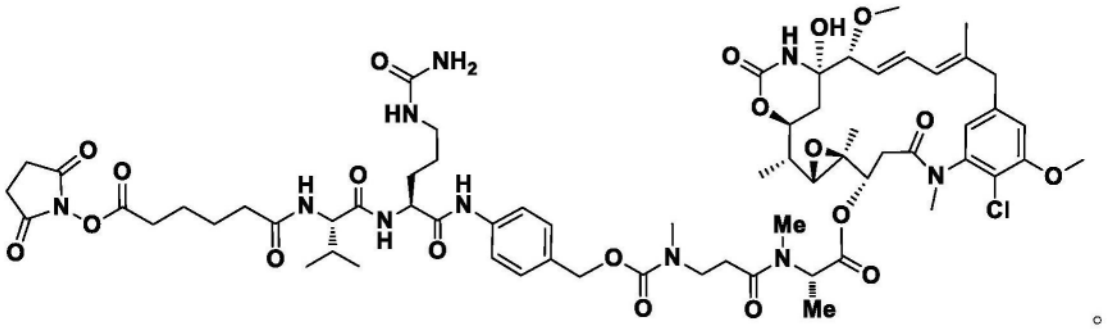
其中BA表示所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段。

80.根据权利要求76所述的方法,其中所述ADC是:



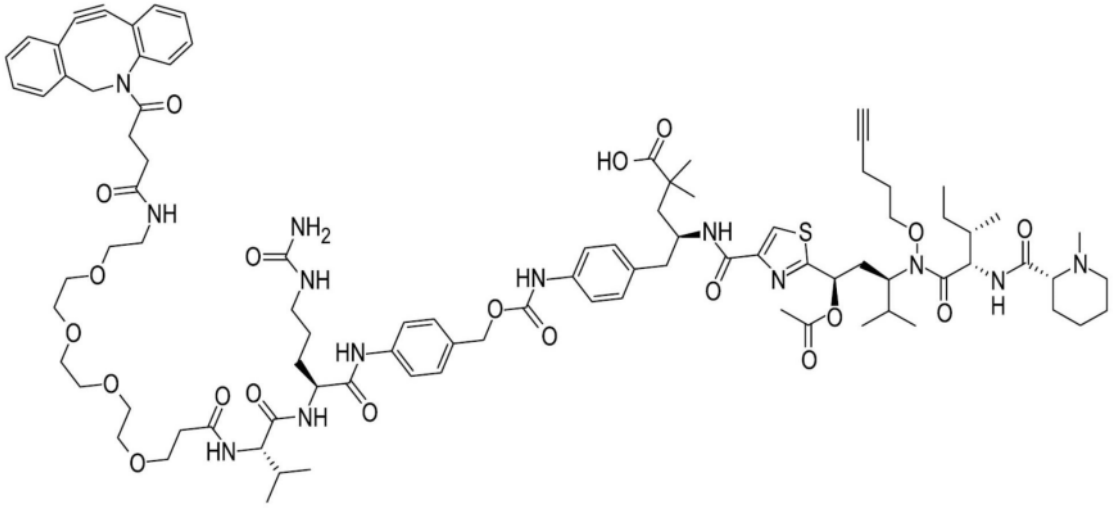
其中BA表示所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段。

81.一种用于制备抗体-药物缀合物的方法，所述方法包括使抗FGFR2抗体或其抗原结合片段与具有下式B^1的化合物和水性稀释剂接触：



B^1

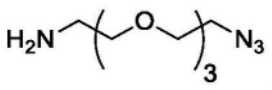
82.一种用于制备抗体-药物缀合物的方法，所述方法包括使抗FGFR2抗体或其抗原结合片段与具有以下结构的化合物接触：



其中所述抗体或其抗原结合片段用叠氮基官能化。

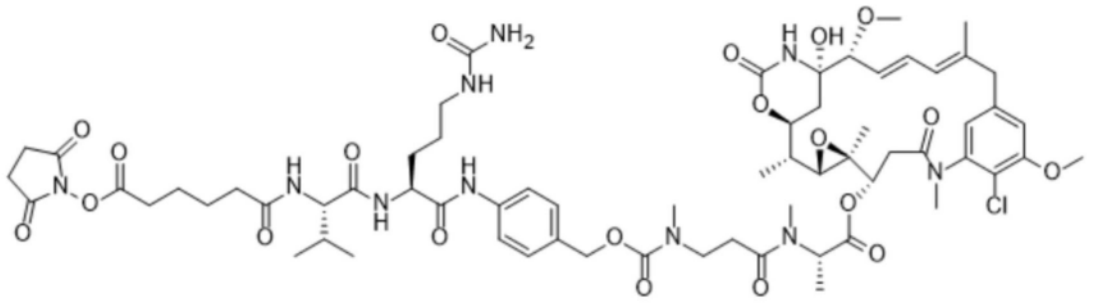
83.根据权利要求80所述的方法，其中用叠氮基官能化的所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段通过使抗FGFR2抗体或其抗原结合片段与转谷氨酰胺酶和包括伯胺、PEG基团和叠氮基的化合物接触来制备。

84.根据权利要求81所述的方法，其中所述包括伯胺、PEG基团和叠氮基的化合物是：



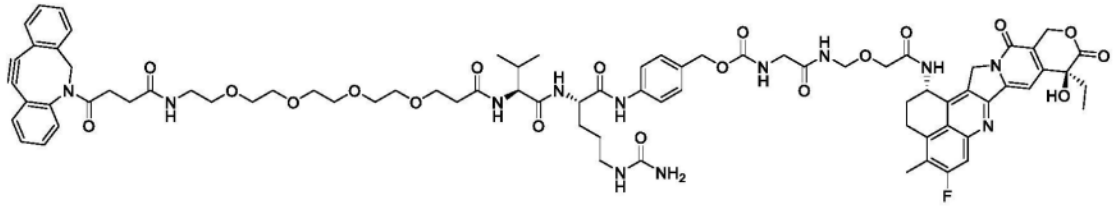
。

85.一种用于制备抗体-药物缀合物的方法，所述方法包括使抗FGFR2抗体或其抗原结合片段与具有下式的化合物和水性稀释剂接触：



。

86.一种用于制备抗体-药物缀合物的方法，所述方法包括使抗FGFR2抗体或其抗原结合片段与具有下式的化合物接触：



其中所述抗体或其抗原结合片段用叠氮基官能化。

87.根据权利要求86所述的方法，其中用叠氮基官能化的所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段通过使抗FGFR2抗体或其抗原结合片段与转谷氨酰胺酶和包括伯胺和叠氮基的化合物接触来制备。

88.根据权利要求81至87中任一项所述的方法，其中所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括：

(i)三个重链CDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3)，所述三个重链CDR包含在SEQ ID NO:2的HCVR氨基酸序列内；以及三个轻链CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3)，所述三个轻链CDR包含在SEQ ID NO:10的LCVR氨基酸序列内；或

(ii)三个重链CDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3)，所述三个重链CDR包含在SEQ ID NO:2的HCVR氨基酸序列内；以及三个轻链CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3)，所述三个轻链CDR包含在SEQ ID NO:10的LCVR氨基酸序列内。

89.根据权利要求81至88中任一项所述的方法，其中所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括：

(i)HCDR1，所述HCDR1具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列；HCDR2，所述HCDR2具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列；HCDR3，所述HCDR3具有SEQ ID NO:8的氨基酸序列；LCDR1，所述LCDR1具有SEQ ID NO:12的氨基酸序列；LCDR2，所述LCDR2具有SEQ ID NO:14的氨基酸序列；以及LCDR3，所述LCDR3具有SEQ ID NO:16的氨基酸序列；或

(ii)HCDR1，所述HCDR1具有SEQ ID NO:24的氨基酸序列；HCDR2，所述HCDR2具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列；HCDR3，所述HCDR3具有SEQ ID NO:26的氨基酸序列；LCDR1，所述LCDR1具有SEQ ID NO:30的氨基酸序列；LCDR2，所述LCDR2具有SEQ ID NO:32的氨基酸序列；以及

LCDR3,所述LCDR3具有SEQ ID NO:34的氨基酸序列。

90.根据权利要求81至89中任一项所述的方法,其中所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括:HCVR,所述HCVR包括SEQ ID NO:2的氨基酸序列;以及LCVR,所述LCVR包括SEQ ID NO:10的氨基酸序列。

91.根据权利要求81至89中任一项所述的方法,其中所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括:HCVR,所述HCVR包括SEQ ID NO:22的氨基酸序列;以及LCVR,所述LCVR包括SEQ ID NO:28的氨基酸序列。

92.一种根据权利要求81至91中任一项所述的方法的产物。

抗FGFR2抗体和其使用方法

技术领域

[0001] 本发明涉及与成纤维细胞生长因子受体2(FGFR2)特异性结合的抗体和其抗原结合片段,以及此类抗体的抗体-药物缀合物和其使用方法。

[0002] 序列表

[0003] 序列表的正式文本作为ASCII格式的序列表通过EFS-Web以电子方式与本说明书同时提交,文件名为10680WO01_Sequence_Listing_ST25.TXT,创建日期为2021年10月21日,并且大小为约72千字节。包含在该ASCII格式文档中的序列表是说明书的一部分,并通过引用整体并入本文。

背景技术

[0004] 成纤维细胞生长因子(FGF)受体酪氨酸激酶(RTK)家族由成纤维细胞生长因子受体1(FGFR1)、FGFR2、FGFR3和FGFR4组成,并且涵盖多达18种不同FGF配体的高亲和力受体。受体是跨膜酪氨酸激酶,并且FGFR信号传导驱动下游通路,包含对细胞增殖、分化、存活和迁移至关重要的丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)和AKT通路。FGF配体与受体的结合诱导FGF:FGFR复合物的二聚化。二聚化导致受体的细胞质结构域中多个酪氨酸残基的激酶活化和自体磷酸化,以及磷酸肌醇3-激酶(PI3K)-AKT和MAPK细胞外信号调节激酶(ERK)通路的下游信号传导的活化。FGFR1-3中的IgIII环的替代剪接产生FGFRIIIb或FGFRIIIc同种型。

[0005] 在各种癌症中已报道FGFR2扩增。FGFR2扩增影响信号传导,而不改变受体的内源性激酶活性。通过过表达的FGFR2的信号传导也显示了配体非依赖性和对FGFR抑制剂敏感的证据(Lorenzi,1997,羧基末端改变对成纤维细胞生长因子受体-2的配体非依赖性活化(Ligand-independent activation of fibroblast growth factor receptor-2by carboxyl terminal alterations),《致癌基因(Oncogene)》;Takeda,1999,AZD2171对过表达成纤维细胞生长因子受体2/角质细胞生长因子受体的胃癌显示出有效的抗肿瘤活性(AZD2171shows potent antitumor activity against gastric cancer over-expressing fibroblast growth factor receptor 2/keratinocyte growth factor receptor),《临床癌症研究(Clin Cancer Research)》;Cha,2009,异常的受体内化和增强的FRS2依赖性信号传导有助于成纤维细胞生长因子受体2IIIb C3同种型的转化活性(Aberrant receptor internalization and enhanced FRS2-dependent signaling contribute to the transforming activity of the fibroblast growth factor receptor 2IIIb C3 isoform),《生物化学杂志(J.Biol.Chem)》)。

[0006] 此外,FGFR2蛋白在约3%的乳腺癌中过表达,包含三阴性乳腺癌,以及约10%的胃癌/食道癌。在其它癌症中也发现了FGFR2过表达,包含结肠癌、肝细胞癌、胰腺癌、卵巢癌、子宫癌、宫颈癌、子宫内膜癌、膀胱癌、肺癌、结肠癌、神经胶质瘤和头颈癌。另外,已经在约12%的子宫内膜癌中报道了FGFR2基因的突变。FGFR2过表达已与胃癌患者的不良存活率相关。

[0007] 非常关注FGFR2作为跨肿瘤类型的治疗靶标。在携带FGFR2扩增的胃癌患者中,已

经建议使用如TAS-120和AZD4547等小分子FGFR抑制剂进行治疗干预。

[0008] 临床前研究和临床研究两者证明FGFR扩增的肿瘤对FGFR抑制敏感并且因此对治疗靶向敏感。用如贝马里妥珠单抗(Bemarituzumab)等抗FGFR2疗法(又名HGS1036、HGS1036、FP-1039、FPA144、GSK3052230)治疗FGFR2阳性肿瘤据报道导致早期存活和晚期疾病的改善。(Gemo等人(2014)“FPA144:用于治疗携带FGFR2基因扩增的胃癌患者的治疗性抗体(FPA144:A Therapeutic Antibody for Treating Patients with Gastric Cancers Bearing FGFR2 Gene Amplification)”《美国癌症研究协会(AACR)》摘要ID 5446;Powers等人(2016)“靶向FGFR2b受体的治疗性单克隆抗体FPA144可促进抗体依赖性细胞介导的细胞毒性并在4T1同系肿瘤模型中刺激对PD-1的敏感性(FPA144,A Therapeutic Monoclonal Antibody Targeting the FGFR2b Receptor,Promotes Antibody Dependent Cell-Mediated Cytotoxicity and Stimulates Sensitivity to PD-1in the 4T1 Syngeneic Tumor Model)”《美国癌症研究协会》摘要ID 1407;Lee等人(2016)“ADCC增强的FGFR2b同种型选择性单克隆抗体FPA144在FGFR2b+胃癌和晚期实体瘤患者中的抗肿瘤活性和安全性(Antitumor Activity and Safety of FPA144,an ADCC-Enhanced,FGFR2b Isoform-Selective Monoclonal Antibody,in Patients with FGFR2b+Gastric Cancer and Advanced Solid Tumors)”《美国临床肿瘤学会(ASCO)》摘要ID 2502)。

[0009] 一些FGFR2抗体与细胞毒性有效载荷缀合,包括钍-227(阿普鲁他单抗(Aprutumab),又名BAY1179470、BAY2304058)和澳瑞他汀(auristatin)(伊沙多丁阿普鲁他单抗(Aprutumab ixadotin),又名BAY1187982、BAY1179470 ADC)。据报道,阿普鲁他单抗-TTC(抗FGFR2抗体,与抗体共价结合的螯合剂部分,以及发射α粒子的放射性核素钍-227)抑制几种异种移植物模型中的肿瘤生长。(Wickstroem等人(2019)“FGFR2靶向钍缀合物和ATR抑制剂Bay 1895344的临床前组合研究(Preclinical Combination Studies of an FGFR2 Targeted Thorium Conjugate and the ATR Inhibitor Bay1895344)”《国际放射肿瘤生物学物理杂志(Int J Radiat Oncol Biol Phys)》105(2):410-422;Wittemer-Rump等人(2014)“新型抗成纤维细胞生长因子受体2(FGFR2)抗体(BAY 1179470)的临床前数据的药代动力学和药效学(PK/PD)建模指导1期给药(Pharmacokinetic and Pharmacodynamic (PK/PD)Modeling of Preclinical Data of a Novel Anti-Fibroblast Growth Factor Receptor 2(FGFR2)Antibody(BAY 1179470)to Guide Dosing in Phase 1)”《美国癌症研究协会》摘要ID 672)。在临床试验中,伊沙多丁阿普鲁他单抗耐受性差,发现最小耐受剂量低于临床前估计的治疗阈值;因此,试验提前终止。(Sommer等人(2016)“基于澳瑞他汀的抗体-药物缀合物BAY 1187982治疗FGFR2阳性实体瘤的临床前疗效(Preclinical Efficacy of the Auristatin-Based Antibody-Drug Conjugate BAY 1187982for the Treatment of FGFR2-Positive Solid Tumors)”《癌症研究(Cancer Res)》76(21):6331-6339;Sommer等人(2014)“FGFR2-ADC有效且选择性地抑制胃癌和乳腺癌异种移植物模型的生长(FGFR2-ADC Potently and Selectively Inhibits Growth of Gastric and Breast Cancer Xenograft Models)”《美国癌症研究协会》摘要ID 4491)。

[0010] 对于在表达FGFR2的癌症中有效的改进的抗癌药物,仍然存在显著的未满足的医学需求。

发明内容

[0011] 本文提供了与人FGF受体2蛋白(FGFR2)结合的抗体和其抗原结合片段。所述抗体尤其可用于靶向表达FGFR2的肿瘤细胞。抗FGFR2抗体和其抗原结合部分可以以未经修饰的形式单独使用或者可以作为抗体-药物缀合物的一部分包含在内。

[0012] 通过阅读随后的具体实施方式,其它实施例将变得显而易见。

附图说明

[0013] 图1A和图1B。图1A描绘了具有点击部分间隔子、组织蛋白酶B可切割接头和妥布赖森有效载荷的单克隆抗体。图1B描绘了抗体上的位点特异性缀合的过程。

[0014] 图2提供了抗FGFR2抗体-妥布赖森缀合物的SEC-HPLC分析。

[0015] 图3示出了使用不同剂量的抗FGFR2抗体-妥布赖森缀合物治疗时的人胃癌异种移植物中的肿瘤体积和体重随时间的变化。

[0016] 图4示出了使用不同剂量的抗FGFR2抗体-美登素类化合物缀合物治疗时的人胃癌异种移植物中的肿瘤体积和体重随时间的变化。

[0017] 图5示出了使用不同剂量的抗FGFR2抗体-妥布赖森缀合物和抗FGFR2抗体-美登素类化合物缀合物治疗时的具有人胃癌PDX GA0033肿瘤的小鼠的肿瘤体积和体重随时间的变化。在第0天和第7天,用相应ADC或对照抗体向小鼠给药。

[0018] 图6示出了使用不同剂量的抗FGFR2抗体-喜树碱类似物缀合物(DAR8)治疗时的具有SNU-16人胃癌异种移植物的小鼠的肿瘤体积和体重随时间的变化。在第0天,用相应缀合物和剂量向小鼠给药。

[0019] 图7示出了使用不同剂量的抗FGFR2抗体喜树碱类似物缀合物(DAR4)治疗时的具有SNU-16人胃癌异种移植物的小鼠的肿瘤体积和体重随时间的变化。在第0天和第7天,用相应剂量向小鼠给药。

[0020] 图8描绘了非限制性示例性叠氮胺接头的基本组分结构。

[0021] 图9描绘了示例性非限制性支链烷基叠氮胺接头的基本组分结构。

[0022] 图10示出了使用不同剂量的抗FGFR2抗体喜树碱ADC(DAR4)治疗时的具有GA1224人PDX肿瘤的小鼠的肿瘤体积和体重随时间的变化。在第0天和第7天,用相应剂量向小鼠给药。

[0023] 图11示出了使用抗FGFR2喜树碱ADC(DAR4)或抗FGFR2抗体美登素类化合物ADC治疗时的具有SNU-16人胃癌异种移植物(FGFR2b阳性)的小鼠的肿瘤体积和体重随时间的变化。

[0024] 图12示出了使用抗FGFR2抗体喜树碱ADC(DAR4)或抗FGFR2抗体美登素类化合物ADC治疗时的具有SNU-5人胃癌异种移植物(FGFR2b阴性)的小鼠的肿瘤体积和体重随时间的变化。

[0025] 图13示出了使用抗FGFR2抗体喜树碱ADC(DAR4)或抗FGFR2抗体美登素类化合物ADC治疗时的与SNU-16(FGFR2b阳性)和SNU-5(FGFR2b阴性)人胃癌异种移植物一起以2:1的比率共植入的小鼠的肿瘤体积和体重的变化。

具体实施方式

[0026] 在描述本发明前，应当理解，本发明不限于所述的特定方法和实验条件，因为这类方法和条件可以变化。还应当理解，本文所使用的术语仅出于描述具体实施例的目的，而不旨在是限制性的，因为本发明的范围仅受所附权利要求书限制。

[0027] 除非另外定义，否则本文所使用的所有技术和科学术语都具有与本发明所属领域的普通技术人员通常所理解相同的含义。如本文所用，术语“约”当参考特定列举的数值使用时意指所述值可以与所列举值相差不超过1％。例如，如本文所用，表达“约100”包含99和101以及介于其之间的全部值(例如，99.1、99.2、99.3、99.4等)。

[0028] 尽管在本发明的实践或测试中可以使用类似于或等同于本文所述的方法和材料的任何方法和材料，但现在描述了优选的方法和材料。本说明书中提及的所有专利、申请和非专利出版物均通过引用整体并入本文。

[0029] FGFR2蛋白

[0030] 如本文所使用的表达“FGFR2”等是指充当成纤维细胞生长因子的细胞表面受体的酪氨酸蛋白激酶。蛋白质也被称为角质细胞生长因子受体和CD332。FGFR2b可以指SEQ ID NO:55中所示的氨基酸序列和/或具有NCBI登记号NP_075259.4中所示的氨基酸序列，并且由驻留在染色体10上的FGFR2基因编码。

[0031] 上皮剪接调节蛋白1(ESRP1)同种型负责FGFR2剪接和后续上皮FGFR2b同种型的表达。

[0032] FGFR2是充当成纤维细胞生长因子的细胞表面受体的酪氨酸-蛋白激酶并且在细胞增殖、分化、迁移和凋亡的调节以及在胚胎发育的调节中发挥关键作用。FGFR2的活化导致PLCG1、FRS2和PAK4的磷酸化以及若干信号传导级联的活化。PLCG1的活化导致细胞信号传导分子二酰基甘油和肌醇1,4,5-三磷酸的产生。FRS2的磷酸化触发GRB2、GAB1、PIK3R1和SOS1的募集，并且介导RAS、MAPK1/ERK2、MAPK3/ERK1和MAP激酶信号传导通路以及AKT1信号传导通路的活化。FGFR2信号传导通过泛素化、内化和降解下调。导致组成型激酶活化或损害正常的FGFR2成熟、内化和降解的突变导致异常信号传导。同样，过表达的FGFR2促进STAT1的活化。

[0033] 本文对蛋白质、多肽和蛋白质片段的所有提及旨在指代相应蛋白质、多肽或蛋白质片段的人版本，除非明确指出其来自非人物种。因此，表达“FGFR2”意指人FGFR2，除非指定为来自非人物种，例如，“小鼠FGFR2”、“猴FGFR2”等。

[0034] 如本文所使用的，表达“细胞表面表达的FGFR2”意指在体外或体内在细胞的表面上表达使得FGFR2蛋白的至少一部分暴露于细胞膜的细胞外侧的并且可被抗体的抗原结合部分接近的一个或多个FGFR2蛋白或其细胞外结构域。“细胞表面表达的FGFR2”可以包括通常表达FGFR2蛋白的细胞表面上表达的FGFR2蛋白或由其组成。可替代地，“细胞表面表达的FGFR2”可以包括在细胞表面上表达的FGFR2蛋白或由其组成，所述细胞通常在其表面上不表达人FGFR2，但已被人工工程化为在其表面上表达FGFR2。

[0035] 抗FGFR2抗体和其抗原结合片段

[0036] 如本文所使用的，术语“抗体”意指包括与特定抗原(例如，FGFR2)特异性地结合或相互作用的至少一个互补决定区(CDR)的任何抗原结合分子或分子复合物。术语“抗体”包含免疫球蛋白分子，所述免疫球蛋白分子包括四条多肽链、通过二硫键相互连接的两条重

链(HC)和两条轻链(LC)以及其多聚体(例如,IgM)。术语“抗体”还包含由四条多肽链、通过二硫键相互连接的两条HC和两条LC组成的免疫球蛋白分子。每条HC包括重链可变区(在本文中缩写为HCVR或V_H)和重链恒定区。重链恒定区包括三个结构域C_{H1}、C_{H2}和C_{H3}。每条LC包括轻链可变区(在本文中缩写为LCVR或V_L)和轻链恒定区。轻链恒定区包括一个结构域(C_{L1})。V_H区和V_L区可以进一步再划分为高变区,称为互补决定区(CDR),其间插有更保守的区,称为框架区(FR)。每个V_H和V_L由从氨基末端到羧基末端按照以下次序排列的三个CDR和四个FR构成:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。在本发明的不同实施例中,抗FGFR2抗体(或其抗原结合部分)的FR可以与人种系序列相同或可为天然的或经人工修饰的。可以基于两个或更多个CDR的并列分析来定义氨基酸共有序列。

[0037] 同样,术语“抗体”包含包括八条多肽链、通过二硫键,即双特异性抗体相互连接的四条HC和四条LC的免疫球蛋白分子。术语“抗体”还包含由八条多肽链、通过二硫键相互连接的四条HC和四条LC组成的免疫球蛋白分子。

[0038] 此外,术语“抗体”包含包括至少一个HC的官能化免疫球蛋白分子,其中所述HC包括叠氮基-PEG_3-胺。在一些方面,所述叠氮基-PEG_3-胺位于所述抗体HC上的Q295位点处。在一些方面,所述叠氮基-PEG_3-胺位于所述抗体上的Q297位点处。在一些方面,所述抗体具有用位于所述HC中的两个Q295位点处的叠氮基-PEG_3-胺官能化的两个HC。在一些方面,所述抗体具有用位于所述HC中的两个Q297位点处的叠氮基-PEG_3-胺官能化的两个HC。在一些方面,所述抗体具有用位于所述HC中的两个Q295位点处和两个Q297位点处的叠氮基-PEG_3-胺官能化的两个HC。所述HC中的所述Q297位点通过将所述N297修饰为Q297获得,在本文中也被称为N297Q修饰。

[0039] 根据一方面,提供了抗FGFR2抗体。根据该方面的示例性抗FGFR2抗体在本文的表3和表4中列出。表3列出了本文所公开的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段的重链可变区(HCVR)、轻链可变区(LCVR)、重链互补决定区(HCDR1、HCDR2和HCDR3)、轻链互补决定区(LCDR1、LCDR2和LCDR3)、重链(HC)和轻链(LC)的氨基酸序列标识符。表4列出了示例性抗体的HCVR、LCVR、HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、LCDR3、HC和LC的核酸序列标识符。

[0040] 本文提供了与FGFR2特异性结合的抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段包括HCVR内的CDR,所述HCVR包括选自表3中所列出的任何HCVR氨基酸序列的氨基酸序列或其与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列。

[0041] 本文提供了与FGFR2特异性结合的抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段包括HCVR,所述HCVR包括选自表3中所列出的任何HCVR氨基酸序列的氨基酸序列或其与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列。

[0042] 本文提供了与FGFR2特异性结合的抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段包括LCVR内的CDR,所述LCVR包括选自表3中所列出的任何LCVR氨基酸序列的氨基酸序列或其与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列。

[0043] 本文提供了与FGFR2特异性结合的抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段包括LCVR,所述LCVR包括选自表3中所列出的任何LCVR氨基酸序列的氨基酸序列或其与其具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%序列同一性的基本上类似的序列。

[0044] 本文提供了与FGFR2特异性结合的抗体或其抗原结合片段，所述抗体或其抗原结合片段包括HCVR和LCVR氨基酸序列对(HCVR/LCVR)内的CDR，所述氨基酸序列对包括与表3中所列出的任何LCVR氨基酸序列配对的表3中所列出的任何HCVR氨基酸序列。本文提供了与FGFR2特异性结合的抗体或其抗原结合片段，所述抗体或其抗原结合片段包括HCVR和LCVR氨基酸序列对，所述氨基酸序列对包括与表3中所列出的任何LCVR氨基酸序列配对的表3中所列出的任何HCVR氨基酸序列。在某些实施例中，HCVR/LCVR氨基酸序列对选自由以下组成的组：SEQ ID NO:2/10、22/28和40/44。

[0045] 还提供了与FGFR2特异性结合的抗体或其抗原结合片段，所述抗体或其抗原结合片段包括重链CDR1(HCDR1)，所述HCDR1包括选自表3中所列出的任何HCDR1氨基酸序列的氨基酸序列或其具有至少90％、至少95％、至少98％或至少99％序列同一性的基本上类似的序列。

[0046] 还提供了与FGFR2特异性结合的抗体或其抗原结合片段，所述抗体或其抗原结合片段包括重链CDR2(HCDR2)，所述HCDR2包括选自表3中所列出的任何HCDR2氨基酸序列的氨基酸序列或其具有至少90％、至少95％、至少98％或至少99％序列同一性的基本上类似的序列。

[0047] 还提供了与FGFR2特异性结合的抗体或其抗原结合片段，所述抗体或其抗原结合片段包括重链CDR3(HCDR3)，所述HCDR3包括选自表3中所列出的任何HCDR3氨基酸序列的氨基酸序列或其具有至少90％、至少95％、至少98％或至少99％序列同一性的基本上类似的序列。

[0048] 还提供了与FGFR2特异性结合的抗体或其抗原结合片段，所述抗体或其抗原结合片段包括轻链CDR1(LCDR1)，所述LCDR1包括选自表3中所列出的任何LCDR1氨基酸序列的氨基酸序列或其具有至少90％、至少95％、至少98％或至少99％序列同一性的基本上类似的序列。

[0049] 还提供了与FGFR2特异性结合的抗体或其抗原结合片段，所述抗体或其抗原结合片段包括轻链CDR2(LCDR2)，所述LCDR2包括选自表3中所列出的任何LCDR2氨基酸序列的氨基酸序列或其具有至少90％、至少95％、至少98％或至少99％序列同一性的基本上类似的序列。

[0050] 还提供了与FGFR2特异性结合的抗体或其抗原结合片段，所述抗体或其抗原结合片段包括轻链CDR3(LCDR3)，所述LCDR3包括选自表3中所列出的任何LCDR3氨基酸序列的氨基酸序列或其具有至少90％、至少95％、至少98％或至少99％序列同一性的基本上类似的序列。

[0051] 还提供了与FGFR2特异性结合的抗体或其抗原结合片段，所述抗体或其抗原结合片段包括HCDR1和LCDR1氨基酸序列对(HCDR1/LCDR1)，所述氨基酸序列对包括与表3中所列出的任何LCDR1氨基酸序列配对的表3中所列出的任何HCDR1氨基酸序列。根据某些实施例，抗体或其抗原结合片段包括表3中所列出的任何示例性抗FGFR2抗体内含有的至少一个HCDR1/LCDR1氨基酸序列对。在某些实施例中，所述HCDR1/LCDR1氨基酸序列对选自由以下组成的组：SEQ ID NO:4/12、24/30和24/46。

[0052] 还提供了与FGFR2特异性结合的抗体或其抗原结合片段，所述抗体或其抗原结合片段包括HCDR2和LCDR2氨基酸序列对(HCDR2/LCDR2)，所述氨基酸序列对包括与表3中所列

出的任何LCDR2氨基酸序列配对的表3中所列出的任何HCDR2氨基酸序列。根据某些实施例，所述抗体或其抗原结合片段包括表3中所列出的任何示例性抗FGFR2抗体内含有的至少一个HCDR2/LCDR2氨基酸序列对。在某些实施例中，所述HCDR2/LCDR2氨基酸序列对选自由以下组成的组：SEQ ID NO:6/14和6/32。

[0053] 本文还提供了与FGFR2特异性结合的抗体或其抗原结合片段，所述抗体或其抗原结合片段包括HCDR3和LCDR3氨基酸序列对(HCDR3/LCDR3)，所述氨基酸序列对包括与表3中所列出的任何LCDR3氨基酸序列配对的表3中所列出的任何HCDR3氨基酸序列。根据某些实施例，所述抗体或其抗原结合片段包括表3中所列出的任何示例性抗FGFR2抗体内含有的至少一个HCDR3/LCDR3氨基酸序列对。在某些实施例中，所述HCDR3/LCDR3氨基酸序列对选自由以下组成的组：SEQ ID NO:8/16、26/34和42/34。

[0054] 本文还提供了与FGFR2特异性结合的抗体或其抗原结合片段，所述抗体或其抗原结合片段包括表3中所列出的任何示例性抗FGFR2抗体序列内含有的一组六个CDR(即，HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3)。在某些实施例中，所述HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3氨基酸序列组选自由以下组成的组：SEQ ID NO:4-6-8-12-14-16、24-6-26-30-32-34和24-6-42-46-32-34。

[0055] 在相关实施例中，与FGFR2特异性结合的抗体或其抗原结合片段包括由表3中所列出的任何示例性抗FGFR2抗体序列限定的HCVR/LCVR氨基酸序列对内含有的一组六个CDR(即，HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3)。例如，抗FGFR2抗体或其抗原结合片段可以包括HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3氨基酸序列组，所述氨基酸序列组包含在HCVR/LCVR氨基酸序列对内，所述氨基酸序列对选自由以下组成的组：SEQ ID NO:2/10、22/28和40/44。

[0056] 用于鉴定在HCVR和LCVR氨基酸序列内的CDR的方法和技术是本领域众所周知的，且可以用于鉴别在本文公开的指定HCVR和/或LCVR氨基酸序列内的CDR。可以用于鉴定CDR的边界的示例性惯例包含，例如，Kabat定义、Chothia定义和AbM定义。一般来说，Kabat定义基于序列差异，Chothia定义基于结构环区的位置，并且AbM定义是Kabat与Chothia方法之间的折衷方案。参见例如，“具有免疫学意义的蛋白质序列(Sequences of Proteins of Immunological Interest)”，马里兰州贝塞斯达的美国国立卫生研究院(National Institutes of Health,Bethesda,Md.)(1991)；Al-Lazikani等人，《分子生物学杂志(J.Mol.Biol.)》273:927-948(1997)；以及Martin等人，《美国国家科学院院刊(Proc.Natl.Acad.Sci.USA)》86:9268-9272(1989)。公共数据库也可以用于鉴定抗体内的CDR序列。

[0057] 本文提供了与FGFR2特异性结合的抗体或其抗原结合片段，所述抗体或其抗原结合片段包括重链(HC)，所述重链包括选自表3中所列出的任何HC氨基酸序列的氨基酸序列或其与其具有至少90％、至少95％、至少98％或至少99％序列同一性的基本上类似的序列。例如，本文提供了与FGFR2特异性结合的抗体或其抗原结合片段，所述抗体或其抗原结合片段包括HC，所述HC包括选自表3中所列出的任何HC氨基酸序列的氨基酸序列，但包括N297Q修饰或等效修饰。说明性地，本文提供了具有重链的抗体或其抗原结合片段，所述重链包括HC氨基酸序列内的N297Q修饰，所述氨基酸序列选自由以下组成的组：SEQ ID NO:18、36和49。在一些方面，所述抗体或其抗原结合片段包括HC，所述HC包括SEQ ID NO:18的HC氨基酸

序列内的N297Q修饰。在一些方面，所述抗体或其抗原结合片段包括HC，所述HC包括SEQ ID NO:36的HC氨基酸序列内的N297Q修饰。在一些方面，所述抗体或其抗原结合片段包括HC，所述HC包括SEQ ID NO:49的HC氨基酸序列内的N297Q修饰。

[0058] 在一些方面，所述抗体或其抗原结合片段包括选自由以下组成的组的HC氨基酸序列：SEQ ID NO:52、53和54。此类HC序列包括N297Q修饰的等效物。

[0059] 本文提供了与FGFR2特异性结合的抗体或其抗原结合片段，所述抗体或其抗原结合片段包括轻链(LC)，所述轻链包括选自表3中所列出的任何LC氨基酸序列的氨基酸序列或其与其具有至少90％、至少95％、至少98％或至少99％序列同一性的基本上类似的序列。

[0060] 本文提供了与FGFR2特异性结合的抗体或其抗原结合片段，所述抗体或其抗原结合片段包括HC和LC氨基酸序列对(HC/LC)，所述氨基酸序列对包括与表3中所列出的任何LC氨基酸序列配对的表3中所列出的任何HC氨基酸序列。根据某些实施例，所述抗体包括表3中所列出的任何示例性抗FGFR2抗体内含有的两个HC/LC氨基酸序列对。在某些实施例中，HC/LC氨基酸序列对选自由以下组成的组：SEQ ID NO:18/20、36/38和49/51。在一些方面，所述HC包括如上文所提供的N297Q修饰。因此，HC/LC氨基酸序列对选自由以下组成的组：SEQ ID NO:52/20、53/38和54/51。

[0061] 本文还提供了编码抗FGFR2抗体或其部分的核酸分子。例如，本发明提供了编码表3中所列出的任何HCVR氨基酸序列的核酸分子；在某些实施例中，核酸分子包括选自表4中所列出的任何HCVR核酸序列的多核苷酸序列或其与其具有至少90％、至少95％、至少98％或至少99％序列同一性的基本上类似的序列。

[0062] 还提供了编码表3中所列出的任何LCVR氨基酸序列的核酸分子；在某些实施例中，核酸分子包括选自表4中所列出的任何LCVR核酸序列的多核苷酸序列或其与其具有至少90％、至少95％、至少98％或至少99％序列同一性的基本上类似的序列。

[0063] 还提供了编码表3中所列出的任何HCDR1氨基酸序列的核酸分子；在某些实施例中，核酸分子包括选自表4中所列出的任何HCDR1核酸序列的多核苷酸序列或其与其具有至少90％、至少95％、至少98％或至少99％序列同一性的基本上类似的序列。

[0064] 还提供了编码表3中所列出的任何HCDR2氨基酸序列的核酸分子；在某些实施例中，核酸分子包括选自表4中所列出的任何HCDR2核酸序列的多核苷酸序列或其与其具有至少90％、至少95％、至少98％或至少99％序列同一性的基本上类似的序列。

[0065] 还提供了编码表3中所列出的任何HCDR3氨基酸序列的核酸分子；在某些实施例中，核酸分子包括选自表4中所列出的任何HCDR3核酸序列的多核苷酸序列或其与其具有至少90％、至少95％、至少98％或至少99％序列同一性的基本上类似的序列。

[0066] 还提供了编码表3中所列出的任何LCDR1氨基酸序列的核酸分子；在某些实施例中，核酸分子包括选自表4中所列出的任何LCDR1核酸序列的多核苷酸序列或其与其具有至少90％、至少95％、至少98％或至少99％序列同一性的基本上类似的序列。

[0067] 还提供了编码表3中所列出的任何LCDR2氨基酸序列的核酸分子；在某些实施例中，核酸分子包括选自表4中所列出的任何LCDR2核酸序列的多核苷酸序列或其与其具有至少90％、至少95％、至少98％或至少99％序列同一性的基本上类似的序列。

[0068] 还提供了编码表3中所列出的任何LCDR3氨基酸序列的核酸分子；在某些实施例中，核酸分子包括选自表4中所列出的任何LCDR3核酸序列的多核苷酸序列或其与其具有至

少90％、至少95％、至少98％或至少99％序列同一性的基本上类似的序列。

[0069] 还提供了编码HCVR的核酸分子，其中HCVR包括一组三个CDR(即，HCDR1-HCDR2-HCDR3)，其中HCDR1-HCDR2-HCDR3氨基酸序列组如表3中所列出的任何示例性抗FGFR2所定义。

[0070] 还提供了编码LCVR的核酸分子，其中LCVR包括一组三个CDR(即，LCDR1-LCDR2-LCDR3)，其中LCDR1-LCDR2-LCDR3氨基酸序列组如表3中所列出的任何示例性抗FGFR2所定义。

[0071] 还提供了编码HCVR和LCVR两者的核酸分子，其中HCVR包括表3中所列出的任何HCVR氨基酸序列的氨基酸序列，并且其中LCVR包括表3中所列出的任何LCVR氨基酸序列的氨基酸序列。在某些实施例中，核酸分子包括选自表4中所列出的任何HCVR核酸序列的多核苷酸序列或其与其具有至少90％、至少95％、至少98％或至少99％序列同一性的基本上类似的序列，以及选自表4中所列出的任何LCVR核酸序列的多核苷酸序列或其与其具有至少90％、至少95％、至少98％或至少99％序列同一性的基本上类似的序列。在根据该方面的某些实施例中，核酸分子编码HCVR和LCVR，其中HCVR和LCVR两者源自表3中所列出的同一抗FGFR2抗体。

[0072] 还提供了编码表3中所列出的任何HC氨基酸序列；或编码其与其具有至少90％、至少95％、至少98％或至少99％序列同一性的基本上类似的序列的核酸分子。例如，核酸分子可以编码表3中所列出的任何HC氨基酸序列，其中所述HC具有N297Q修饰。

[0073] 还提供了编码表3中所列出的任何LC氨基酸序列；或编码其与其具有至少90％、至少95％、至少98％或至少99％序列同一性的基本上类似的序列的核酸分子。

[0074] 还提供了能够表达包括抗FGFR2抗体的重链或轻链可变区的多肽的重组表达载体。例如，重组表达载体包括任何上述核酸分子，即，编码如表3中所示的任何HCVR、LCVR和/或CDR序列的核酸分子。还包含在本公开的范围内的是引入了此类载体的宿主细胞，以及通过在允许产生抗体或抗体片段的条件下培养宿主细胞而产生抗体或其部分，并回收如此产生的抗体和抗体片段的方法。

[0075] 本文提供了具有经修饰的糖基化模式的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段。在一些实施例中，例如，可使用修饰以去除不期望的糖基化位点，或者在寡糖链上存在缺乏岩藻糖部分的抗体，以增加抗体依赖性细胞毒性(ADCC)功能(参见Shield等人，(2002)《生物化学杂志(JBC)》277:26733)。在其它应用中，可以进行半乳糖基化的修饰以修饰补体依赖性细胞毒性(CDC)。

[0076] 抗原结合结构域

[0077] 如本文所使用的，表达“抗原结合结构域”意指能够与所关注特定抗原(例如，人FGFR2)特异性结合的任何肽、多肽、核酸分子、支架型分子、肽展示分子或含多肽的构建体。如本文所使用的术语“特异性结合”等意指抗原结合结构域与特定抗原形成复合物，其特征在于解离常数(K_D)为500pM或更低，并且在普通测试条件下不与其它不相关抗原结合。“不相关抗原”是彼此具有小于95％氨基酸同一性的蛋白、肽或多肽。

[0078] 可以在本公开的上下文中使用的抗原结合结构域的示例性类别包含抗体、抗体的抗原结合部分、与特定抗原(例如，肽体)特异性相互作用的肽、与特定抗原特异性相互作用的受体分子、包括特异性结合特定抗原的受体的配体结合部分的蛋白、抗原结合支架(例

如,DARPins、HEAT重复蛋白、ARM重复蛋白、三十四肽重复蛋白和基于天然存在的重复蛋白的其它支架等,[参见,例如,Boersma和Pluckthun,2011,《生物技术新见(Curr.Opin.Biotechnol.)》22:849-857,和其中引用的参考文献])、以及适体或其部分。

[0079] 用于确定两个分子是否彼此特异性结合的方法是本领域众所周知的,并且包含例如平衡透析、表面等离子体共振等。例如,如在本公开的上下文中使用的,抗原结合结构域包含与特定抗原(例如,靶分子[T]或内化效应蛋白[E])或其部分结合的多肽,其中如在表面等离子体共振测定中所测得的,K_D小于约500pM、小于约400pM、小于约300pM、小于约200pM、小于约100pM、小于约90pM、小于约80pM、小于约70pM、小于约60pM、小于约50pM、小于约40pM、小于约30pM、小于约20pM、小于约10pM、小于约5pM、小于约4pM、小于约2pM、小于约1pM、小于约0.5pM、小于约0.2pM、小于约0.1pM或小于约0.05pM。

[0080] 如本文所使用的术语"表面等离子体共振"是指允许通过例如使用BIAcore™系统(新泽西皮斯卡塔韦通用电气医疗集团Biacore生命科学事业部(Biacore Life Sciences division of GE Healthcare,Piscataway,NJ)检测生物传感器基质内的蛋白质浓度的变化来分析实时相互作用的光学现象。

[0081] 如本文所使用的术语"K_D"意指特定蛋白-蛋白相互作用(例如,抗体-抗原相互作用)的平衡解离常数。除非另外指出,否则本文所公开的K_D值是指在25℃下通过表面等离子体共振测定确定的K_D值。

[0082] 如上所述,"抗原结合结构域"可以包括抗体或抗体的抗原结合片段或由其组成。如本文所使用的术语"抗体"意指包括与特定抗原(例如,人FGFR2)特异性地结合或相互作用的至少一个互补决定区(CDR)的任何抗原结合分子或分子复合物。术语"抗体"包含免疫球蛋白分子,所述免疫球蛋白分子包括两条多肽链、通过二硫键相互连接的一条重(H)链和一条轻(L)链以及其多聚体(例如,IgM)。重链包括重链可变区(在本文中缩写为HCVR或V_H)和重链恒定区。重链恒定区包括三个结构域C_H1、C_H2和C_H3。轻链包括轻链可变区(在本文中缩写为LCVR或V_L)和轻链恒定区。轻链恒定区包括一个结构域(C_L1)。V_H区和V_L区可以进一步再划分为高变区,称为互补决定区(CDR),其间插有更保守的区,称为框架区(FR)。每个V_H和V_L由从氨基末端到羧基末端按照以下次序排列的三个CDR和四个FR构成:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。在不同的实施例中,本文所提供的抗体(或其抗原结合部分)的FR可以与人种系序列相同,或者可以是天然的或经人工修饰的。可以基于两个或更多个CDR的并列分析来定义氨基酸共有序列。

[0083] 如本文所使用的术语抗体的"抗原结合部分"、抗体的"抗原结合片段"等包含特异性地结合抗原以形成复合物的任何天然存在的、酶促可获得的、合成的或经基因工程化的多肽或糖蛋白。可以例如使用任何合适的标准技术,如蛋白水解消化或涉及编码抗体可变结构域和任选地抗体恒定结构域的DNA的操作和表达的重组基因工程技术从全抗体分子衍生出抗体的抗原结合片段。此类DNA是已知的和/或可以容易地从例如商业来源、DNA文库(包含,例如,噬菌体-抗体文库)获得,或者可以被合成。可以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,以将一个或多个可变结构域和/或恒定结构域布置成合适的构型或引入密码子、产生半胱氨酸残基、改性、添加或缺失氨基酸等。

[0084] 抗原结合片段的非限制性实例包含:(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;以及(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,分离的互补决定区(CDR),如CDR3肽)或受约束的FR3-CDR3-FR4肽。其它工程化例如,分子,如结构域特异性抗体、单结构域抗体、结构域缺失抗体、嵌合抗体、CDR嫁接抗体、双抗体、三抗体、四抗体、微抗体、纳米抗体(例如,单价纳米抗体、二价纳米抗体等)、小型模块化免疫药物(SMIP)和鲨鱼变异IgNAR结构域也涵盖在本文所使用的表述"抗原结合片段"内。

[0085] 抗体的抗原结合片段通常将包括至少一个可变结构域。可变结构域可以具有任何大小或氨基酸组成,并且将通常包括与一个或多个框架序列相邻或在所述框架内的至少一个CDR。在具有V_H结构域与V_L结构域缔合的抗原结合片段中,V_H和V_L结构域可相对于彼此以任何合适的布置定位。例如,可变区可以是二聚体并且含有V_H-V_H、V_H-V_L或V_L-V_L二聚体。可替代地,抗体的抗原结合片段可以含有单体V_H或V_L结构域。

[0086] 在某些实施例中,抗体的抗原结合片段可以含有与至少一个恒定结构域共价连接的至少一个可变结构域。可以在本公开的抗体的抗原结合片段内发现的可变结构域和恒定结构域的非限制性示例性构型包含:(i)V_H-C_H1;(ii)V_H-C_H2;(iii)V_H-C_H3;(iv)V_H-C_H1-C_H2;(v)V_H-C_H1-C_H2-C_H3;(vi)V_H-C_H2-C_H3;(vii)V_H-C_L;(viii)V_L-C_H1;(ix)V_L-C_H2;(x)V_L-C_H3;(xi)V_L-C_H1-C_H2;(xii)V_L-C_H1-C_H2-C_H3;(xiii)V_L-C_H2-C_H3;以及(xiv)V_L-C_L。在可变结构域和恒定结构域的任何构型,包含上面列出的任何示例性构型中,可变结构域和恒定结构域可以彼此直接连接或者可以通过全长或部分铰链或接头区相连。铰链区可以由在单个多肽分子中邻近的可变结构域和/或恒定结构域之间产生柔性或半柔性连接的至少2个(例如,5个、10个、15个、20个、40个、60个或更多个)氨基酸组成。此外,抗原结合片段可以包括上文所列出的彼此和/或与一个或多个单体V_H或V_L结构域非共价缔合(例如,通过二硫键)的可变结构域和恒定结构域构型中的任何一个的同源二聚体或异源二聚体(或其它多聚体)。

[0087] 本文所提供的抗体可以包括人抗体和/或重组人抗体或其片段或由其组成。如本文所使用的术语"人抗体"包含具有源自人种系免疫球蛋白序列的可变区和恒定区的抗体。尽管如此,人抗体可以包含并非由人种系免疫球蛋白序列编码的氨基酸残基(例如,通过体外随机或位点特异性诱变或通过体内体细胞突变引入的突变),例如在CDR中并且具体地在CDR3中。然而,如本文所使用的术语"人抗体"不旨在包含其中源自如小鼠等另一种哺乳动物物种的种系的CDR序列已经移植到人框架序列上的抗体。

[0088] 本公开的抗体或其抗原结合片段可以包括重组人抗体或其抗原结合片段或由其组成。如本文所使用的术语"重组人抗体"旨在包含通过重组方式制备、表达、产生或分离的所有人抗体,如使用转染到宿主细胞内的重组表达载体表达的抗体(以下进一步描述)、从重组组合人抗体库中分离的抗体(以下进一步描述)、从对于人类免疫球蛋白基因而言为转基因的动物(例如,小鼠)中分离的抗体(参见例如,Taylor等人,(1992)《核酸研究(Nucl.Acids Res.)》20:6287-6295),或通过任何其它方式制备、表达、产生或分离的抗体,所述方式涉及将人免疫球蛋白基因序列剪接到其它DNA序列上。此类重组人抗体具有源自人种系免疫球蛋白序列的可变区和恒定区。然而,在某些实施例中,此类重组人抗体经历体外诱变(或当使用转基因人Ig序列的动物时,经历体内体细胞诱变),并且因此重组抗体的V_H区和V_L区的氨基酸序列是如下序列:虽然源自人种系$_V$H序列和V_L序列并与之相关,但可能并非天然在体内存在于人抗体种系库中。

[0089] 本文所提供的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段可以是"分离的"。如本文所使用的

“分离的抗FGFR2抗体”意指已经从其天然环境的至少一种组分中鉴定和分离和/或回收的抗体或其抗原结合片段。例如，已经从生物体的至少一种组分，或从产生抗体的组织或细胞中分离或去除的抗体或其抗原结合片段是用于本公开的目的的“分离的抗FGFR2抗体”。分离的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段还包含重组细胞内的原位分子。分离的抗体或其抗原结合片段是已经经历至少一个纯化或分离步骤的分子。根据某些实施例，分离的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段可以基本上不含其它细胞物质和/或化学物质。

[0090] 变体

[0091] 如与衍生抗体或其抗原结合片段的对应种系序列相比，本文所公开的抗FGFR2抗体和其抗原结合片段可以在重链和轻链可变结构域的框架和/或CDR区中包括一个或多个氨基酸取代、插入和/或缺失。通过将本文公开的氨基酸序列与可从例如公共抗体序列数据库获得的种系序列进行比较，可以容易地确定此类突变。本公开包含源自本文所公开的任何氨基酸序列的抗体或其抗原结合片段，其中一个或多个框架和/或CDR区内的一个或多个氨基酸突变为衍生抗体的种系序列的一个或多个对应的残基、或突变为另一种人种系序列的一个或多个对应的残基、或突变为一个或多个对应的种系残基的保守氨基酸取代(此类序列变化在本文中统称为“种系突变”)。

[0092] 从本文所公开的重链和轻链可变区序列开始，本领域普通技术人员可以容易地产生包括一个或多个单个种系突变或其组合的许多抗体或其抗原结合片段。在某些实施例中，V_H结构域和/或V_L结构域内的全部框架和/或CDR残基突变回在衍生抗体的原始种系序列中所发现的残基。在其它实施例中，仅将某些残基突变回原始种系序列，例如，仅在FR1的前8个氨基酸内或在FR4的最后8个氨基酸内所发现的突变后的残基，或仅在CDR1、CDR2或CDR3内发现的突变后的残基。在其它实施例中，框架和/或CDR残基中的一个或多个被突变为不同种系序列(即，与最初衍生抗体的种系序列不同的种系序列)的对应残基。

[0093] 此外，本公开的抗体或其抗原结合片段可以含有框架和/或CDR区内的两个或更多个种系突变的任何组合，例如，其中某些单独残基突变为特定种系序列的对应残基，而与原始种系序列不同的某些其它残基维持不变或突变为不同种系序列的对应残基。一旦获得，就可以容易地测试含有一个或多个种系突变的抗体或其抗原结合片段的一种或多种期望的性质，如改善的结合特异性、增加的结合亲和力、改善或增强的拮抗或激动生物学性质(视情况而定)、降低的免疫原性等。以这种通用方式获得的抗体或其抗原结合片段涵盖在本公开内。

[0094] 通常，以某种方式修饰的本文的抗体或抗原结合片段保留与FGFR2特异性结合的能力，例如，当以摩尔为基础表达其FGFR2结合活性时，保留所述活性的至少10％(在与亲本抗体相比时)。在一些方面，本公开的抗体或抗原结合片段保留亲本抗体的至少20％、50％、70％、80％、90％、95％或100％或更多的FGFR2结合亲和力。本公开的抗体或抗原结合片段还旨在可以包含基本上不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”)。

[0095] 多核苷酸的“变体”是指包括与本文中所示的(例如，SEQ ID NO:1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、48和50中所示的)参考核苷酸序列至少约70％-99.9％(例如，至少约70％、72％、74％、75％、76％、79％、80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、

97％、98％、99％、99.5％或99.9％)相同的核苷酸序列的多核苷酸;当通过BLAST算法执行比较时,其中选择算法的参数以在相应参考序列的整个长度上给出相应序列之间的最大匹配(例如,预期阈值:10;字长:28;查询范围内的最大匹配数:0;匹配/不匹配评分:1,-2;空位罚分:线性)。

[0096] 当提及核酸或其片段时,术语“基本同一性”或“基本上相同”表示,当通过适当的核苷酸插入或缺失与另一个核酸(或其互补链)进行最佳比对时,核苷酸序列同一性为核苷酸碱基的至少约90％,并且更优选地,至少约95％、96％、97％、98％或99％,如通过如FASTA、BLAST或GAP等任何众所周知的序列同一性算法所测量的,如以下所讨论的。在某些情况下,与参考核酸分子具有大体一致性的核酸分子可以编码与参考核酸分子所编码的多肽具有相同或基本上类似的氨基酸序列的多肽。

[0097] 多肽,如免疫球蛋白链(例如,mAb1 V_H、V_L、HC、或LC、mAb2 V_H、V_L、HC、或LC、或mAb3 V_H、V_L、HC或LC)的“变体”是指包括与本文所示的(例如,SEQ ID NO:2、10、18、20、22、28、36、38、40、44、49或51中所示的)参考氨基酸序列至少约70％-99.9％(例如,70％、72％、74％、75％、76％、79％、80％、81％、82％、83％、84％、85％、86％、87％、88％、89％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、99.5％、99.9％)相同或类似的氨基酸序列的多肽;当通过BLAST算法执行比较时,其中选择算法的参数以在相应参考序列的整个长度上给出相应序列之间的最大匹配(例如,预期阈值:10;字长:3;查询范围内的最大匹配数:0;BLOSUM 62矩阵;空位罚分:存在11,扩展1;条件组成评分矩阵调节)。

[0098] 当应用于多肽时,术语“基本类似性”或“基本上类似”意指当如通过程序GAP或BESTFIT,使用默认间隙权重最佳对齐时,两个肽序列共享至少90％序列同一性,甚至更优选地至少95％、98％或99％序列同一性。优选地,不相同的残基位置因保守性氨基酸取代而不同。“经保守修饰的变体”或“保守取代”是指其中多肽中的氨基酸被具有类似特性(例如,电荷、侧链大小、疏水性/亲水性、主链构象和刚性等)的其它氨基酸取代一次或多次的变体。在不显著破坏抗体或片段的生物活性的情况下可以经常进行此类改变。本领域的技术人员认识到,通常,多肽的非必需区中的单个氨基酸取代基本上不会改变生物活性(参见,例如,Watson等人(1987)《基因的分子生物学(Molecular Biology of the Gene)》,本杰明/卡明斯出版公司(The Benjamin/Cummings Pub.Co.),第224页,(第4版))。另外,结构或功能上类似的氨基酸的取代不太可能显著破坏生物活性。

[0099] 在两个或更多个氨基酸序列因保守取代而彼此不同的情况下,可以向上调整百分比或类似性程度以校正取代的保守性质。用于作出此调整的方法是本领域技术人员所熟知的。(参见例如,Pearson(1994)《分子生物学方法(Methods Mol.Biol.)》24:307-331)。具有类似化学性质的侧链的氨基酸基团的实例包含:1)脂肪族侧链:甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸;2)脂肪族-羟基侧链:丝氨酸和苏氨酸;3)含酰胺的侧链:天冬酰胺和谷氨酰胺;4)芳香族侧链:苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸;5)碱性侧链:赖氨酸、精氨酸和组氨酸;6)酸性侧链:天冬氨酸和谷氨酸;以及7)含硫侧链是半胱氨酸和蛋氨酸。优选的保守氨基酸取代基是:缬氨酸-亮氨酸-异亮氨酸、苯丙氨酸-酪氨酸、赖氨酸-精氨酸、丙氨酸-缬氨酸、谷氨酸-天冬氨酸和天冬酰胺-谷氨酰胺。可替代地,保守替代是在以下公开的PAM250对数似然矩阵中具有正值的任何变化:Gonnet等人(1992)《科学(Science)》256:1443 45。“适度保守”替代是PAM250对数似然矩阵中具有非负值的任何变化。

[0100] 通常使用序列分析软件来测量多肽的序列类似性。蛋白质分析软件使用关于指定到包含保守氨基酸置换的各种取代、缺失和其它修饰的相似性度量来匹配相似序列。例如，GCG软件含有如GAP和BESTFIT等程序，其可以与默认参数一起用来确定密切相关的多肽，如来自不同生物物种的同源多肽之间或野生型蛋白和其突变蛋白之间的序列同源性或序列同一性。参见例如，GCG 6.1版。多肽序列也可以使用默认或推荐参数，使用FASTA进行比较；所述FASTA是GCG 6.1版中的程序。FASTA(例如，FASTA2和FASTA3)提供了询问序列与搜索序列之间的最佳重叠区的对齐和序列同一性百分比(Pearson(2000)，同上文)。当将本文所提供的序列与含有大量来自不同生物体的序列的数据库进行比较时，另一个优选的算法是使用默认参数的计算机程序BLAST，尤其是BLASTP或TBLASTN。参见例如Altschul等人(1990)《分子生物学杂志》215:403-410和Altschul等人(1997)《核酸研究》25:3389-3402，每个文献通过引用并入本文。

[0101] 本公开还包含包括本文所公开的HCVR、LCVR和/或CDR氨基酸序列中的任何一个的变体的抗FGFR2抗体和其抗原结合片段。包含在该方面内的示例性变体包含具有一个或多个取代，例如，保守取代的本文所公开的HCVR、LCVR和/或CDR氨基酸序列中的任何一个的变体。在一些方面，本公开包含具有HCVR、LCVR和/或CDR氨基酸序列的抗FGFR2抗体和其抗原结合片段，相对于如本文表3中所示的HCVR、LCVR和/或CDR氨基酸序列中的任何一个，所述氨基酸序列具有例如10个或更少、8个或更少、6个或更少、4个或更少、3个或更少、2个或1个保守氨基酸取代，其中经修饰的抗体和其抗原结合片段维持对FGFR2的结合活性。

[0102] 在一个实施例中，抗FGFR2抗原结合蛋白，例如，本公开的抗体和其抗原结合片段包含与SEQ ID NO:2、22或40中所示的氨基酸具有至少70％(例如，80％、85％、90％、95％、99％)氨基酸序列同一性的重链免疫球蛋白可变区；和/或与SEQ ID NO:10、28或44中所示的氨基酸具有至少70％(例如，80％、85％、90％、95％、99％)氨基酸序列同一性的轻链免疫球蛋白可变区。

[0103] 另外，变体抗FGFR2抗原结合蛋白可以包含包括本文所示的氨基酸序列，除一个或多个(例如，1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个)突变(例如，错义突变(例如，保守取代)、无义突变、缺失或插入)之外的多肽。例如，本公开包含抗原结合蛋白，所述抗原结合蛋白包含：免疫球蛋白重链变体，所述免疫球蛋白重链变体包括SEQ ID NO:2、22或40中所示的氨基酸序列但具有此类突变中的一个或多个突变；和/或免疫球蛋白轻链变体，所述免疫球蛋白轻链变体包括SEQ ID NO:10、28或44中所示的氨基酸序列但具有此类突变中的一个或多个突变。在本公开的实施例中，变体抗FGFR2抗原结合蛋白包含：包括HCDR1、HCDR2和HCDR3的免疫球蛋白重链变体，其中此类CDR中的一个或多个(例如，1个或2个或3个)具有此类突变(例如，保守取代)中的一个或多个突变；和/或包括LCDR1、LCDR2和LCDR3的免疫球蛋白轻链变体，其中此类CDR中的一个或多个(例如，1个或2个或3个)具有此类突变(例如，保守取代)中的一个或多个突变。

[0104] 本公开进一步提供了变体抗FGFR2抗原结合蛋白，例如，抗体或其抗原结合片段，所述抗体或其抗原结合片段包括本文所示的与例如，SEQ ID NO:4、6、8、12、14和/或16；或24、6、26、30、32和/或34；或24、6、42、46、32和/或34具有至少70％、75％、80％、85％、90％、95％、98％、99％或99.9％的序列同一性或类似性的一个或多个变体CDR(例如，HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和/或LCDR3中的任何一个或多个)。

[0105] 本公开的实施例还包含变体抗原结合蛋白，例如，抗FGFR2抗体和其抗原结合片段，所述变体抗原结合蛋白包括免疫球蛋白V_H和V_L或HC和LC，其包括与本文特别所示的对应的V_H、V_L、HC或LC的氨基酸序列具有70％或更多(例如，80％、85％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％)总氨基酸序列同一性或类似性的氨基酸序列，但其中此类免疫球蛋白的HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和/或LCDR3不是变体并且分别包括SEQ ID NO:4、6、8、12、14和/或16；或24、6、26、30、32和/或34；或24、6、42、46、32和/或34中所示的氨基酸序列。因此，在此类实施例中，变体抗原结合蛋白内的CDR本身不是变体。

[0106] 在一些方面，本文提供了抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，其包括：三个重链CDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3)，所述三个重链CDR包含在SEQ ID NO:2的重链可变区(HCVR)氨基酸序列或与其至少90％相同的氨基酸序列内；以及三个轻链CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3)，所述三个轻链CDR包含在SEQ ID NO:10的轻链可变区(LCVR)氨基酸序列或与其至少90％相同的氨基酸序列内。

[0107] 在一些方面，所述HCDR1包括SEQ ID NO:4的氨基酸序列或包括两个或更少个氨基酸取代的SEQ ID NO:4的氨基酸序列；所述HCDR2包括SEQ ID NO:6的氨基酸序列或包括两个或更少个氨基酸取代的SEQ ID NO:6的氨基酸序列；所述HCDR3包括SEQ ID NO:8的氨基酸序列或包括两个或更少个氨基酸取代的SEQ ID NO:8的氨基酸序列；所述LCDR1包括SEQ ID NO:12的氨基酸序列或包括两个或更少个氨基酸取代的SEQ ID NO:12的氨基酸序列；所述LCDR2包括SEQ ID NO:14的氨基酸序列或包括两个或更少个氨基酸取代的SEQ ID NO:14的氨基酸序列；并且所述LCDR3包括SEQ ID NO:16的氨基酸序列或包括两个或更少个氨基酸取代的SEQ ID NO:16的氨基酸序列。

[0108] 在一些方面，所述HCDR1包括SEQ ID NO:4的氨基酸序列；所述HCDR2包括SEQ ID NO:6的氨基酸序列；所述HCDR3包括SEQ ID NO:8的氨基酸序列；所述LCDR1包括SEQ ID NO:12的氨基酸序列；所述LCDR2包括SEQ ID NO:14的氨基酸序列；并且所述LCDR3包括SEQ ID NO:16的氨基酸序列。

[0109] 在一些方面，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括：HCVR，所述HCVR包括SEQ ID NO:2的氨基酸序列或与其至少95％相同的氨基酸序列；以及LCVR，所述LCVR包括SEQ ID NO:10的氨基酸序列或与其至少95％相同的氨基酸序列。

[0110] 在一些方面，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括：HCVR，所述HCVR包括SEQ ID NO:2的氨基酸序列；以及LCVR，所述LCVR包括SEQ ID NO:10的氨基酸序列。

[0111] 在一些方面，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括：三个重链CDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3)，所述三个重链CDR包含在SEQ ID NO:22的重链可变区(HCVR)氨基酸序列或与其至少90％相同的氨基酸序列内；以及三个轻链CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3)，所述三个轻链CDR包含在SEQ ID NO:28的轻链可变区(LCVR)氨基酸序列或与其至少90％相同的氨基酸序列内。

[0112] 在一些方面，所述HCDR1包括SEQ ID NO:24的氨基酸序列或包括两个或更少个氨基酸取代的SEQ ID NO:24的氨基酸序列；所述HCDR2包括SEQ ID NO:6的氨基酸序列或包括两个或更少个氨基酸取代的SEQ ID NO:6的氨基酸序列；所述HCDR3包括SEQ ID NO:26的氨基酸序列或包括两个或更少个氨基酸取代的SEQ ID NO:26的氨基酸序列；所述LCDR1包括SEQ ID NO:30的氨基酸序列或包括两个或更少个氨基酸取代的SEQ ID NO:30的氨基酸序

列;所述LCDR2包括SEQ ID NO:32的氨基酸序列或包括两个或更少个氨基酸取代的SEQ ID NO:32的氨基酸序列;并且所述LCDR3包括SEQ ID NO:34的氨基酸序列或包括两个或更少个氨基酸取代的SEQ ID NO:34的氨基酸序列。

[0113] 在一些方面,所述HCDR1包括SEQ ID NO:24的氨基酸序列;所述HCDR2包括SEQ ID NO:6的氨基酸序列;所述HCDR3包括SEQ ID NO:26的氨基酸序列;所述LCDR1包括SEQ ID NO:30的氨基酸序列;所述LCDR2包括SEQ ID NO:32的氨基酸序列;并且所述LCDR3包括SEQ ID NO:34的氨基酸序列。

[0114] 在一些方面,所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括:HCVR,所述HCVR包括SEQ ID NO:22的氨基酸序列或与其至少95%相同的氨基酸序列;以及LCVR,所述LCVR包括SEQ ID NO:28的氨基酸序列或与其至少95%相同的氨基酸序列。

[0115] 在一些方面,所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括:HCVR,所述HCVR包括SEQ ID NO:22的氨基酸序列;以及LCVR,所述LCVR包括SEQ ID NO:28的氨基酸序列。

[0116] 抗FGFR2抗体和其抗原结合片段的功能保守变体也是本发明的一部分。抗FGFR2抗体和其抗原结合片段(如本文所讨论的)的抗体中的任何抗体可以是"功能保守变体"。在一些情况下,此类功能保守变体也可以被表征为经保守修饰的变体。如本文所使用的"功能保守变体"是指其中一个或多个氨基酸残基在没有显著改变抗体或片段的一个或多个功能性质的情况下已经变化的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段的变体。在本发明的实施例中,本公开的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段的功能保守变体包括变体氨基酸序列,并且表现出以下功能性质中的一种或多种功能性质:

[0117] • 如通过表面等离子体共振测量的,以等于或小于2.5×10^{-8}M的K_D与FGFR2b结合;

[0118] • 相对于hFGFR2c而选择性地与hFGFR2b结合;和/或

[0119] • 如通过表面等离子体共振测量的半衰期($t^1/_2$)大于约10分钟。

[0120] 包括Fc变体的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段

[0121] 根据本文所提供的某些实施例,提供了抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括Fc结构域,所述Fc结构域包括例如,如与中性pH相比在酸性pH下增强或减弱抗体与FcRn受体的结合的一个或多个突变。例如,本公开包含在Fc结构域的C_H2区或C_H3区中包括突变的抗FGFR2抗体,其中所述突变增加Fc结构域在酸性环境中(例如,在pH范围为约5.5至约6.0的核内体中)对FcRn的亲和力。当施用于动物时,此类突变可以导致抗体的血清半衰期增加。此类Fc修饰的非限制性实例包含例如位置250(例如,E或Q);250和428(例如,L或F);252(例如,L/Y/F/W或T)、254(例如,S或T)和256(例如,S/R/Q/E/D或T)处的修饰;或位置428和/或433(例如,H/L/R/S/P/Q或K)和/或434处的修饰(例如,A、W、H、F或Y[N434A、N434W、N434H、N434F或N434Y]);或位置250和/或428处的修饰;或位置307或308处的修饰(例如,308F、V308F)以及位置434处的修饰。在一个实施例中,修饰包括428L(例如,M428L)和434S(例如,N434S)修饰;428L、259I(例如,V259I)和308F(例如,V308F)修饰;433K(例如,H433K)和434(例如,434Y)修饰;252、254和256(例如,252Y、254T和256E)修饰;250Q和428L修饰(例如,T250Q和M428L);和307和/或308修饰(例如,308F或308P)。在又另一个实施例中,修饰包括265A(例如,D265A)和/或297A(例如,N297A)修饰。

[0122] 例如,本文提供了抗FGFR2抗体,所述抗FGFR2抗体包括Fc结构域,所述Fc结构域包括选自由以下组成的组的一个或多个突变对或突变组:250Q和248L(例如,T250Q和M248L);

252Y、254T和256E(例如,M252Y、S254T和T256E);428L和434S(例如,M428L和N434S);257I和311I(例如,P257I和Q311I);257I和434H(例如,P257I和N434H);376V和434H(例如,D376V和N434H);307A、380A和434A(例如,T307A、E380A和N434A);以及433K和434F(例如,H433K和N434F)。在本公开的范围内设想了前述Fc结构域突变的所有可能的组合和本文所公开的抗体可变结构域内的其它突变。

[0123] 本公开还包含包括嵌合重链恒定区(C_H)的抗FGFR2抗体,其中所述嵌合C_H区包括源自多于一种的免疫球蛋白同种型的C_H区的区段。例如,本公开的抗体可以包括嵌合C_H区,其包括源自人IgG1、人IgG2或人IgG4分子、与源自人IgG1、人IgG2或人IgG4分子的C_H3结构域的一部分或全部组合的C_H2结构域的一部分或全部。根据某些实施例,本文所提供的抗体包括具有嵌合铰链区的嵌合C_H区。例如,嵌合铰链可以包括源自人IgG1、人IgG2或人IgG4铰链区的"上铰链"氨基酸序列(根据EU编号来自位置216至227位的氨基酸残基),其与源自人IgG1、人IgG2或人IgG4铰链区的"下铰链"序列(根据EU编号来自位置228至236位的氨基酸残基)相结合。根据某些实施例,嵌合铰链区包括源自人IgG1或人IgG4上铰链的氨基酸残基和源自人IgG2下铰链的氨基酸残基。在某些实施例中,包括本文所描述的嵌合C_H区的抗体可以表现出不会不利地影响抗体的治疗或药代动力学性质的经修饰的Fc效应子功能。(参见例如,2013年2月1日提交的美国临时申请第61/759,578号)。

[0124] 多特异性抗体

[0125] 本文所提供的抗体可以是单特异性的、双特异性的或多特异性的。多特异性抗体可以对一种靶多肽的不同表位具有特异性,或者可以含有对多于一种靶多肽具有特异性的抗原结合结构域。参见例如,Tutt等人,1991,《免疫学期刊(J.Immunol.)》147:60-69;Kufer等人,2004,《生物科技趋势(Trends Biotechnol.)》22:238-244。

[0126] 本文提供的多特异性抗原结合分子中的任一者或其变体可以使用标准分子生物学技术(例如,重组DNA和蛋白质表达技术)来构建,如本领域的普通技术人员所已知。

[0127] 在一些实施例中,FGFR2特异性抗体以双特异性形式("双特异性")产生,其中与FGFR2的不同结构域结合的可变区连接在一起,以在单个结合分子内赋予双重抗原特异性。适当设计的双特异性可以通过增加特异性和结合亲合性两者来增强总体FGFR2抑制效力。对单个结构域具有特异性的可变区,或可以与一个结构域内的不同区结合的可变区在一个结构支架上配对,所述结构支架允许每个区同时与单个表位结合,或与一个结构域内的不同区结合。在双特异性的一个实例中,来自对一个域具有特异性的结合物的重链可变区(V_H)与来自一系列对第二个域具有特异性的结合物的轻链可变区(V_L)重新组合,以确定可以与原始V_H配对而不破坏所述V_H的原始特异性的非同源V_L搭配物。以这种方式,单个V_L区段(例如,V_L1)可以与两个不同的V_H结构域(例如,V_H1和V_H2)组合,以产生由两个结合"臂"(V_H1-V_L1和V_H2-V_L1)构成的双特异性。使用单个V_L区段降低了系统的复杂性,从而简化了用于产生双特异性的克隆、表达和纯化过程并提高了效率(参见例如USSN13/022759和US2010/0331527)。

[0128] 可替代地,与多于一个结构域和第二靶标结合的抗体,如但不限于例如第二不同的抗FGFR抗体,可以使用本文所描述的技术或本领域技术人员已知的其它技术以双特异性形式制备。与不同区结合的抗体可变区可以与和例如FGFR2上的相关位点结合的可变区连接在一起,以在单个结合分子内赋予双重抗原特异性。适当设计的这种性质的双特异性具

有双重功能。对一种抗原具有特异性的可变区与对FGFR2具有特异性的可变区相结合，并在允许每个可变区与分离的抗原结合的结构支架上配对。

[0129] 可以在本公开的上下文中使用的示例性双特异性抗体形式涉及第一免疫球蛋白(Ig)C_H3结构域和第二Ig C_H3结构域的使用，其中所述第一和第二Ig C_H3结构域的至少一个氨基酸彼此不同，并且其中至少一个氨基酸差异与缺乏氨基酸差异的双特异性抗体相比减少了双特异性抗体与蛋白A的结合。在一个实施例中，第一C_H3结构域结合蛋白A，并且第二C_H3结构域含有降低或消除蛋白质A结合的突变，如H95R修饰(通过IMGT外显子编号;H435R，通过EU编号)。第二C_H3可以进一步包括Y96F修饰(通过IMGT;Y436F，通过EU)。可以在第二C_H3内找到的另外的修饰包含：在IgG1抗体的情况下，D16E、L18M、N44S、K52N、V57M和V82I(通过IMGT;D356E、L358M、N384S、K392N、V397M和V422I，通过EU)；在IgG2抗体的情况下，N44S、K52N和V82I(IMGT;N384S、K392N和V422I，通过EU)；以及在IgG4抗体的情况下，Q15R、N44S、K52N、V57M、R69K、E79Q和V82I(通过IMGT;Q355R、N384S、K392N、V397M、R409K、E419Q和V422I，通过EU)。在本公开的范围内设想了上文所述的双特异性抗体形式的变化。

[0130] 可以在本公开的上下文中使用的其它示例性双特异性形式包含但不限于例如，基于scFv的或双抗体双特异性形式、IgG-scFv融合、双可变结构域(DVD)-Ig、四杂交瘤(Quadroma)、结节入孔(knobs-into-holes)、共同轻链(例如，具有结节入孔的共同轻链等)、CrossMab、CrossFab、(SEED)body、亮氨酸拉链、Duobody、IgG1/IgG2、双作用Fab(DAF)-IgG以及Mab^2双特异性形式(参见例如，Klein等人2012，《mAbs》4:6,1-11，以及其中引用的参考文献，用于回顾前述形式)。还可以使用肽/核酸缀合构建双特异性抗体，例如，其中使用具有正交化学反应性的非天然氨基酸来产生位点特异性抗体-寡核苷酸缀合物，然后将其自组装成具有确定组成、价数和几何形状的多聚体复合物。(参见例如，Kazane等人，《美国化学学会杂志(J.Am.Chem.Soc.)》[电子版:2012年12月4日])。

[0131] 因此，本文涵盖包括与FGFR2结合的至少一个抗原结合结构域的双特异性抗体。用于制备双特异性抗体的方法是本领域已知的，并且可以用于构建本文所公开的双特异性抗原结合分子。

[0132] 可以包含在抗FGFR2双特异性抗原结合分子中的示例性抗原结合结构域包含源自本文所公开的任何抗FGFR2序列的一个或多个抗原结合结构域。例如，本公开包含FGFR2 x FGFR2双特异性抗原结合分子，其包括D1和/或D2抗原结合结构域，所述抗原结合结构域包括HCVR，所述HCVR包括选自表3中所列出的任何HCVR氨基酸序列的氨基酸序列或其与其具有至少90％、至少95％、至少98％或至少99％序列同一性的基本上类似的序列。本文还提供了FGFR2 x FGFR2双特异性抗原结合分子，其包括D1和/或D2抗原结合结构域，所述抗原结合结构域包括LCVR，所述LCVR包括选自表3中所列出的任何LCVR氨基酸序列的氨基酸序列或其与其具有至少90％、至少95％、至少98％或至少99％序列同一性的基本上类似的序列。

[0133] 本文所提供的抗原结合分子的生物学特性

[0134] 本文提供了以高亲和力与人FGFR2(例如，hFGFR2b.mmh)结合的抗FGFR2抗体和其抗原结合片段。例如，本公开包含以小于约25nM的K_D与人FGFR2结合的抗FGFR2抗体和其抗原结合片段，如例如使用本文实例3中限定的测定形式或基本上类似的测定在25℃下通过表面等离子体共振测量的。根据某些实施例，提供了在25℃下以小于约25nM、小于约20nM、小于约18nM、小于约15nM、小于约12nM、小于约10nM、小于约9nM或小于约8nM的K_D与人FGFR2

结合的抗FGFR2抗体和其抗原结合片段，如例如使用本文实例3中限定的测定形式或基本上类似的测定通过表面等离子体共振测量的。

[0135] 本文还提供了以大于约10分钟的解离半衰期($t^1/_2$)与人FGFR2(例如，hFGFR2b.mmh)结合的抗FGFR2抗体和其抗原结合片段，如例如使用本文实例3中限定的测定形式或基本上类似的测定在25℃下通过表面等离子体共振测量的。根据某些实施例，提供了在25℃下以大于约12分钟、大于约14分钟、大于约16分钟、大于约18分钟、大于约20分钟、大于约22分钟、大于约24分钟或大于约25分钟或更长的$t^1/_2$与人FGFR2结合的抗FGFR2抗体和其抗原结合片段，如例如使用本文实例3中限定的测定形式或基本上类似的测定通过表面等离子体共振测量的。

[0136] 因此，本文提供了与FGFR2结合的分离的单克隆抗体或其抗原结合片段，其中所述抗体或其抗原结合片段表现出以下特性中的一种或多种特性：

[0137] (a)是完全人类单克隆抗体；

[0138] (b)如通过表面等离子体共振测量的，以等于或小于2.5×10^{-8}M的K_D与FGFR2b结合；

[0139] (c)相对于hFGFR2c而选择性地与hFGFR2b结合；以及

[0140] (d)包括三个重链CDR(HCDR1、HCDR2和HCDR3)，所述三个重链CDR包含在SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:22的重链可变区(HCVR)氨基酸序列或与其至少90％相同的氨基酸序列内；以及三个轻链CDR(LCDR1、LCDR2和LCDR3)，所述三个轻链CDR包含在SEQ ID NO:10或SEQ ID NO:28的轻链可变区(LCVR)氨基酸序列或与其至少90％相同的氨基酸序列内。

[0141] 本文还提供了抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段具有以下特性中的一种或多种特性：

[0142] (a)是完全人类单克隆抗体；

[0143] (b)如通过表面等离子体共振测量的，以等于或小于2.5×10^{-8}M的K_D与FGFR2b结合；

[0144] (c)如通过表面等离子体共振测量的半衰期($t^1/_2$)大于约10分钟；以及

[0145] (d)相对于hFGFR2c而选择性地与hFGFR2b结合。

[0146] 本文还提供了抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段具有以下特性中的一种或多种特性：

[0147] (a)是完全人类单克隆抗体；

[0148] (b)如通过表面等离子体共振测量的，以等于或小于8.9×10^{-9}M的K_D与FGFR2b结合；

[0149] (c)如通过表面等离子体共振测量的半衰期($t^1/_2$)大于约25分钟；以及

[0150] (d)相对于hFGFR2c而选择性地与hFGFR2b结合。

[0151] 本文还提供了与细胞毒素缀合的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段具有以下特性中的一种或多种特性：

[0152] (a)相对于表达hFGFR2c的细胞而选择性地对表达hFGFR2b的细胞具有细胞毒性；

[0153] (b)如通过表面等离子体共振测量的，以等于或小于4.8×10^{-8}M的K_D与FGFR2b结合；

[0154] (c)如通过表面等离子体共振测量的半衰期($t^1/_2$)大于约7分钟；以及

[0155] (d)以剂量依赖性方式诱导FGFR2b阳性肿瘤的消退。

[0156] 本文还提供了抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，当其与细胞毒素缀合时对低FGFR2b表达但高FGFR2c表达的细胞具有弱细胞毒性；对不表达FGFR2的细胞具有弱细胞毒性；和/或对FGFR2b阳性细胞具有细胞毒性。根据某些实施例，本文提供了抗FGFR2抗体和其抗原结合片段，当其与细胞毒素缀合时对低FGFR2b但高FGFR2c表达NCI-H716细胞具有弱细胞毒性，即IC50大于约20nM；对不表达FGFR2的IM-9细胞具有弱细胞毒性，即IC50大于约20nM；和/或对FGFR2b阳性MFM-223或SNU-16细胞具有细胞毒性，即IC50小于约270pM，例如，小于约268pM、小于约214pM、小于约206pM、小于约172pM、小于约125pM、小于约63pM、小于约43.4pM或小于约37pM，使用如本文实例6中限定的体外细胞毒性测定形式或基本上类似的测定。

[0157] 本文还提供了抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，当所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段与细胞毒素缀合时减少FGFR2b阳性肿瘤的肿瘤生长。本文还提供了抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，当所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段与细胞毒素缀合时引起FGFR2b阳性肿瘤的肿瘤消退。可以使用如本文实例7中所描述的植入SCID小鼠中的肿瘤异种移植物或基本上类似的测定来确定肿瘤生长和肿瘤消退的减少。

[0158] 根据某些实施例，本文提供了抗FGFR2抗体和其抗原结合片段，当其与如妥布赖森1ALP等细胞毒素缀合时在以一次性皮下注射方式施用0.1mg/kg抗FGFR2抗体的小鼠中将SNU-16异种移植物肿瘤生长降低至少16.2％。根据某些实施例，本文提供了抗FGFR2抗体和其抗原结合片段，当其与如妥布赖森1ALP等细胞毒素缀合时在以一次性皮下注射方式施用0.3mg/kg抗FGFR2抗体的小鼠中将SNU-16异种移植物肿瘤生长降低至少72.7％。根据某些实施例，本文提供了抗FGFR2抗体和其抗原结合片段，当其与如妥布赖森1ALP等细胞毒素缀合时在以一次性皮下注射方式施用1.0mg/kg抗FGFR2抗体的小鼠中将SNU-16异种移植物肿瘤生长降低至少132.5％。根据某些实施例，本文提供了抗FGFR2抗体和其抗原结合片段，当其与如妥布赖森1ALP等细胞毒素缀合时在以一次性皮下注射方式施用3.0mg/kg抗FGFR2抗体的小鼠中将SNU-16异种移植物肿瘤生长降低至少139％。

[0159] 根据某些实施例，本文提供了抗FGFR2抗体和其抗原结合片段，当其与如美登素类化合物1ALP等细胞毒素缀合时在以一次性皮下注射方式施用1.0mg/kg抗FGFR2抗体的小鼠中将SNU-16异种移植物肿瘤生长降低至少63.9％。根据某些实施例，本文提供了抗FGFR2抗体和其抗原结合片段，当其与如美登素类化合物1ALP等细胞毒素缀合时在以一次性皮下注射方式施用3mg/kg抗FGFR2抗体的小鼠中将SNU-16异种移植物肿瘤生长降低至少89.2％。根据某些实施例，本文提供了抗FGFR2抗体和其抗原结合片段，当其与如美登素类化合物1ALP等细胞毒素缀合时在以一次性皮下注射方式施用10mg/kg抗FGFR2抗体的小鼠中将SNU-16异种移植物肿瘤生长降低至少102.3％。根据某些实施例，本文提供了抗FGFR2抗体和其抗原结合片段，当其与如美登素类化合物1ALP等细胞毒素缀合时在以一次性皮下注射方式施用15mg/kg抗FGFR2抗体的小鼠中将SNU-16异种移植物肿瘤生长降低至少100.4％。

[0160] 根据某些实施例，本文提供了抗FGFR2抗体和其抗原结合片段，当其与如喜树碱LP1(8DAR)等细胞毒素缀合时在以一次性皮下注射方式施用1.0mg/kg抗FGFR2抗体的小鼠中将SNU-16异种移植物肿瘤生长降低至少99％。根据某些实施例，本文提供了抗FGFR2抗体和其抗原结合片段，当其与如喜树碱LP1(8DAR)等细胞毒素缀合时在以一次性皮下注射方

式施用3mg/kg抗FGFR2抗体的小鼠中将SNU异种移植物肿瘤生长降低至少131％。根据某些实施例，本文提供了抗FGFR2抗体和其抗原结合片段，当其与如喜树碱LP1(8DAR)等细胞毒素缀合时在以一次性皮下注射方式施用10mg/kg抗FGFR2抗体的小鼠中将SNU异种移植物肿瘤生长降低至少131％。

[0161] 根据某些实施例，本文提供了抗FGFR2抗体和其抗原结合片段，当其与如喜树碱LP2(4DAR)等细胞毒素缀合时在于第0天和第7天通过皮下注射方式施用0.3mg/kg抗FGFR2抗体的小鼠中将SNU-16异种移植物肿瘤生长降低至少72％。根据某些实施例，本文提供了抗FGFR2抗体和其抗原结合片段，当其与如喜树碱LP2(4DAR)等细胞毒素缀合时在于第0天和第7天通过皮下注射方式施用1mg/kg抗FGFR2抗体的小鼠中将SNU异种移植物肿瘤生长降低至少106％。根据某些实施例，本文提供了抗FGFR2抗体和其抗原结合片段，当其与如喜树碱LP2(4DAR)等细胞毒素缀合时在于第0天和第7天通过皮下注射方式施用3mg/kg抗FGFR2抗体的小鼠中将SNU异种移植物肿瘤生长降低至少137％。

[0162] 本公开的抗原结合蛋白可以具有前述生物学特性或其任何组合中的一种或多种。所述抗体的生物学特性的前述列表并非旨在穷举。通过阅读本公开，包含本文的工作实例，本文所提供的抗体的其它生物学特性对于本领域普通技术人员而言是显而易见的。

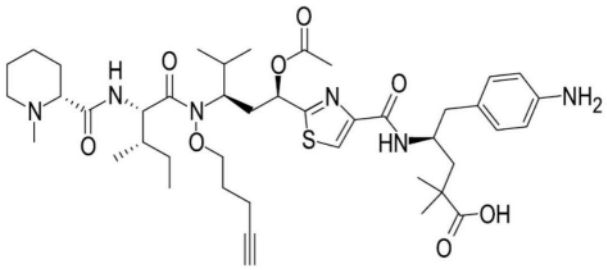
[0163] 抗体-药物缀合物(ADC)

[0164] 本文提供了抗体-药物缀合物(ADC)，所述抗体-药物缀合物包括与如细胞毒性剂(即，细胞毒素)、化学治疗药或放射性同位素等治疗部分缀合的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段。

[0165] 细胞毒性剂包含对细胞的生长、活力或繁殖有害的任何药剂，包含但不限于微管蛋白相互作用剂和DNA破坏剂。在一些实施例中，所述细胞毒性剂是微管蛋白抑制剂。在特定实施例中，所述微管蛋白抑制剂抑制微管蛋白聚合。在一些实施例中，所述细胞毒性有效载荷是拓扑异构酶I抑制剂。在一些实施例中，所述细胞毒性剂是美登素类化合物、澳瑞他汀、哈米特林(hemiasterlin)、长春碱(vinblastine)、长春新碱(vincristine)、吡咯并苯二氮卓(pyrrolobenzodiazepine)、紫杉醇(paclitaxel)、多西紫杉醇(docetaxel)、念珠藻素(cryptophycin)、妥布赖森或喜树碱类似物。根据本公开的此方面可以与抗FGFR2抗体缀合的合适细胞毒性剂和化学治疗剂的实例还包含以下：例如，1-(2氯乙基)-1,2-二甲磺酰肼、1,8-二羟基-双环[7.3.1]十三碳-4,9-二烯-2,6-二炔-13-酮、1-脱氢睾酮、5-氟尿嘧啶、6-巯基嘌呤、6-硫鸟嘌呤、9-氨基喜树碱、放线菌素D、鹅膏蕈碱(amanitin)、氨基蝶呤(aminopterin)、蛇形菌素(anguidine)、蒽环霉素(anthracycline)、氨茴霉素(AMC)、博莱霉素(bleomycin)、白消安(busulfan)、丁酸、加利车霉素(calicheamicin)(例如，加利车霉素γ_1)、喜树碱、洋红霉素(carminomycin)、卡莫司汀(carmustine)、西马多丁(cemadotin)、顺铂(cisplatin)、秋水仙素(colchicin)、康普瑞汀(combretastatin)、环磷酰胺(cyclophosphamide)、阿糖胞苷(cytarabine)、细胞松弛素B、Dxd或其衍生物、放线菌素D(dactinomycin)、柔红霉素(daunorubicin)、鸡烯咪胺(decarbazine)、二乙酰氧基戊基多柔比星(diacetoxypentyldoxorubicin)、二溴甘露醇(dibromomannitol)、二羟基炭疽菌二酮(dihydroxy anthracin dione)、双萨拉唑(disorazole)、尾海兔素(dolastatin)(例如，尾海兔素10)、多柔比星(doxorubicin)、多卡米新(duocarmycin)、棘霉素(echinomycin)、五加素(eleutherobin)、吐根碱(emetine)、埃博霉素(epothilone)、埃斯

波霉素(esperamicin)、雌莫司汀(estramustine)、溴化乙锭(ethidium bromide)、依托泊苷(etoposide)、氟尿嘧啶(fluorouracil)、格尔德霉素(geldanamycin)、短杆菌肽D(gramicidin D)、糖皮质激素(glucocorticoid)、依立替康(irinotecan)、驱动蛋白纺锤体蛋白(KSP)抑制剂、轻肌蛋白(leptomycin)、环氧长春碱(leurosine)、利多卡因(lidocaine)、洛莫司汀(lomustine)(CCNU)、美登素类化合物、双氯乙基甲胺(mechlorethamine)、美法仑(melphalan)、巯基嘌呤(mercatopurine)、甲噪呤(methopterin)、甲氨蝶呤(methotrexate)、光神霉素(mithramycin)、丝裂霉素(mitomycin)、米托蒽醌(mitoxantrone)、N8-乙酰亚精胺(N8-acetyl spermidine)、鬼臼毒素(podophyllotoxin)、普鲁卡因(procaine)、普萘洛尔(propranolol)、蝶啶(pteridine)、嘌呤霉素(puromycin)、吡咯并苯二氮卓(PBD)、根霉素(rhizoxin)、链脲霉素(streptozotocin)、他利霉素(tallysomycin)、紫杉酚(taxol)、替尼泊苷(tenoposide)、丁卡因(tetracaine)、噻替派苯丁酸氮芥(thioepa chlorambucil)、茅屋霉素(tomaymycin)、拓扑替康(topotecan)、妥布赖森、长春碱、长春新碱、长春地辛(vindesine)、长春瑞滨(vinorelbine)以及任何前述的衍生物。根据某些实施例,与抗FGFR2抗体缀合的细胞毒性剂是美登素类化合物,如DM1或DM4、茅屋霉素衍生物或尾海兔素衍生物。根据某些实施例,与抗FGFR2抗体缀合的细胞毒性剂是澳瑞他汀,如MMAE、MMAF或其衍生物。在一些实施例中,所述细胞毒性剂是Dxd或其衍生物。在一些实施例中,所述细胞毒性剂是AZ13599185(参见例如,Li等人,2016《癌细胞(Cancer Cell)》29,117-129)。本领域已知的其它细胞毒性剂被考虑在本公开的范围内,包含例如,蛋白质毒素,如蓖麻毒素、艰难梭菌毒素、假单胞菌外毒素、蓖麻毒素、白喉毒素、肉毒杆菌毒素、异株泻根毒蛋白、皂草素、商陆毒素(即,商陆皂苷(phytolaccatoxin)和商陆皂苷元(phytolaccigenin)),以及其它毒素,如Sapra等人,《药理学与治疗法(Pharmacol.&Therapeutics)》,2013,138:452-469所示的那些毒素。在一些实施例中,所述细胞毒性剂是妥布赖森、美登素类化合物、或喜树碱或其类似物。

[0166] 在某些实施例中,所述细胞毒性剂是妥布赖森。合适的妥布赖森包含在2019年12月20日提交的美国专利申请16/724,164中描述的那些。在一些实施例中,所述妥布赖森是来自2019年12月20日提交的美国专利申请第16/724,164号的化合物IVa、IVa'、IVb、IVc、IVd、IVe、IVf、IVg、IVh、IVj、IVk、IV-1、IVm、IVn、IVo、IVp、IVq、IVr、IVs、IVt、IVu、IVvA、IVvB、IVw、IVx、IVy、Va、Va'、Vb、Vc、Vd、Ve、Vf、Vg、Vh、Vi、Vj、Vk、Via、VIb、VIc、VId、VIe、VIf、VIg、VIh、VI、VIi、VII、VIII、IX、X、D-5a或D-5c。在某些实施例中,所述妥布赖森是2019年12月20日提交的美国专利申请第16/724,164号中的化合物Ve。在一些实施例中,所述妥布赖森具有以下结构:

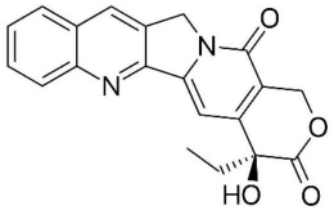
[0167] 

妥布赖森 1A

[0168] 妥布赖森1A可以使用2019年12月20日提交的US 16/724,164中公开的方法来制

备。

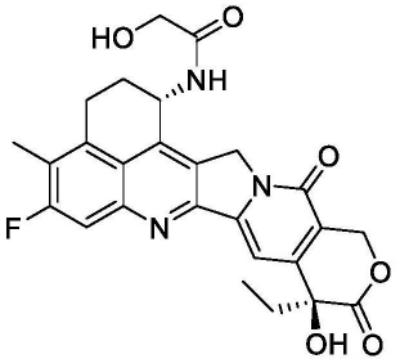
[0169] 在一些实施例中,本公开的有效载荷是喜树碱,在某些实施例中,本公开的有效载荷是喜树碱类似物和/或衍生物。

[0170] 

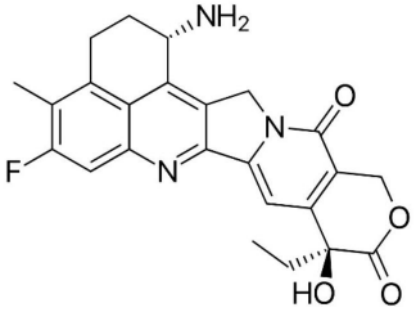
喜树碱

[0171] 在一些实施例中,合适的喜树碱类似物是拓扑替康、依立替康、贝洛替康(belotecan)或德卢替康(deruxtecan,Dxd)。

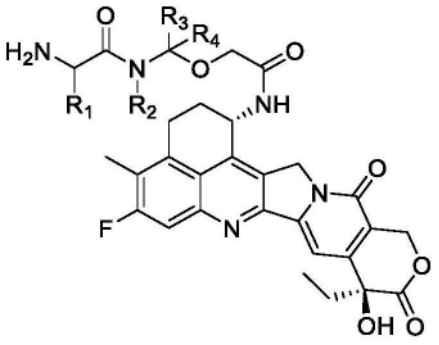
[0172] 在一个实施例中,本公开的有效载荷是德卢替康(Dxd):

[0173] 。

[0174] 在另一个实施例中,所述有效载荷是依喜替康(exatecan):

[0175] 

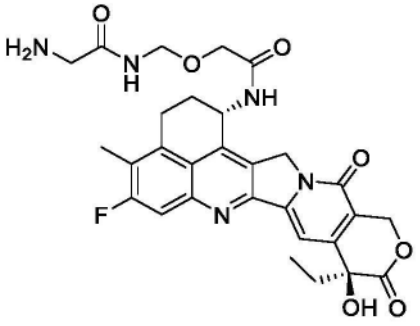
[0176] 在某些实施例中,本公开的有效载荷是具有结构P-I的喜树碱类似物:

[0177] (P-I),

[0178] 其中R_1、R_2和R_3以及R_4独立地是氢或烷基,例如,C_1-C_{12}烷基、或C_1-C_8烷基、或C_1-C_6烷基或C_1-C_4烷基,或者其中R_2和R_3一起形成5元或6元环,

[0179] 或其药学上可接受的盐。

[0180] 在一个实施例中，R_1是氢。在一个实施例中，R_2是氢。在一个实施例中，R_2是C_1-C_4烷基。在一个实施例中，R_3是氢。在一个实施例中，R_3是C_1-C_4烷基。在一个实施例中，R_4是氢。在一个实施例中，R_4是C_1-C_4烷基。在一个实施例中，R_1、R_2和R_3以及R_4在每次出现时是氢。在一个实施例中，本公开的化合物是P-IA：

[0181] 
（P-IA），

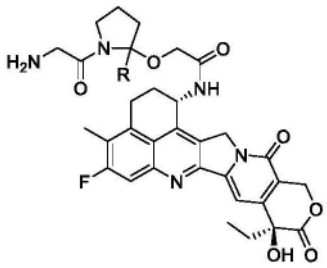
[0182] 或其药学上可接受的盐。在一些实施例中，将P-IA转换成dxd。在一些方面，将P-IA体内转换成dxd。在一些方面，所述ADC将所述有效载荷递送至表达FGFR2b的组织，如表达FGFR2b的肿瘤，并且在一些方面，将P-IA在局部环境中转换成dxd。在一些方面，所述ADC包括P-1A，并且将所述ADC在局部环境中转换成dxd。

[0183] 在一个实施例中，R_2和R_3一起形成5元环。在一个实施例中，R_2和R_3一起是-$(CH_2)_3$-。

[0184] 在一个实施例中，R_2和R_3一起形成6元环。在一个实施例中，R_2和R_3一起是-$(CH_2)_4$-。

[0185] 在一个实施例中，R_1是氢，并且R_2和R_3一起形成5元环。

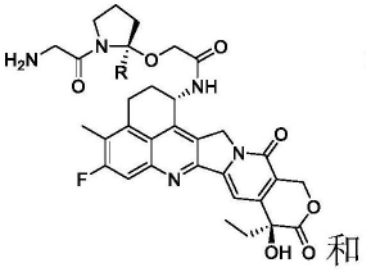
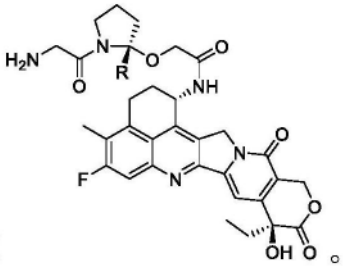
[0186] 在一个实施例中，本公开的化合物具有根据式(P-II)的结构：

[0187] 
（P-II），

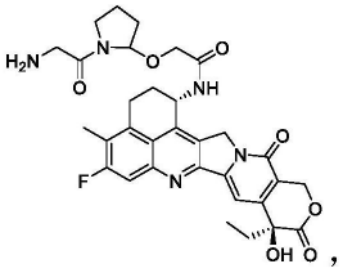
[0188] 其中R是氢或烷基，例如，C_1-C_{12}烷基、或C_1-C_8烷基、或C_1-C_6烷基或C_1-C_4烷基，

[0189] 或其药学上可接受的盐。

[0190] 本领域的技术人员应理解，上文所描绘的化合物P-II还意指包含结构的所有异构(例如，对映异构体、非对映异构体和几何(或构象))形式。例如，每个不对称中心的R和S构型都在本公开的范围内。作为实例，下文描绘的两个异构体在本公开的范围内：

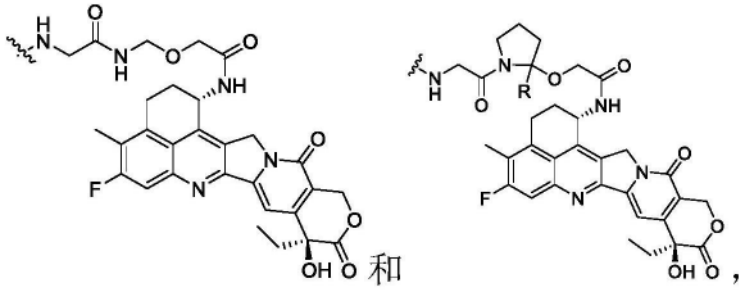
[0191] 
和

。

[0192] 在一个实施例中，本公开的化合物是

[0193] 

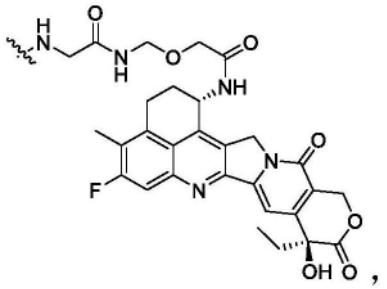
[0194] 或其药学上可接受的盐。

[0195] 在一个实施例中，根据本公开的有效载荷缀合以形成蛋白质-药物缀合物(例如，anti-FGFR2抗体-药物缀合物)。在一个实施例中，所述有效载荷与部分M共价连接。在一个实施例中，所述有效载荷是M-Dxd。在一个实施例中，M-Dxd具有选自由以下组成的组的结构：

[0196] 

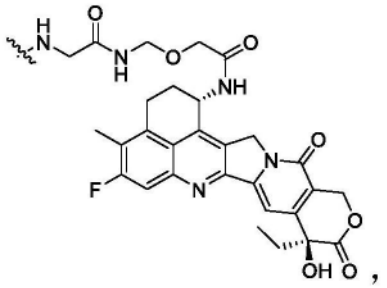
[0197] 其中R是氢或C_1-C_4烷基，并且其中〰表示与L2的连接点。

[0198] 在一个实施例中，根据本公开的有效载荷是：

[0199] 

[0200] 其中〰表示与接头的连接点。

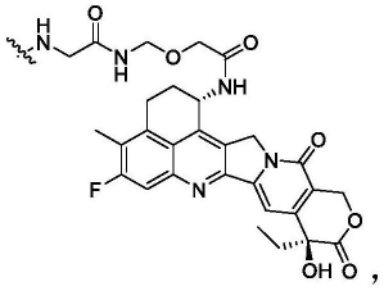
[0201] 本文提供了抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段通过接头与具有以下结构的有效载荷缀合：

[0202] 

[0203] 其中所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3氨基酸序列组，所述氨基酸序列组包含在HCVR/LCVR氨基酸序列对内，所述氨基酸序

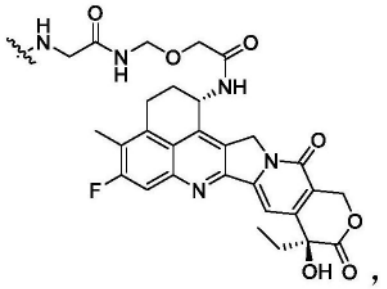
列对选自由以下组成的组:SEQ ID NO:2/10、22/28和40/44。

[0204] 本文提供了抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段通过接头与具有以下结构的有效载荷缀合:

[0205] 

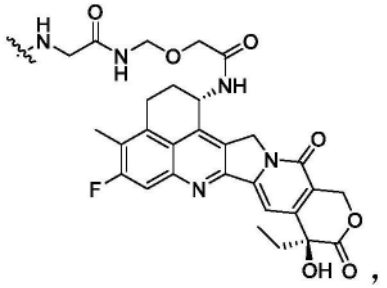
[0206] 其中所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括选自由以下组成的组的HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3氨基酸序列组:SEQ ID NO:4-6-8-12-14-16、24-6-26-30-32-34和24-6-42-46-32-34。

[0207] 本文提供了抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段通过接头与具有以下结构的有效载荷缀合:

[0208] 

[0209] 其中所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括选自由以下组成的组的HCVR/LCVR氨基酸序列对:SEQ ID NO:2/10、22/28和40/44。

[0210] 本文提供了抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段通过接头与具有以下结构的有效载荷缀合:

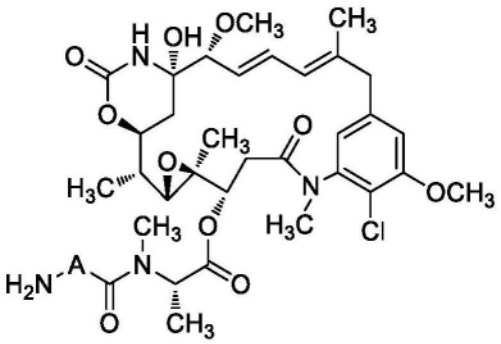
[0211] 

[0212] 其中所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括选自由以下组成的组的重链氨基酸序列:SEQ ID NO:18、36、49、52;SEQ ID NO:53;以及SEQ ID NO:54。在一些方面,所述抗EGFR2抗体或其抗原结合片段包括选自由以下组成的组的重链/轻链氨基酸序列对:SEQ ID NO:18/20、36/38、49/51、52/20、53/38和54/51。

[0213] 在某些实施例中,所述细胞毒性剂是美登素类化合物,例如,美登木素的衍生物。合适的美登素类化合物包含DM1、DM4或其衍生物、立体异构体或同位素体。合适的美登素类化合物还包含但不限于WO 2014/145090A1、WO 2015/031396A1、US 2016/0375147A1、US 10,570,151(例如,其中的化合物6)和US 2017/0209591A1中公开的那些,其全部内容通过

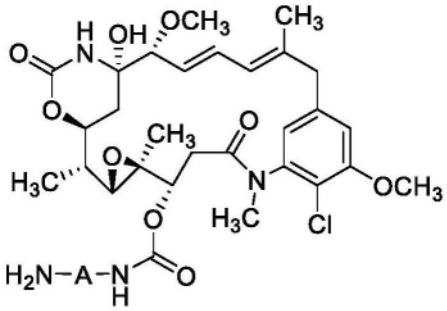
引用并入本文。在一些实施例中，所述美登素类化合物是DM1。

[0214] 在一些实施例中，所述美登素类化合物具有以下结构：

[0215] 

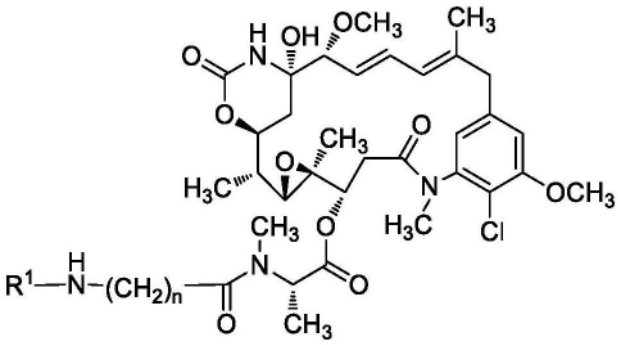
[0216] 其中A是任选地经取代的亚芳基或亚杂芳基。

[0217] 在一些实施例中，所述美登素类化合物具有以下结构：

[0218] 

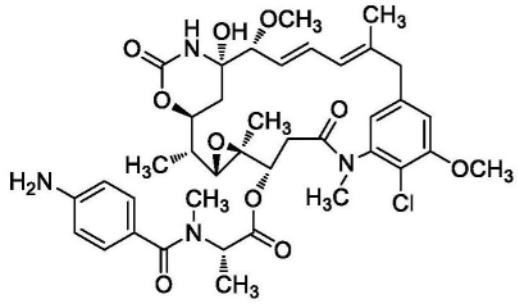
[0219] 其中A是任选地经取代的亚芳基或亚杂芳基。

[0220] 在一些实施例中，所述美登素类化合物具有以下结构：

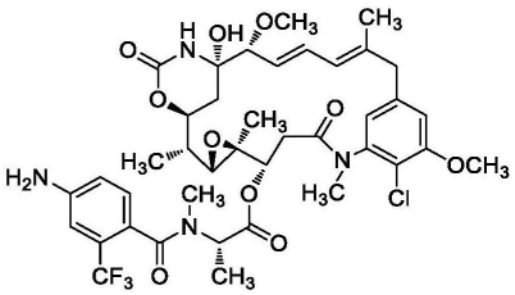
[0221] 

[0222] 其中n是1-12的整数并且R^1是烷基。

[0223] 在一些实施例中，所述美登素类化合物是：

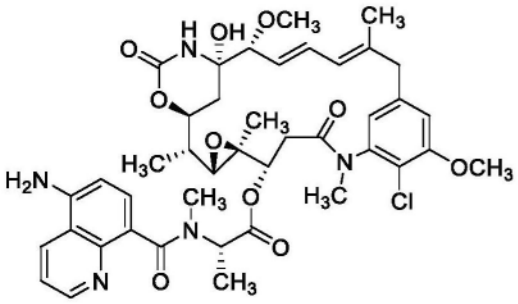


、

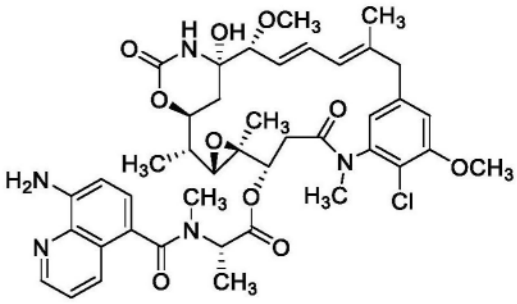


、

[0224]

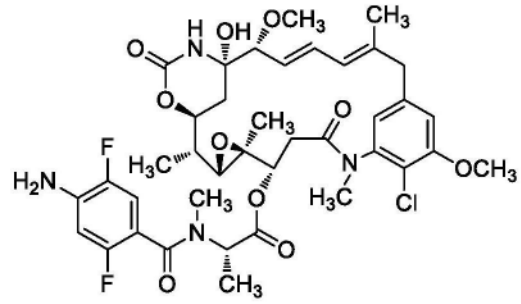


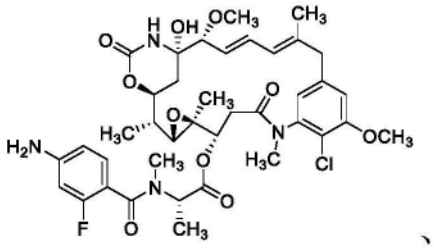
、

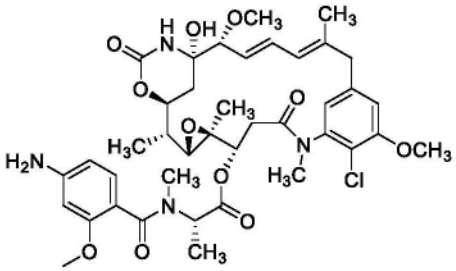


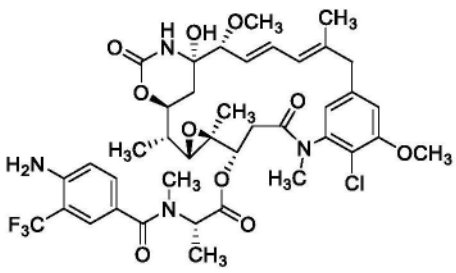
、

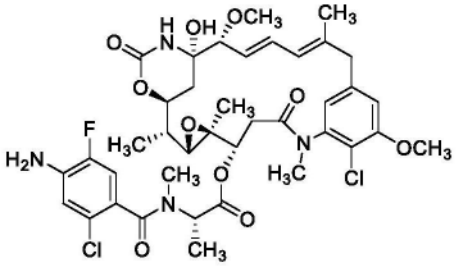
[0225]

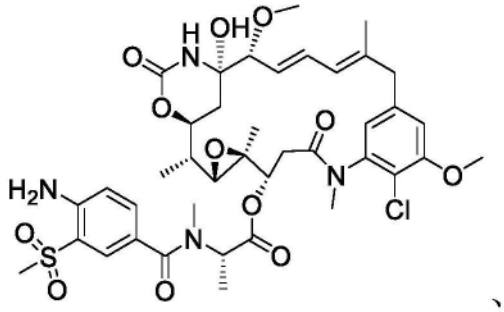


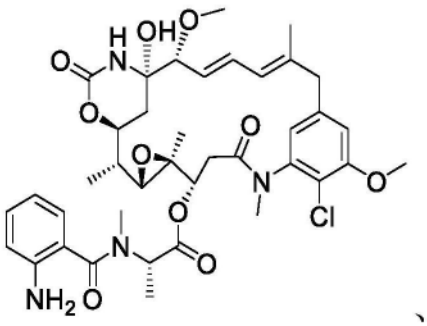


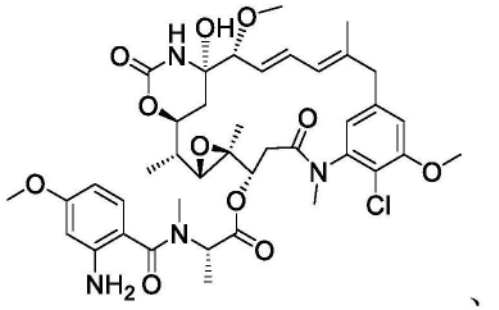


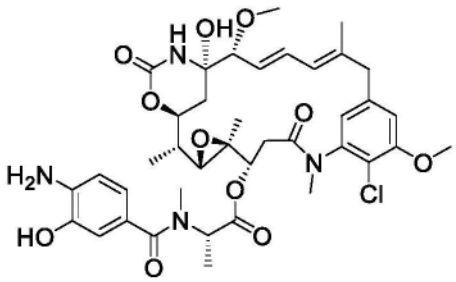


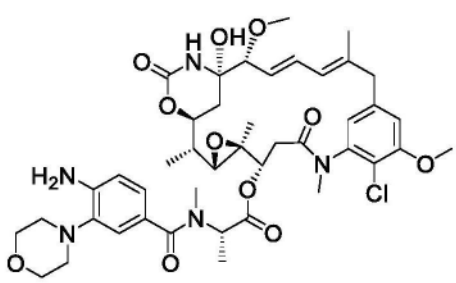




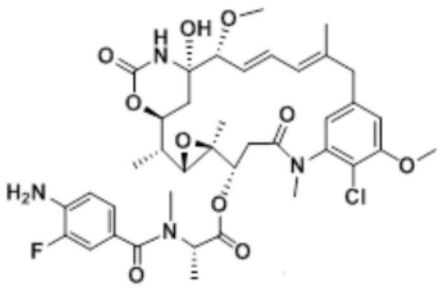
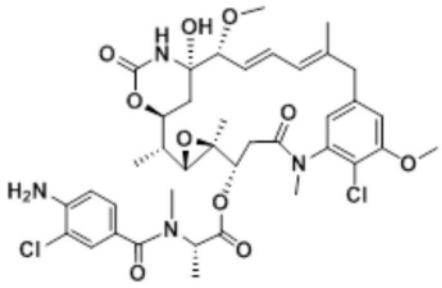
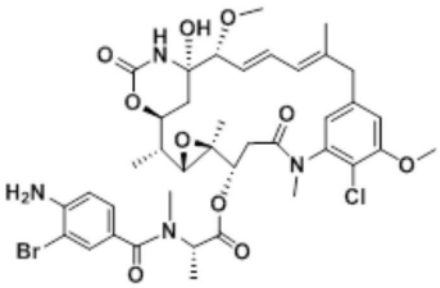
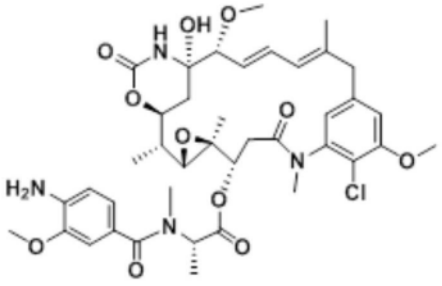
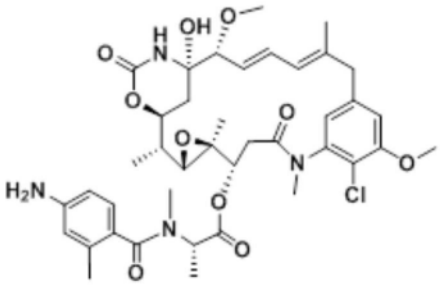
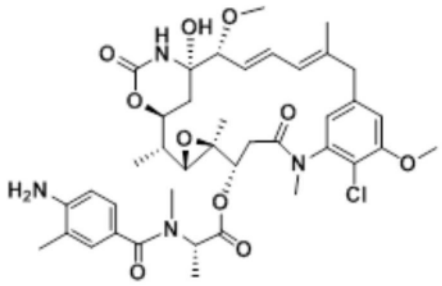
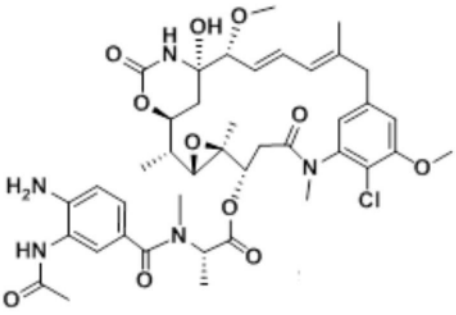
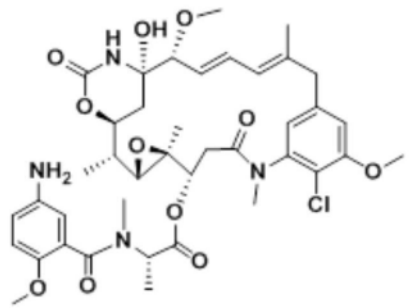
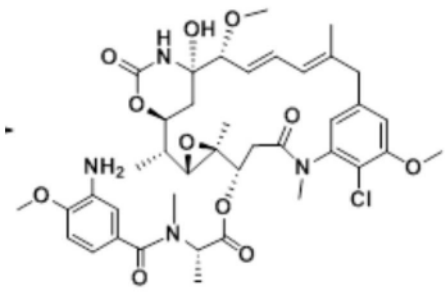
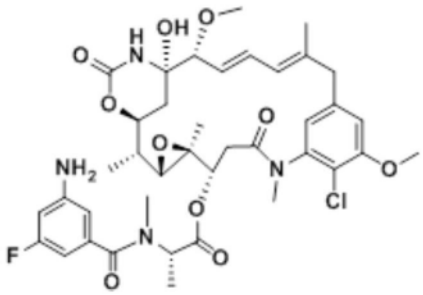


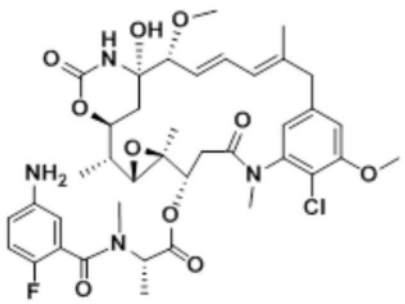
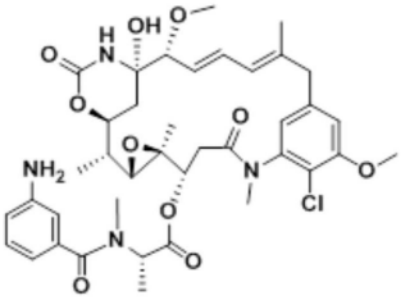
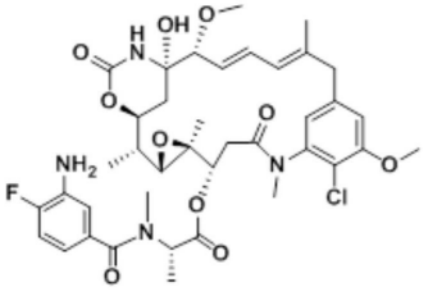
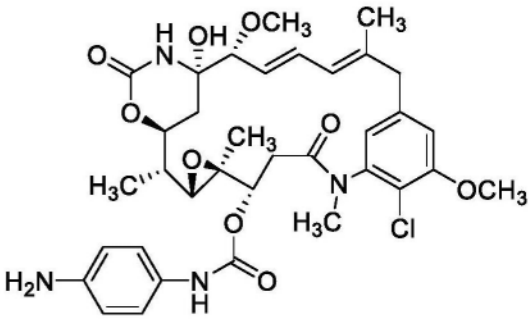


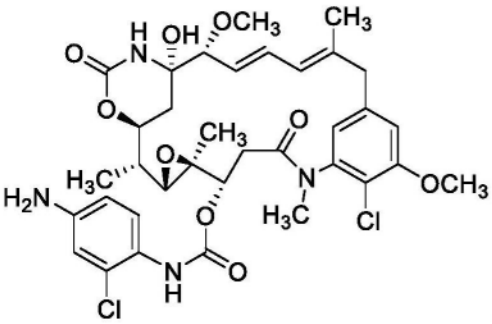
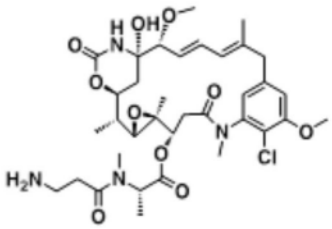
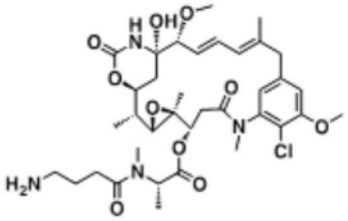
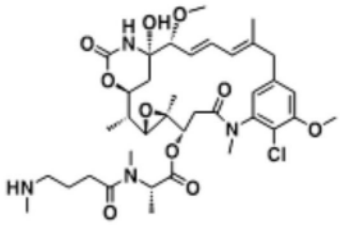
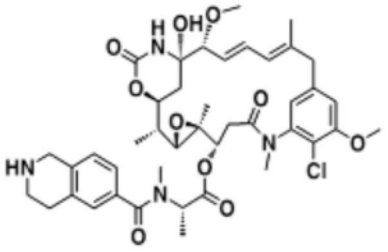
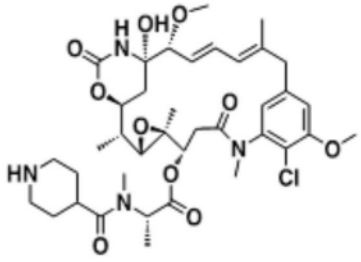




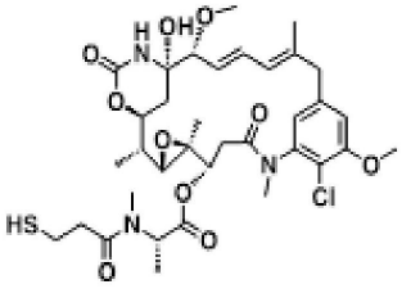
[0226]


、

、

、

、

、

、

、

、

、



、

、

、

、

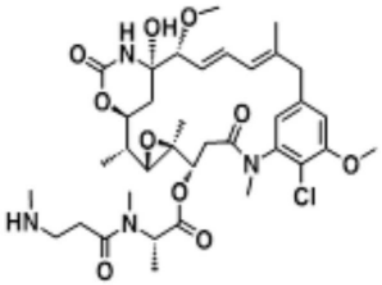
[0227]

、

、

、

、

或

。

[0228] 在一些实施例中,所述美登素类化合物是:

[0229] 

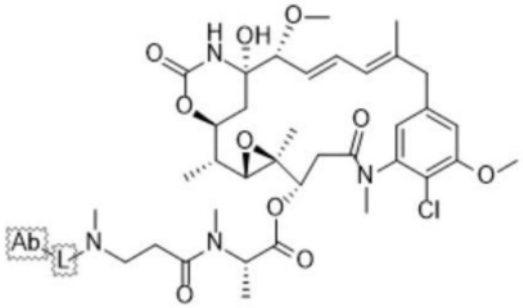
。

[0230] 在一些实施例中,所述美登素类化合物是具有式美登素类化合物1A的化合物:

[0231] 

美登素类化合物 1A。

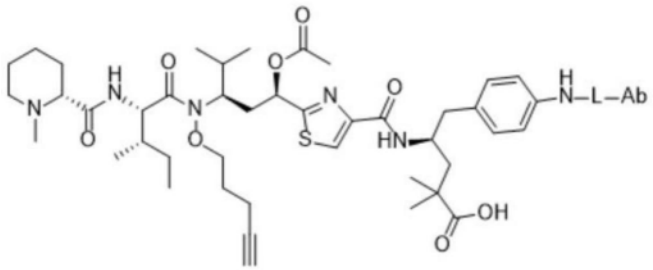
[0232] 本文还提供了抗体-药物缀合物,所述抗体-药物缀合物包括与美登素类化合物1A缀合的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体-药物缀合物具有以下结构:

[0233] 

[0234] 其中所述Ab是所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段并且L是接头。在一些实施例中,所述Ab是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:2的HCVR氨基酸序列内的CDR和SEQ ID NO:10的LCVR氨基酸序列内的CDR。在一些实施例中,所述Ab是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括:SEQ ID NO:4的HCDR1氨基酸序列;SEQ ID NO:6的HCDR2氨基酸序列;SEQ ID NO:8的HCDR3氨基酸序列;SEQ ID NO:12的LCDR1氨基酸序列;SEQ ID NO:14的LCDR2氨基酸序列;以及SEQ ID NO:16的LCDR3氨基酸序列。在一些实施例中,所述Ab是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:22的HCVR氨基酸序列内的CDR和SEQ ID NO:28的LCVR氨基酸序列内的CDR。在一些实施例中,所述Ab是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括:SEQ ID NO:24的HCDR1氨基酸序列;SEQ ID NO:6的HCDR2氨基酸序列;SEQ ID NO:26的HCDR3氨基酸序列;SEQ ID NO:30的LCDR1氨基酸序列;SEQ ID NO:32的LCDR2氨基酸序列;以及SEQ ID NO:34的LCDR3氨基酸序列。在一些实施例中,所述Ab是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:40的HCVR氨基酸序列内的CDR和SEQ ID NO:44的LCVR氨基酸序

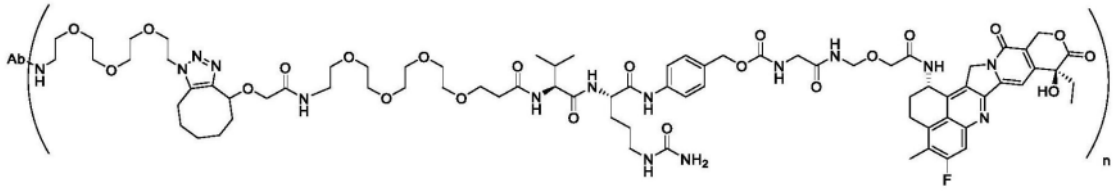
列内的CDR。在一些实施例中，所述Ab是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括：SEQ ID NO:24的HCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:6的HCDR2氨基酸序列；SEQ ID NO:42的HCDR3氨基酸序列；SEQ ID NO:46的LCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:32的LCDR2氨基酸序列；以及SEQ ID NO:34的LCDR3氨基酸序列。

[0235] 本文还提供了抗体-药物缀合物，所述抗体-药物缀合物包括与妥布赖森1A缀合的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，其中所述抗体-药物缀合物具有以下结构：

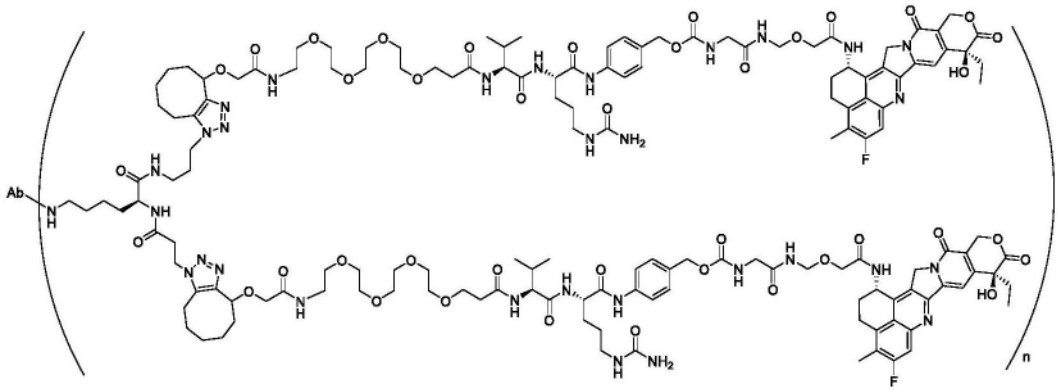
[0236] 

[0237] 其中所述Ab是所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段并且L是接头。在一些实施例中，所述Ab是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:2的HCVR氨基酸序列内的CDR和SEQ ID NO:10的LCVR氨基酸序列内的CDR。在一些实施例中，所述Ab是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括：SEQ ID NO:4的HCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:6的HCDR2氨基酸序列；SEQ ID NO:8的HCDR3氨基酸序列；SEQ ID NO:12的LCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:14的LCDR2氨基酸序列；以及SEQ ID NO:16的LCDR3氨基酸序列。在一些实施例中，所述Ab是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:22的HCVR氨基酸序列内的CDR和SEQ ID NO:28的LCVR氨基酸序列内的CDR。在一些实施例中，所述Ab是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括：SEQ ID NO:24的HCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:6的HCDR2氨基酸序列；SEQ ID NO:26的HCDR3氨基酸序列；SEQ ID NO:30的LCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:32的LCDR2氨基酸序列；以及SEQ ID NO:34的LCDR3氨基酸序列。在一些实施例中，所述Ab是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:40的HCVR氨基酸序列内的CDR和SEQ ID NO:44的LCVR氨基酸序列内的CDR。在一些实施例中，所述Ab是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括：SEQ ID NO:24的HCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:6的HCDR2氨基酸序列；SEQ ID NO:42的HCDR3氨基酸序列；SEQ ID NO:46的LCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:32的LCDR2氨基酸序列；以及SEQ ID NO:34的LCDR3氨基酸序列。

[0238] 本文还提供了抗体-药物缀合物，所述抗体-药物缀合物包括与喜树碱类似物缀合的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，其中所述抗体-药物缀合物具有以下结构：

[0239] 

或

[0240] 

[0241] 其中所述Ab是所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，并且n是2或4。在特定实施例中，n是2。在特定实施例中，n是4。在一些实施例中，所述Ab是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:2的HCVR氨基酸序列内的CDR和SEQ ID NO:10的LCVR氨基酸序列内的CDR。在一些实施例中，所述Ab是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括：SEQ ID NO:4的HCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:6的HCDR2氨基酸序列；SEQ ID NO:8的HCDR3氨基酸序列；SEQ ID NO:12的LCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:14的LCDR2氨基酸序列；以及SEQ ID NO:16的LCDR3氨基酸序列。在一些实施例中，所述Ab是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:22的HCVR氨基酸序列内的CDR和SEQ ID NO:28的LCVR氨基酸序列内的CDR。在一些实施例中，所述Ab是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括：SEQ ID NO:24的HCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:6的HCDR2氨基酸序列；SEQ ID NO:26的HCDR3氨基酸序列；SEQ ID NO:30的LCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:32的LCDR2氨基酸序列；以及SEQ ID NO:34的LCDR3氨基酸序列。在一些实施例中，所述Ab是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:40的HCVR氨基酸序列内的CDR和SEQ ID NO:44的LCVR氨基酸序列内的CDR。在一些实施例中，所述Ab是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括：SEQ ID NO:24的HCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:6的HCDR2氨基酸序列；SEQ ID NO:42的HCDR3氨基酸序列；SEQ ID NO:46的LCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:32的LCDR2氨基酸序列；以及SEQ ID NO:34的LCDR3氨基酸序列。n是2与12之间的值，例如，2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12。

[0242] 本文还提供了包括与一种或多种放射性核素缀合的抗FGFR2抗体的抗体-放射性核素缀合物(ARC)。可以在本公开的该方面的上下文中使用的示例性放射性核素包含但不限于例如，^{225}Ac、^{212}Bi、^{213}Bi、^{131}I、^{186}Re、^{227}Th、^{222}Rn、^{223}Ra、^{224}Ra和^{90}Y。

[0243] 在本文所提供的某些实施例中，提供了包括抗FGFR2抗体或其抗原结合片段的ADC，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段通过接头与细胞毒性剂(例如，上文所公开的任何细胞毒性剂)缀合。接头是将本文所描述的抗体或抗原结合蛋白与治疗部分，例如，细胞毒性剂连接、连结或结合的任何基团或部分。例如，合适的接头可以见于《抗体-药物缀合物和免疫毒素(Antibody-Drug Conjugates and Immunotoxins)》；Phillips,G.L.编辑；施普林格出版社(Springer Verlag)：纽约，2013；《抗体-药物缀合物(Antibody-Drug Conjugates)》；Ducry,L.编辑；胡玛纳出版社(Humana Press)，2013；《抗体-药物缀合物》；Wang,J.,Shen,W.-C.和Zaro,J.L.编辑；施普林格国际出版公司(Springer International

Publishing),2015,每篇文献的内容均以引用的方式整体并入本文。通常,本文所描述的抗体缀合物的合适的结合剂接头是稳定性足够利用抗体的循环半衰期并且同时能够在抗原结合和/或抗原介导的缀合物内化时释放其有效载荷的那些。接头可以是可切割的或不可切割的。可切割接头包含内化后被细胞内代谢切割的接头,例如,通过水解、还原或酶促反应切割。不可切割接头包含通过内化后的抗体的溶酶体降解释放附接的有效载荷的接头。合适的接头包含但不限于酸不稳定接头、水解不稳定接头、酶促可切割接头、还原不稳定接头、自我牺牲接头以及不可切割接头。合适的接头还包含但不限于为或包括以下的那些:肽、葡糖苷酸、琥珀酰亚胺-硫醚、聚乙二醇(PEG)单元、脲、马来酰亚胺己酰单元、二肽单元、缬氨酸-瓜氨酸单元和对氨基苄基(PAB)。在一些方面,所述接头包括PEG基团中的一个或多个。

[0244] 本领域已知的任何接头分子或接头技术可以用于产生或构建本公开的ADC。在某些实施例中,接头是可切割接头,例如,蛋白酶B可切割接头。根据其它实施例,所述接头是不可切割接头。可以在本公开的上下文中使用的示例性接头包含包括或由以下组成的接头:例如,MC(6-马来酰亚胺基己酰基)、MP(马来酰亚胺丙酰基)、val-cit(缬氨酸-瓜氨酸)、val-ala(缬氨酸-丙氨酸)、蛋白酶可切割接头中的二肽位点、ala-phe(丙氨酸-苯丙氨酸)、蛋白酶可切割接头中的二肽位点、PAB(对氨基苄氧基羰基)、SPP(N-琥珀酰亚胺基4-(2-吡啶硫基)戊酸酯)、SMCC(N-琥珀酰亚胺基4-(N-马来酰亚胺甲基)环己烷-1羧酸酯)、SIAB(N-琥珀酰亚胺基(4-碘-乙酰基)氨基苯甲酸酯)及其变体和组合。可以在本公开的上下文中使用的接头的另外的实例提供于以下:例如,US 7,754,681和Ducry,《生物缀合化学(Bioconjugate Chem.)》,2010,21:5-13以及其中引用的参考文献,其内容通过引用整体并入本文。

[0245] 在某些实施例中,所述接头在生理条件下是稳定的。在某些实施例中,所述接头是可切割的,例如,能够在存在酶的情况下或在特定pH范围或值下至少释放所述有效载荷部分。在一些实施例中,接头包括酶可切割部分。说明性酶可切割部分包含但不限于肽键、酯键、脲和二硫键。在一些实施例中,所述接头包括组织蛋白酶可切割接头。

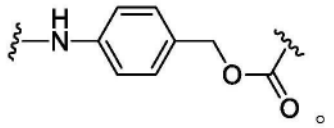
[0246] 在一些实施例中,所述接头包括不可切割部分。

[0247] 合适的接头还包含但不限于与单个结合剂,例如抗体的两个半胱氨酸残基化学结合的那些。此类接头可用于模仿由于缀合过程而被破坏的抗体的二硫键。

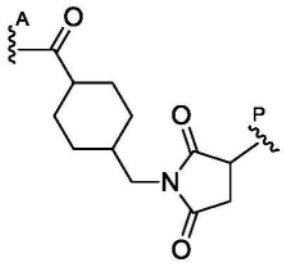
[0248] 在一些实施例中,所述接头包括一个或多个氨基酸。在一些实施例中,所述接头包括两个氨基酸。在一些实施例中,所述接头包括三个氨基酸。在一些实施例中,所述接头包括四个氨基酸。合适的氨基酸包含天然、非天然、标准、非标准、蛋白原、非蛋白原和L-或D-α-氨基酸。在某些实施例中,所述接头包括丙氨酸、缬氨酸、甘氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、甲硫氨酸、色氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、半胱氨酸、酪氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、天冬氨酸、谷氨酸、赖氨酸、精氨酸、组氨酸或瓜氨酸、其衍生物或其组合。在某些实施例中,所述氨基酸的一个或多个侧链与侧链基团连接,如下所述。在一些实施例中,所述接头包括缬氨酸和瓜氨酸。在一些实施例中,所述接头包括赖氨酸、缬氨酸和瓜氨酸。在一些实施例中,所述接头包括赖氨酸、缬氨酸和丙氨酸。在一些实施例中,所述接头包括缬氨酸和丙氨酸。在一些实施例中,所述接头包括二肽、三肽或四肽。在一些实施例中,所述接头包括肽,其中所述肽是缬氨酸-瓜氨酸(val-cit或VC)、谷氨酸-缬氨酸-瓜氨酸(EVC)、甘氨酸-甘氨

酸-苯丙氨酸(GGF)或甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-甘氨酸(GGFG)。

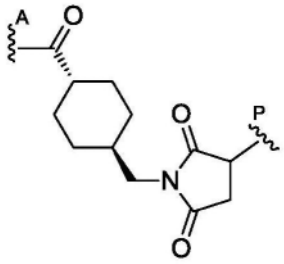
[0249] 在一些实施例中,所述接头包括自杀式基团。自杀式基团可以是技术人员已知的任何此列基团。在特定实施例中,自杀式基团是对氨基苄基(PAB)或其衍生物。有用的衍生物包含对氨基苄氧基羰基(PABC)。在一些实施例中,所述接头包括具有以下结构的部分:

[0250] 。

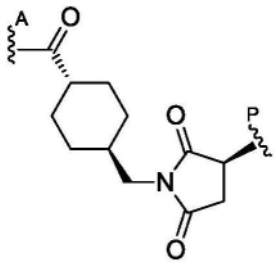
[0251] 在一些实施例中,所述接头是:

[0252] 

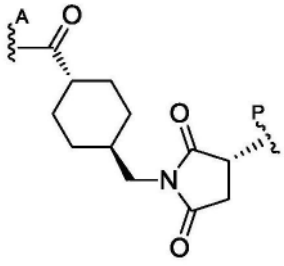
[0253] 其中  是与所述抗体或抗原结合蛋白的键(例如,通过赖氨酸残基)并且  是与所述细胞毒性剂(例如,DM1)的键。在一些实施例中,所述接头是:

[0254] 

[0255] 其中  是与所述抗体或抗原结合蛋白的键(例如,通过赖氨酸残基)并且  是与所述细胞毒性剂(例如,DM1)的键。在某些实施例中,所述接头是:

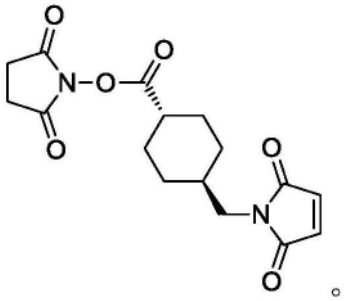
[0256] 。

[0257] 在某些实施例中,所述接头是:

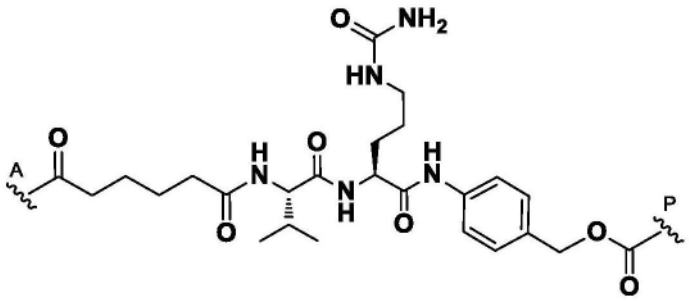
[0258] 。

[0259] 在一些实施例中,所述接头源自马来酰亚胺基甲基-4-反式-环己烷羧基琥珀酸

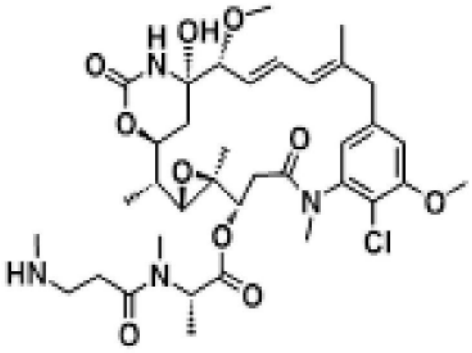
酯：

[0260] 。

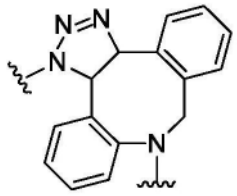
[0261] 在一些实施例中，所述接头是：

[0262] 

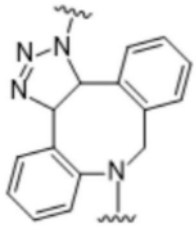
[0263] 其中A是与所述抗体或抗原结合蛋白的键(例如，通过赖氨酸残基)并且P是与所述细胞毒性剂(例如，具有下式的化合物：)的键。

[0264] )。

[0265] 合适的接头还包含但不限于包括一个或多个环状部分的接头。在一些实施例中，所述环状部分源自环加成反应。在某些实施例中，所述环状部分源自叠氮化物与炔烃(例如，环炔烃)之间的1-3-环加成反应。在一些实施例中，所述环状部分是

[0266] 

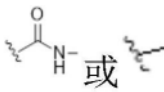
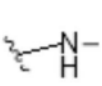
[0267] 或其环加成区域异构体：

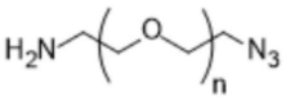
[0268] 。

[0269] 如本文所使用的，“区域异构体(regioisomer)”、“区域异构体(regioisomers)”或“区域异构体的混合物(mixture of regioisomers)”是指源自用合适的炔烃处理的合适的叠氮化物(例如，-N_3或-PEG-N_3源性抗体)的1,3-环加成或品系促进的炔-叠氮化物环加成(SPAAC)的产物，也被称为点击反应。在某些实施例中，例如，区域异构体和区域异构体的混合物的特征在于以下所示的点击反应产物：

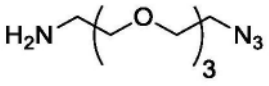
[0270] 。

[0271] 在某些实施例中，在产生产物的过程中，多于一个合适的叠氮化物和多于一个合适的炔烃可以在合成方案内使用，其中每对叠氮化物-炔烃可以参与一个或多个非依赖性点击反应以产生区域异构点击反应产物的混合物。例如，技术人员将认识到，在产生产物的过程中，第一合适的叠氮化物可以与第一合适的炔烃独立地反应，并且第二合适的叠氮化物可以与第二合适的炔烃独立地反应，从而产生四个可能的点击反应区域异构体或四个可能的点击反应区域异构体的混合物。

[0272] 在某些实施例中，此类环加成反应促进与多个叠氮基之一官能化的抗体与包括包含炔烃的接头部分的有效载荷的缀合。在一些实施例中，本文所描述的抗FGFR2抗体用一个或多个叠氮基官能化。当抗体在特定氨基酸残基，例如Q295处与叠氮基特异性地官能化时，此类抗体可以与具有包括炔烃的接头部分的有效载荷位点特异性缀合，所述炔烃能够与所述叠氮基经历环加成反应。在一些实施例中，通过使所述抗体与包括叠氮基和转谷氨酰胺酶的伯胺化合物反应，在Q295处使抗FGFR2抗体官能化。通过谷氨酰胺残基缀合的抗体通过-CONH-部分结合，例如，由谷氨酰胺残基与伯胺化合物的反应产生的-CONH-部分。将接头-有效载荷与此类缀合的谷氨酰胺残基连接的键在本文的一些实施例中描绘为 或，两者表示将抗体与本文所描述的接头有效载荷连接的所得的-C(O)NH-部分。在一些实施例中，包括叠氮基的伯胺化合物包括PEG基团。在某些实施例中，所述伯胺化合物是：

[0273] 

[0274] 其中n是1-12。在某些实施例中，所述伯胺化合物是：

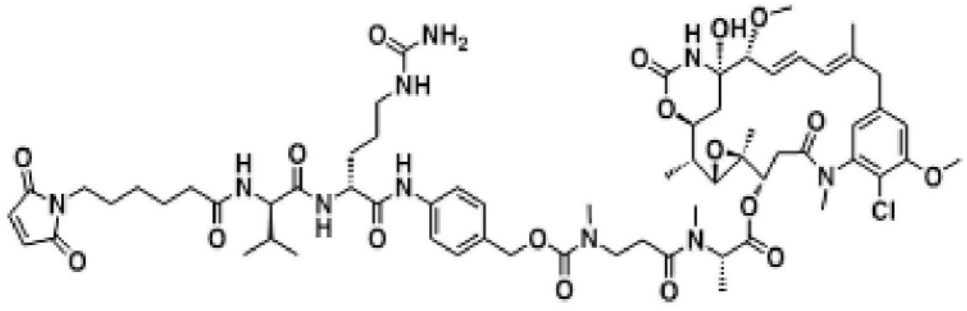
[0275] 

。

[0276] 在一些实施例中,所述接头包括一个或多个间隔子。合适的间隔子包含与两个接头部分,即具有有效载荷的接头部分或具有抗体的接头部分连接,例如共价连接或通过离子相互作用连接的部分。在某些实施例中,所述间隔子是PEG基团。

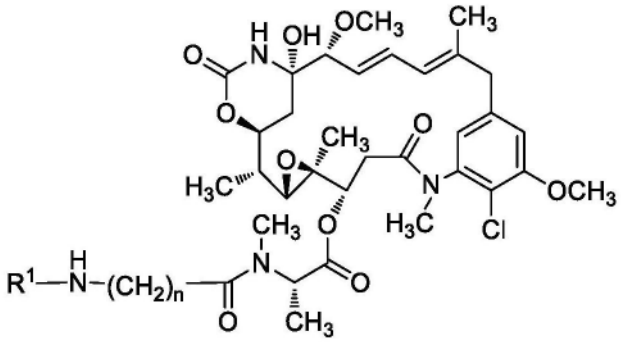
[0277] 本公开包括ADC,其中接头通过抗体或抗原结合分子内的特定氨基酸处的连接使抗FGFR2抗体或其抗原结合片段与药物或细胞毒素连接。可以在该方面的上下文中使用的示例性氨基酸连接,例如,赖氨酸(参见,例如,US 5,208,020;US 2010/0129314;Hollander等人,《生物缀合化学》,2008,19:358-361;WO 2005/089808;US 5,714,586;US 2013/0101546;和US 2012/0585592)、半胱氨酸(参见,例如,US 2007/0258987;WO 2013/055993;WO 2013/055990;WO 2013/053873;WO 2013/053872;WO 2011/130598;US 2013/0101546;和US 7,750,116)、硒代半胱氨酸(参见,例如,WO 2008/122039;和Hofer等人《美国国家科学院院刊》,2008,105:12451-12456)、甲酰基甘氨酸(参见,例如,Carrico等人,《自然化学生物学(Nat.Chem.Biol.)》,2007,3:321-322;Agarwal等人,《美国国家科学院院刊》,2013,110:46-51,和Rabuka等人,《自然实验手册(Nat.Protocols)》,2012,10:1052-1067)、非天然氨基酸(参见,例如,WO 2013/068874和WO 2012/166559)和酸性氨基酸(参见,例如,WO 2012/05982)。接头也可以通过与碳水化合物(参见,例如,US 2008/0305497、WO 2014/065661和Ryan等人,《粮食与农业免疫学(Food&Agriculture Immunol.)》,2001,13:127-130)和二硫键接头(参见,例如,WO 2013/085925、WO 2010/010324、WO 2011/018611和Shaunak等人,《自然化学生物学》,2006,2:312-313)的连接而与抗原结合蛋白缀合。还可以使用位点特异性缀合技术来指导缀合至抗体或抗原结合蛋白的特定残基(参见,例如,Schumacher等人《临床免疫学杂志(J Clin Immunol)》(2016)36(增刊1):100)。位点特异性缀合技术包含但不限于通过谷氨酰胺转胺酶进行的谷氨酰胺缀合(参见例如,Schibli,《应用化学(Angew Chemie)》国际版2010,49,9995)。

[0278] 根据某些实施例,本公开提供了ADC,其中本文所描述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段与国际专利公开WO2014/145090中所述的接头-药物组合物(例如,其中公开的化合物“7”)缀合,所述国际专利公开的公开内容通过引用整体并入本文:

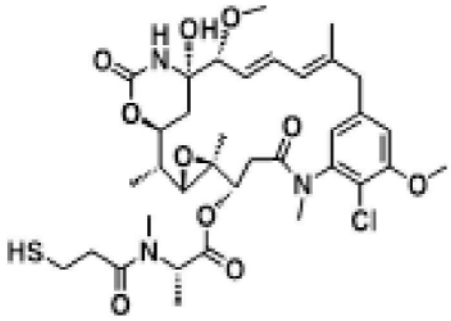
[0279] 

7
。

[0280] 本文还提供了包括本文所公开的抗FGFR2抗体的抗体-药物缀合物,其中所述抗体与细胞毒性剂缀合。在某些实施例中,细胞毒性剂是美登素类化合物。在某些实施例中,所述美登素类化合物是具有下式的化合物:

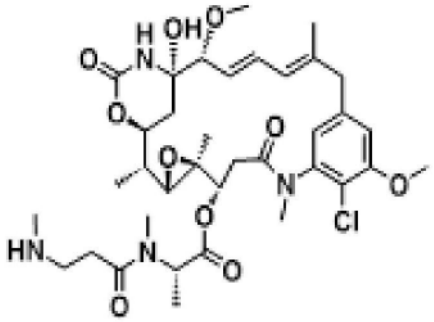
[0281] 

[0282] 其中n是1-12的整数并且R^1是烷基。在某些实施例中，所述美登素类化合物是

[0283] 

。

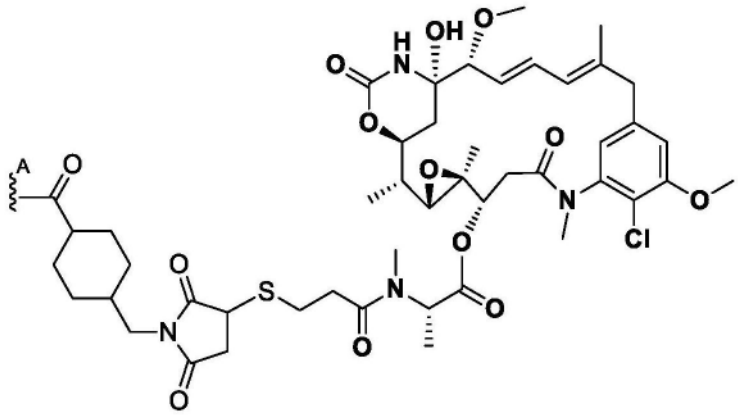
[0284] 在一些实施例中，所述美登素类化合物是美登素类化合物1A：

[0285] 

美登素类化合物 1A。

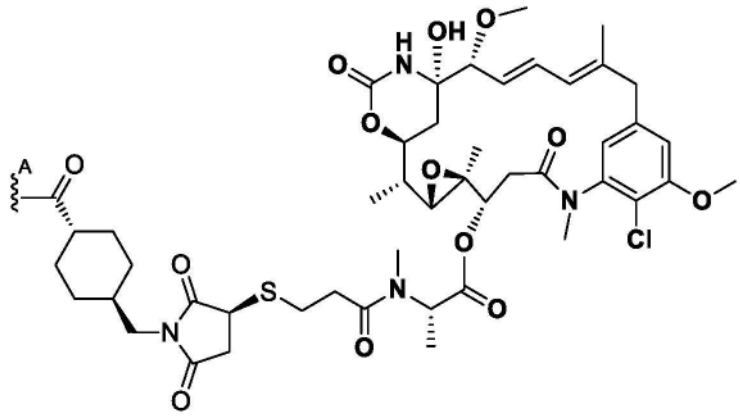
[0286] 在某些实施例中，所述细胞毒性剂是美登素类化合物，并且所述美登素类化合物通过不可切割接头与所述抗体共价连接。在某些实施例中，所述细胞毒性剂是美登素类化合物，并且所述美登素类化合物通过可切割接头与所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段共价连接。

[0287] 示例性可切割接头是组织蛋白酶B可切割接头。在某些实施例中，所述细胞毒性剂是美登素类化合物，并且所述美登素类化合物通过组织蛋白酶B可切割接头与所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段共价连接。在一个实施例中，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段通过可切割接头与美登素类化合物缀合，其中所述接头包括二肽。在另一个实施例中，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段通过可切割接头与美登素类化合物缀合，其中所述接头包括缬氨酸-瓜氨酸二肽。在另一个实施例中，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段通过可切割接头与美登素类化合物缀合，其中所述接头包括缬氨酸-瓜氨酸二肽和PAB基团。在一个实施例中，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段与以下缀合：

[0288] 

[0289] 其中  是与所述抗体的键。在一些实施例中，所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:2的HCVR氨基酸序列内的CDR和SEQ ID NO:10的LCVR氨基酸序列内的CDR。在一些实施例中，所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括：SEQ ID NO:4的HCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:6的HCDR2氨基酸序列；SEQ ID NO:8的HCDR3氨基酸序列；SEQ ID NO:12的LCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:14的LCDR2氨基酸序列；以及SEQ ID NO:16的LCDR3氨基酸序列。在一些实施例中，所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:22的HCVR氨基酸序列内的CDR和SEQ ID NO:28的LCVR氨基酸序列内的CDR。在一些实施例中，所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括：SEQ ID NO:24的HCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:6的HCDR2氨基酸序列；SEQ ID NO:26的HCDR3氨基酸序列；SEQ ID NO:30的LCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:32的LCDR2氨基酸序列；以及SEQ ID NO:34的LCDR3氨基酸序列。在一些实施例中，所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:40的HCVR氨基酸序列内的CDR和SEQ ID NO:44的LCVR氨基酸序列内的CDR。在一些实施例中，所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括：SEQ ID NO:24的HCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:6的HCDR2氨基酸序列；SEQ ID NO:42的HCDR3氨基酸序列；SEQ ID NO:46的LCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:32的LCDR2氨基酸序列；以及SEQ ID NO:34的LCDR3氨基酸序列。

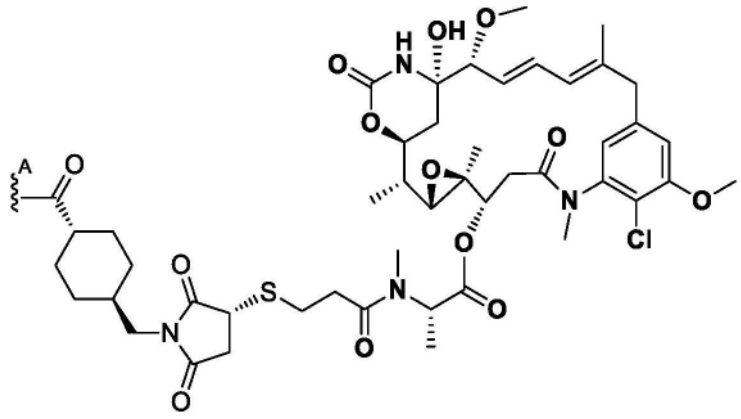
[0290] 在一个实施例中，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段与以下缀合：

[0291] 

[0292] 其中  是与所述抗体的键。在一些实施例中，所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原

结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:2的HCVR氨基酸序列内的CDR和SEQ ID NO:10的LCVR氨基酸序列内的CDR。在一些实施例中，所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括：SEQ ID NO:4的HCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:6的HCDR2氨基酸序列；SEQ ID NO:8的HCDR3氨基酸序列；SEQ ID NO:12的LCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:14的LCDR2氨基酸序列；以及SEQ ID NO:16的LCDR3氨基酸序列。在一些实施例中，所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:22的HCVR氨基酸序列内的CDR和SEQ ID NO:28的LCVR氨基酸序列内的CDR。在一些实施例中，所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括：SEQ ID NO:24的HCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:6的HCDR2氨基酸序列；SEQ ID NO:26的HCDR3氨基酸序列；SEQ ID NO:30的LCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:32的LCDR2氨基酸序列；以及SEQ ID NO:34的LCDR3氨基酸序列。在一些实施例中，所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:40的HCVR氨基酸序列内的CDR和SEQ ID NO:44的LCVR氨基酸序列内的CDR。在一些实施例中，所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括：SEQ ID NO:24的HCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:6的HCDR2氨基酸序列；SEQ ID NO:42的HCDR3氨基酸序列；SEQ ID NO:46的LCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:32的LCDR2氨基酸序列；以及SEQ ID NO:34的LCDR3氨基酸序列。

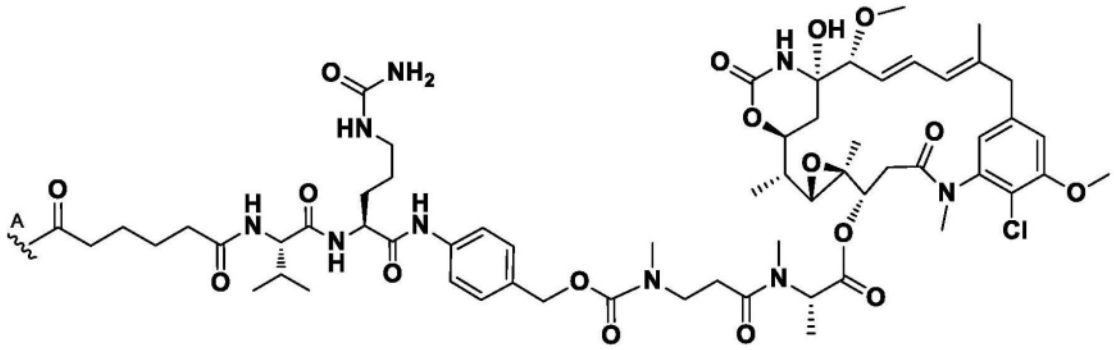
[0293] 在一个实施例中，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段与以下缀合：

[0294] 

[0295] 其中是与所述抗体的键。在一些实施例中，所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:2的HCVR氨基酸序列内的CDR和SEQ ID NO:10的LCVR氨基酸序列内的CDR。在一些实施例中，所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括：SEQ ID NO:4的HCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:6的HCDR2氨基酸序列；SEQ ID NO:8的HCDR3氨基酸序列；SEQ ID NO:12的LCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:14的LCDR2氨基酸序列；以及SEQ ID NO:16的LCDR3氨基酸序列。在一些实施例中，所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:22的HCVR氨基酸序列内的CDR和SEQ ID NO:28的LCVR氨基酸序列内的CDR。在一些实施例中，所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括：SEQ ID NO:24的HCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:6的HCDR2氨基酸序列；SEQ ID NO:26的HCDR3氨基酸序列；SEQ ID NO:30的LCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:32

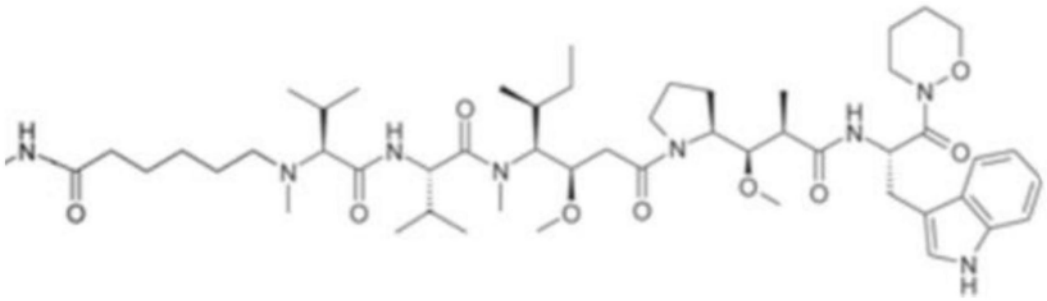
的LCDR2氨基酸序列;以及SEQ ID NO:34的LCDR3氨基酸序列。在一些实施例中,所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:40的HCVR氨基酸序列内的CDR和SEQ ID NO:44的LCVR氨基酸序列内的CDR。在一些实施例中,所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括:SEQ ID NO:24的HCDR1氨基酸序列;SEQ ID NO:6的HCDR2氨基酸序列;SEQ ID NO:42的HCDR3氨基酸序列;SEQ ID NO:46的LCDR1氨基酸序列;SEQ ID NO:32的LCDR2氨基酸序列;以及SEQ ID NO:34的LCDR3氨基酸序列。

[0296] 在一个实施例中,所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段与以下缀合:

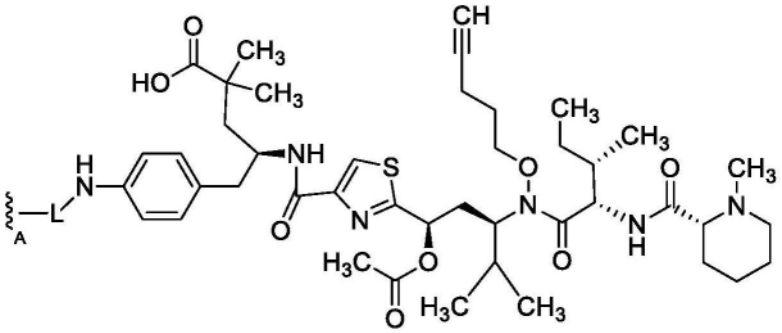
[0297] 

[0298] 其中  是与所述抗体的键。在一些实施例中,所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:2的HCVR氨基酸序列内的CDR和SEQ ID NO:10的LCVR氨基酸序列内的CDR。在一些实施例中,所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括:SEQ ID NO:4的HCDR1氨基酸序列;SEQ ID NO:6的HCDR2氨基酸序列;SEQ ID NO:8的HCDR3氨基酸序列;SEQ ID NO:12的LCDR1氨基酸序列;SEQ ID NO:14的LCDR2氨基酸序列;以及SEQ ID NO:16的LCDR3氨基酸序列。在一些实施例中,所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:22的HCVR氨基酸序列内的CDR和SEQ ID NO:28的LCVR氨基酸序列内的CDR。在一些实施例中,所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括:SEQ ID NO:24的HCDR1氨基酸序列;SEQ ID NO:6的HCDR2氨基酸序列;SEQ ID NO:26的HCDR3氨基酸序列;SEQ ID NO:30的LCDR1氨基酸序列;SEQ ID NO:32的LCDR2氨基酸序列;以及SEQ ID NO:34的LCDR3氨基酸序列。在一些实施例中,所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:40的HCVR氨基酸序列内的CDR和SEQ ID NO:44的LCVR氨基酸序列内的CDR。在一些实施例中,所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括:SEQ ID NO:24的HCDR1氨基酸序列;SEQ ID NO:6的HCDR2氨基酸序列;SEQ ID NO:42的HCDR3氨基酸序列;SEQ ID NO:46的LCDR1氨基酸序列;SEQ ID NO:32的LCDR2氨基酸序列;以及SEQ ID NO:34的LCDR3氨基酸序列。

[0299] 在一些实施例中,所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段与BAY1187982缀合;参见Sommer等人,2016,《癌症研究》76(21),6631-6639,doi:10.1158/0008-5472.CAN-16-0180。在一些实施例中,所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段与以下缀合:

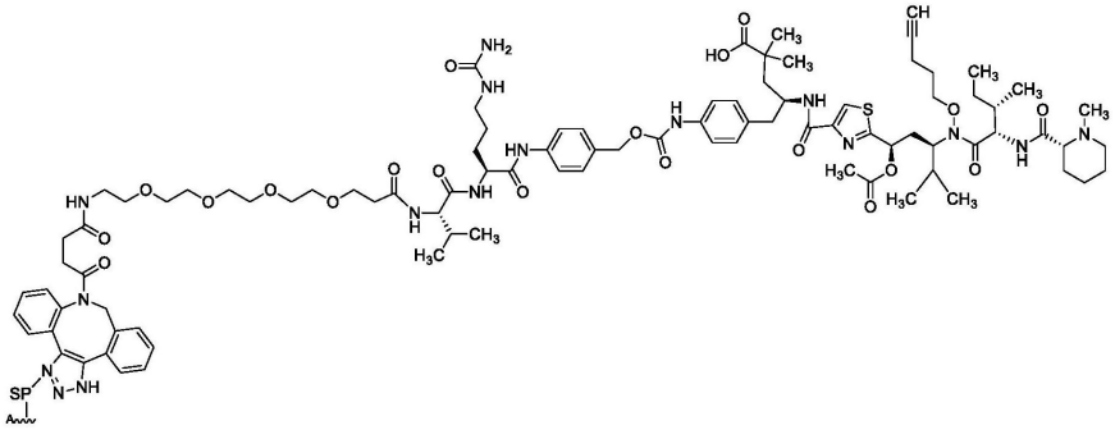
[0300] 

[0301] 在一些实施例中，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段与以下缀合：

[0302] 

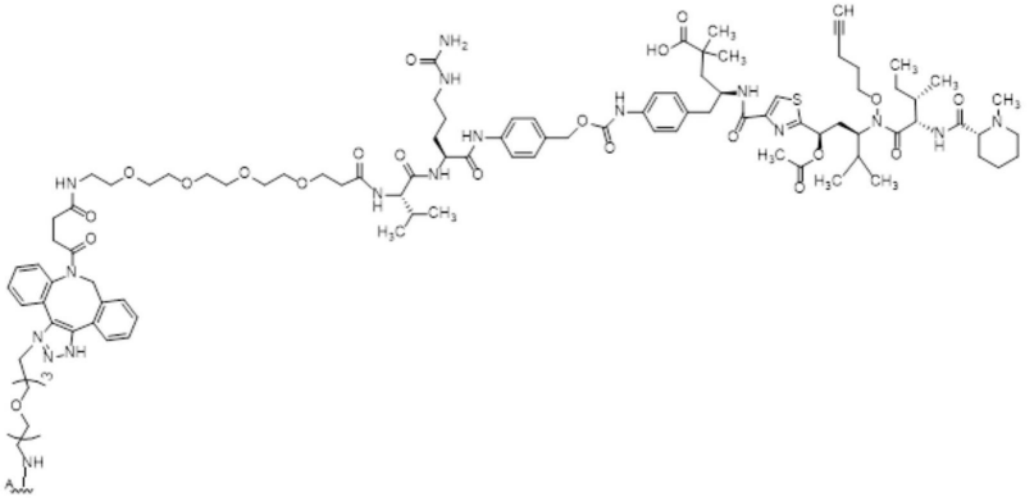
[0303] 其中L是接头并且是与所述抗体的键。在一些实施例中，所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:2的HCVR氨基酸序列内的CDR和SEQ ID NO:10的LCVR氨基酸序列内的CDR。在一些实施例中，所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括：SEQ ID NO:4的HCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:6的HCDR2氨基酸序列；SEQ ID NO:8的HCDR3氨基酸序列；SEQ ID NO:12的LCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:14的LCDR2氨基酸序列；以及SEQ ID NO:16的LCDR3氨基酸序列。在一些实施例中，所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:22的HCVR氨基酸序列内的CDR和SEQ ID NO:28的LCVR氨基酸序列内的CDR。在一些实施例中，所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括：SEQ ID NO:24的HCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:6的HCDR2氨基酸序列；SEQ ID NO:26的HCDR3氨基酸序列；SEQ ID NO:30的LCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:32的LCDR2氨基酸序列；以及SEQ ID NO:34的LCDR3氨基酸序列。在一些实施例中，所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:40的HCVR氨基酸序列内的CDR和SEQ ID NO:44的LCVR氨基酸序列内的CDR。在一些实施例中，所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括：SEQ ID NO:24的HCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:6的HCDR2氨基酸序列；SEQ ID NO:42的HCDR3氨基酸序列；SEQ ID NO:46的LCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:32的LCDR2氨基酸序列；以及SEQ ID NO:34的LCDR3氨基酸序列。

[0304] 在一些实施例中，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段与以下或其其环加成区域异构体缀合：

[0305] 

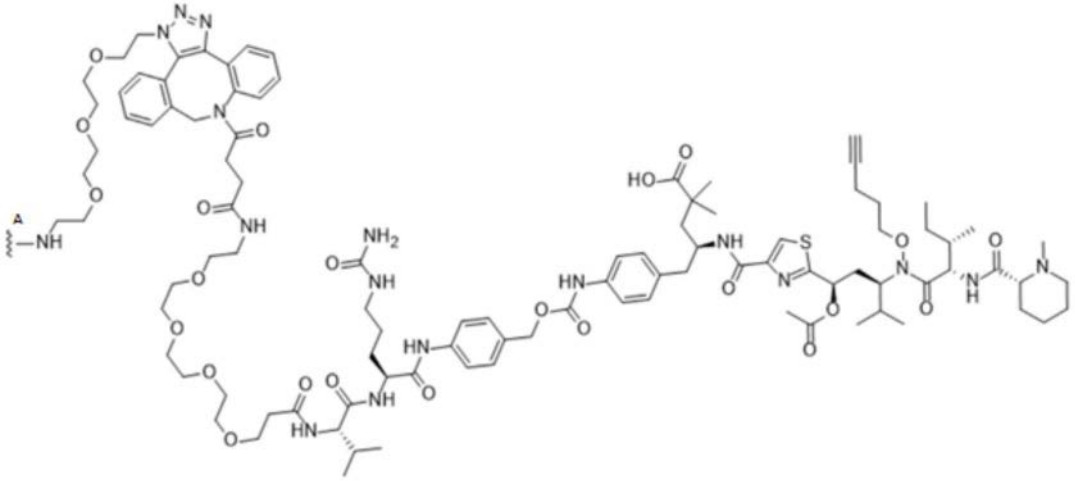
[0306] 其中SP是间隔子并且$\overset{A}{\sim}$是与所述抗体的键。在一些实施例中，所述$\overset{A}{\sim}$是与所述抗体的谷氨酰胺残基的键。在特定实施例中，所述谷氨酰胺残基是Q295。在一些实施例中，所述抗体在Q295和Q297处缀合。在一些实施例中，所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:2的HCVR氨基酸序列内的CDR和SEQ ID NO:10的LCVR氨基酸序列内的CDR。在一些实施例中，所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括：SEQ ID NO:4的HCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:6的HCDR2氨基酸序列；SEQ ID NO:8的HCDR3氨基酸序列；SEQ ID NO:12的LCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:14的LCDR2氨基酸序列；以及SEQ ID NO:16的LCDR3氨基酸序列。在一些实施例中，所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:22的HCVR氨基酸序列内的CDR和SEQ ID NO:28的LCVR氨基酸序列内的CDR。在一些实施例中，所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括：SEQ ID NO:24的HCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:6的HCDR2氨基酸序列；SEQ ID NO:26的HCDR3氨基酸序列；SEQ ID NO:30的LCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:32的LCDR2氨基酸序列；以及SEQ ID NO:34的LCDR3氨基酸序列。在一些实施例中，所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:40的HCVR氨基酸序列内的CDR和SEQ ID NO:44的LCVR氨基酸序列内的CDR。在一些实施例中，所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括：SEQ ID NO:24的HCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:6的HCDR2氨基酸序列；SEQ ID NO:42的HCDR3氨基酸序列；SEQ ID NO:46的LCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:32的LCDR2氨基酸序列；以及SEQ ID NO:34的LCDR3氨基酸序列。

[0307] 在一些实施例中，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段与以下缀合：

[0308] 

，

[0309] 或与其其环加成区域异构体缀合：

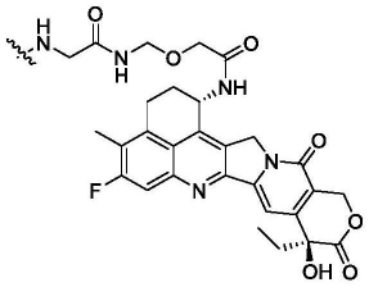
[0310] 

，

[0311] 其中是与所述抗体的谷氨酰胺残基的键。在某些实施例中，所述谷氨酰胺是重链Q295谷氨酰胺。在某些实施例中，所述抗FGFR2抗体包括具有Q295和Q297的重链，其中所述Q297源自N297Q突变。在一些方面，所述抗FGFR2抗体包括重链(HC)，所述重链选自由以下组成的组：SEQ ID NO:52、53和54。在一些实施例中，所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:2的HCVR氨基酸序列内的CDR和SEQ ID NO:10的LCVR氨基酸序列内的CDR。在一些实施例中，所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括：SEQ ID NO:4的HCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:6的HCDR2氨基酸序列；SEQ ID NO:8的HCDR3氨基酸序列；SEQ ID NO:12的LCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:14的LCDR2氨基酸序列；以及SEQ ID NO:16的LCDR3氨基酸序列。在一些实施例中，所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:22的HCVR氨基酸序列内的CDR和SEQ ID NO:28的LCVR氨基酸序列内的CDR。在一些实施例中，所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括：SEQ ID NO:24的HCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:6的HCDR2氨基酸序列；SEQ ID NO:26的HCDR3氨基酸序列；SEQ ID NO:30的LCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:32的LCDR2氨基酸序列；以及SEQ ID NO:34的LCDR3氨基酸序列。在一些实施例中，所述抗体是

抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:40的HCVR氨基酸序列内的CDR和SEQ ID NO:44的LCVR氨基酸序列内的CDR。在一些实施例中，所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括：SEQ ID NO:24的HCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:6的HCDR2氨基酸序列；SEQ ID NO:42的HCDR3氨基酸序列；SEQ ID NO:46的LCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:32的LCDR2氨基酸序列；以及SEQ ID NO:34的LCDR3氨基酸序列。

[0312] 在一些实施例中，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段通过接头与以下：

[0313] 

[0314] 其中〰表示与接头的连接点。在一些实施例中，所述接头与所述抗体或其抗原结合片段的一个或多个谷氨酰胺残基连接。在一些实施例中，所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:2的HCVR氨基酸序列内的CDR和SEQ ID NO:10的LCVR氨基酸序列内的CDR。在一些实施例中，所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括：SEQ ID NO:4的HCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:6的HCDR2氨基酸序列；SEQ ID NO:8的HCDR3氨基酸序列；SEQ ID NO:12的LCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:14的LCDR2氨基酸序列；以及SEQ ID NO:16的LCDR3氨基酸序列。在一些实施例中，所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:22的HCVR氨基酸序列内的CDR和SEQ ID NO:28的LCVR氨基酸序列内的CDR。在一些实施例中，所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括：SEQ ID NO:24的HCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:6的HCDR2氨基酸序列；SEQ ID NO:26的HCDR3氨基酸序列；SEQ ID NO:30的LCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:32的LCDR2氨基酸序列；以及SEQ ID NO:34的LCDR3氨基酸序列。在一些实施例中，所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:40的HCVR氨基酸序列内的CDR和SEQ ID NO:44的LCVR氨基酸序列内的CDR。在一些实施例中，所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括：SEQ ID NO:24的HCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:6的HCDR2氨基酸序列；SEQ ID NO:42的HCDR3氨基酸序列；SEQ ID NO:46的LCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:32的LCDR2氨基酸序列；以及SEQ ID NO:34的LCDR3氨基酸序列。

[0315] 在一些实施例中，所述缀合物具有以下结构：

[0316] $Ab-[L-Pay]_n$

[0317] 其中：

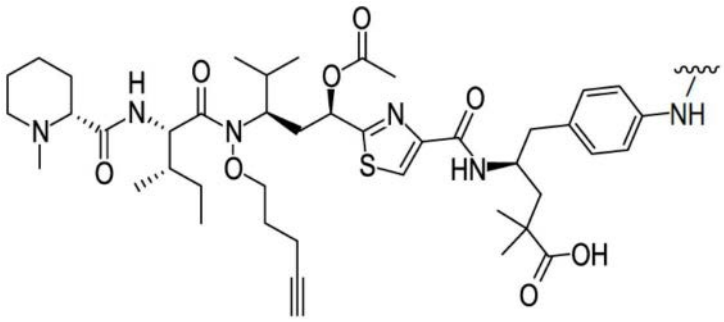
[0318] Ab是如本文所描述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段；

[0319] L是接头；

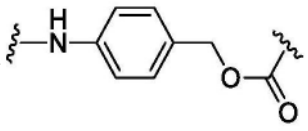
[0320] Pay是细胞毒性剂；并且

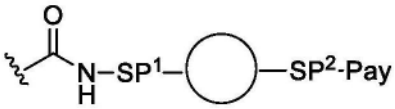
[0321] n是1-12的整数。

[0322] 在一些实施例中,n是2。在一些实施例中,n是4。在一些实施例中,Pay是:

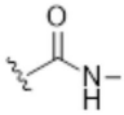
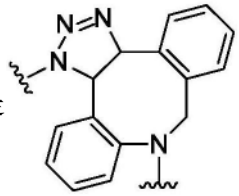
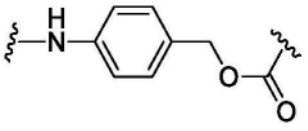
[0323] 

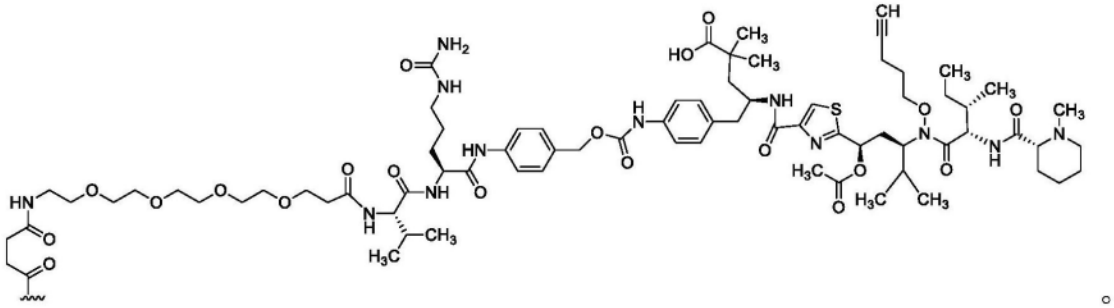
（妥布赖森 1a）。

[0324] 在一些实施例中,L是可切割接头。在一些实施例中,L包括肽。在一些实施例中,L包括val-cit。在一些实施例中,L包括。在一些实施例中,L包括PEG基团。

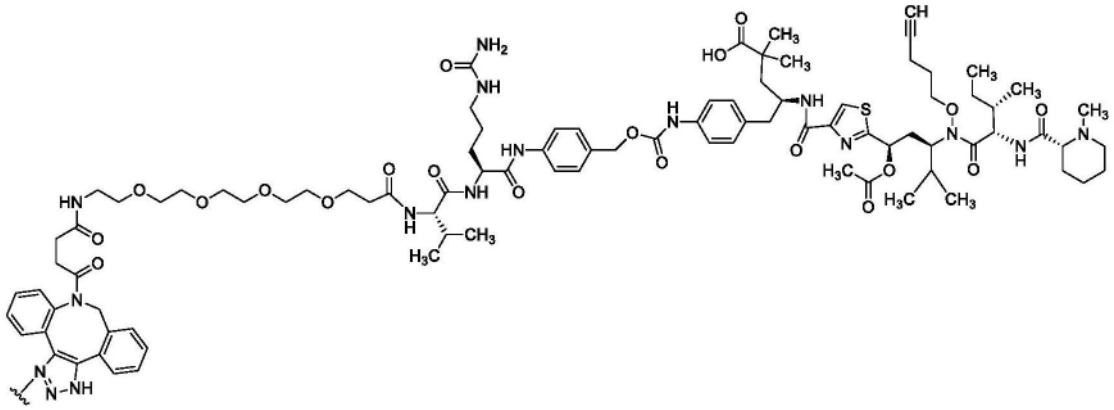
[0325] 在一些实施例中,L包括环状部分。在某些实施例中,所述环状部分是叠氮化物与环炔之间的1,3-环加成的产物。在一些实施例中,-L-Pay是,其中SP^1和SP^2各自独立地是间隔子,

[0326] 是环状部分,并且

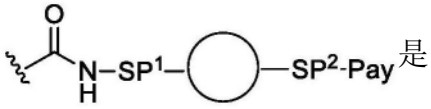
[0327] 是抗体的谷氨酰胺残基。在一些实施例中,所述谷氨酰胺是Q295谷氨酰胺。在一些实施例中,n是2,其中两个L-Pay与Q295缀合。在一些实施例中,n是4,其中两个L-Pay与Q295缀合并且两个L-Pay与Q297缀合。在一些实施例中,所述环状部分是环加成反应的产物。在某些实施例中,所述环状部分是叠氮化物与环炔之间的环加成反应的产物。在某些实施例中,所述环状部分是。在某些实施例中,SP^1包括PEG部分。在一些实施例中,所述PEG包括1-12个乙二醇单元。在某些实施例中,SP^2包括二肽。在某些实施例中,SP2包括val-cit。在某些实施例中,SP^2包括。在某些实施例中,SP^2包括PEG部分。在一些实施例中,SP2-Pay是:

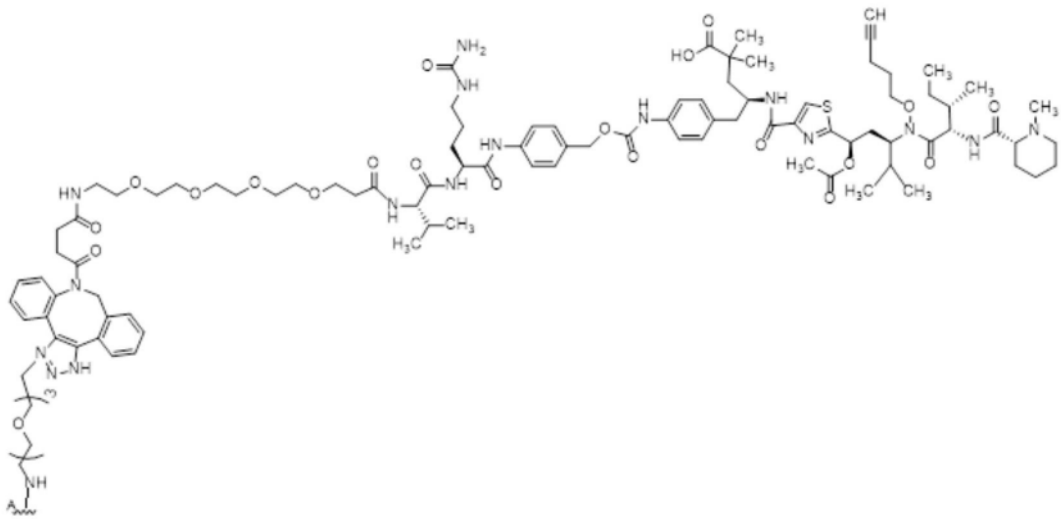
[0328] 

[0329] 在某些实施例中，是

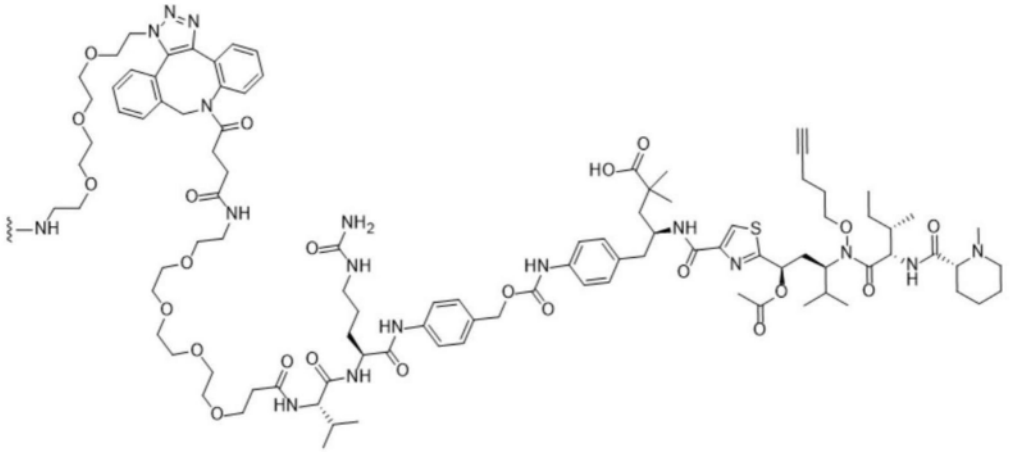
[0330] 

[0331] 或其环加成区域异构体。

[0332] 在某些实施例中，是

[0333] 

[0334] 或其区域异构体：

[0335] 

，

[0336] 其中 是与所述抗体的谷氨酰胺残基的键。在一些实施例中，所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:2的HCVR氨基酸序列内的CDR和SEQ ID NO:10的LCVR氨基酸序列内的CDR。在一些实施例中，所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括：SEQ ID NO:4的HCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:6的HCDR2氨基酸序列；SEQ ID NO:8的HCDR3氨基酸序列；SEQ ID NO:12的LCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:14的LCDR2氨基酸序列；以及SEQ ID NO:16的LCDR3氨基酸序列。在一些实施例中，所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:22的HCVR氨基酸序列内的CDR和SEQ ID NO:28的LCVR氨基酸序列内的CDR。在一些实施例中，所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括：SEQ ID NO:24的HCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:6的HCDR2氨基酸序列；SEQ ID NO:26的HCDR3氨基酸序列；SEQ ID NO:30的LCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:32的LCDR2氨基酸序列；以及SEQ ID NO:34的LCDR3氨基酸序列。在一些实施例中，所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:40的HCVR氨基酸序列内的CDR和SEQ ID NO:44的LCVR氨基酸序列内的CDR。在一些实施例中，所述抗体是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括：SEQ ID NO:24的HCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:6的HCDR2氨基酸序列；SEQ ID NO:42的HCDR3氨基酸序列；SEQ ID NO:46的LCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:32的LCDR2氨基酸序列；以及SEQ ID NO:34的LCDR3氨基酸序列。

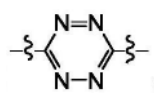
[0337] 一方面，本公开提供了一种具有根据式(A)的结构的化合物：

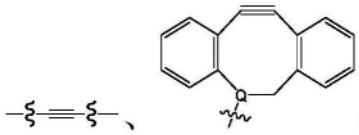
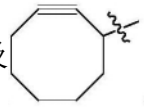
[0338] BA-(Gln-NH-L1-B-(-L2-(-M-Dxd)$_m$)$_k$)$_n$ (A)，其中：

[0339] BA是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段；

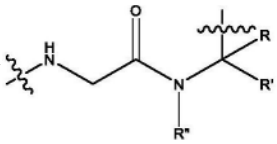
[0340] Gln是谷氨酰胺残基；

[0341] L1不存在或是第一接头；

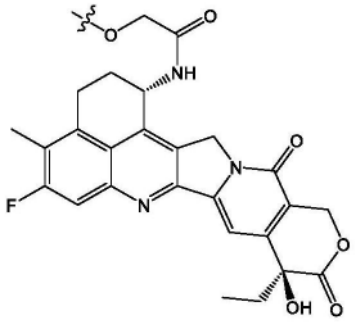
[0342] B是包括基团B'和基团B"的至少一种加合物的支化单元，其中所述基团B'和基团B"中的一个选自-N_3和  ；并且所述基团B'和B"中的另一个选自


、；以及，其中Q是C或N；

[0343] L2是第二接头，所述第二接头通过所述至少一个基团B”与支化单元B共价连接；

[0344] M不存在或是具有结构的部分，其中R、R’和R”在每次出现时独立地是氢或C_1-C_4烷基，或者其中R’和R”一起形成5元或6元环；

[0345] Dxd是具有根据式(P)的结构的抗肿瘤剂：

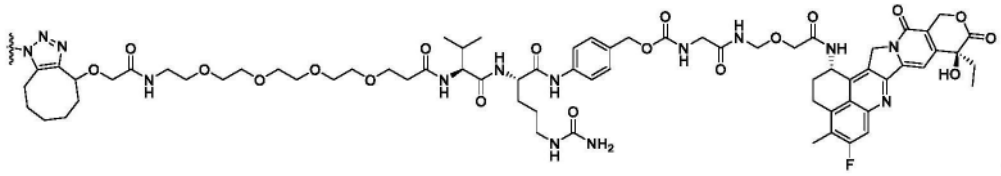
[0346] （P）；

[0347] k是1至12的整数；

[0348] m是1至30的整数；并且

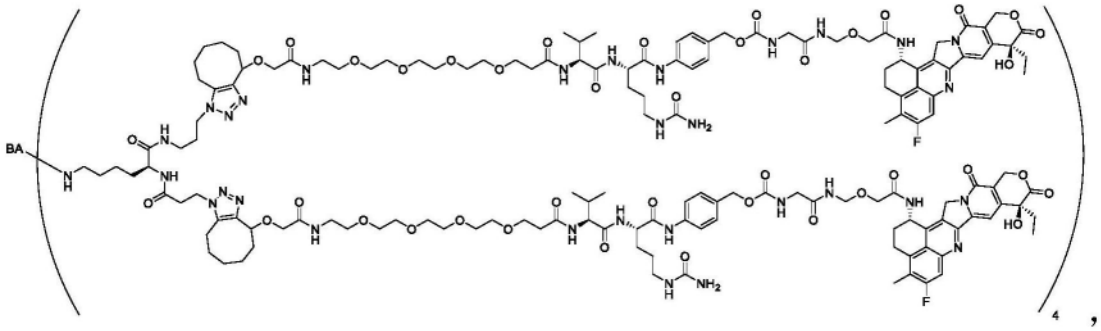
[0349] n是1至30的整数。

[0350] 在一个实施例中，根据本公开的抗FGFR2抗体-药物缀合物包括抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，以及接头-有效载荷，其中所述接头-有效载荷包括结构：

[0351] ，

[0352] 或其药学上可接受的盐，其中 〰 表示直接或通过第二接头与所述抗体的连接点。

[0353] 在一个实施例中，根据本公开的化合物具有以下结构：

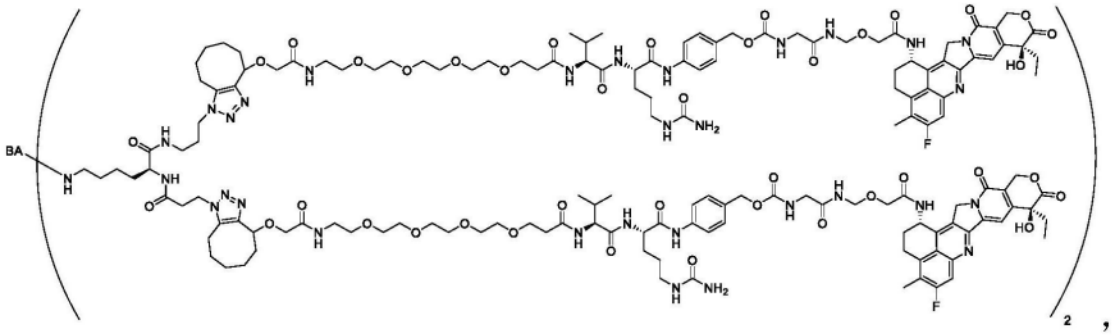
[0354] ，

[0355] 其中BA是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段。

[0356] 在一些实施例中，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，即，BA包括SEQ ID NO:2的HCVR氨基酸序列内的CDR和SEQ ID NO:10的LCVR氨基酸序列内的CDR。在一些实施例中，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:4的HCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:6的

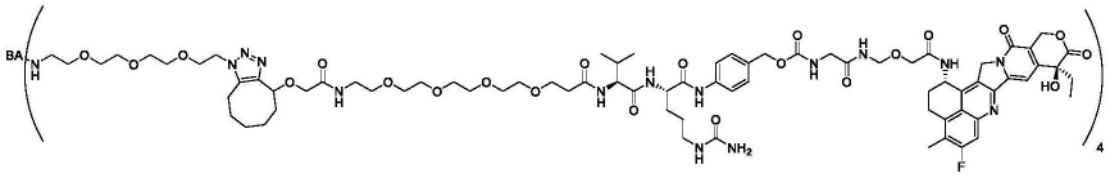
HCDR2氨基酸序列;SEQ ID NO:8的HCDR3氨基酸序列;SEQ ID NO:12的LCDR1氨基酸序列;SEQ ID NO:14的LCDR2氨基酸序列;以及SEQ ID NO:16的LCDR3氨基酸序列。在一些实施例中,所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:22的HCVR氨基酸序列内的CDR和SEQ ID NO:28的LCVR氨基酸序列内的CDR。在一些实施例中,所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:24的HCDR1氨基酸序列;SEQ ID NO:6的HCDR2氨基酸序列;SEQ ID NO:26的HCDR3氨基酸序列;SEQ ID NO:30的LCDR1氨基酸序列;SEQ ID NO:32的LCDR2氨基酸序列;以及SEQ ID NO:34的LCDR3氨基酸序列。在一些实施例中,所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:40的HCVR氨基酸序列内的CDR和SEQ ID NO:44的LCVR氨基酸序列内的CDR。在一些实施例中,所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:24的HCDR1氨基酸序列;SEQ ID NO:6的HCDR2氨基酸序列;SEQ ID NO:42的HCDR3氨基酸序列;SEQ ID NO:46的LCDR1氨基酸序列;SEQ ID NO:32的LCDR2氨基酸序列;以及SEQ ID NO:34的LCDR3氨基酸序列。

[0357] 在一个实施例中,根据本公开的化合物具有以下结构:

[0358] 

[0359] 其中BA是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段。

[0360] 在一个实施例中,根据本公开的化合物具有以下结构:

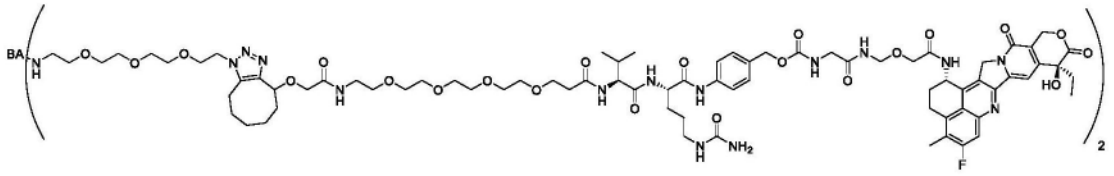
[0361] 

[0362] 其中BA是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段。

[0363] 在一些实施例中,所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,即,BA包括SEQ ID NO:2的HCVR氨基酸序列内的CDR和SEQ ID NO:10的LCVR氨基酸序列内的CDR。在一些实施例中,所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:4的HCDR1氨基酸序列;SEQ ID NO:6的HCDR2氨基酸序列;SEQ ID NO:8的HCDR3氨基酸序列;SEQ ID NO:12的LCDR1氨基酸序列;SEQ ID NO:14的LCDR2氨基酸序列;以及SEQ ID NO:16的LCDR3氨基酸序列。在一些实施例中,所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:22的HCVR氨基酸序列内的CDR和SEQ ID NO:28的LCVR氨基酸序列内的CDR。在一些实施例中,所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:24的HCDR1氨基酸序列;SEQ ID NO:6的HCDR2氨基酸序列;SEQ ID NO:26的HCDR3氨基酸序列;SEQ ID NO:30的LCDR1氨基酸序列;SEQ ID NO:32的LCDR2氨基酸序列;以及SEQ ID NO:34的LCDR3氨基酸序列。在一些实施例中,所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:40的HCVR氨基酸序列内的CDR和SEQ ID NO:44的LCVR氨基酸序

列内的CDR。在一些实施例中，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:24的HCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:6的HCDR2氨基酸序列；SEQ ID NO:42的HCDR3氨基酸序列；SEQ ID NO:46的LCDR1氨基酸序列；SEQ ID NO:32的LCDR2氨基酸序列；以及SEQ ID NO:34的LCDR3氨基酸序列。

[0364] 在一个实施例中，根据本公开的化合物具有以下结构：

[0365] 

[0366] 其中BA是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段。

[0367] 接头L1

[0368] 在某些实施例中，接头L1不存在。

[0369] 在某些实施例中，接头L1存在并与所述抗FGFR2抗体的谷氨酰胺残基的胺共价连接。

[0370] 在某些实施例中，接头L1包括烷基(例如，C_{1-20}烷基、或C_{1-12}烷基或C_{1-6}烷基)、-NH-、-C(O)-、-$(CH_2)_u$-NH-C(O)-、-$(CH_2)_u$-C(O)-NH-、-$(CH_2-CH_2-O)_v$-、-$(CH_2)_u$-$(O-CH_2-CH_2)_v$-C(O)-NH-，包括2至4个氨基酸的肽单元或其组合，其中每一个可以任选地被以下中的一个或多个取代：-S-、-S(O_2)-、-C(O)-、-C(O_2)-或-CO_2H，其中下标u和v独立地是1至8的整数。

[0371] 在某些实施例中，游离的(未缀合)接头L1包括用于通过转谷氨酰胺化反应与所述谷氨酰胺残基连接的伯胺。

[0372] 在一个实施例中，接头L1包括一个或多个聚乙二醇(PEG)单元。在一个实施例中，L1包括2个、或3个、或4个、或5个、或6个、或7个、或8个、或9个或10个PEG单元。

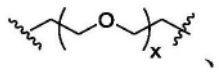
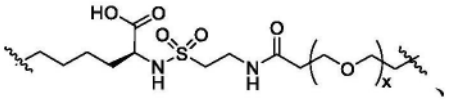
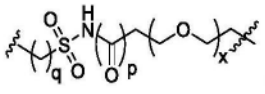
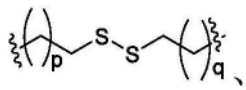
[0373] 在一个实施例中，接头L1包括二硫(-S-S-)键。

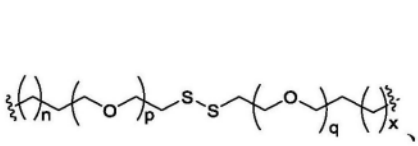
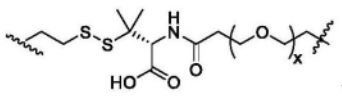
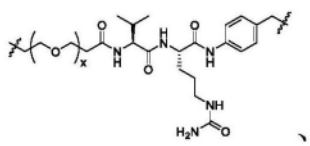
[0374] 在一个实施例中，接头L1包括-S(O_2)-部分。

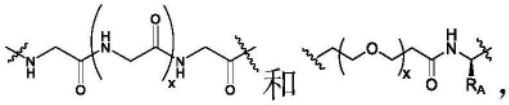
[0375] 在一个实施例中，接头L1上的一个或多个碳被-CO_2H取代。

[0376] 在一个实施例中，接头L1包括包含2至4个氨基酸的肽单元、或包含2个氨基酸的肽单元、包含3个氨基酸的肽单元或包含4个氨基酸的肽单元。

[0377] 在一个实施例中，接头L1包括肽单元，所述肽单元包括选自甘氨酸、缬氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、谷氨酸和瓜氨酸和其组合的2个氨基酸。在一个特定实施例中，接头L1包括缬氨酸-瓜氨酸单元。

[0378] 在一个实施例中，接头L1选自由以下组成的组：、、、、

[0379] 、、、

[0380] 和，其中R_A是包括炔烃、叠氮化物、四嗪、反式环辛烯、马来酰亚胺、胺、酮、醛、羧酸、酯、硫醇、磺酸、甲苯磺酸酯、卤化物、硅烷、氰基、碳水化合物基团、生物素基团、脂质残基和其组合的基团，并且其中下标x、n、p和q独立地是0至12的整数。

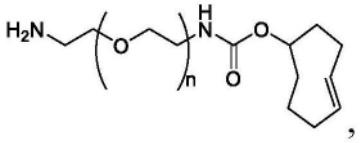
[0381] 支化单元B

[0382] 一方面，支化单元B包括基团B'的至少一种加合物。在某些实施例中，B包括基团B'的一种加合物。在某些实施例中，B包括基团B'的两种加合物。在某些实施例中，B包括基团B'的三种加合物。

[0383] 在某些实施例中，B包括基团B'的至少四种加合物。在某些实施例中，B包括基团B'的四种加合物。在某些实施例中，B包括基团B'的五种加合物。在某些实施例中，B包括基团B'的六种加合物。

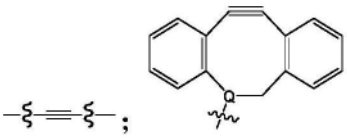
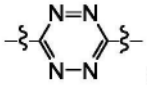
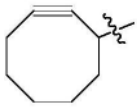
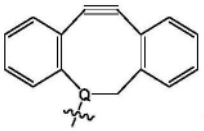
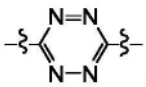
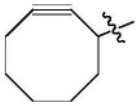
[0384] 通常，根据本公开的基团B'的加合物涵盖包含基团B'的加成反应的产物的任何部分，独立于产生所述部分的合成步骤。

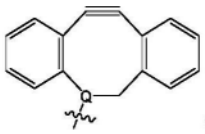
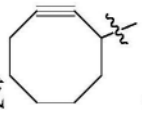
[0385] 在一些实施例中，基团B'的加合物可以是经取代的马来酰亚胺和例如硫醇或经取代的反式-环辛烯的产物，例如：

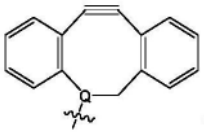
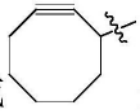
[0386] ，

[0387] 其中n是0至12的整数和例如四嗪。

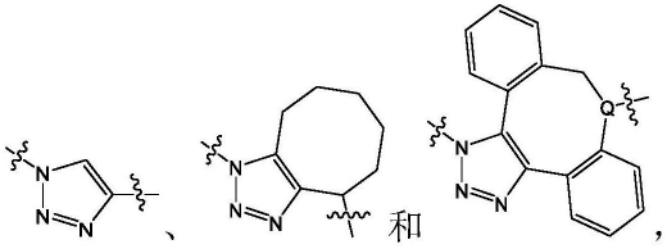
[0388] 在一些实施例中，基团B'的加合物可以是叠氮化物与炔烃部分之间的1,3-环加成反应的产物。不希望受理论的束缚，叠氮化物-炔烃环加成是叠氮化物与末端或内部炔烃之间的1,3-偶极环加成，得到1,2,3-三唑。

[0389] 更具体地，在Q是C或N时选自$-N_3$；；；以及的基团B'的加合物可以涵盖在Q是C或N时选自$-N_3$；；；；以及的基团B'和基团B"的1,3-环加成加合物，其中基团B"与基团B'互补形成1,3-环加成加合物。

[0390] 作为非限制性实例，基团B'可以是叠氮化物($-N_3$)，并且基团B"可以是含炔烃基团，例如，；；或。

[0391] 作为另一个非限制性实例，基团B’可以是含炔烃基团，例如，；；或并且基团B”可以是叠氮化物。

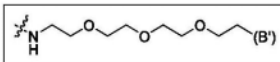
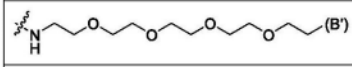
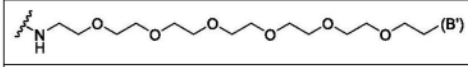
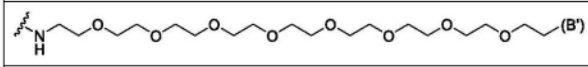
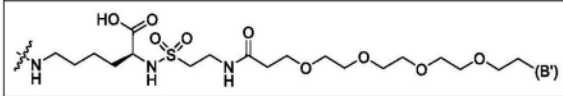
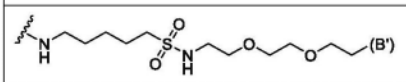
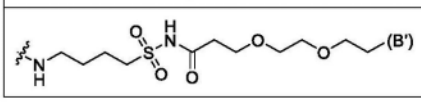
[0392] 在一个实施例中，基团B’和基团B”的加合物包括三唑部分。在一个特定实施例中，基团B’和基团B”的加合物具有选自由以下组成的组的结构：

[0393] 其中Q是C或N。

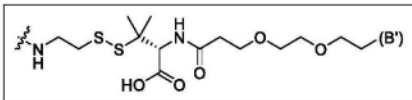
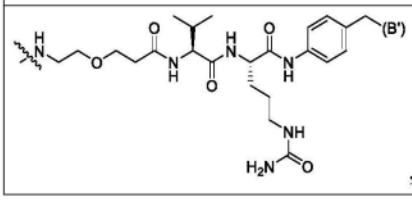
[0394] 如上所述，在一个实施例中，B包括基团B’的一种加合物。

[0395] 在特定实施例中，L1-B选自由以下组成的组：

[0396]

[0397]


，

[0398] 其中所述是与所述抗FGFR2抗体的谷氨酰胺残基的氨基连接点，并且(B’)是基团B’的加合物。

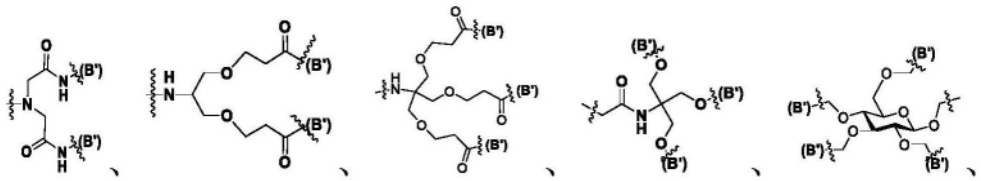
[0399] 在一个实施例中，基团B’是叠氮化物(-N_3)，并且基团B’的加合物包括三唑。

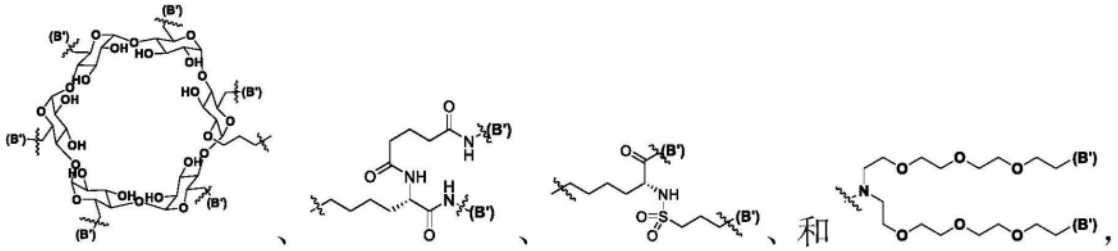
[0400] 根据本公开的一个实施例，接头L1-B可以是叠氮胺接头(AL)，其包括与抗体直接连接的胺基、含PEG的碱基结构和叠氮化物官能团B’(n＝1)。

[0401] 图8中列出了非限制性示例性叠氮胺接头的基本组分结构。表1中提供了作为实例

合成的具体结构。

[0402] 在一个实施例中,B包括所述基团B'的至少两种加合物。在特定实施例中,B包括:

[0403] 

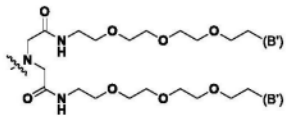
[0404] 

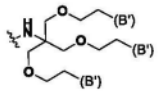
其中(B')包括基团B'的加合物的连接点。

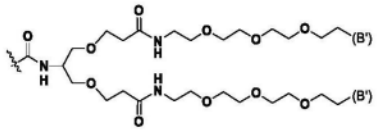
[0405] 在特定实施例中,B选自由以下组成的组:

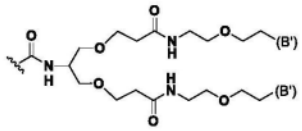
[0406] 

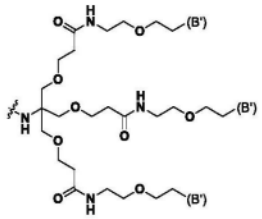
[0407]

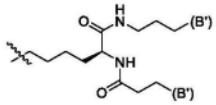


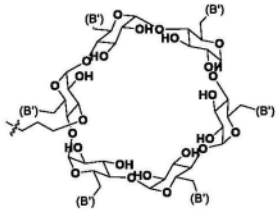


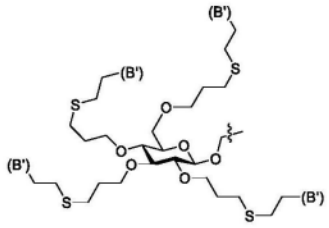


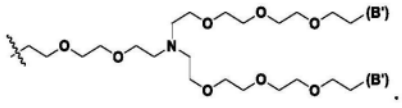






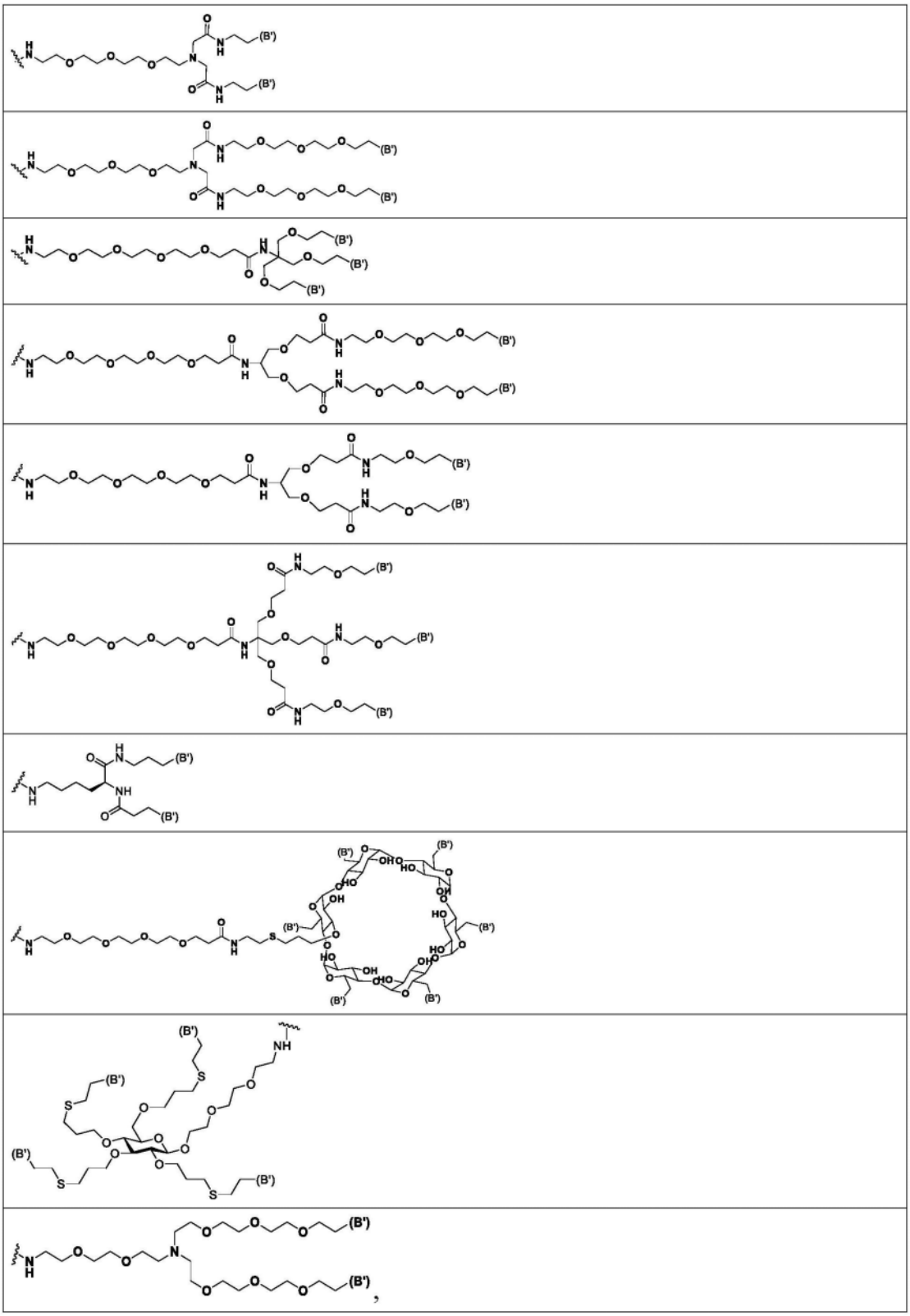


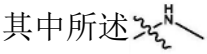




[0408] 在特定实施例中,L1-B选自由以下组成的组:

[0409]



[0410] 其中所述是与所述抗FGFR2抗体的谷氨酰胺残基的氨基连接点。

[0411] 根据本公开的另一个实施例，接头L1-B可以是支链烷基叠氮胺接头(BL)，其包括与抗FGFR2抗体直接连接的胺基、含支链烷基PEG的碱基结构和2至6个叠氮化物官能团B'(n＝2-6)。

[0412] 图9中列出了示例性非限制性支链烷基叠氮胺接头的基本组分结构。表2中提供了作为实例合成的具体结构。

[0413] 接头L2

[0414] 在本公开的某些实施例中,L2具有根据式(L2)的结构:

[0415] B”-SP1-B2-(-SP2-AA-SP3)$_p$

[0416] (L2),

[0417] 其中:

[0418] B”是能够与所述基团B’共价连接的基团;

[0419] SP1不存在或是第一间隔子单元;

[0420] B2不存在或是支化单元;

[0421] SP2不存在或是第二间隔子单元;

[0422] AA不存在或是包括2至4个氨基酸的肽单元;

[0423] SP3不存在或是第三间隔子单元,并且

[0424] p是1至12的整数。

[0425] 在本公开的某些实施例中,L2具有根据式(L2’)的结构:

[0426] H_2N-SP1-B2-(-SP2-AA-SP3)$_p$

[0427] (L2’),

[0428] 其中:

[0429] SP1不存在或是第一间隔子单元;

[0430] B2不存在或是支化单元;

[0431] SP2不存在或是第二间隔子单元;

[0432] AA不存在或是包括2至4个氨基酸的肽单元;

[0433] SP3不存在或是第三间隔子单元,并且

[0434] p是1至12的整数。

[0435] 在本公开的某些实施例中,L2具有根据式(L2”)的结构:

[0436] 马来酰亚胺-N-SP1-B2-(-SP2-AA-SP3)$_p$

[0437] (L2”),

[0438] 其中:

[0439] SP1不存在或是第一间隔子单元;

[0440] B2不存在或是支化单元;

[0441] SP2不存在或是第二间隔子单元;

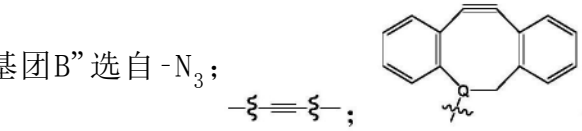
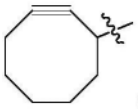
[0442] AA不存在或是包括2至4个氨基酸的肽单元;

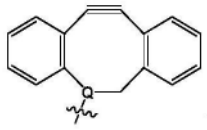
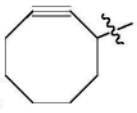
[0443] SP3不存在或是第三间隔子单元,并且

[0444] p是1至12的整数。

[0445] 在其中所述接头L2具有根据L2’或L2”的结构的某些实施例中,所述接头L2可以与抗FGFR2抗体直接共价连接,例如,通过TGase介导的谷氨酰胺连接(接头L2’)或半胱氨酸连接(接头L2”)。

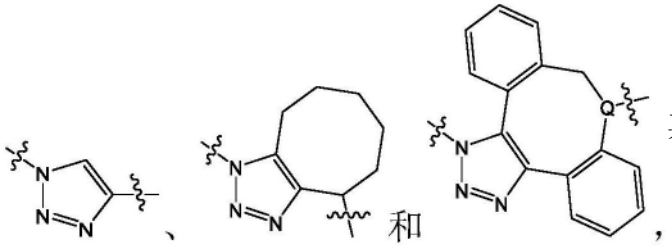
[0446] 在某些实施例中,所述接头L2包括能够与基团B’共价连接的基团B”,如上文所描述的。

[0447] 在某些实施例中，基团B”选自-N_3；；以及，其中Q是C或n。

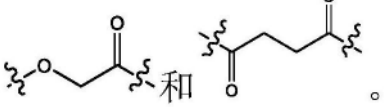
[0448] 作为非限制性实例，基团B”可以是含炔烃基团，例如，；或。

[0449] 作为另一个非限制性实例，基团B”可以是叠氮化物。

[0450] 在一个实施例中，基团B’和基团B”的加合物包括三唑部分。在一个特定实施例中，基团B’和基团B”的加合物具有选自由以下组成的组的结构：

[0451] 其中Q是C或N。

[0452] 在一个实施例中，所述第一间隔子SP1不存在。

[0453] 在另一个实施例中，SP1选自由以下组成的组：。

[0454] 在一个实施例中，所述第二间隔子SP2不存在。

[0455] 在另一个实施例中，SP2选自由以下组成的组：烷基(例如，C_{1-20}烷基、或C_{1-12}烷基、C_{1-10}烷基、或C_{1-8}烷基或C_{1-6}烷基)、-$(CH_2-CH_2-O)_v$-、-NH-、-C(O)-、-NH-C(O)-、-NH-$(CH_2)_u$-、-NH-$(CH_2)_u$-C(O)-、-NH-$(CH_2-CH_2-O)_v$-、-NH-$(CH_2-CH_2-O)_v$-C(O)-、-NH-$(CH_2-CH_2-O)_v$-$(CH_2)_u$-、-NH-$(CH_2-CH_2-O)_v$-$(CH_2)_u$-C(O)-、-$(CH_2)_u$-NH-C(O)-、-NH-$(CH_2)_u$-NH-C(O)-、-NH-$(CH_2)_u$-C(O)-NH-或其组合；其中下标u和v独立地是1至8的整数。

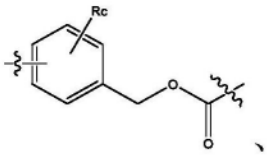
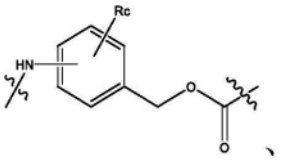
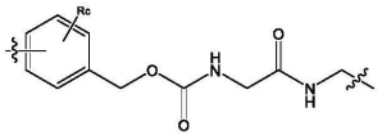
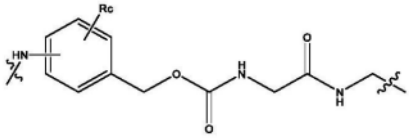
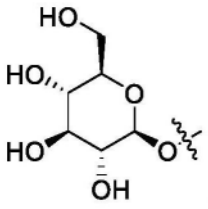
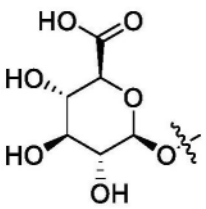
[0456] 在某些实施例中，AA是肽单元，所述肽单元包括选自甘氨酸、缬氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、谷氨酸、赖氨酸、苯丙氨酸和瓜氨酸和其组合的2至4个氨基酸。

[0457] 在一个实施例中，AA是包括2个氨基酸的肽单元。在一个实施例中，AA是包括3个氨基酸的肽单元。在一个实施例中，AA是包括4个氨基酸的肽单元。

[0458] 在一个特定实施例中，AA是缬氨酸-瓜氨酸、缬氨酸-丙氨酸或苯丙氨酸-赖氨酸。

[0459] 在另一个特定实施例中，AA选自由以下组成的组：甘氨酸-甘氨酸-甘氨酸(GGG)、甘氨酸-甘氨酸-甘氨酸-甘氨酸(GGGG)、甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸(GGF)和甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-甘氨酸(GGFG)和谷氨酸-缬氨酸-瓜氨酸(EVC)。

[0460] 在一个实施例中，所述第三间隔子SP3不存在。

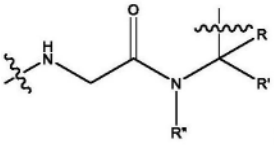
[0461] 在另一个实施例中，SP3选自由以下组成的组：、、、和其组合，其中R_c在每次出现时独立地不存在或是选自和的基团。

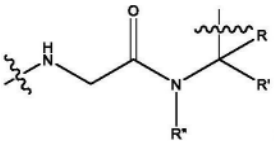
[0462] 在一个实施例中，所述间隔子SP3与喜树碱类似物，例如Dxd或M-Dxd共价连接。

[0463] 在一个实施例中，所述接头L2包括约1至约12个、或约1至约10个、或约1至约8个、或约1至约6个、或约1至约4个或约1至约2个(SP2-AA-SP3)部分，并且所述接头-有效载荷L2-Dxd包括约1至约12个、或约1至约10个、或约1至约8个、或约1至约6个、或约1至约4个或约1至约2个Dxd有效载荷分子。

[0464] 部分M

[0465] 在某些实施例中，部分M不存在。

[0466] 在某些实施例中，M存在并且具有结构，其中R、R'和R"在每次出现时独立地是氢或烷基，或者其中R'和R"一起形成环，例如3元至8元环。

[0467] 在某些实施例中，M存在并且具有结构，其中R、R'和R"在每次出现时独立地是氢或C_1-C_4烷基，或者其中R'和R"一起形成5元或6元环。

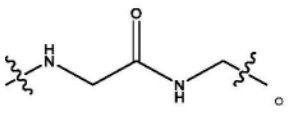
[0468] 在一个实施例中，R是氢。

[0469] 在一个实施例中，R'是氢。在一个实施例中，R'是C_1-C_4烷基。

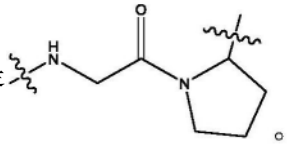
[0470] 在一个实施例中，R"是氢。在一个实施例中，R"是C_1-C_4烷基。

[0471] 在一个实施例中，R'和R"一起形成5元环。在一个实施例中，R'和R"一起是-$(CH_2)_3$-。

[0472] 在一个实施例中，R'和R"一起形成6元环。在一个实施例中，R'和R"一起是-$(CH_2)_4$-。

[0473] 在一个实施例中，R、R'和R"在每次出现时是氢，即，M是。

[0474] 在另一个实施例中，R是氢并且R'和R"一起形成5元环，例如，R'和R"一起是-

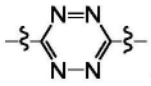
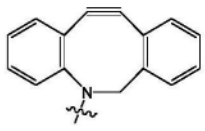
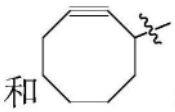
$(CH_2)_3$-并且M是。

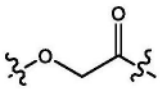
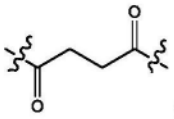
[0475] 接头-有效载荷(L2-P)

[0476] 另一方面,本公开提供了根据式(L2-P)、(L2'-P)或(L2"-P)的化合物:

[0477] B"-SP1-(-SP2-AA-SP3-M-Dxd)p(L2-P)、H_2N-SP1-(-SP2-AA-SP3-M-Dxd)p(L2'-P)或马来酰亚胺-N-SP1-(-SP2-AA-SP3-M-Dxd)p(L2'-P),

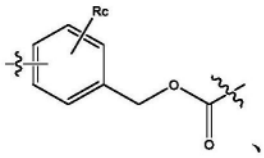
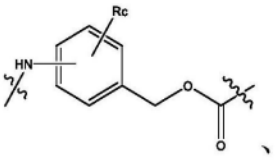
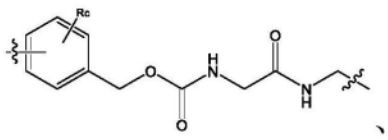
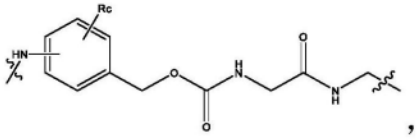
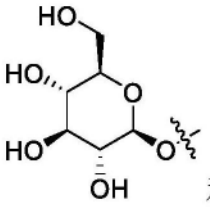
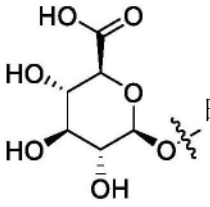
[0478] 其中:

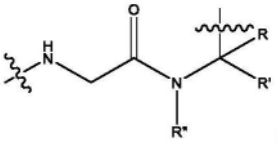
[0479] B"选自由以下组成的组:$-N_3$、、、、和;

[0480] SP1不存在或第一间隔子单元选自由以下组成的组:和;

[0481] SP2不存在或第二间隔子单元选自由以下组成的组:C_{1-6}烷基、-$(CH_2-CH_2-O)_v$-、-NH-、-C(O)-、-NH-C(O)-、-NH-$(CH_2)_u$-、-NH-$(CH_2)_u$-C(O)-、-NH-$(CH_2-CH_2-O)_v$-、-NH-$(CH_2-CH_2-O)_v$-C(O)-、-NH-$(CH_2-CH_2-O)_v$-$(CH_2)_u$-、-NH-$(CH_2-CH_2-O)_v$-$(CH_2)_u$-C(O)-、-$(CH_2)_u$-NH-C(O)-、-NH-$(CH_2)_u$-NH-C(O)-、-NH-$(CH_2)_u$-C(O)-NH-或其组合;其中下标u和v独立地是1至8的整数;

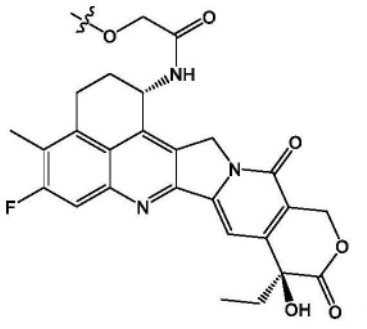
[0482] AA不存在或是包括2至4个氨基酸的肽单元;

[0483] SP3不存在或第三间隔子单元选自由以下组成的组:、、、,其中R_c在每次出现时独立地不存在或是选自和的基团;

[0484] M不存在或是,其中R、R'和R"在每次出现时独立地是氢或C_1-C_4

烷基,或者其中R'和R"一起形成5元或6元环;并且

[0485] Dxd是具有根据式(P)的结构的抗肿瘤剂:

[0486]  并且

(P),

[0487] p是1至12的整数。

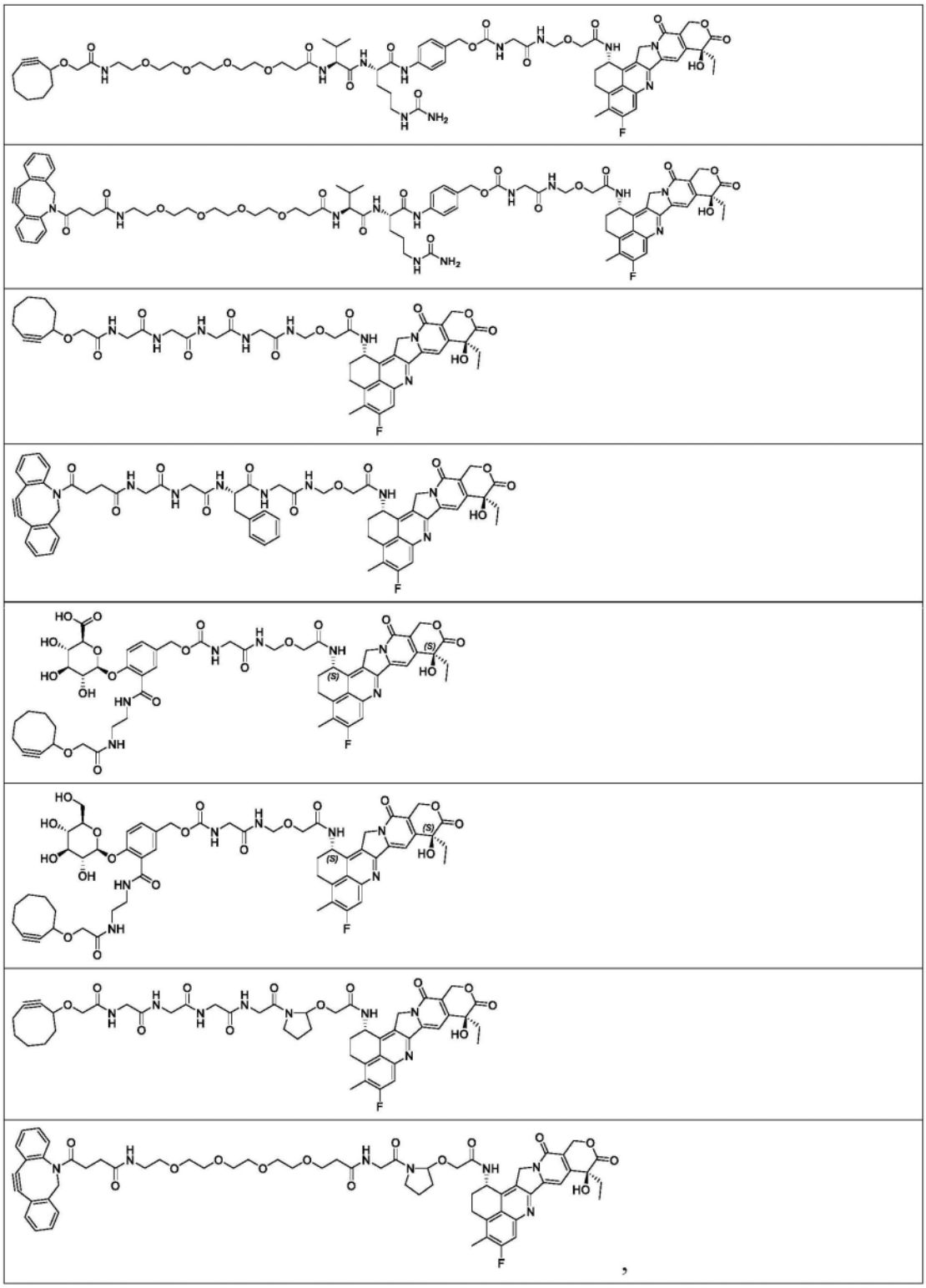
[0488] 在其中L2-P具有根据L2'-P或L2"-P的结构的某些实施例中,所述接头-有效载荷可以与抗FGFR2抗体直接共价连接,例如,通过TGase介导的谷氨酰胺连接(L2'-P)或半胱氨酸连接(L2"-P)。

[0489] 在一个实施例中,L2'-P与抗FGFR2抗体(BA)直接连接的产物可能具有以下结构:

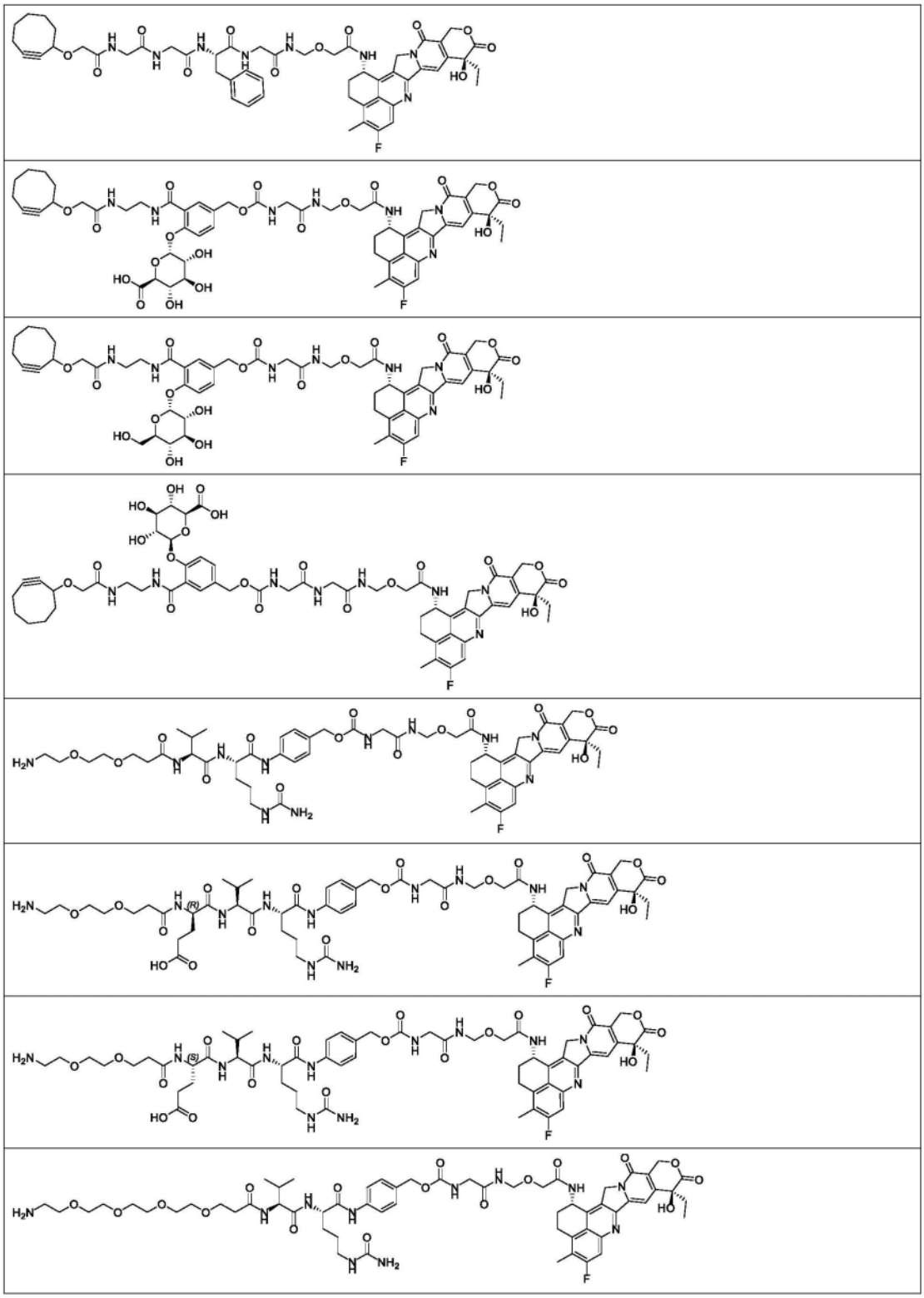
[0490] BA-(Gln-NH-SP1-B2-(-SP2-AA-SP3-M-Dxd)$_p$)$_n$。

[0491] 在某些实施例中,根据本公开的接头-有效载荷L2-P、L2'-P或L2"-P具有选自由以下组成的组的结构:

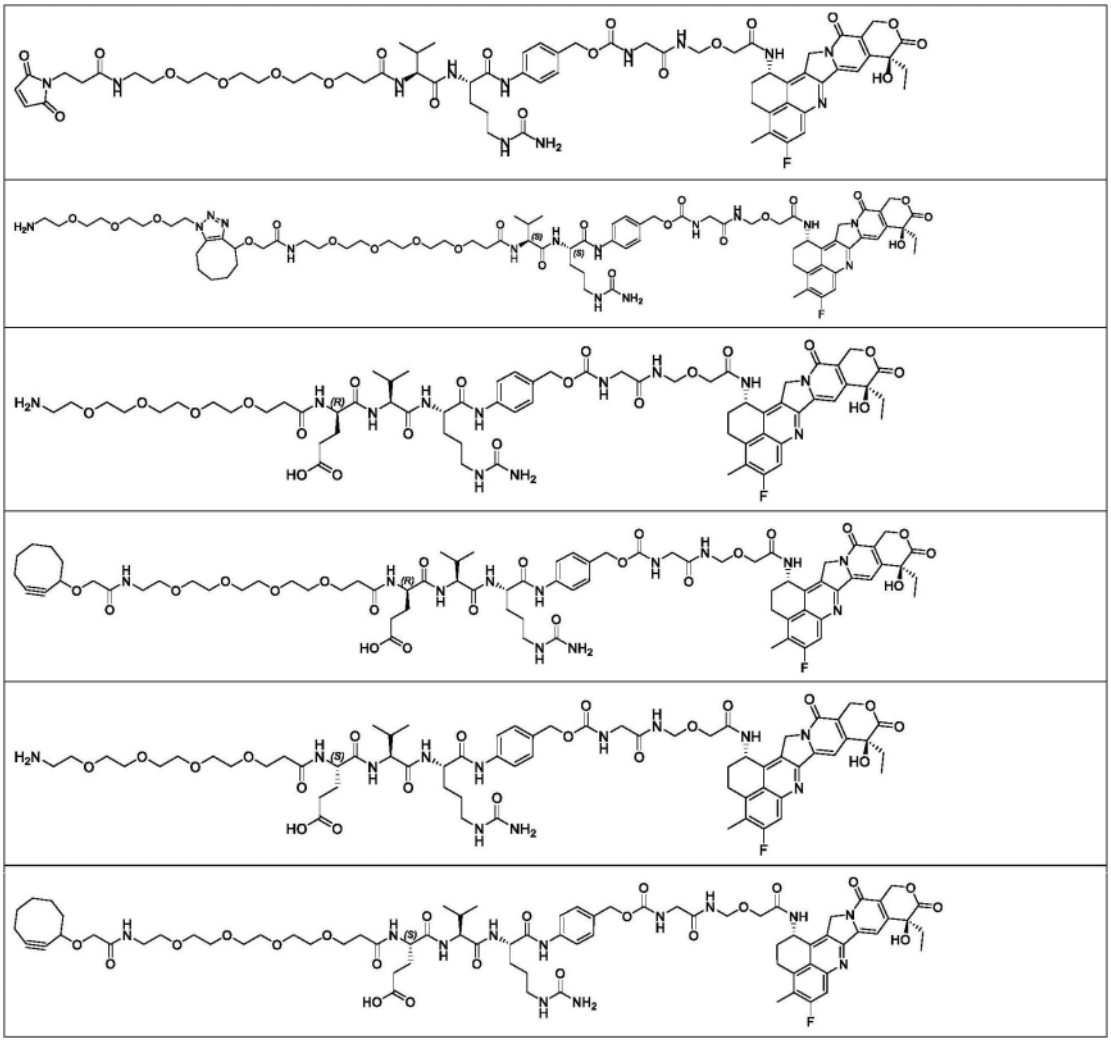
[0492]



[0493]



[0494]



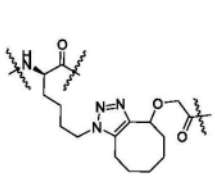
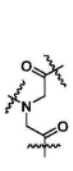
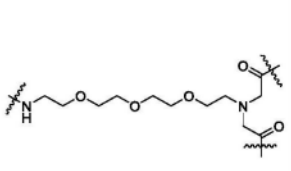
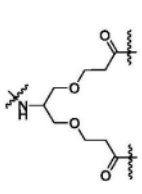
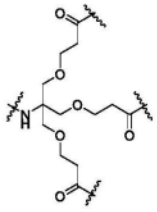
[0495] 或其药学上可接受的盐。

[0496] 分支接头2-有效载荷(BL2P)

[0497] 另一方面,本公开提供了包括一个或多个支化单元的L2-P。下表1中描绘了根据本公开的示例性支化单元B1-B5。

[0498] 表1.支化单元B1-B5的结构

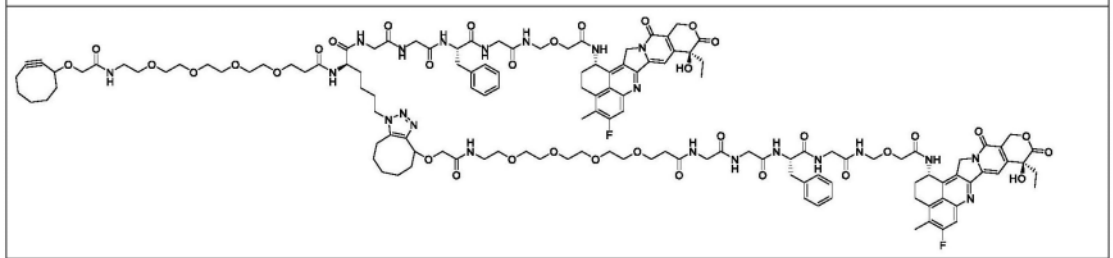
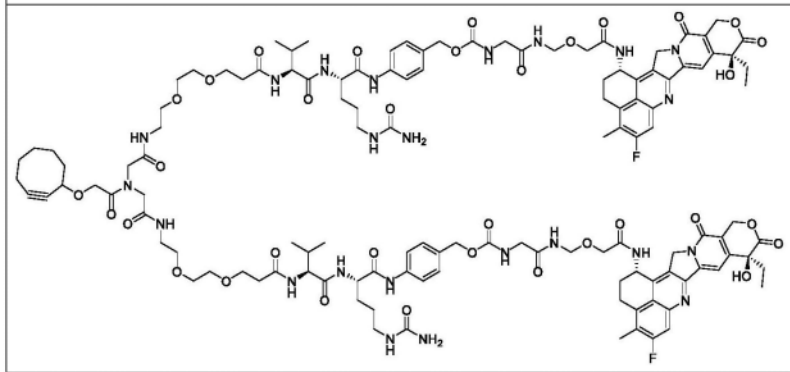
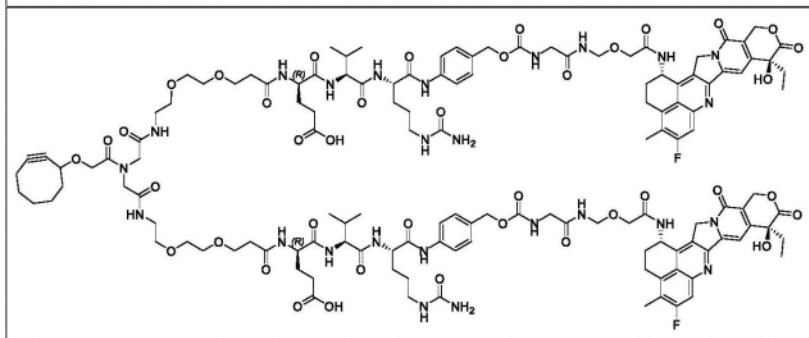
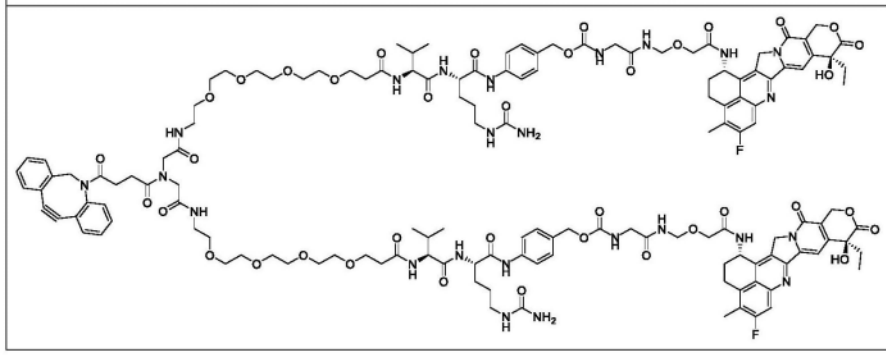
[0499]

分支 B	B1	B2	B3	B4	B5
结构					

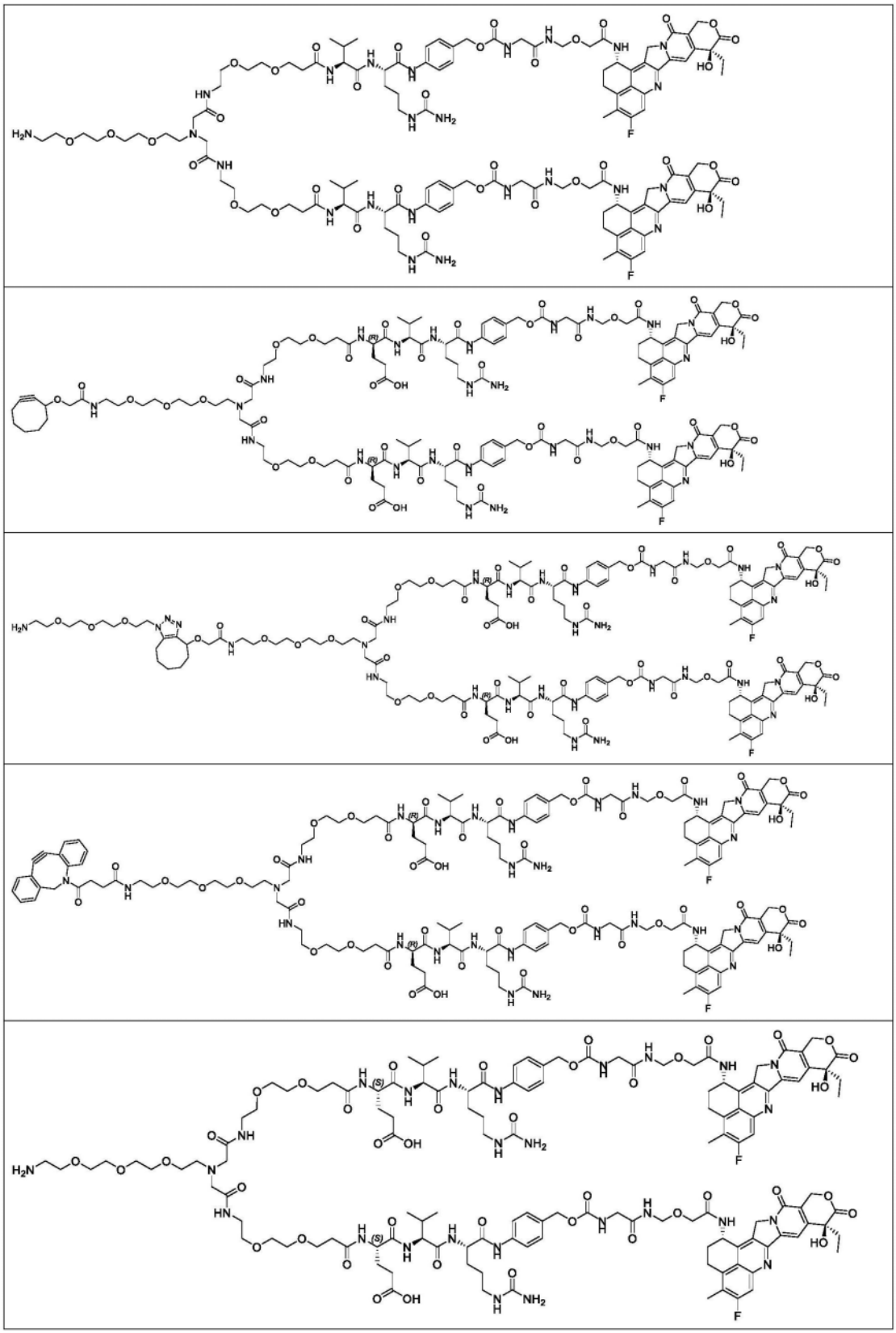
[0500] 下表2提供了根据本公开的示例性分支接头2-有效载荷(BL2P)的结构。

[0501] 表2.分支接头2-有效载荷(BL2P)的结构

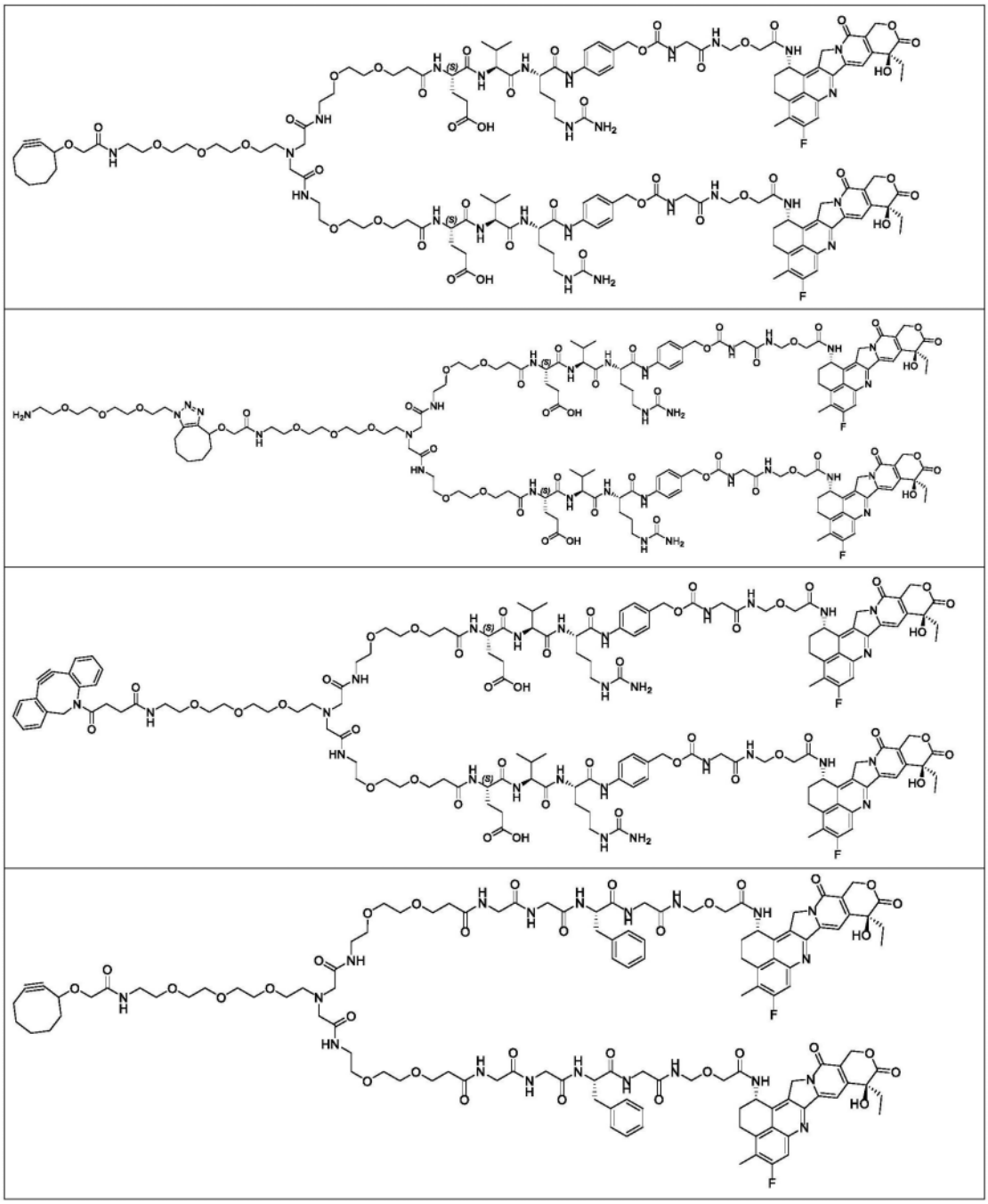
[0502]

结构





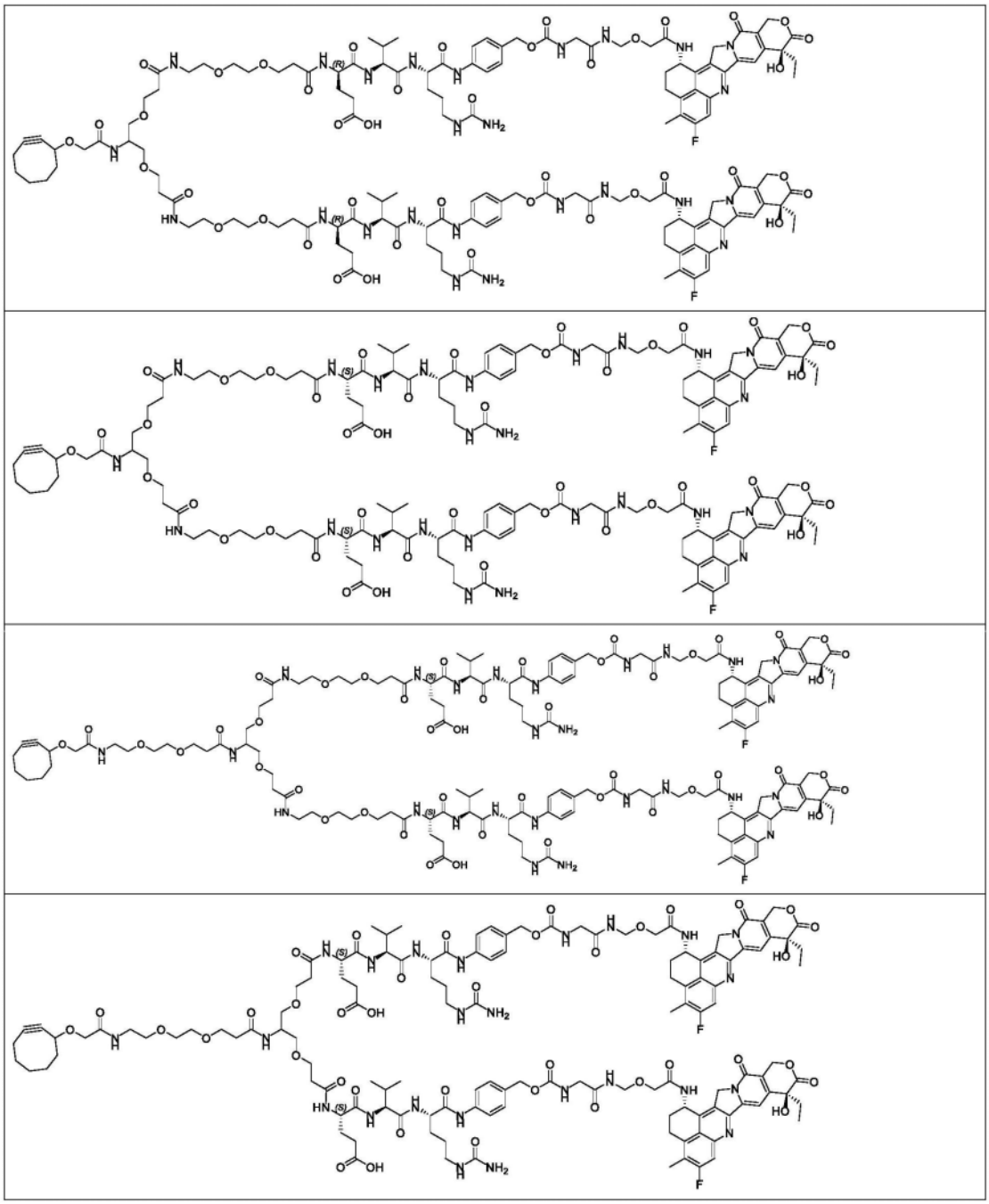
[0503]

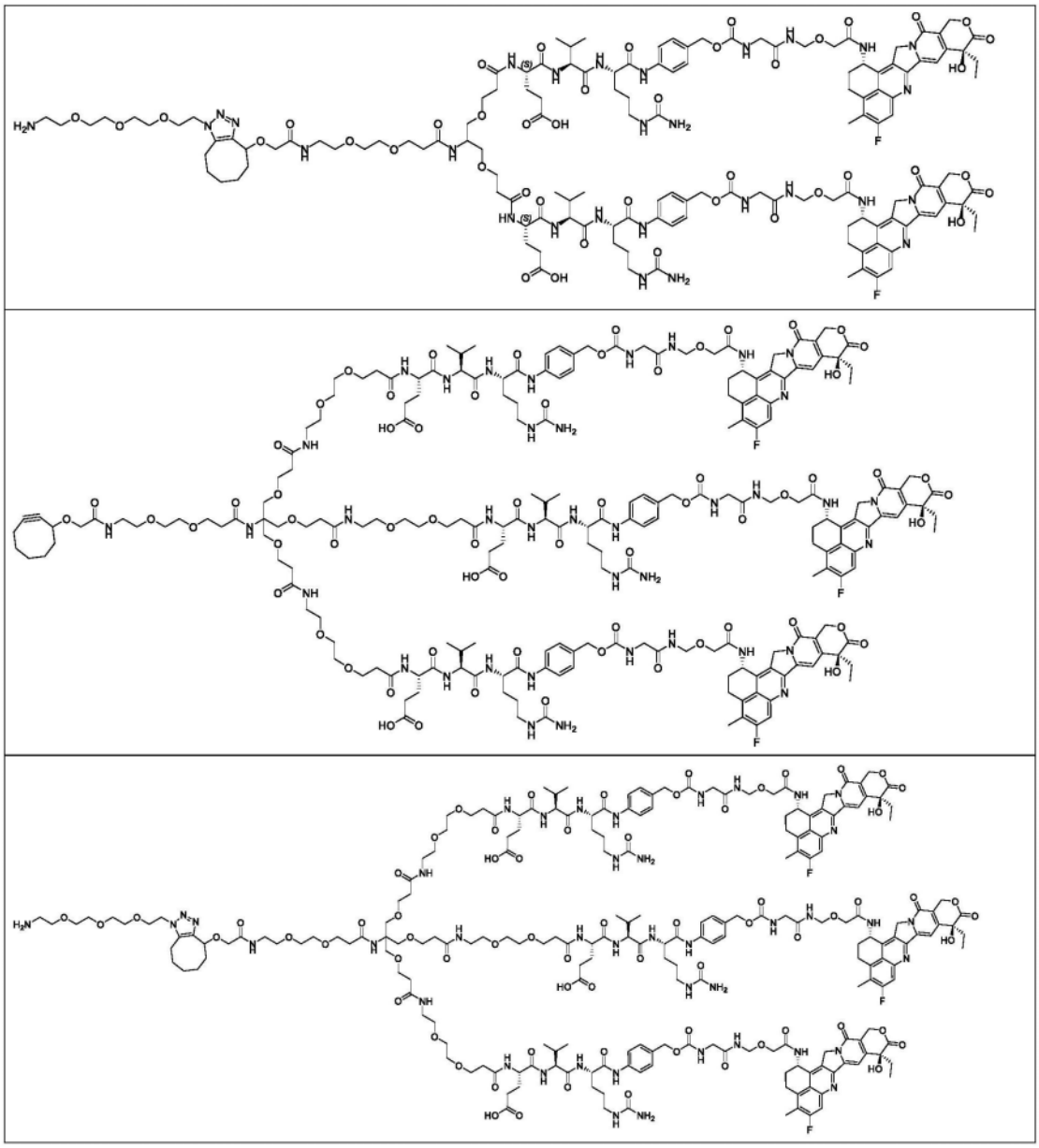


[0504]

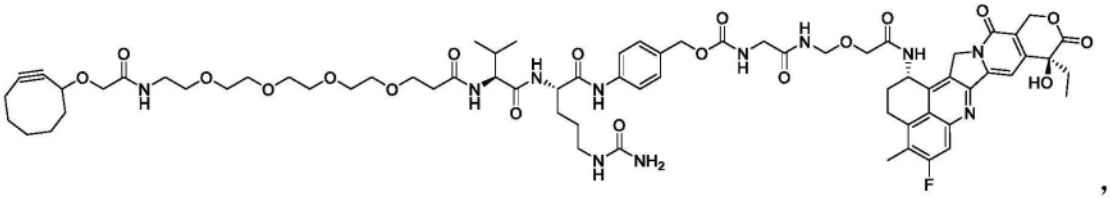


[0505]



[0506] 

[0507] 在一个实施例中,根据本公开的化合物(即,接头-有效载荷)具有结构:

[0508] ,

[0509] 或其药学上可接受的盐。

[0510] 在一些实施例中,Ab与WO2015/157592中公开的接头-有效载荷或有效载荷,例如,其中公开的化合物T32缀合。在一些实施例中,Ab与德卢替康(DXd),任选地通过包括GGFG的接头缀合。

[0511] 在一些实施例中,Ab是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:2的HCVR氨基酸序列内的CDR和SEQ ID NO:10的LCVR氨基酸序列内的CDR。在一些实施例中,Ab是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,所述抗FGFR2抗体或其

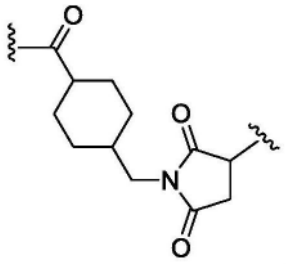
抗原结合片段包括SEQ ID NO:2的HCVR氨基酸序列和SEQ ID NO:10的LCVR氨基酸序列。

[0512] 在一些实施例中,Ab是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:22的HCVR氨基酸序列内的CDR和SEQ ID NO:28的LCVR氨基酸序列内的CDR。在一些实施例中,Ab是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:22的HCVR氨基酸序列和SEQ ID NO:28的LCVR氨基酸序列。

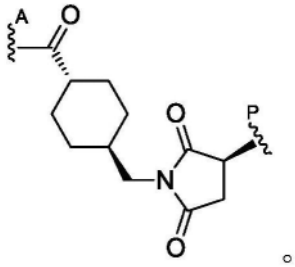
[0513] 在一些实施例中,Ab是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:40的HCVR氨基酸序列内的CDR和SEQ ID NO:44的LCVR氨基酸序列内的CDR。在一些实施例中,Ab是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括SEQ ID NO:40的HCVR氨基酸序列和SEQ ID NO:44的LCVR氨基酸序列。

[0514] 在一些实施例中,L是可切割接头。在一些实施例中,L是不可切割接头。在一些实施例中,L包括二肽。在一些实施例中,L包括PAB部分。

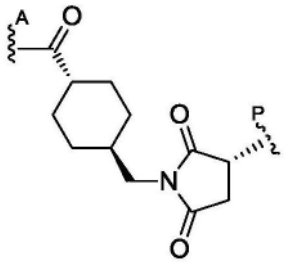
[0515] 在一些实施例中,L包括具有以下结构的部分:

[0516] 。

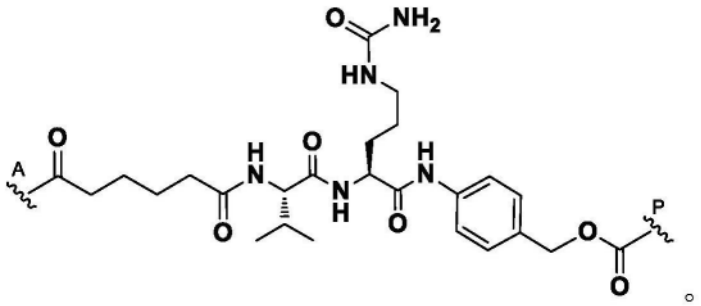
[0517] 在一些实施例中,L包括具有以下结构的部分:

[0518] 。

[0519] 在一些实施例中,L包括具有以下结构的部分:

[0520] 。

[0521] 在一些实施例中,L包括具有以下结构的部分:

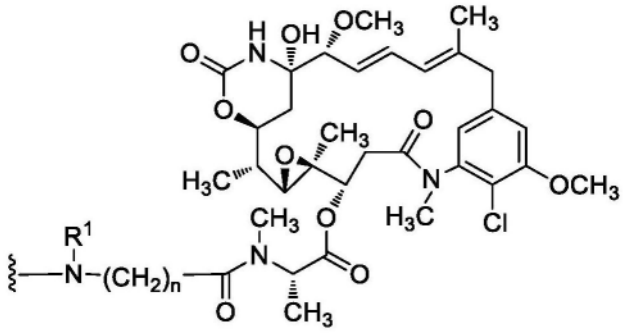
[0522] 

[0523] 在一些实施例中,Pay是妥布赖森。

[0524] 在一些实施例中,Pay是喜树碱类似物。

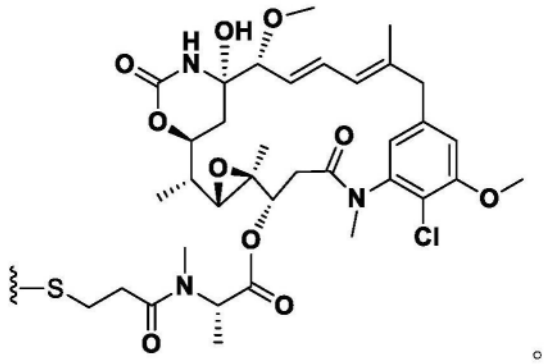
[0525] 在一些实施例中,Pay是美登素类化合物。

[0526] 在一些实施例中,Pay是:

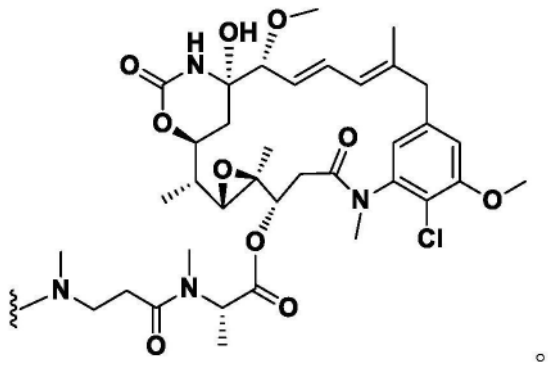
[0527] 

[0528] 其中R^1是烷基。

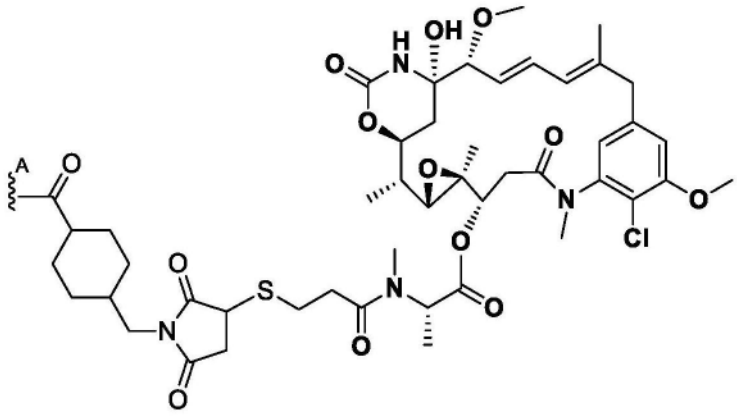
[0529] 在一些实施例中,Pay是:

[0530] 

[0531] 在一些实施例中,Pay是:

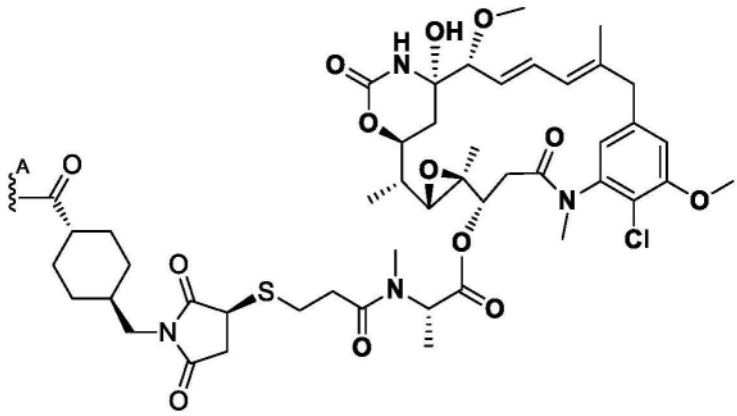
[0532] 

[0533] 在一些实施例中,n是2至5的整数。在一些实施例中,-L-Pay是:

[0534] 

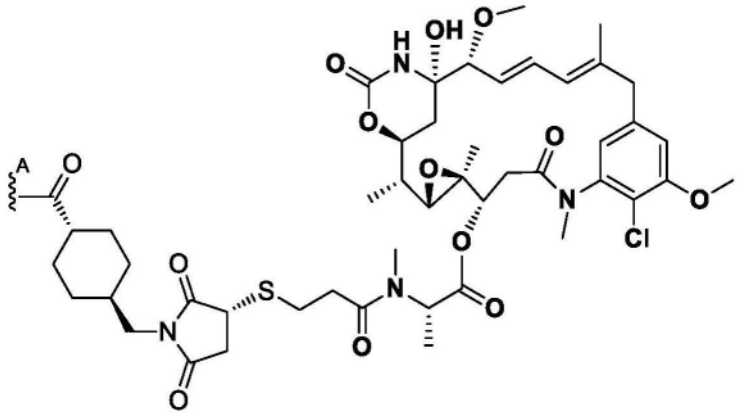
[0535] 其中是与所述抗体的键。

[0536] 在一些实施例中，-L-Pay是：

[0537] 

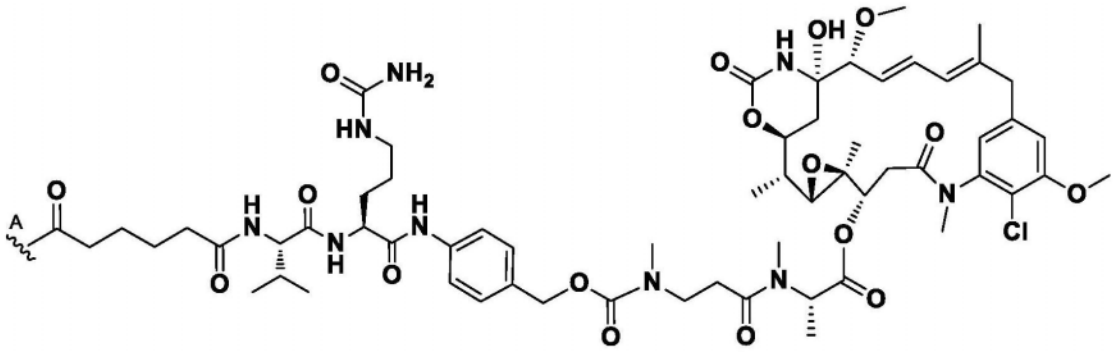
[0538] 其中是与所述抗体的键。

[0539] 在一些实施例中，-L-Pay是

[0540] 

[0541] 其中是与所述抗体的键。

[0542] 在一些实施例中，-L-Pay是：

[0543] 

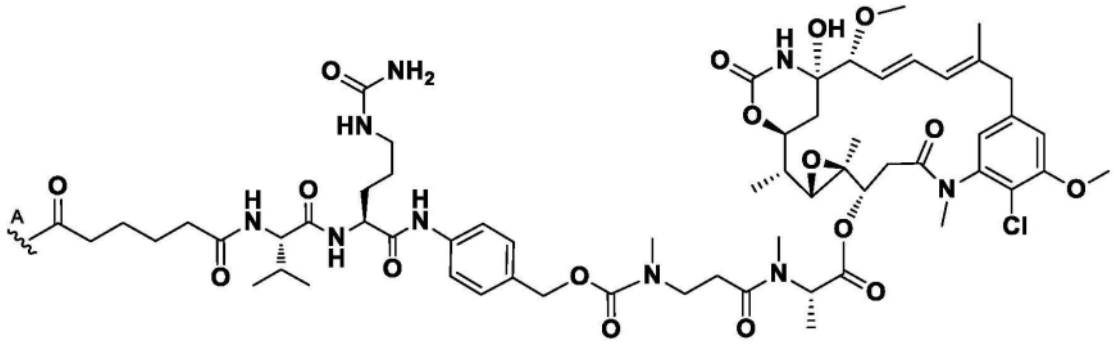
[0544] 其中是与所述抗体的键。在一些实施例中,所述缀合物具有以下结构:

[0545] $Ab-[L-Pay]_n$

[0546] 其中:Ab是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括:

[0547] (i)HCDR1,所述HCDR1具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列;HCDR2,所述HCDR2具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列;HCDR3,所述HCDR3具有SEQ ID NO:8的氨基酸序列;LCDR1,所述LCDR1具有SEQ ID NO:12的氨基酸序列;LCDR2,所述LCDR2具有SEQ ID NO:14的氨基酸序列;以及LCDR3,所述LCDR3具有SEQ ID NO:16的氨基酸序列;

[0548] L-Pay是

[0549] 

[0550] (美登素类化合物1ALP)其中是与所述抗原结合蛋白的键;并且n是2-5的整数。

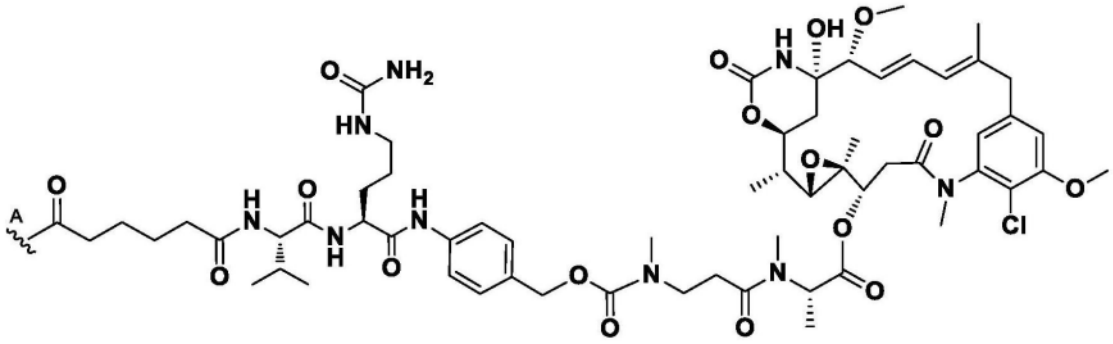
[0551] 在一些实施例中,所述缀合物具有以下结构:

[0552] $Ab-[L-Pay]_n$

[0553] 其中:Ab是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括:

[0554] (ii)HCDR1,所述HCDR1具有SEQ ID NO:24的氨基酸序列;HCDR2,所述HCDR2具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列;HCDR3,所述HCDR3具有SEQ ID NO:26的氨基酸序列;LCDR1,所述LCDR1具有SEQ ID NO:30的氨基酸序列;LCDR2,所述LCDR2具有SEQ ID NO:32的氨基酸序列;以及LCDR3,所述LCDR3具有SEQ ID NO:34的氨基酸序列;

[0555] L-Pay是

[0556] 

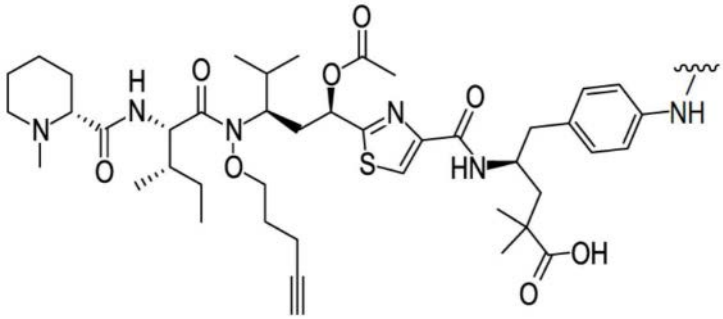
[0557] (美登素类化合物1ALP)其中A—是与所述抗原结合蛋白的键;并且n是2-5的整数。

[0558] 在一些实施例中,所述缀合物具有以下结构:

[0559] $Ab-[L-Pay]_n$

[0560] 其中:Ab是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括:

[0561] (i)HCDR1,所述HCDR1具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列;HCDR2,所述HCDR2具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列;HCDR3,所述HCDR3具有SEQ ID NO:8的氨基酸序列;LCDR1,所述LCDR1具有SEQ ID NO:12的氨基酸序列;LCDR2,所述LCDR2具有SEQ ID NO:14的氨基酸序列;以及LCDR3,所述LCDR3具有SEQ ID NO:16的氨基酸序列;Pay是

[0562] 

[0563] 其中A—是与所述抗原结合蛋白的键;并且n是2-5的整数。

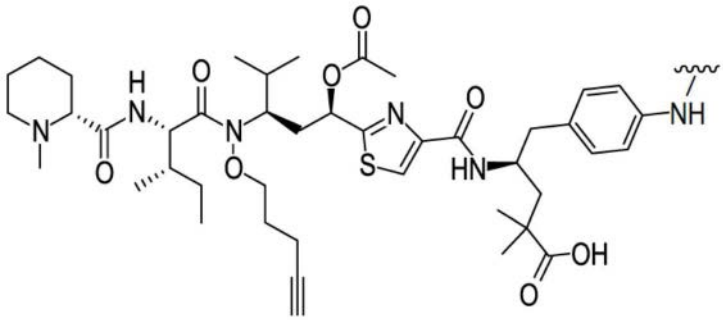
[0564] 在一些实施例中,所述缀合物具有以下结构:

[0565] $Ab-[L-Pay]_n$

[0566] 其中:Ab是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括:

[0567] (ii)HCDR1,所述HCDR1具有SEQ ID NO:24的氨基酸序列;HCDR2,所述HCDR2具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列;HCDR3,所述HCDR3具有SEQ ID NO:26的氨基酸序列;LCDR1,所述LCDR1具有SEQ ID NO:30的氨基酸序列;LCDR2,所述LCDR2具有SEQ ID NO:32的氨基酸序列;以及LCDR3,所述LCDR3具有SEQ ID NO:34的氨基酸序列;

[0568] Pay是

[0569] 

[0570] 其中$\overset{A}{\sim}$是与所述抗原结合蛋白的键;并且n是2-5的整数。

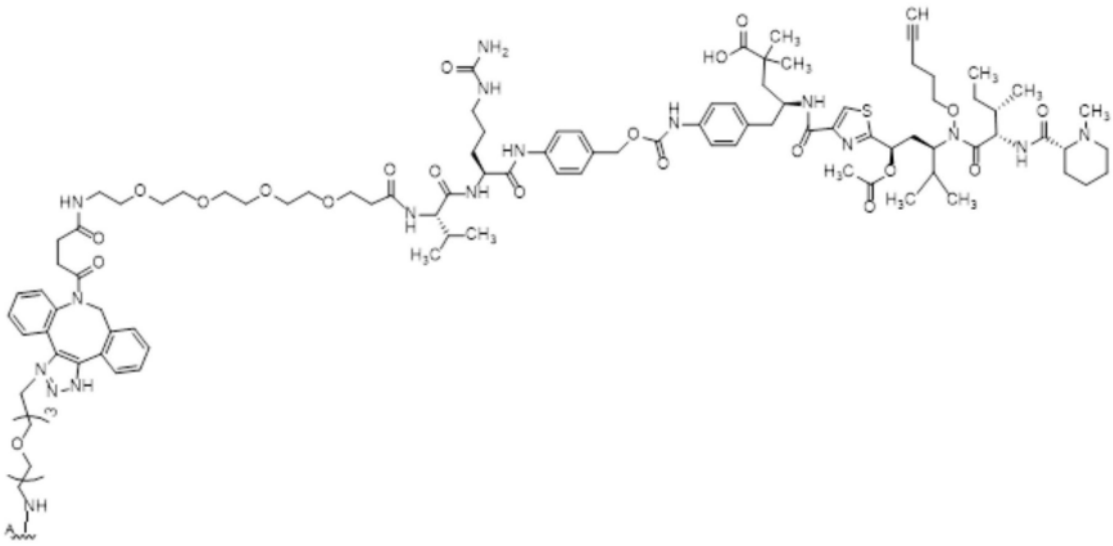
[0571] 在一些实施例中,所述缀合物具有以下结构:

[0572] $Ab-[L-Pay]_n$

[0573] 其中:Ab是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括:

[0574] (i)HCDR1,所述HCDR1具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列;HCDR2,所述HCDR2具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列;HCDR3,所述HCDR3具有SEQ ID NO:8的氨基酸序列;LCDR1,所述LCDR1具有SEQ ID NO:12的氨基酸序列;LCDR2,所述LCDR2具有SEQ ID NO:14的氨基酸序列;以及LCDR3,所述LCDR3具有SEQ ID NO:16的氨基酸序列;

[0575] L-Pay是

[0576] 

[0577] 或其环加成区域异构体,其中$\overset{A}{\sim}$是与重链谷氨酰胺的键。在一些实施例中,n是2。在某些实施例中,n是2并且L-Pay与Q295谷氨酰胺结合。在一些实施例中,n是4。在某些实施例中,n是4并且L-Pay与Q295和Q297谷氨酰胺结合。

[0578] 在一些实施例中,所述缀合物具有以下结构:

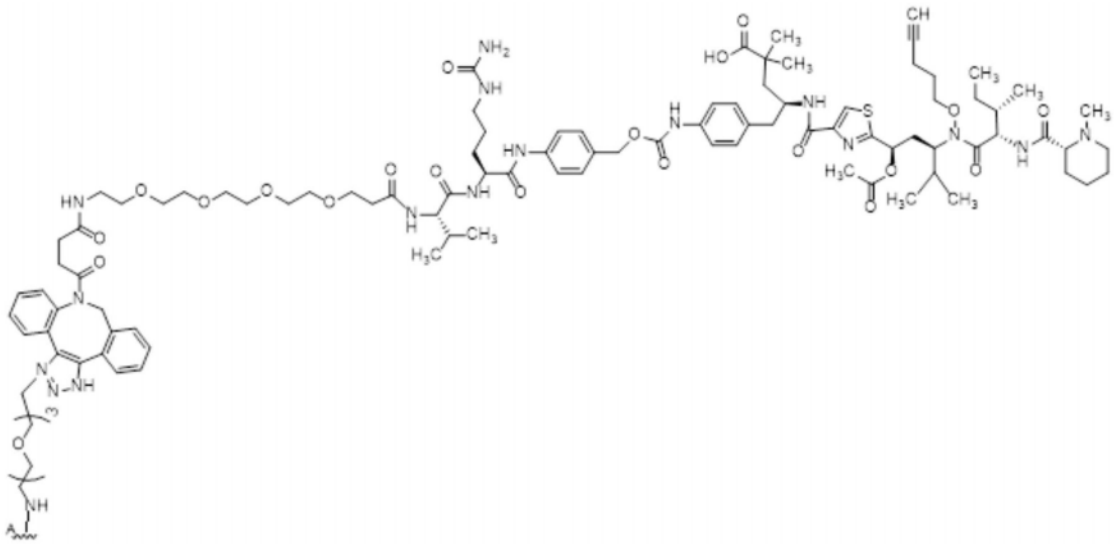
[0579] $Ab-[L-Pay]_n$

[0580] 其中:Ab是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括:

[0581] (ii)HCDR1,所述HCDR1具有SEQ ID NO:24的氨基酸序列;HCDR2,所述HCDR2具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列;HCDR3,所述HCDR3具有SEQ ID NO:26的氨基酸序列;LCDR1,所

述LCDR1具有SEQ ID NO:30的氨基酸序列;LCDR2,所述LCDR2具有SEQ ID NO:32的氨基酸序列;以及LCDR3,所述LCDR3具有SEQ ID NO:34的氨基酸序列;

[0582] L-Pay是

[0583] 

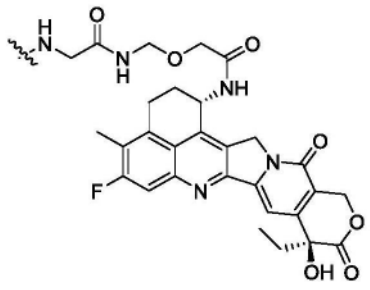
[0584] 或其环加成区域异构体,其中是与重链谷氨酰胺的键。在一些实施例中,n是2。在某些实施例中,n是2并且L-Pay与Q295谷氨酰胺结合。在一些实施例中,n是4。在某些实施例中,n是4并且L-Pay与Q295和Q297谷氨酰胺结合。

[0585] 在一些实施例中,所述缀合物具有以下结构:

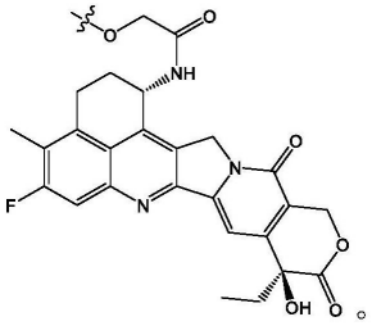
[0586] $Ab-[L-Pay]_n$

[0587] 其中:Ab是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括:

[0588] (i)HCDR1,所述HCDR1具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列;HCDR2,所述HCDR2具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列;HCDR3,所述HCDR3具有SEQ ID NO:8的氨基酸序列;LCDR1,所述LCDR1具有SEQ ID NO:12的氨基酸序列;LCDR2,所述LCDR2具有SEQ ID NO:14的氨基酸序列;以及LCDR3,所述LCDR3具有SEQ ID NO:16的氨基酸序列;Pay是

[0589] 

或

[0590] 

[0591] 其中～表示通过接头与所述抗体的连接点;并且n是2-8的整数。

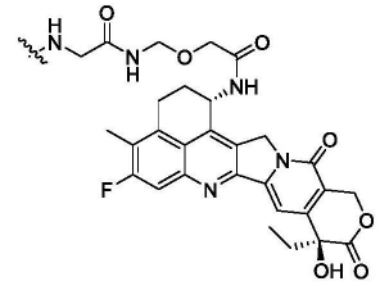
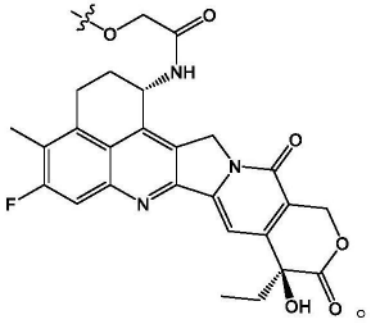
[0592] 在一些实施例中,所述缀合物具有以下结构:

[0593] $Ab-[L-Pay]_n$

[0594] 其中:Ab是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括:

[0595] (ii)HCDR1,所述HCDR1具有SEQ ID NO:24的氨基酸序列;HCDR2,所述HCDR2具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列;HCDR3,所述HCDR3具有SEQ ID NO:26的氨基酸序列;LCDR1,所述LCDR1具有SEQ ID NO:30的氨基酸序列;LCDR2,所述LCDR2具有SEQ ID NO:32的氨基酸序列;以及LCDR3,所述LCDR3具有SEQ ID NO:34的氨基酸序列;

[0596] Pay是

[0597] 
或


[0598] 其中～表示通过接头与所述抗体的连接点;并且n是2-8的整数。

[0599] 在一些实施例中,所述缀合物具有以下结构:

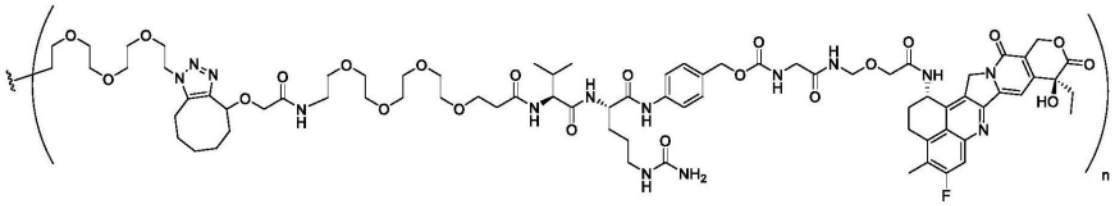
[0600] $Ab-[L-Pay]_n$

[0601] 其中:Ab是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括:

[0602] (i)HCDR1,所述HCDR1具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列;HCDR2,所述HCDR2具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列;HCDR3,所述HCDR3具有SEQ ID NO:8的氨基酸序列;LCDR1,所述

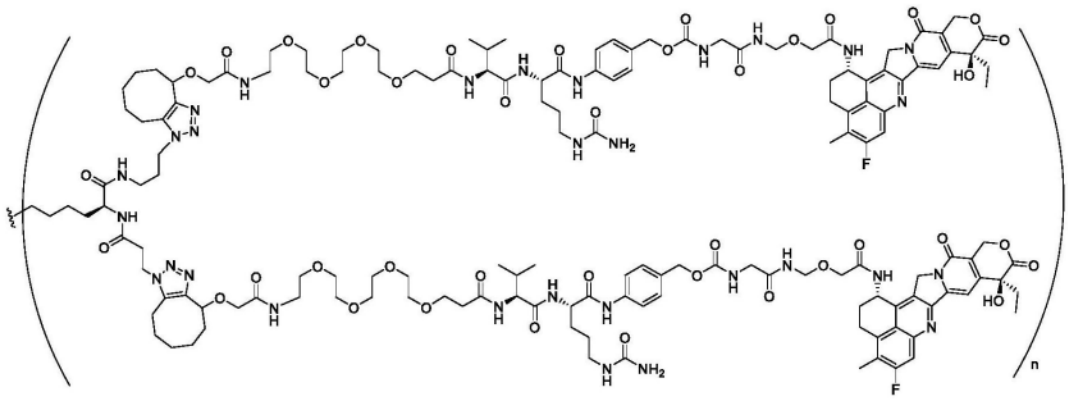
LCDR1具有SEQ ID NO:12的氨基酸序列;LCDR2,所述LCDR2具有SEQ ID NO:14的氨基酸序列;以及LCDR3,所述LCDR3具有SEQ ID NO:16的氨基酸序列;

[0603] L-Pay是



或

[0604]



[0605] 其中L-pay通过重链谷氨酰胺与Ab结合。在一些实施例中,n是2。在某些实施例中,n是2并且L-Pay与Q295谷氨酰胺结合。在一些实施例中,n是4。在某些实施例中,n是4并且L-Pay与Q295和Q297谷氨酰胺结合。在一些实施例中,n是6。在一些实施例中,n是8。在一些实施例中,n是8,L是支链的并且L-Pay与Q295和Q297结合。

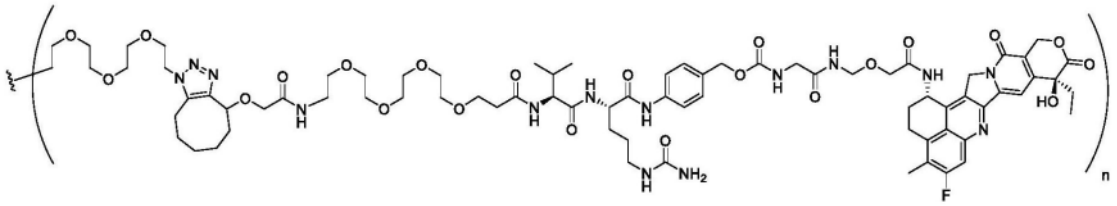
[0606] 在一些实施例中,所述缀合物具有以下结构:

[0607] $Ab-[L-Pay]_n$

[0608] 其中:Ab是抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括:

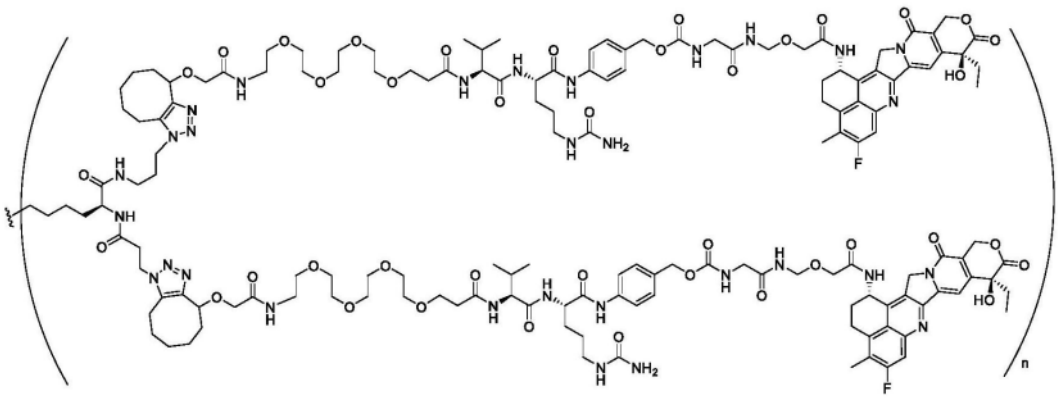
[0609] (ii)HCDR1,所述HCDR1具有SEQ ID NO:24的氨基酸序列;HCDR2,所述HCDR2具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列;HCDR3,所述HCDR3具有SEQ ID NO:26的氨基酸序列;LCDR1,所述LCDR1具有SEQ ID NO:30的氨基酸序列;LCDR2,所述LCDR2具有SEQ ID NO:32的氨基酸序列;以及LCDR3,所述LCDR3具有SEQ ID NO:34的氨基酸序列;

[0610] L-Pay是



或

[0611]

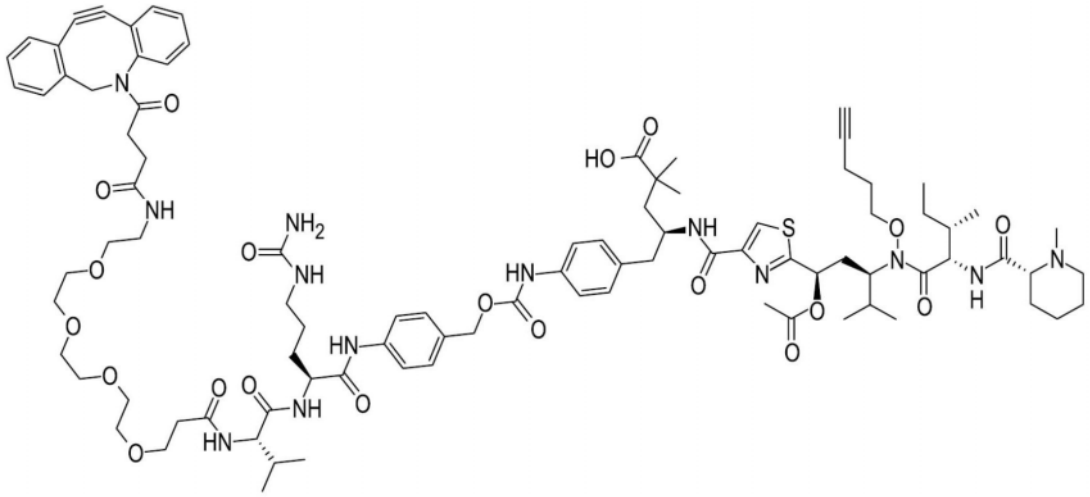


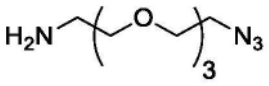
[0612] 其中L-pay通过重链谷氨酰胺与Ab结合。在一些实施例中，n是2。在某些实施例中，n是2并且L-Pay与Q295谷氨酰胺结合。在一些实施例中，n是4。在某些实施例中，n是4并且L-Pay与Q295和Q297谷氨酰胺结合。在一些实施例中，n是6。在一些实施例中，n是8。在一些实施例中，n是8，L是支链的并且L-Pay与Q295和Q297结合。

[0613] 本文所描述的抗体药物缀合物可以使用本领域的普通技术人员已知的缀合条件来制备(参见，例如，Doronina等人《自然生物技术(Nature Biotechnology)》2003,21,7,778，所述文献以引用的方式整体并入本文)。在一些实施例中，通过使本文所描述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段与包括期望的接头和细胞毒性剂的化合物接触来制备抗FGFR2抗体或其抗原结合片段抗体药物缀合物，其中所述接头具有与抗体或抗原结合蛋白反应的部分，例如在抗体或抗原结合蛋白的期望的残基处。

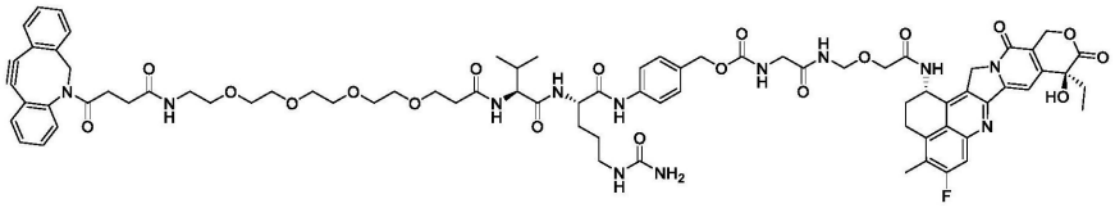
[0614] 在一些实施例中，本文所提供的抗体药物缀合物在重链Q295和/或Q297谷氨酰胺处缀合。可以使用本领域已知的技术来制备包括重链Q297谷氨酰胺的抗体，例如通过N297Q突变。参见，例如，《生物缀合化学》2014,25,3,569(2014)。此类缀合方法可以提供具有2个或4个DAR的抗体药物缀合物。在接头是分支的此类实施例中，缀合方法可以提供具有6个或8个DAR的抗体药物缀合物。

[0615] 在一些实施例中，此类方法包括通过在存在谷氨酰胺转胺酶的情况下使抗体与包括所述第一反应性部分的伯胺化合物反应来在重链谷氨酰胺处安装第一反应性部分，以产生在Q295和任选地Q297处包括第一反应性部分的抗体。该产物随后可以与具有接头和互补的第二反应性部分的有效载荷反应，以产生本文所提供的抗体-药物缀合物。在一些实施例中，第一反应性部分是叠氮化物。在一些实施例中，第二反应性部分是环炔烃。在一些实施例中，具有接头和互补的第二反应性部分的有效载荷是：

[0616] 

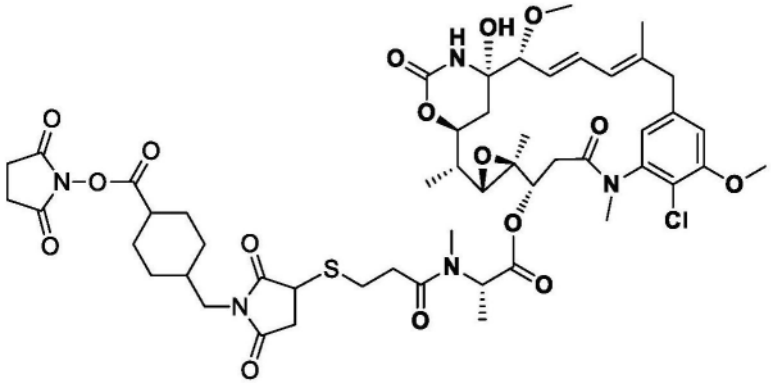
[0617] 其可以使用2019年12月20日提交的美国专利申请第16/724,164号中描述的方法来制备(例如,其中描述的化合物LP4)。在某些实施例中,所述伯胺化合物是。

[0618] 在一些实施例中,本文提供了用于制备抗体-药物缀合物的方法,所述方法包括使本文所描述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段与化合物

[0619] 

[0620] 接触,其中所述抗FGFR2用叠氮化物官能化。

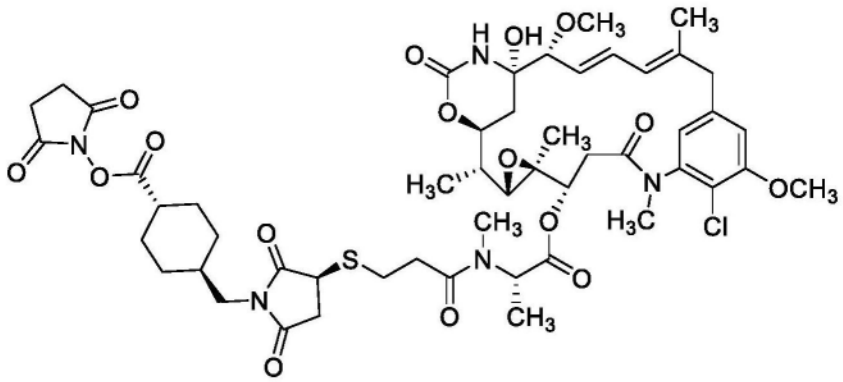
[0621] 在一些实施例中,本文提供了用于制备抗体-药物缀合物的方法,所述方法包括使本文所描述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段与具有下式A^1的化合物和水性稀释剂接触:

[0622] 

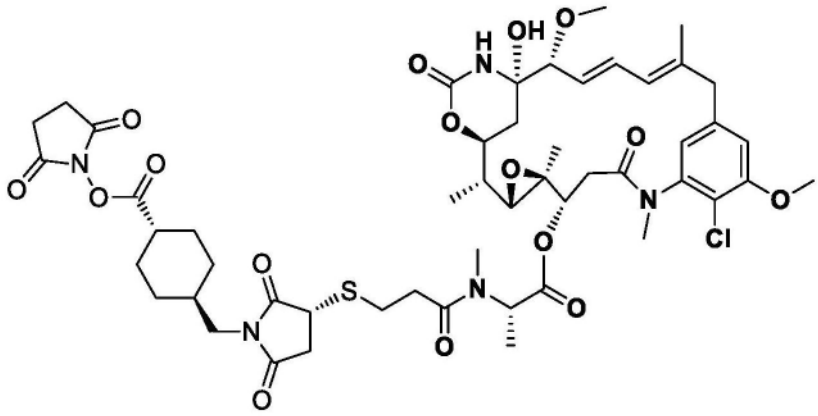
A^1。

[0623] 在某些实施例中,式A^1的化合物以化学计量过量存在。在一些实施例中,式A^1的化合物以5-6倍的化学计量过量存在。在一些实施例中,所述水性稀释剂包括HEPES。在一些实施例中,所述水性稀释剂包括DMA。

[0624] 在一些实施例中,式A^1的化合物是式A^2或A^3的化合物:

[0625] 

A^2

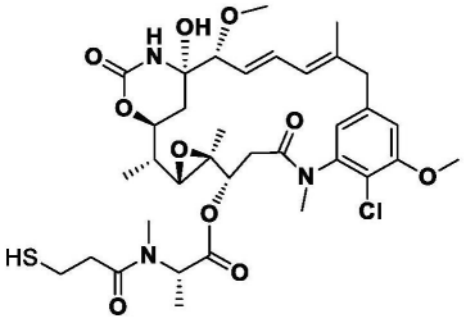
[0626] 

A^3。

[0627] 在一些实施例中，式A^2的化合物是A^3立体异构纯的。在一些实施例中，式A^1的化合物包括式A^1或A^2的化合物，其中A^1或A^2的化合物以超过50％的非对映异构体过量存在。在某些实施例中，所述非对映异构体过量是超过70％。在某些实施例中，所述非对映异构体过量是超过90％。在某些实施例中，所述非对映异构体过量是超过95％。

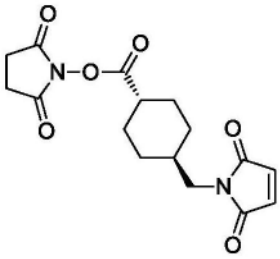
[0628] 术语“非对映异构体过量”是指期望的单一非对映异构体的摩尔分数与组合物中剩余的非对映异构体相比的差异。如下计算非对映异构体过量：(单一非对映异构体的量)-(其它非对映异构体的量)/1。例如，含有90％的1和10％的2、3、4或其混合物的组合物具有80％[(90-10)/1]的非对映异构体过量。含有95％的1和5％的2、3、4或其混合物的组合物具有90％[(95-5)/1]的非对映异构体过量。含有99％的1和1％的2、3、4或其混合物的组合物具有98％[(99-1)/1]的非对映异构体过量。对于1、2、3或4中的任何一种，可以类似地计算非对映异构体过量。

[0629] 在一些实施例中，式A^1的化合物通过在存在硅胶和稀释剂的情况下使式(a)的化合物：

[0630] 

（a）

[0631] 与式(b)的化合物

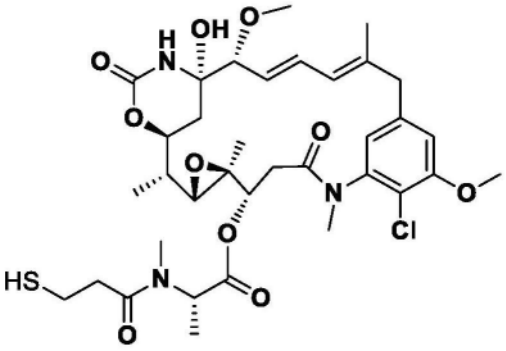
[0632] 

（b）

[0633] 接触来制备。在一些实施例中，所述稀释剂包括有机溶剂和水。

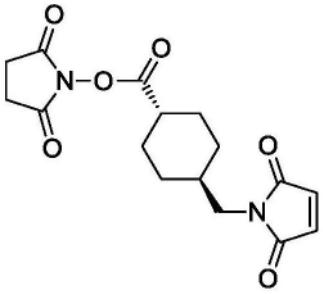
[0634] 本发明还提供了通过以下方法制备的产物：

[0635] (i)在存在硅胶和稀释剂的情况下使式(a)的化合物：

[0636] 

（a）

[0637] 与式(b)的化合物：

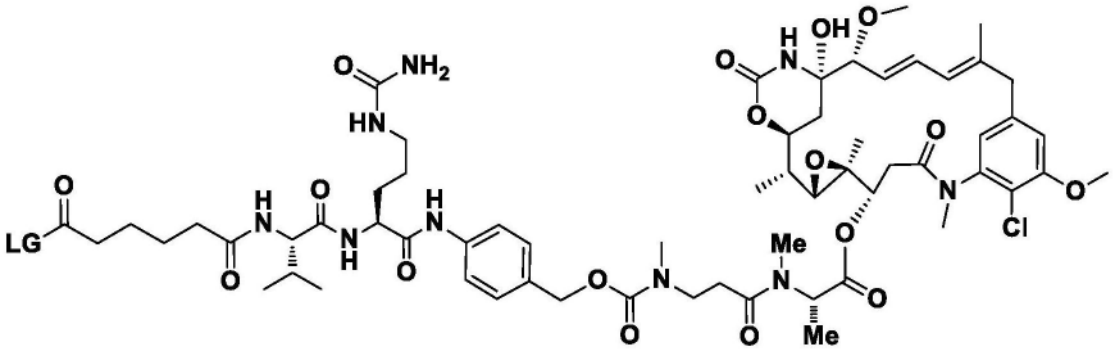
[0638] 

（b）

[0639] 接触以合成中间体；以及

[0640] (ii)使本文所描述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段与中间体和水性稀释剂接触。

[0641] 在一些实施例中,本文提供了用于制备抗体-药物缀合物的方法,所述方法包括使本文所描述的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段与具有下式B的化合物和水性稀释剂接触:

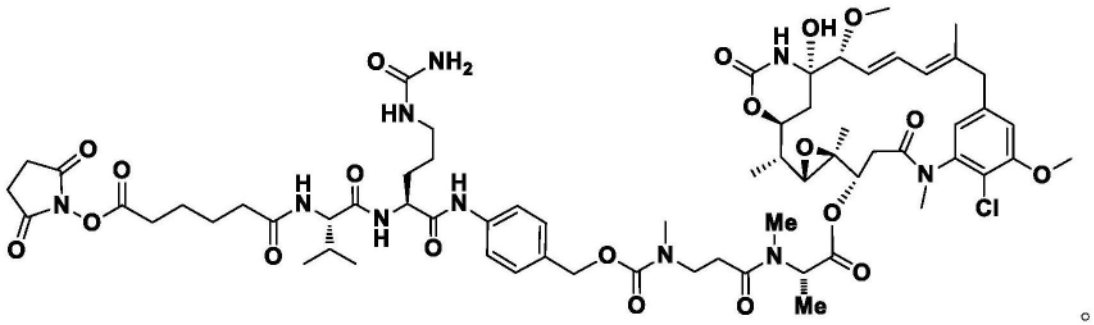
[0642] 

B

[0643] 其中LG是离去基团。

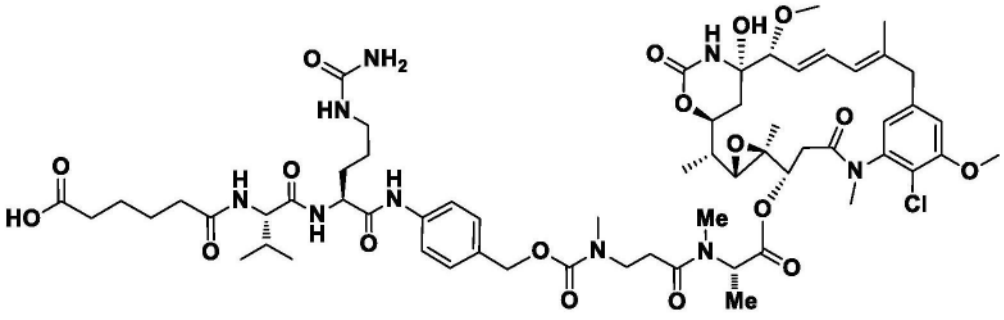
[0644] 在某些实施例中,式B的化合物以化学计量过量存在。在一些实施例中,式B的化合物以5-6倍的化学计量过量存在。在一些实施例中,所述水性稀释剂包括HEPES。在一些实施例中,所述水性稀释剂包括DMA。在一些实施例中,-C(O)-LG是酯,例如,NHS或三氟苯基酯。

[0645] 在一些实施例中,式B的化合物是式B^1的化合物:

[0646] 

B^1。

[0647] 在一些实施例中,如下制备式B^1的化合物:使式C的化合物:

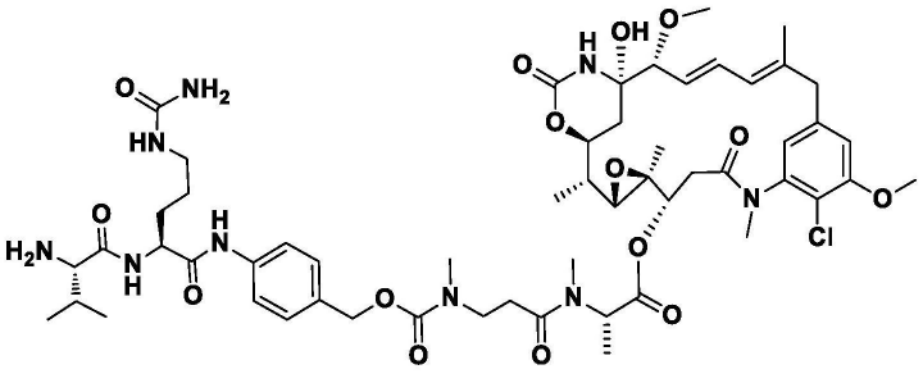
[0648] 

C

[0649] 与N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)、肽偶联剂和有机稀释剂接触。合适的肽偶联剂包含对于与亲核体的反应而言活化羧酸部分,即使其具有反应性的那些。在某些实施例中,所述肽偶联剂是N-(3-二甲基氨基丙基)-N'-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC)。在一些实施例中,所述有

机溶剂是二氯甲烷。

[0650] 在一些实施例中，如下制备式C的化合物：使式D的化合物：

[0651] 

D

[0652] 与己二酸、肽偶联剂和有机溶剂接触。在某些实施例中，所述肽偶联剂是2-乙氧基-1-乙氧基羰基-1,2-二氢喹啉(EEDQ)。在某些实施例中，所述有机溶剂包括二氯甲烷。可以如在WO2014/145090中所描述制备化合物D。

[0653] 表位作图和相关技术

[0654] 术语“表位”是指抗原上B细胞和/或T细胞所响应的位点。B细胞表位可以由邻接氨基酸和通过蛋白质的三级折叠并置的非邻接氨基酸形成。由连续氨基酸形成的表位通常在暴露于变性溶剂时保留，而通过三级折叠形成的表位通常在用变性溶剂处理时丢失。表位通常包含处于独特的空间构象中的至少3个，本文更通常为至少5个或8-10个氨基酸。

[0655] 本文提供了与FGFR2蛋白中发现的一种或多种氨基酸相互作用的抗FGFR2抗体。

[0656] 与抗体和其抗原结合片段结合的表位可以由FGFR2蛋白的3个或更多个(例如，3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个、18个、19个、20个或更多个)氨基酸的单个连续序列组成。可替代地，相关表位可以由FGFR2(例如，构象表位)的多个非连续氨基酸(或氨基酸序列)组成。

[0657] 本领域普通技术人员已知的各种技术可以用于确定FGFR2上的表位，本公开的抗体和抗原结合结构域与所述表位相互作用。可以用于确定特定抗体或抗原结合结构域的表位或结合结构域的示例性技术包含例如点诱变(例如，丙氨酸扫描诱变、精氨酸扫描诱变等)、肽印迹分析(Reineke,2004,《分子生物学方法》248:443-463)、蛋白酶保护和肽切割分析。另外，可以采用如表位切除、表位提取及抗原的化学修饰等方法(Tomer,2000,《蛋白质科学(Protein Science)》,9:487-496)。可以用于鉴定与抗体相互作用的多肽内的氨基酸的另一种方法是通过质谱法检测的氢/氘交换。一般而言，氢/氘交换方法涉及对所关注的蛋白质进行氘标记，然后将抗体与经氘标记的蛋白质结合。接下来，将蛋白质/抗体复合物转移到水中，并且受抗体复合物保护的氨基酸内的可交换质子以比并非是界面的一部分的氨基酸内的可交换质子慢的速率经历氢-氘反交换。因此，形成蛋白质/抗体界面的一部分的氨基酸可以保留氘，并且因此表现出与并未包含在界面中的氨基酸相比相对较高的质量。在解离抗体后，对靶蛋白进行蛋白酶切割和质谱分析，由此揭示与同抗体相互作用的特定氨基酸相对应的经氘标记的残基。参见例如，Ehring,(1999),《分析化学(Analytical Biochemistry)》,267(2):252-259;Engen和Smith,(2001),《分析化学》73:256A-265A。还可

以使用X射线晶体结构分析来鉴定与抗体相互作用的多肽内的氨基酸。

[0658] 本文进一步提供了抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,其与本文所描述的任何特定示例性抗体或其抗原结合片段相同的表位(例如,包括本文表3中所示的任何氨基酸序列的抗体)结合。同样,本文还提供了抗FGFR2抗体或其抗原结合片段,其与本文所描述的任何特定示例性抗体(例如,包括本文表3中所示的任何氨基酸序列的抗体)竞争与FGFR2结合。

[0659] 通过使用本领域已知的和本文举例说明的常规方法,可以容易地确定抗体是否结合与参考抗FGFR2抗体相同的表位或竞争与所述参考抗APLNR抗体结合。例如,为了确定测试抗体是否与和本文所提供的参考抗FGFR2抗体相同的表位结合,允许参考抗体与FGFR2蛋白结合。接下来,评估测试抗体与FGFR2分子结合的能力。如果在用参考抗FGFR2抗体进行饱和结合后,测试抗体能够与FGFR2结合,则可以得出结论,测试抗体与和参考抗FGFR2抗体的表位不同的表位结合。另一方面,如果在用参考抗FGFR2抗体进行饱和结合后,测试抗体不能与FGFR2分子结合,则测试抗体可以与和由参考抗FGFR2抗体结合的表位相同的表位结合。然后可以进行额外的常规实验(例如,肽突变和结合分析),以确认所观察到的测试抗体的结合缺乏是否实际上是由于与参考抗体结合相同的表位,或者是否是空间阻断(或其它现象)导致所观察到的结合缺乏。可以使用ELISA、RIA、Biacore、流式细胞术或本领域可获得的任何其它定量或定性抗体结合测定来进行这种实验。根据某些实施例,如果在竞争性结合测定中测量到,例如一种抗体的1倍、5倍、10倍、20倍或100倍过量会使另一种抗体的结合抑制至少50%,但优选75%、90%或甚至99%,则两种抗体与相同的(或重叠的)表位结合(参见,例如,Junghans等人,《癌症研究》1990:50:1495-1502)。可替代地,如果抗原中基本上所有减少或消除一种抗体的结合的氨基酸突变减少或消除另一种的结合,则认为两种抗体与同一表位结合。如果仅减少或消除一种抗体的结合的氨基酸突变的子集减少或消除另一种的结合,则认为两种抗体具有“重叠表位”。

[0660] 为了确定抗体是否与参考抗FGFR2抗体竞争结合(或交叉竞争结合),上述结合方法是在两个朝向上进行的:在第一朝向上,允许参考抗体在饱和条件下与FGFR2蛋白结合,随后评估测试抗体与FGFR2分子的结合。在第二朝向上,使测试抗体在饱和条件下与FGFR2分子结合,然后评估参考抗体与FGFR2分子的结合。如果在两个朝向上只有第一(饱和的)抗体能够与FGFR2分子结合,则得出结论,测试抗体和参考抗体竞争与FGFR2结合。如本领域普通技术人员所理解的,竞争结合参考抗体的抗体可能不一定结合与参考抗体相同的表位,但是可以通过结合重叠或相邻表位来空间阻断参考抗体的结合。

[0661] 人类抗体的制备

[0662] 用于在转基因小鼠中产生人抗体的方法是本领域中已知的。可以将任何此类已知方法用于本公开中用于制备与FGFR2特异性结合的人抗体的上下文。包括以下任何一种的免疫原可以用于产生针对FGFR2的抗体。在某些实施例中,本公开的抗体获自用FGFR2b免疫的小鼠,例如,基因库登录号NP_075259.4(SEQ ID NO:55)或与小鼠Fc结构域(登录号P01863)(SEQ ID NO:56)融合的重组人FGFR2b同种型的细胞外结构域(登录号NP_075259.4)。可替代地,可以使用标准的生物化学技术产生FGFR2蛋白或其片段,并且对其进行修饰并且用作免疫原。在一个实施例中,免疫原是重组FGFR2蛋白或其片段。在某些实施例中,免疫原可以是商业上可获得的FGFR2蛋白。在某些实施例中,可以施用一种或多种加强注射。在某些实施例中,加强注射可以包括一种或多种商业上可获得的FGFR2蛋白。在某

些实施例中，免疫原可以是在大肠杆菌或在任何其它真核或哺乳动物细胞，如中国仓鼠卵巢(CHO)细胞中表达的重组FGFR2蛋白。

[0663] 使用VELOCIMMUNE®技术(参见例如，US 6,596,541，再生元制药公司(Regeneron Pharmaceuticals))，VELOCIMMUNE®或用于产生单克隆抗体的任何其它已知方法，初步分离具有人可变区和小鼠恒定区的针对FGFR2的高亲和力嵌合抗体。VELOCIMMUNE®技术涉及生成转基因小鼠，所述转基因小鼠具有包括与内源性小鼠恒定区基因座可操作地连接的人类重链和轻链可变区的基因组，使得所述小鼠响应于抗原刺激产生包括人类可变区和小鼠恒定区的抗体。分离出编码抗体的重链和轻链可变区的DNA并且将其与编码人类重链和轻链恒定区的DNA可操作地连接。然后DNA在能够表达完全人抗体的细胞中表达。

[0664] 通常，用所关注抗原攻击VELOCIMMUNE®小鼠，并且从表达抗体的小鼠中回收淋巴细胞(如B细胞)。淋巴细胞可以与骨髓瘤细胞系融合以制备无限增殖杂交瘤细胞系，并且对此类杂交瘤细胞系进行筛选和选择以鉴别出产生对所关注的抗原具有特异性的抗体的杂交瘤细胞系。可以将编码重链和轻链可变区的DNA分离并与所期望的重链和轻链的同种型恒定区连接。此类抗体蛋白可以在如CHO细胞等细胞中产生。可替代地，可以直接从抗原特异性淋巴细胞中分离出编码抗原特异性嵌合抗体或轻链和重链可变结构域的DNA。

[0665] 首先，分离出具有人类可变区和小鼠恒定区的高亲和力嵌合抗体。如在下文实验章节中，针对期望的特征，包含亲和力、选择性、表位等，表征并且选择抗体。小鼠恒定区被所期望的人恒定区替换以产生完全人抗体，例如野生型或经修饰的IgG1或IgG4。虽然所选择的恒定区可以根据具体用途而变化，但高亲和力抗原结合和靶特异性特征存在于可变区中。在某些情况下，完全人抗FGFR2抗体直接从抗原阳性B细胞中分离。

[0666] 生物等效物

[0667] 本文所提供的抗FGFR2抗体和其抗体片段涵盖具有不同于所描述的抗体但保留与人FGFR2结合的能力的氨基酸序列的蛋白质。当与亲本序列相比时，此类变体抗体和抗体片段包括氨基酸的一个或多个添加、缺失或取代，但表现出与所描述抗体的生物活性基本上等效的生物活性。同样，本公开的编码抗FGFR2抗体的DNA序列涵盖当与所公开的序列相比时包括核苷酸的一个或多个添加、缺失或取代，但编码与本公开的抗FGFR2抗体或抗体片段基本上生物等效的抗FGFR2抗体或抗体片段的序列。上文讨论了此类变体氨基酸和DNA序列的实例。

[0668] 如果例如，两种抗原结合蛋白或抗体是吸收速率和吸收程度在类似的实验条件下以相同的摩尔剂量施用(单次剂量或多次剂量)时不显示显著差异的药物等效物或药物替代物，则其被认为是生物等效的。如果某些抗体在吸收程度上是等效的，但是在吸收速率上不是等效的，则将其视为等效物或药物替代物，但因为吸收速率的此类差异是有意的并且反映在标记中，所以可以被视为生物等效的，这些抗体对于例如在长期使用中达到有效体内药物浓度不是必需的，并且被认为对于所研究的特定药品不具有临床意义。

[0669] 在一个实施例中，如果两种抗原结合蛋白的安全性、纯度和效力不存在临床上有意义的差异，则所述两种抗原结合蛋白是生物等效的。

[0670] 在一个实施例中，与不存在参考产品和生物产品之间的转换的持续治疗相比，如果患者可以在参考产品和生物产品之间转换一次或多次而没有预期的副作用风险增加(包

含免疫原性的临床显著变化或有效性降低)，则两种抗原结合蛋白是生物等效的。

[0671] 在一个实施例中，如果两种抗原结合蛋白均通过针对一个或多个使用条件的一种或多种共同作用机制起作用(只要这些机制是已知的)，则所述两种抗原结合蛋白是生物等效的。

[0672] 生物等效性可以通过体内和体外方法来证明。生物等效性测量包含，例如，(a)在人或其它哺乳动物中的体内试验，其中在血液、血浆、血清或其它生物流体中测量抗体或其代谢物的浓度随时间的变化；(b)与人体内生物利用度数据相关并可合理预测人体内生物利用度数据的体外试验；(c)在人或其它哺乳动物中的体内试验，其中测量抗体)或其靶标)的适当急性药理作用随时间的变化；)d)在良好控制的临床试验中，确定抗体的安全性、效力或生物利用度或生物等效性。

[0673] 可以通过例如对残基或序列进行各种取代或使非生物活性所需的末端或内部残基或序列缺失来构建本文所提供的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段的生物等效变体。例如，可以使非生物活性所必需的半胱氨酸残基缺失或用其它氨基酸替代，以防止在复性时形成不必要的或不正确的分子内二硫桥。在其它上下文中，生物等效抗体可以包含抗FGFR2抗体变体，所述抗FGFR2抗体变体包括修饰抗体的糖基化特性的氨基酸变化，例如消除或去除糖基化的突变。

[0674] 物种选择性和物种交叉反应性

[0675] 根据某些实施例，本公开提供了抗FGFR2抗体(和包括抗FGFR2抗原结合结构域的抗原结合分子)，所述抗FGFR2抗体与人FGFR2结合，但不与其它物种的FGFR2结合。本公开还包含抗FGFR2抗体(和包括抗FGFR2抗原结合结构域的抗原结合分子)，所述抗FGFR2抗体与人FGFR2和一种或多种非人类物种的FGFR2结合。例如，所述抗FGFR2抗体和抗原结合分子可以与人FGFR2结合并且视情况而定可以与小鼠、大鼠、豚鼠、仓鼠、沙鼠、猪、猫、狗、兔子、山羊、绵羊、牛、马、骆驼、食蟹猴、狨猴、恒河猴或黑猩猩FGFR2中的一种或多种结合或不与其结合。

[0676] 治疗调配物和施用

[0677] 本文提供了包括本发明的抗FGFR2抗体的药物组合物，所述抗FGFR2抗体包含抗FGFR2 ADC。所述药物组合物可以用合适的载体、赋形剂和提供改进的转移、递送、耐受性等的其它试剂调配。

[0678] 在一些方面，所述药物组合物包括治疗有效量的如本文所描述的一种或多种分离的人单克隆抗体或其抗原结合片段以及一种或多种药学上可接受的赋形剂。

[0679] 抗体的治疗用途

[0680] 本文提供了包括向有需要的受试者施用包括抗FGFR2抗体或其抗原结合片段的治疗组合物的方法，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包含抗FGFR2抗体ADC，所述抗FGFR2抗体ADC包括本文所述的任何序列。治疗性组合物可以包括任何抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，包含本文所公开的抗FGFR2抗体ADC和药学上可接受的载体或稀释剂。在一些方面，治疗组合物用于制备用于治疗、预防和/或改善与FGFR2表达、信号传导或活性相关或由FGFR2表达、信号传导或活性介导的或通过阻断FGFR2信号转导、或以其它方式抑制FGFR2活性和/或信号传导可治疗的任何疾病或病症的药物。在一些方面，治疗性组合物用于制造用于治疗癌症的药物。

[0681] 包含抗FGFR2抗体ADC的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段尤其可用于治疗、预防和/或改善与FGFR2表达、信号传导或活性相关或由FGFR2表达、信号传导或活性介导的或通过阻断FGFR2信号转导、或以其它方式抑制FGFR2活性和/或信号传导可治疗的任何疾病或病症。

[0682] 例如，本公开的包含抗FGFR2抗体ADC的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段可用于治疗表达(或过表达)FGFR2，具体地FGFR2b的肿瘤。在一些实施例中，包含抗FGFR2抗体ADC的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段与对FGFR2b呈阳性的细胞，例如SNU-16和MFM-223细胞结合。在一些实施例中，包含抗FGFR2抗体ADC的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段与FGFR2c阳性细胞，例如NCI-H716细胞最低限度地结合。在一些实施例中，包含抗FGFR2抗体ADC的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段与缺乏FGFR2表达的细胞，例如IM-9细胞较差地结合。

[0683] 在一些实施例中，包含抗FGFR2抗体ADC的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段表现出对FGFR2b阳性细胞的细胞杀伤，但不杀伤低FGFR2表达者。在一些方面，对表达低水平FGFR2的细胞杀伤小于约15％、小于约10％、小于约5％或小于约2％。

[0684] 在一些实施例中，包含抗FGFR2抗体ADC的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段表现出对FGFR2b阳性细胞的细胞杀伤，但不杀伤FGFR2c阳性细胞。在一些方面，对表达FGFR2c的细胞的细胞杀伤小于约35％、小于约30％、小于约20％、小于约10％或小于约1％。

[0685] 在某些实施例中，包含抗FGFR2抗体ADC的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段用于治疗以下癌症中的一种或多种:星形细胞瘤、膀胱癌、血癌、血癌、骨癌、脑癌、乳腺癌、宫颈癌、透明细胞肾细胞癌、结肠直肠癌、微卫星中间型结肠直肠癌(microsatellite-intermediate colorectal cancer)、皮肤鳞状细胞癌、弥漫性大B细胞淋巴瘤、子宫内膜癌、食道癌、纤维肉瘤、胃癌、胶质母细胞瘤、多形性胶质母细胞瘤、头颈部鳞状细胞癌、肝细胞癌、白血病、肝癌、平滑肌肉瘤、肺癌、淋巴瘤、黑色素瘤、间皮瘤、骨髓瘤、鼻咽癌、非小细胞肺癌、骨肉瘤、卵巢癌、胰腺癌、原发性和/或复发性癌症、前列腺癌、肾细胞癌、横纹肌肉瘤、小细胞肺癌、鳞状细胞癌、滑膜肉瘤、甲状腺癌、三阴性乳腺癌、子宫癌和维尔姆氏肿瘤(Wilms'tumor)。在一些方面，癌症是原发性癌症。在一些方面，癌症是转移性和/或复发性癌症。

[0686] 在一些方面，包含抗FGFR2抗体ADC的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段可以用于治疗对FGFR2b呈阳性的原发性和/或转移性肿瘤，即，在脑和脑膜、口咽、肺和支气管树、胃肠道、雄性和雌性生殖道、肌肉、骨、皮肤和附属结构、结缔组织、脾脏、免疫系统、血液形成细胞和骨髓、肝脏和泌尿道以及如眼等特殊感觉器官中产生的肿瘤。

[0687] 在本文所描述的治疗方法的上下文中，抗FGFR2抗体或其抗原结合片段可以作为单一疗法(即，作为唯一的治疗剂)、与一种或多种另外的治疗剂(其实例在本文其它地方描述)组合或作为ADC(其实例也在本文其它地方描述)施用。

[0688] 因此，本文提供了治疗患有过表达FGFR2的肿瘤的受试者的癌症的方法。所述方法包括向受试者施用本文所提供的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段。在一些方面，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括:(i)HCDR1，所述HCDR1具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列;HCDR2，所述HCDR2具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列;HCDR3，所述HCDR3具有SEQ ID NO:8的氨基酸序列;LCDR1，所述LCDR1具有SEQ ID NO:12的氨基酸序列;LCDR2，所述LCDR2具有SEQ ID NO:14的氨基酸序列;以及LCDR3，所述LCDR3具有SEQ ID NO:16的氨基酸序列。在一些方

面,所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括:(ii)HCDR1,所述HCDR1具有SEQ ID NO:24的氨基酸序列;HCDR2,所述HCDR2具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列;HCDR3,所述HCDR3具有SEQ ID NO:26的氨基酸序列;LCDR1,所述LCDR1具有SEQ ID NO:30的氨基酸序列;LCDR2,所述LCDR2具有SEQ ID NO:32的氨基酸序列;以及LCDR3,所述LCDR3具有SEQ ID NO:34的氨基酸序列。

[0689] 在某些方面,所述癌症选自由以下组成的组:乳腺浸润性导管癌、胃腺癌、食管腺癌、结肠腺癌和胃食管结合部腺癌。

[0690] 本文还提供了治疗受试者的癌症、减少受试者的肿瘤生长和/或引起受试者的肿瘤消退的方法。所述方法包括向有需要的受试者施用包括抗FGFR2抗体或其抗原结合片段和细胞毒素的抗体-药物缀合物(ADC),其中所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包括:(i)HCDR1,所述HCDR1具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列;HCDR2,所述HCDR2具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列;HCDR3,所述HCDR3具有SEQ ID NO:8的氨基酸序列;LCDR1,所述LCDR1具有SEQ ID NO:12的氨基酸序列;LCDR2,所述LCDR2具有SEQ ID NO:14的氨基酸序列;以及LCDR3,所述LCDR3具有SEQ ID NO:16的氨基酸序列;或(ii)HCDR1,所述HCDR1具有SEQ ID NO:24的氨基酸序列;HCDR2,所述HCDR2具有SEQ ID NO:6的氨基酸序列;HCDR3,所述HCDR3具有SEQ ID NO:26的氨基酸序列;LCDR1,所述LCDR1具有SEQ ID NO:30的氨基酸序列;LCDR2,所述LCDR2具有SEQ ID NO:32的氨基酸序列;以及LCDR3,所述LCDR3具有SEQ ID NO:34的氨基酸序列。在一些方面,所述细胞毒素是妥布赖森。在一些方面,所述细胞毒素是美登素类化合物。在一些方面,所述细胞毒素是喜树碱类似物。在一些方面,所述细胞毒素是澳瑞他汀。

[0691] 组合疗法和调配物

[0692] 本文提供了包括任何抗FGFR2抗体或其抗原结合片段的组合物和治疗调配物,所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包含本文所描述的与一种或多种另外的治疗活性组分组合的抗FGFR2抗体ADC,以及包括向有需要的受试者施用此类组合的治疗方法。

[0693] 包含抗FGFR2抗体ADC的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段可以与选自由以下组成的组的一种或多种另外的治疗活性组分共同调配和/或组合施用:FGFR2的另一种拮抗剂,例如,FGFR2b的拮抗剂(例如,贝马里妥珠单抗或阿普鲁他单抗或伊沙多丁阿普鲁他单抗);HER2/ErbB2的拮抗剂(例如,抗ErbB2[例如,曲妥珠单抗(Trastuzumab)或T-DM1{KADCYLA®}或德卢替康曲妥珠单抗{T-SXD;DNA拓扑异构酶1抑制剂}]或ErbB2活性的小分子抑制剂);另一EGFR家族成员的拮抗剂,如ErbB3或ErbB4(例如,抗ErbB3或抗ErbB4抗体或ErbB3或ErbB4活性的小分子抑制剂);MET拮抗剂(例如,抗MET抗体[例如,奥那妥珠单抗(onartuzumab)、艾密贝单抗(emibetuzumab)和H4H14639D]或MET的小分子抑制剂);EGFR拮抗剂(例如,抗EGFR抗体[例如,西妥昔单抗(cetuximab)或帕尼单抗(panitumumab)]或EGFR的小分子抑制剂[例如,吉非替尼(gefitinib)或厄洛替尼(erlotinib)]);EGFRvIII的拮抗剂(例如,抗EGFRvIII抗体);IGF1R拮抗剂(例如,抗IGF1R抗体);B-raf抑制剂(例如,维罗非尼(vemurafenib)、索拉非尼(sorafenib)、GDC-0879、PLX-4720);PDGFR-α抑制剂(例如,抗PDGFR-α抗体);PDGFR-β抑制剂(例如,抗PDGFR-β抗体或小分子激酶抑制剂,例如,甲磺酸伊马替尼(imatinib mesylate)或苹果酸舒尼替尼(sunitinib malate));PDGF配体抑制剂(例如,抗PDGF-A、-B、-C或-D抗体、适体、siRNA等);VEGF拮抗剂(例如,VEGF-Trap,如阿柏西普(aflibercept),参见,例如,US 7,087,411(在本文中也被称为“VEGF-抑制融合蛋

白”)、抗VEGF抗体(例如,贝伐珠单抗(bevacizumab))、VEGF受体的小分子激酶抑制剂(例如,舒尼替尼(sunitinib)、索拉非尼或帕唑帕尼(pazopanib)));DLL4拮抗剂(例如,US 2009/0142354中公开的抗DLL4抗体,如REGN421);Ang2拮抗剂(例如,US 2011/0027286中公开的抗Ang2抗体,如H1H685P);FOLH1拮抗剂(例如,抗FOLH1抗体);STEAP1或STEAP2拮抗剂(例如,抗STEAP1抗体或抗STEAP2抗体);TMPRSS2拮抗剂(例如,抗TMPRSS2抗体);MSLN拮抗剂(例如,抗MSLN抗体);CA9拮抗剂(例如,抗CA9抗体);尿蛋白拮抗剂(例如,抗尿蛋白[例如,抗UPK3A]抗体);MUC16拮抗剂(例如,抗MUC16抗体);Tn抗原拮抗剂(例如,抗Tn抗体);CLEC12A拮抗剂(例如,抗CLEC12A抗体);TNFRSF17拮抗剂(例如,抗TNFRSF17抗体);LGR5拮抗剂(例如,抗LGR5抗体);单价CD20拮抗剂(例如,单价抗CD20抗体,如利妥昔单抗(rituximab));CD20 x CD3双特异性抗体;PD-1阻断剂(例如,抗PD-1抗体,如派姆单抗(pembrolizumab)或纳武单抗(nivolumab))等。可以与本文所提供的抗体有益地组合施用的其它药剂包含例如他莫昔芬、芳香酶抑制剂和细胞因子抑制剂,包含小分子细胞因子抑制剂和抗体,所述抗体与如IL-1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-9、IL-11、IL-12、IL-13、IL-17、IL-18等细胞因子或其各自的受体结合。

[0694] 说明性地,如抗PD-1抗体等PD-1抑制剂可以与抗FGFR2抗体或其抗原结合片段或抗体-药物缀合物组合,如本文所描述的。目标患者群体具体包含那些患有过表达FGFR2或表达突变的FGFR2的肿瘤的患者,如患有表达FGFR2的乳腺癌的患者。

[0695] 本文提供了包括任何抗FGFR2抗体或其抗原结合片段的组合物和治疗调配物,所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段包含本文所描述的与一种或多种化疗剂组合的抗FGFR2抗体ADC。化学治疗剂的实例包含:烷化剂类,如塞替派和环磷酰胺(Cytoxan™);磺酸烷基酯类,如白消安、英丙舒凡(improsulfan)和哌泊舒凡(piposulfan);氮丙啶类,例如,苯佐替派(benzodopa)、卡波醌(carboquone)、美妥替派(meturedopa)和乌瑞替派(uredopa);乙烯亚胺类和甲基三聚氰胺类,包括六甲蜜胺(altretamine)、曲他胺(triethylenemelamine)、三乙烯磷酰胺(triethylenephosphoramide)、三乙烯硫代磷酰胺(triethylenethiophosphoramide)和三羟甲基三聚氰胺(trimethylomelamine);氮芥类,例如,苯丁酸氮芥(chlorambucil)、萘氮芥(chlomaphazine)、胆磷酰胺(chlorophosphamide)、雌莫司汀、异环磷酰胺(ifosfamide)、双氯乙基甲胺、盐酸氧氮芥(mechlorethamine oxide hydrochloride)、美法仑、新氮芥(novembichin)、苯芥胆甾醇(phenesterine)、泼尼莫司汀(prednimustine)、曲磷胺(trofosfamide)、尿嘧啶氮芥(uracil mustard);硝基脲类,例如,卡莫司汀、氯脲菌素(chlorozotocin)、福莫司汀(fotemustine)、洛莫司汀、尼莫司汀(nimustine)、雷莫司汀(ranimnustine);抗生素类,例如,阿克拉霉素(aclacinomysin)、放线菌素(actinomycin)、氨茴霉素(authramycin)、偶氮丝氨酸(azaserine)、博来霉素、放线菌素C(cactinomycin)、加利车霉素、卡柔比星(carabicin)、洋红霉素、嗜癌霉素(carzinophilin)、色霉素(chromomycinis)、放线菌素D、柔红霉素、地托比星(detorubicin)、6-重氮基-5-氧代-L-正亮氨酸、多柔比星、表柔比星(epirubicin)、依索比星(esorubicin)、伊达比星(idarubicin)、麻西罗霉素(marcellomycin)、丝裂霉素、霉酚酸(mycophenolic acid)、诺拉霉素(nogalamycin)、橄榄霉素(olivomycin)、培洛霉素(peplomycin)、泊非霉素(porfiromycin)、嘌呤霉素、三铁阿霉素(quelamycin)、罗多比星(rodorubicin)、链黑菌素(streptonigrin)、链佐星

(streptozocin)、杀结核菌素(tubercidin)、乌苯美司(ubenimex)、净司他丁(zinostatin)、佐柔比星(zorubicin);抗代谢物类,例如,甲氨蝶呤和5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil)(5-FU);叶酸类似物,例如,二甲叶酸(denopterin)、甲氨蝶呤、蝶酰三谷氨酸(pteropterin)、三甲曲沙(trimetrexate);嘌呤类似物,例如,氟达拉滨(fludarabine)、6-巯基嘌呤、硫咪嘌呤(thiamiprine)、硫鸟嘌呤(thioguanine);嘧啶类似物,例如,安西他滨(ancitabine)、阿扎胞苷(azacitidine)、6-氮尿苷,卡莫氟(carmofur)、阿糖胞苷、双脱氧尿苷(dideoxyuridine)、去氧氟尿苷(doxifluridine)、依诺他滨(enocitabine)、氟尿苷(floxuridine);雄激素类,例如,卡鲁睾酮(calusterone)、丙酸屈他雄酮(dromostanolone propionate)、表硫雄醇(epitiostanol)、美雄烷(mepitiostane)、睾内酯(testolactone);抗肾上腺类,例如,氨鲁米特(aminoglutethimide)、米托坦(mitotane)、曲洛司坦(trilostane);叶酸补充剂,例如,亚叶酸(frolinic acid);醋葡醛内酯(aceglatone);醛磷酰胺糖苷(aldophosphamide glycoside);氨基乙酰丙酸(aminolevulinic acid);安吖啶(amsacrine);贝他布昔(bestrabucil);比生群(bisantrene);依达曲沙(edatraxate);地磷酰胺(defofamine);地美可辛(demecolcine);地吖醌(diaziquone);依氟鸟氨酸(elfomithine);依利醋铵(elliptinium acetate);依托格鲁(etoglucid);硝酸镓;羟脲;香菇多糖(lentinan);氯尼达明(lonidainine);米托胍腙(mitoguazone);米托蒽醌;莫哌达醇(mopidamnol);二胺硝吖啶(nitraerine);喷司他丁(pentostatin);蛋氨氮芥(phenamet);吡柔比星(pirarubicin);鬼臼酸(podophyllinic acid);2-乙基酰肼;丙卡巴肼(procarbazine);PSK™;雷佐生(razoxane);西索菲兰(sizofuran);螺旋锗(spirogermanium);细交链孢菌酮酸(tenuazonic acid);三亚胺醌(triaziquone);2,2',2"-三氯三乙胺;乌拉坦(urethan);长春地辛;达卡巴嗪(dacarbazine);甘露醇氮芥(mannomustine);二溴甘露醇(mitobronitol);二溴卫矛醇(mitolactol);哌泊溴烷(pipobroman);甲托辛(gacytosine);阿糖胞苷(arabinoside)("Ara-C");环磷酰胺;塞替派;紫杉烷类,例如,紫杉醇(Taxol™,新泽西州普林斯顿大学的百时美施贵宝肿瘤学(Bristol-Myers Squibb Oncology,Princeton,N.J.))和多西紫杉醇(Taxotere™;法国Aventis Antony);苯丁酸氮芥(chloranmbucil);吉西他滨(gemcitabine);6-硫鸟嘌呤;巯基嘌呤;甲氨蝶呤;铂类似物,例如,顺铂和卡铂(carboplatin);长春碱;铂(platinum);依托泊苷(VP-16);异环磷酰胺(ifosfamide);丝裂霉素C(mitomycin C);米托蒽醌(mitoxantrone);长春新碱;长春瑞滨;诺维本(navelbine);诺肖林(novantrone);替尼泊苷(teniposide);道诺霉素(daunomycin);氨基蝶呤;希罗达(xeloda);伊班膦酸盐(ibandronate);CPT-11;拓扑异构酶抑制剂RFS 2000;二氟甲基鸟氨酸(DMFO);视黄酸(retinoic acid);埃斯波霉素;卡培他滨(capecitabine);以及上述任一种的药学上可接受的盐、酸或衍生物。在该定义中还包含其起作用以调节或抑制激素对肿瘤的作用的抗激素剂,如抗雌激素类包含例如他莫昔芬、雷洛昔芬(raloxifene)、抑制芳香酶的4(5)-咪唑、4-羟基他莫昔芬、曲沃昔芬(trioxifene)、盐酸雷洛昔芬(keoxifene)、LY 117018、奥那司酮(onapristone)和托瑞米芬(toremifene)(法乐通)和抗雄激素类如氟他胺(flutamide)、尼鲁米特(nilutamide)、比卡鲁胺(bicalutamide)、亮丙瑞林(leuprolide)和戈舍瑞林(goserelin);以及上述任一种的药学上可接受的盐、酸或衍生物。

[0696] 包含抗FGFR2抗体ADC的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段也可以与抗病毒药物、抗

生素、镇痛药、皮质类固醇、类固醇、氧气、抗氧化剂、COX抑制剂、心脏保护剂、金属螯合剂、IFN-γ和/或NSAID组合施用和/或共同调配。

[0697] 可以在施用包含抗FGFR2抗体ADC的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段之前、同时或之后不久施用另外的治疗活性组分，例如上文列出的任何药剂或其衍生物；(出于本公开的目的，此类施用方案被认为是“与另外的治疗活性组分组合”的抗体的施用)。本公开包含药物组合物，其中包含抗FGFR2抗体ADC的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段与一种或多种如本文其它地方所描述的另外的治疗活性组分一起共同调配。

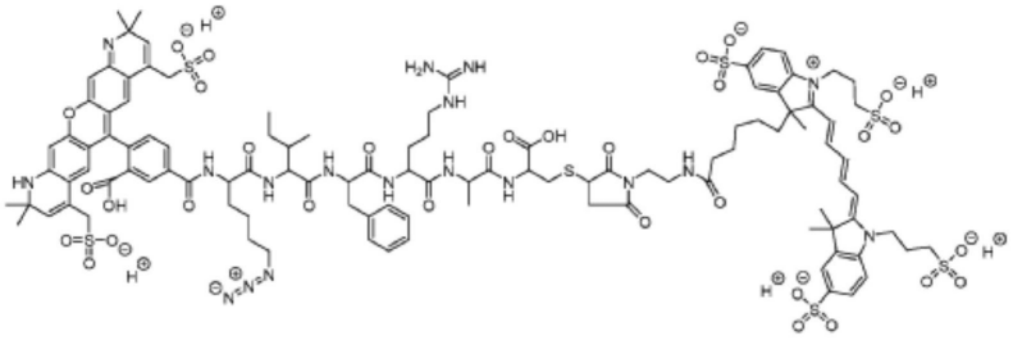
[0698] 施用方案

[0699] 根据某些实施例，包含抗FGFR2抗体ADC的多剂量的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段或包括抗FGFR2抗体或抗FGFR2抗体ADC和本文提及的任何其它治疗活性剂的组合的药物组合物可以在限定的时间过程中施用于受试者。根据该方面的方法包括向受试者顺序施用多剂量的本文所提供的包含抗FGFR2抗体ADC的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段。如本文所使用的，“依次施用”意指在不同时间点，例如在相隔预定间隔(例如，几小时、几天、几周或几个月)的不同日子，将每一剂针对ADC的抗体施用给受试者。本公开包含这样的方法，所述方法包括向患者顺序施用单个初始剂量的包含抗FGFR2抗体ADC的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，接着施用一个或多个第二剂量的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，或抗FGFR2抗体ADC，并且任选地接着施用一个或多个第三剂量的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段或ADC。

[0700] 术语“初始剂量”、“第二剂量”和“第三剂量”是指施用抗FGFR2抗体或其抗原结合片段或抗FGFR2抗体ADC的时间顺序。因此，“初始剂量”是在治疗方案开始时施用的剂量(也被称为“基线剂量”)；“第二剂量”是在初始剂量之后施用的剂量；并且“第三剂量”是在第二剂量之后施用的剂量。初始剂量、第二剂量和第三剂量可以都含有相同量的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段或抗FGFR2抗体ADC，但是在施用频率方面通常可能彼此不同。然而，在某些实施例中，在治疗过程期间，初始剂量、第二剂量和/或第三剂量中含有的抗体的量彼此不同(例如，适当地向上或向下调整)。在某些实施例中，在治疗方案开始时施用两个或更多个(例如，2个、3个、4个或5个)剂量作为“负荷剂量”，然后是在较不频繁的基础上施用后续剂量(例如，“维持剂量”)。

[0701] 抗体的诊断用途

[0702] 本公开的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段也可以用于检测和/或测量样品中的FGFR2，例如FGFR2b，或表达FGFR2b的细胞，例如用于诊断目的。例如，抗FGFR2抗体或其片段可以用于诊断以FGFR2的异常表达(例如，过表达、表达不足、缺乏表达等)为特征的病状或疾病。FGFR2的示例性诊断测定可以包括例如，使得从患者获得的样品与抗FGFR2抗体或其抗原结合片段接触，其中所述抗体用可检测的标记或报道分子标记。可替代地，未标记的抗FGFR2抗体可以与本身被可检测标记的第二抗体组合用于诊断应用。可检测标记或报告分子可以是放射性同位素，如^{3}H、^{14}C、^{32}P、^{35}S或^{125}I；荧光或化学发光部分，如萤光素或罗丹明；或酶，如碱性磷酸酶、β-半乳糖苷酶、辣根过氧化物酶或萤光素酶。可以用于检测或测量样品中的FGFR2的具体示例性测定包含酶联免疫吸附测定(ELISA)、放射免疫测定(RIA)、免疫PET(例如，^{89}Zr、^{64}Cu等)以及荧光激活细胞分选(FACS)。在一些实施例中，如WO 2018/044540中所描述标记抗FGFR2抗体或其抗原结合片段，所述文献的全部内容通过全文引用的方式并入本文。在一些实施例中，所述抗FGFR2抗体或其抗原结合片段被标记到：

[0703] 

生物传感器1。

[0704] 在一些实施例中,包括SEQ ID NO:2的HCVR氨基酸序列和SEQ ID NO:10的LCVR氨基酸序列的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段被标记到生物传感器1。

[0705] 在一些实施例中,包括SEQ ID NO:22的HCVR氨基酸序列和SEQ ID NO:28的LCVR氨基酸序列的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段被标记到生物传感器1。

[0706] 在一些实施例中,包括SEQ ID NO:40的HCVR氨基酸序列和SEQ ID NO:44的LCVR氨基酸序列的抗FGFR2抗体或其抗原结合片段被标记到生物传感器1。

[0707] 根据本公开,可以用于FGFR2诊断测定的样品包含可从患者获得的任何组织或液体样品。通常,将测量从健康患者(例如,未患有与异常FGFR2水平或活性相关的疾病或病症的患者)获得的特定样品中FGFR2的水平,以初步建立FGFR2的基线或标准水平。然后可以将FGFR2的此基线水平与在从疑似患有FGFR2相关疾病或病状的个体获得的样品中测量的FGFR2水平进行比较。

[0708] 实例

[0709] 提出以下实例,以向本领域的普通技术人员提供关于如何制备和使用本文所提供的方法和组合物的完整公开和描述,并且不旨在限制发明人认为是其发明的范围。虽然已努力确保关于使用的数字(例如,量、温度等)的准确性,但是应当对一些实验误差和偏差进行解释。除非另外指明,否则份数是重量份,分子量是平均分子量,温度是摄氏度,并且压力是或接近大气压。

[0710] 实例中使用的两种比较物抗体被称为Comp1和Comp2。Comp1(Five Prime Therapeutics公司)是人源化抗FGFR2b同种型双特异性抗体,在Catenacci等人(2020,晚期实体瘤和FGFR2b选择的胃食管腺癌患者的贝马里妥珠单抗(FPA144)的I期升级和扩大研究(Phase I Escalation and Expansion Study of Bemarituzumab(FPA144)in Patients With Advanced Solid Tumors and FGFR2b-Selected Gastroesophageal Adenocarcinoma),《临床肿瘤学杂志(J Clin Onc)》,DOI https://doi.org/10.1200/JCO.19.01834)中鉴定。这种相同的双特异性抗体在美国专利第8,603,987号(银河生物科技公司(Galaxy Biotech))中被称为HuGAL-FR21。Comp2(拜耳公司(Bayer))是在FGFR2b和FGFR2c两者的N末端处结合的人源化IgG1抗体。Comp2抗体在Sommer等人(2016基于澳瑞他汀的抗体-药物缀合物BAY 1187982治疗FGFR2阳性实体瘤的临床前功效(Preclinical Efficacy of Auristatin-based antibody-drug conjugate BAY 1187982 for the treatment of FGFR2-positive solid tumors),《癌症研究》,76(21),6631-6639,doi:

10.1158/0008-5472.CAN-16-0180)和美国专利公开第2014/0322220号中提及。在专利出版物中,根据美国2014/0322220出版物,Comp2抗体被称为作为MO48-D01的变体的TPP-1402,并且声称重链SEQ ID NO:133和轻链SEQ ID NO:124。

[0711] 本文使用的同种型对照抗体被称为IC1和IC2。此类抗体可以与包含以下的任何接头有效载荷缀合:释放美登素类化合物1A有效载荷的美登素类化合物1LP、释放妥布赖森1A有效载荷的释放妥布赖森1LP、释放DXd-G或DXd的DXd1 LP(支链)和DXd2 LP(非支链)和BAY-LP(BAY1187982;参见Sommer等人,2016,基于澳瑞他汀的抗体-药物缀合物BAY 1187982治疗FGFR2阳性实体瘤的临床前功效,《癌症研究》,76(21),6631-6639,doi:10.1158/0008-5472.CAN-16-0180))。

[0712] 实例1.针对FGFR2的人抗体的产生

[0713] 针对FGFR2的人抗体通过用免疫原免疫包括编码人免疫球蛋白重链和κ轻链可变区的DNA的基因工程化小鼠获得,所述免疫原包括重组人FGFR2b同种型的细胞外结构域(登录号NP_075259.4),所述结构域与根据SEQ ID NO:56的小鼠Fc结构域(登录号P01863)融合。

[0714] 通过FGFR2特异性免疫测定监测抗体免疫应答。当达到期望的免疫应答时,收获脾细胞并使其与小鼠骨髓瘤细胞融合,以保持其活力并形成杂交瘤细胞系。筛选并选择杂交瘤细胞系以鉴定产生FGFR2特异性抗体的细胞系。使用此技术获得了几种抗FGFR2嵌合抗体(即,具有人可变结构域和小鼠恒定结构域的抗体)。另外,如美国专利7,582,298所描述的,抗FGFR2抗体直接从抗原阳性B细胞中分离,而不与骨髓瘤细胞融合,所述专利通过全文引用的方式并入。使用这种方法,获得了完全人抗FGFR2抗体(即,具有人可变结构域和人恒定结构域的抗体)。

[0715] 根据此实例的方法产生的示例性抗FGFR2抗体的某些生物学性质在下文所阐述的实例中详细描述。

[0716] 实例2.重链和轻链可变区氨基酸序列、重链和轻链氨基酸序列以及核苷酸序列

[0717] 表3示出了示例性抗FGFR2抗体的重链和轻链可变区和CDR以及重链和轻链序列的氨基酸序列标识符。对应的核酸序列标识符在表4中示出。

[0718] 表3:氨基酸序列标识符

[0719]

	SEQ ID NO:									
抗体名称	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3	HC	LC
mAb1	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20

[0720]

mAb2	22	24	6	26	28	30	32	34	36	38
mAb3	40	24	6	42	44	46	32	34	49	51

[0721] 表4:核酸序列标识符

[0722]

	SEQ ID NO:									
抗体名称	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3	HC	LC
mAb1	1	3	5	7	9	11	13	15	17	19
mAb2	21	23	5	25	27	29	31	33	35	37
mAb3	39	23	5	41	43	45	31	47	48	50

[0723] 虽然本文所公开的抗体具有完全人可变区,但是可以具有小鼠恒定区(例如,小鼠IgG1 Fc或小鼠IgG2 Fc(a或b同种型))或人恒定区(例如,人IgG1 Fc或人IgG4 Fc)。如本领域普通技术人员所理解的,具有特定Fc同种型的抗体可以转化为具有不同Fc同种型的抗体(例如,具有小鼠IgG1Fc的抗体可以转化为具有人IgG4的抗体等),但无论如何,由表3和4中所示出的数字标识符指示的可变结构域(包含CDR)将保持相同,并且无论Fc结构域的性质如何,预期抗原的结合性质相同或基本上类似。在一些情况下,本文所公开的抗体具有相同的重链可变区序列,但在全重链氨基酸序列的Fc结构域内可以具有或不具有N297Q修饰。

[0724] 实例3.人单克隆抗FGFR2抗体的Biacore结合亲和力和动力学常数

[0725] 使用Biacore 2000或Biacore 4000仪器上的实时表面等离子体共振生物传感器测定来确定hFGFR2b.mmh结合与妥布赖森(“妥布赖森1ALP”)、澳瑞他汀(“澳瑞他汀LP1”)或mc-VC-PAB-NMe-C3-May(“美登素类化合物1ALP”)缀合的抗FGFR2抗体的平衡解离常数(K_D值)。通过与单克隆小鼠抗人Fc抗体(REGN2567或杰克逊目录号#109-005-098)的胺偶联衍生Biacore传感器表面,以捕获用人恒定区表达的抗FGFR2 ADC和亲本未经修饰的抗体。在HBS-EP运行缓冲液(0.01M HEPES pH 7.4、0.15M NaCl、3mM EDTA、0.05%v/v表面活性剂P20)中执行Biacore结合研究。人FGFR2b和人FGFR2c在内部制备,表达C末端myc-myc-六聚组氨酸标签(hFGFR2b-MMH-SEQ ID NO:57;hFGFR2c-MMH-SEQ ID NO:58)。将在HBS-EP运行缓冲液中制备的不同浓度(3倍稀释)的hFGFR2b-MMH或hFGFR2c-MMH(范围为30nM至1.1nM)以50微升/分钟的流速注射到抗FGFR2 ADC或抗体捕获的表面上。将hFGFR2b-MMH或hFGFR2c-MMH与每个捕获的ADC和单克隆抗体的关联监测4分钟。随后,在HBS-EP运行缓冲液中监测解离10分钟。通过短暂注射20mM H_3PO_4再生抗人Fc表面。所有结合动力学实验在25℃下进行。通过使用Scrubber 2.0c曲线拟合软件将实时传感图拟合为1:1结合模型来确定动力学缔合(k_a)和解离(k_d)速率常数。通过从相应的分析物传感图减去缓冲液注射传感图信号来双重参考所有传感图,从而除去由抗体从捕获表面解离引起的伪像。从动力学速率常数计算结合解离平衡常数(K_D)和解离半衰期($t^1/_2$)为:

[0726] K_D(M)= $\frac{kd}{ka}$,和t½(分钟)= $\frac{\ln(2)}{60*kd}$

[0727] 表5a和表5b示出了在25℃下的hFGFR2b.mmh与抗FGFR2单克隆抗体结合的结合动力学参数。

[0728] 表5a:在25℃下的抗FGFR2抗体与hFGFR2b.mmh的结合动力学

[0729]

抗体和 ADC	捕获的 mAb（RU）	结合的抗原（RU）	ka（1/Ms）	kd（1/s）	K_D（M）	t1/2（分钟）
mAb2	337.1 ± 2.5	62.5	5.01E+04	4.47E-04	8.92E-09	25.8
mAb2-美登素类化合物 1ALP	266.8 ± 8.4	31.3	6.85E+04	8.79E-04	1.28E-08	13.1
mAb2-妥布赖森 1ALP	254.1 ± 3.4	32.7	5.10E+04	1.18E-03	2.31E-08	9.8
mAb1	514.2 ± 9.7	70.9	4.17E+04	1.04E-03	2.50E-08	11.1
mAb1-美登素类化合物 1ALP	369 ± 7.6	42.1	2.48E+04	1.04E-03	4.18E-08	11.1
mAb1-妥布赖森 1ALP	305.2 ± 4.9	36.4	2.21E+04	1.06E-03	4.81E-08	7.4
Comp2	1267.6 ± 9.3	296.1	3.69E+05	1.01E-04	2.74E-10	113.9
Comp2-BAY-LP	294.7 ± 7.7	133.1	3.58E+05	4.90E-05	1.37E-10	235.8
Comp1	582.6 ± 2.4	68.3	7.74E+04	4.71E-03	6.08E-08	2.5
IC1	480.7 ± 9.1	0	NB	NB	NB	NB

[0730] 表5b:在25℃下的抗FGFR2抗体与hFGFR2c.mmh的结合动力学

[0731]

抗体	捕获的 mAb（RU）	结合的抗原（RU）	ka（1/Ms）	kd（1/s）	K_D（M）	t1/2（分钟）
mAb2	351.4 ± 4	-1.4	NB	NB	NB	NB
mAb1	279.3 ± 4.1	1.5	NB	NB	NB	NB

[0732]

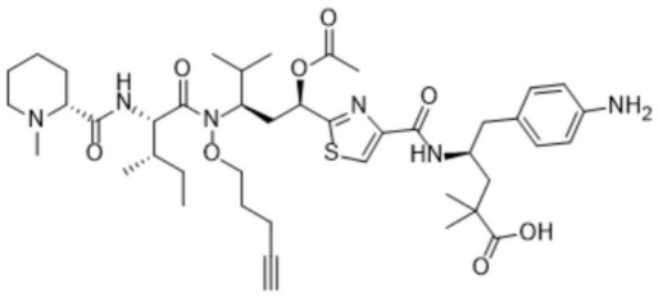
Comp2	1227.4 ± 2.1	295.2	1.41E+05	1.03E-04	7.30E-10	112.1
Comp1	567.2 ± 0.7	0.6	NB	NB	NB	NB
IC1	232.6 ± 2.7	-0.1	NB	NB	NB	NB

[0733] 在25℃下,抗FGFR2单克隆抗体分别以8.92nM和25.0nM的K_D值与hFGFR2b.mmh结合。抗FGFR2单克隆抗体缀合物以在12.8nM至48.1nM的范围内的K_D值与hFGFR2b.mmh结合。同种型对照抗体IC1不表现结合。参见表5a。相比之下,抗FGFR2单克隆抗体不与hFGFR2c.mmh结合,证明对FGFR2b蛋白的特异性。Comp2与hFGFR2b.mmh和hFGFR2c.mmh两者结合,如所预期的。

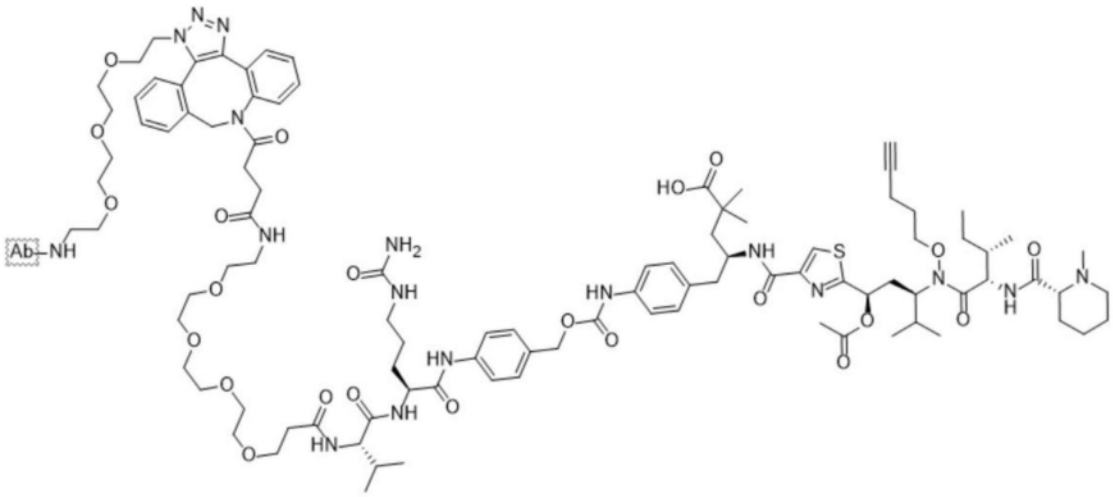
[0734] 实例4:抗FGFR2抗体与妥布赖森1A的位点特异性缀合

[0735] 在该实例中,抗FGFR2抗体与细胞毒素妥布赖森1A缀合,所述细胞毒素妥布赖森具有以下结构:

[0736]



[0737] 抗体通过如下程序中所描述的接头部分缀合，提供具有以下结构的ADC和/或其其环加成区域异构体。

[0738] 

[0739] 其中Ab是所述抗FGFR2抗体。

[0740] 环辛烯-间隔子-有效载荷与野生型抗体或其抗原结合片段的位点特异性缀合物分三个步骤产生。在第一步骤，进行野生型抗体的去糖基化。在第二步骤，进行基于微生物转谷氨酰胺酶(MTG)的适于后续加工的间隔子部分的酶促连接，例如通过环加成，如叠氮基-PEG_3-胺间隔子，到去糖基化抗体的Q295位点(下文称为“基于MTG”的缀合)。在第三步骤，通过[2+3]环加成，例如叠氮化物与环辛烯之间的1,3-偶极环加成(又名无铜点击化学)，将环辛烯-间隔子-有效载荷与叠氮基-官能化的抗体连接。参见Baskin,J.M.;Prescher,J.A.;Laughlin,S.T.;Agard,N.J.;Chang,P.V.;Miller,I.A.;Lo,A.;Codelli,J.A.;Bertozzi,C.R.《美国国家科学院院刊》2007,104(43),16793-7。图1A是具有通过[2+3]环加成与叠氮基官能化抗体缀合的DIBAC部分的接头-间隔子-有效载荷的实例。该方法以约50％-80％的分离产率提供了位点特异性和化学计量的缀合物。图1B是如下进行的3步骤位点特异性缀合的实例：

[0741] 步骤1:去糖基化抗体的制备。

[0742] 进行去糖基化以暴露缀合位点。将抗FGFR2人IgG4抗体(在PBS中30mg，40mg/mL；pH5.5-8.0)与PNGase F酶(新英格兰生物实验室(New England BioLabs)，500,000U/mL，2uL酶/1mg抗体，因此总共60uL)混合。将反应混合物在37℃下温育过夜，同时轻轻振荡。通过ESI-MS监测去糖基化。反应完成后，反应混合物可直接用于下一步骤。

[0743] 步骤2:叠氮基官能化抗体的制备。

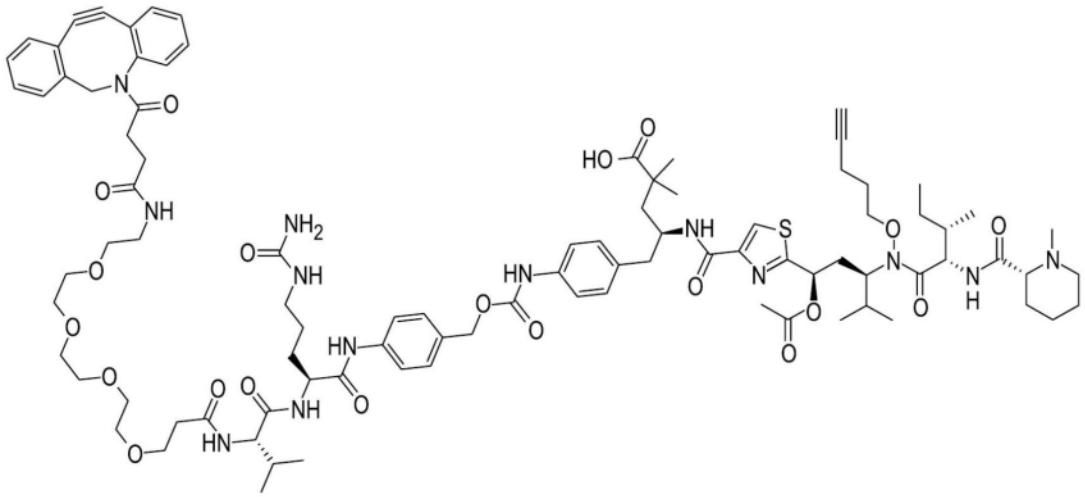
[0744] 在存在MTG(ACTIVATI，日本味之素公司(Ajinomoto,Japan))(0.06mg MTG/mg抗体)的情况下，将1.5mLPBS(pH 7.2)中的去糖基化抗FGFR2抗体(30mg)与200摩尔当量的叠氮基-PEG_3-胺(MW＝218.26g/mol)一起温育。将反应在37℃下温育4小时，然后在25℃下温育过夜，同时轻轻混合。通过ESI-MS监测反应。反应完成后，通过SEC(Superdex 200PG，通用电气医疗集团)去除过量的叠氮基-PEG_3-胺和MTG，以产生叠氮基官能化抗体。将叠氮基-PEG_3-胺添加到抗体上的两个Q295位点，导致2DAR抗体-PEG_3-叠氮化物缀合物增加404Da。

[0745] 也可以对一条或两条重链中具有N297Q修饰的抗体进行该方法。在这种情况下，将叠氮基-PEG_3-胺添加到抗体上的两个Q295位点和至少一个297Q位点，产生3DAR或4DAR抗

体-PEG_3-叠氮化物缀合物。

[0746] 步骤3:通过叠氮基官能化的经谷氨酰胺基修饰的抗体和含环辛烯的接头-有效载荷(LP)之间的[2+3]点击反应制备位点特异性缀合物。

[0747] 通常,叠氮基官能化抗体-LP缀合物是通过将叠氮基官能化的经谷氨酰胺基修饰的抗体与≥6摩尔当量的LP,例如,溶解于合适的有机溶剂(例如,DMSO、DMF或DMA;反应混合物含有10%-20%的有机溶剂,v/v)中的以下结构的化合物)在25℃至37℃下温育3-24小时来制备的:

[0748] 

。

[0749] 通过ESI-MS监测反应的进程。叠氮基官能化抗体(mAb-PEG_3-N_3)的缺失表明缀合完成。通过脱盐色谱柱或尺寸排阻色谱法(SEC)去除过量的接头-有效载荷(LP)和有机溶剂。通过SEC-HPLC和ESI-MS分析纯化的缀合物。通过SEC-HPLC分析,缀合物的单体纯度>99%。

[0750] 在一具体实例中,将叠氮基官能化抗FGFR2抗体,例如,3.2mL PBS中的mAb1和mAb2(23mg)用六当量的妥布赖森1A-LP(在DMA中浓度为10mg/mL)在30℃下过夜。通过SEC(Superdex 200PG,通用电气医疗集团)去除过量的接头有效载荷(LP)。将最终产物通过UV、SEC-HPLC(参见图2)和ESI-MS进行表征。

[0751] 表6示出了抗体妥布赖森缀合物(ADC)的DAR(ESI-MS)值的列表。

[0752] 通过SEC-HPLC和LC-ESI-MS表征抗体和ADC

[0753] 通过SEC-HPLC和ESI-MS以及代表性SEC和ESI-MS分析纯化的缀合物。

[0754] 使用Waters 1515仪器,在Superdex™ 200Increase(1.0×30cm)柱上,使用pH 7.2的PBS以0.80毫升/分钟的流速进行SEC分析实验,并使用Waters2998PDA在λ=280nm处监测。分析样品由30-80μL测试样品组成。图2中的SEC结果显示了单体mAb和其缀合物的典型保留时间,聚集或降解最小。

[0755] 通过LC-ESI-MS测量ADC样品的完整质量以确定药物-有效载荷分布曲线并计算平均DAR。每个测试样品(20-50ng,5μL)通过DTT还原,然后加载到Acquity UPLC蛋白BEH C_4柱(10K psi,300 Å,1.7μm,75μm×100mm;目录号186003810)。在脱盐3分钟之后,洗脱蛋白质,并通过Waters Synapt G2-Si质谱仪获得质谱。

[0756] 表6.抗体药物缀合物DAR

[0757]

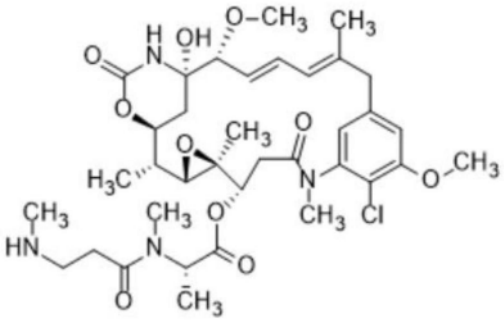
	ADC	DAR(通过ESI-MS)
mAb1-妥布赖森1A-LP	抗FGFR2 mAb1-PEG_3-N_3-妥布赖森1A-LP	2.1

mAb2-妥布赖森1A-LP	抗FGFR2 mAb2-PEG_3-N_3-妥布赖森1A-LP	2.1
IC1-妥布赖森1A-LP	同种型mAb-PEG_3-N_3-妥布赖森1A-LP	2.0

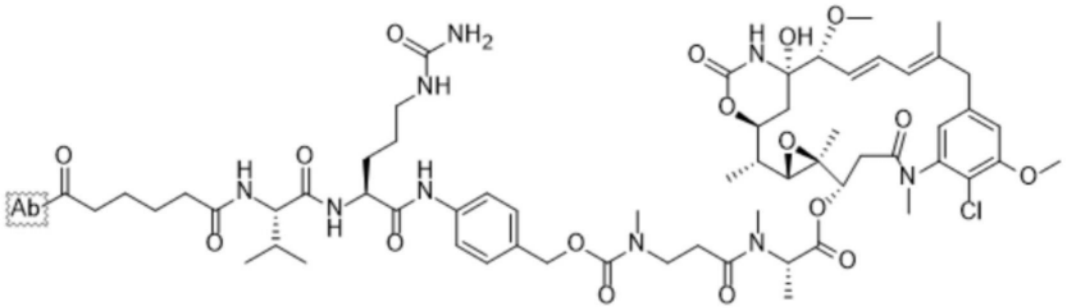
[0758] 该实验中产生的ADC用于以下实例。

[0759] 实例5:抗FGFR2抗体与美登素类化合物接头有效载荷的缀合

[0760] 在该实例中,抗FGFR2抗体与细胞毒素美登素类化合物1A缀合,所述细胞毒素美登素类化合物的结构如下:

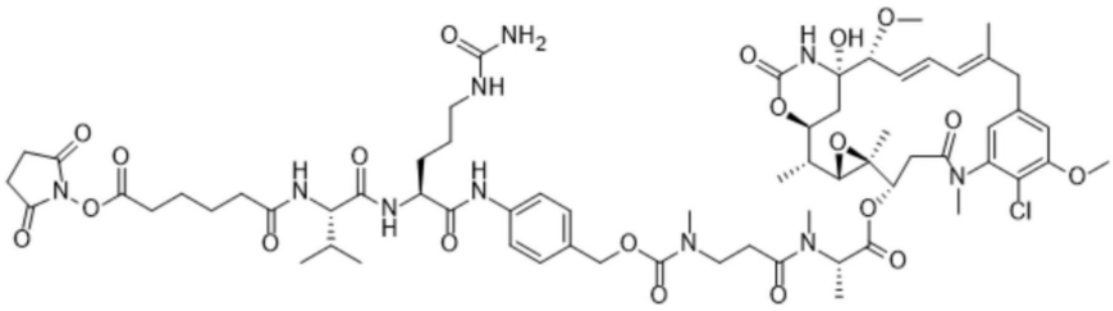
[0761] 

[0762] 抗体通过如下程序中所描述的接头部分缀合,提供具有以下结构的ADC:

[0763] 

[0764] 其中Ab是所述抗FGFR2抗体。

[0765] 将在50mM HEPES、150mM NaCl、pH 8.0和10%-15%(v/v)DMA中的抗体(10-20mg/ml)与5-6倍过量的以下化合物:

[0766] 

[0767] 在环境温度下缀合2小时。通过尺寸排阻色谱法或大量超滤纯化缀合物并无菌过滤。通过UV光谱分析确定蛋白质浓度。尺寸排阻HPLC确定所使用的所有缀合物均>90%单体,并且RP-HPLC确定存在<1%未缀合的接头有效载荷。根据Hamblett等人,《美国癌症研究协会(American Association for Cancer Research.)》2004年10月15日;10(20):7063-70)和/或通过天然抗体与缀合抗体的质量差异,通过UV分析所有缀合抗体的接头有效载荷加载值。表7示出了有效载荷与抗体的比率(DAR)。

[0768] 表7:每种抗体药物缀合物的产率百分比和有效载荷与抗体的比率

[0769]

抗体	产率(%)	DAR(ESI-MS)

mAb3-美登素类化合物1ALP	70	2.2
mAb2-美登素类化合物1ALP	70	1.9
mAb1-美登素类化合物1ALP	70	2.5
IC1-美登素类化合物1ALP	80	2.0

[0770] 通过液相色谱法-质谱法表征缀合物

[0771] 为了确定接头-有效载荷在抗体上的加载，将缀合物去糖基化，并通过LC-MS分析。

[0772] 对于测定，将50μg缀合物用milli-Q水稀释至1mg/mL的最终浓度。将十μLPNGase F溶液[通过添加150μL PNGase F原液(新英格兰生物实验室，目录号P0704L)和850μLmilli-Q水并混合均匀，制备PNGase F溶液]添加到稀释的缀合物溶液中，然后在37℃下温育过夜。在LC-MS(Waters Synat G2-Si)上注射5μL每种样品，并在25分钟内用0.1mL/分钟的20％-40％梯度流动相(流动相A:0.1％v/v FA在H_2O中;流动相B:0.1％v/v FA在乙腈中)洗脱。在80℃下在Waters Acquity BEH C4柱(1.0×50mM,1.7μM)上实现LC分离。

[0773] 使用Masslynx软件对质谱法谱进行解卷积并使用以下方程计算药物与抗体的比率(DAR)。

[0774] 1.根据分布峰强度(PI)的药物相对百分比(％)(Dn)：

[0775] Dn％＝PIn/∑(PI0+PI1+PI2……+PIi)×100,(n＝0,1,2,3,…,i)

[0776] 2.平均DAR计算：

[0777] DAR＝∑(1×D1％+2×D2％+3×D3％+……+i×Di％)

[0778] 实例6:肿瘤细胞系中的抗FGFR2抗体药物缀合物的体外细胞毒性测定

[0779] 为了测试本文所公开的抗FGFR2抗体药物缀合物(ADC)杀伤人细胞系的能力，进行了体外细胞毒性测定。使用CellTiter-Glo 2.0测定试剂盒(普洛麦格公司(Promega)，目录号G9243)评价抗FGFR2 ADC、同种型对照ADC和无参考载荷的体外细胞毒性，其中存在的ATP数量用于确定培养物中的活细胞的数量。将有效载荷美登素类化合物1A、美登素类化合物1A*(美登素类化合物1A的细胞可渗透等效物)和妥布赖森1A测试为游离有效载荷，并将包含比较物抗体的未缀合抗体用作对照。

[0780] 对于测定，将SNU-16、MFM-223、NCI-H716或IM-9细胞在完全生长培养基中的聚-D-赖氨酸包被的白色96孔BioCoat板(康宁公司(Corning)编号356693)中以2000个细胞/孔接种，并且在5％ CO_2中在37℃下生长过夜。在稀释培养基(Optimem+0.1％ BSA)中制备抗FGFR2 ADC或同种型对照ADC的五倍连续稀释，并且以范围为20nM至0.051pM的最终浓度添加细胞(针对DAR校正浓度并且基于有效的有效载荷浓度进行给药)。在100％ DMSO中制备游离有效载荷的五倍连续稀释，将其转移到新鲜稀释培养基中，并且然后以0.2％的最终恒定DMSO浓度和范围为20nM至0.051pM的最终有效载荷浓度添加到细胞中。每个稀释序列中的最后一个孔用作未处理的对照，并且包含单独的培养基或培养基加上0.2％的DMSO，并且作为5倍连续稀释的延续绘制。在六天之后，向每个孔中添加100uL CellTiter Glo2.0，将板在轨道振荡器上混合2分钟，并且将板在室温下温育10分钟。在Envision发光仪(珀金埃尔默公司(PerkinElmer))上测量相对光单位(RLU)，并且将细胞活力表示为未处理(100％活)细胞的百分比。使用四参数逻辑方程在10点剂量应答曲线(GraphPad Prism)上确定IC_{50}值。还确定每种测试物品的最大杀伤％如下:100-最低存活率百分比。每种测试物品的IC_{50}值和最大杀伤％如表8所示。

[0781] 如表8所示,mAb2-妥布赖森1A-LP和mAb1-妥布赖森1A-LP(与妥布赖森有效载荷缀合的抗FGFR2 ADC)以范围为37.0pM至125pM的IC_{50}值和范围为90.0%至95.4%的最大杀伤%值杀伤FGFR2b阳性SNU-16和MFM-223细胞。这些相同的抗FGFR2 ADC在NCI-H716细胞(低FGFR2b但高FGFR2c表达的细胞系)和IC_{50}值>20nM的不表达FGFR2的IM-9细胞中具有弱细胞毒性。游离有效载荷妥布赖森1A(妥布赖森1A-LP的有效载荷)以范围为3.69pM至74.3pM的IC_{50}值杀伤所有测试细胞。与妥布赖森有效载荷(IC1-妥布赖森1A-LP)缀合的非结合对照抗体在范围为1.98nM至>20nM的IC_{50}值的所有测试细胞中具有弱细胞毒性。mAb2-美登素类化合物1A-LP和mAb1-美登素类化合物1A-LP(与美登素类化合物有效载荷缀合的抗FGFR2 ADC)抗体缀合物也以范围为172pM至268pM的IC_{50}值和范围为85.5%至95.0%的最大杀伤%杀伤FGFR2b阳性SNU-16和MFM-223细胞。游离有效载荷美登素类化合物1A(美登素类化合物1A-LP中的有效载荷)和与美登素类化合物有效载荷缀合的非结合对照抗体(IC1-美登素类化合物1A-LP)在测试浓度下的杀伤活性很小至无,IC_{50}值的范围为4.63nM至>20nM。美登素类化合物1A的细胞可渗透等效物(对于旁观者效应是信息性的)确实以范围为113pM至5.45nM的IC_{50}值杀伤所有测试细胞系,这表明测试细胞系通常对一类美登素类化合物有效载荷没有抗性。

[0782] 还测试了识别FGFR2b和FGFR2c两者并且与澳瑞他汀有效载荷(Comp2-BAY-LP)缀合的比较物抗FGFR2 ADC的细胞毒性。与其它测试的抗FGFR2 ADC类似,Comp2-BAY-LP分别以87.1pM和63.8pM的IC_{50}值杀伤SNU-16和MFM-223细胞。与仅和FGFR2b结合的其它测试的抗FGFR2ADC相反,双重FGFR2b+FGFR2c结合剂Comp2-BAY-LP也以349pM的IC_{50}值杀伤NCI-H716细胞(表达高FGFR2c水平但低FGFR2b)。Comp2-BAY-LP在FGFR2阴性IM-9细胞中具有弱细胞毒性,并且与澳瑞他汀有效载荷缀合的非结合对照(IC2-BAY-LP)在所有测试细胞系中具有弱细胞毒性,IC_{50}的范围为6.06nM至大于20nM。包含FGFR2b选择性比较物抗体Comp1的所有未缀合抗体在所有测试细胞系中具有弱细胞毒性,EC50大于20nM。

[0783] 表8.抗FGFR2 ADC在SNU-16、NCI-H716、MFM-223、MFE-296和IM-9细胞中的细胞毒性

[0784]

测试物品	IM-9		MFM-223		NCI-H716		SNU-16	
	IC50（M）	最大杀伤%	IC50（M）	最大杀伤%	IC50（M）	最大杀伤%	IC50（M）	最大杀伤%
mAb2-妥布赖森1ALP	>2.00E-08	6.9	6.36E-11	90.0	>2.00E-08	30.9	3.70E-11	95.3
mAb1-妥布赖森1ALP	>2.00E-08	13.4	1.25E-10	91.1	>2.00E-08	19.3	4.34E-11	95.4
IC1-妥布赖森1ALP（对照）	1.45E-08	95.2	1.98E-09	89.6	>2.00E-08	7.1	3.40E-09	94.9
妥布赖森1A	2.12E-11	94.6	3.76E-12	89.7	7.43E-11	84.9	3.69E-12	95.1
mAb2-美登素类化合物1ALP	>2.00E-08	9.5	1.72E-10	91.1	>2.00E-08	17.0	2.06E-10	95.0
mAb1-美登素类化合物1ALP	>2.00E-08	0.0	2.14E-10	85.5	>2.00E-08	0.5	2.68E-10	93.1
IC1-美登素类化合物1ALP（对照）	>2.00E-08	4.0	4.63E-09	84.3	>2.00E-08	3.3	>2.00E-08	6.0
美登素类化合物1A	>2.00E-08	3.7	>2.00E-08	18.1	>2.00E-08	6.4	>2.00E-08	9.2
细胞渗透性美登素类化合物1A*	2.99E-10	95.3	1.13E-10	92.0	5.45E-09	59.5	1.89E-10	95.9
Comp2-BAY-LP	>2.00E-08	2.2	6.38E-11	90.4	3.49E-10	77.2	8.71E-11	94.7
IC2-BAY-LP（对照）	>2.00E-08	10.5	6.06E-09	89.3	>2.00E-08	19.0	1.31E-08	66.1

[0785]

Comp1（未缀合）	>2.00E-08	3.8	>2.00E-08	0.8	>2.00E-08	9.9	>2.00E-08	0.0
Comp2（未缀合）	>2.00E-08	7.6	>2.00E-08	7.8	>2.00E-08	0.6	>2.00E-08	12.0
mAb2（未缀合）	>2.00E-08	6.4	>2.00E-08	4.5	>2.00E-08	7.8	>2.00E-08	10.3
mAb1（未缀合）	>2.00E-08	4.4	>2.00E-08	4.5	>2.00E-08	7.8	>2.00E-08	5.4
IC1（未缀合对照）	>2.00E-08	1.6	>2.00E-08	2.9	>2.00E-08	12.6	>2.00E-08	6.0
IC2（未缀合对照）	>2.00E-08	6.2	>2.00E-08	8.5	>2.00E-08	3.5	>2.00E-08	2.1

[0786] 共培养和旁观者效应

[0787] 还评估了抗FGFR2 ADC通过释放FGFR2阳性细胞中的有效载荷，即旁观者活性，在FGFR2阴性细胞中诱导细胞毒性的能力。在该测定中，将10,000个FGFR2阳性SNU-16细胞、10,000个FGFR2阴性NALM-6细胞或SNU-16和NALM-6细胞的各自5,000个细胞的1:1混合物接种到96孔测定板(康宁公司编号355691)中并且在37℃和5% CO_2下温育过夜。如先前所描述对肿瘤细胞系的细胞毒性进行评估，除了对浓度范围为100nM至15.2pM的所有测试物品进行三倍连续稀释之外，并将细胞与测试物品一起温育5天。

[0788] 如表9所示，mAb2-妥布赖森1ALP和mAb1-妥布赖森1ALP抗体缀合物分别以97.2和97.1的最大杀伤％杀伤FGFR2阳性SNU-16单培养物，但在FGFR2阴性NALM-6单培养物中不具有细胞毒性。mAb2-妥布赖森1ALP和mAb1-妥布赖森1ALP抗体缀合物还以97.7和87.8的最大

杀伤％杀伤SNU-16+NALM-6共培养物，表明了旁观者杀伤活性。非结合ADC对照(IC1-妥布赖森1ALP)在SNU-16+NALM-6共培养物中具有弱细胞毒性，最大杀伤％为17.0％。mAb2-美登素类化合物1ALP在FGFR2阳性SNU-16细胞单培养物中表现出细胞毒性(EC_{50}值为64.5pM并且最大杀伤为94.8％)并且在FGFR2阴性NALM-6细胞单培养物中不具有细胞毒性活性(最大杀伤为5.0％)。在以1:1比率制备的SNU-16和NLAM-6细胞的共培养中，mAb2-美登素类化合物1ALP表现出大约18.3％的最大细胞毒性，表明几乎没有或没有旁观者杀伤FGFR2阴性NALM-6细胞群体。非结合对照IC1-美登素类化合物1ALP在所有测试条件下(最大杀伤<10％)具有弱细胞毒性。比较物ADC、Comp2-BAY-LP也表现出弱旁观者活性，如其在SNU-16细胞中的稳健杀伤活性(最大杀伤％为95.6％)和在SNU-16+NALM16共培养物中的弱杀伤活性(最大杀伤％为21.2％)所证明的。

[0789] 表9.体外旁观者测定中的抗FGFR2 ADC的细胞毒性

[0790]

测试物品	SNU-16 细胞		NALM-6 细胞		SNU-16 + NALM-6 细胞	
	IC50 (M)	最大杀伤%	IC50 (M)	最大杀伤%	IC50 (M)	最大杀伤%
mAb2-妥布赖森 1ALP	2.73E-11	97.2	>1.0E-07	0.0	1.16E-08	97.7
mAb1-妥布赖森 1ALP	6.69E-11	97.1	>1.0E-07	0.0	4.97E-08	87.8
IC1-妥布赖森 1ALP	4.11E-08	91.0	>1.0E-07	3.7	>1.0E-07	17.0
妥布赖森 1A	1.84E-11	99.3	7.09E-11	99.9	1.66E-10	99.5
mAb2-美登素类化合物 1ALP	6.45E-10	94.8	>1.0E-07	5.0	>1.0E-07	18.3
IC1-美登素类化合物 1ALP（对照）	>1.0E-07	9.8	>1.0E-07	0.0	>1.0E-07	3.6
Comp2-BAY-LP	2.34E-10	95.6	>1.0E-07	0.0	>1.0E-07	21.2
IC2-BAY-LP（对照）	5.68E-08	76.9	>1.0E-07	7.8	>1.0E-07	19.3

[0791] 实例7：抗FGFR2抗体药物缀合物(ADC)对SNU-16胃癌异种移植物的生长的体内功效

[0792] 在实验A中测试了FGFR2妥布赖森ADC mAb1-妥布赖森1ALP(图3)，并且在实验B中测试了FGFR2美登素类化合物ADC mAb2-美登素类化合物1ALP(图4)在不同剂量下抑制SNU-16人胃癌异种移植物的生长的能力。简而言之，将与基质胶(BD生物科学公司(BD Biosciences))混合的5×10^6个SNU-16细胞(ATCC)皮下植入到雄性BALB/c SCID小鼠(6-8周龄，杰克森实验室(Jackson Laboratory))的侧腹中。在肿瘤达到200-250mm^3的平均体积之后，将小鼠随机分入治疗组进行治疗(对于实验A，n＝5-6只小鼠/组，并且对于实验B，n＝6-7只小鼠/组)。在实验A中向小鼠施用人Fc同种型对照妥布赖森ADC IC1-妥布赖森1ALP(3.0mg/kg)或FGFR2妥布赖森ADC mAb1-妥布赖森1ALP(0.1、0.3、1.0或3.0mg/kg)，并且在实验B中向小鼠施用人Fc同种型对照美登素类化合物ADC IC1-美登素类化合物1ALP或FGFR2美登素类化合物ADC mAb2-美登素类化合物1ALP(1.0、3.0、10或15mg/kg)。所有ADC通过皮下注射施用一次。在实验过程中，每周测量两次肿瘤体积。计算每个治疗组的肿瘤生长的平均值(平均值+/-标准差)(从治疗开始到实验结束的肿瘤体积变化)。根据与同种型对照组的比较计算肿瘤生长的百分比降低，并且根据与治疗开始时的肿瘤体积的比较计算实

验结束时的肿瘤的消退百分比。结果在表10中示出。

[0793] 表10:抑制SNU-16异种移植物在BALB/c SCID小鼠中的生长

[0794]

抗体（mg/kg）	总有效载荷剂量（ug/kg）	从治疗开始以 mm3 为单位的肿瘤生长（平均值± SD）	平均肿瘤生长减少%	平均肿瘤消退%
实验 A				
IC1-妥布赖森 1ALP（3.0 mg/kg）	36	519.3 ± 576.8		
mAb1-妥布赖森 1ALP（0.1 mg/kg）	1.2	435.2 ± 189.7	16.2	
mAb1-妥布赖森 1ALP（0.3 mg/kg）	3.6	141.8 ± 141.5	72.7	
mAb1-妥布赖森 1ALP（1.0 mg/kg）	12	-168.8 ± 37.8		79.3
mAb1-妥布赖森 1ALP（3.0 mg/kg）	36	-202.5 ± 48.7		88.3
实验 B				
IC1-美登素类化合物 1ALP（15 mg/kg）	190	1516.2 ± 413.9		
mAb2-美登素类化合物 1ALP（1.0 mg/kg）	14	547.6 ± 292.3	63.9	
mAb2-美登素类化合物 1ALP（3.0mg/kg）	42	164.1 ± 245.5	89.2	
mAb2-美登素类化合物 1ALP（10mg/kg）	140	-35.1 ± 102.7		18.2
mAb2-美登素类化合物 1ALP（15mg/kg）	210	-5.8 ± 145.6		8.4

[0795] 这些结果表明,靶向FGFR2b同种型的ADC以剂量依赖性方式诱导SNU-16肿瘤异种移植物的完全消退,1.0mg/kg剂量的妥布赖森FGFR2 ADC和10mg/kg剂量的美登素类化合物FGFR2 ADC提供最大功效。

[0796] 实例8:抗FGFR2b抗体药物缀合物(ADC)对人胃癌PDX GA0033肿瘤的生长的体内功效

[0797] 在该实验中测试了FGFR2美登素类化合物ADC mAb1-美登素类化合物1ALP和FGFR2妥布赖森ADC mAb1-妥布赖森1ALP在不同剂量下抑制人胃癌PDX GA0033肿瘤生长的能力(图5)。简而言之,将直径为2-3mm的HuPrime®原发性人胃癌PDX GA0033肿瘤片段(冠科生物技术公司(Crown Bioscience))皮下植入雌性BALB/c裸鼠的右侧(5-9周龄,集萃药康生物科技公司(GemPharmatech))。在肿瘤达到100-200mm^3的平均体积之后,将小鼠随机分入治疗组进行治疗(n=6只小鼠/组)。向小鼠施用人Fc同种型对照美登素类化合物ADC IC-美登素类化合物1ALP(10mg/kg)、FGFR2美登素类化合物ADC mAb1-美登素类化合物1ALP(3或10mg/kg)、人Fc同型对照妥布赖森ADC IC-妥布赖森1ALP(3mg/kg)、FGFR2妥布赖森ADC

mAb1-妥布赖森1ALP(1或3mg/kg)、人Fc同种型对照裸抗体IC(15mg/kg)或FGFR2裸抗体mAb1(15mg/kg)。所有ADC通过皮下注射每周两次施用,用于两种治疗,并且在整个实验中通过皮下注射每周两次施用所有裸抗体。在实验过程中,每周测量两次肿瘤体积。计算每个治疗组的肿瘤生长的平均值(平均值+/-标准差)(从治疗开始到实验结束的肿瘤体积变化)。根据与对应的同种型对照组的比较计算肿瘤生长的百分比降低,并且根据与治疗开始时的肿瘤体积的比较计算实验结束时的肿瘤的消退百分比。结果在表11中示出。

[0798] 表11:抑制人胃癌PDX GA0033肿瘤生长在BALB/c裸鼠中的生长

[0799]

抗体(mg/kg)	总有效载荷剂量(ug/kg)	从治疗开始以 mm^3 为单位的肿瘤生长(平均值± SD)	平均肿瘤生长减少%	平均肿瘤消退%
IC-美登素类化合物 1ALP (10 mg/kg)	132 × 2	1099.4 ± 676.3		
mAb1-美登素类化合物 1ALP (3 mg/kg)	40 × 2	273.6 ± 241.9	75.1	
mAb1-美登素类化合物 1ALP (10 mg/kg)	132 × 2	-104.2 ± 20.6		75.0
IC-妥布赖森 1ALP (3 mg/kg)	36 × 2	1497.7 ± 839.5		
mAb1-妥布赖森 1ALP (1 mg/kg)	12 × 2	197.3 ± 201.7	86.8	

[0800]

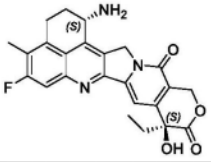
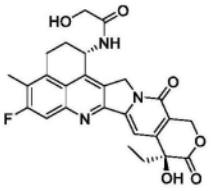
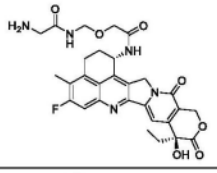
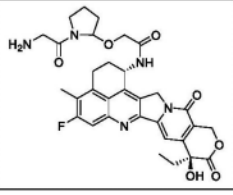
mAb1-妥布赖森 1 ALP (3 mg/kg)	36 × 2	-138.4 ± 27.6		96.5
IC (15 mg/kg)	N/A	1273.7 ± 750.2		
mAb1 (15 mg/kg)	N/A	1135.3 ± 391.3	10.9	

[0801] 这些结果表明,靶向FGFR2b同种型的ADC以剂量依赖性方式诱导人胃癌PDX GA0033肿瘤的完全消退,3.0mg/kg剂量的妥布赖森FGFR2 ADC和10mg/kg剂量的美登素类化合物FGFR2 ADC提供最大功效。

[0802] 实例9:喜树碱衍生物的合成(有效载荷)

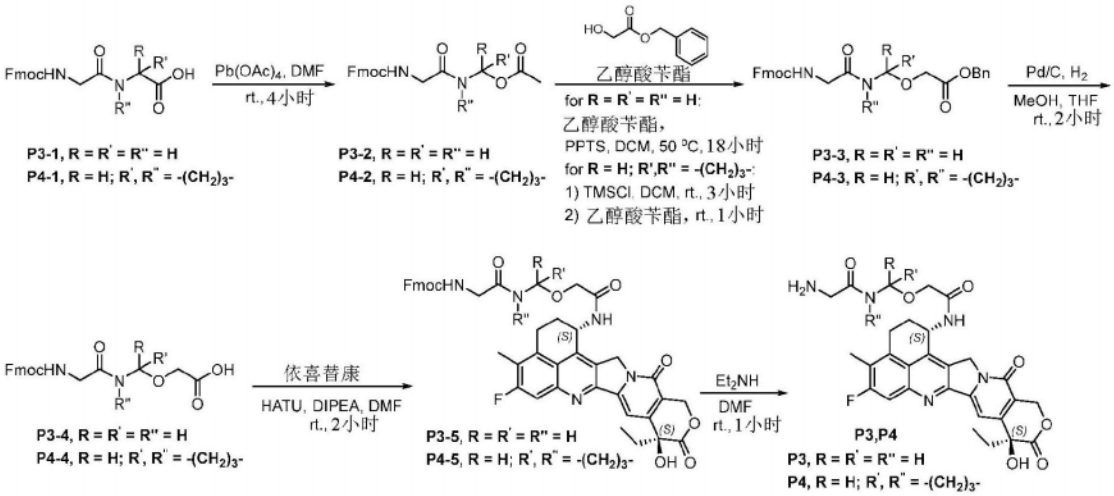
[0803] 表12:示例性喜树碱类似物有效载荷P1-P4

[0804]

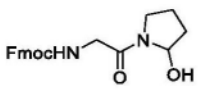
#	名称	结构	cLogP	MF	MW	纯度（%）	m/z	盐
P1	依喜替康		1.45	$C_{24}H_{22}FN_3O_4CH_4O_3S$	531.56	97	436.1 [M+H]，893.2 [2M+Na]	MsOH
P2	Dxd		0.55	$C_{26}H_{24}FN_3O_6$	493.48	100	494.2 [M+H]	NA
P3			-0.60	$C_{29}H_{30}FN_5O_7C_2HF_3O_2$	693.59	97	580.2 [M+H]，1159.2 [2M+H]	TFA
P4			0.02	$C_{32}H_{34}FN_5O_7$	619.64	88	620.3 [M+H]	NA

[0805] 有效载荷P1依沙替康甲磺酸盐从MCE商购获得。有效载荷P2和P3如WO 2015155998中所描述合成，其通过引用并入本文，并且喜树碱衍生物有效载荷P4如方案1A中所描述并根据实例9A-1E中概述的合成步骤合成：

[0806] 方案1：喜树碱衍生物(有效载荷)P3和P4的合成

[0807] 

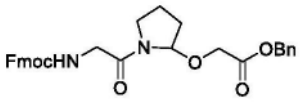
[0808] 实例9A：9H-芴-9-基甲基N-[2-(2-羟基吡咯烷-1-基)-2-氧乙基]氨基甲酸酯(P4-2)的合成

[0809]  **(P4-2)**

[0810] 向Fmoc-Gly-Pro-OH P4-1(0.10g，0.26mmol)于干燥DMF(1mL)中的混合物中添加四乙酸铅(0.14g，0.31mmol)。将所得混合物在室温下搅拌30分钟；通过LCMS监测反应进展。

将所得混合物通过硅藻土过滤，并将滤液用乙酸乙酯稀释，用水和盐水洗涤，经无水硫酸钠干燥，并在真空中浓缩。将残留物通过硅胶柱色谱法(0%-10%乙酸乙酯的石油醚)纯化以得到呈白色固体的化合物P4-2(50mg，53%产率)，并且未获得乙酸酯中间体。ESI m/z:389(M+23)$^+$。^{1}H NMR(400MHz,DMSO)δ7.90(d,J＝7.4Hz,2H),7.73(d,J＝7.5Hz,2H),7.47-7.37(m,3H),7.33(t,J＝7.3Hz,2H),5.86(br s,1H),5.48(d,J＝4.0Hz,0.25H),5.39(d,J＝4.0Hz,0.75H),4.33-4.18(m,3H),3.96(d,J＝6.0Hz,1.5H),3.75(d,J＝6.0Hz,0.5H),3.59-3.33(m,1H),3.22-3.11(m,1H),2.00-1.59(m,4H)ppm。

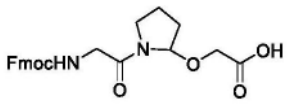
[0811] 实例9B:2-{[1-(2-{[(9H-芴-9-基甲氧基)羰基]氨基}乙酰基)吡咯烷-2-基]氧基}乙酸苄酯的合成(P4-3)

[0812] 

（P4-3）

[0813] 向化合物P4-2(0.30g，0.82mmol)于DCM(25mL)中的溶液添加三甲基氯硅烷(TMSCl)(0.27g，2.5mmol)。将反应混合物在室温下搅拌3小时；通过LCMS监测反应进程。将所得混合物在真空中浓缩，并且用DCM(25mL)稀释残留物。向溶液中添加乙二醇甲酯(0.27g，1.6mmol)和DIPEA(0.21g，1.6mmol)，并将反应混合物在室温下搅拌一小时；通过LCMS监测反应完成。将所得混合物在真空中浓缩，并且通过反相快速色谱法纯化残余物(碳酸氢铵水溶液(0.05%)中的0%-100%乙腈)，以得到呈白色固体的化合物P4-3(0.11g，产率25%，纯度>99%和50mg，纯度75%)。ESI m/z:537.3(M+Na)$^+$。^{1}H NMR(400MHz,DMSO$_{d6}$)δ7.91-7.89(m,2H),7.74-7.69(m,2H),7.63-7.48(m,1H),7.42-7.25(m,9H),5.51-5.09(m,2H),4.35-4.21(m,5H),4.00-3.77(m,2H),3.52-3.38(m,2H),3.30-3.18(m,1H),2.19-1.64(m,4H)ppm。

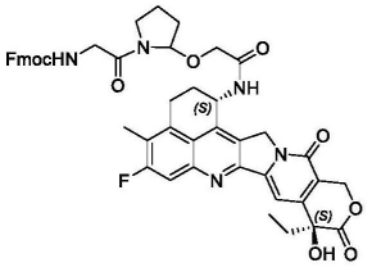
[0814] 实例9C:2-{[1-(2-{[(9H-芴-9-基甲氧基)羰基]氨基}乙酰基)吡咯烷-2-基]氧基}乙酸的合成(P4-4)

[0815] 

（P4-4）

[0816] 在氮气保护下，向化合物P4-3(89mg，0.17mmol)于甲醇(3mL)和THF(7mL)中的溶液中添加湿钯碳(10% Pd，20mg)。将混合物脱气并在氢气球压力下于室温下搅拌2小时，并且通过LCMS监测反应完成。将反应混合物通过硅藻土过滤，并且将滤液在真空中浓缩。将残余物通过反相快速色谱法(碳酸氢铵水溶液(0.05%)中的0%-100%乙腈)纯化以得到呈白色固体的化合物P4-4(36mg，49%产率)。ESI m/z:447.1(M+Na)$^+$。

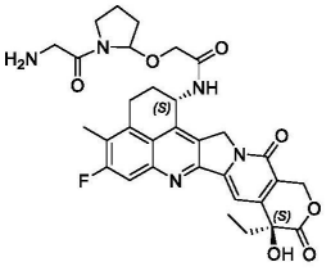
[0817] 实例9D:9H-芴-9-基甲基N-{2-[2-({[(10S,23S)-10-乙基-18-氟-10-羟基-19-甲基-5,9-二氧代-8-氧杂-4,15-二氮杂双环[14.7.1.0^2,14.0^4,13.0^6,11.0^{20},24]四碳-1,6(11),12,14,16,18,20(24)-庚烯-23-基]氨基甲酰基}甲氧基)吡咯烷-1-基]-2-氧代乙基}氨基甲酸酯(P4-5)

[0818] 

（P4-5）

[0819] 向化合物P4-4(63mg,0.15mmol)和依沙替康甲磺酸盐(66mg,0.12mmol)于DMF(2mL)中的混合物中添加HATU(61mg,0.16mmol)和DIPEA(46mg,0.36mmol),并将混合物在室温下搅拌2小时;通过LCMS监测反应完成。将反应混合物通过反相快速色谱法(碳酸氢铵水溶液(10mM)中的0%-100%乙腈)直接纯化以得到呈黄色固体的化合物P4-5(45mg,44%产率)。ESI m/z:842.3(M+H)$^+$。

[0820] 实例9E:2-{[1-(2-氨基乙酰基)吡咯烷-2-基]氧基}-N-[(10S,23S)-10-乙基-18-氟-10-羟基-19-甲基-5,9-二氧-8-氧杂-4,15-二氮杂双环[14.7.1.0^2,14.0^4,13.0^6,11.0^{20},24]四碳-1,6(11),12,14,16,18,20(24)-庚烯-23-基]乙酰胺(P4)

[0821] 

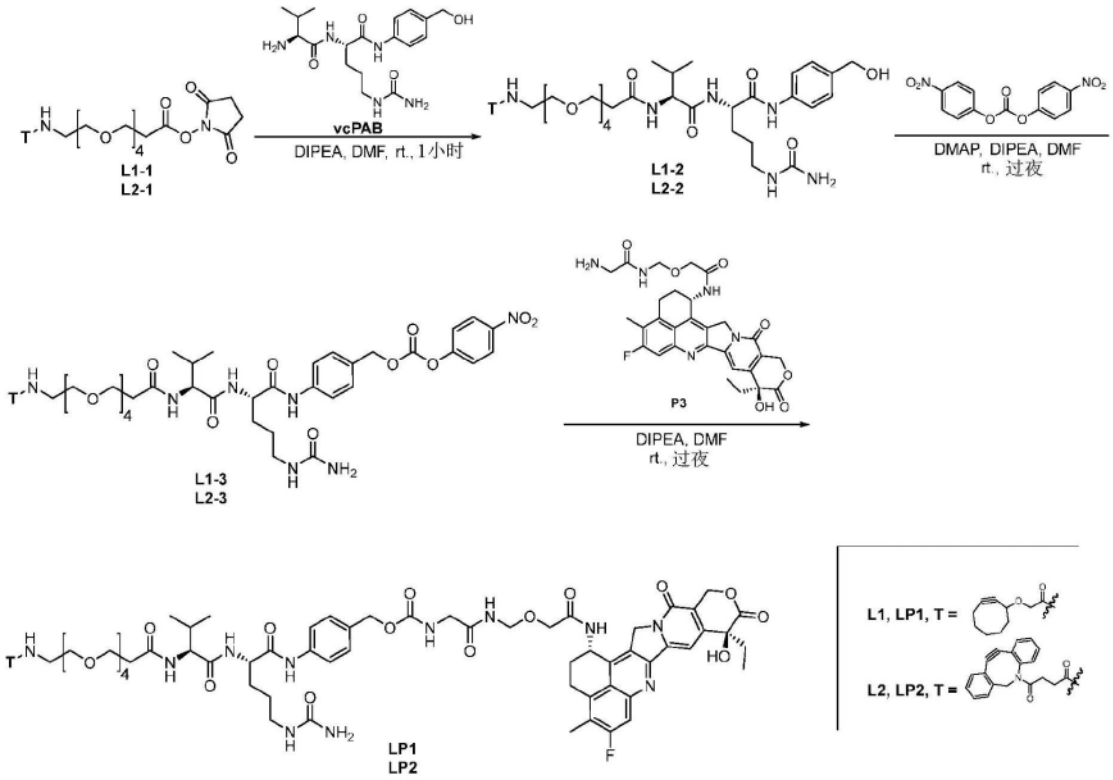
（P4）

[0822] 向化合物P4-5(45mg,54μmol)于DCM(4mL)中的溶液中添加二乙胺(20mg,0.27mmol),并将混合物在室温下搅拌过夜。通过LCMS监测反应完成。将反应混合物在真空中浓缩,并且将残留物通过硅胶快速色谱法(在DCM中的0%-10%甲醇)纯化,以得到呈无色油状的化合物P4(9.5mg,产率28%)。ESI m/z:620.3(M+H)$^+$。

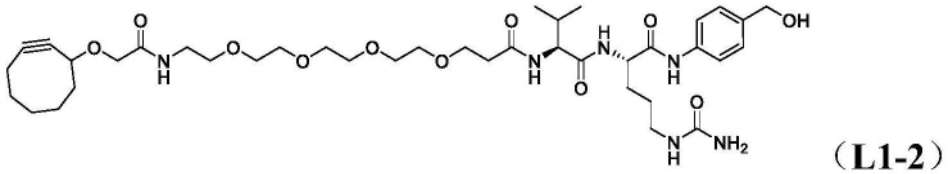
[0823] 实例10:vcPAB-氨基甲酸酯接头-有效载荷的合成

[0824] 如下文方案2和实例10A-10C(对于LP1)和10D(对于LP2)中所描述合成接头-有效载荷LP1和LP2。根据WO 2018089373A2合成起始材料L1-1(CAS 2226472-26-8)和L2-3(CAS 2226472-28-0),所述文献通过引用整体并入本文。

[0825] 方案2.vcPAB-氨基甲酸酯接头-有效载荷的合成

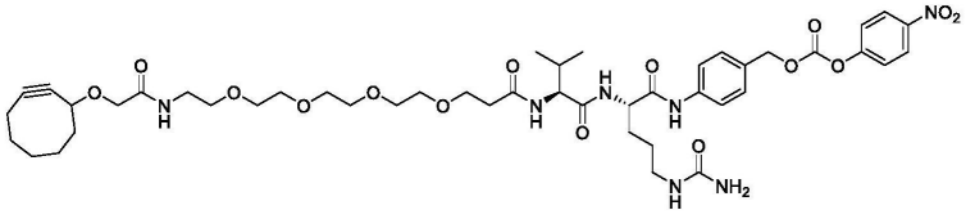
[0826] 

[0827] 实例10A:N-[(1S)-1-{[(1S)-4-(氨基甲酰基氨基)-1-{[4-(羟甲基)苯基]氨基甲酰基}丁基]氨基甲酰}-2-甲基丙基]-1-[2-(环辛-2-炔-1-基氧基)乙酰胺基]-3,6,9,12-四氧杂十五烷-15-酰胺(L1-2)

[0828] 

[0829] 向化合物L1-1(0.17g,0.33mmol)于DMF(10mL)中的溶液中依次添加DIPEA(0.13g,1.0mmol)和vcPAB(0.13g,0.34mmol),并将反应混合物在室温下搅拌一小时。通过LCMS监测反应完成。将所得混合物通过反相快速色谱法(0-80%乙腈的水溶液)直接纯化,以得到呈无色油状的化合物L1-2(0.18g,70%产率)。ESI m/z:791.3$(M+H)^+$。^1H NMR(400MHz,$DMSO_{d6}$)δ9.91(s,1H),8.11(d,J=8.4Hz,1H),7.89(d,J=8.8Hz,1H),7.61(t,J=5.6Hz,1H),7.55(d,J=8.4Hz,2H),7.23(d,J=8.4Hz,2H),5.98(t,J=5.6Hz,1H),5.42(s,2H),5.10(br s,1H),),4.43(s,2H),4.39-4.37(m,1H),4.30-4.21(m,2H),3.87(d,J=14.8Hz,1H),3.75(d,J=14.8Hz,1H),3.62-3.58(m,2H),3.50-3.46(m,12H),3.43(t,J=6.0Hz,2H),3.27-3.22(m,2H),3.06-2.92(m,2H),2.41-2.32(m,2H),2.26-2.05(m,3H),1.99-1.66(m,6H),1.62-1.55(m,3H),1.44-1.35(m,3H),0.89(d,J=6.8Hz,3H),0.83(d,J=6.8Hz,3H)ppm。

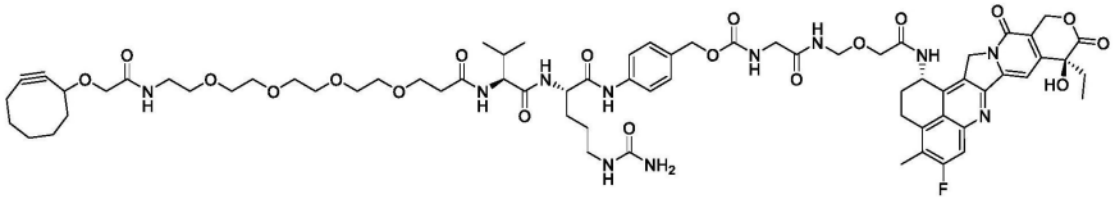
[0830] 实例10B:碳酸{4-[(2S)-5-(氨基甲酰氨基)-2-[(2S)-2-{1-[2-(环辛-2-炔-1-基氧基)乙酰胺基]-3,6,9,12-四氧杂十五烷-15-酰胺基}-3-甲基丁酰胺基]戊酰胺基]苯基}甲基4-硝基苯基酯(L1-3)

[0831] 

（L1-3）

[0832] 将化合物L1-2(80mg,0.10mmol)、DMAP(12mg,0.10mmol)和DIPEA(26mg,0.20mmol)于无水DMF(5mL)中的悬浮液在室温下搅拌10分钟,然后添加碳酸双(4-硝基苯基)酯(61mg,0.20mmol)。将反应混合物在室温下搅拌2小时。通过LCMS监测反应完成。将所得混合物通过反相快速色谱法(0-80％乙腈的水溶液)直接纯化,以得到呈白色固体的化合物L1-3(53mg,55％产率)。ESI m/z:956.3(M+H)$^{+}$。

[0833] 实例10C:{4-[(2S)-5-(甲酰氨基)-2-[(2S)-2-{1-[2-(环辛-2-炔-1-基氧基)乙酰胺基]-3,6,9,12-四氧杂十五烷-15-氨基}-3-甲基丁酰胺基]五酰胺基]苯基}甲基N-({[({[(10S,23S)-10-乙基-18-氟-10-羟基-19-甲基-5,9-二氧代-8-氧代-4,15-二氮杂双环[14.7.1.0^{2},^{14}.0^{4},^{13}.0^{6},^{11}.0^{20},^{24}]四碳-1,6(11),12,14,16,18,20(24)-庚烯-23基]氨基甲酰基}甲氧基)甲基]氨基甲酰}甲基)氨基甲酸酯(LP1)

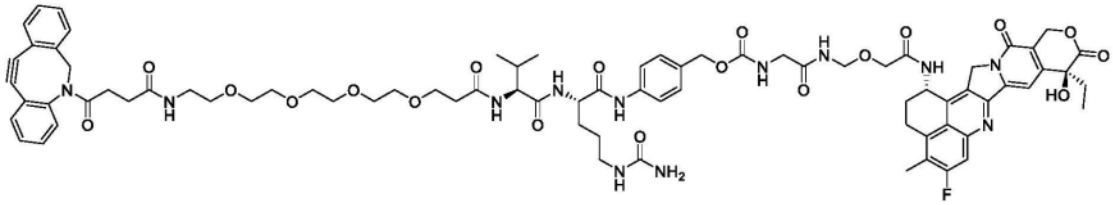
[0834] 

（LP1）

[0835] 向化合物L1-3(16mg,17μmol)和依沙替康甲磺酸盐(12mg,17μmol)于无水DMF(2mL)中的黄色溶液中添加DIPEA(6.5mg,51μmol),并将澄清的反应溶液在室温下搅拌2小时。通过LCMS监测反应完成。将所得混合物通过反相快速色谱法(0-60％乙腈的TFA水溶液(0.01％))直接纯化,以得到呈白色固体的接头-有效载荷LP1(15mg,63％产率,TFA盐)。ESI m/z:698.8(M/2+H)$^{+}$。^{1}H NMR(400MHz,DMSO$_{d6}$)δ9.99(s,1H),8.80(t,J＝6.8Hz,1H),8.50(d,J＝9.2Hz,1H),8.12(d,J＝7.2Hz,1H),7.87(d,J＝8.8Hz,1H),7.79(d,J＝10.8Hz,1H),7.62-7.58(m,3H),7.42(t,J＝6.0Hz,1H),7.31(s,1H),7.28(d,J＝8.4Hz,2H),6.53(br s,1H),5.98(t,J＝5.2Hz,1H),5.63-5.57(m,1H),5.46-5.37(m,3H),5.21(s,2H),4.93(s,2H),4.63(d,J＝6.4Hz,2H),4.41-4.35(m,1H),4.29-4.21(m,2H),4.02(s,2H),3.87(d,J＝14.4Hz,1H),3.75(d,J＝14.8Hz,1H),3.63-3.58(m,4H),3.50-3.48(m,12H),3.46-3.41(m,2H),3.27-3.24(m,2H),3.23-3.12(m,2H),3.07-2.91(m,2H),2.47-2.45(m,0.5H),2.41-2.33(m,4.5H),2.25-2.04(m,5H),1.99-1.69(m,9H),1.63-1.54(m,3H),1.44-1.33(m,3H),0.88-0.82(m,9H)ppm。(未观察到TFA的质子)。^{19}F NMR(376MHz,DMSO$_{d6}$)δ-74(TFA),-111(Ar-F)ppm。

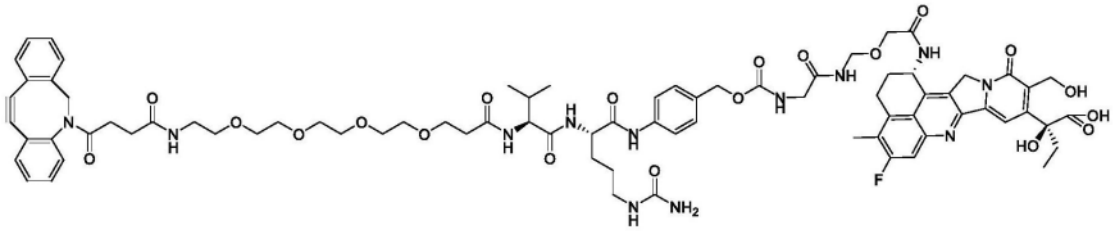
[0836] 实例10D:{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-氮杂三环[10.4.0.0^{4},^{9}]十六碳-1(12),4(9),5,7,13,15-己烯-10-炔-2-基}-4-氧代丁酰胺基)-3,6,9,12-四氧杂十五烷-15-氨基]-3-甲基丁酰胺基]-5-(氨基甲酰基氨基)五酰胺基]苯基}甲基N-({[({[(10S,23S)-10-乙基-18-氟-10-羟基-19-甲基-5,9-二氧代-8-氧代-4,15-二氮杂杂环[14.7.1.0^{2},^{14}.0^{4},^{13}.0^{6},^{11}.0^{20},^{24}]四碳-1,6(11),12,14,16,18,20(24)-庚烯-23基]氨基甲酰基}甲氧基)甲

基]氨基甲酰}甲基)氨基甲酸酯(LP2)

[0837] 

(LP2)

[0838] 按照制备LP1的程序,除了用L2-3取代L1-3之外,在通过反相快速色谱法(碳酸氢铵水溶液(10mM)中的0%-100%甲醇)纯化之后,以内酯产物(LP2,如上图所示)和开环产物(LP2-RO,如下图所示)的混合物形式获得接头-有效载荷LP2(12mg,46%产率)。

[0839] 

(LP2-RO)

[0840] 内酯LP2:HPLC纯度:67%,保留时间:7.41分钟,ESI m/z:507.3(M/3+H)$^+$,760.5(M/2+H)$^+$;开环产物LP2-RO:HPLC纯度:33%,保留时间:6.61分钟,ESI m/z:513.3(M/3+H)$^+$,769.5(M/2+H)$^+$。

[0841] 内酯产物和开环产物混合物^{1}H NMR(400MHz,$DMSO_{d6}$)δ9.99(s,1H),8.80(t,J=6.4Hz,1H),8.50(d,J=8.8Hz,1H),8.12(d,J=7.2Hz,1H),7.87(d,J=8.4Hz,1H),7.80-7.75(m.2H),7.69-7.67(m,1H),7.63-7.58(m,3H),7.51-7.46(m,3H),7.45-7.33(m,3H),7.32-7.26(m,4H),6.53(s,1H),5.98(t,J=6.0Hz,1H),5.63-5.57(m,1H),5.42(s,4H),5.21(s,2H),5.03(d,J=14.0Hz,1H),4.93(s,2H),4.63(d,J=6.8Hz,2H),4.41-4.35(m,1H),4.25-4.21(m,1H),4.02(s,2H),3.62-3.57(m,5H),3.48-3.45(m,12H),3.31-3.28(m,2H),3.23-3.14(m,2H),3.11-3.07(m,2H),3.05-2.98(m,1H),2.96-2.91(m,1H),2.60-2.55(m,1H),2.46-2.44(m,1H),2.39(s,3H),2.35-2.33(m,1H),2.26-2.15(m,3H),2.03-1.94(m,2H),1.88-1.67(m,4H),1.63-1.57(m,1H),1.46-1.33(m,2H),0.88-0.81(m,9H)ppm。^{19}F NMR(376MHz,$DMSO_{d6}$)δ-111ppm。

[0842] 实例11:FGFR2b-喜树碱缀合

[0843] 本实例展示了根据本公开的实施例的与抗FGFR2b抗体或其抗原结合片段的有效载荷的位点特异性缀合的方法。第一步骤是微生物转谷氨酰胺酶(MTG)介导的接头1(L1-B')如双叠氮烷基取代的胺(BL7)或叠氮化物-PEG_3-胺(AL1)与FGFR2b抗体的连接,其中使用过量的胺试剂以避免抗体链的潜在交联。第二步骤通过菌株促进的叠氮化物-炔烃环加成(SPAAC)将炔烃连接的有效载荷接头有效载荷(L2P)与N_3标记的缀合物连接。添加到抗体中的L2P分子的数量取决于缀合位点的数量和L_1内的叠氮化物官能团的数量(n)(AL,n=1;BL,n≥2)。对于具有经酶解糖基化或具有N297D Fc突变并且然后用AL或BL接头官能化的叠氮基的WT Fc结构域的抗体,预期的DAR=2乘以n乘以m,其中n是每个L1接头上的叠氮化物官能团B'的数量,并且m是L2P有效载荷的数量。对于具有N297Q Fc突变的抗体,然后用AL或

BL接头官能化叠氮化物，预期的DAR＝4×(n)×(m)。

[0844] 实例11A:步骤1:制备含有2、4或8个叠氮基的位点特异性叠氮基官能化抗体药物缀合物。

[0845] 将含有N297Q突变或同种型对照抗体的抗FGFR2b人IgG抗体与150摩尔当量叠氮基-PEG3-胺(AL1,MW 218.26g/mol)或双叠氮烷基取代的胺(BL7,MW 325.38g/mL)混合。将所得溶液与转谷氨酰胺酶(25U/mL;1U mTG/mg抗体，德国达姆施塔特的Zedira公司(Zedira,Darmstadt,Germany))混合，得到最终浓度为1-20mg/mL的抗体。将反应混合物在25℃-37℃下温育4-24小时，同时轻轻摇动，同时用ESI-MS监测。完成后，通过尺寸排阻色谱法(SEC)或蛋白A柱色谱法去除过量的胺和mTG。通过UV-Vis、SEC和ESI-MS对缀合物进行表征。与叠氮基接头连接的抗体导致DAR＝4分别与AL1和BL7缀合的质量增加804Da或1232Da。通过SEC的缀合物的单体纯度>99％。

[0846] 实例11B:步骤2:通过1,3-环加成(“点击”)反应在叠氮基官能化抗体与含有接头-有效载荷的炔烃之间制备位点特异性缀合物。

[0847] 通过将在PBS(pH 7.4)中的叠氮基官能化抗体(1-20mg/mL)与溶解于如DMSO或DMA(10mg/mL)等有机溶剂中的≥6摩尔当量的接头-有效载荷在25℃-37℃下一起温育1-48小时使反应混合物含有5％-15％有机溶剂(v/v)，同时轻轻摇动来制备位点特异性抗体药物缀合物。通过ESI-MS监测反应。完成后，通过尺寸排阻色谱法(SEC)去除过量的接头-有效载荷和蛋白质聚集体。将纯化的缀合物浓缩、无菌过滤并通过UV-Vis、SEC和ESI-MS进行表征。通过SEC的缀合物的单体纯度>99％。

[0848] 实例12:ADC缀合:三种方法

[0849] 本公开描绘了使支链接头-有效载荷与抗FGFR2b抗体Q295/297位点连接的三种示例性方法。

[0850] 方法I和II包含针对抗体-药物缀合的两步骤过程。第一步骤是微生物转谷氨酰胺酶(MTG)介导的小分子胺，例如AL1或BL2与mAb-Q位点的连接，其中使用过量的胺试剂以避免抗体链的潜在交联(WO2017/147542，其通过引用整体并入本文)。第二步骤通过例如菌株促进的叠氮化物-炔烃环加成(SPAAC，又名无铜点击化学)将炔烃连接的接头有效载荷(L_2P)与N_3标记的缀合物连接。当反应性基团(RG)是DIBAC或COT部分时，缀合通过[2+3]环加成用叠氮基官能化抗体进行。该过程提供位点特异性和化学计量缀合物。添加到抗体中的L_2P分子的数量取决于缀合位点的数量和L_1内的叠氮化物官能团的数量(n)(例如，对于AL，n＝1;对于BL，n≥2)。

[0851] 方法I是将小分子胺接头L1(例如，AL1)与抗体Q295/297位点缀合，以产生抗体-叠氮基标签(Ab-N3)，所述抗体-叠氮基标签随后与炔烃系线性接头-有效载荷(LL2P)共价反应(例如，通过“点击”环加成)以产生4DAR ADC并与炔烃系分支接头-有效载荷(BL2P)共价反应以产生8DAR ADC。

[0852] 方法II是将小分子分支叠氮基胺(例如，BL2)与抗体Q295/297位点缀合，以产生抗体分支叠氮基标签(Ab-分支-2N3)，所述抗体分支叠氮基标签然后与线性接头-有效载荷共价反应(例如，通过“点击”环加成)以产生8DAR ADC并与炔烃系分支接头-2有效载荷共价反应以产生16DAR ADC，或与分支系-3有效载荷共价反应以产生24DAR ADC。类似地，抗体Q295位点与线性或分支接头-有效载荷的位点特异性ADC缀合可以产生DAR2至DAR12 ADC。

[0853] 在方法III的缀合中,在单个步骤MTG介导的反应中,使用≥20摩尔当量的胺试剂实现了胺分支接头-有效载荷与抗体Q295/297位点的MTG介导的连接。

[0854] 对于具有经酶解糖基化或具有N297D Fc突变并且然后用AL或BL接头官能化的叠氮基的WT Fc结构域的抗体,2Fc上的每个叠氮基标签的预期DAR=2n。对于具有用AL或BL接头进行叠氮基官能化的N297Q Fc突变的抗体,2Fc上的每个叠氮基标签的预期DAR=4n。对于与具有m x有效载荷(P_m)的每个接头-有效载荷缀合的抗体,N297D突变抗体的预期的ADC-DAR=(2n x m)并且N297Q突变抗体的预期的ADC-DAR=(4n x m)。

[0855] 分两步骤制备位点特异性缀合物的一般程序:

[0856] 实例12A:步骤1:制备含有2、4或8个叠氮基的位点特异性叠氮基官能化抗体药物缀合物。

[0857] 将含有BupH缓冲液(pH7.4)中的N297Q突变或N297D突变的糖基化人抗FGFR2b抗体IgG(IgG1、IgG4等)与>=150摩尔当量叠氮基-PEG3-胺(AL1)或双叠氮烷基取代的胺(BL2)混合。将所得溶液与转谷氨酰胺酶(25U/mL;1U mTG/mg抗体,德国达姆施塔特的Zedira公司;或10U/mL;5.5U MTG/mg抗体,Modernist Pantry-ACTIVATI含有来自日本味之素公司的麦芽糊精)混合,得到最终浓度为0.5-20mg/mL的抗体。将反应混合物在25℃-37℃下温育24小时,同时轻轻摇动,同时用ESI-MS监测。完成后,通过尺寸排阻色谱法(SEC)或蛋白A柱色谱法去除过量的胺和mTG。通过UV-Vis、SEC和ESI-MS对缀合物进行表征。与抗体连接的叠氮基接头导致4DAR与AL1和BL2缀合的质量分别增加804Da或1232Da,并且与8DAR抗体-BL2-(叠氮基)$_8$缀合的质量增加2768Da。通过SEC的缀合物的单体纯度>99%。

[0858] 实例12B:步骤2:通过[2+3]点击反应在叠氮基官能化抗体与含有接头-有效载荷的炔烃之间制备位点特异性缀合物。

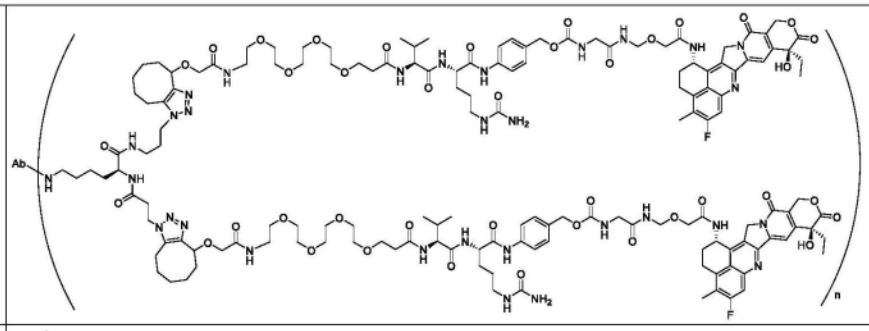
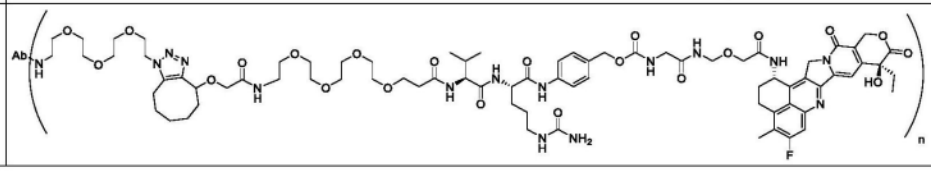
[0859] 通过叠氮基官能化抗体与炔烃官能化礼接头-有效载荷之间的[2+3]叠氮化物-炔烃"点击"反应来制备与人IgG(IgG1、IgG4等)的位点特异性抗体药物缀合物。将在PBS(pH7.4)中的叠氮基官能化抗体(1-20mg/mL)与溶解于如DMSO或DMA(10mg/mL)等有机溶剂中的≥6摩尔当量的接头-有效载荷(LP)在25℃-37℃下一起温育1-48小时使反应混合物含有5%-15%有机溶剂(v/v),同时轻轻摇动。通过ESI-MS监测反应。完成后,通过用BupH(pH7.4)脱盐柱去除过量的LP和有机溶剂,并且通过尺寸排阻色谱法(SEC)去除蛋白质聚集体(如果有的话)。将纯化的缀合物浓缩、无菌过滤并通过UV-Vis、SEC和ESI-MS进行表征。通过SEC的缀合物的单体纯度>99%。

[0860] 实例13:FGFR2b抗体药物缀合物(ADC)对SNU-16胃癌异种移植物的生长的作用

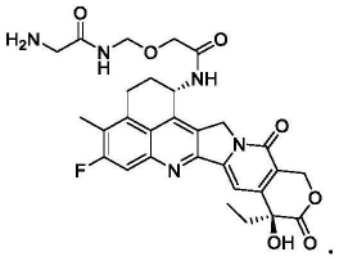
[0861] 为了评估FGFR2b喜树碱ADC对SNU16异种移植物(人胃癌异种移植物)的抗肿瘤活性,将与基质胶(BD生物科学公司)混合的5×10^6个SNU-16细胞(ATCC)皮下植入到雄性BALB/c SCID小鼠(6-8周龄,杰克逊实验室)的侧腹中。在肿瘤达到200-250mm^3的平均体积之后,将小鼠随机分入治疗组进行治疗(n=6只小鼠/组)。喜树碱-LP1和喜树碱-LP2如表13所示。所有ADC以表14中所示的剂量通过皮下注射施用。在第0天,向用抗FGFR2喜树碱-LP1 ADC(DAR8)治疗的小鼠给药;用抗FGFR2喜树碱-LP2 ADC(DAR4)治疗的小鼠是两次给药,第一次在第0天并且然后在第7天再次给药。

[0862] 表13:喜树碱衍生物

[0863]

喜树碱-LP1	
喜树碱-LP2	

[0864] 构建体包括喜树碱类似物：

[0865] 

[0866] 表14：抗体-喜树碱衍生物-接头有效载荷和相应剂量

[0867]

抗体-LP	Fc修饰	缀合位点	DAR	剂量
IC-喜树碱-LP1 ADC	N297Q	Q295、Q297	7.9	10mg/kg
mAb2-喜树碱-LP1 ADC	N297Q	Q295、Q297	7.5	1、3或10mg/kg
mAb1-喜树碱-LP1 ADC	N297Q	Q295、Q297	7.9	1、3或10mg/kg
IC-喜树碱-LP2 ADC	N297Q	Q295、Q297	3.7	3mg/kg
mAb1-喜树碱-LP2 ADC	N297Q	Q295、Q297	3.7	0.3、1或3mg/kg

[0868] 在实验过程中，每周测量两次肿瘤体积。计算每个治疗组的肿瘤生长的平均值(平均值+/-标准差)(从治疗开始到实验结束的肿瘤体积变化)。根据与同种型对照组的比较计算肿瘤生长的百分比降低，并且根据与治疗开始时的肿瘤体积的比较计算实验结束时的肿瘤的消退百分比。表15以及图6和图7中示出了使用具有不同DAR的ADC的两个单独实验的结果。结果证实FGFR2b喜树碱衍生物ADC以剂量依赖性方式诱导SNU-16肿瘤异种移植物的完全消退。

[0869] 表15：抑制SNU-16异种移植物在BALB/c SCID小鼠中的生长

[0870]

抗体（mg/kg）	总有效载荷剂量（ug/kg）	从治疗开始以 mm3 为单位的肿瘤生长（平均值±SD）	平均肿瘤生长减少%	平均肿瘤消退%
实验 1（DAR 8 ADC）				
mAb2 喜树碱-LP1ADC（1 mg/kg）	25	-27.2 ± 89.2	103.3	11.0
mAb2 喜树碱-LP1 ADC（3 mg/kg）	76	-254.4 ± 34.1	131.4	99.1
mAb2 喜树碱-LP1 ADC（10 mg/kg）	254	-259.0 ± 25.8	131.9	100
mAb1 喜树碱-LP1 ADC（1 mg/kg）	26	4.7 ± 181.9	99.4	6.7
mAb1 喜树碱-LP1 ADC（3 mg/kg）	79	-259.8 ± 40.1	132.0	99.8
mAb1 喜树碱-LP1 ADC（10 mg/kg）	264	-260.8 ± 25.0	132.1	100
IC 喜树碱-LP1 ADC（10 mg/kg）	264	579.5 ± 229.3	28.6	-192.9
媒剂对照		811.5 ± 556.1		-291.8
实验 2（DAR 4 ADC）				
mAb1 喜树碱-LP2 ADC（0.3 mg/kg）	4	187.0 ± 117.1	72.5	-74.8
mAb1 喜树碱-LP2 ADC（1 mg/kg）	13	-43.5 ± 91.6	106.4	16.3
mAb1 喜树碱-LP2 ADC（3 mg/kg）	38	-254.2 ± 30.2	137.4	99.7
IC 喜树碱-LP2 ADC（3 mg/kg）	38	679.0 ± 253.1		-259.1

[0871] 实例14:FGFR2b抗体药物缀合物(ADC)对胃癌患者源性异种移植物(GA1224)的生长的影响

[0872] 为了评估FGFR2b喜树碱-LP2 ADC(表13)针对患者源性胃癌异种移植物(GA1224)的抗肿瘤活性,将肿瘤片段(直径为2-3mm)皮下植入到雌性BALB/c裸鼠(6-9周龄,集萃药康生物科技有限公司(GemPharmatech Co.,Ltd))的侧腹中。在肿瘤达到100-150mm^3的平均体积之后,将小鼠随机分入治疗组进行治疗(n=6只小鼠/组)。荷瘤小鼠以表16中所示的剂量通过静脉内注射每周施用一次,持续两周。

[0873] 表16.抗体-喜树碱衍生物-接头有效载荷和相应剂量

[0874]

抗体-LP	Fc修饰	缀合位点	DAR	剂量
IC	N297Q	NA	NA	20mg/kg
mAb1	N297Q	NA	NA	20mg/kg
IC-喜树碱-LP2 ADC	N297Q	Q295、Q297	4.0	20mg/kg
mAb1-喜树碱-LP2 ADC	N297Q	Q295、Q297	4.0	5、10或20mg/kg

[0875] 在实验过程中,每周测量两次肿瘤体积。计算每个治疗组的肿瘤生长的平均值(平

均值+/-标准差)(从治疗开始到实验结束的肿瘤体积变化)。根据与同种型对照抗体组的比较计算肿瘤生长的百分比降低,并且根据与治疗开始时的肿瘤体积的比较计算实验结束时的肿瘤的消退百分比。表17和图10中示出了结果。这些结果证实靶向FGFR2b同种型的DXd ADC以所有测试剂量诱导GA1224 PDX肿瘤的完全消退。

[0876] 表17:抑制GA1224 PDX在BALB/c裸鼠中的生长

[0877]

抗体(mg/kg)	总有效载荷剂量(ug/kg)	从治疗开始以 mm3 为单位的肿瘤生长(平均值± SD)	平均肿瘤生长减少%	平均肿瘤消退%
mAb1-喜树碱-LP2 ADC(5 mg/kg)	68	-124.9 ± 31.2	111.3	100
mAb1-喜树碱-LP2 ADC(10 mg/kg)	136	-124.9 ± 36.5	111.3	100
mAb1-喜树碱-LP2 ADC(20 mg/kg)	272	-125.1 ± 34.8	111.3	100
IC-喜树碱-LP2 ADC(20 mg/kg)	272	1499.7 ± 432.8	-35.9	-1265.4
mAb 1	NA	1627.8 ± 551.9	-47.5	-1300.5
IC	NA	1103.5 ± 289.7	NA	-923.2

[0878] 实例15:抗FGFR2b抗体药物缀合物(ADC)对共接种的SNU-16/SNU-5胃癌异种移植物生长的体内旁观者杀伤效应

[0879] 还评估了抗FGFR2 ADC通过释放FGFR2阳性细胞中的有效载荷,即旁观活性,在FGFR2阴性细胞中诱导肿瘤消退的能力。测试了FGFR2b喜树碱ADC和FGFR2b美登素类化合物ADC抑制FGFR2扩增的SNU-16人胃癌异种移植物(图11)、FGFR2阴性的SNU-5人胃癌异种移植物(图12)或以2:1的比率植入的共接种的SNU-16和SNU-5异种移植物(图13)的肿瘤生长的能力。

[0880] 简而言之,将与基质胶(BD生物科学公司)混合的5×10^6个SNU-16和/或SNU-5癌细胞(ATCC)皮下植入到雄性BALB/c SCID小鼠(6-8周龄,杰克森实验室)的侧腹中。在肿瘤达到200-250mm^3的平均体积之后,将小鼠随机分入治疗组进行治疗(n=6只小鼠/组)。通过皮下注射以表18中所示的剂量向荷瘤小鼠施用单剂量。

[0881] 表18.抗体-喜树碱-接头有效载荷和抗体-美登素类化合物-接头有效载荷以及相应剂量

[0882]

抗体-LP	Fc修饰	缀合位点	DAR	剂量
mAb1-喜树碱-LP2 ADC	N297Q	Q295/Q297	3.7	10mg/kg
mAb1-美登素类化合物1ALP ADC	N297Q	Q295/Q297	3.0	10mg/kg
IC-喜树碱-LP2 ADC	N297Q	Lys	3.7	10mg/kg
IC-美登素类化合物1ALP ADC	N297Q	Lys	3.0	10mg/kg
IC	N297Q	NA	NA	10mg/kg

[0883] 在实验过程中,每周测量两次肿瘤体积。计算每个治疗组的肿瘤生长的平均值(平均值+/-标准差)(从治疗开始到实验结束的肿瘤体积变化)。根据与同种型对照组的比较计算肿瘤生长的百分比降低,并且根据与治疗开始时的肿瘤体积的比较计算实验结束时的肿

瘤的消退百分比。表19中示出了结果。

[0884] 这些结果表明，靶向FGFR2b同种型的喜树碱ADC诱导SNU-16异种移植物(FGFR2b阳性)的完全消退，不抑制SNU-5异种移植物(FGFR2b阴性)的生长，但诱导SNU-16和SNU-5共接种异种移植物的完全消退，表明存在FGFR2阴性SNU-5细胞群体的显著旁观者杀伤。靶向FGFR2b同种型的美登素类化合物ADC诱导SNU-16异种移植物的完全消退，不抑制SNU-5异种移植物的生长，并且仅部分抑制SNU-16和SNU-5共接种异种移植物的生长，表明对于FGFR2b阴性SNU-5细胞群体几乎没有杀伤至没有杀伤。

[0885] 表19：抑制SNU-16和/或SNU-5异种移植物在BALB/c SCID小鼠中的生长

[0886]

抗体（mg/kg）	总有效载荷剂量（ug/kg）	从治疗开始以 mm^3 为单位的肿瘤生长（平均值± SD）	平均肿瘤生长减少%	平均肿瘤消退%
图 11：SNU16（FGFR2b 阳性细胞）				
mAb1-喜树碱-LP2 ADC（10 mg/kg）	130	-158.4 ± 25.4	120.1	98.9
mAb1-美登素类化合物 1ALP ADC（10 mg/kg）	147	-160.7 ± 28.4	120.4	100
IC-喜树碱-LP2 ADC（10 mg/kg）	130	560.2 ± 302.0	29	-363.5
IC-美登素类化合物-1ALP（10 mg/kg）	147	686.0 ± 174.5	13.1	-472.3
IC（10 mg/kg）	NA	789.2 ± 413.5		-493.8
图 12：SNU5（FGFR2b 阴性细胞）				
mAb1-喜树碱-LP2 ADC（10 mg/kg）	130	220.6 ± 103.8	46.9	-164
mAb1-美登素类化合物 1ALP ADC（10 mg/kg）	147	401.6 ± 74.4	3.4	-311.8
IC-喜树碱-LP2 ADC（10 mg/kg）	130	252.1 ± 159.6	39.4	-195.6
IC-美登素类化合物-1ALP（10 mg/kg）	147	395.6 ± 225.0	4.8	-272.7
IC（10 mg/kg）		415.7 ± 160.3		-323.4
图 13：SNU16 和 SNU5 共接种（2:1 比率）				
mAb1-喜树碱-LP2 ADC（10 mg/kg）	130	-140.6 ± 18.5	124.7	91.8
mAb1-美登素类化合物 1ALP ADC（10 mg/kg）	147	181.1 ± 57.0	68.2	-118.3
IC-喜树碱-LP2 ADC（10 mg/kg）	130	291.8 ± 131.3	48.7	-189.8
IC-美登素类化合物-1ALP（10 mg/kg）	147	342.3 ± 101.3	39.9	-222.9
IC（10 mg/kg）		569.4 ± 480.7		-380.5

[0887] 序列表

SEQ ID NO:	序列	描述
1	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTC CAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGT CTGGATTCACCTTCAGTAGCTATGGCATGCACTGGGTC CGCCAGGCTCCAGGCAAGGGACTGGAGTGGGTGGCA GTTATATGGTATGATGGAAGTAATAAATACTATGCAGAC TCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATT CCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAG AGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAG GAAAGCAGCGCGTCCGGGGTTGACTACTGGGGCCAG GGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA	mAb1 重链可变区
2	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWV RQAPGKGLEWVAVIWYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREESSASGVDYWGQG TLVTVSS	mAb1 重链可变区
3	GGATTCACCTTCAGTAGCTATGGC	mAb1 HCDR1
4	GFTFSSYG	mAb1 HCDR1
5	ATATGGTATGATGGAAGTAATAAA	mAb1、mAb2 和 mAb3 HCDR2
6	IWYDGSNK	mAb1、mAb2 和 mAb3 HCDR2
7	GCGAGAGAGGAAAGCAGCGCGTCCGGGGTTGACTAC	mAb1 HCDR3
8	AREESSASGVDY	mAb1 HCDR3
9	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCCT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGC CAGTCAGAGTGTTAGCACCAGGTACTTAGCCTGGTAC CAGCAGAAACGTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCT ATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAG GTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTC ACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGT ATTACTGTCAGGAGTATGGTAGCTCATCGATCACCTTC GGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAA	mAb1 轻链可变区
10	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSTRYLAWYQQ KRGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLE PEDFAVYYCQEYGSSSITFGQGTRLEIK	mAb1 轻链可变区
11	CAGAGTGTTAGCACCAGGTAC	mAb1 LCDR1

[0888]

12	QSVSTRY	mAb1 LCDR1
13	GGTGCATCC	mAb1 LCDR2
14	GAS	mAb1 LCDR2
15	CAGGAGTATGGTAGCTCATCGATCACC	mAb1 LCDR3
16	QEYGSSSIT	mAb1 LCDR3
17	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTC CAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGT CTGGATTCACCTTCAGTAGCTATGGCATGCACTGGGTC CGCCAGGCTCCAGGCAAGGGACTGGAGTGGGTGGCA GTTATATGGTATGATGGAAGTAATAAATACTATGCAGAC TCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATT CCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAG AGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAG GAAAGCAGCGCGTCCGGGGTTGACTACTGGGGCCAG GGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGG GCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAG CACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTC AAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGA ACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCC GGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGC AGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACG AAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCA ACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGTCCAAATATG GTCCCCCATGCCCACCCTGCCCAGCACCTGAGTTCCT GGGGGGACCATCAGTCTTCCTGTTCCCCCCAAAACCC AAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCA CGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCG AGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGT GCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTT CAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTC CTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAG TGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCGTCCTCCATCG AGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAG AGCCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCAGGAGGA GATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTC AAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGG AGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCA CGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTC TACAGCAGGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAG GAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGG CTCTGCACAACCACTACACACAGAAGTCCCTCTCCCT GTCTCTGGGTAAATGA	mAb1 重链

[0889]

18	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWV RQAPGKGLEWVAVIWYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREESSASGVDYWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAP EFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK*	mAb1 重链
19	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCCT TGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGC CAGTCAGAGTGTTAGCACCAGGTACTTAGCCTGGTAC CAGCAGAAACGTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCT ATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAG GTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTC ACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGT ATTACTGTCAGGAGTATGGTAGCTCATCGATCACCTTC GGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAACGAACTGTG GCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGA GCAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTG CTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGT GGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCA GGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCAC CTACAGCCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGC AGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGT CACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGC TTCAACAGGGGAGAGTGTTAG	mAb1 轻链
20	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSTRYLAWYQQ KRGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLE PEDFAVYYCQEYGSSSITFGQGTRLEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC*	mAb1 轻链
21	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTC CAGCCTGGGAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGT CTGGATTCACCTTCAGTAACTATGGCATGCACTGGGTC CGCCAAACTCCAGTCAAGGGACTGGAGTGGGTGACA CTTATATGGTATGATGGAAGTAATAAATACTATACAGAC TCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATT CCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAG ATCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAG GGGAACTGGAACTACGGGCATGCTTTTGATATCTGGG GCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCA	mAb2 重链可变区

[0890]

22	QVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAASGFTFSNYGMHWV RQTPVKGLEWVTLIWYDGSNKYYTDSVKGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRSEDTAVYYCAREGNWNYGHAFDIWG QGTMVTVSS	mAb2 重链可变区
23	GGATTCACCTTCAGTAACTATGGC	mAb2 和 mAb3 HCDR1
24	GFTFSNYG	mAb2 和 mAb3 HCDR1
25	GCGAGAGAGGGGAACTGGAACTACGGGCATGCTTTT GATATC	mAb2 HCDR3
26	AREGNWNYGHAFDI	mAb2 HCDR3
27	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCACCCTGTCTGC ATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCC AGTCAGAATATTGGTAACTGGTTGGCCTGGTATCAGCA GAAACCAGGGAAAGCCCCTAACCTCCTGATTTATAAG GCGTCTACTTTAGAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCA GCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACTCTCACCAT CAGCAGCCTGCAGCCTGATGATTTTGCAACTTATAACT GCCAACAGTATAATAGTTATTCTCCCACTTTTGGCCAG GGGACCAAGCTGGAGATCAAA	mAb2 轻链可变区
28	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQNIGNWLAWYQQ KPGKAPNLLIYKASTLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQ PDDFATYNCQQYNSYSPTFGQGTKLEIK	mAb2 轻链可变区
29	CAGAATATTGGTAACTGG	mAb2 LCDR1
30	QNIGNW	mAb2 LCDR1
31	AAGGCGTCT	mAb2 和 mAb3 LCDR2
32	KAS	mAb2 和 mAb3 LCDR2
33	CAACAGTATAATAGTTATTCTCCCACT	mAb2 LCDR3
34	QQYNSYSPT	mAb2 和 mAb3 LCDR3

[0891]

35	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTC CAGCCTGGGAAGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGT CTGGATTCACCTTCAGTAACTATGGCATGCACTGGGTC CGCCAAACTCCAGTCAAGGGACTGGAGTGGGTGACA CTTATATGGTATGATGGAAGTAATAAATACTATACAGAC TCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATT CCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAG ATCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGAG GGGAACTGGAACTACGGGCATGCTTTTGATATCTGGG GCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCAGCCTCCAC CAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCC AGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGC CTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGT CGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACA CCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCC CTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGG GCACGAAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCC CAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGTCCAA ATATGGTCCCCCATGCCCACCCTGCCCAGCACCTGAGT TCCTGGGGGGACCATCAGTCTTCCTGTTCCCCCCAAA ACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAG GTCACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGAC CCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGG AGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGC AGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCAC CGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTA CAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCGTCCTCC ATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC CGAGAGCCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCAGG AGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCC TGGTCAAAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGA GTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAA GACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTC TTCCTCTACAGCAGGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGT GGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA TGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAGTCCCTC TCCCTGTCTCTGGGTAAATGA	mAb2 重链
36	QVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAASGFTFSNYGMHWV RQTPVKGLEWVTLIWYDGSNKYYTDSVKGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRSEDTAVYYCAREGNWNYGHAFDIWG QGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPP CPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQ EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK*	mAb2 重链

[0892]

37	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCACCCTGTCTGC ATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCC AGTCAGAATATTGGTAACTGGTTGGCCTGGTATCAGCA GAAACCAGGGAAAGCCCCTAACCTCCTGATTTATAAG GCGTCTACTTTAGAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCA GCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACTCTCACCAT CAGCAGCCTGCAGCCTGATGATTTTGCAACTTATAACT GCCAACAGTATAATAGTTATTCTCCCACTTTTGGCCAG GGGACCAAGCTGGAGATCAAACGAACTGTGGCTGCA CCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTT GAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATA ACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGT GGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGT GTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGC CTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTAC GAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATC AGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACA GGGGAGAGTGTTAG	mAb2 轻链
38	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQNIGNWLAWYQQ KPGKAPNLLIYKASTLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQ PDDFATYNCQQYNSYSPTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC*	mAb2 轻链
39	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTC CAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGT CTGGATTCACCTTCAGTAACTATGGCATGCACTGGGTC CGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCA CTTATATGGTATGATGGAAGTAATAAATACTATGCAGAC TCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATT CCAAGAACACGCTTTTTCTGCAAATGAACAGCCTGAG AGCCGATGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGCGAGAG ATGGAGAGCAGCTCGGGCTTCGATCTCTGGGGCCGTG GCACCCTGGTCACTGTCTCCTCA	mAb3 重链可变区
40	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWV RQAPGKGLEWVALIWYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNS KNTLFLQMNSLRADDTAVYYCAREMESSSGFDLWGRG TLVTVSS	mAb3 重链可变区
41	GCGCGAGAGATGGAGAGCAGCTCGGGCTTCGATCTC	mAb3 HCDR3
42	AREMESSSGFDL	mAb3 HCDR3

[0893]

43	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCACCCTGTCTGC ATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCC AGTCAGAGTATTAGTAGGTGGTTGGCCTGGTATCAGC AGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATAA GGCGTCTAGTTTACAAAGTGGGGTCCCTTCAAGGTTC AGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACTCTCACCA TCAGCAGCCTGCAGCCTGATGATTTTGCAACTTATTAC TGCCAACAGTATAATAGTTATTCTCCGACGTTCGGCCA AGGGACCAAGGTGGAAATCAAA	mAb3 轻链可变区
44	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISRWLAWYQQK PGKAPKLLIYKASSLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQP DDFATYYCQQYNSYSPTFGQGTKVEIK	mAb3 轻链可变区
45	CAGAGTATTAGTAGGTGG	mAb3 LCDR1
46	QSISRW	mAb3 LCDR1
47	CAACAGTATAATAGTTATTCTCCGACG	mAb3 LCDR3

[0894]

48	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTC CAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCGT CTGGATTCACCTTCAGTAACTATGGCATGCACTGGGTC CGCCAGGCTCCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCA CTTATATGGTATGATGGAAGTAATAAATACTATGCAGAC TCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATT CCAAGAACACGCTTTTTCTGCAAATGAACAGCCTGAG AGCCGATGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGCGAGAG ATGGAGAGCAGCTCGGGCTTCGATCTCTGGGGCCGTG GCACCCTGGTCACTGTCTCCTCAGCCTCCACCAAGGG CCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGC ACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCA AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAA CTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCG GCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCA GCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGA AGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCCAGCAA CACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGTCCAAATATGGT CCCCCATGCCCACCCTGCCCAGCACCTGAGTTCCTGG GGGGACCATCAGTCTTCCTGTTCCCCCCAAAACCCAA GGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACG TGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGAG GTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGC ATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCA ACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCT GCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTG CAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCGTCCTCCATCGAG AAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAG CCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCAGGAGGAGA TGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCA AAGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGA GAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCAC GCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCT ACAGCAGGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGG AGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCT CTGCACAACCACTACACACAGAAGTCCCTCTCCCTGT CTCTGGGTAAATGA	mAb3 重链
49	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWV RQAPGKGLEWVALIWYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNS KNTLFLQMNSLRADDTAVYYCAREMESSSGFDLWGRG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAP EFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK*	mAb3 重链

[0895]

50	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCACCCTGTCTGC ATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCC AGTCAGAGTATTAGTAGGTGGTTGGCCTGGTATCAGC AGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATAA GGCGTCTAGTTTACAAAGTGGGGTCCCTTCAAGGTTC AGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACTCTCACCA TCAGCAGCCTGCAGCCTGATGATTTTGCAACTTATTAC TGCCAACAGTATAATAGTTATTCTCCGACGTTCGGCCA AGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGAACTGTGGCTGC ACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGT TGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAAT AACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGG TGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAG TGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAG CCTCAGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTA CGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCAT CAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAAC AGGGGAGAGTGTTAG	mAb3 轻链
51	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISRWLAWYQQK PGKAPKLLIYKASSLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQP DDFATYYCQQYNSYSPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC*	mAb3 轻链
52	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWV RQAPGKGLEWVAVIWYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREESSASGVDYWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAP EFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFQSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK*	mAb1 具有 N297Q 修饰的重链
53	QVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAASGFTFSNYGMHWV RQTPVKGLEWVTLIWYDGSNKYYTDSVKGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRSEDTAVYYCAREGNWNYGHAFDIWG QGTMVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPP CPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQ EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFQSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK*	mAb2 具有 N297Q 修饰的重链

[0896]

54	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWV RQAPGKGLEWVALIWYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNS KNTLFLQMNSLRADDTAVYYCAREMESSSGFDLWGRG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAP EFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFQSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK*	mAb3 具有 N297Q 修饰的重链
55	MVSWGRFICLVVVTMATLSLARPSFSLVEDTTLEPEEPPT KYQISQPEVYVAAPGESLEVRCLLKDAAVISWTKDGVH LGPNNRTVLIGEYLQIKGATPRDSGLYACTASRTVDSET WYFMVNVTDAISSGDDEDDTDGAEDFVSENSNNKRAP YWTNTEKMEKRLHAVPAANTVKFRCPAGGNPMPTMR WLKNGKEFKQEHRIGGYKVRNQHWSLIMESVVPSDKG NYTCVVENEYGSINHTYHLDVVERSPHRPILQAGLPAN ASTVVGGDVEFVCKVYSDAQPHIQWIKHVEKNGSKYG PDGLPYLKVLKHSGINSSNAEVLALFNVTEADAGEYICK VSNYIGQANQSAWLTVLPKQQAPGREKEITASPDYLEIAI YCIGVFLIACMVVTVILCRMKNTTKKPDFSSQPAVHKLT KRIPLRRQVTVSAESSSSMNSNTPLVRITTRLSSTADTPM LAGVSEYELPEDPKWEFPRDKLTLGKPLGEGCFGQVVM AEAVGIDKDKPKEAVTVAVKMLKDDATEKDLSDLVSEM EMMKMIGKHKNIINLLGACTQDGPLYVIVEYASKGNLR EYLRARRPPGMEYSYDINRVPEEQMTFKDLVSCTYQLA RGMEYLASQKCIHRDLAARNVLVTENNVMKIADFGLA RDINNIDYYKKTTNGRLPVKWMAPEALFDRVYTHQSD VWSFGVLMWEIFTLGGSPYPGIPVEELFKLLKEGHRMD KPANCTNELYMMMRDCWHAVPSQRPTFKQLVEDLDRIL TLTTNEEYLDLSQPLEQYSPSYPDTRSSCSSGDDSVFSPD PMPYEPCLPQYPHINGSVKT	FGFR2b NCBI 登录号 NP_075259.4

[0897]

56	RPSFSLVEDTTLEPEEPPTKYQISQPEVYVAAPGESLEVR CLLKDAAVISWTKDGVHLGPNNRTVLIGEYLQIKGATPR DSGLYACTASRTVDSETWYFMVNVTDAISSGDDEDDTD GAEDFVSENSNNKRAPYWTNTEKMEKRLHAVPAANTV KFRCPAGGNPMPTMRWLKNGKEFKQEHRIGGYKVRNQ HWSLIMESVVPSDKGNYTCVVENEYGSINHTYHLDVVE RSPHRPILQAGLPANASTVVGGDVEFVCKVYSDAQPHIQ WIKHVEKNGSKYGPDGLPYLKVLKHSGINSSNAEVLAL FNVTEADAGEYICKVSNYIGQANQSAWLTVLPKQQAPG REKEITASPDYLEIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFI FPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNN VEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEF KCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEM TKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTE PVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGL HNHHTTKSFSRTPGK	重组人FGFR2b同种型的细胞外结构域（登录号NP_075259.4）与小鼠Fc结构域(登录号P01863）融合
57	RPSFSLVEDTTLEPEEPPTKYQISQPEVYVAAPGESLEVR CLLKDAAVISWTKDGVHLGPNNRTVLIGEYLQIKGATPR DSGLYACTASRTVDSETWYFMVNVTDAISSGDDEDDTD GAEDFVSENSNNKRAPYWTNTEKMEKRLHAVPAANTV KFRCPAGGNPMPTMRWLKNGKEFKQEHRIGGYKVRNQ HWSLIMESVVPSDKGNYTCVVENEYGSINHTYHLDVVE RSPHRPILQAGLPANASTVVGGDVEFVCKVYSDAQPHIQ WIKHVEKNGSKYGPDGLPYLKVLKHSGINSSNAEVLAL FNVTEADAGEYICKVSNYIGQANQSAWLTVLPKQQAPG REKEITASPDYLEIEQKLISEEDLGGEQKLISEEDLHHHH HH	hFGFR2b-MMH
58	RPSFSLVEDTTLEPEEPPTKYQISQPEVYVAAPGESLEVR CLLKDAAVISWTKDGVHLGPNNRTVLIGEYLQIKGATPR DSGLYACTASRTVDSETWYFMVNVTDAISSGDDEDDTD GAEDFVSENSNNKRAPYWTNTEKMEKRLHAVPAANTV KFRCPAGGNPMPTMRWLKNGKEFKQEHRIGGYKVRNQ HWSLIMESVVPSDKGNYTCVVENEYGSINHTYHLDVVE RSPHRPILQAGLPANASTVVGGDVEFVCKVYSDAQPHIQ WIKHVEKNGSKYGPDGLPYLKVLKAAGVNTTDKEIEVL YIRNVTFEDAGEYTCLAGNSIGISFHSAWLTVLPAPGREK EITASPDYLEEQKLISEEDLGGEQKLISEEDLHHHHHH	hFGFR2c-MMH

[0898] 本发明在范围上不受本文所描述的具体实施例的限制。实际上，除了本文中所描述的那些内容之外，本领域的技术人员根据前述说明和附图将显而易知本发明的各种修改。这样的改变意图落入所附权利要求的范围内。

序列表

<110> 瑞泽恩制药公司(Regeneron Pharmaceuticals, Inc.)
DALY, Christopher
DELFINO, Frank
HAN, Amy
NITTOLI, Thomas
ZHANG, Li

<120> 抗FGFR2抗体和其使用方法
<130> 10680WO01
<140> TBD
<141> 2021-10-21
<150> 63/104,377
<151> 2020-10-22
<150> 63/220,948
<151> 2021-07-12
<150> 63/253,858
<151> 2021-10-08
<160> 58
<170> PatentIn 3.5版
<210> 1
<211> 357
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 1

caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg gactggagtg ggtggcagtt atatggtatg atggaagtaa taaatactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagaggaa 300
agcagcgcgt ccggggttga ctactggggc cagggaaccc tggtcaccgt ctcctca 357

<210> 2
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成

<400> 2

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Glu Glu Ser Ser Ala Ser Gly Val Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 3
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 3
ggattcacct tcagtagcta tggc 24

<210> 4
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 4
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly
1 5

<210> 5
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>

<223> 合成
<400> 5
atatggtatg atggaagtaa taaa 24
<210> 6
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 6
Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys
1 5
<210> 7
<211> 36
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 7
gcgagagagg aaagcagcgc gtccggggtt gactac 36
<210> 8
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 8
Ala Arg Glu Glu Ser Ser Ala Ser Gly Val Asp Tyr
1 5 10
<210> 9
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 9
gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtccttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc accaggtact tagcctggta ccagcagaaa 120
cgtggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag gagtatggta gctcatcgat caccttcggc 300
caagggacac gactggagat taaa 324

<210> 10
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 10

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Thr Arg
20 25 30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Arg Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Glu Tyr Gly Ser Ser Ser
85 90 95
Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 11
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 11

cagagtgtta gcaccaggta c 21

<210> 12
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 12

Gln Ser Val Ser Thr Arg Tyr
1 5
<210> 13
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 13
ggtgcatcc 9
<210> 14
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 14
Gly Ala Ser
1
<210> 15
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 15
caggagtatg gtagctcatc gatcacc 27
<210> 16
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 16
Gln Glu Tyr Gly Ser Ser Ser Ile Thr
1 5
<210> 17
<211> 1341
<212> DNA

<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 17

caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg gactggagtg ggtggcagtt atatggtatg atggaagtaa taaatactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagaggaa 300
agcagcgcgt ccggggttga ctactggggc cagggaaccc tggtcaccgt ctcctcagcc 360
tccaccaagg gcccatcggt cttccccctg gcgccctgct ccaggagcac ctccgagagc 420
acagccgccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 480
aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttcccgg ctgtcctaca gtcctcagga 540
ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttgggcac gaagacctac 600
acctgcaacg tagatcacaa gcccagcaac accaaggtgg acaagagagt tgagtccaaa 660
tatggtcccc catgcccacc ctgcccagca cctgagttcc tgggggggacc atcagtcttc 720
ctgttccccc caaaacccaa ggacactctc atgatctccc ggacccctga ggtcacgtgc 780
gtggtggtgg acgtgagcca ggaagacccc gaggtccagt tcaactggta cgtggatggc 840
gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccg cgggaggagc agttcaacag cacgtaccgt 900
gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga acggcaagga gtacaagtgc 960
aaggtctcca acaaaggcct cccgtcctcc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg 1020
cagccccgag agccacaggt gtacaccctg cccccatccc aggaggagat gaccaagaac 1080
caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctacccca gcgacatcgc cgtggagtgg 1140
gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacgc ctcccgtgct ggactccgac 1200
ggctccttct tcctctacag caggctcacc gtggacaaga gcaggtggca ggaggggaat 1260
gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacaca gaagtccctc 1320
tccctgtctc tgggtaaatg a 1341

<210> 18
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 18

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Glu Glu Ser Ser Ala Ser Gly Val Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro

195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro

210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe

225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro

245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val

260 265 270

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr

275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val

290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys

305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser

325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro

340 345 350

Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415
Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 19
<211> 648
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 19

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtccttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc accaggtact tagcctggta ccagcagaaa 120
cgtggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 180
gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag gagtatggta gctcatcgat caccttcggc 300
caagggacac gactggagat taaacgaact gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 360
ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 420
tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc 480
caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg 540
acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag 600
ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgttag 648

<210> 20
<211> 215
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 20

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Thr Arg
20 25 30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Arg Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Glu Tyr Gly Ser Ser Ser
85 90 95
Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110
Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125
Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140
Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160
Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175
Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190
Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205
Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 21
<211> 363
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 21

caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaagtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt aactatggca tgcactgggt ccgccaaact 120
ccagtcaagg gactggagtg ggtgacactt atatggtatg atggaagtaa taaatactat 180
acagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag atccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagagggg 300
aactggaact acgggcatgc ttttgatatc tggggccaag ggacaatggt caccgtctct 360

tca 363

<210> 22
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 22

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Lys
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Thr Pro Val Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Thr Leu Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Thr Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Glu Gly Asn Trp Asn Tyr Gly His Ala Phe Asp Ile Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 23
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 23

ggattcacct tcagtaacta tggc 24

<210> 24
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 24

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Gly
1 5
<210> 25
<211> 42
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 25
gcgagagagg ggaactggaa ctacgggcat gcttttgata tc 42
<210> 26
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 26
Ala Arg Glu Gly Asn Trp Asn Tyr Gly His Ala Phe Asp Ile
1 5 10
<210> 27
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 27
gacatccaga tgacccagtc tccttccacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggccagtca gaatattggt aactggttgg cctggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaacctcct gatttataag gcgtctactt tagaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gatgattttg caacttataa ctgccaacag tataatagtt attctcccac ttttggccag 300
gggaccaagc tggagatcaa a 321
<210> 28
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 28

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asn Ile Gly Asn Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Asn Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Pro
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 29
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 29
cagaatattg gtaactgg 18

<210> 30
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 30
Gln Asn Ile Gly Asn Trp
1 5

<210> 31
<211> 9
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 31
aaggcgtct 9

<210> 32
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 32
Lys Ala Ser
1
<210> 33
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 33
caacagtata atagttattc tcccact 27
<210> 34
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 34
Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Pro Thr
1 5
<210> 35
<211> 1347
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 35
caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaagtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt aactatggca tgcactgggt ccgccaaact 120
ccagtcaagg gactggagtg ggtgacactt atatggtatg atggaagtaa taaatactat 180
acagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag atccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagagggg 300
aactggaact acgggcatgc ttttgatatc tggggccaag ggacaatggt caccgtctct 360

tcagcctcca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcgc cctgctccag gagcacctcc 420
gagagcacag ccgccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 480
tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 540
tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacgaag 600
acctacacct gcaacgtaga tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gagagttgag 660
tccaaatatg gtcccccatg cccaccctgc ccagcacctg agttcctggg gggaccatca 720
gtcttcctgt tcccccccaaa acccaaggac actctcatga tctcccggac ccctgaggtc 780
acgtgcgtgg tggtggacgt gagccaggaa gaccccgagg tccagttcaa ctggtacgtg 840
gatggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccgcggg aggagcagtt caacagcacg 900
taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg caccaggact ggctgaacgg caaggagtac 960
aagtgcaagg tctccaacaa aggcctcccg tcctccatcg agaaaaccat ctccaaagcc 1020
aaagggcagc cccgagagcc acaggtgtac accctgcccc catcccagga ggagatgacc 1080
aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct accccagcga catcgccgtg 1140
gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac 1200
tccgacggct ccttcttcct ctacagcagg ctcaccgtgg acaagagcag gtggcaggag 1260
gggaatgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggctctgc acaaccacta cacacagaag 1320
tccctctccc tgtctctggg taaatga 1347

<210> 36
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 36

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Lys
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Thr Pro Val Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Thr Leu Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Thr Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Glu Gly Asn Trp Asn Tyr Gly His Ala Phe Asp Ile Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser

115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala

130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val

145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala

165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val

180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His

195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly

210 215 220

Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser

225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg

245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro

260 265 270

Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala

275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val

290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr

305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr

325 330 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu

340 345 350

Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys

355 360 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser

370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp

385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser

405 410 415

Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala

420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 37
<211> 645
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 37

gacatccaga tgacccagtc tccttccacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggccagtca gaatattggt aactggttgg cctggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaacctcct gatttataag gcgtctactt tagaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gatgattttg caacttataa ctgccaacag tataatagtt attctcccac ttttggccag 300
gggaccaagc tggagatcaa acgaactgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360
tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420
cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gttag 645

<210> 38
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 38

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asn Ile Gly Asn Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Lys Ala Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Asn Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 39
<211> 357
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 39

caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt aactatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcactt atatggtatg atggaagtaa taaatactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgcttttt 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgatgac acggctgtgt attactgtgc gcgagagatg 300
gagagcagct cgggcttcga tctctggggc cgtggcaccc tggtcactgt ctcctca 357

<210> 40
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 40

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr

20 25 30

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Leu Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Glu Met Glu Ser Ser Ser Gly Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 41
<211> 36
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 41
gcgcgagaga tggagagcag ctcgggcttc gatctc 36

<210> 42
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 42
Ala Arg Glu Met Glu Ser Ser Ser Gly Phe Asp Leu
1 5 10

<210> 43
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 43
gacatccaga tgacccagtc tccttccacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggccagtca gagtattagt aggtggttgg cctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctataag gcgtctagtt tacaaagtgg ggtcccttca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gatgattttg caacttatta ctgccaacag tataatagtt attctccgac gttcggccaa 300
gggaccaagg tggaaatcaa a 321

<210> 44
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 44

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Arg Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Lys Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Pro
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 45
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 45

cagagtatta gtaggtgg 18

<210> 46
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成

<400> 46
Gln Ser Ile Ser Arg Trp
1 5
<210> 47
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 47
caacagtata atagttattc tccgacg 27
<210> 48
<211> 1341
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 48
caggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt aactatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcactt atatggtatg atggaagtaa taaatactat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgcttttt 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgatgac acggctgtgt attactgtgc gcgagagatg 300
gagagcagct cgggcttcga tctctggggc cgtggcaccc tggtcactgt ctcctcagcc 360
tccaccaagg gcccatcggt cttccccctg gcgccctgct ccaggagcac ctccgagagc 420
acagccgccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 480
aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttcccgg ctgtcctaca gtcctcagga 540
ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttgggcac gaagacctac 600
acctgcaacg tagatcacaa gcccagcaac accaaggtgg acaagagagt tgagtccaaa 660
tatggtcccc catgcccacc ctgcccagca cctgagttcc tgggggggacc atcagtcttc 720
ctgttccccc caaaacccaa ggacactctc atgatctccc ggaccctga ggtcacgtgc 780
gtggtggtgg acgtgagcca ggaagacccc gaggtccagt tcaactggta cgtggatggc 840
gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccg cgggaggagc agttcaacag cacgtaccgt 900
gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga acggcaagga gtacaagtgc 960
aaggtctcca acaaaggcct cccgtcctcc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg 1020
cagccccgag agccacaggt gtacaccctg cccccatccc aggaggagat gaccaagaac 1080
caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctacccca gcgacatcgc cgtggagtgg 1140
gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacgc ctcccgtgct ggactccgac 1200
ggctccttct tcctctacag caggctcacc gtggacaaga gcaggtggca ggaggggaat 1260

gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacaca gaagtccctc 1320
tccctgtctc tgggtaaatg a 1341

<210> 49
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 49

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Leu Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Glu Met Glu Ser Ser Ser Gly Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125
Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
130 135 140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190
Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
210 215 220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270
Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320
Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350
Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415
Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 50
<211> 645
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 50

gacatccaga tgacccagtc tccttccacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggccagtca gagtattagt aggtggttgg cctggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctataag gcgtctagtt tacaaagtgg ggtcccttca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gatgattttg caacttatta ctgccaacag tataatagtt attctccgac gttcggccaa 300
gggaccaagg tggaaatcaa acgaactgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360

tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420
cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gttag 645

<210> 51
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 51

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Arg Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Lys Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Pro
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 52
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 52

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Glu Glu Ser Ser Ala Ser Gly Val Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125
Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
130 135 140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190
Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
210 215 220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro

245 250 255
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270
Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Gln Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320
Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350
Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415
Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 53
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 53

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Lys
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Thr Pro Val Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Thr Leu Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Thr Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Glu Gly Asn Trp Asn Tyr Gly His Ala Phe Asp Ile Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125
Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
130 135 140
Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160
Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175
Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190
Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
195 200 205
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly
210 215 220
Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser
225 230 235 240
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro
260 265 270
Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Gln Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr
325 330 335
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340 345 350
Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415
Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 54
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 54

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Leu Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Phe
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Glu Met Glu Ser Ser Ser Gly Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125
Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
130 135 140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190
Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
210 215 220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270
Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Gln Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320
Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350
Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415
Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 55
<211> 822
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>

<223> 合成

<400> 55

Met Val Ser Trp Gly Arg Phe Ile Cys Leu Val Val Val Thr Met Ala
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Ala Arg Pro Ser Phe Ser Leu Val Glu Asp Thr Thr
20 25 30
Leu Glu Pro Glu Glu Pro Pro Thr Lys Tyr Gln Ile Ser Gln Pro Glu
35 40 45
Val Tyr Val Ala Ala Pro Gly Glu Ser Leu Glu Val Arg Cys Leu Leu
50 55 60
Lys Asp Ala Ala Val Ile Ser Trp Thr Lys Asp Gly Val His Leu Gly
65 70 75 80
Pro Asn Asn Arg Thr Val Leu Ile Gly Glu Tyr Leu Gln Ile Lys Gly
85 90 95
Ala Thr Pro Arg Asp Ser Gly Leu Tyr Ala Cys Thr Ala Ser Arg Thr
100 105 110
Val Asp Ser Glu Thr Trp Tyr Phe Met Val Asn Val Thr Asp Ala Ile
115 120 125
Ser Ser Gly Asp Asp Glu Asp Asp Thr Asp Gly Ala Glu Asp Phe Val
130 135 140
Ser Glu Asn Ser Asn Asn Lys Arg Ala Pro Tyr Trp Thr Asn Thr Glu
145 150 155 160
Lys Met Glu Lys Arg Leu His Ala Val Pro Ala Ala Asn Thr Val Lys
165 170 175
Phe Arg Cys Pro Ala Gly Gly Asn Pro Met Pro Thr Met Arg Trp Leu
180 185 190
Lys Asn Gly Lys Glu Phe Lys Gln Glu His Arg Ile Gly Gly Tyr Lys
195 200 205
Val Arg Asn Gln His Trp Ser Leu Ile Met Glu Ser Val Val Pro Ser
210 215 220
Asp Lys Gly Asn Tyr Thr Cys Val Val Glu Asn Glu Tyr Gly Ser Ile
225 230 235 240
Asn His Thr Tyr His Leu Asp Val Val Glu Arg Ser Pro His Arg Pro
245 250 255
Ile Leu Gln Ala Gly Leu Pro Ala Asn Ala Ser Thr Val Val Gly Gly
260 265 270
Asp Val Glu Phe Val Cys Lys Val Tyr Ser Asp Ala Gln Pro His Ile
275 280 285
Gln Trp Ile Lys His Val Glu Lys Asn Gly Ser Lys Tyr Gly Pro Asp

290 295 300
Gly Leu Pro Tyr Leu Lys Val Leu Lys His Ser Gly Ile Asn Ser Ser
305 310 315 320
Asn Ala Glu Val Leu Ala Leu Phe Asn Val Thr Glu Ala Asp Ala Gly
325 330 335
Glu Tyr Ile Cys Lys Val Ser Asn Tyr Ile Gly Gln Ala Asn Gln Ser
340 345 350
Ala Trp Leu Thr Val Leu Pro Lys Gln Gln Ala Pro Gly Arg Glu Lys
355 360 365
Glu Ile Thr Ala Ser Pro Asp Tyr Leu Glu Ile Ala Ile Tyr Cys Ile
370 375 380
Gly Val Phe Leu Ile Ala Cys Met Val Val Thr Val Ile Leu Cys Arg
385 390 395 400
Met Lys Asn Thr Thr Lys Lys Pro Asp Phe Ser Ser Gln Pro Ala Val
405 410 415
His Lys Leu Thr Lys Arg Ile Pro Leu Arg Arg Gln Val Thr Val Ser
420 425 430
Ala Glu Ser Ser Ser Ser Met Asn Ser Asn Thr Pro Leu Val Arg Ile
435 440 445
Thr Thr Arg Leu Ser Ser Thr Ala Asp Thr Pro Met Leu Ala Gly Val
450 455 460
Ser Glu Tyr Glu Leu Pro Glu Asp Pro Lys Trp Glu Phe Pro Arg Asp
465 470 475 480
Lys Leu Thr Leu Gly Lys Pro Leu Gly Glu Gly Cys Phe Gly Gln Val
485 490 495
Val Met Ala Glu Ala Val Gly Ile Asp Lys Asp Lys Pro Lys Glu Ala
500 505 510
Val Thr Val Ala Val Lys Met Leu Lys Asp Asp Ala Thr Glu Lys Asp
515 520 525
Leu Ser Asp Leu Val Ser Glu Met Glu Met Met Lys Met Ile Gly Lys
530 535 540
His Lys Asn Ile Ile Asn Leu Leu Gly Ala Cys Thr Gln Asp Gly Pro
545 550 555 560
Leu Tyr Val Ile Val Glu Tyr Ala Ser Lys Gly Asn Leu Arg Glu Tyr
565 570 575
Leu Arg Ala Arg Arg Pro Pro Gly Met Glu Tyr Ser Tyr Asp Ile Asn
580 585 590
Arg Val Pro Glu Glu Gln Met Thr Phe Lys Asp Leu Val Ser Cys Thr
595 600 605

Tyr Gln Leu Ala Arg Gly Met Glu Tyr Leu Ala Ser Gln Lys Cys Ile
610 615 620
His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Val Leu Val Thr Glu Asn Asn Val
625 630 635 640
Met Lys Ile Ala Asp Phe Gly Leu Ala Arg Asp Ile Asn Asn Ile Asp
645 650 655
Tyr Tyr Lys Lys Thr Thr Asn Gly Arg Leu Pro Val Lys Trp Met Ala
660 665 670
Pro Glu Ala Leu Phe Asp Arg Val Tyr Thr His Gln Ser Asp Val Trp
675 680 685
Ser Phe Gly Val Leu Met Trp Glu Ile Phe Thr Leu Gly Gly Ser Pro
690 695 700
Tyr Pro Gly Ile Pro Val Glu Glu Leu Phe Lys Leu Leu Lys Glu Gly
705 710 715 720
His Arg Met Asp Lys Pro Ala Asn Cys Thr Asn Glu Leu Tyr Met Met
725 730 735
Met Arg Asp Cys Trp His Ala Val Pro Ser Gln Arg Pro Thr Phe Lys
740 745 750
Gln Leu Val Glu Asp Leu Asp Arg Ile Leu Thr Leu Thr Thr Asn Glu
755 760 765
Glu Tyr Leu Asp Leu Ser Gln Pro Leu Glu Gln Tyr Ser Pro Ser Tyr
770 775 780
Pro Asp Thr Arg Ser Ser Cys Ser Ser Gly Asp Asp Ser Val Phe Ser
785 790 795 800
Pro Asp Pro Met Pro Tyr Glu Pro Cys Leu Pro Gln Tyr Pro His Ile
805 810 815
Asn Gly Ser Val Lys Thr
820

<210> 56
<211> 591
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 56

Arg Pro Ser Phe Ser Leu Val Glu Asp Thr Thr Leu Glu Pro Glu Glu
1 5 10 15
Pro Pro Thr Lys Tyr Gln Ile Ser Gln Pro Glu Val Tyr Val Ala Ala
20 25 30

Pro Gly Glu Ser Leu Glu Val Arg Cys Leu Leu Lys Asp Ala Ala Val
35 40 45
Ile Ser Trp Thr Lys Asp Gly Val His Leu Gly Pro Asn Asn Arg Thr
50 55 60
Val Leu Ile Gly Glu Tyr Leu Gln Ile Lys Gly Ala Thr Pro Arg Asp
65 70 75 80
Ser Gly Leu Tyr Ala Cys Thr Ala Ser Arg Thr Val Asp Ser Glu Thr
85 90 95
Trp Tyr Phe Met Val Asn Val Thr Asp Ala Ile Ser Ser Gly Asp Asp
100 105 110
Glu Asp Asp Thr Asp Gly Ala Glu Asp Phe Val Ser Glu Asn Ser Asn
115 120 125
Asn Lys Arg Ala Pro Tyr Trp Thr Asn Thr Glu Lys Met Glu Lys Arg
130 135 140
Leu His Ala Val Pro Ala Ala Asn Thr Val Lys Phe Arg Cys Pro Ala
145 150 155 160
Gly Gly Asn Pro Met Pro Thr Met Arg Trp Leu Lys Asn Gly Lys Glu
165 170 175
Phe Lys Gln Glu His Arg Ile Gly Gly Tyr Lys Val Arg Asn Gln His
180 185 190
Trp Ser Leu Ile Met Glu Ser Val Val Pro Ser Asp Lys Gly Asn Tyr
195 200 205
Thr Cys Val Val Glu Asn Glu Tyr Gly Ser Ile Asn His Thr Tyr His
210 215 220
Leu Asp Val Val Glu Arg Ser Pro His Arg Pro Ile Leu Gln Ala Gly
225 230 235 240
Leu Pro Ala Asn Ala Ser Thr Val Val Gly Gly Asp Val Glu Phe Val
245 250 255
Cys Lys Val Tyr Ser Asp Ala Gln Pro His Ile Gln Trp Ile Lys His
260 265 270
Val Glu Lys Asn Gly Ser Lys Tyr Gly Pro Asp Gly Leu Pro Tyr Leu
275 280 285
Lys Val Leu Lys His Ser Gly Ile Asn Ser Ser Asn Ala Glu Val Leu
290 295 300
Ala Leu Phe Asn Val Thr Glu Ala Asp Ala Gly Glu Tyr Ile Cys Lys
305 310 315 320
Val Ser Asn Tyr Ile Gly Gln Ala Asn Gln Ser Ala Trp Leu Thr Val
325 330 335
Leu Pro Lys Gln Gln Ala Pro Gly Arg Glu Lys Glu Ile Thr Ala Ser

340 345 350

Pro Asp Tyr Leu Glu Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys
355 360 365

Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
370 375 380

Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser
385 390 395 400

Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp
405 410 415

Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln
420 425 430

Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser
435 440 445

Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys
450 455 460

Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile
465 470 475 480

Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro
485 490 495

Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met
500 505 510

Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn
515 520 525

Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser
530 535 540

Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn
545 550 555 560

Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu
565 570 575

His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
580 585 590

<210> 57

<211> 386

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成

<400> 57

Arg Pro Ser Phe Ser Leu Val Glu Asp Thr Thr Leu Glu Pro Glu Glu

1 5 10 15
Pro Pro Thr Lys Tyr Gln Ile Ser Gln Pro Glu Val Tyr Val Ala Ala
20 25 30
Pro Gly Glu Ser Leu Glu Val Arg Cys Leu Leu Lys Asp Ala Ala Val
35 40 45
Ile Ser Trp Thr Lys Asp Gly Val His Leu Gly Pro Asn Asn Arg Thr
50 55 60
Val Leu Ile Gly Glu Tyr Leu Gln Ile Lys Gly Ala Thr Pro Arg Asp
65 70 75 80
Ser Gly Leu Tyr Ala Cys Thr Ala Ser Arg Thr Val Asp Ser Glu Thr
85 90 95
Trp Tyr Phe Met Val Asn Val Thr Asp Ala Ile Ser Ser Gly Asp Asp
100 105 110
Glu Asp Asp Thr Asp Gly Ala Glu Asp Phe Val Ser Glu Asn Ser Asn
115 120 125
Asn Lys Arg Ala Pro Tyr Trp Thr Asn Thr Glu Lys Met Glu Lys Arg
130 135 140
Leu His Ala Val Pro Ala Ala Asn Thr Val Lys Phe Arg Cys Pro Ala
145 150 155 160
Gly Gly Asn Pro Met Pro Thr Met Arg Trp Leu Lys Asn Gly Lys Glu
165 170 175
Phe Lys Gln Glu His Arg Ile Gly Gly Tyr Lys Val Arg Asn Gln His
180 185 190
Trp Ser Leu Ile Met Glu Ser Val Val Pro Ser Asp Lys Gly Asn Tyr
195 200 205
Thr Cys Val Val Glu Asn Glu Tyr Gly Ser Ile Asn His Thr Tyr His
210 215 220
Leu Asp Val Val Glu Arg Ser Pro His Arg Pro Ile Leu Gln Ala Gly
225 230 235 240
Leu Pro Ala Asn Ala Ser Thr Val Val Gly Gly Asp Val Glu Phe Val
245 250 255
Cys Lys Val Tyr Ser Asp Ala Gln Pro His Ile Gln Trp Ile Lys His
260 265 270
Val Glu Lys Asn Gly Ser Lys Tyr Gly Pro Asp Gly Leu Pro Tyr Leu
275 280 285
Lys Val Leu Lys His Ser Gly Ile Asn Ser Ser Asn Ala Glu Val Leu
290 295 300
Ala Leu Phe Asn Val Thr Glu Ala Asp Ala Gly Glu Tyr Ile Cys Lys
305 310 315 320

Val Ser Asn Tyr Ile Gly Gln Ala Asn Gln Ser Ala Trp Leu Thr Val
325 330 335
Leu Pro Lys Gln Gln Ala Pro Gly Arg Glu Lys Glu Ile Thr Ala Ser
340 345 350
Pro Asp Tyr Leu Glu Ile Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu
355 360 365
Gly Gly Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu His His His His
370 375 380
His His
385

<210> 58
<211> 384
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成
<400> 58

Arg Pro Ser Phe Ser Leu Val Glu Asp Thr Thr Leu Glu Pro Glu Glu
1 5 10 15
Pro Pro Thr Lys Tyr Gln Ile Ser Gln Pro Glu Val Tyr Val Ala Ala
20 25 30
Pro Gly Glu Ser Leu Glu Val Arg Cys Leu Leu Lys Asp Ala Ala Val
35 40 45
Ile Ser Trp Thr Lys Asp Gly Val His Leu Gly Pro Asn Asn Arg Thr
50 55 60
Val Leu Ile Gly Glu Tyr Leu Gln Ile Lys Gly Ala Thr Pro Arg Asp
65 70 75 80
Ser Gly Leu Tyr Ala Cys Thr Ala Ser Arg Thr Val Asp Ser Glu Thr
85 90 95
Trp Tyr Phe Met Val Asn Val Thr Asp Ala Ile Ser Ser Gly Asp Asp
100 105 110
Glu Asp Asp Thr Asp Gly Ala Glu Asp Phe Val Ser Glu Asn Ser Asn
115 120 125
Asn Lys Arg Ala Pro Tyr Trp Thr Asn Thr Glu Lys Met Glu Lys Arg
130 135 140
Leu His Ala Val Pro Ala Ala Asn Thr Val Lys Phe Arg Cys Pro Ala
145 150 155 160
Gly Gly Asn Pro Met Pro Thr Met Arg Trp Leu Lys Asn Gly Lys Glu
165 170 175

Phe Lys Gln Glu His Arg Ile Gly Gly Tyr Lys Val Arg Asn Gln His
180 185 190
Trp Ser Leu Ile Met Glu Ser Val Val Pro Ser Asp Lys Gly Asn Tyr
195 200 205
Thr Cys Val Val Glu Asn Glu Tyr Gly Ser Ile Asn His Thr Tyr His
210 215 220
Leu Asp Val Val Glu Arg Ser Pro His Arg Pro Ile Leu Gln Ala Gly
225 230 235 240
Leu Pro Ala Asn Ala Ser Thr Val Val Gly Gly Asp Val Glu Phe Val
245 250 255
Cys Lys Val Tyr Ser Asp Ala Gln Pro His Ile Gln Trp Ile Lys His
260 265 270
Val Glu Lys Asn Gly Ser Lys Tyr Gly Pro Asp Gly Leu Pro Tyr Leu
275 280 285
Lys Val Leu Lys Ala Ala Gly Val Asn Thr Thr Asp Lys Glu Ile Glu
290 295 300
Val Leu Tyr Ile Arg Asn Val Thr Phe Glu Asp Ala Gly Glu Tyr Thr
305 310 315 320
Cys Leu Ala Gly Asn Ser Ile Gly Ile Ser Phe His Ser Ala Trp Leu
325 330 335
Thr Val Leu Pro Ala Pro Gly Arg Glu Lys Glu Ile Thr Ala Ser Pro
340 345 350
Asp Tyr Leu Glu Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Gly Gly
355 360 365
Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu His His His His His His
370 375 380

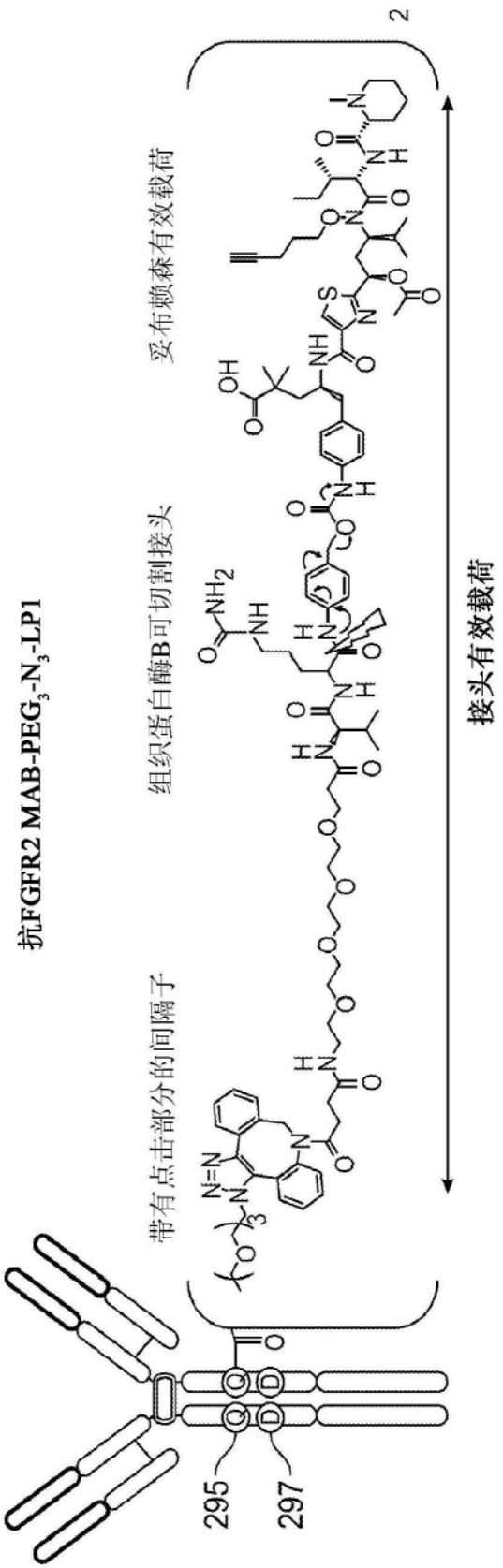

抗FGFR2 MAB-PEG3-N3-LP1
带有点击部分的间隔子
组织蛋白酶B可切割接头
妥布赖森有效载荷
接头有效载荷
295
297

图1A

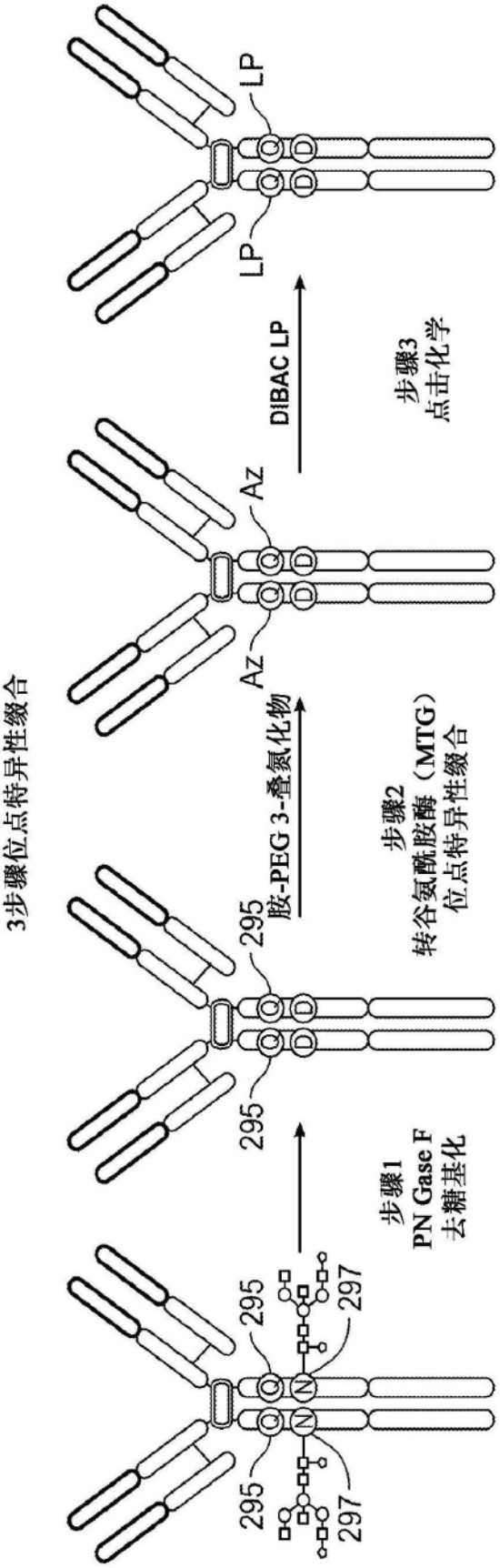

3步骤位点特异性缀合
步骤1
PN Gase F
去糖基化
步骤2
转谷氨酰胺酶（MTG）
位点特异性缀合
步骤3
点击化学
胺-PEG 3-叠氮化物
DIBAC LP
295
297
Az
LP
Q
N
D

图1B

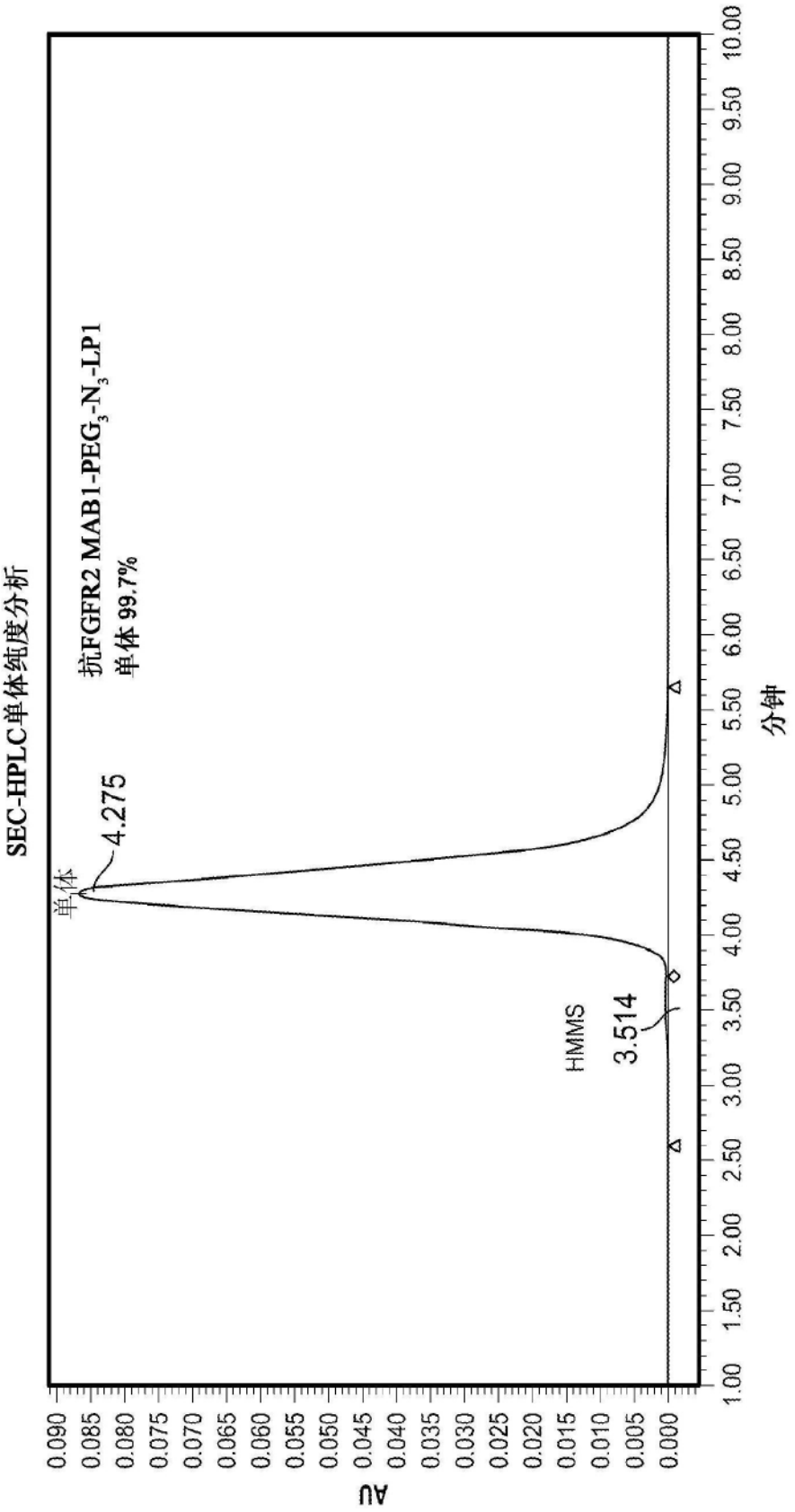

SEC-HPLC单体纯度分析
抗FGFR2 MAB1-PEG3-N3-LP1
单体 99.7%
单体
4.275
HMMS
3.514
AU
分钟
0.090
0.085
0.080
0.075
0.070
0.065
0.060
0.055
0.050
0.045
0.040
0.035
0.030
0.025
0.020
0.015
0.010
0.005
0.000
1.00
1.50
2.00
2.50
3.00
3.50
4.00
4.50
5.00
5.50
6.00
6.50
7.00
7.50
8.00
8.50
9.00
9.50
10.00

图2

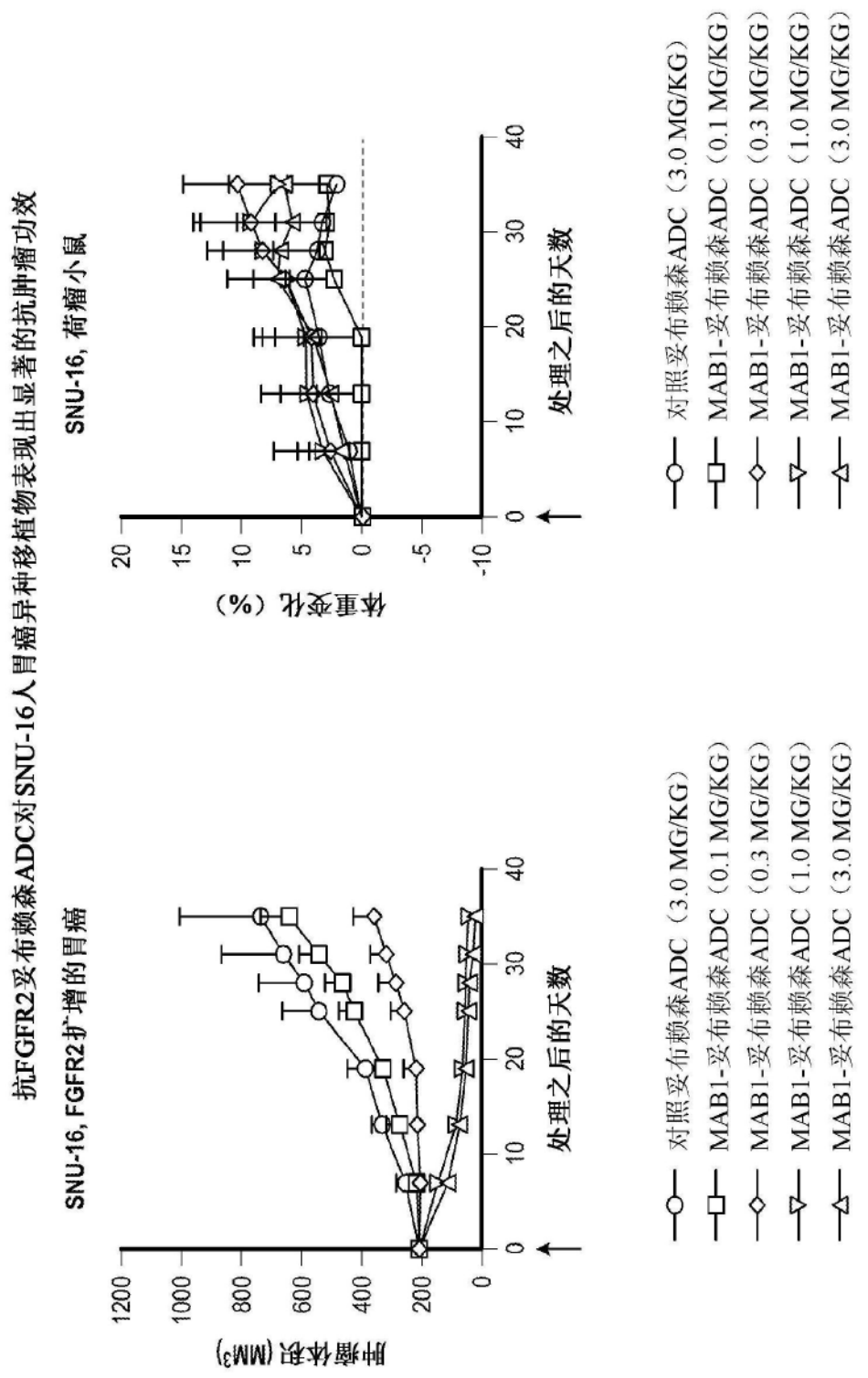

抗FGFR2妥布赖森ADC对SNU-16人胃癌异种移植物表现出显著的抗肿瘤功效
SNU-16, FGFR2扩增的胃癌
肿瘤体积 (MM3)
处理之后的天数
SNU-16, 荷瘤小鼠
体重变化 (%)
处理之后的天数
对照妥布赖森ADC（3.0 MG/KG）
MAB1-妥布赖森ADC（0.1 MG/KG）
MAB1-妥布赖森ADC（0.3 MG/KG）
MAB1-妥布赖森ADC（1.0 MG/KG）
MAB1-妥布赖森ADC（3.0 MG/KG）

图3

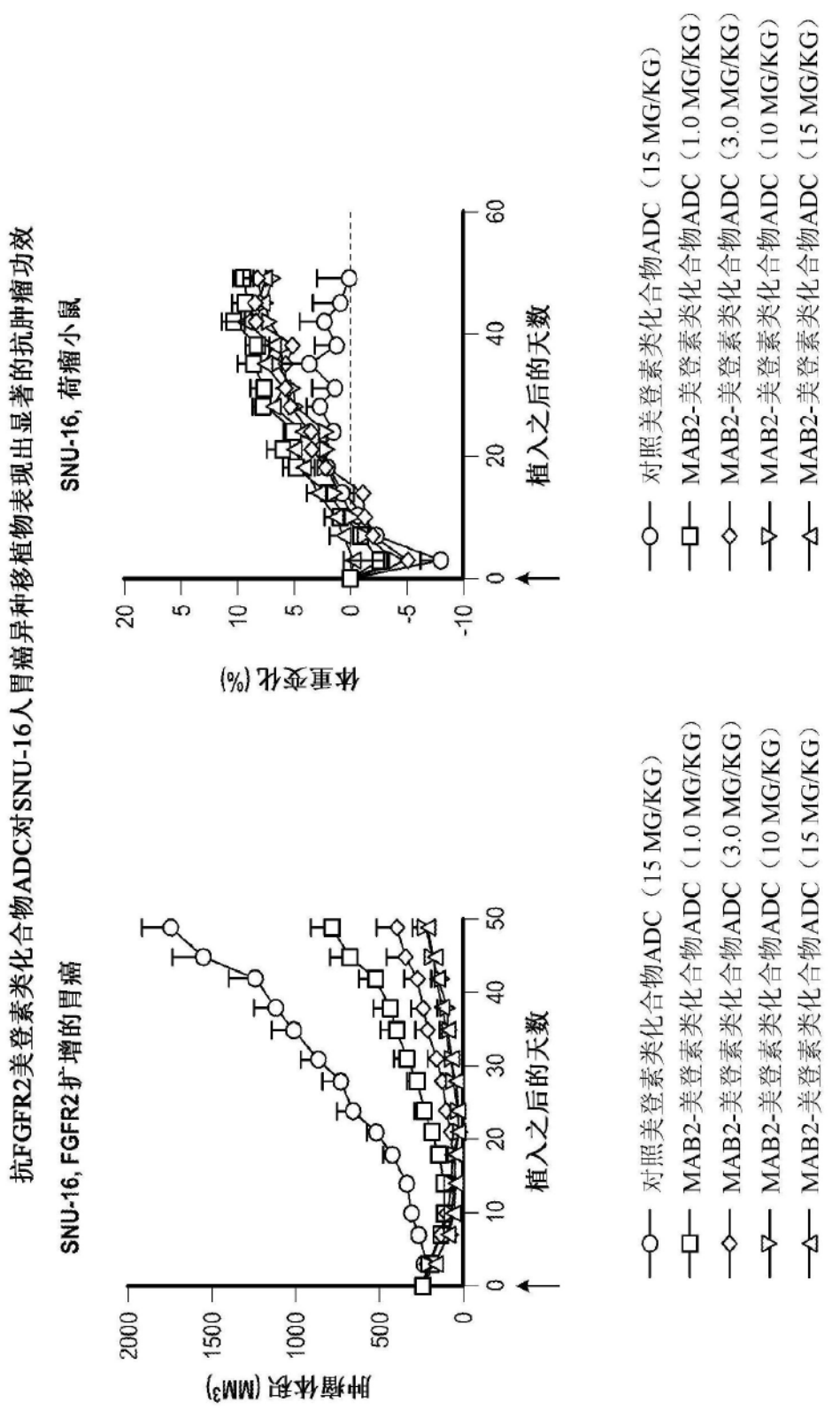

抗FGFR2美登素类化合物ADC对SNU-16人胃癌异种移植物表现出显著的抗肿瘤功效
SNU-16, FGFR2扩增的胃癌
SNU-16, 荷瘤小鼠
肿瘤体积 (MM3)
体重变化 (%)
植入之后的天数
植入之后的天数
对照美登素类化合物ADC（15 MG/KG）
MAB2-美登素类化合物ADC（1.0 MG/KG）
MAB2-美登素类化合物ADC（3.0 MG/KG）
MAB2-美登素类化合物ADC（10 MG/KG）
MAB2-美登素类化合物ADC（15 MG/KG）
对照美登素类化合物ADC（15 MG/KG）
MAB2-美登素类化合物ADC（1.0 MG/KG）
MAB2-美登素类化合物ADC（3.0 MG/KG）
MAB2-美登素类化合物ADC（10 MG/KG）
MAB2-美登素类化合物ADC（15 MG/KG）

图4

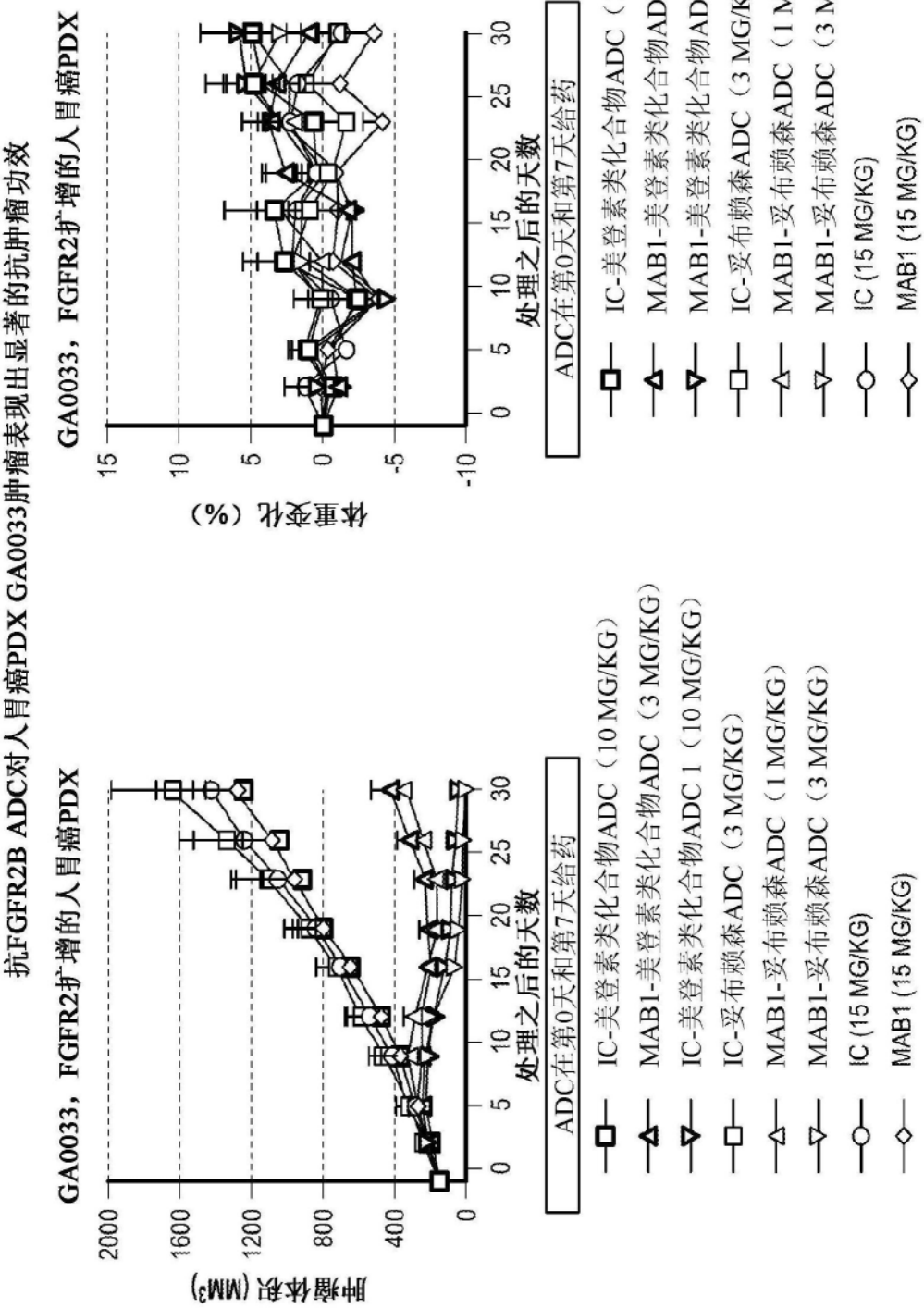

抗FGFR2B ADC对人胃癌PDX GA0033肿瘤表现出显著的抗肿瘤功效
GA0033，FGFR2扩增的人胃癌PDX
肿瘤体积 (MM3)
2000
1600
1200
800
400
0
0 5 10 15 20 25 30
处理之后的天数
ADC在第0天和第7天给药
IC-美登素类化合物ADC（10 MG/KG）
MAB1-美登素类化合物ADC（3 MG/KG）
IC-美登素类化合物ADC 1（10 MG/KG）
IC-妥布赖森ADC（3 MG/KG）
MAB1-妥布赖森ADC（1 MG/KG）
MAB1-妥布赖森ADC（3 MG/KG）
IC (15 MG/KG)
MAB1 (15 MG/KG)
GA0033，FGFR2扩增的人胃癌PDX
体重变化（%）
15
10
5
0
-5
-10
0 5 10 15 20 25 30
处理之后的天数
ADC在第0天和第7天给药
IC-美登素类化合物ADC（10 MG/KG）
MAB1-美登素类化合物ADC（3 MG/KG）
MAB1-美登素类化合物ADC（10 MG/KG）
IC-妥布赖森ADC（3 MG/KG）
MAB1-妥布赖森ADC（1 MG/KG）
MAB1-妥布赖森ADC（3 MG/KG）
IC (15 MG/KG)
MAB1 (15 MG/KG)

图5

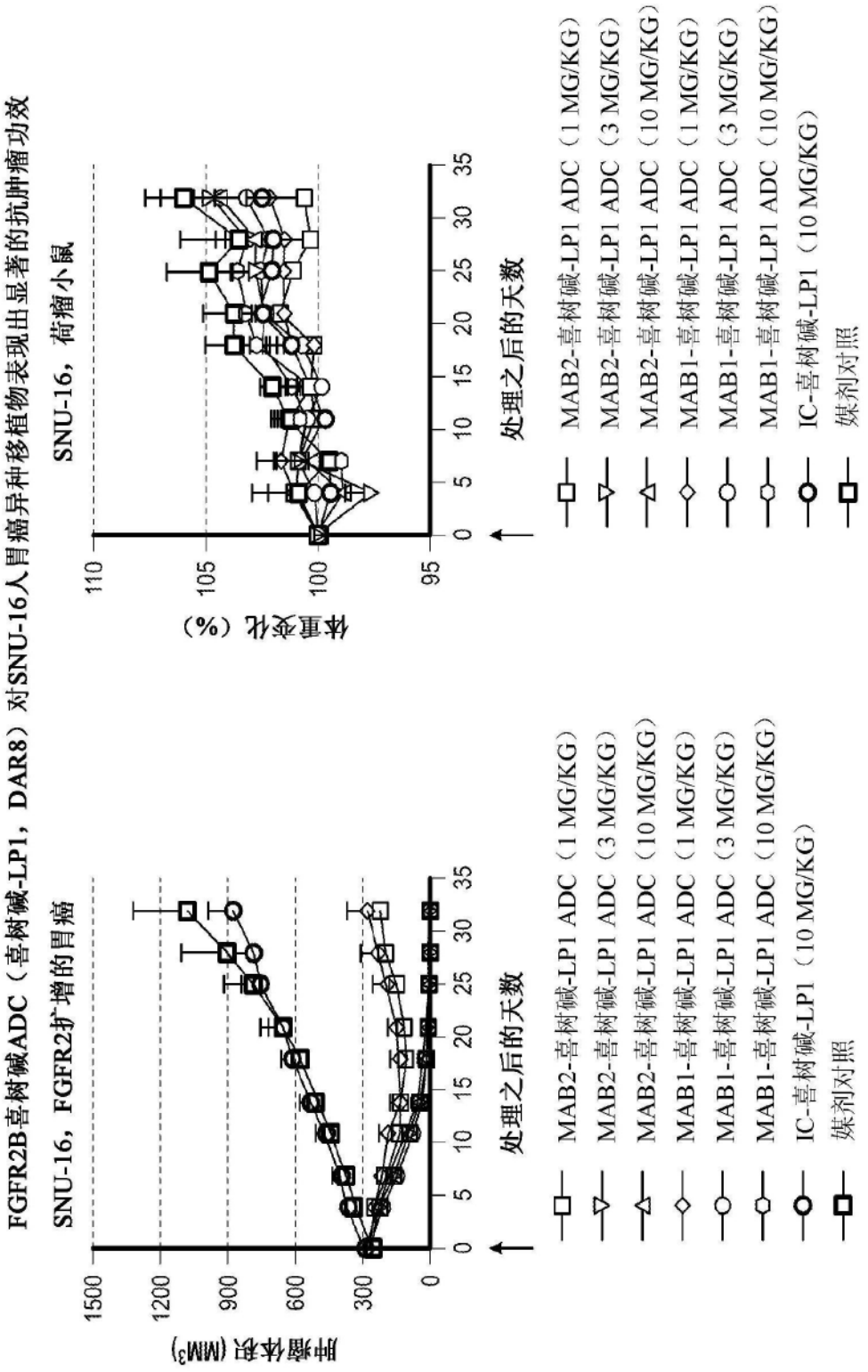

FGFR2B喜树碱ADC（喜树碱-LP1，DAR8）对SNU-16人胃癌异种移植物表现出显著的抗肿瘤功效
SNU-16，FGFR2扩增的胃癌
肿瘤体积 (MM3)
1500
1200
900
600
300
0
0 5 10 15 20 25 30 35
处理之后的天数
SNU-16，荷瘤小鼠
体重变化（%）
110
105
100
95
0 5 10 15 20 25 30 35
处理之后的天数
MAB2-喜树碱-LP1 ADC（1 MG/KG）
MAB2-喜树碱-LP1 ADC（3 MG/KG）
MAB2-喜树碱-LP1 ADC（10 MG/KG）
MAB1-喜树碱-LP1 ADC（1 MG/KG）
MAB1-喜树碱-LP1 ADC（3 MG/KG）
MAB1-喜树碱-LP1 ADC（10 MG/KG）
IC-喜树碱-LP1（10 MG/KG）
媒剂对照

图6

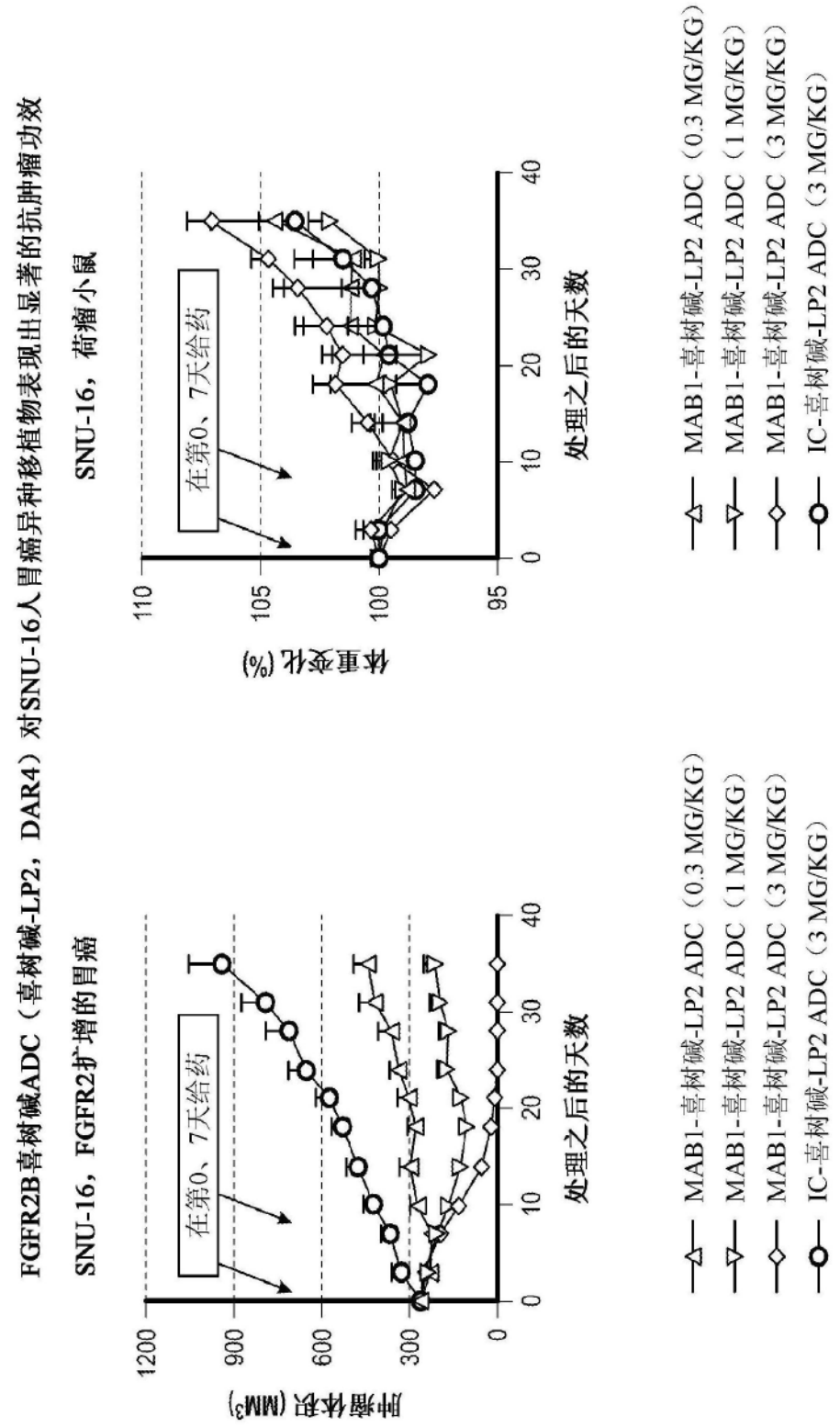

FGFR2B喜树碱ADC（喜树碱-LP2，DAR4）对SNU-16人胃癌异种移植物表现出显著的抗肿瘤功效
SNU-16，FGFR2扩增的胃癌
SNU-16，荷瘤小鼠
肿瘤体积 (MM3)
体重变化 (%)
处理之后的天数
在第0、7天给药
MAB1-喜树碱-LP2 ADC（0.3 MG/KG）
MAB1-喜树碱-LP2 ADC（1 MG/KG）
MAB1-喜树碱-LP2 ADC（3 MG/KG）
IC-喜树碱-LP2 ADC（3 MG/KG）

图7

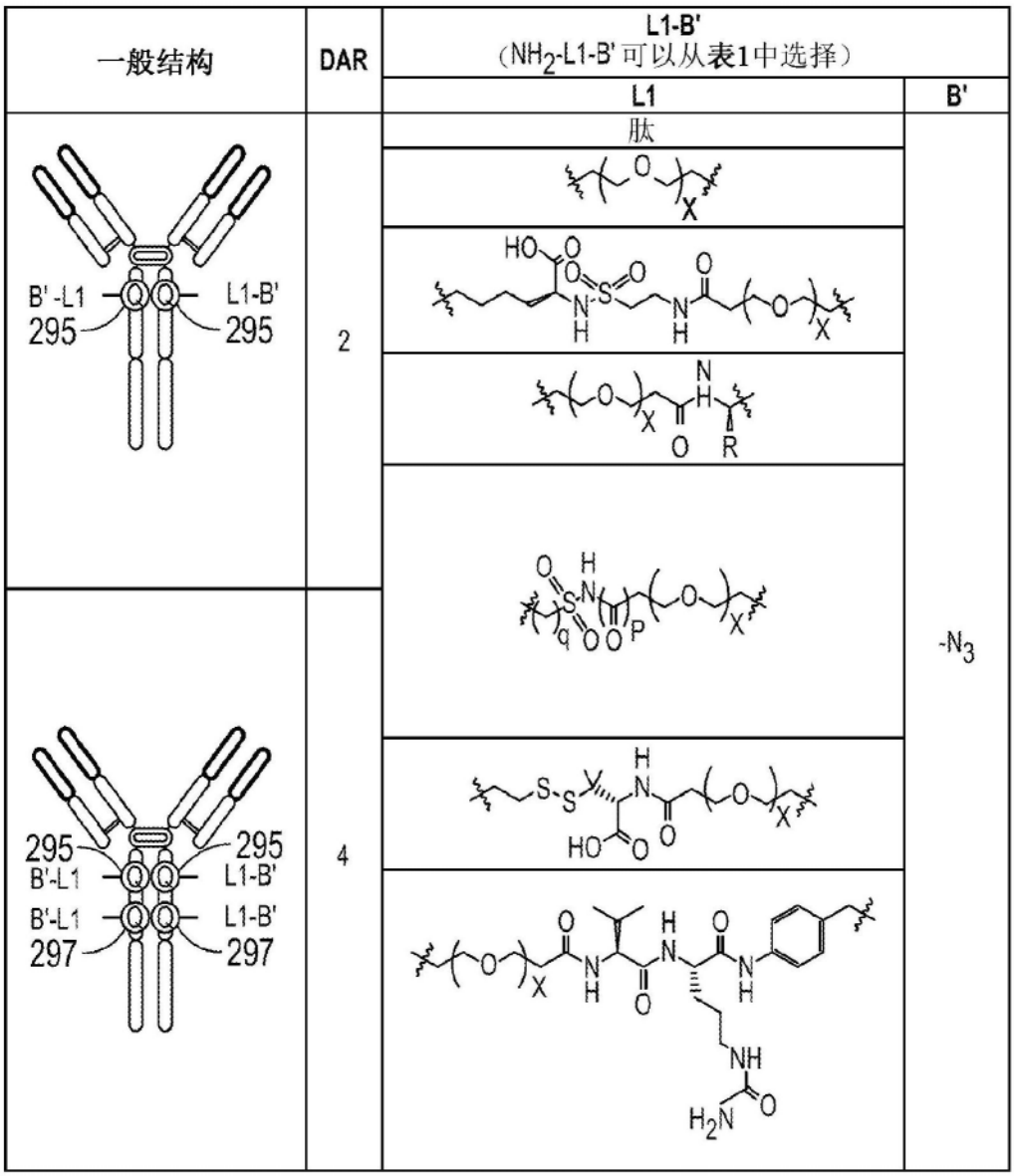

一般结构
DAR
L1-B'
（NH_2-L1-B'可以从表1中选择）
L1
B'
肽
B'-L1
295
L1-B'
295
2
4
297
297
-N_3

图8

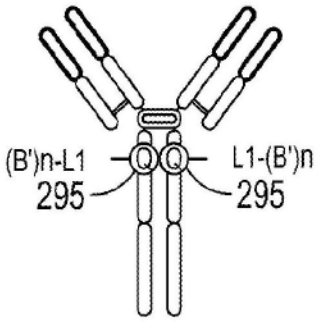
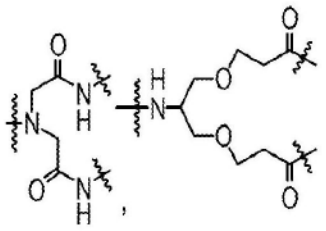
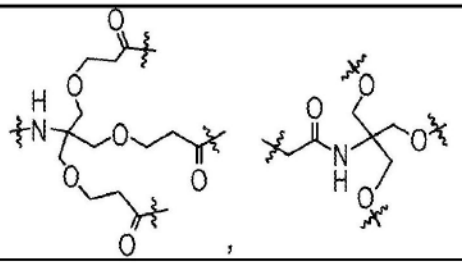
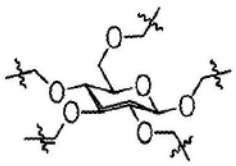
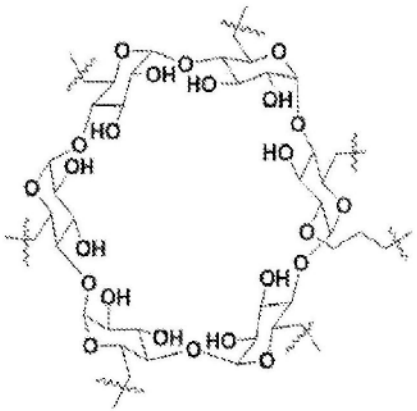
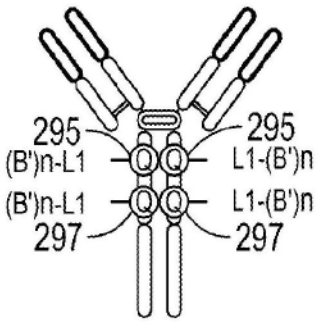
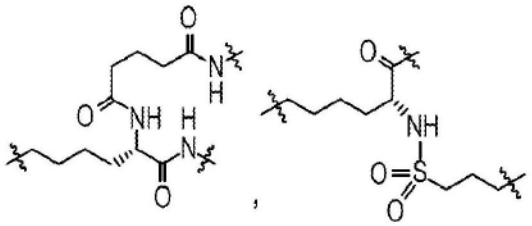
一般结构	组	n	L1
	A	2	
	B	3	
	C	4	
	D	6	
	E		

图9

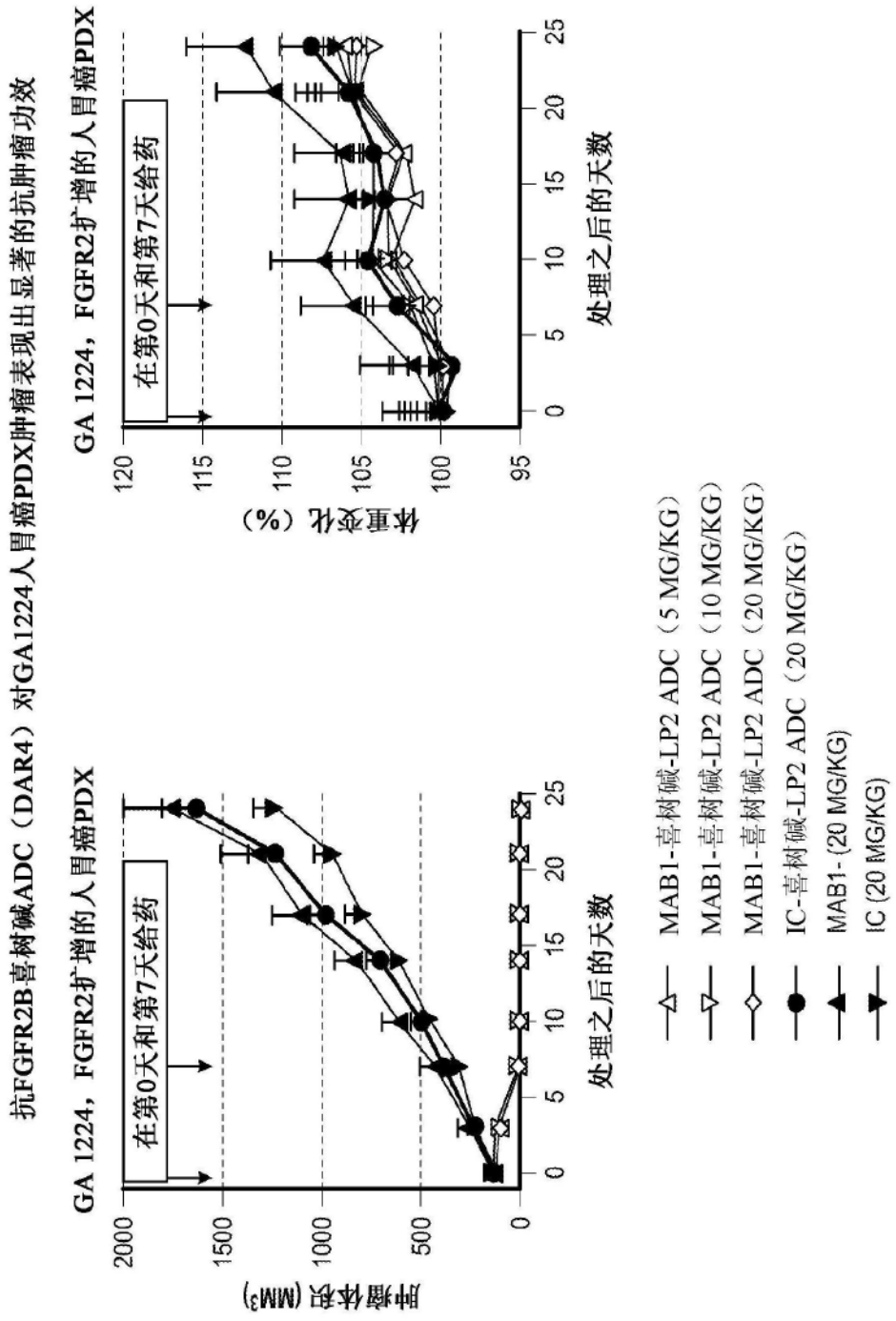

抗FGFR2B喜树碱ADC（DAR4）对GA1224人胃癌PDX肿瘤表现出显著的抗肿瘤功效
GA 1224，FGFR2扩增的人胃癌PDX
在第0天和第7天给药
肿瘤体积 (MM3)
处理之后的天数
GA 1224，FGFR2扩增的人胃癌PDX
在第0天和第7天给药
体重变化（%）
处理之后的天数
MAB1-喜树碱-LP2 ADC（5 MG/KG）
MAB1-喜树碱-LP2 ADC（10 MG/KG）
MAB1-喜树碱-LP2 ADC（20 MG/KG）
IC-喜树碱-LP2 ADC（20 MG/KG）
MAB1-（20 MG/KG)
IC (20 MG/KG)

图10

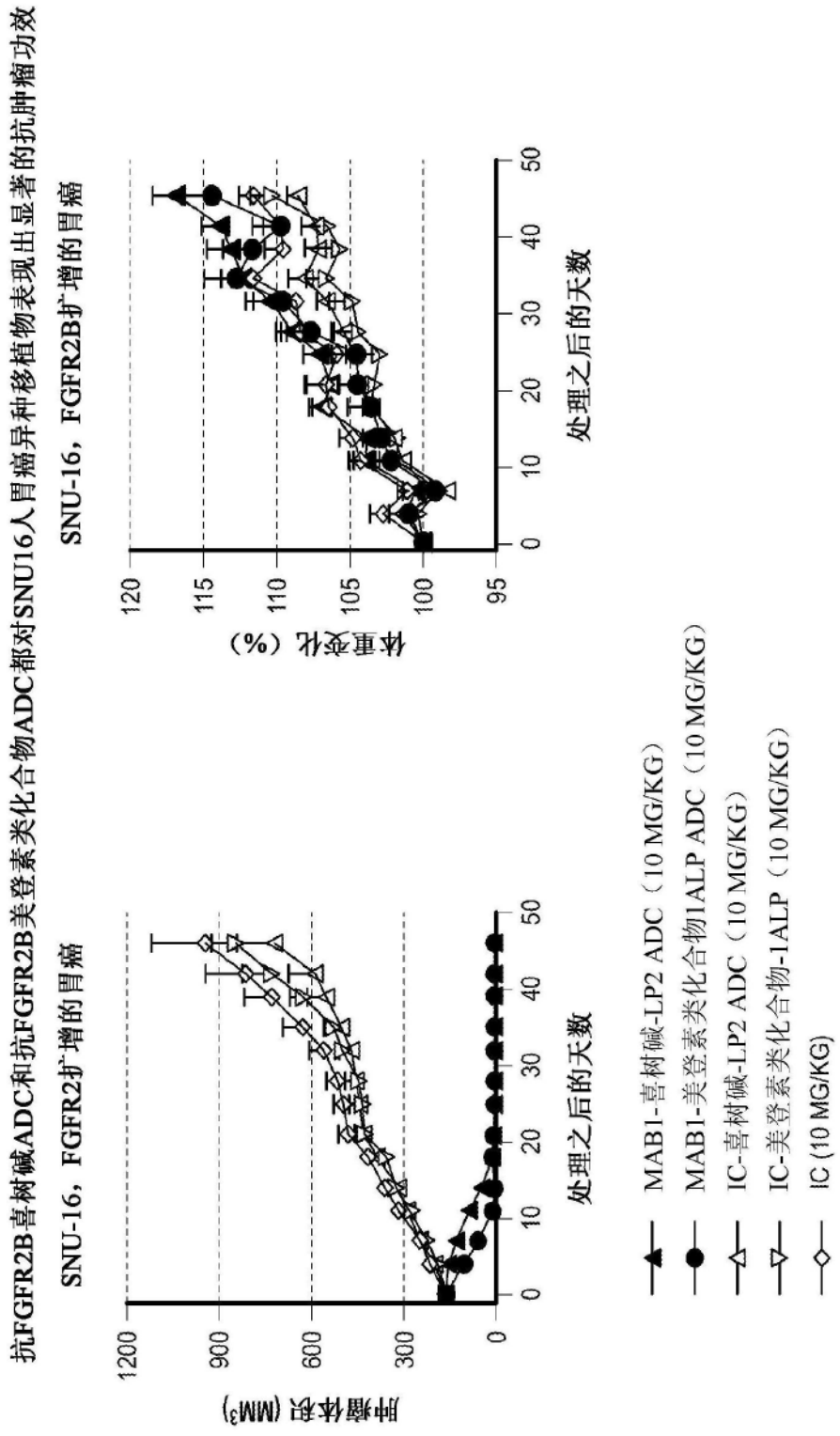

抗FGFR2B喜树碱ADC和抗FGFR2B美登素类化合物ADC都对SNU16人胃癌异种移植物表现出显著的抗肿瘤功效
SNU-16，FGFR2扩增的胃癌
肿瘤体积 (MM3)
处理之后的天数
SNU-16，FGFR2B扩增的胃癌
体重变化（%）
处理之后的天数
MAB1-喜树碱-LP2 ADC（10 MG/KG）
MAB1-美登素类化合物1ALP ADC（10 MG/KG）
IC-喜树碱-LP2 ADC（10 MG/KG）
IC-美登素类化合物-1ALP（10 MG/KG）
IC (10 MG/KG)

图11

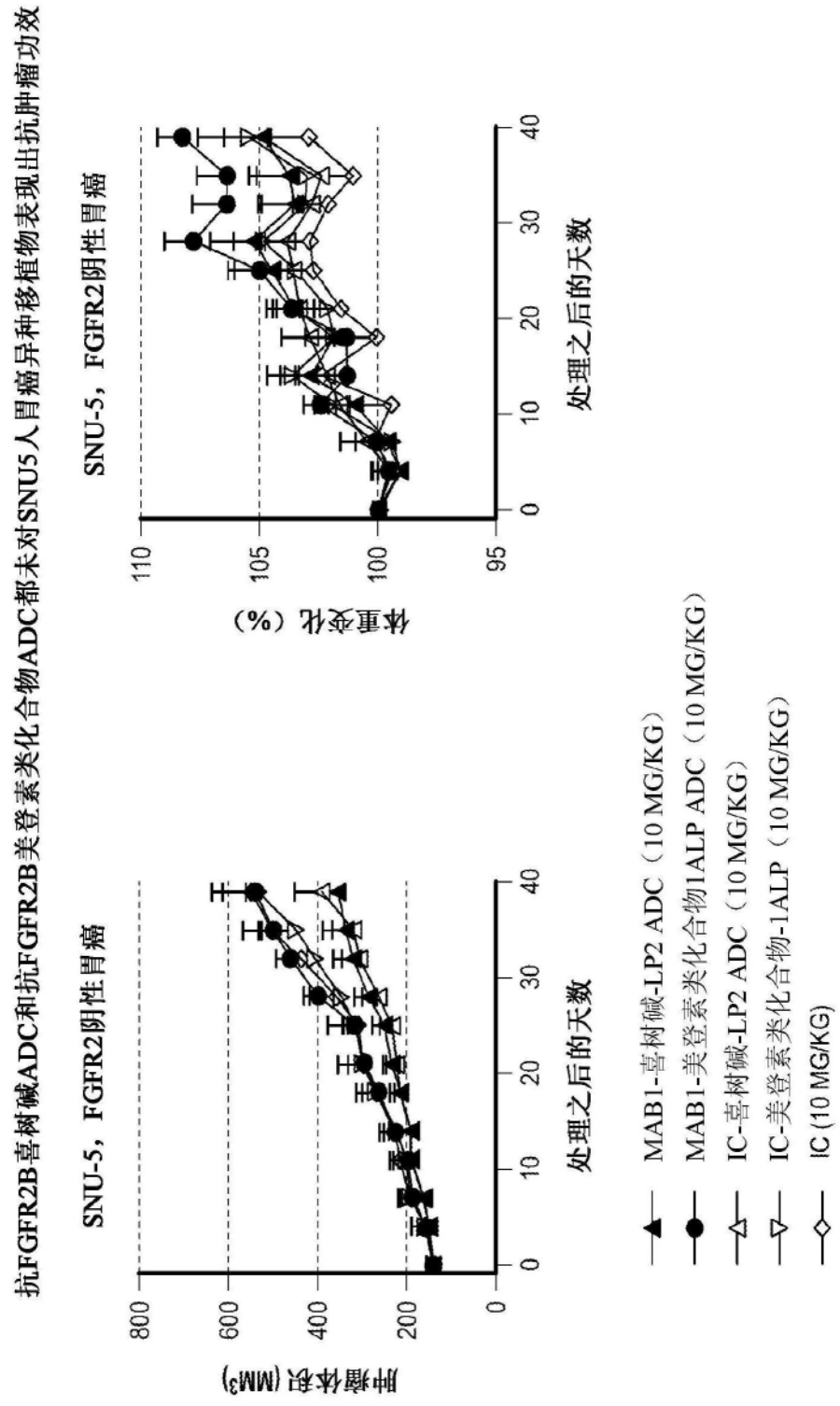

抗FGFR2B喜树碱ADC和抗FGFR2B美登素类化合物ADC都未对SNU5人胃癌异种移植物表现出抗肿瘤功效
SNU-5，FGFR2阴性胃癌
肿瘤体积 (MM³)
800
600
400
200
0
0
10
20
30
40
处理之后的天数
SNU-5，FGFR2阴性胃癌
体重变化（%）
110
105
100
95
0
10
20
30
40
处理之后的天数
MAB1-喜树碱-LP2 ADC（10 MG/KG）
MAB1-美登素类化合物1ALP ADC（10 MG/KG）
IC-喜树碱-LP2 ADC（10 MG/KG）
IC-美登素类化合物-1ALP（10 MG/KG）
IC (10 MG/KG)

图12

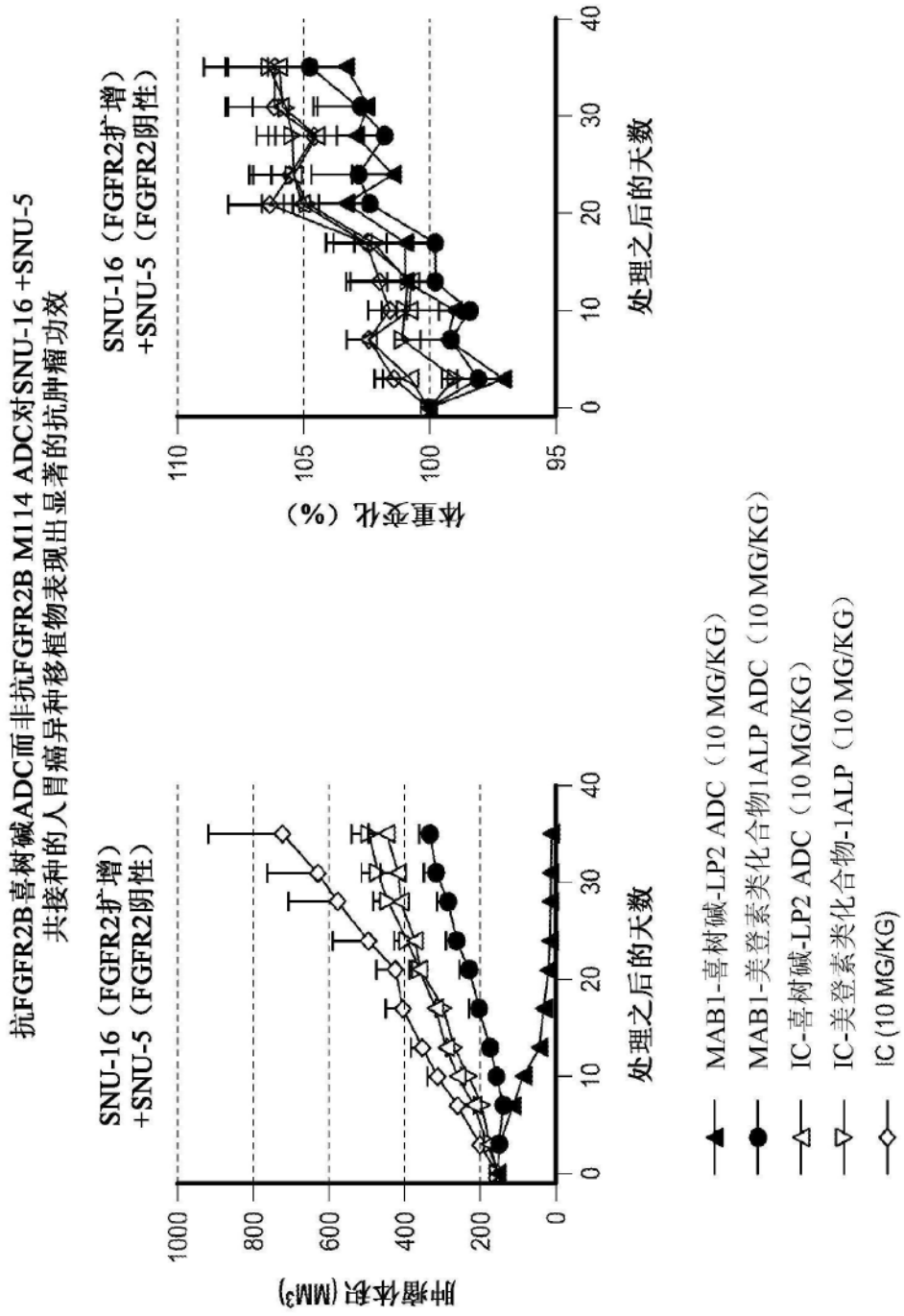

抗FGFR2B喜树碱ADC而非抗FGFR2B M114 ADC对SNU-16 +SNU-5
共接种的人胃癌异种移植物表现出显著的抗肿瘤功效
SNU-16（FGFR2扩增）
+SNU-5（FGFR2阴性）
肿瘤体积(MM3)
处理之后的天数
SNU-16（FGFR2扩增）
+SNU-5（FGFR2阴性）
体重变化（%）
处理之后的天数
MAB1-喜树碱-LP2 ADC（10 MG/KG）
MAB1-美登素类化合物1ALP ADC（10 MG/KG）
IC-喜树碱-LP2 ADC（10 MG/KG）
IC-美登素类化合物-1ALP（10 MG/KG）
IC (10 MG/KG)

图13