(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国 际 局

(43) 国际公布日
2024 年 1 月 18 日 (18.01.2024)

WIPO | PCT

(10) 国际公布号
WO 2024/012541 A1

(51) 国际专利分类号:
A61K 47/68 (2017.01) *C07K 16/28* (2006.01)
A61K 47/65 (2017.01) *A61P 35/00* (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2023/107301

(22) 国际申请日: 2023 年 7 月 13 日 (13.07.2023)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
202210827914.X 2022年7月14日 (14.07.2022) CN

(71) 申请人: 百奥泰生物制药股份有限公司 (**BIO-THERA SOLUTIONS, LTD.**) [CN/CN]; 中国广东省广州市高新技术产业开发区科学城开源大道11号A6栋第五层, Guangdong 510530 (CN)。

(72) 发明人: 梅星星 (**MEI, Xingxing**); 中国广东省广州市高新技术产业开发区科学城开源大道11号A6栋第五层, Guangdong 510530 (CN)。 冯翠英 (**FENG, Cuiying**); 中国广东省广州市高新技术产业开发区科学城开源大道11号A6栋第五层, Guangdong 510530 (CN)。 麦思琪 (**MAI, Siqi**); 中国广东省广州市高新技术产业开发区科学城开源大道11号A6栋第五层, Guangdong 510530 (CN)。 汤伟佳 (**TANG, Weijia**); 中国广东省广州市高新技术产业开发区科学城开源大道11号A6栋第五层, Guangdong 510530 (CN)。 齐瑶 (**QI, Yao**); 中国广东省广州市高新技术产业开发区科学城开源大道11号A6栋第五层, Guangdong 510530 (CN)。 周佳琪 (**ZHOU, Jiaqi**); 中国广东省广州市高新技术产业开发区科学城开源大道11号A6栋第五层, Guangdong 510530 (CN)。 俞金泉 (**YU, Jin-Chen**); 中国广东省广州市高新技术产业开发区科学城开源大道11号A6栋第五层, Guangdong 510530 (CN)。 李胜峰 (**LI, Shengfeng**); 中国广东省广州市高新技术产业开发区科学城开源大道11号A6栋第五层, Guangdong 510530 (CN)。

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

(84) 指定国(除另有指明，要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚

(54) **Title:** ANTI-NECTIN-4 ANTIBODY DRUG CONJUGATE AND USE THEREOF

(54) 发明名称: 抗Nectin-4抗体药物偶联物及应用

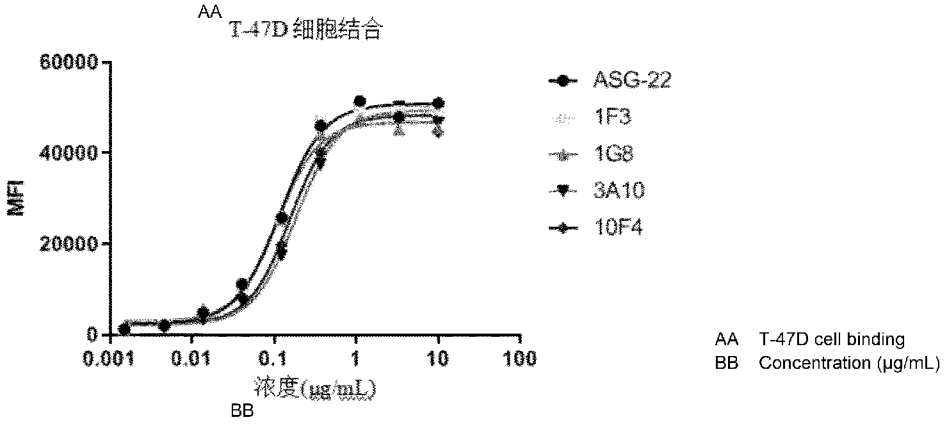


图 2

(57) **Abstract:** An anti-Nectin-4 antibody drug conjugate and use thereof. The anti-Nectin-4 antibody and the antibody drug conjugate thereof can be used for preventing and/or treating diseases.

(57) 摘要: 一种抗Nectin-4抗体药物偶联物及应用，所述抗Nectin-4抗体及其抗体药物偶联物可用于预防和/或治疗疾病。

[见续页]

WO 2024/012541 A1

(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:
— 包括国际检索报告(条约第21条(3))。
— 包括说明书序列表部分(细则5.2(a))。

抗 Nectin-4 抗体药物偶联物及应用

技术领域

本发明属于生物医药领域，涉及抗 Nectin-4 抗体药物偶联物及应用。

背景技术

Nectin-4 是免疫球蛋白超家族（IgSF）中细胞黏附分子之一，是一种钙非依赖性细胞黏附分子（cell adhesionmolecules, CAM），也被称为脊髓灰质炎病毒受体相关蛋白(poliovirus receptor-like protein 4,PVRL4）或脊髓灰质炎病毒相关受体（poliovirus receptor-related,PRR4）。Nectin-4 是一种单次跨膜蛋白，包含胞外区、跨膜区和胞内区，在胞外区含有三个高度糖基化的结构域，即靠近胞膜的两个 C2 结构域和远离细胞膜的一个 V 结构域。Nectin-4 分子通过自身 N-端的 V 结构域与 H 蛋白结合，从而实现病毒对细胞的感染 。Nectin-4 通过与钙黏素相互作用参与粘着连接的形成和维持。Nectin-4 介导 Ca2+非依赖性的粘附，通过驱动细胞间附着和基质非依赖性整合素蛋白β4/ SHP-2 / c-Src 的活化来促进锚定非依赖性生长。

Nectin-4 在胎儿发育过程中表达，与其他 Nectins 在成人组织中的广泛表达不同，其在成人组织中的表达显著下降。多个研究机构证实 Nectin-4 在包括乳腺癌、膀胱癌等多种肿瘤中过表达。Nectin-4 在正常成人组织中的皮肤角质层、皮肤附属结构（汗腺和毛囊）、膀胱移行上皮、唾液腺、食管、乳腺和胃中弱到中等程度表达，在喉头、垂体，胎盘，睾丸，输尿管和子宫有较弱的表达。该靶点具有较好的特异性，可以介导抗体内吞，是 ADC 药物潜在的治疗靶点。

发明内容

本发明提供了含特异性识别并结合 Nectin-4 的抗体或抗原结合单元或多肽的药物偶联物。在一个或多个实施方式中，本发明的抗体或抗原结合单元或多肽能够识别并结合人 Nectin-4。

在一个或多个实施方式中，所述抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元包含以下 HCDR1，HCDR2，和 HCDR3 或其变体中的一个或多个：按照 Kabat 编号系统，HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO: 8，SEQ ID NO: 181-195，SEQ ID NO: 234-248 和 SEQ ID NO: 304-317 任一项所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO: 9，SEQ ID NO: 196-231，SEQ ID NO: 251-303 和 SEQ ID NO: 318-358 任一项所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO: 10，SEQ ID NO: 12，SEQ ID NO: 14，SEQ ID NO: 16，SEQ ID NO: 18，SEQ ID NO: 20，SEQ ID NO: 22 和 SEQ ID NO: 24 任一项所示的序列或由其组成。

在一个或多个实施方式中，所述抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元包含 SEQ ID NO:7，SEQ ID NO:11，SEQ ID NO:13，SEQ ID NO:15，SEQ ID NO:17，SEQ ID NO:19，SEQ ID NO:21 和 SEQ ID NO:23 任一项所示的重链可变区包含的 HCDR1，HCDR2，和 HCDR3 或其变体中的一个或多个。

在一个或多个实施方式中，所述抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元包含以下 HCDR1，HCDR2，和 HCDR3 或其变体中的一个或多个：按照 Kabat 编号系统，

HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:10 所示的序列或由其组成。

在一个或多个实施方式，所述抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元包含 SEQ ID NO:11 所示的重链可变区包含的 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3 或其变体中的一个或多个。在一个或多个实施方式中，按照 Kabat 编号系统，HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:12 所示的序列或由其组成。

在一个或多个实施方式，所述抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元包含 SEQ ID NO:13 所示的重链可变区包含的 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3 或其变体中的一个或多个。在一个或多个实施方式中，按照 Kabat 编号系统，HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:14 所示的序列或由其组成。

在一个或多个实施方式，所述抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元包含 SEQ ID NO:15 所示的重链可变区包含的 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3 或其变体中的一个或多个。在一个或多个实施方式中，按照 Kabat 编号系统，HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:16 所示的序列或由其组成。

在一个或多个实施方式，所述抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元包含 SEQ ID NO:17 所示的重链可变区包含的 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3 或其变体中的一个或多个。在一个或多个实施方式中，按照 Kabat 编号系统，HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:18 所示的序列或由其组成。

在一个或多个实施方式，所述抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元包含 SEQ ID NO:19 所示的重链可变区包含的 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3 或其变体中的一个或多个。在一个或多个实施方式中，按照 Kabat 编号系统，HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:20 所示的序列或由其组成。

在一个或多个实施方式，所述抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元包含 SEQ ID NO:21 所示的重链可变区包含的 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3 或其变体中的一个或多个。在一个或多个实施方式中，按照 Kabat 编号系统，HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:22 所示的序列或由其组成。

在一个或多个实施方式，所述抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元包含 SEQ ID NO:23 所示的重链可变区包含的 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3 或其变体中的一个或多个。在一个或多个实施方式中，按照 Kabat 编号系统，HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:24 所示的序列或由其组成。

在一个或多个实施方式，所述抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元包含以下 HCDR1，HCDR2，和 HCDR3 或其变体中的一个或多个：HCDR1 的序列包含 X1X2X3MS 所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 X1’IX2’X3’X4’X5’X6’X7’X8’X9’YADSVKG (SEQ ID NO: 368)所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:12，14 或 16 所示的序列或由其组成，其中 X1，X2，X3，X1’，X2’，X3’，X4’，X5’，X6’，X7’，X8’，X9’和 X10’

表示独立选自G，A，V，L，I，S，T，C，M，N，Q，K，R，D，E，F，Y，H，P和W中的任意一种氨基酸。

在一个或多个实施方式中，X1表示S，N，T，D或G，X2表示Y，F或S，X3表示A，G，S或Y，X1’表示A，R，G，I或W，X2’表示S，K，Y或D，X3’表示G，P，S，A，Q或W，X4’表示S，T，G，Y，H，D，W或I，X5’表示G，D，T，S，A或K，X6’表示G，S，D，A或W，X7’表示S，Y，T，N，D，V，E或G，X8’表示T，A，N，K，I，R，S或P，X9’表示Y，S，H，R，N，G，F或D。

在一个或多个实施方式中，X1表示S，N，T，D或G，X2表示Y，N，F或S，X3表示A，G，S或不存在，X1’表示A，R，G，W或S，X2’表示S，K，Y或D，X3’表示G，P，S，T，A，Q或Y，X4’表示S，T，G，Y，H，D，W或I，X5’表示G，D，T，S，F或K，X6’表示G，S，D，A，W或不存在，X7’表示S，Y，T，N，D，V，E或G，X8’表示T，A，N，K，I，R，S或P，X9’表示Y，S，H，R，N，F或D。

在一个或多个实施方式中，X1表示S，N，D，G或T，X2表示Y，F或S，X3表示A，D，W，S或Y，X1’表示A，S，G或V，X2’表示S，K，I，Y或D，X3’表示G，P，S，A，Q，Y，T或D，X4’表示S，T，G，Y，H，D或W，X5’表示G，D，T，S或K，X6’表示G，S，D，A或Y，X7’表示S，Y，T，N，D，V或G，X8’表示T，A，N，K，I，R或S，X9’表示Y，S，H，R，N，G，F或D。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含以下HCDR1，HCDR2，和HCDR3或其变体中的一个或多个：HCDR1的序列包含SEQ ID NO:8和SEQ ID NO: 181-195任一项所示的序列或由其组成，HCDR2的序列包含SEQ ID NO:9和SEQ ID NO: 196-231任一项所示的序列或由其组成，HCDR3的序列包含SEQ ID NO:14所示的序列或由其组成。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含以下HCDR1，HCDR2，和HCDR3或其变体中的一个或多个：HCDR1的序列包含SEQ ID NO:8，SEQ ID NO: 181，SEQ ID NO: 185，SEQ ID NO: 186，SEQ ID NO: 187，SEQ ID NO: 194和SEQ ID NO: 234-248任一项所示的序列或由其组成，HCDR2的序列包含SEQ ID NO:9，SEQ ID NO: 202和SEQ ID NO: 251-303任一项所示的序列或由其组成，HCDR3的序列包含SEQ ID NO:12所示的序列或由其组成。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含以下HCDR1，HCDR2，和HCDR3或其变体中的一个或多个：HCDR1的序列包含SEQ ID NO:235，SEQ ID NO: 238，SEQ ID NO: 241和SEQ ID NO: 304-317任一项所示的序列或由其组成，HCDR2的序列包含SEQ ID NO:318-358任一项所示的序列或由其组成，HCDR3的序列包含SEQ ID NO:16所示的序列或由其组成。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元还包含SEQ ID NO:25所示的轻链可变区包含的LCDR1，LCDR2和LCDR3。在一个或多个实施方式中，按照Kabat编号系统，LCDR1的序列包含SEQ ID NO:26所示的序列或由其组成，LCDR2的序列包含SEQ ID NO:27所示的序列或由其组成，LCDR3的序列包含SEQ ID NO:28所示的序列或由其组成。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:8所示的HCDR1，SEQ ID NO:9所示的HCDR2，SEQ ID NO:10所示的

HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:8所示的HCDR1，SEQ ID NO:9所示的HCDR2，SEQ ID NO:12所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:8所示的HCDR1，SEQ ID NO:9所示的HCDR2，SEQ ID NO:14所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:8所示的HCDR1，SEQ ID NO:9所示的HCDR2，SEQ ID NO:16所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:8所示的HCDR1，SEQ ID NO:9所示的HCDR2，SEQ ID NO:18所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:8所示的HCDR1，SEQ ID NO:9所示的HCDR2，SEQ ID NO:20所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:8所示的HCDR1，SEQ ID NO:9所示的HCDR2，SEQ ID NO:22所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:8所示的HCDR1，SEQ ID NO:9所示的HCDR2，SEQ ID NO:24所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:181所示的HCDR1，SEQ ID NO:196所示的HCDR2，SEQ ID NO:14所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:182所示的HCDR1，SEQ ID NO:197所示的HCDR2，SEQ ID NO:14所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:183所示的HCDR1，SEQ ID NO:9所示的HCDR2，SEQ ID NO:14所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:184所示的HCDR1，SEQ ID NO:199所示的HCDR2，SEQ ID NO:14所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:185所示的HCDR1，SEQ ID NO:200所示的HCDR2，SEQ ID NO:14所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:184所示的HCDR1，SEQ ID NO:201所示的HCDR2，SEQ ID NO:14所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:186所示的HCDR1，SEQ ID NO:202所示的HCDR2，SEQ ID NO:14所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID

NO:187 所示的 HCDR1，SEQ ID NO:203 所示的 HCDR2，SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:183 所示的 HCDR1，SEQ ID NO:204 所示的 HCDR2，SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:182 所示的 HCDR1，SEQ ID NO:205 所示的 HCDR2，SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:187 所示的 HCDR1，SEQ ID NO:206 所示的 HCDR2，SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:188 所示的 HCDR1，SEQ ID NO:207 所示的 HCDR2，SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:189 所示的 HCDR1，SEQ ID NO:208 所示的 HCDR2，SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:190 所示的 HCDR1，SEQ ID NO:209 所示的 HCDR2，SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:184 所示的 HCDR1，SEQ ID NO:210 所示的 HCDR2，SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:183 所示的 HCDR1，SEQ ID NO:211 所示的 HCDR2，SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:185 所示的 HCDR1，SEQ ID NO:212 所示的 HCDR2，SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:184 所示的 HCDR1，SEQ ID NO:213 所示的 HCDR2，SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:189 所示的 HCDR1，SEQ ID NO:214 所示的 HCDR2，SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:191 所示的 HCDR1，SEQ ID NO:215 所示的 HCDR2，SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:183 所示的 HCDR1，SEQ ID NO:216 所示的 HCDR2，SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:181 所示的 HCDR1，SEQ ID NO:217 所示的 HCDR2，SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:183所示的HCDR1，SEQ ID NO:218所示的HCDR2，SEQ ID NO:14所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:192所示的HCDR1，SEQ ID NO:219所示的HCDR2，SEQ ID NO:14所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:8所示的HCDR1，SEQ ID NO:220所示的HCDR2，SEQ ID NO:14所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:185所示的HCDR1，SEQ ID NO:207所示的HCDR2，SEQ ID NO:14所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:190所示的HCDR1，SEQ ID NO:222所示的HCDR2，SEQ ID NO:14所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:183所示的HCDR1，SEQ ID NO:223所示的HCDR2，SEQ ID NO:14所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:184所示的HCDR1，SEQ ID NO:224所示的HCDR2，SEQ ID NO:14所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:193所示的HCDR1，SEQ ID NO:225所示的HCDR2，SEQ ID NO:14所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:184所示的HCDR1，SEQ ID NO:226所示的HCDR2，SEQ ID NO:14所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:194所示的HCDR1，SEQ ID NO:227所示的HCDR2，SEQ ID NO:14所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:184所示的HCDR1，SEQ ID NO:228所示的HCDR2，SEQ ID NO:14所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:184所示的HCDR1，SEQ ID NO:229所示的HCDR2，SEQ ID NO:14所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:189所示的HCDR1，SEQ ID NO:230所示的HCDR2，SEQ ID NO:14所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:190所示的HCDR1，SEQ ID NO:231所示的HCDR2，SEQ ID NO:14所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:195所示的HCDR1，SEQ ID NO:198所示的HCDR2，SEQ ID NO:14所示的

HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:183所示的HCDR1，SEQ ID NO:221所示的HCDR2，SEQ ID NO:14所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:234所示的HCDR1，SEQ ID NO:251所示的HCDR2，SEQ ID NO:12所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:8所示的HCDR1，SEQ ID NO:252所示的HCDR2，SEQ ID NO:12所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:8所示的HCDR1，SEQ ID NO:253所示的HCDR2，SEQ ID NO:12所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:181所示的HCDR1，SEQ ID NO:254所示的HCDR2，SEQ ID NO:12所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:181所示的HCDR1，SEQ ID NO:255所示的HCDR2，SEQ ID NO:12所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:181所示的HCDR1，SEQ ID NO:256所示的HCDR2，SEQ ID NO:12所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:235所示的HCDR1，SEQ ID NO:257所示的HCDR2，SEQ ID NO:12所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:186所示的HCDR1，SEQ ID NO:202所示的HCDR2，SEQ ID NO:12所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:236所示的HCDR1，SEQ ID NO:258所示的HCDR2，SEQ ID NO:12所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:237所示的HCDR1，SEQ ID NO:259所示的HCDR2，SEQ ID NO:12所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:181所示的HCDR1，SEQ ID NO:260所示的HCDR2，SEQ ID NO:12所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:238所示的HCDR1，SEQ ID NO:261所示的HCDR2，SEQ ID NO:12所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:8所示的HCDR1，SEQ ID NO:262所示的HCDR2，SEQ ID NO:12所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID

NO:235 所示的 HCDR1，SEQ ID NO:263 所示的 HCDR2，SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:237 所示的 HCDR1，SEQ ID NO:264 所示的 HCDR2，SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:8 所示的 HCDR1，SEQ ID NO:265 所示的 HCDR2，SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:239 所示的 HCDR1，SEQ ID NO:266 所示的 HCDR2，SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:237 所示的 HCDR1，SEQ ID NO:267 所示的 HCDR2，SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:236 所示的 HCDR1，SEQ ID NO:268 所示的 HCDR2，SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:238 所示的 HCDR1，SEQ ID NO:269 所示的 HCDR2，SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:240 所示的 HCDR1，SEQ ID NO:270 所示的 HCDR2，SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:241 所示的 HCDR1，SEQ ID NO:271 所示的 HCDR2，SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:237 所示的 HCDR1，SEQ ID NO:272 所示的 HCDR2，SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:242 所示的 HCDR1，SEQ ID NO:273 所示的 HCDR2，SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:242 所示的 HCDR1，SEQ ID NO:274 所示的 HCDR2，SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:185 所示的 HCDR1，SEQ ID NO:275 所示的 HCDR2，SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:243 所示的 HCDR1，SEQ ID NO:276 所示的 HCDR2，SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:187 所示的 HCDR1，SEQ ID NO:277 所示的 HCDR2，SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:244所示的HCDR1，SEQ ID NO:278所示的HCDR2，SEQ ID NO:12所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:245所示的HCDR1，SEQ ID NO:279所示的HCDR2，SEQ ID NO:12所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:240所示的HCDR1，SEQ ID NO:280所示的HCDR2，SEQ ID NO:12所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:181所示的HCDR1，SEQ ID NO:281所示的HCDR2，SEQ ID NO:12所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:237所示的HCDR1，SEQ ID NO:282所示的HCDR2，SEQ ID NO:12所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:8所示的HCDR1，SEQ ID NO:283所示的HCDR2，SEQ ID NO:12所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:246所示的HCDR1，SEQ ID NO:284所示的HCDR2，SEQ ID NO:12所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:247所示的HCDR1，SEQ ID NO:285所示的HCDR2，SEQ ID NO:12所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:237所示的HCDR1，SEQ ID NO:286所示的HCDR2，SEQ ID NO:12所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:237所示的HCDR1，SEQ ID NO:287所示的HCDR2，SEQ ID NO:12所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:8所示的HCDR1，SEQ ID NO:288所示的HCDR2，SEQ ID NO:12所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:194所示的HCDR1，SEQ ID NO:289所示的HCDR2，SEQ ID NO:12所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:181所示的HCDR1，SEQ ID NO:290所示的HCDR2，SEQ ID NO:12所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:243所示的HCDR1，SEQ ID NO:291所示的HCDR2，SEQ ID NO:12所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:8所示的HCDR1，SEQ ID NO:292所示的HCDR2，SEQ ID NO:12所示的

HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:181所示的HCDR1，SEQ ID NO:255所示的HCDR2，SEQ ID NO:12所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:244所示的HCDR1，SEQ ID NO:293所示的HCDR2，SEQ ID NO:12所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:247所示的HCDR1，SEQ ID NO:294所示的HCDR2，SEQ ID NO:12所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:194所示的HCDR1，SEQ ID NO:295所示的HCDR2，SEQ ID NO:12所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:238所示的HCDR1，SEQ ID NO:296所示的HCDR2，SEQ ID NO:12所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:181所示的HCDR1，SEQ ID NO:297所示的HCDR2，SEQ ID NO:12所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:181所示的HCDR1，SEQ ID NO:298所示的HCDR2，SEQ ID NO:12所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:8所示的HCDR1，SEQ ID NO:299所示的HCDR2，SEQ ID NO:12所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:248所示的HCDR1，SEQ ID NO:300所示的HCDR2，SEQ ID NO:12所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:181所示的HCDR1，SEQ ID NO:301所示的HCDR2，SEQ ID NO:12所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:237所示的HCDR1，SEQ ID NO:302所示的HCDR2，SEQ ID NO:12所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:237所示的HCDR1，SEQ ID NO:9所示的HCDR2，SEQ ID NO:12所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:181所示的HCDR1，SEQ ID NO:303所示的HCDR2，SEQ ID NO:12所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:304所示的HCDR1，SEQ ID NO:318所示的HCDR2，SEQ ID NO:16所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID

NO:304 所示的 HCDR1，SEQ ID NO:319 所示的 HCDR2，SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元包含 SEQ ID NO:305 所示的 HCDR1，SEQ ID NO:320 所示的 HCDR2，SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元包含 SEQ ID NO:306 所示的 HCDR1，SEQ ID NO:321 所示的 HCDR2，SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元包含 SEQ ID NO:307 所示的 HCDR1，SEQ ID NO:322 所示的 HCDR2，SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元包含 SEQ ID NO:308 所示的 HCDR1，SEQ ID NO:323 所示的 HCDR2，SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元包含 SEQ ID NO:306 所示的 HCDR1，SEQ ID NO:324 所示的 HCDR2，SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元包含 SEQ ID NO:306 所示的 HCDR1，SEQ ID NO:321 所示的 HCDR2，SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元包含 SEQ ID NO:305 所示的 HCDR1，SEQ ID NO:325 所示的 HCDR2，SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元包含 SEQ ID NO:309 所示的 HCDR1，SEQ ID NO:326 所示的 HCDR2，SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元包含 SEQ ID NO:310 所示的 HCDR1，SEQ ID NO:327 所示的 HCDR2，SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元包含 SEQ ID NO:311 所示的 HCDR1，SEQ ID NO:328 所示的 HCDR2，SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元包含 SEQ ID NO:305 所示的 HCDR1，SEQ ID NO:329 所示的 HCDR2，SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元包含 SEQ ID NO:238 所示的 HCDR1，SEQ ID NO:330 所示的 HCDR2，SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元包含 SEQ ID NO:309 所示的 HCDR1，SEQ ID NO:331 所示的 HCDR2，SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元包含 SEQ ID NO:305 所示的 HCDR1，SEQ ID NO:332 所示的 HCDR2，SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:308所示的HCDR1，SEQ ID NO:333所示的HCDR2，SEQ ID NO:16所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:310所示的HCDR1，SEQ ID NO:334所示的HCDR2，SEQ ID NO:16所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:307所示的HCDR1，SEQ ID NO:335所示的HCDR2，SEQ ID NO:16所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:312所示的HCDR1，SEQ ID NO:336所示的HCDR2，SEQ ID NO:16所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:310所示的HCDR1，SEQ ID NO:337所示的HCDR2，SEQ ID NO:16所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:311所示的HCDR1，SEQ ID NO:338所示的HCDR2，SEQ ID NO:16所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:313所示的HCDR1，SEQ ID NO:339所示的HCDR2，SEQ ID NO:16所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:305所示的HCDR1，SEQ ID NO:340所示的HCDR2，SEQ ID NO:16所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:310所示的HCDR1，SEQ ID NO:341所示的HCDR2，SEQ ID NO:16所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:314所示的HCDR1，SEQ ID NO:339所示的HCDR2，SEQ ID NO:16所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:315所示的HCDR1，SEQ ID NO:342所示的HCDR2，SEQ ID NO:16所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:310所示的HCDR1，SEQ ID NO:343所示的HCDR2，SEQ ID NO:16所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:310所示的HCDR1，SEQ ID NO:344所示的HCDR2，SEQ ID NO:16所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:310所示的HCDR1，SEQ ID NO:339所示的HCDR2，SEQ ID NO:16所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:305所示的HCDR1，SEQ ID NO:345所示的HCDR2，SEQ ID NO:16所示的

HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:305所示的HCDR1，SEQ ID NO:346所示的HCDR2，SEQ ID NO:16所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:306所示的HCDR1，SEQ ID NO:347所示的HCDR2，SEQ ID NO:16所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:307所示的HCDR1，SEQ ID NO:339所示的HCDR2，SEQ ID NO:16所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:235所示的HCDR1，SEQ ID NO:348所示的HCDR2，SEQ ID NO:16所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:314所示的HCDR1，SEQ ID NO:349所示的HCDR2，SEQ ID NO:16所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:316所示的HCDR1，SEQ ID NO:350所示的HCDR2，SEQ ID NO:16所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:306所示的HCDR1，SEQ ID NO:351所示的HCDR2，SEQ ID NO:16所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:304所示的HCDR1，SEQ ID NO:352所示的HCDR2，SEQ ID NO:16所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:309所示的HCDR1，SEQ ID NO:353所示的HCDR2，SEQ ID NO:16所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:310所示的HCDR1，SEQ ID NO:354所示的HCDR2，SEQ ID NO:16所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:305所示的HCDR1，SEQ ID NO:355所示的HCDR2，SEQ ID NO:16所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:305所示的HCDR1，SEQ ID NO:356所示的HCDR2，SEQ ID NO:16所示的HCDR3，SEQ ID NO:26所示的LCDR1，SEQ ID NO:27所示的LCDR2和SEQ ID NO:28所示的LCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:241所示的HCDR1，SEQ ID NO:357所示的HCDR2，SEQ ID NO:16所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗Nectin-4抗体或抗原结合单元包含SEQ ID NO:317所示的HCDR1，SEQ ID NO:358所示的HCDR2，SEQ ID NO:16所示的HCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元还包含 SEQ ID NO:26 所示的 LCDR1，SEQ ID NO:27 所示的 LCDR2 和 SEQ ID NO:28 所示的 LCDR3。

在一个或多个实施方式中，所述变体序列与所述对应的 CDR 序列分别具有 3，2 或 1 个氨基酸差异（优选保守氨基酸置换）或分别具有至少 60%、65%、70%、75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%同一性，并且所述变体保留与 Nectin-4 的结合亲和力。

在一个或多个实施方式中，所述抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元来自鸟类和哺乳动物。在一个或多个实施方式中，所述抗 Nectin-4 抗体是人源、鼠源、驴源、兔源、山羊源、骆驼源、美洲驼源、马源或鸡源抗体。

在一个或多个实施方式中，所述抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元的重链可变区中的框架区 HFR1-HFR4 的序列分别如 SEQ ID NO:29-32 所示。在一个或多个实施方式中，所述抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元的重链可变区中的框架区 HFR1 的序列如 SEQ ID NO:41-180 任一项所示的序列的位置 1-30 位氨基酸序列所示，HFR2-HFR4 的序列分别如 SEQ ID NO:30-32 所示。在一个或多个实施方式中，所述抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元的轻链可变区中的框架区 LFR1-LFR4 的序列分别如 SEQ ID NO:33-36 所示。

在一个或多个实施方式中，所述抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元包含选自以下各项组成的组的重链可变区，或其变体：

(1) 包含 SEQ ID NO:7 所示的序列或由其组成的重链可变区；
(2) 包含 SEQ ID NO:11 所示的序列或由其组成的重链可变区；
(3) 包含 SEQ ID NO:13 所示的序列或由其组成的重链可变区；
(4) 包含 SEQ ID NO:15 所示的序列或由其组成的重链可变区；
(5) 包含 SEQ ID NO:17 所示的序列或由其组成的重链可变区；
(6) 包含 SEQ ID NO:19 所示的序列或由其组成的重链可变区；
(7) 包含 SEQ ID NO:21 所示的序列或由其组成的重链可变区；
(8) 包含 SEQ ID NO:23 所示的序列或由其组成的重链可变区；
(9) 包含 SEQ ID NO:41-180 任一项所示的序列或由其组成的重链可变区，

其中所述变体序列与所述对应的可变区序列分别具有 3，2 或 1 个氨基酸差异（优选保守氨基酸置换）或分别具有至少 60%、65%、70%、75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%同一性，并且所述变体保留与 Nectin-4 的结合亲和力。

在一个或多个实施方式中，所述抗体或抗原结合单元还包含 SEQ ID NO:25 所示的轻链可变区。

在一个或多个实施方式中，所述抗体或抗原结合单元还包含重链恒定区和/或轻链恒定区。在一个或多个实施方式中，所述重链恒定区选自 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 型。在一个或多个实施方式中，所述轻链恒定区是λ链或κ链恒定区。

在一个或多个实施方式中，所述重链恒定区包含如 SEQ ID NO:37 所示的氨基酸序列，或与 SEQ ID NO:37 所示的氨基酸序列相比具有至少 80%、至少 90%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%或至少 99%序列同一性的氨基酸序列，或与 SEQ ID NO:37 所示的氨基酸序列相比具有一个或多个保守氨基酸取代的氨基酸序列。在一个或多个实施方式中，所述轻链恒定区包含如 SEQ ID NO:38

所示的氨基酸序列，或与 SEQ ID NO:38 所示的氨基酸序列相比具有至少 80%、至少 90%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%或至少 99%序列同一性的氨基酸序列，或与 SEQ ID NO:38 所示的氨基酸序列相比具有一个或多个保守氨基酸取代的氨基酸序列。在一个或多个实施方式中，所述重链恒定区包含如 SEQ ID NO:37 所示的氨基酸序列，所述轻链恒定区包含如 SEQ ID NO:38 所示的氨基酸序列。

在一个或多个实施方式中，所述抗 Nectin-4 抗体包含重链和轻链。在一个或多个实施方式中，所述抗 Nectin-4 抗体包含两条序列相同的重链和两条序列相同的轻链。

在一个或多个实施方式中，所述抗 Nectin-4 抗体的重链包含 SEQ ID NO:7，SEQ ID NO:11，SEQ ID NO:13，SEQ ID NO:15，SEQ ID NO:17，SEQ ID NO:19，SEQ ID NO:21，SEQ ID NO:23 和 SEQ ID NO:41-180 任一项所示的重链可变区和 SEQ ID NO:37 所示的重链恒定区。在一个或多个实施方式中，所述抗 Nectin-4 抗体的轻链包含 SEQ ID NO:25 所示的轻链可变区和 SEQ ID NO:38 所示的轻链恒定区。

在一个或多个实施方式中，所述抗 Nectin-4 抗体的重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:232，SEQ ID NO:233，SEQ ID NO:249 和 SEQ ID NO:360-363 任一项所示。在一个或多个实施方式中，轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO:250 所示。在一个或多个实施方式中，所述抗 Nectin-4 抗体的重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:232，SEQ ID NO:233，SEQ ID NO:249 和 SEQ ID NO:360-363 任一项所示，轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO:250 所示。

在一个或多个实施方式中，所述抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元，其中所述抗原结合单元选自 Fab、Fab'、$F(ab')_2$、$F(ab)_2$、Fd、Fv、dAb、Fab/c、互补决定区片段、scFv、scFv 多聚体、二硫键稳定性 Fv (dsFv)、$(dsFv)_2$、双特异性 dsFv(dsFv-dsFv')、双链抗体(Diabody)、二硫键稳定的双链抗体(ds-Diabody)、由包含一个或多个 CDR 的抗体的一部分形成的多特异性抗体、单域抗体(sdAb)、纳米抗体、结构域抗体或二价结构域抗体。

在一个或多个实施方式提供特异性结合 Nectin-4 的多肽，其选自以下各项组成的组：

(1) 多肽，其包含 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3 的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分，其中 HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8，SEQ ID NO:181-195，SEQ ID NO:234-248 和 SEQ ID NO:304-317 任一项所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9，SEQ ID NO:196-231，SEQ ID NO:251-303 和 SEQ ID NO:318-358 任一项所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:10，SEQ ID NO:12，SEQ ID NO:14，SEQ ID NO:16，SEQ ID NO:18，SEQ ID NO:20，SEQ ID NO:22，SEQ ID NO:24 任一项所示的序列或由其组成；

(2) 多肽，其包含 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3 的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分，其中 HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:10 所示的序列或由其组成；

(3) 多肽，其包含 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3 的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分，其中 HCDR1 的序列

包含 SEQ ID NO:8，SEQ ID NO:181，SEQ ID NO:185，SEQ ID NO:186，SEQ ID NO:187，SEQ ID NO:194 和 SEQ ID NO:234-248 任一项所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9，SEQ ID NO:202 和 SEQ ID NO:251-303 任一项所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:12 所示的序列或由其组成；

(4) 多肽，其包含 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3 的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分，其中 HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 和 SEQ ID NO:181-195 任一项所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 和 SEQ ID NO:196-231 任一项所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:14 所示的序列或由其组成；

(5) 多肽，其包含 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3 的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分，其中 HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8，SEQ ID NO:235，SEQ ID NO:238，SEQ ID NO:241 和 SEQ ID NO:304-317 任一项所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 和 SEQ ID NO:318-358 任一项所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:16 所示的序列或由其组成；

(6)多肽，其包含 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3 的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分，其中 HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:18 所示的序列或由其组成；

(7) 多肽，其包含 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3 的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分，其中 HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:20 所示的序列或由其组成；

(8) 多肽，其包含 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3 的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分，其中 HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:22 所示的序列或由其组成；

(9) 多肽，其包含 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3 的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分，其中 HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:24 所示的序列或由其组成；

(10) 多肽，其包含 SEQ ID NO:7 所示的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分；

(11) 多肽，其包含 SEQ ID NO:11 所示的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分；

(12) 多肽，其包含 SEQ ID NO:13 所示的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分；

(13) 多肽，其包含 SEQ ID NO:15 所示的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分；

(14) 多肽，其包含 SEQ ID NO:17 所示的序列或其变体，其中所述多肽作为

特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分；

(15) 多肽，其包含 SEQ ID NO:19 所示的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分；

(16) 多肽，其包含 SEQ ID NO:21 所示的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分；

(17) 多肽，其包含 SEQ ID NO:23 所示的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分；

(18) 多肽，其包含 SEQ ID NO: 41-180 任一项所示的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分。

在一个或多个实施方式中，所述多肽还包含 SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27 和 SEQ ID NO:28 所示的序列。在一个或多个实施方式中，所述多肽还包含 SEQ ID NO:25 所示的序列或其变体。

在一个或多个实施方式提供一种生物材料，为

（1）核酸分子，其编码所述的抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元，或特异性结合 Nectin-4 的多肽，或其一部分；

（2）载体，其包含编码所述的抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元，或特异性结合 Nectin-4 的多肽的核酸分子；或

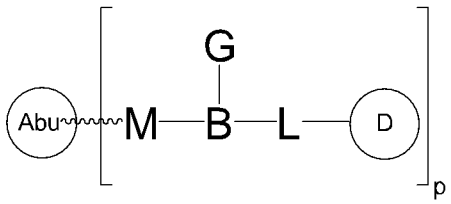
（3）宿主细胞，其包含编码所述的抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元，或特异性结合 Nectin-4 的多肽的核酸分子。

在一个或多个实施方式提供制备本文所述的抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元、特异性结合 Nectin-4 的多肽的方法，包括培养含有编码所述抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元或多肽的核酸分子的宿主细胞，可选的还包括分离所述抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元或多肽。

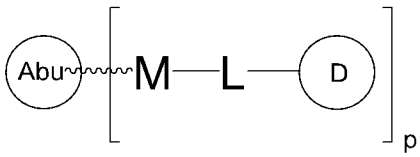
在一个或多个实施方式提供一种抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂合物，其包含通过接头与药物（如本文所述药物）偶联的所述抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元。

在一个或多个实施方式中，所述接头为可裂解的接头。

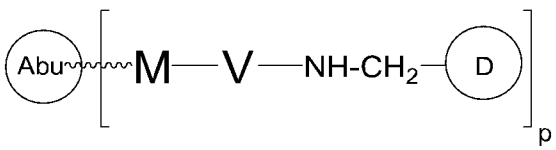
在一个或多个实施方式提供具有式 I-A、式 I-B、式 I-C 结构或者其立体异构体的抗体药物偶联物或者其药学上可接受的盐或溶剂合物：



式 I-A



式 I-B

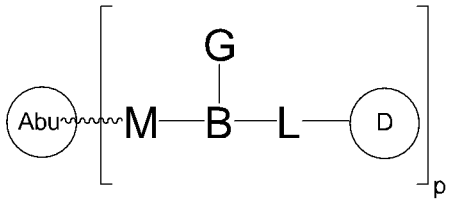


式 I-C

Abu 为本申请的抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元或特异性结合 Nectin-4 的多肽；

D 为药物（如本文所述药物）。

在一个或多个实施方式提供具有式 I-A 结构或者其立体异构体的抗体药物偶联物或者其药学上可接受的盐或溶剂合物，

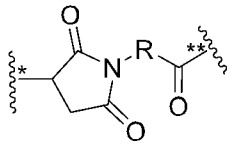


式 I-A

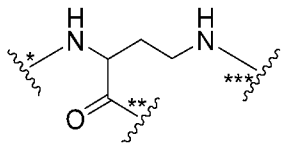
其中

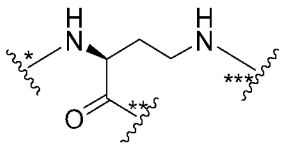
Abu 为本申请的抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元或特异性结合 Nectin-4 的多肽；

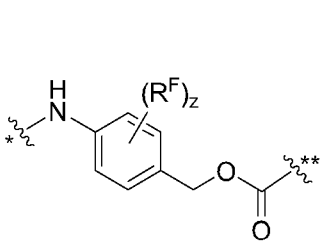
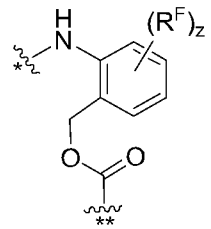
D 为药物（如本文所述药物）；

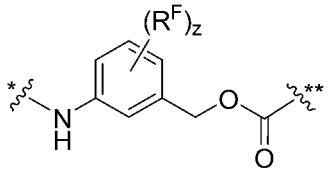


M 为 ，其中*连接 Abu，**连接 B，R 选自：$-(CH_2)_r-$、$-(CHR^m)_r-$、C3-C8 碳环基、$-O-(CH_2)_r-$、亚芳基、$-(CH_2)_r-$亚芳基-、-亚芳基-$(CH_2)_r-$、$-(CH_2)_r-$(C3-C8 碳环基)-、-(C3-C8 碳环基)-$(CH_2)_r-$、C3-C8 杂环基、$-(CH_2)_r-$(C3-C8 杂环基)-、-(C3-C8 杂环基)-$(CH_2)_r-$、$-(CH_2)_rC(O)NR^m(CH_2)_r-$、$-(CH_2CH_2O)_r-$、$-(CH_2CH_2O)_r-CH_2-$、$-(CH_2)_rC(O)NR^m(CH_2CH_2O)_r-$、$-(CH_2)_rC(O)NR^m(CH_2CH_2O)_r-CH_2-$、$-(CH_2CH_2O)_rC(O)NR^m(CH_2CH_2O)_r-$、$-(CH_2CH_2O)_rC(O)NR^m(CH_2CH_2O)_r-CH_2-$和$-(CH_2CH_2O)_rC(O)NR^m(CH_2)_r-$；其中各 R^m 独立为 H、C1-C6 烷基、C3-C8 碳环基、苯基或苄基；并且各 r 独立为 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10；

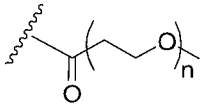


B 为 ，或为  ；其中*连接 M，**连接 L，***连接 G；

L 为$-(AA)_i-(FF)_f-$，其中，AA 为氨基酸或多肽，i 是 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 或 20；或各 AA 独立选自以下氨基酸或肽序列：Val-Cit、Val-Lys、Phe-Lys、Lys-Lys、Ala-Lys、Phe-Cit、Leu-Cit、Ile-Cit、Trp、Cit、Phe-Ala、Phe-Phe-Lys、D-Phe-Phe-Lys、Gly-Phe-Lys、Leu-Ala-Leu、Ile-Ala-Leu、Val-Ala-Val、Ala-Leu-Ala-Leu、β-Ala-Leu-Ala-Leu 和 Gly-Phe-Leu-Gly；各 FF 独立为  、  或



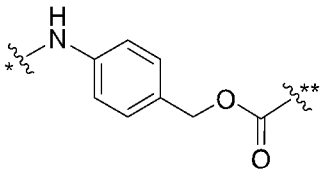
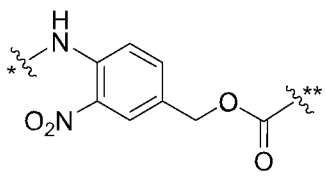
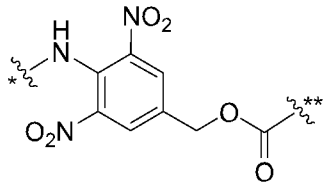
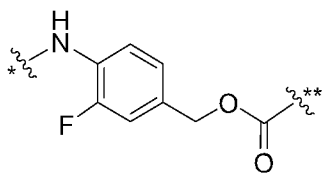
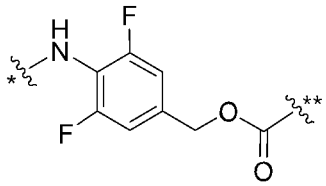
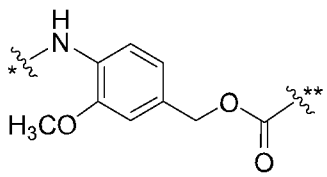
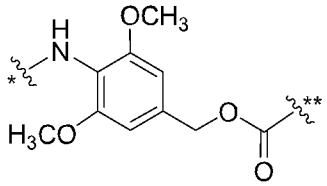
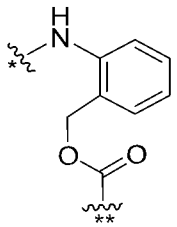
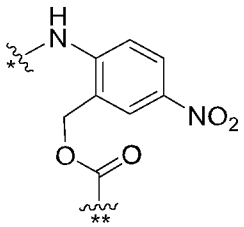
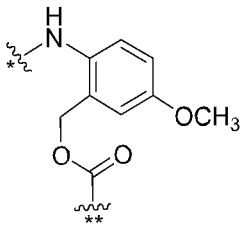
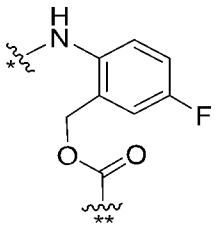
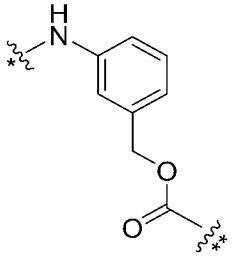
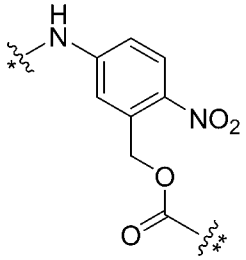
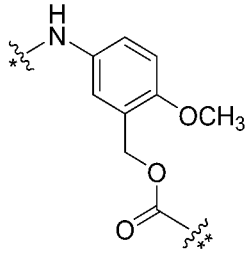
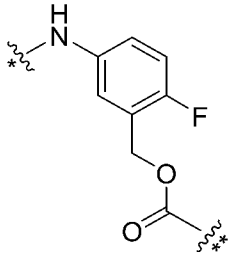
，其中各 R^F 独立为 C1-C6 烷基、C1-C6 烷氧基、$-NO_2$ 或卤素，其中*连接 AA，**连接 D，z 为 0、1、2、3 或 4；f 为 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10；

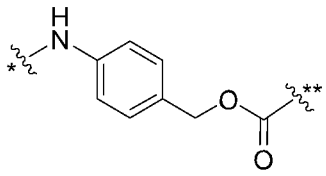
G 为 ，其中 n 为 1-24，例如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23 或 24；例如 4、8、10、12、16、18 或 24；

p 为 1-10。

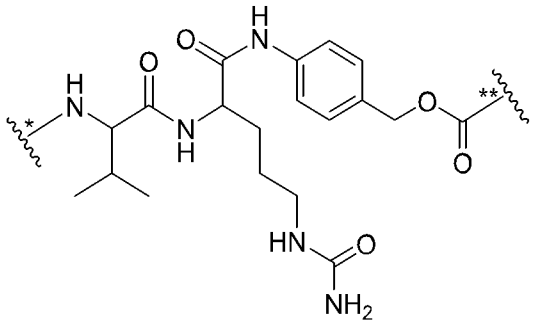
在一个或多个实施方式中，R 为 $-(CH_2)_r-$，r 为 1 或 5。

在一个或多个实施方式中，AA 为 Val-Cit，i 为 1。

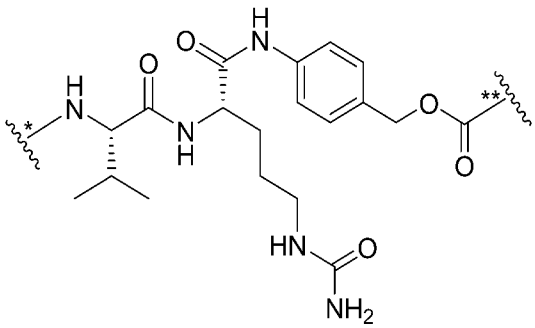
在一个或多个实施方式中，各 FF 独立为 、、、、、、、、、、、、、、或 ，其中*连接 AA，**连接 D。



在一个或多个实施方式中，FF 为 ，f 为 1，其中*连接 AA，**连接 D。



在一个或多个实施方式中，L 为 ，其中*连接 B，**连接 D。



在一个或多个实施方式中，L 为 ，其中*连接 B，**连接 D。

在一个或多个实施方式中，n 为 4-12。

在一个或多个实施方式中，n 为 4-8。

在一个或多个实施方式中，n 为 4。

在一个或多个实施方式中，n 为 8。

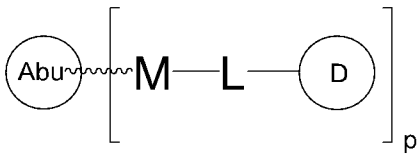
在一个或多个实施方式中，p 为 2-8。

在一个或多个实施方式中，p 为 4-8。

在一个或多个实施方式中，p 为 6-8。

在一个或多个实施方式中，p 为 7-8。

在一个或多个实施方式提供具有式I-B结构或者其立体异构体的抗体药物偶联物或者其药学上可接受的盐或溶剂合物，

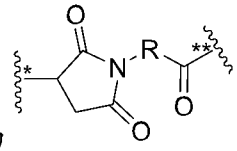


式 I-B

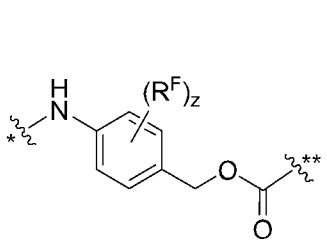
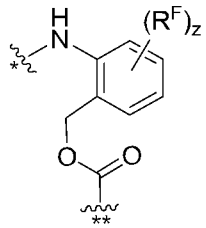
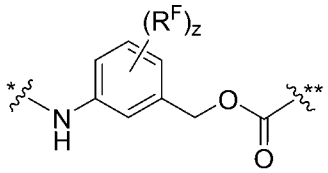
其中

Abu 为本申请的抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元或特异性结合 Nectin-4 的多肽；

D 为药物（如本文所述药物）；

M为 ，其中*连接Abu，**连接L，R选自：-$(CH_2)_r$-、-$(CHR^m)_r$-、C3-C8碳环基、-O-$(CH_2)_r$-、亚芳基、-$(CH_2)_r$-亚芳基-、-亚芳基-$(CH_2)_r$-、-$(CH_2)_r$-(C3-C8碳环基)-、-(C3-C8碳环基)-$(CH_2)_r$-、C3-C8杂环基、-$(CH_2)_r$-(C3-C8杂环基)-、-(C3-C8杂环基)-$(CH_2)_r$-、-$(CH_2)_rC(O)NR^m(CH_2)_r$-、-$(CH_2CH_2O)_r$-、-$(CH_2CH_2O)_r$-CH_2-、-$(CH_2)_rC(O)NR^m(CH_2CH_2O)_r$-、-$(CH_2)_rC(O)NR^m(CH_2CH_2O)_r$-$CH_2$-、-$(CH_2CH_2O)_rC(O)NR^m(CH_2CH_2O)_r$-、-$(CH_2CH_2O)_rC(O)NR^m(CH_2CH_2O)_r$-$CH_2$-和-$(CH_2CH_2O)_rC(O)NR^m(CH_2)_r$-；其中各$R^m$独立为H、C1-C6烷基、C3-C8碳环基、苯基或苄基；并且各r独立为1、2、3、4、5、6、7、8、9或10；

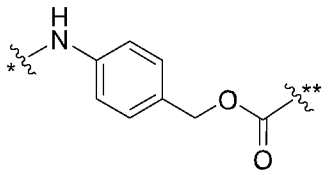
L为-$(AA)_i$-$(FF)_f$-，其中，AA为氨基酸或多肽，i是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20；各AA独立选自以下氨基酸或肽序列：Val-Cit、Val-Lys、Phe-Lys、Lys-Lys、Ala-Lys、Phe-Cit、Leu-Cit、Ile-Cit、Trp、Cit、Phe-Ala、Phe-Phe-Lys、D-Phe-Phe-Lys、Gly-Phe-Lys、Leu-Ala-Leu、Ile-Ala-Leu、Val-Ala-Val、Ala-Leu-Ala-Leu、β-Ala-Leu-Ala-Leu和Gly-Phe-Leu-Gly；

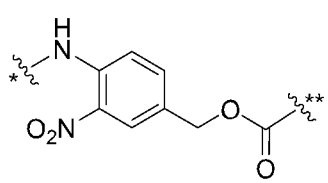
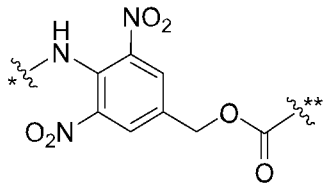
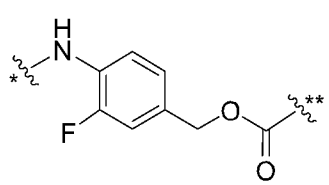
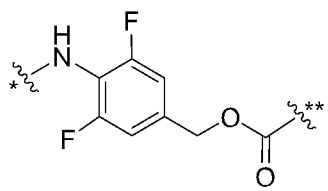
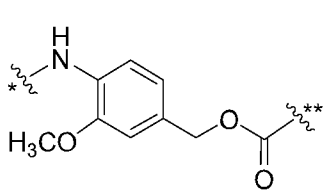
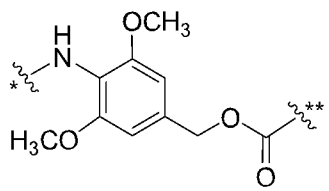
各FF独立为 、或，其中各R^F独立为C1-C6烷基、C1-C6烷氧基、-NO_2或卤素，其中*连接AA，**连接D；z为0、1、2、3或4；f为1、2、3、4、5、6、7、8、9或10；

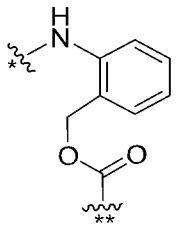
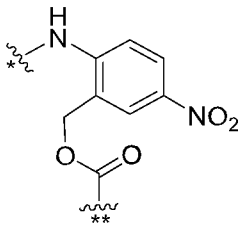
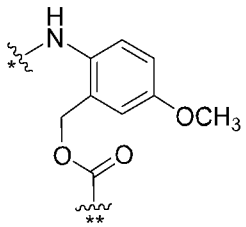
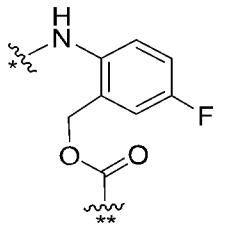
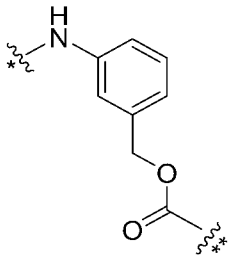
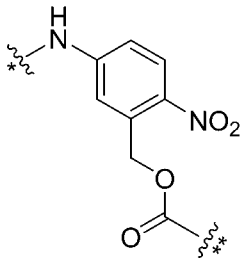
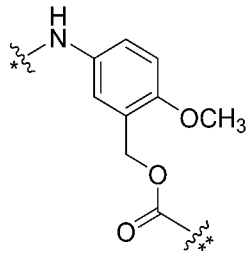
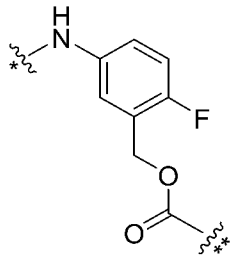
p为1-10。

在一个或多个实施方式中，R为-$(CH_2)_r$-，r为1或5。

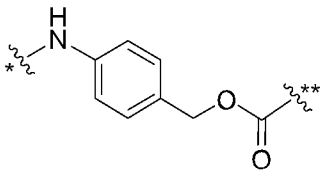
在一个或多个实施方式中，AA为Val-Cit，i为1。



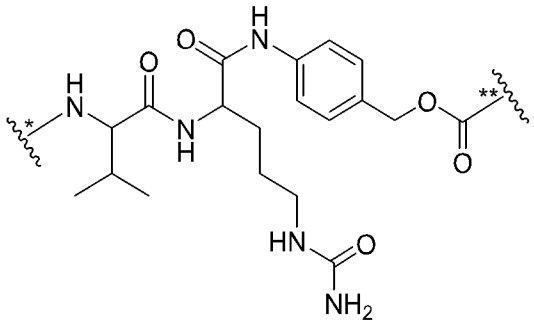
在一个或多个实施方式中，各FF独立为 、、、、、、


、
、
、
、
、
、
、
、或，

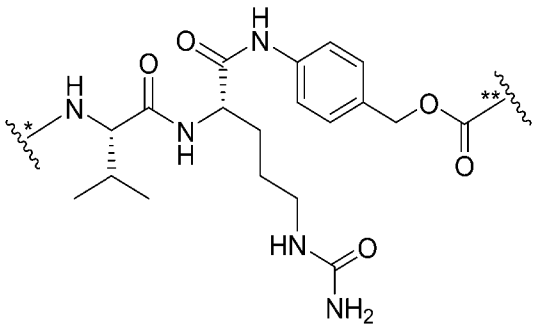
其中*连接 AA，**连接 D。



在一个或多个实施方式中，FF 为 ，f 为 1；其中*连接 AA，**连接 D。



在一个或多个实施方式中，L 为 ，其中*连接 M，**连接 D。



在一个或多个实施方式中，L 为 ，其中*连接 M，**连接 D。

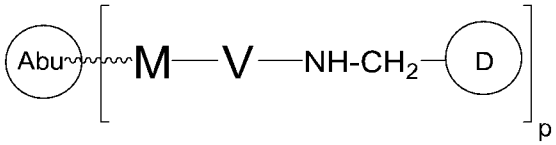
在一个或多个实施方式中，p 为 2-8。

在一个或多个实施方式中，p 为 4-8。

在一个或多个实施方式中，p 为 6-8。

在一个或多个实施方式中，p 为 7-8。

在一个或多个实施方式提供具有式I-C结构或者其立体异构体的抗体药物偶联物或者其药学上可接受的盐或溶剂合物，

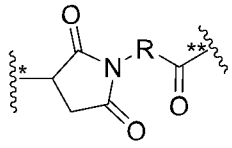


式 I-C

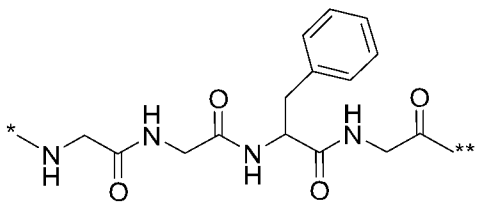
其中

Abu 为本申请的抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元或特异性结合 Nectin-4 的多肽；

D 为药物（如本文所述药物）；



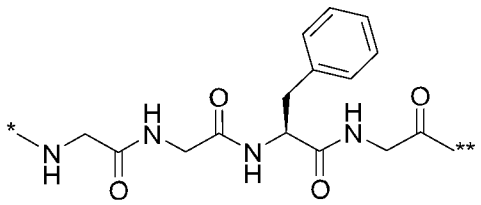
M 为 ，其中*连接 Abu，**连接 V，R 选自：$-(CH_2)_r-$、$-(CHR^m)_r-$、C3-C8 碳环基、$-O-(CH_2)_r-$、亚芳基、$-(CH_2)_r-$亚芳基-、-亚芳基-$(CH_2)r-$、$-(CH_2)_r-$(C3-C8 碳环基)-、-(C3-C8 碳环基)-$(CH_2)_r-$、C3-C8 杂环基、$-(CH_2)_r-$(C3-C8 杂环基)-、-(C3-C8 杂环基)-$(CH_2)_r-$、$-(CH_2)_rC(O)NR^m(CH_2)_r-$、$-(CH_2CH_2O)_r-$、$-(CH_2CH_2O)_r-CH_2-$、$-(CH_2)_rC(O)NR^m(CH_2CH_2O)_r-$、$-(CH_2)_rC(O)NR^m(CH_2CH_2O)_r-CH_2-$、$-(CH_2CH_2O)_rC(O)NR^m(CH_2CH_2O)_r-$、$-(CH_2CH_2O)_rC(O)NR^m(CH_2CH_2O)_r-CH_2-$和$-(CH_2CH_2O)_rC(O)NR^m(CH_2)_r-$；其中各 R^m 独立为 H、C1-C6 烷基、C3-C8 碳环基、苯基或苄基；并且各 r 独立为 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10；



V 为 ，其中*连接 M，**连接-$NH-CH_2-$；

p 为 1-10。

在一个或多个实施方式中，R 为$-(CH_2)_r-$，r 为 1 或 5。

在一个或多个实施方式中，V 为  ，其中*连接 M，**连接-$NH-CH_2-$。

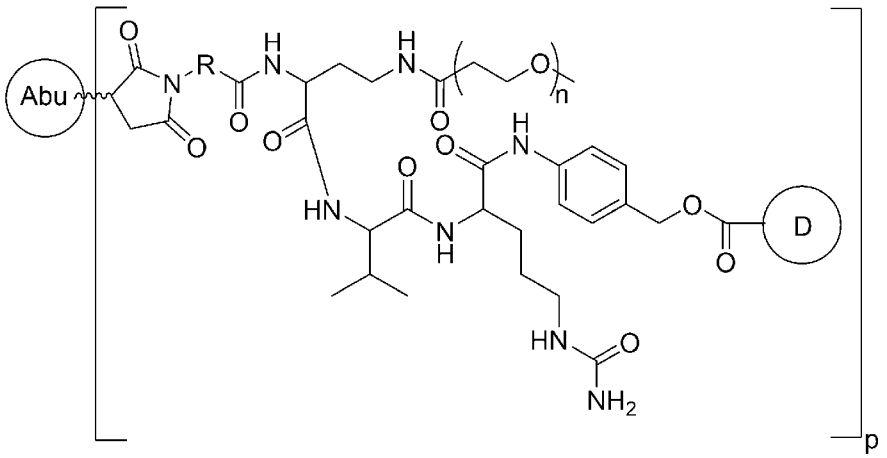
在一个或多个实施方式中，p 为 2-8。

在一个或多个实施方式中，p 为 4-8。

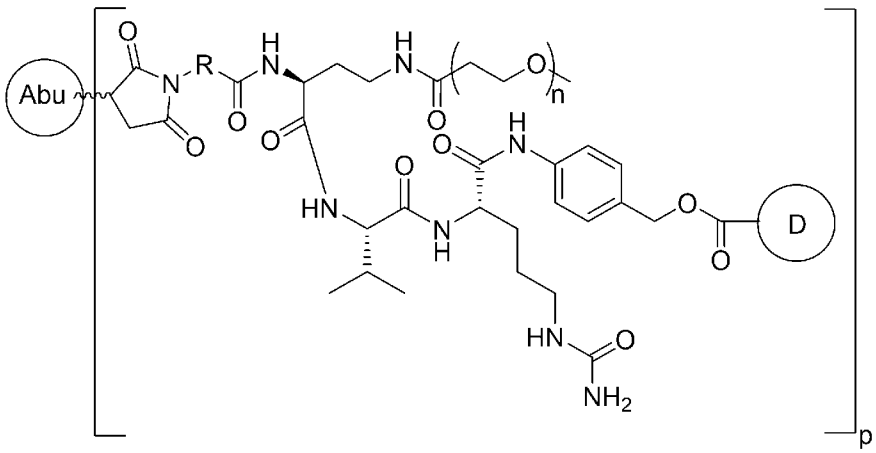
在一个或多个实施方式中，p 为 6-8。

在一个或多个实施方式中，p 为 7-8。

在一个或多个实施方式中，提供具有式 I-A-1 或 I-A-2 结构或者其立体异构体的抗体药物偶联物或者其药学上可接受的盐或溶剂合物，其中所述式 I-A-1、I-A-2 为：



式 I-A-1



式 I-A-2

其中

Abu 为本申请的抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元或特异性结合 Nectin-4 的多肽；

R 选自：$-(CH_2)_r-$、$-(CHR^m)_r-$、C3-C8 碳环基、$-O-(CH_2)_r-$、亚芳基、$-(CH_2)_r-$亚芳基-、-亚芳基$-(CH_2)r-$、$-(CH_2)_r-$(C3-C8 碳环基)-、-(C3-C8 碳环基)$-(CH_2)_r-$、C3-C8 杂环基、$-(CH_2)_r-$(C3-C8 杂环基)-、-(C3-C8 杂环基)$-(CH_2)_r-$、$-(CH_2)_rC(O)NR^m(CH_2)_r-$、$-(CH_2CH_2O)_r-$、$-(CH_2CH_2O)_r-CH_2-$、$-(CH_2)_rC(O)NR^m(CH_2CH_2O)_r-$、$-(CH_2)_rC(O)NR^m(CH_2CH_2O)_r-CH_2-$、$-(CH_2CH_2O)_rC(O)NR^m(CH_2CH_2O)_r-$、$-(CH_2CH_2O)_rC(O)NR^m(CH_2CH_2O)_r-CH_2-$ 和 $-(CH_2CH_2O)_rC(O)NR^m(CH_2)_r-$；其中各 R^m 独立为 H、C1-C6 烷基、C3-C8 碳环基、苯基或苄基；并且各 r 独立为 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10；

D 为药物（如本文所述药物）；

n 为 1-24 的整数，例如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23 或 24；例如 4、8、10、12、16、18 或 24；

p 为 1-10。

在一个或多个实施方式中，R 为$-(CH_2)r-$，r 为 1 或 5。

在一个或多个实施方式中，n 为 4-12。

在一个或多个实施方式中，n 为 4-8。

在一个或多个实施方式中，n 为 4。

在一个或多个实施方式中，n 为 8。

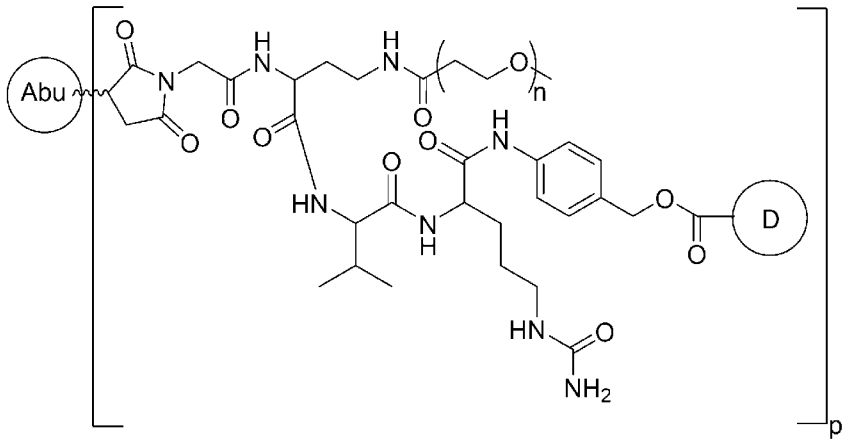
在一个或多个实施方式中，p 为 2-8。

在一个或多个实施方式中，p 为 4-8。

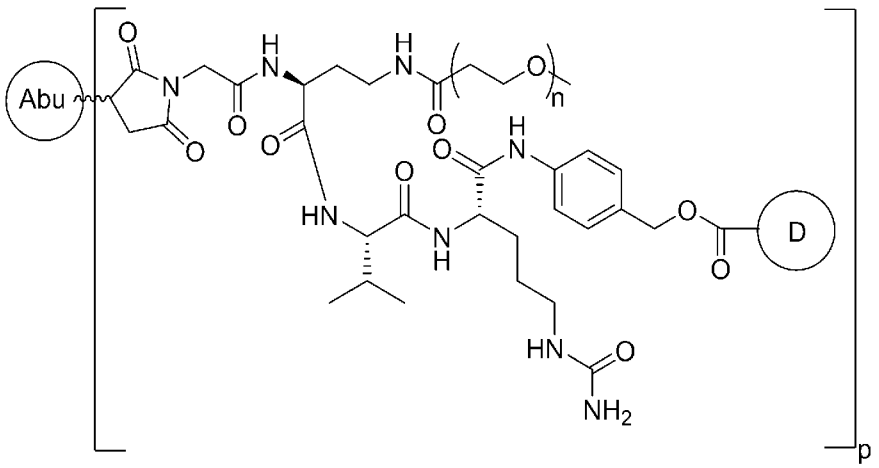
在一个或多个实施方式中，p 为 6-8。

在一个或多个实施方式中，p 为 7-8。

在一个或多个实施方式提供具有式 I-A-3 或 I-A-4 结构或者其立体异构体的抗体药物偶联物或者其药学上可接受的盐或溶剂合物，其中所述式 I-A-3、I-A-4 为：



式 I-A-3



式 I-A-4

其中

Abu 为本申请的抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元或特异性结合 Nectin-4 的多肽；

D 为药物（如本文所述药物）；

n 为 1-24 的整数，例如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23 或 24，例如 4、8、10、12、16、18 或 24；

p 为 1-10。

在一个或多个实施方式中，n 为 4-12。

在一个或多个实施方式中，n 为 4-8。

在一个或多个实施方式中，n 为 4。

在一个或多个实施方式中，n 为 8。

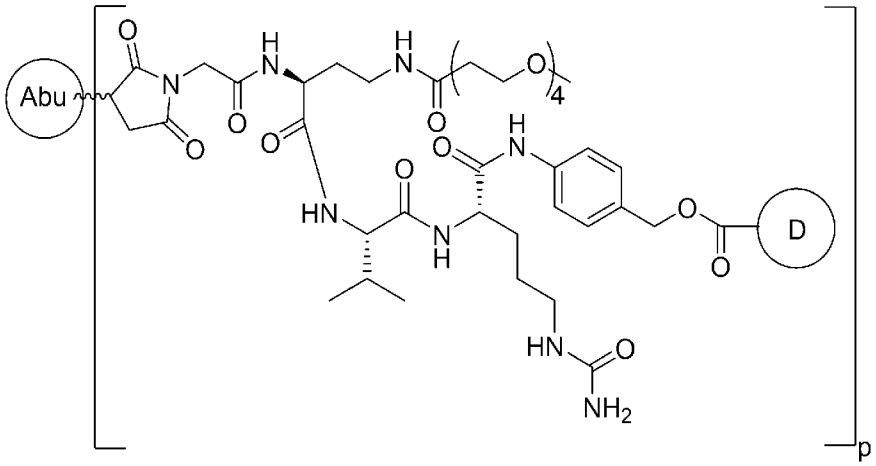
在一个或多个实施方式中，p 为 2-8。

在一个或多个实施方式中，p 为 4-8。

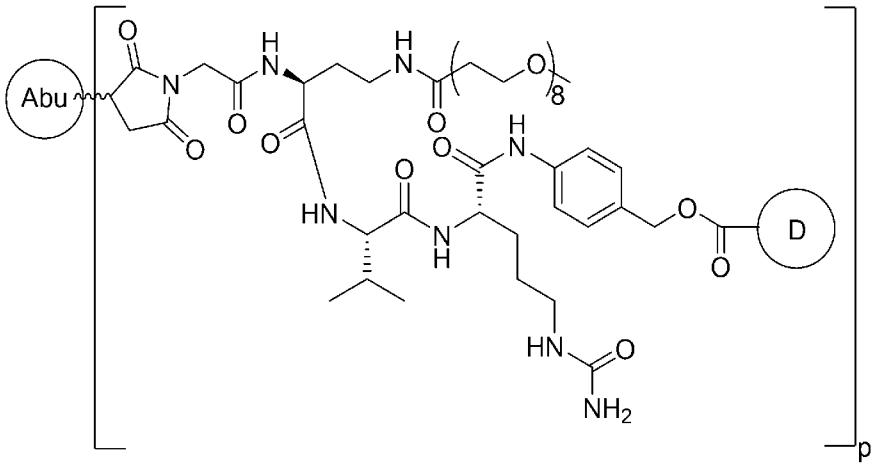
在一个或多个实施方式中，p 为 6-8。

在一个或多个实施方式中，p 为 7-8。

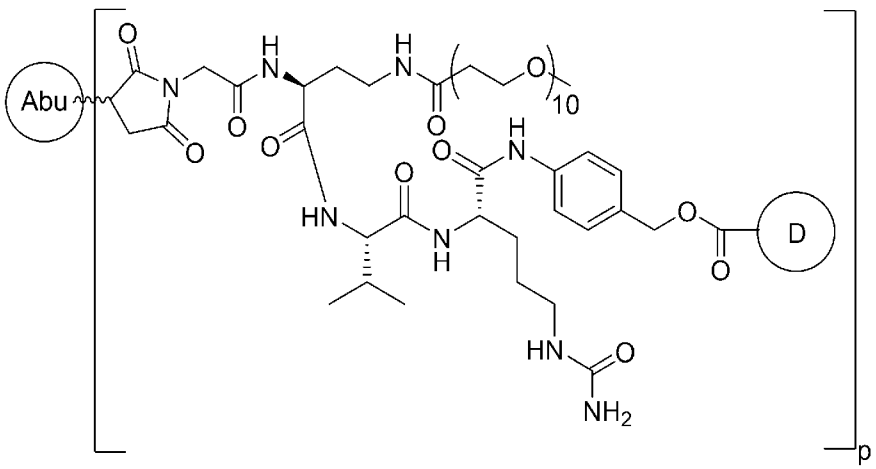
在一个或多个实施方式提供具有式 I-A-5、I-A-6、I-A-7、I-A-8、I-A-9、I-A-10 或 I-A-11 结构或者其立体异构体的抗体药物偶联物或者其药学上可接受的盐或溶剂合物，其中所述式 I-A-5、I-A-6、I-A-7、I-A-8、I-A-9、I-A-10、I-A-11 为：



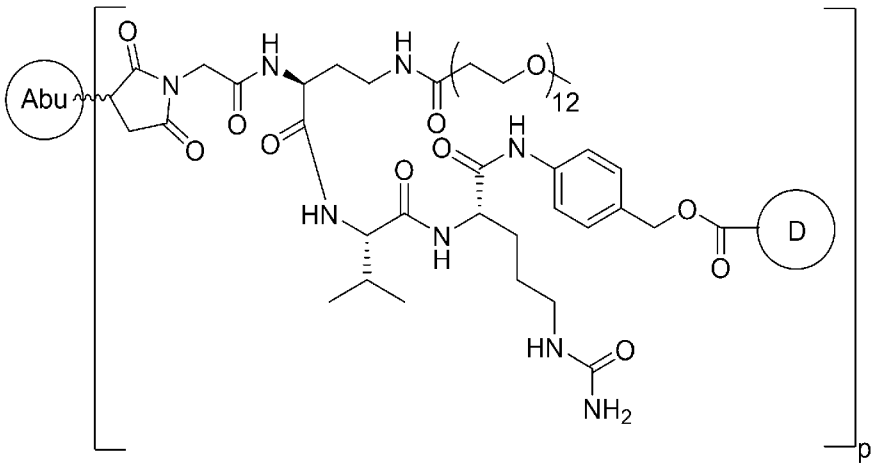
式 I-A-5



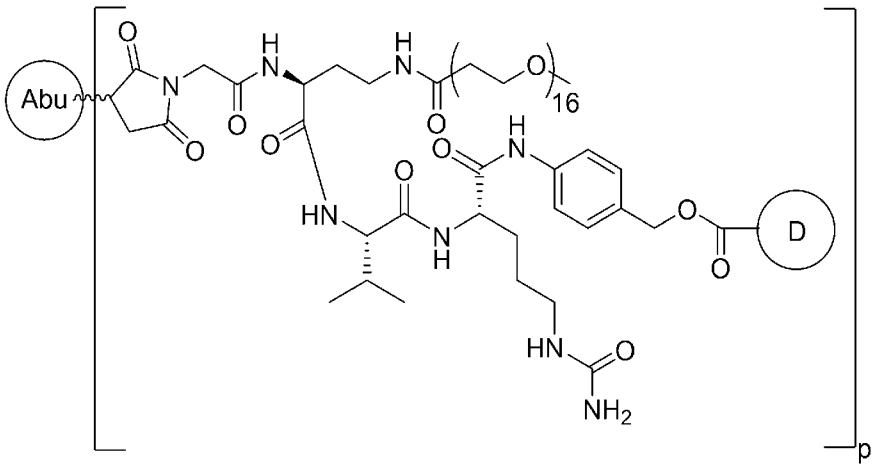
式 I-A-6



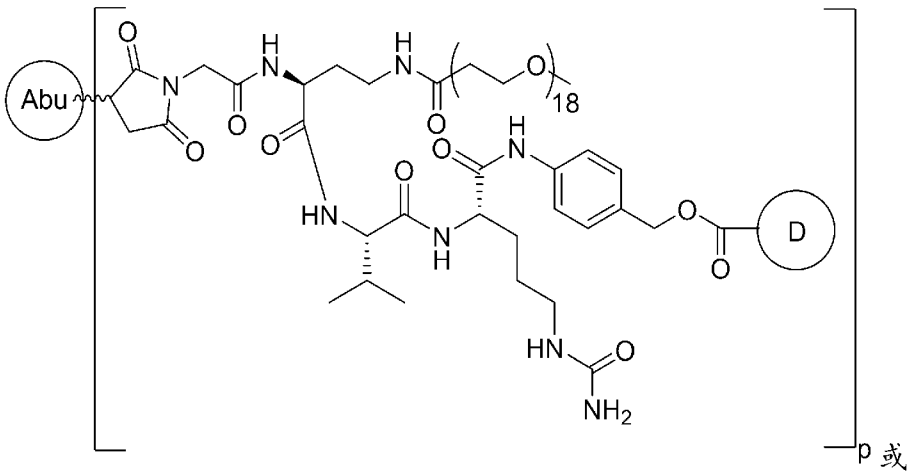
式 I-A-7



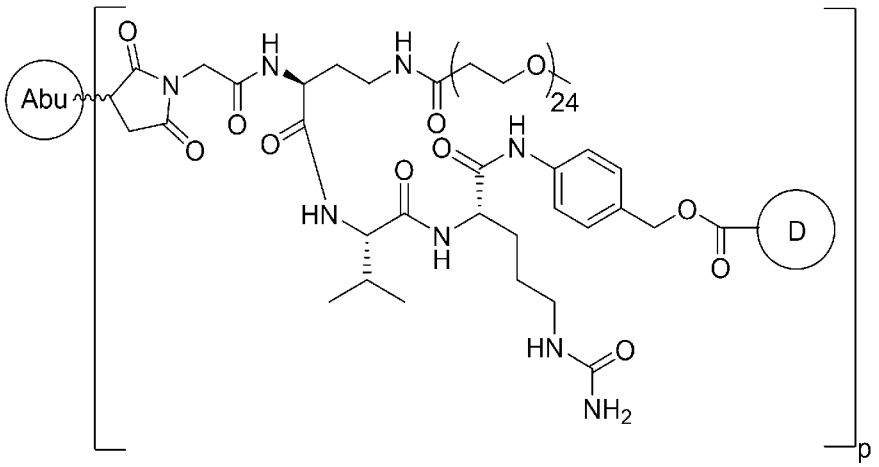
式 I-A-8



式 I-A-9



式 I-A-10



式 I-A-11

其中

Abu 为本申请的抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元或特异性结合 Nectin-4 的多肽；

D 为药物（如本文所述药物）；

p 为 1-10。

在一个或多个实施方式中，p 为 2-8。

在一个或多个实施方式中，p 为 4-8。

在一个或多个实施方式中，p 为 6-8。

在一个或多个实施方式中，p 为 7-8。

在一个或多个实施方式中，本文所述抗体药物偶联物中药物为细胞毒性药物、细胞分化因子、干细胞营养因子、类固醇类药物、治疗自身免疫疾病的药物、抗炎症药物或治疗传染性疾病的药物。

在一个或多个实施方式中，药物为抗癌药物。

在一个或多个实施方式中，药物为微管蛋白抑制剂、DNA 损伤剂或 DNA 拓扑异构酶抑制剂。

在一个或多个实施方式中，药物为微管蛋白抑制剂，所述微管蛋白抑制剂选自海兔毒素(dolastatin)、奥瑞他汀(auristatin)类、美登素(maytansine)类。

在一个或多个实施方式中，药物为奥瑞他汀(auristatin)类，选自单甲基澳瑞他汀 E(monomethyl auristatin E;MMAE)、单甲基澳瑞他汀 F(monomethyl auristatin F；MMAF)、和澳瑞他汀 F(auristatin F；AF)。

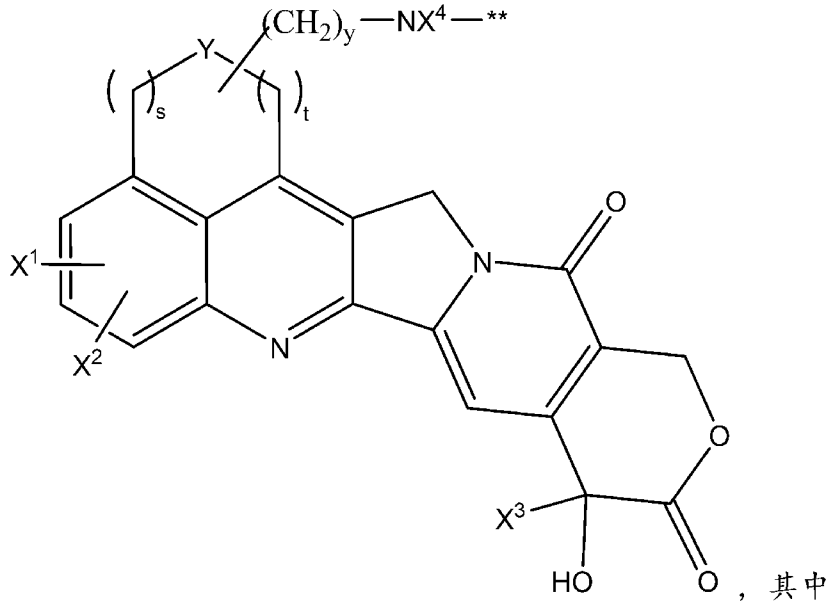
在一个或多个实施方式中，药物为 DNA 损伤剂，选自卡奇霉素(calicheamicin)类、倍癌霉素(duocarmycin)类、安曲霉素类衍生物 PBD(pyrrolobenzodiazepine，吡咯并苯并二氮杂)。

在一个或多个实施方式中，药物为 DNA 拓扑异构酶抑制剂或其盐，选自伊立替康、伊立替康盐酸盐、喜树碱、9-氨基喜树碱、9-硝基喜树碱、10-羟基喜树碱、9-氯-10-羟基喜树碱、喜树碱类衍生物 SN-38、22-羟基旱莲木碱、拓扑替康、勒托替康、贝洛替康、依喜替康、硅基高喜树碱(homosilatecan)、6,8-二溴-2-甲基-3-[2-(D-吡喃木糖基氨基)苯基]-4(3H)-喹唑啉酮、2-氯基-3-(3,4-二羟基苯基)-N-(苯基甲基)-(2E)-2-丙烯酰胺、2-氯基-3-(3,4-二羟基苯基)-N-(3-羟基苯基丙基)-(E)-2-丙烯酰胺、12-β-D-吡喃葡萄糖基-12,13-二氢-2,10-二羟基-6-[[2-羟基-1-(羟基甲基)乙基]氨基]-5H-吲哚并[2,3-a]吡咯并[3,4-c]咔唑-5,7(6H)-二酮、

N-[2-(二甲基氨基)乙基]-4-吖啶甲酰胺二盐酸盐、N-[2-(二甲基氨基)乙基]-4-吖啶甲酰胺。

在一个或多个实施方式中，所述 DNA 拓扑异构酶抑制剂为喜树碱、10-羟基喜树碱、拓扑替康、贝洛替康、伊立替康、22-羟基旱莲木碱或依喜替康。

在一个或多个实施方式中，药物为



，其中

X^1 和 X^2 各自独立地为：

H，

羟基，

C1-C6 烷基，

被一个或多个羟基、卤素、硝基或氰基取代的 C1-C6 烷基，

C2-C6 烯基，

C2-C6 炔基，

C1-C6 烷氧基，

C1-C6 氨基烷氧基，

卤素，

硝基，

氰基，

巯基，

烷硫基，

氨基，被氨基保护基取代的氨基，在氨基部分任选被氨基保护基或 C1-C6 烷基取代的 C1-C6 氨基烷基，

在氨基部分任选被氨基保护基或 C1-C6 烷基取代的 C1-C6 氨基烷基氨基，

连接至杂环的 C1-C6 烷基，所述杂环任选被一个或多个 C1-C6 烷基、C1-C6 烷氧基、氨基、卤素、硝基或氰基取代，

连接至杂环的 C1-C6 烷基氨基，所述杂环任选被 C1-C6 烷基、C1-C6 烷氧基取代，所述氨基任选被氨基保护基、卤素、硝基、氰基或保护基取代，

氨基取代的杂环基，其在杂环部分的氮原子或氨基部分任选被保护基或一个或多个 C1-C6 烷基取代，

杂环氨基，其在杂环部分的氮原子或氨基部分任选被保护基或 C1-C6 烷基取代，

任选被氨基甲酰基保护基或 C1-C6 烷基取代的氨基甲酰基，

吗啉-1-基，或

哌啶-1-基；

X^3 为 C1-C6 烷基；

X^4 为 H、$-(CH_2)_q-CH_3$、$-(CHR^n)_q-CH_3$、C3-C8 碳环基、$-O-(CH_2)_q-CH_3$、亚芳基-CH_3、$-(CH_2)_q$-亚芳基-CH_3、-亚芳基-$(CH_2)_q-CH_3$、$-(CH_2)_q$-(C3-C8 碳环基)-CH_3、-(C3-C8 碳环基)-$(CH_2)_q-CH_3$、C3-C8 杂环基、$-(CH_2)_q$-(C3-C8 杂环基)-CH_3、-(C3-C8 杂环基)-$(CH_2)_q-CH_3$、$-(CH_2)_qC(O)NR^n(CH_2)_q-CH_3$、$-(CH_2CH_2O)_q-CH_3$、$-(CH_2CH_2O)_q-CH_2-CH_3$、$-(CH_2)_qC(O)NR^n(CH_2CH_2O)_q-CH_3$、$-(CH_2)_qC(O)NR^n(CH_2CH_2O)_q-CH_2-CH_3$、$-(CH_2CH_2O)_qC(O)NR^n(CH_2CH_2O)_q-CH_3$、$-(CH_2CH_2O)_qC(O)NR^n(CH_2CH_2O)_q-CH_2-CH_3$、或$-(CH_2CH_2O)_qC(O)NR^n(CH_2)_q-CH_3$；其中各 R^n 独立为 H、C1-C6 烷基、C3-C8 碳环基、苯基或苄基；并且各 q 独立为 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10；

**为连接点；

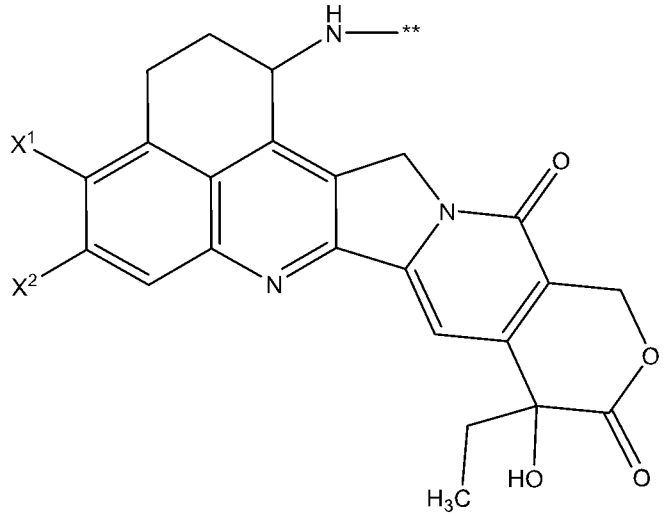
y 为 0、1 或 2；

Y 为 O、S 或 $CR^{1D}R^{2D}$，其中 R^{1D} 和 R^{2D} 各自独立地为 H 或 C1-C6 烷基；

s 和 t 各自独立为 0、1 或 2，但不同时为 0。

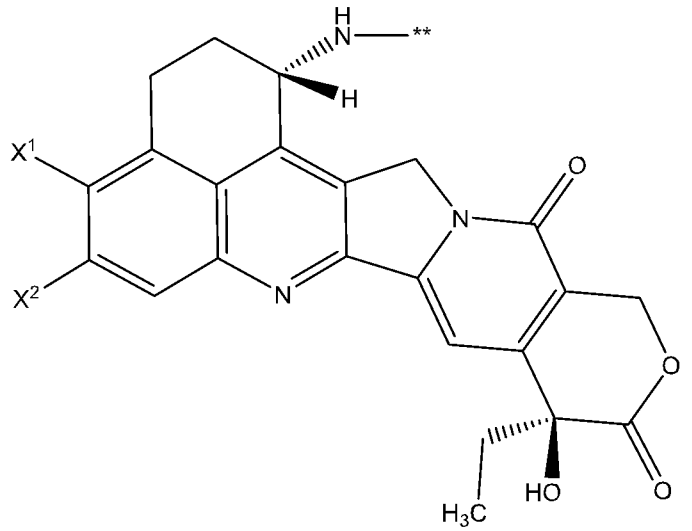
在一个或多个实施方式中，X^4 为 H 或 C1-C6 烷基。

在一个或多个实施方式中，药物为



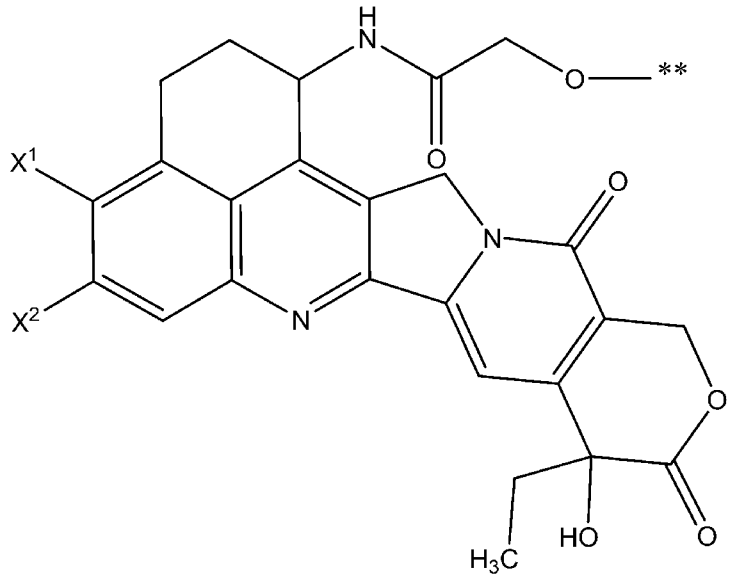
，其中 X^1 和 X^2 各自独立地为 C1-C6 烷基、卤素或-OH，**为连接点。

在一个或多个实施方式中，药物为



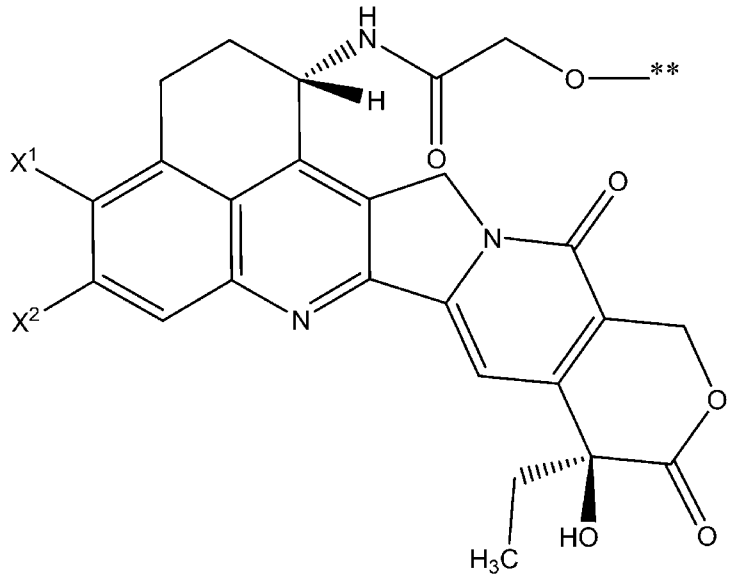
，其中 X^1 和 X^2 各自独立地为 C1-C6 烷基、卤素或-OH，**为连接点。

在一个或多个实施方式中，药物为



，其中 X^1 和 X^2 各自独立地为 C1-C6 烷基、卤素或-OH，**为连接点。

在一个或多个实施方式中，药物为



，其中 X^1 和 X^2 各自独立地为 C1-C6 烷基、卤素或-OH； **为连接点。

在一个或多个实施方式中，所述 C1-C6 烷基为-CH_3。

在一个或多个实施方式中，所述卤素为 F。

在一个或多个实施方式中，X^1 和 X^2 各自为-CH_3。

在一个或多个实施方式中，X^1 和 X^2 各自独立地为 F、Cl、Br 或 I。

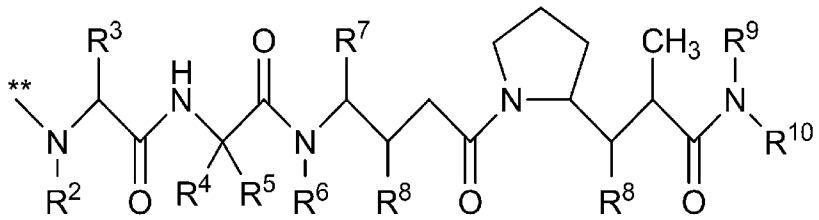
在一个或多个实施方式中，X^1 和 X^2 各自为 F。

在一个或多个实施方式中，X^1 和 X^2 各自独立地为-CH_3、F 或-OH。

在一个或多个实施方式中，X^1 和 X^2 各自独立地为 F 或-CH_3。

在一个或多个实施方式中，X^1 为-CH_3 及 X^2 为 F。

在一个或多个实施方式中，药物为



，其中

**为连接点；

R^2 为 H 或 C1-C8 烷基；

R^3 为 H、C1-C8 烷基、C3-C8 碳环基、芳基、C1-C8 烷基-芳基、C1-C8 烷基-(C3-C8 碳环基)、C3-C8 杂环基或 C_1-C_8 烷基-(C3-C8 杂环基)；

R^4 为 H、C1-C8 烷基、C3-C8 碳环基、芳基、C1-C8 烷基-芳基、C1-C8 烷基-(C3-C8 碳环基)、C3-C8 杂环基或 C1-C8 烷基-(C3-C8 杂环基)；

R^5 为 H 或甲基；

或者 R^4 和 R^5 连接形成碳环基，并具有式结构式-$(CR^aR^b)_j$-，其中 R^a 和 R^b 各自独立地为 H、C1-C8 烷基或 C3-C8 碳环基，j 为 2、3、4、5 和 6；

R^6 为 H 或 C1-C8 烷基；

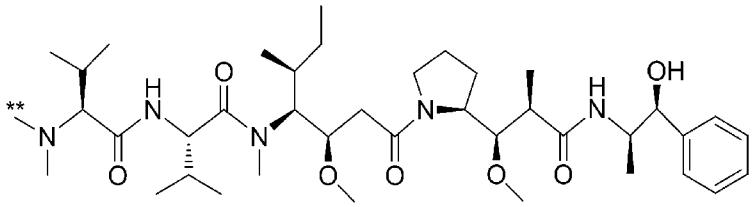
R^7 为 H、C1-C8 烷基、C3-C8 碳环基、芳基、C1-C8 烷基-芳基、C1-C8 烷基-(C3-C8 碳环基)、C3-C8 杂环基或 C1-C8 烷基-(C3-C8 杂环基)；

各个 R^8 各自独立为 H、OH、C_1-C_8 烷基、C3-C8 碳环基或 O-(C1-C8 烷基)；

R^9 为 H 或 C1-C8 烷基；并且

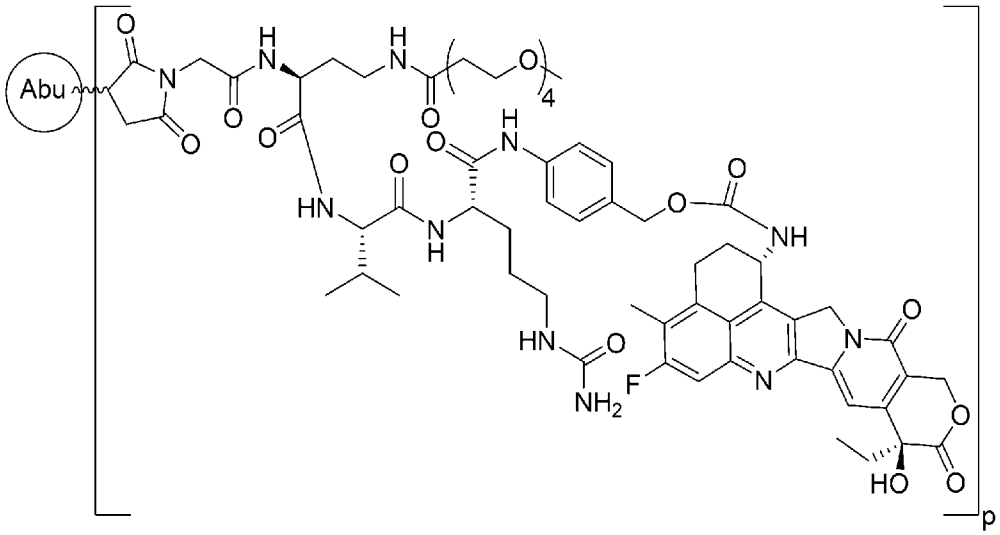
R^{10} 为 $–C(R^8)_2–C(R^8)_2–$ 芳基、$–C(R^8)_2–C(R^8)_2–$(C3-C8 杂环基)或 $–C(R^8)_2–C(R^8)_2–$(C3-C8 碳环基)。

在一个或多个实施方式中，药物为

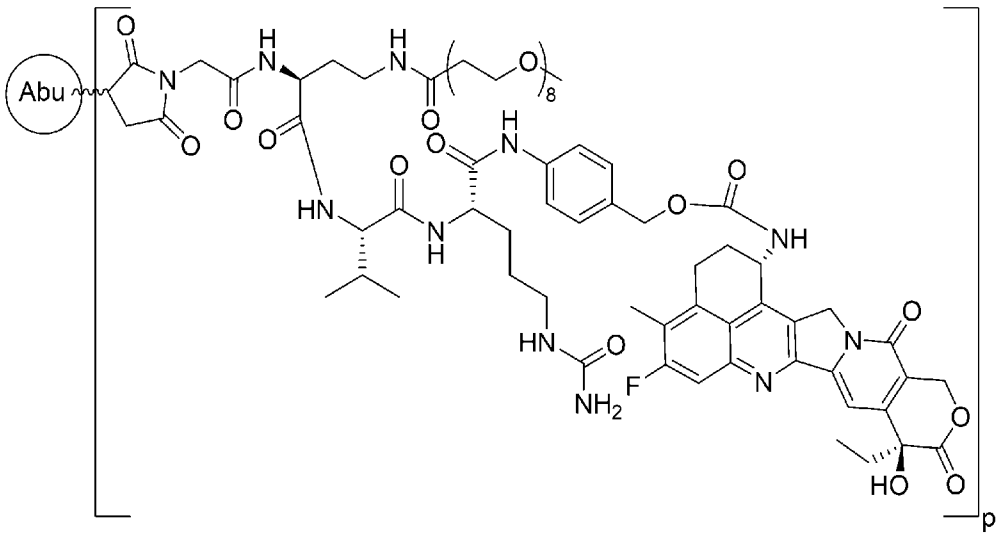


，其中**为连接点。

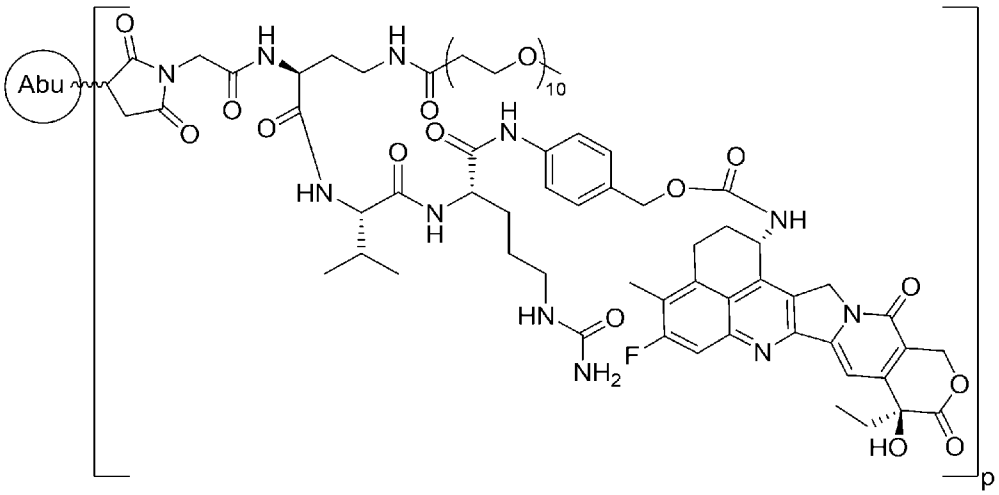
在一个或多个实施方式提供具有式 I-A-12、I-A-13、I-A-14、I-A-15、I-A-16、I-A-17、I-A-18、I-A-19、I-A-20、I-A-21、I-A-22、I-A-23、I-A-24 或 I-A-25 结构或者其立体异构体的抗体药物偶联物或者其药学上可接受的盐或溶剂合物，其中所述式 I-A-12、I-A-13、I-A-14、I-A-15、I-A-16、I-A-17、I-A-18、I-A-19、I-A-20、I-A-21、I-A-22、I-A-23、I-A-24、I-A-25 为：



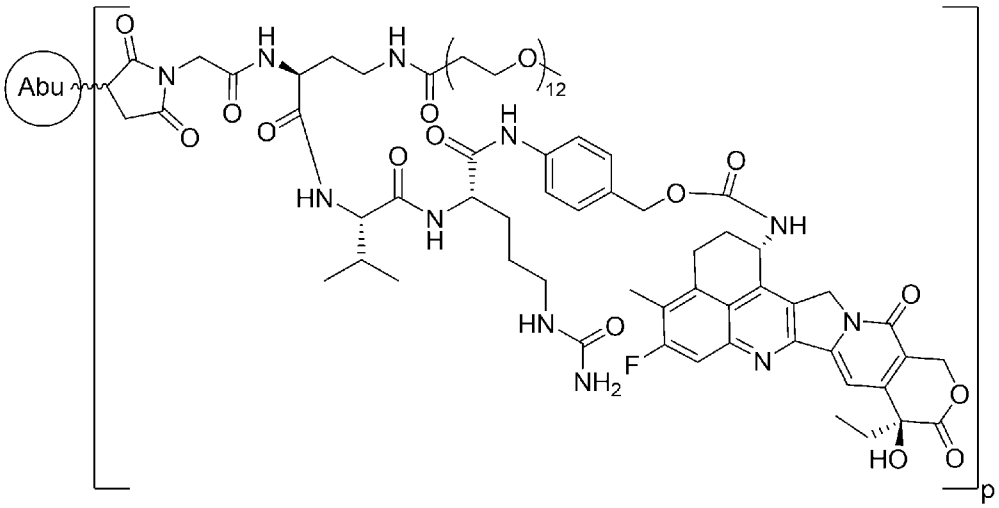
式 I-A-12



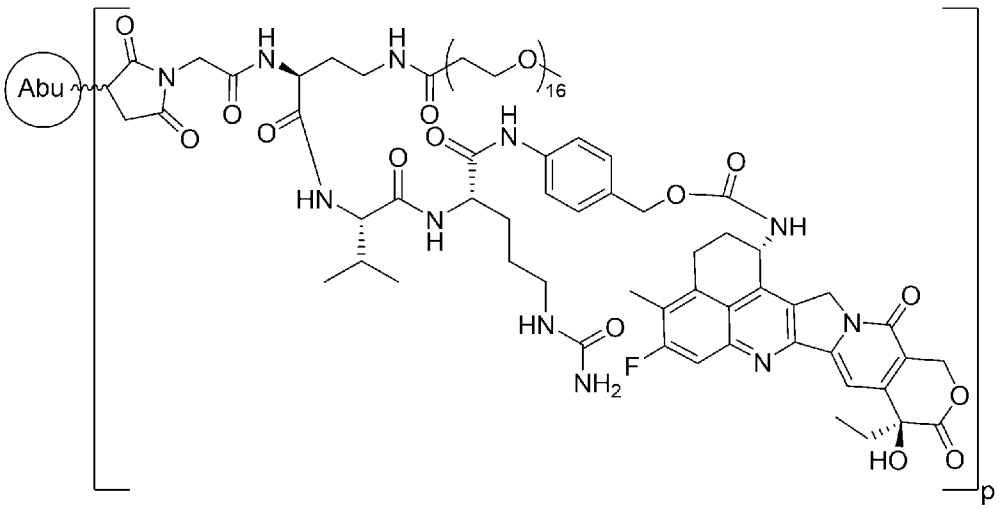
式 I-A-13



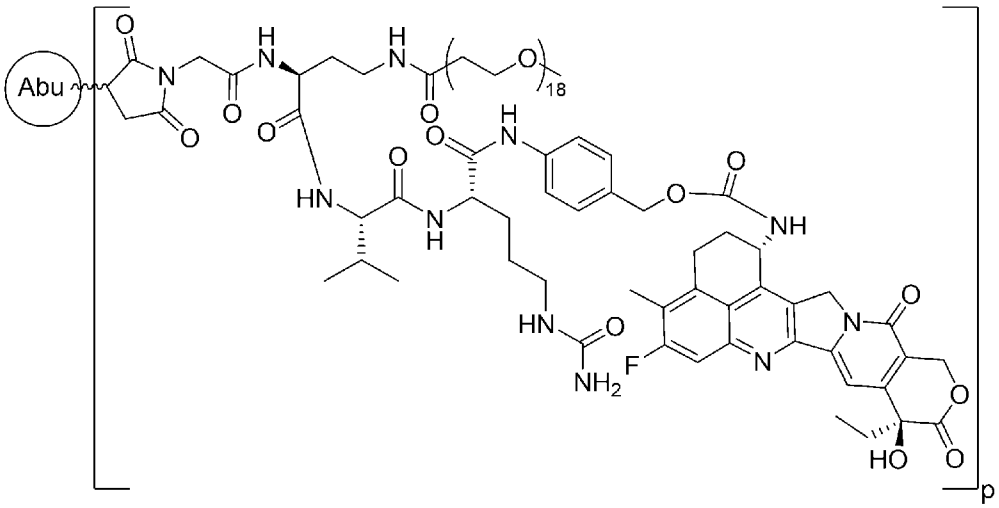
式 I-A-14



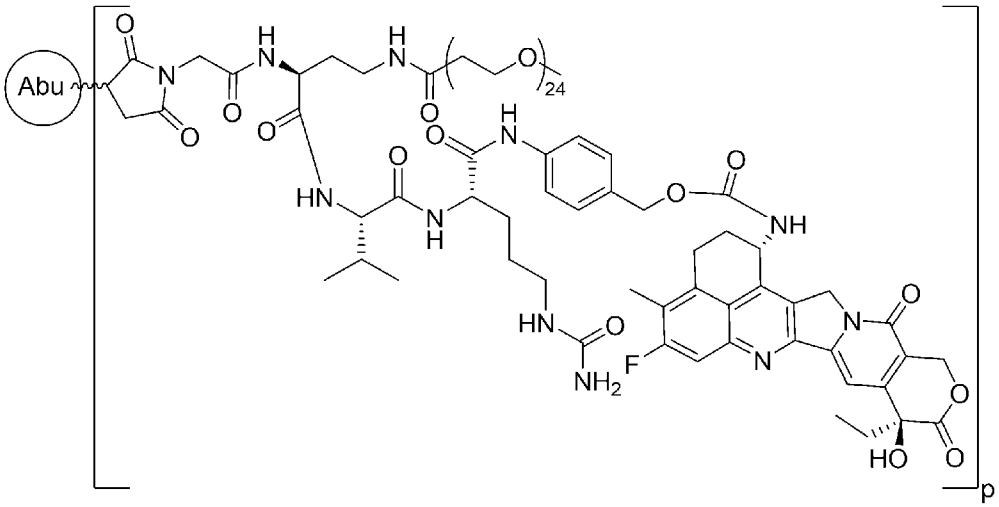
式 I-A-15



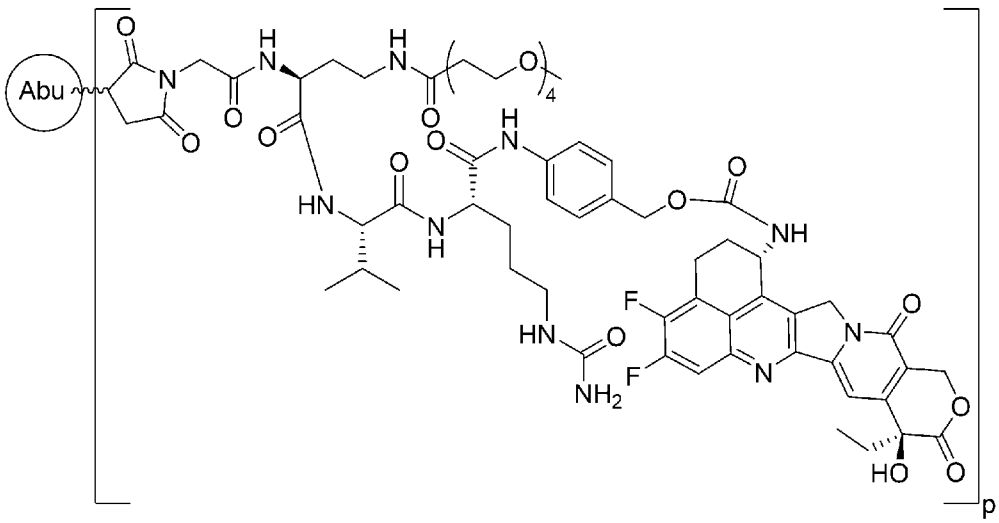
式 I-A-16



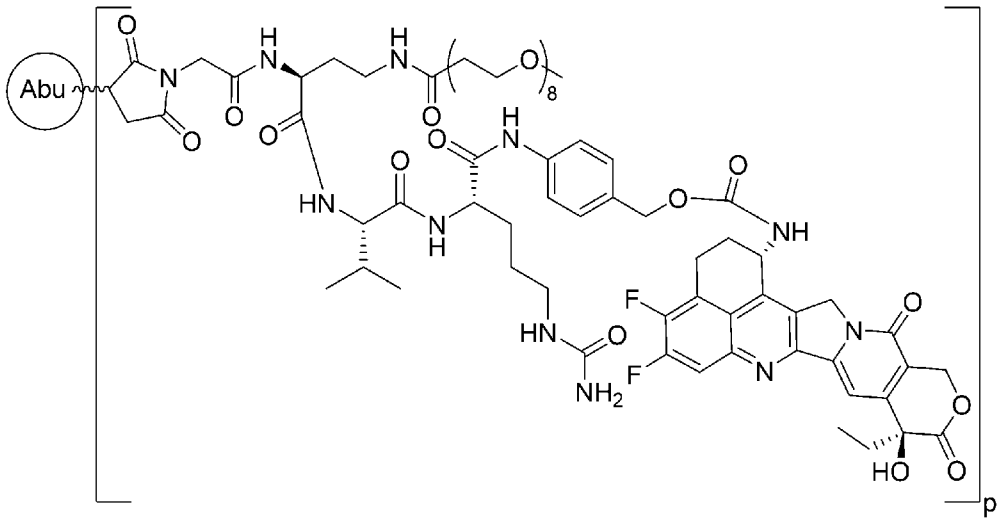
式 I-A-17



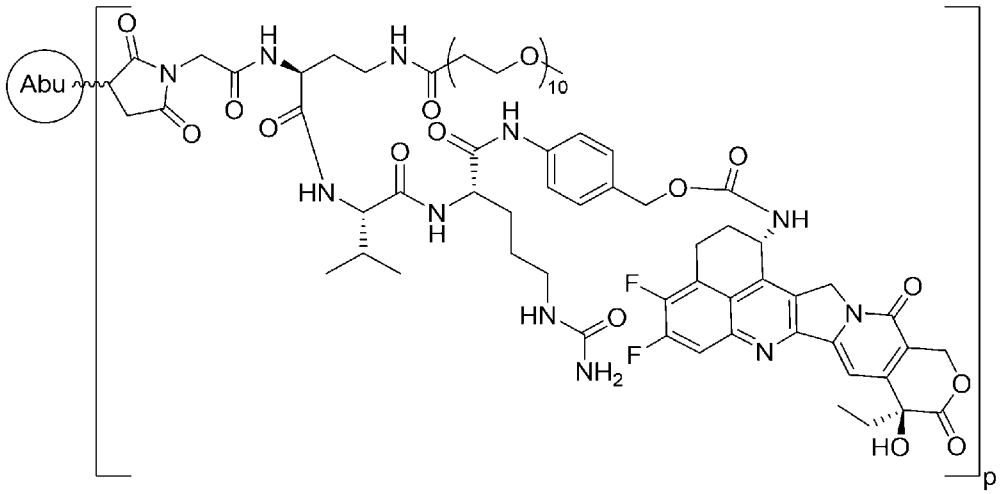
式 I-A-18



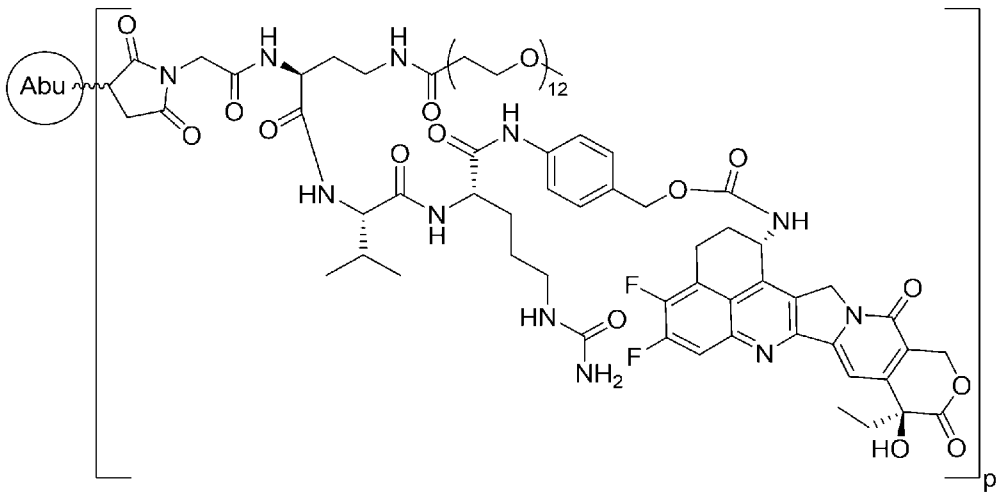
式 I-A-19



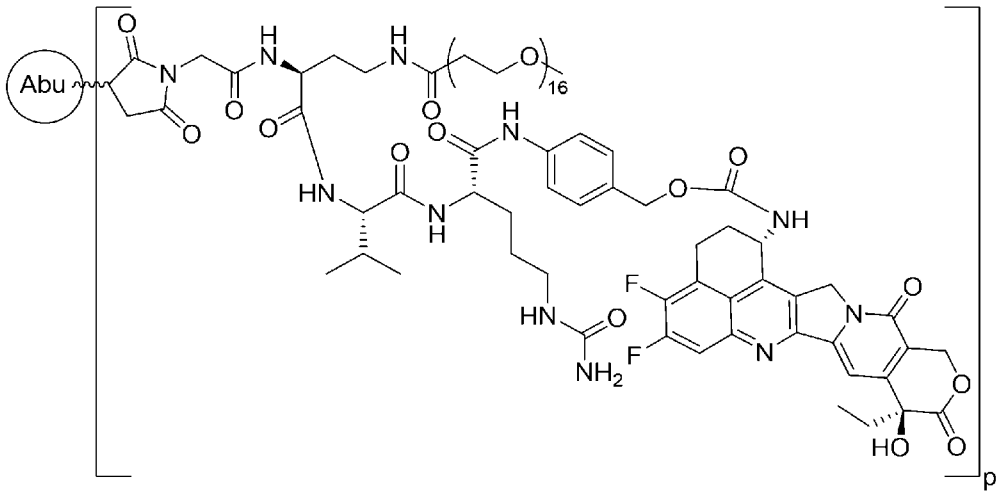
式 I-A-20



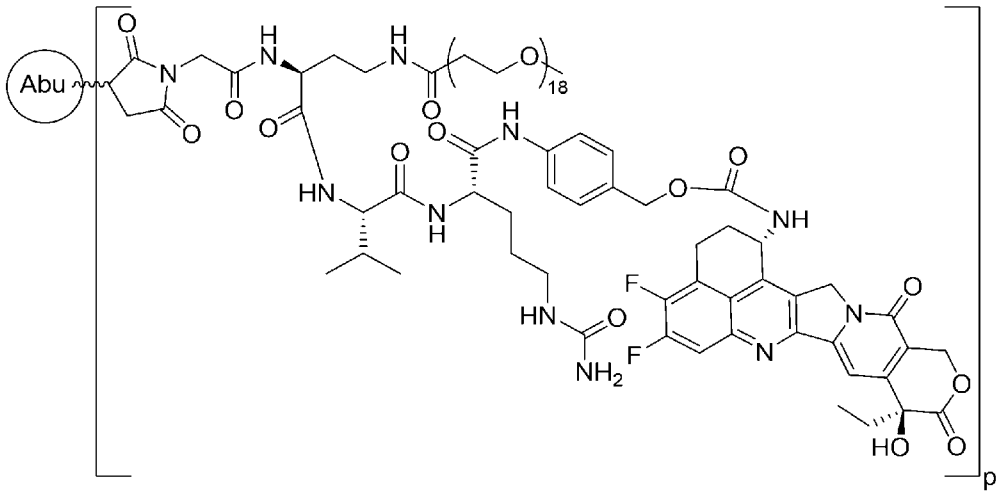
式 I-A-21



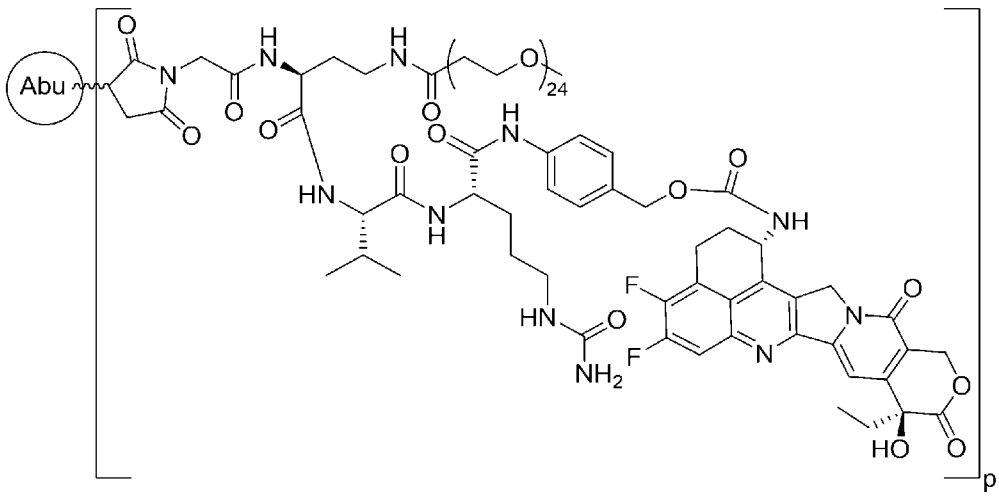
式 I-A-22



式 I-A-23



式 I-A-24



式 I-A-25

其中

Abu 为本申请的抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元或特异性结合 Nectin-4 的多肽；

p 为 1-10。

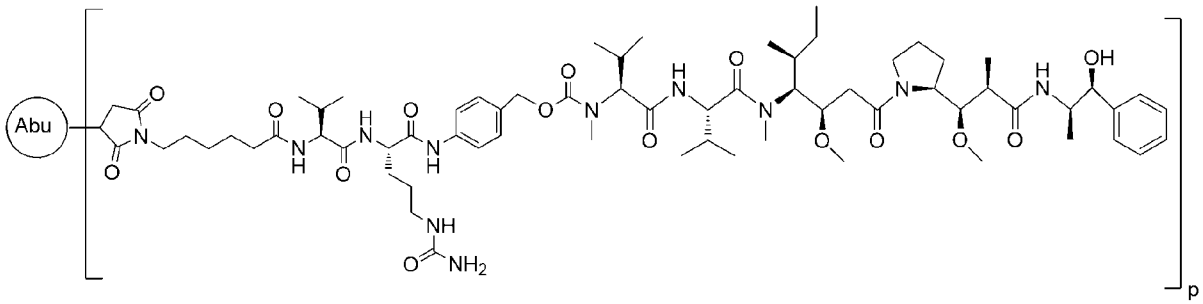
在一个或多个实施方式中，p 为 2-8。

在一个或多个实施方式中，p 为 4-8。

在一个或多个实施方式中，p 为 6-8。

在一个或多个实施方式中，p 为 7-8。

在一个或多个实施方式提供具有式 I-B-1 结构或者其立体异构体的抗体药物偶联物或者其药学上可接受的盐或溶剂合物，其中所述式 I-B-1 为：



式 I-B-1

其中

Abu 为本申请的抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元或特异性结合 Nectin-4 的多肽；

p 为 1-10。

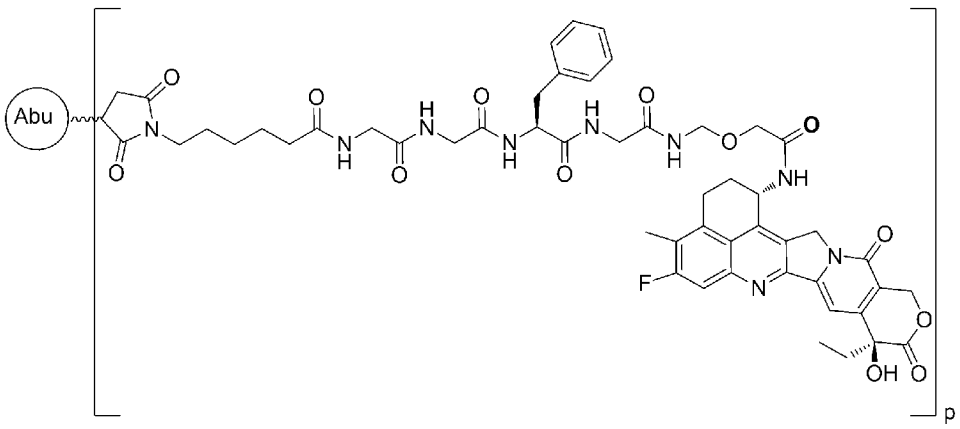
在一个或多个实施方式中，p 为 2-8。

在一个或多个实施方式中，p 为 4-8。

在一个或多个实施方式中，p 为 6-8。

在一个或多个实施方式中，p 为 7-8。

在一个或多个实施方式提供具有式 I-C-1 结构或者其立体异构体的抗体药物偶联物或者其药学上可接受的盐或溶剂合物，其中所述式 I-C-1 为：



式 I-C-1

其中

Abu 为本申请的抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元或特异性结合 Nectin-4 的多肽；

p 为 1-10。

在一个或多个实施方式中，p 为 2-8。

在一个或多个实施方式中，p 为 4-8。

在一个或多个实施方式中，p 为 6-8。

在一个或多个实施方式中，p 为 7-8。

在一个或多个实施方式提供药物组合物，其包含本文所述抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元、生物材料、或抗体药物偶联物或者其药学上可接受的盐或溶剂合

物以及药物可接受的载体、赋形剂和/或辅料。在一个或多个实施方式中，所述药物组合物还包含任选的其他药物。药物组合物可以通过任何方便的途径施用，例如通过输注或推注，通过上皮或皮肤粘膜（例如口腔粘膜、直肠和肠粘膜等）吸收，并且可以与其他生物活性剂共同施用。因此，所述药物组合物可以皮下给药、静脉给药、口服给药、直肠给药、肠胃外给药、脑池内给药、阴道内给药、腹腔内给药、外敷（如通过粉末，软膏，滴剂或透皮贴剂）、口腔给药或通过口服或鼻腔喷雾给药。

在一些实施方案中，根据常规步骤将组合物配制成适合静脉内注射于人体的药物组合物。用于静脉内给药的组合物通常是在无菌等渗水性缓冲液中的溶液。组合物还可包含增溶剂和局部麻醉剂如利多卡因，从而缓解注射部位的疼痛。一般而言，有效成分以单位剂量形式单独供给或混在一起供给，如以干燥的冻干粉末或无水浓缩物的形式装在可指示活性剂份量的密封容器(如安瓿瓶或小袋)中。在通过输注施用组合物的情况下，可以用含有无菌药用级水或盐水的输液瓶来分装组合物。在通过注射施用组合物的情况下，可以使用注射用的无菌水或盐水的安瓿瓶，使得可以在施用之前混合有效成分。

在一个或多个实施方式提供本文所述的抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元、生物材料、或抗体药物偶联物或者其药学上可接受的盐或溶剂合物、或者药物组合物在制备用于治疗疾病的药物中的用途。在一个或多个实施方式中，所述药物还与其他药物联用。

在一个或多个实施方式提供本文所述的抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元、生物材料、抗体药物偶联物或者其药学上可接受的盐或溶剂合物、或者药物组合物在治疗疾病中的用途。在一个或多个实施方式中，所述用途包括与其他抗癌药物联用。

在一个或多个实施方式提供了治疗疾病的方法，该方法包括对有需要的患者施用有效量的本文所述的抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元、抗体药物偶联物或者其药学上可接受的盐或溶剂合物、或者药物组合物。所述有效量是指活性化合物或药剂的量，其导致研究人员、兽医、医生或其他临床医生正寻求的组织、系统、动物、个体以及人的生物或药用响应，包括治疗疾病。通常，合适的剂量范围可以是约 0.1～100 毫克/千克，给药频率可以例如是每月给药一次。给药方式可以是静脉输注，静脉推注，也可以是皮下注射、肌肉注射等。在一个或多个实施方式中，所述方法还包括向患者施用其他抗癌药物。

在一个或多个实施方式中，所述疾病为 Nectin-4 表达或过表达相关的疾病。在一个或多个实施方式中，所述疾病为 Nectin-4 异常表达相关的疾病。在一个或多个实施方式中，所述疾病为癌症或肿瘤。在一个或多个实施方式中，所述疾病为表达或过表达 Nectin-4 的肿瘤。在一个或多个实施方式中，所述疾病为表达或过表达 Nectin-4 的癌症。在一个或多个实施方式中，所述疾病为实体瘤或血液癌症。在一个或多个实施方式中，所述疾病选自乳腺癌（例如，三阴性乳腺癌（TNBC）；局部、转移性 TNBC）、胰腺癌、膀胱癌、尿路上皮癌、黑色素瘤、肺癌（例如，非小细胞肺癌、鳞状细胞癌或肺腺癌）、头颈癌（例如，头部和颈部鳞状细胞癌）、宫颈癌（例如，宫颈鳞状细胞癌）、卵巢癌、绒毛膜癌、皮肤癌、食管癌（例如，食管腺癌）、胃癌、子宫癌（例如，子宫内膜癌）、胆囊癌、肝癌、肝细胞癌、尿道癌、肾盂癌、输尿管癌、结直肠癌、结肠癌和前列腺癌。

在一个或多个实施方式中，所述抗体药物偶联物或者其药学上可接受的盐或溶剂合物为本申请式 I-A、式 I-B、式 I-C 的抗体药物偶联物或者其药学上可接受的盐或溶剂合物。

药学上可接受的盐包括抗体药物偶联物与该技术领域众所周知的各种各样的有机和无机抗衡离子产生的药学上可接受的盐，仅仅示例性盐包括，当分子含有酸性官能团时，有机或无机盐如钠盐、钾盐、钙盐、镁盐、铵盐、异丙胺、三甲胺、二乙胺基、三乙胺、三丙胺、乙醇胺、2-二甲胺基乙醇、2-二乙胺基乙醇、二环己基胺、赖氨酸、精氨酸、组氨酸、咖啡因、普鲁卡因、胆碱、甜菜碱、乙二胺、葡糖胺、甲葡糖胺、可可碱、嘌呤、哌嗪、哌啶、N-乙基、哌啶、多胺树脂及四烷基铵盐等；以及当分子含有碱性官能团时，有机或无机酸盐如盐酸盐、氢溴酸盐、酒石酸盐、甲磺酸盐、醋酸盐、马来酸盐和草酸盐。酸的其它非限制例子包括硫酸、硝酸、磷酸、丙酸、乙醇酸、丙酮酸、丙二酸、琥珀酸、富马酸、酒石酸、柠檬酸、苯甲酸肉桂酸、扁桃酸、甲磺酸、乙磺酸、对甲苯磺酸水杨酸等。溶剂合物包括但不限于水合物。

一个或多个实施方式提供了制品，其包含本文所述的抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元、抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂合物、或者药物组合物；

容器；和

包装插页或标签或说明书，其指示该抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元、抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂合物、或者药物组合物用于治疗疾病。

附图说明

图 1：抗 Nectin-4 抗体的亲和力测定。

图 2：抗 Nectin-4 抗体与 T-47D 细胞的结合活性。

图 3：抗 Nectin-4 抗体对人 Nectin-4 同家族蛋白的特异性检测结果。

图 4：抗 Nectin-4 抗体对不同种属 Nectin-4 的结合。

图 5：ADC 对 OVCAR-3 和 MDA-MB-468 细胞的增殖抑制效应；其中，图 5A 和图 5B 为 ADC 对 OVCAR-3 细胞的增殖抑制效应；图 5C 为 1F3-1E1-MMAE 对 MDA-MB-468 细胞的增殖抑制效应。

图 6：10F4-3-ExaD6 和 10F4-3-ExaD8 的总抗体和 ADC 在大鼠体内的药时曲线；图中，D6-Tab 表示 10F4-3-ExaD6 的总抗体，D6-ADC 表示 10F4-3-ExaD6 的 ADC，D8-Tab 表示 10F4-3-ExaD8 的总抗体，D8-ADC 表示 10F4-3-ExaD8 的 ADC。

图 7：10F4-3-Exa6 的旁观者杀伤作用；图 7A：10F4-3-Exa6 对 CHO-N4 和 CHO-K1 的直接杀伤作用；图 7B：10F4-3-Exa6 培养上清转移后对 CHO-K1 的杀伤作用；其中，CM 表示培养上清转移，CHO-N4 和 CHO-K1 表示转移的培养上清液，D2、D3 和 D4 表示转移时候在 CHO-N4 和 CHO-K1 的转移时培养天数。

图 8：ADC 在人乳腺癌 MDA-MB-468 裸鼠皮下移植瘤模型中各组小鼠肿瘤体积的生长曲线(平均值±标准误)。

图 9：10F4-3-ExaD8 在 JEG-3 异种移植模型中各组小鼠肿瘤体积的生长曲线(平均值±标准误)。

图 10：ADC 在 HuPrime®膀胱癌 BL0597 异种移植 BALB/c 裸鼠动物模型中各组小鼠肿瘤体积的生长曲线(平均值±标准误)。

具体实施方式

除非另有定义，本发明中使用的科学和技术术语的含义是本领域技术人员所通常理解的含义。

定义

应当注意的是，术语“一种”实体是指一种或多种该实体，例如“一种抗体”应当被理解为一种或多种抗体，因此，术语“一种”（或“一个”）、“一种或多种”和“至少一种”可以在本文中互换使用。

本文所用的术语“包含”或“包括”意味着抗体、组合物或方法等包括所列举的元素，例如组份或步骤，但不排除其它。“基本上由.....组成”意味着抗体、组合物或方法等排除对组合的特征有根本影响的其它元素，但不排除对抗体、组合物或方法等无本质上影响的元素。“由.....组成”意味着排除未特别列举的元素。

本文所用术语“抗体”指免疫球蛋白（Ig）分子和免疫球蛋白分子的免疫活性部分，即包含特异性结合抗原（与其免疫反应）的抗原结合位点的分子。抗体包括但不限于单克隆抗体、嵌合抗体、dAb（结构域抗体）、单链抗体、Fab、Fab-和 $F(ab')_2$ 片段、Fv 和 Fab 表达库。

术语“抗体”包括可以在生物化学上区分的各种广泛种类的多肽。

本发明公开的抗体、抗原结合单元或衍生物包括但不限于多克隆、单克隆、多特异性、全人源、人源化、灵长类化、嵌合抗体、单链抗体、表位结合片段（例如类 Fab、类 Fab'和类 $F(ab')_2$）、类单链 Fvs（scFv）。

术语“单克隆抗体”（mAb）是指一群这样的抗体分子：其只含有由独特的轻链基因产物和独特的重链基因产物组成的抗体分子中的一种分子种类。具体地，单克隆抗体的互补决定区（CDR）在该群体的所有分子中是相同的。MAb 含有能够与抗原的特定表位发生免疫反应的抗原结合位点。

术语“单链抗体”（scFv）是指由抗体重链可变区（VH）和轻链可变区（VL）通过 15～20 个氨基酸的接头（linker）连接而成的抗体。接头可以富含甘氨酸以增加柔韧性，以及富含丝氨酸或苏氨酸以增加溶解性，并且可以连接 VH 的 N 端和 VL 的 C 端，反之亦然。尽管该蛋白质被除去了恒定区和引入了接头，但其保留了原始免疫球蛋白的特异性。ScFv 分子通常是本领域中已知的，例如在美国专利 5,892,019 中有相关描述。

本领域技术人员将会理解，重链的类别包括 gamma、mu、alpha、delta 或 epsilon（γ、μ、α、δ、ε），其中还有一些亚类（例如γ1-γ4）。该链的性质决定了抗体的“种类”分别为 IgG、IgM、IgA、IgD 或 IgE。免疫球蛋白亚类（同种型），例如 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgG5 等已被充分表征并且赋予的功能特异性也已知。所有的免疫球蛋白种类都在本发明公开的保护范围内。在一个或多个实施方式中，免疫球蛋白分子的种类为 IgG。两条重链和两条轻链通过二硫键以“Y”构型连接，其中轻链从“Y”口开始并延续通过可变区包围重链。轻链可以分为 kappa（κ）或 lambda（λ）。每个重链可以与κ或λ轻链结合。一般来说，当由杂交瘤、B 细胞或基因工程宿主细胞生产免疫球蛋白时，其轻链和重链通过共价键结合，两条重链的“尾巴”部分通过共价二硫键或非共价键结合。在重链中，氨基酸序列从 Y 构型的叉状末端的 N 末端延伸至每条链底部的 C 末端。免疫球蛋白κ轻链可变区为 V_κ；免疫球蛋白λ轻链可变区为 V_λ。

抗体轻链可变区（VL）和重链可变区（VH）决定了抗原识别和特异性。轻链恒定区（CL）和重链恒定区（CH）赋予重要的生物学性质，如分泌、经胎盘移动、Fc 受体结合、补体结合等。按照惯例，恒定区的编号随着它们变得更远

离抗体的抗原结合位点或氨基末端而增加。N 端部分是可变区，C 端部分是恒定区；如 IgG1 抗体的 CH3 和 CL 结构域实际上分别包含重链和轻链的羧基端。

在天然存在的抗体中，假设抗体在含水环境中呈现其三维构型时，存在于每个抗原结合域中的六个“互补决定区”或“CDR”是形成抗原结合结构域的短的、非连续的与抗原特异性结合的氨基酸序列。抗原结合结构域中被称为“框架”（“FR”）区域的剩余其它氨基酸显示出较小的分子间可变性。框架区大部分采用β-折叠构象，CDR 形成与之连接的环状结构，或在某些情况下形成β折叠结构的一部分。因此，框架区通过形成支架从而通过链间非共价相互作用使 CDR 定位在正确的方位上。具有特定位置的 CDR 的抗原结合域形成了与抗原上的表位互补的表面，该互补表面促进抗体和其抗原表位的非共价结合。通常在抗体分子中，每条重链和轻链有三个 CDR，分别被称为 VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2 以及 VL CDR3。按照位置顺序，通常重链可变区包含 VH FR1、VH CDR1、VH FR2、VH CDR2、VH FR3、VH CDR3 以及 VH FR4，轻链可变区包含 VL FR1、VL CDR1、VL FR2、VL CDR2、VL FR3、VL CDR3 以及 VL FR4。对于给定的重链或轻链可变区，本领域普通技术人员都可以通过已知方法鉴定出包含 CDR 和框架区的氨基酸（参见 Kabat, E., et al., U.S. Department of Health and Human Services, Sequences of Proteins of Immunological Interest, （1983） 和 Chothia and Lesk, J. Mol. Biol., 196:901-917（1987））。

人源化抗体的框架区及 CDR 区不必准确对应于亲本序列，例如供体抗体 CDR 或共有框架可通过至少一个氨基酸残基的取代、插入和/或缺失而突变诱发，使得该位点的 CDR 或框架残基不对应于供体抗体或共有框架。通常，至少 80%、至少 85%、更至少 90%或至少 95%的人源化抗体残基将对应于亲本 FR 及 CDR 序列的那些残基。如本文使用的，术语“共有框架”是指共有免疫球蛋白序列中的框架区。如本文使用的，术语“共有免疫球蛋白序列”是指由相关免疫球蛋白序列家族中最频繁出现的氨基酸(或核苷酸)形成的序列(参见例如，Winnaker, From Genes to Clones [从基因到克隆] (Verlagsgesellschaft, Weinheim, 德国 1987))。在免疫球蛋白家族中，共有序列中的各位置由该家族中最频繁出现于该位置的氨基酸占据。若两个氨基酸同等频繁地出现，则共有序列中可包括任一个。

在本领域中使用和/或接受的术语有两个或多个定义的情况下，除非明确地对立指出，否则本文使用的术语的定义包括所有这些含义。一个具体的例子是使用“互补决定区”（“CDR”）一词来描述在重链和轻链多肽的可变区内发现的非连续的抗原结合位点。这一特定区域在 Kabat et al., U.S. Dept. of Health and Human Services, Sequences of Proteins of Immunological Interest (1983) 和 Chothia 等在 J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)有相关描述，其通过引用全部并入本文。

Kabat 等人还定义了适用于任何抗体的可变区序列的编号系统。本领域普通技术人员可以不依赖于序列本身以外的其他实验数据将该“Kabat 编号”系统应用到任何可变区序列。“Kabat 编号”是指由 Kabat et al., U.S. Dept. of Health and Human Services 在“Sequence of Proteins of Immunological Interest” (1983) 提出的编号系统。抗体还可以用 EU 或 Chothia 编号系统。

本发明公开的抗体可以来源于任何动物，包括但不限于鱼类、鸟类和哺乳动物。较佳地，抗体是人源、鼠源、驴源、兔源、山羊源、骆驼源、美洲驼源、马源或鸡源抗体。在另一实施方案中，可变区可以是软骨鱼纲（condricthoid）来源（例如来自鲨鱼）。

“重链恒定区”包括 CH1 结构域、铰链（例如上、中和/或下铰链区）结构域、CH2 结构域、CH3 结构域，或变体或片段中的至少一种。抗体的重链恒定区可以来源于不同的免疫球蛋白分子。例如，抗体的重链恒定区可以包括源自 IgG1 分子的 CH1 结构域和源自 IgG3 分子的铰链区。在另一实施方案中，重链恒定区可以包括部分源自 IgG1 分子和部分源自 IgG3 分子的铰链区。在另一实施方案中，部分重链可以包括部分源自 IgG1 分子和部分源自 IgG4 分子的嵌合铰链区。

“轻链恒定区”包括来自抗体轻链的一部分氨基酸序列。较佳地，轻链恒定区包含恒定κ结构域或恒定λ结构域中的至少一个。“轻链-重链对”是指可通过轻链的 CL 结构域和重链的 CH1 结构域之间的二硫键形成二聚体的轻链和重链的集合。

“二硫键”指两个硫原子之间形成的共价键。半胱氨酸的硫醇基团可以与第二个硫醇基团形成二硫键或桥接。在大多数天然存在的 IgG 分子中，CH1 和 CL 区通过二硫键连接。

“嵌合抗体”指其可变区从第一个物种中获得或衍生，而其恒定区（可以是完整的、部分的或修饰过的）来源于第二个物种的任何抗体。某些实施方案中，可变区来自非人源（例如小鼠或灵长类动物），而恒定区来自人源。

本文所用术语“表位”包括任意能够特异性结合免疫球蛋白或其片段或 T 细胞受体的蛋白决定区。表位决定区通常由分子的化学活性表面基团（如氨基酸或糖侧链）组成且通常有特定的三维结构性质以及特定的电荷性质。

如本文所用，术语“特异性结合”或“发生免疫反应”是指在免疫球蛋白分子与其目标抗原的一个或多个抗原决定簇之间发生的非共价相互作用。免疫学结合相互作用的强度或亲和力可以以相互作用的平衡解离常数（KD）表示，其中较小的 KD 代表较大的亲和力。所选多肽的免疫结合特性可使用本领域熟知方法进行定量。一种此类方法需要测量抗原结合位点/抗原复合物形成和解离的速率，其中那些速率取决于复合物配偶体的浓度、相互作用的亲和力和在两个方向同等影响该速率的几何参数。因此，“结合速率常数”（kon）和“解离速率常数”（koff）两者可通过计算浓度和实际的缔合和解离速率测定（参见 Malmqvist, M., Nature 361:186-87(1993)）。koff/kon 比率能够消除所有与亲和力无关的参数，并且等于平衡解离常数 KD（参见 Davies 等人（1990）Annual Rev Biochem 59:439-473）。特异性结合可由放射性配体结合测定、表面等离子体共振（SPR）、 流式细胞术结合测定、或本领域技术人员已知的类似测定所测。

本发明中关于细胞、核酸、多肽等所使用的术语“分离的”，例如“分离的”DNA、RNA、多肽是指分别于细胞天然环境中的其它组分如 DNA 或 RNA 中的一种或多种所分离的分子。本发明使用的术语“分离的”还指当通过重组 DNA 技术产生时基本上不含细胞材料、病毒材料或细胞培养基的核酸或肽，或化学合成时的化学前体或其他化学品。此外，“分离的核酸”意在包括不以天然状态存在的核酸片段，并且不会以天然状态存在。术语“分离的”在本发明中也用于指从其他细胞蛋白质或组织分离的细胞或多肽。分离的多肽意在包括纯化的和重组的多肽。分离的多肽等通常通过至少一个纯化步骤制备。在一个或多个实施方式中，分离的核酸、多肽等的纯度至少为约 50%、约 60%、约 70%、约 80%、约 90%、约 95%、约 99%，或这些数值中的任何两个值之间的范围（包括端值）或其中任何值。

术语“编码”应用于多聚核苷酸时，是指被称为“编码”多肽的多聚核苷酸，在其天然状态或当通过本领域技术人员公知的方法操作时，经转录和/或翻译可以产生该多肽和/或其片段。

术语“重组”涉及多肽或多聚核苷酸，意指天然不存在的多肽或多聚核苷酸的形式，不受限制的实施例可以通过组合产生通常并不存在的多聚核苷酸或多肽。

“氨基酸”是指既含氨基又含羧基的有机化合物，比如α-氨基酸、β-氨基酸，其可直接或以前体的形式由核酸编码。单个氨基酸由三个核苷酸(所谓的密码子或碱基三联体)组成的核酸编码。每一个氨基酸由至少一个密码子编码。相同氨基酸由不同密码子编码称为“遗传密码的简并性”。氨基酸包括天然氨基酸和非天然氨基酸。

如本文所用，二十种常规氨基酸及其缩写遵循常规用法。参见 Immunology-A Synthesis（第 2 版，E. S. Golub 和 D. R. Gren 编辑，Sinauer Associates, Sunderland Mass. （1991））。二十种常规氨基酸的立体异构体（例如，D-氨基酸）、非天然氨基酸（诸如α-、α-二取代氨基酸）、N-烷基氨基酸、乳酸及其它非常规氨基酸也可为适用于本公开多肽的组分。非常规氨基酸的示例包括：4-羟脯氨酸、γ-羧基谷氨酸盐、ε-N,N,N-三甲基赖氨酸、ε-N-乙酰赖氨酸、O-磷酸丝氨酸、N-乙酰丝氨酸、N-甲酰甲硫氨酸、3-甲基组氨酸、5-羟赖氨酰、σ- N-甲基精氨酸及其它类似的氨基酸和亚氨基酸（例如 4-羟脯氨酸）。在本文所用的多肽表示方法中，左手方向为氨基末端方向，并且右手方向为羧基末端方向，与标准用法和惯例一致。常规（或天然）氨基酸包括丙氨酸（三字母代码：Ala，一字母代码：A）、精氨酸（Arg，R）、天冬酰胺（Asn，N）、天冬氨酸（Asp，D）、半胱氨酸（Cys，C）、谷氨酰胺（Gln，Q）、谷氨酸（Glu，E）、甘氨酸（Gly，G）、组氨酸（His，H）、异亮氨酸（Ile，I）、亮氨酸（Leu，L）、赖氨酸（Lys，K）、甲硫氨酸（Met，M）、苯丙氨酸（Phe，F）、脯氨酸（Pro，P）、丝氨酸（Ser，S）、苏氨酸（Thr，T）、色氨酸（Trp，W）、酪氨酸（Tyr，Y）、缬氨酸（Val，V）等。

术语“多肽”旨在涵盖单数的“多肽”以及复数的“多肽”，并且是指由通过酰胺键（也称为肽键）线性连接的氨基酸单体形成的分子。术语“多肽”是指两个或更多个氨基酸的任何单条链或多条链，并且不涉及产物的特定长度。因此，“多肽”的定义中包括肽、二肽、三肽、寡肽、“蛋白质”、“氨基酸链”或用于指两个或多个氨基酸链的任何其他术语，并且术语“多肽”可以用来代替上述任何一个术语，或者与上述任何一个术语交替使用。术语“多肽”也意在指多肽表达后修饰的产物，包括但不限于糖基化、乙酰化、磷酸化、酰胺化、通过已知的保护/封闭基团衍生化、蛋白水解切割或非天然发生的氨基酸修饰。多肽可以源自天然生物来源或通过重组技术产生，但其不必从指定的核酸序列翻译所得，它可能以包括化学合成的任何方式产生。

当应用于多肽时，术语“基本上相同”是指两个肽序列在诸如通过 GAP 或 BESTFIT 程序使用默认空位权重进行最佳比对时，共享至少 80%序列同一性，优选至少 90%序列同一性，更优选至少 95%序列同一性，并最优选至少 99%序列同一性。

多聚核苷酸是由四个碱基的特定序列组成：腺嘌呤（A）、胞嘧啶（C）、鸟嘌呤（G）、胸腺嘧啶（T），或当多聚核苷酸是 RNA 时胸腺嘧啶换为尿嘧啶（U）。“多聚核苷酸序列”可以以多聚核苷酸分子的字母表示。该字母表示可以被输入到具有中央处理单元的计算机中的数据库中，并用于生物信息学应用，例如用于功能基因组学和同源性搜索。

术语“多核苷酸”、“多聚核苷酸”和“寡核苷酸”可互换使用，是指任何长度的核苷酸的聚合形式，无论是脱氧核糖核苷酸还是核糖核苷酸或其类似物。多聚核

苷酸可以具有任何三维结构并且可以执行已知或未知的任何功能。以下是不受限制的多聚核苷酸的实施例：基因或基因片段（例如探针、引物、EST 或 SAGE 标签）、外显子、内含子、信使 RNA（mRNA）、转运 RNA、核糖体 RNA、核糖酶、cDNA、dsRNA、siRNA、miRNA、重组多聚核苷酸、分支的多聚核苷酸、质粒、载体、DNA、RNA、核酸探针和引物。多聚核苷酸可以包含修饰的核苷酸，例如甲基化的核苷酸和核苷酸类似物。如果存在该修饰，则对核苷酸的结构修饰可以在组装多聚核苷酸之前或之后进行。核苷酸的序列可以被非核苷酸组分中断。聚合后可以进一步修饰多聚核苷酸，例如通过与标记组分缀合。这个术语也指双链和单链分子。除另有说明或要求外，本公开的任何多聚核苷酸的实施例包括双链形式和已知或预测构成双链形式的两种可互补单链形式中的每一种。

多聚核苷酸或多聚核苷酸序列（或多肽或抗体序列）与另一序列有具有一定百分比（例如 90%、95%、98%或者 99%）的“同一性或序列同一性”是指当序列比对时，所比较的两个序列中该百分比的碱基（或氨基酸）相同。可以使用目测或本领域已知的软件程序来确定该比对和同一性百分比或序列同一性，比如 Ausubel et al. eds.（2007）在 Current Protocols in Molecular Biology 中所述的软件程序。优选使用默认参数进行比对。其中一种比对程序是使用默认参数的 BLAST，例如 BLASTN 和 BLASTP，两者使用下列默认参数：Geneticcode=standard；filter=none；strand=both；cutoff=60；expect=10；Matrix=BLOSUM62；Descriptions=50sequences；sortby=HIGHSCORE；Databases=non-redundant；GenBank+EMBL+DDBJ+PDB+GenBankCDStranslations+SwissProtein+SPupdate+PIR。生物学上等同的多聚核苷酸是具有上述指定百分比的同一性并编码具有相同或相似生物学活性的多肽的多聚核苷酸。

抗体或免疫球蛋白分子的氨基酸序列的微小变化都涵盖在本公开之内，条件是氨基酸序列的同一性保持至少 90%，如至少 92%、95%、98%或 99%。在一些实施方案中，变化为保守氨基酸取代。保守氨基酸取代是在其侧链中相关的氨基酸家族内发生的取代。基因编码的氨基酸大致分以下类：（1）酸性氨基酸为天冬氨酸盐、谷氨酸盐；（2）碱性氨基酸为赖氨酸、精氨酸、组氨酸；（3）非极性氨基酸为丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、色氨酸）；以及（4）无电荷的极性氨基酸为甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、半胱氨酸、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸。其它家族的氨基酸包括（i）脂肪族-羟基家族的丝氨酸和苏氨酸；（ii）含酰胺家族的天冬酰胺和谷氨酰胺；（iii）脂肪族家族的丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸；以及（iv）芳族家族的苯丙氨酸、色氨酸和酪氨酸。在一些实施方案中，保守氨基酸取代组为：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、以及天冬酰胺-谷氨酰胺。例如，可以合理地预测用异亮氨酸或缬氨酸单独的置换亮氨酸，用谷氨酸盐置换天冬氨酸盐，用丝氨酸置换苏氨酸，或用一个结构相关的氨基酸类似的置换一个氨基酸，且对所得分子的结合或特性不会有重要影响，特别是该置换不涉及结合位点内的氨基酸。氨基酸改变是否产生功能性肽可以容易地通过测定多肽衍生物的比活性来确定。所述测定在本文进行了详细描述。抗体或免疫球蛋白分子的片段或类似物可由本领域普通技术人员容易地制备。

在一些实施方案中，氨基酸取代具有如下效果：（1）降低对蛋白水解作用的敏感性，（2）降低对氧化作用的敏感性，（3）改变用于形成蛋白复合物的结合亲和力，（4）改变结合亲和力，和（5）赋予或改进此类类似物的其它物理

化学或功能特性。类似物可包括序列不同于天然存在的肽序列的各种突变蛋白。例如，可在天然存在的序列（优选在形成分子间接触的结构域之外的多肽部分中）中进行单个或多个氨基酸取代（优选保守氨基酸取代）。保守氨基酸取代不应当显著改变亲本序列的结构特性（例如，置换的氨基酸不应当趋于破坏亲本序列中存在的螺旋结构，或破坏表征亲本序列的其它类型二级结构）。人工识别的多肽的二级和三级结构的示例描述于 Proteins, Structures and Molecular Principles (Creighton 编辑，W. H. Freeman and Company, New York (1984))；Introduction to Protein Structure (C.Branden 和 J.Tooze 编辑，Garland Publishing, New York, N.Y.(1991))；和 Thornton 等人 Nature 354:105(1991)。

VL、VH 的保守氨基酸取代的氨基酸数目可以为约 1 个、约 2 个、约 3 个、约 4 个、约 5 个、约 6 个、约 8 个、约 9 个、约 10 个、约 11 个、约 13 个、约 14 个、约 15 个保守氨基酸取代，或这些数值中的任何两个值之间的范围（包括端值）或其中任何值。重链恒定区、轻链恒定区、重链或轻链的保守氨基酸取代的氨基酸数目可以为约 1 个、约 2 个、约 3 个、约 4 个、约 5 个、约 6 个、约 8 个、约 9 个、约 10 个、约 11 个、约 13 个、约 14 个、约 15 个、约 18 个、约 19 个、约 22 个、约 24 个、约 25 个、约 29 个、约 31 个、约 35 个、约 38 个、约 41 个、约 45 个保守氨基酸取代，或这些数值中的任何两个值之间的范围（包括端值）或其中任何值。

本文所用术语“试剂”表示化学化合物、化学化合物混合物、生物大分子或由生物材料制得的提取物。

如本文所用，术语“标记”或“经标记的”是指掺入可检测标记，例如，通过掺入放射性标记的氨基酸，或者附着于可由标记的亲和素（例如，含有荧光标记或可由光学方法或量热法检测的酶活性的链霉亲和素）检测的生物素基部分的多肽。在某些情况下，标记物或标记也可为治疗性的。标记多肽和糖蛋白的各种方法是本领域已知的并且可以使用。用于多肽的标记物的示例包括但不限于以下项：放射性同位素或放射性核素（例如，^{3}H、^{14}C、^{15}N、^{35}S、^{90}Y、^{99}Tc、^{111}In、^{125}I、^{131}I），荧光标记物（例如，FITC、罗丹明、镧系磷光体），酶标记物（例如，辣根过氧化酶、β-半乳糖苷酶、荧光素酶、碱性磷酸酶），化学发光标记，生物素酰基，被二级报告基因识别的预定多肽表位（例如，亮氨酸拉链对序列、二级抗体结合位点、金属结合结构域、表位标签）。在一些实施方案中，标记通过各种长度的间隔臂连接以减小可能的空间位阻。术语“药剂”或“药物”是指适当施用于患者时能够诱导期望的治疗效果的化合物或组合物。

“约”指相关技术领域技术人员容易知道的相应数值的常规误差范围。在一些实施方式中，本文中提到“约”指所描述的数值以及其±10%、±5%或±1%的范围。

“EC_{50}”即半最大效应浓度（concentration for 50% of maximal effect, EC_{50}）是指能引起 50%最大效应的浓度。

“IC_{50}”表示 50%抑制浓度，即对指定的生物过程抑制一半时所需的药物或者抑制剂的浓度。

“治疗”是指治疗性治疗和预防性或防治性措施，其目的是预防、减缓、改善或停止不良的生理改变或紊乱，例如疾病的进程，包括但不限于以下无论是可检测还是不可检测的结果，症状的缓解、疾病程度的减小、疾病状态的稳定（即不恶化）、疾病进展的延迟或减缓、疾病状态的改善、缓和、减轻或消失（无论是部分还是全部）、延长与不接受治疗时预期的生存期限等。需要治疗的患者包括已经患有病症或紊乱的患者，容易患有病症或紊乱的患者，或者需要预防该病症

或紊乱的患者，可以或预期从施用本发明公开的抗体或药物组合物用于检测、诊断过程和/或治疗中受益的患者。

术语“肿瘤”意指或意在描述哺乳动物的生理状态，其典型特征是细胞生长失控包括良性肿瘤和恶性肿瘤如癌症。癌症的实例包括但不限于癌、淋巴瘤、母细胞瘤、肉瘤或白血病。此类癌症的更具体实例包括但不限于大肠癌、肺癌、卵巢癌、子宫癌、子宫内膜癌、结肠癌、唾液腺癌、腹膜癌、输卵管癌、胰腺癌、甲状腺癌、头颈鳞形细胞癌、鼻咽癌、喉癌、肺腺癌、肺鳞癌、肝癌、肝细胞癌、胃肠道癌、成胶质细胞瘤、乳腺癌、脑癌、肾癌、肾细胞癌、直肠癌、前列腺癌、外阴癌、睾丸癌、鳞状细胞癌、小细胞肺癌、子宫颈癌、膀胱癌、视网膜母细胞瘤、神经胶母细胞瘤、间皮瘤、口腔上皮样癌、绒毛膜癌和头颈癌。

术语“过表达”或“过表达的”可互换地指一种基因，与正常细胞相比，其通常在某些细胞，如癌细胞中以可检测到的更高水平的转录或翻译。过表达可以是蛋白质或 RNA 的过表达(由于增加的转录，转录后加工，翻译，翻译后加工，改变的稳定性和改变的蛋白质降解)，以及蛋白质运输模式改变导致的局部过表达(核定位增加)和增强的功能活性，例如，如增加底物的酶水解。与正常细胞或对照细胞相比，过表达可以是 1%、5%、10%、20%、30%、50%、60%、70%、80%、90%或更多。在某些实施例中，本发明的抗 Nectin-4 抗体及抗体药物偶联物用于治疗表达或过表达 Nectin-4 的实体瘤。

如本文使用，术语“过表达 Nectin-4 的肿瘤”是指过表达 Nectin-4 的肿瘤（包括良性肿瘤和癌症）。在一些实施例中，肿瘤样品中的 Nectin-4 表达高于免疫组织的背景水平（例如用免疫组织化学染色测定）表明肿瘤是过表达 Nectin-4 的肿瘤。检测肿瘤中 Nectin-4 表达的方法是本领域已知的，例如免疫组织化学测定法。

如本文所用，术语“给予”、“给药”和“施用”可互换使用，意指递送物质（例如，抗 Nectin-4 抗体或 ADC）以实现治疗目的（例如，治疗与 Nectin-4 表达或过表达相关的疾病）。给予方式可以是肠胃外、肠内和局部。肠胃外给予通常是通过注射，包括但不限于静脉、肌肉内、动脉内、鞘内、囊内、眶内、心内、皮内、腹膜内、经气管、皮下、表皮下、关节内、囊下、蛛网膜下、脊柱内、以及胸骨内注射和输注。

如本文所用，术语“有效量”或“治疗有效量”是指药物，例如抗体或 ADC 的量，该量足以降低或改善病症(例如癌症)或其一种或多种症状的严重程度和/或持续时间；预防病症进展；引起病症消退；预防与病症相关的一种或多种症状复发、发展、发作或进展；检测病症；或增强或改善另一疗法(例如预防剂或治疗剂)的预防或治疗效果的量。例如，抗体的有效量可以抑制肿瘤生长(例如，抑制肿瘤体积的增加)；减少肿瘤生长(例如，减小肿瘤体积)；减少癌细胞的数量；和/或在一定程度上缓解与癌症相关的一种或多种症状。例如，有效量可以改善无病生存(DFS)、改善总体存活(OS)或降低复发的可能性。

术语“患者”和“受试者”可互换使用，是指需要诊断、预后或治疗的任何哺乳动物，包括但不限于人类、狗、猫、豚鼠、兔子、大鼠、小鼠、马、牛等。

如本文所用，术语“有需要”是指已将患者鉴定为需要特定方法或治疗。在一些实施例中，可以通过任何诊断方式进行识别。在本文描述的任何方法和治疗中，患者可能需要。

本文所用术语“治疗肿瘤的药物”是指具有抑制肿瘤在人体中发展或累进的功能特性的试剂，尤其是恶性（癌性）病变，诸如癌、肉瘤、淋巴瘤或白血病。抑制转移在很多情况下是抗肿瘤药的特性。

术语“抗体药物偶联物”或“ADC”是指与一个或多个化学药物连接的结合蛋白(如抗体或抗原结合单元)，其可以任选地为治疗剂或细胞毒性剂。在优选的实施例中，ADC 包括抗体，药物(例如细胞毒性药物)和能够使药物与抗体附接或偶联的接头。可包含在 ADC 中的药物的非限制性实例是有丝分裂抑制剂、抗肿瘤抗生素、免疫调节剂、用于基因治疗的载体、烷化剂、抗血管生成剂、抗代谢物、含硼剂、化学保护剂、激素、抗激素剂、皮质类固醇、光活性治疗剂、寡核苷酸、放射性核素剂、拓扑异构酶抑制剂、激酶抑制剂(例如，TEC-家族激酶抑制剂和丝氨酸/苏氨酸激酶抑制剂)和放射增敏剂。

术语“抗体药物偶联物”和“ADC”可互换使用。术语“抗 Nectin-4 抗体药物偶联物”和“抗 Nectin-4 ADC”可互换使用，是指包含特异性结合 Nectin-4 的抗体的 ADC，其中抗体与一种或多种药物偶联。在一个或多个实施方式中，抗 Nectin-4 ADC 包含与依喜替康偶联的抗体。在一个或多个实施方式中，抗 Nectin-4 抗体或 ADC 与 Nectin-4（例如人 Nectin-4）结合。

术语“药物抗体偶联比”或“DAR”是指 ADC 的与抗体附接的药物（例如，依喜替康）的数量。ADC 的 DAR 可以在 1 到 10 的范围内，但是取决于抗体上的连接位点的数量，更高的负载（例如 20）也是可能的。提及负载到单个抗体上的药物的数量时，或可替代地，提及一组 ADC 的平均或均值 DAR 时，可以使用术语 DAR。在一些实施方式中，其值选自 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10。当考虑小分子药物的平均结合个数时，即抗体的药物平均结合数，或称为平均药物抗体偶联比，其值选自约 0 至约 10，或约 2 至约 8。在一些实施方式中，药物抗体偶联比为约 3 至约 6。在另一些实施方式中，药物抗体偶联比为约 6 至约 8，或约 7 至约 8。DAR 值在本文可用 p 表示。ADC 的 DAR 值可利用紫外可见吸收光谱法（UV-Vis）、高效液相色谱-疏水色谱（HPLC-HIC）、高效液相色谱-反相色谱（RP-HPLC）、液相色谱质谱联用（LC-MS）等测定。这些技术在 Ouyang, J. Methods Mol Biol, 2013, 1045: p. 275-83 中有记载。

各种取代基如下定义。在一些情况下，取代基（例如，烷基、烯基、炔基、烷氧基、氨基烷氧基、氨基烷基、氨基烷基氨基、烷基氨基、杂环基、杂环氨基、和芳基）中碳原子的数量由前缀“Cx-Cy”或“Cx-y”指示，其中 x 是碳原子的最小值并且 y 是碳原子的最大值。因此，例如，“C1-C6 烷基”是指含有从 1 至 6 个碳原子的烷基。如果取代基被描述为“被……取代的”，则碳或氮上的氢原子被非氢基团取代。例如，被取代的烷基取代基是烷基取代基，其中烷基上的至少一个氢原子被非氢基团取代。用于说明，单氟烷基是被一个氟基取代的烷基，并且二氟烷基是被两个氟基取代的烷基。应该认识到，如果在取代基上存在一个以上的取代，则每个取代可以是相同的或不同的(除非另有说明)。如果取代基被描述为“任选被……取代”，则取代基可以是(1)未被取代的或(2)被取代的。可能的取代基包括但不限于羟基、C1-C6 烷基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C1-C6 烷氧基、C1-C6 氨基烷氧基、卤素、硝基、氰基、巯基、烷硫基、氨基、C1-C6 氨基烷基、C1-C6 氨基烷基氨基、连接至杂环的 C1-C6 烷基、连接至杂环的 C1-C6 烷基氨基、杂环基、氨基取代的杂环基、杂环氨基、氨基甲酰基、吗啉-1-基、哌啶-1-基、$-(CH_2)_q-CH_3$、$-(CHR^n)_q-CH_3$、C3-C8 碳环基、$-O-(CH_2)_q-CH_3$、亚芳基$-CH_3$、$-(CH_2)_q-$亚芳基$-CH_3$、-亚芳基$-(CH_2)_q-CH_3$、$-(CH_2)_q-$(C3-C8 碳环基)$-CH_3$、-(C3-C8 碳环基)$-(CH_2)_q-CH_3$、C3-C8 杂环基、$-(CH_2)_q-$(C3-C8 杂环基)$-CH_3$、-(C3-C8 杂环基)$-(CH_2)_q-CH_3$、$-(CH_2)_qC(O)NR^n(CH_2)_q-CH_3$、$-(CH_2CH_2O)_q-CH_3$、$-(CH_2CH_2O)_q-CH_2-CH_3$、$-(CH_2)_qC(O)NR^n(CH_2CH_2O)_q-CH_3$、

$-(CH_2)_qC(O)NR^n(CH_2CH_2O)_q-CH_2-CH_3$、$-(CH_2CH_2O)_qC(O)NR^n(CH_2CH_2O)_q-CH_3$、$-(CH_2CH_2O)_qC(O)NR^n(CH_2CH_2O)_q-CH_2-CH_3$、或$-(CH_2CH_2O)_qC(O)NR^n(CH_2)_q-CH_3$；其中各$R^n$独立为H、C1-C6烷基、C3-C8碳环基、苯基或苄基；并且各q独立为1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。

“烷基”指饱和脂肪族烃基基团，该术语包括直链和支链烃基。例如，C1-C20烷基，如C1-C6烷基。C1-C20烷基指具有1至20个碳原子的烷基，例如具有1个碳原子、2个碳原子、3个碳原子、4个碳原子、5个碳原子、6个碳原子、7个碳原子、8个碳原子、9个碳原子、10个碳原子、11个碳原子、12个碳原子、13个碳原子、14个碳原子、15个碳原子、16个碳原子、17个碳原子、18个碳原子、19个碳原子或20个碳原子的烷基。烷基的非限制性实例包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、正戊基、新戊基、正己基等。所述烷基可以是非取代的或被一个或多个取代基所取代，所述取代基包括但不限于烷基、烷氧基、氰基、羟基、羰基、羧基、芳基、杂芳基、胺基、卤素、磺酰基、亚磺酰基、膦酰基等。

“烷氧基”是指烷基中至少1个碳原子被氧原子取代所形成的基团。非限制性实例包括甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、仲丁氧基、叔丁氧基、正戊氧基、正己氧基、环丙氧基和环丁氧基。所述的烷基定义与上文所述的“烷基”定义相同。

“烯基”是指含有1至10个(例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10个)碳-碳双键，由2至20个碳原子组成的直链或者支链不饱和脂肪族烃基，优选2至12个(例如2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12个)碳原子的烯基，更优选2至8个碳原子的烯基，进一步优选2至6个碳原子的烯基。非限制性实例包括乙烯基、丙烯-2-基、丁烯-2-基、丁烯-2-基、戊烯-2-基、戊烯-4-基、己烯-2-基、己烯-3基、庚烯-2-基、庚烯-3-基、庚烯-4-基、辛烯-3-基、壬烯-3-基、癸烯-4-基和十一烯-3-基。所述的烯基可以任选进一步被1个或者多个取代基所取代。

“炔基”是指含有1至10个(例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个)碳-碳叁键，由2至20个碳原子组成的直链或者支链不饱和脂肪族烃基，优选2至12个(例如2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12个)碳原子的炔基，更优选2至8个碳原子的炔基，进一步优选2至6个碳原子的炔基。非限制性实例包括乙炔基、丙炔-1-基、丙炔-2-基、丁炔-1-基、丁炔-2-基、丁炔-3-基、3,3-二甲基丁炔-2-基、戊炔-1-基、戊炔-2-基、己炔-1-基、1-庚炔-1-基、庚炔-3-基、庚炔-4-基、辛炔-3-基、壬炔-3-基、癸炔-4-基、十一炔-3-基、十二炔-4-基。所述的炔基可以任选进一步被一至多个取代基所取代。

“碳环基”是指仅仅由碳和氢原子组成的稳定的非芳香族的单环或多环的烃自由基，其可包括稠合或桥接环系统，具有3至15个碳原子，例如具有3至10个（例如3、4、5、6、7、8、9或10个）碳原子，并且其是饱和的或不饱和的并且通过单键与分子的剩余部分连接。单环自由基包括，例如环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基和环辛基。多环自由基包括，例如金刚烷基、降冰片基、十氢萘基等。当在说明书中具体说明时，碳环基可被独立地选自下列中的一种或多种取代基任选取代：烷基、卤素、卤代烷基、氰基、硝基、氧代、芳基、芳烷基、碳环基、碳环基烷基、杂环基、杂环基烷基、杂芳基、杂芳基烷基。

“芳基”指具有完全共轭的π电子体系的全碳单环或全碳稠合环，通常具有5-14个碳原子，例如，6个、10个、12个、14个碳原子。芳基可以是非取代的，或被一个或多个取代基所取代，所述取代基包括但不限于烷基、烷氧基、氰基、

羟基、羧基、芳基、芳烷基、胺基、卤素、磺酰基、亚磺酰基、膦酰基。非取代的芳基实例包括但不限于苯基、萘基和蒽基。

“杂芳基”是指取代的或未取代的芳香环，其可以是 3 至 8 元(例如 3、4、5、6、7、8 元)的单环、5 至 12 元(例如 5、6、7、8、9、10、11、12 元)双环或者 10 至 15 元(例如 10、11、12、13、14、15 元)三环体系，且包含 1 至 6 个(例如 1、2、3、4、5、6 个)选自 N、O 或 S 的杂原子，优选 5 至 8 元杂芳基，杂芳基的环中选择性取代的 1 至 4 个(例如 1、2、3、4 个)N、S 可被氧化成各种氧化态。杂芳基可以连接在杂原子或者碳原子上，杂芳基可以是桥环或者螺环，非限制性实例包括环吡啶基、呋喃基、噻吩基、吡咯基、吡咯基、嘧啶基、吡嗪基、哒嗪基、咪唑基、哌啶基苯并咪唑基、苯并吡啶基、吡咯并吡啶基。杂芳基任选进一步被 1 个或多个取代基所取代。

“环烷基”是指饱和的环烃基，其环可以为 3 至 10 元(例如 3、4、5、6、7、8、9、10 元)的单环、4 至 12 元(例如 4、5、6、7、8、9、10、11、12 元)双环或者 10 至 20 元(例如 10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20 元)多环体系，环碳原子优选 3 至 10 个碳原子，进一步优选 3 至 8 个碳原子。“环烷基”非限制性实例包括环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、环辛基、环丙烯基、环丁烯基、环戊烯基、环己烯基、环庚烯基、1,5-环辛二烯基、1,4-环己二烯基和环庚三烯基等。当环烷基被取代时，可以任选进一步被 1 个或者多个取代基所取代。

“杂环烷基”是指取代的或未取代的饱和非芳香环基，其可以是 3 至 8 元(例如 3、4、5、6、7、8 元)的单环、4 至 12 元(例如 4、5、6、7、8、9、10、11、12 元)双环或者 10 至 15 元(例如 10、11、12、13、14、15 元)三环体系，且包含 1、2 或 3 个选自 N、O 或 S 的杂原子，优选 3 至 8 元杂环基。“杂环烷基”的环中选择性取代的 1、2 或 3 个 N、S 可被氧化成各种氧化态；“杂环烷基”可以连接在杂原子或者碳原子上；“杂环烷基”可以为桥环或者螺环。“杂环烷基”非限制性实例包括环氧乙基、氮杂环丙基、氧杂环丁基、氮杂环丁基、1,3-二氧戊环基、1,4-二氧戊环基、1,3-二氧六环基、氮杂环庚基、哌啶基、哌叮基、吗啉基、硫代吗啉基、1,3-二噻烷基、四氢呋喃基、四氢吡咯基、四氢咪唑基、四氢噻唑基、四氢吡喃基、氮杂二环[3.2.1]辛烷基、氮杂二环[5.2.0]壬烷基、氧杂三环[5.3.1.1]十二烷基、氮杂金刚烷基和氧杂螺[3.3]庚烷基。

“杂环基”是指稳定的 3 元至 18 元芳香性或非芳香性环取代基，其由 2 至 8 个（例如 2、3、4、5、6、7 或 8 个）碳原子和选自氮、氧和硫中的 1 至 6 个（1、2、3、4、5 或 6 个）杂原子组成。除非在说明书中另外具体说明，杂环基可以是单环、双环、三环或四环环系统，其可以包括稠合或桥接环系统；且杂环基中的氮、碳或硫原子可以任选地被氧化；氮原子任选地被季铵化；且杂环基可以部分或完全饱和。此类杂环基的实例包括但不限于，二氧戊环基、二噁英基、噻吩基[1,3]二噻烷基、十氢异喹啉基、咪唑啉基、咪唑烷基、异噻唑烷基、异噁唑烷基、吗啉基、八氢吲哚基、八氢异吲哚基、2-氧代哌嗪基、2-氧代哌啶基、2-氧代吡咯烷基、噁唑烷基、哌啶基、哌嗪基、4-哌啶酮基、哌咯烷基、吡唑烷基、奎宁环基、噻唑烷基、1,2,4-亚噻二唑-5(4*H*)-基、四氢呋喃基、三氧杂环己基、三噻烷基、三嗪烷基(triazinanyl)、四氢吡喃基、硫代吗啉基、硫代吗啉基(thiamorpholinyl)、1-氧代-硫代吗啉基和 1,1-二氧代-硫代吗啉基。当在说明书中具体说明时，杂环基可以被选自下列中的一个或多个取代基任选取代：烷基、烯

基、卤素、卤代烷基、氰基、氧代、硫代(thioxo)、硝基、芳基、芳烷基、环烃基、环烃基烷基、任选取代的杂环基、任选取代的杂环基烷基、任选取代的杂芳基、任选取代的杂芳基烷基。

“烷氧基”是指式-O-（烷基），其中烷基为本文定义的烷基。烷氧基的非限制性列举为甲氧基、乙氧基、正丙氧基、1-甲基乙氧基(异丙氧基)、正丁氧基、异丁氧基、仲丁氧基、叔丁氧基。烷氧基可为取代的或未取代的。

“卤素”是指氟（F）、氯（Cl）、溴（Br）、或碘（I）。

“氨基”指-NH_2。

“氰基”，是指-CN。

“硝基”指-NO_2。

“羟基”，是指-OH。

“羧基”，是指-COOH。

“巯基”是指-SH。

“羰基”是指 C=O。

当上文所述的“烷基”、“烷氧基”、“烯基”、“炔基”、“芳基”、“杂芳基”、“碳环基”、“碳环”、“杂环基”、“杂环”、“环烷基”、“杂环烷基”或者“杂环基”被取代时，可以选进一步被 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 或者 10 个选自 F、Cl、Br、I、羟基、巯基、硝基、氰基、氨基、C_{1-6}烷基氨基、=O、C_{1-6}烷基、C_{1-6}烷氧基、C_{2-6}烯基、C_{2-6}炔基、-$NR_{q4}R_{q5}$、=NR_{q6}、-C(=O)OC_{1-6}烷基、-OC(=O)C_{1-6}烷基、-C(=O)$NR_{q4}R_{q5}$、C_{3-8}环烷基、C_{3-8}杂环烷基、C_{6-10}芳基、C_{5-10}杂芳基、-C(=O)OC_{6-10}芳基、-OC(=O)C_{6-10}芳基、-OC(=O)C_{5-10}杂芳基、-C(=O)OC_{5-10}杂芳基、-OC(=O)C_{3-8}杂环烷基、-C(=O)OC_{3-8}杂环烷基、-OC(=O)C_{3-8}环烷基、-C(=O)OC_{3-8}环烷基、-NHC(=O)C_{3-8}杂环烷基、-NHC(=O)C_{6-10}芳基、-NHC(=O)C_{5-10}杂芳基、-NHC(=O)C_{3-8}环烷基、-NHC(=O)C_{3-8}杂环烷基、-NHC(=O)C_{2-6}烯基或者-NHC(=O)C_{2-6}炔基的取代基所取代，且其中所述的取代基C_{1-6}烷基、C_{1-6}烷氧基、C_{2-6}烯基、C_{2-6}炔基、C_{3-8}环烷基、C_{3-8}杂环烷基、C_{6-10}芳基、C_{5-10}杂芳基、-NHC(=O)C_{6-10}芳基、-NHC(=O)C_{5-10}杂芳基、-NHC(=O)C_{3-8}杂环烷基或者-NHC(=O)C_{3-8}环烷基任选进一步被 1 至 3 个选自 OH、F、Cl、Br、I、C_{1-6}烷基、C_{1-6}烷氧基、-$NR_{q4}R_{q5}$或者=O 的取代基所取代；R_{q1}选自C_{1-6}烷基、C_{1-6}烷氧基或者C_{6-10}芳基；R_{q2}、R_{q3}选自 H 或者C_{1-6}烷基；其中，R_{q4}、R_{q5}选自 H、C_{1-6}烷基、-NH(C=NR_{q1})$NR_{q2}R_{q3}$、-$S(=O)_2NR_{q2}R_{q3}$、-C(=O)R_{q1}或者-C(=O)$NR_{q2}R_{q3}$，其中所述的C_{1-6}烷基任选进一步被 1 个或者多个选自 OH、F、Cl、Br、I、C_{1-6}烷基、C_{1-6}烷氧基、C_{6-10}芳基、C_{5-10}杂芳基、C_{3-8}环烷基或者C_{3-8}杂环烷基的取代基所取代；或者R_{q4}与R_{q5}及 N 原子形成一个 3 至 8 元杂环，所述杂环可以含有 1 个或者多个选自 N、O 或者 S 的杂原子。

“药学上可接受的盐”或者“其药学上可接受的盐”是指化合物保持游离酸或者游离碱的生物有效性和特性，且所述的游离酸通过与无毒的无机碱或者有机碱，所述的游离碱通过与无毒的无机酸或者有机酸反应获得的盐。

“药物组合物”是指一种或多种化合物、其药学上可接受的盐或前药和其它化学组分形成的混合物，其中，“其它化学组分”是指药学上可接受的载体、赋形剂和/或一种或多种其它治疗剂。

“载体”是指不会对生物体产生明显刺激且不会消除所给予化合物的生物活性和特性的材料，即，可以与活性成分一起施用于患者的稀释剂、佐剂、赋形剂或载体。这此类药物载体可以是无菌液体，如水和油，包括石油、动植物或合成

来源的油，如花生油、大豆油、矿物油、芝麻油等。当药物组合物静脉内给药时，水是优选的载体。盐水溶液和葡萄糖水溶液和甘油溶液也可用作液体载体，特别是用于注射溶液。“赋形剂”是指加入到药物组合物中以促进化合物给药的惰性物质。非限制性实例包括碳酸钙、磷酸钙、淀粉、纤维素衍生物(包括微晶纤维素)、明胶、植物油、聚乙二醇类、稀释剂、成粒剂、润滑剂、粘合剂和崩解剂。这些组合物可以采取溶液、悬液、乳剂、片剂、丸剂、胶囊、散剂、缓释制剂等形式。该组合物可以用传统的粘合剂和载体如甘油三酯配制成栓剂。口服制剂可以包括标准载体，例如药物等级的甘露糖醇、乳糖、淀粉、硬脂酸镁、糖精钠、纤维素、碳酸镁等。合适的药物载体的实例在 E. W. Martin 的 Remington's Pharmaceutical Sciences 中有描述，在此通过引用并入本申请。此类组合物将含有临床有效剂量的抗体或抗原结合片段，优选以纯化后的形式，连同合适数量的载体，以提供适合于患者的给药形式。该制剂应该适用于给药模式。亲本制剂可以封装在安瓿瓶、一次性注射器或由玻璃或塑料制成的多剂量小瓶中。

“立体异构体”是指由分子中原子在空间上排列方式不同所产生的异构体，包括顺反异构体、对映异构体和构象异构体。

“任选”或“任选地”或“选择性的”或“选择性地”是指随后所述的事件或状况可以但未必发生，该描述包括其中发生该事件或状况的情况及其中未发生的情况。例如，“选择性地被烷基取代的杂环基”是指该烷基可以但未必存在，该描述包括其中杂环基被烷基取代的情况，及其中杂环基未被烷基取代的情况。

抗 Nectin-4 抗体

本发明提供抗体或抗原结合单元。在一个或多个实施方式中，本发明的抗体或抗原结合单元能够特异性结合 Nectin-4（例如，人 Nectin-4）。在一个或多个实施方式中，本发明的抗体或抗原结合单元具有以下一种或多种特性：与 Nectin-4（例如人 Nectin-4）结合、与表达 Nectin-4 的细胞结合、高亲和力、内吞。

在一个或多个实施方式中，抗体的抗原结合单元是 Fab、Fab'、$F(ab')_2$、Fv、二硫键连接的 Fv、scFv、单结构域抗体。

在一个或多个实施方式中，抗体可以为单克隆抗体。

本发明公开的抗体或抗原结合单元的结合特异性可以通过体外实验，例如免疫共沉淀、放射免疫实验（RIA）、表面等离子共振、流式细胞术（Facs）或酶联免疫吸附实验（ELISA）来检测。

本发明还包括与本文所述抗体结合同一表位的抗体。例如，本发明的抗体特异性结合包括人 Nectin-4 上一个或多个氨基酸残基的表位。

在一个或多个实施方式中，抗体包含重链恒定区，例如 IgG、IgA、IgE、IgM 或 IgD 恒定区。在一个或多个实施方式中，抗体或抗原结合单元包含选自人 IgG 恒定结构域、人 IgA 恒定结构域、人 IgE 恒定结构域、人 IgM 恒定结构域和人 IgD 恒定结构域的免疫球蛋白重链恒定结构域。在一个或多个实施方式中，抗体或抗原结合单元包含 IgG1 重链恒定区、IgG2 重链恒定区、IgG3 重链恒定区或 IgG4 重链恒定区。在一个或多个实施方式中，重链恒定区为 IgG1 重链恒定区或 IgG4 重链恒定区。在一个或多个实施方式中，抗体或抗原结合单元包含轻链恒定区，例如κ轻链恒定区或λ轻链恒定区。

在一个或多个实施方式中，将本发明抗体或抗原结合单元连接至可检测试剂，例如，通过掺入放射性标记的氨基酸，或者附着于可由标记的亲和素（例如，

含有荧光标记或可由光学方法或量热法检测的酶活性的链霉亲和素）检测的生物素基部分的多肽。在某些情况下，标记物或标记也可为治疗性的。标记多肽和糖蛋白的各种方法是本领域已知的并且可以使用。用于多肽的标记物的示例包括但不限于以下项：放射性同位素或放射性核素（例如，^{3}H、^{14}C、^{15}N、^{35}S、^{90}Y、^{99}Tc、^{111}In、^{125}I、^{131}I），荧光标记物（例如，FITC、罗丹明、镧系磷光体），酶标记物（例如，辣根过氧化酶、β-半乳糖苷酶、荧光素酶、碱性磷酸酶），化学发光标记，生物素酰基，被二级报告基因识别的预定多肽表位（例如，亮氨酸拉链对序列、二级抗体结合位点、金属结合结构域、表位标签）。在一个或多个实施方式中，标记通过各种长度的间隔臂连接以减小可能的空间位阻。

在一个或多个实施方式中，本发明的抗体或抗原结合单元可用作检测样品中 Nectin-4（例如人 Nectin-4）是否存在。在一个或多个实施方式中，抗体包含可检测试剂。抗体为多克隆抗体，或更优选单克隆抗体。可使用完整的抗体或抗原结合单元（例如 Fab、scFv 或 $F(ab')_2$）。所述检测方法可用于在体外及体内检测生物样品中的分析物 mRNA、蛋白质或基因组 DNA。例如，分析物 mRNA 体外检测技术包括 Norhtern 杂交和原位杂交；分析物蛋白质体外检测技术包括酶联免疫吸附测定（ELISA）、Western 印迹、免疫沉淀、以及免疫荧光；分析物基因组 DNA 体外检测技术包括 Southern 杂交。此外，分析物蛋白质的体内检测技术包括向患者体内导入标记的抗分析物蛋白抗体。例如，可以用放射性标记标记抗体，然后可以通过标准成像技术检测患者体内该放射性标记物的存在和位置。

在一个或多个实施方式中，在生物样品中可检测 Nectin-4 作为临床测试过程的一部分，例如，用于确定给定治疗方案的功效。将抗体偶联（如物理连接）到可检测物质可有利于检测。可检测物质的示例包括各种酶、辅基、荧光材料、发光材料、生物发光材料和放射性材料。合适的酶的示例包括辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶、β-半乳糖苷酶或乙酰胆碱酯酶；合适的辅基复合物的示例包括链霉亲和素/生物素和亲和素/生物素；合适的荧光材料的示例包括伞形酮、荧光素、异硫氰酸荧光素、罗丹明、二氯三嗪氨荧光素、丹磺酰氯或藻红蛋白；发光材料的一个示例包括鲁米诺；生物发光材料的示例包括荧光素酶、荧光素和水母蛋白；合适放射性材料的示例包括 ^{125}I、^{131}I、^{35}S 或 ^{3}H。

在一个或多个实施方式中，本发明的抗体或抗原结合单元与 Nectin-4 结合的结合解离平衡常数(KD)为约 1 μM 或更低。在一个或多个实施方式中，本发明的抗体或抗原结合单元与 Nectin-4 结合的 KD 在约 100 nM 至约 1 pM 之间或更低。在一个或多个实施方式中，本发明的抗体或抗原结合单元与 Nectin-4 结合的 KD 在约 10 nM 至约 1 pM 之间或更低。在一个或多个实施方式中，本发明的抗体或抗原结合单元与 Nectin-4 结合的 KD 在约 10 nM 至约 1 nM 之间或更低。

在一个或多个实施方式中，本发明的抗体或抗原结合单元与人 Nectin-4（例如 SEQ ID NO: 2 所示的抗原 hNectin-4-His）结合的 KD 为约 100 nM 至约 1 pM 之间或更低。在一个或多个实施方式中，本发明的抗体或抗原结合单元与人 Nectin-4 结合的 KD 在约 10 nM 至约 1 pM 之间或更低；或者，在约 10 nM 至约 1 nM 之间或更低。

抗体药物偶联物

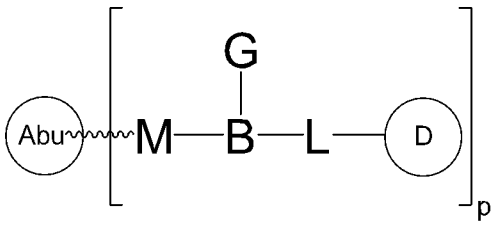
本发明的抗体或抗原结合单元可以与药物偶联形成抗 Nectin-4 抗体药物偶联物（抗 Nectin-4 ADC）。由于抗体药物偶联物（ADC）能够选择性地将一种或多种药物递送至靶组织（例如，表达或过表达 Nectin-4 的肿瘤），抗体药物偶

联物（ADC）可以增加抗体在治疗疾病（例如癌症）中的治疗功效。在一个或多个实施方式中，本发明的抗体药物偶联物（ADC），其包含本文所述的抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元和至少一种药物（例如依喜替康）。本发明的 ADC 具有以下一种或多种特性：与 Nectin-4（例如人 Nectin-4）结合、与表达 Nectin-4 的细胞结合、高亲和力、内吞、减少或抑制癌细胞或肿瘤生长。

本发明的抗原结合单元可以与本文所述的药物偶联。在一个或多个实施方式中，本文所述的抗原结合单元通过接头与药物偶联形成抗 Nectin-4 ADC。

本发明的抗 Nectin-4 ADC 包含与一个或多个药物连接的特异性结合 Nectin-4（例如人 Nectin-4）的抗体或抗原结合单元。ADC 的特异性可以由抗体（例如抗 Nectin-4 抗体）或其抗原结合单元的特异性决定。在一个或多个实施方式中，抗 Nectin-4 抗体与一种或多种药物（例如 DNA 拓扑异构酶抑制剂）连接，所述药物（例如 DNA 拓扑异构酶抑制剂）被递送至表达或过表达 Nectin-4 的细胞，特别是表达或过表达 Nectin-4 的癌细胞。在一个或多个实施方式中，抗 Nectin-4 抗体药物偶联物包含通过接头与药物(例如依喜替康)偶联的抗 Nectin-4 抗体。本文所述的抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元为 ADC 提供了结合 Nectin-4 的能力，使得附着于抗体的药物可以被递送至表达或过表达 Nectin-4 的细胞，特别是表达或过表达 Nectin-4 的癌细胞。

在一个或多个实施方式中，ADC 为如式 I-A 所示的结构或其立体异构体或其药学上可接受的盐或溶剂合物。

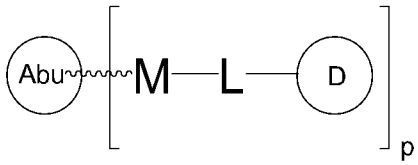


式 I-A

其中 Abu、M、B、G、L、D、p 如本文所定义。

在一个或多个实施方式中，ADC 为 10F4-3-ExaD8、10F4-3-ExaD4、10F4-3-ExaD6 或其药学上可接受的盐或溶剂合物。

在一个或多个实施方式中，ADC 为如式 I-B 所示的结构或其立体异构体或其药学上可接受的盐或溶剂合物。

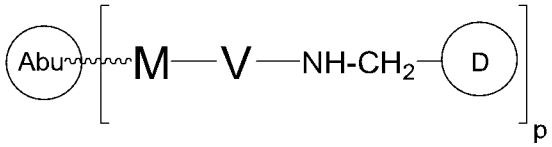


式 I-B

其中 Abu、M、L、D、p 如本文所定义。

在一个或多个实施方式中，ADC 为 ASG-22-MMAE、10F4-3-MMAE、10F4-5-MMAE、1F3-1E1-MMAE、1F3-2B9-MMAE 或其药学上可接受的盐或溶剂合物。

在一个或多个实施方式中，ADC 为如式 I-C 所示的结构或其立体异构体或其药学上可接受的盐或溶剂合物。



式 I-C

其中 Abu、M、V、D、p 如本文所定义。

药物组合物

可将本发明所述抗体或抗原结合单元、偶联有本发明所述抗体或抗原结合单元的抗体药物偶联物掺入适于施用的药物组合物中。制备此类组合物所涉及的原理和考虑事项以及选择组分的指南在本领域中是熟知的。

此类组合物通常包含抗体或抗原结合单元或抗体药物偶联物和药学上可接受的载体。

在一个或多个实施方式中，抗原结合单元为与靶蛋白特异性结合的最小抑制片段。如，基于抗体的可变区序列并保留结合靶蛋白序列能力的肽。

在一个或多个实施方式中，药物组合物还包含抗癌剂（例如免疫检查点抑制剂）。

如本文所用，术语“药学上可接受的载体”旨在包括与药物给药相容的任何和所有溶剂、稳定剂、缓冲剂、分散介质、包衣、抑菌剂、等渗剂和吸收延缓剂等。合适载体描述于 Remington's Pharmaceutical Sciences 中。此类载体或稀释剂可选择包括但不限于水、生理盐水、林格氏溶液、葡萄糖溶液和 5%的人血清白蛋白。

在一个或多个实施方式中，待体内施用的制剂必须为无菌的，这可通过无菌滤膜过滤容易地实现。

药物组合物可以以剂量单位形式配制，易于施用，剂量均匀。如本文所用，剂量单位形式是指用于待治疗的患者，适合作为单位剂量的物理上可分离的单位；每个单位含有经计算与所需药物载体结合产生期望治疗效果的预定量的一种或多种所述抗体或抗原结合单元或抗体药物偶联物。

所述药物组合物可放于容器或分配器中，并与给药说明书一起包装。

本发明所述药物组合物还可根据要治疗的具体情况而包含其它活性成分，优选具有互补活性但对彼此无负面影响的那些。在一个或多个实施方式中，组合物可包含增强其功能的试剂，诸如细胞毒素试剂、细胞因子、化学治疗剂、或生长抑制剂。此类活性成分以对预期目的有效的量适当地联合存在。

本发明的组合物可以配制成中性的或盐的形式。

治疗方法和用途

本文所述的抗体或抗原结合单元或 ADC 可用于多种应用中，包括但不限于治疗方法，例如肿瘤的治疗。在一个或多个实施方式中，所述抗体或抗原结合单元或 ADC 可用于抑制肿瘤生长、减少肿瘤体积和/或降低肿瘤的致瘤性。使用方法可以是体外、离体或体内方法。

在一个或多个实施方式中，抑制肿瘤生长的方法包括在体外使肿瘤与抗体或抗原结合单元或 ADC 或包含其的药物组合物接触。例如，将表达 Nectin-4 的永生化细胞系或癌细胞培养在添加了抗体或抗原结合单元或 ADC 或包含其的药物组合物的培养基中。在一个或多个实施方式中，从患者样品中分离肿瘤细胞并将其添加到含有抗体或抗原结合单元或 ADC 或包含其的药物组合物的培养基中

培养。在一个或多个实施方式中，抑制肿瘤生长的方法包括使肿瘤或肿瘤细胞与抗体或抗原结合单元或 ADC 或包含其的药物组合物在体内接触。

本发明提供的抗体或抗原结合单元或 ADC 或包含其的药物组合物可以用于诊断、预后、监控、治疗、缓解和/或预防患者中 Nectin-4 异常表达相关的疾病和病症。通过使用常规方法鉴定患者中存在 Nectin-4 异常表达相关的疾病和病症时，可以给药本发明所述的抗体或抗原结合单元或 ADC 或包含其的药物组合物。在一个或多个实施方案中，通过免疫组织化学（IHC）、流式细胞术或核酸杂交等来检测 Nectin-4 表达的程度。

在一个或多个实施方式中，本发明涉及治疗以 Nectin-4 为治疗靶点的相关疾病的方法，从而改善、减缓、抑制、治疗或预防 Nectin-4 异常表达（例如，Nectin-4 过表达）相关的任何疾病或病症；涉及提供治疗患者肿瘤（包括良性肿瘤和癌症）的方法、缓解患者肿瘤（包括良性肿瘤和癌症）症状的方法、避免患者肿瘤（包括良性肿瘤和癌症）复发的方法，所述方法包括向患者施用有效量的本文所述的抗体或抗原结合单元或 ADC。

在一个或多个实施方式中，本发明提供了预防、治疗或改善疾病的方法，该方法包括向有需要的患者施用有效量的本文所述的抗体或抗原结合单元或 ADC 或包含其的药物组合物。在一个或多个实施方式中，本发明提供了所述抗体或抗原结合单元或 ADC 在制备用于预防、治疗或改善疾病的药物中的应用。在一个或多个实施方式中，所述疾病为 Nectin-4 表达相关的疾病。在一个或多个实施方式中，所述疾病为 Nectin-4 异常表达相关的疾病。在一个或多个实施方式中，所述疾病为 Nectin-4 过表达相关的疾病。在一个或多个实施方式中，所述疾病为表达 Nectin-4 的肿瘤。在一个或多个实施方式中，所述疾病为过表达 Nectin-4 的肿瘤。在一个或多个实施方式中，所述疾病为过表达 Nectin-4 的癌症。在一个或多个实施方式中，所述疾病为过表达人 Nectin-4 的癌症。

在一个或多个实施方式中，本发明提供了治疗肿瘤（包括良性肿瘤和癌症）的方法，该方法包括向有需要的患者施用有效量的本文所述的抗体或抗原结合单元或 ADC 或包含其的药物组合物。癌症的实例包括但不限于实体瘤、血液癌及转移性病灶。此类癌症的具体实例包括但不限于乳腺癌（例如，三阴性乳腺癌（TNBC）；局部、转移性 TNBC）、胰腺癌、膀胱癌、尿路上皮癌、黑色素瘤、肺癌（例如，非小细胞肺癌,鳞状细胞癌或肺腺癌）、头颈癌（例如，头部和颈部鳞状细胞癌）、宫颈癌（例如，宫颈鳞状细胞癌）、卵巢癌、绒毛膜癌、皮肤癌、食管癌（例如，食管腺癌）、胃癌、子宫癌（例如，子宫内膜癌）、胆囊癌、肝癌、肝细胞癌、尿道癌、肾盂癌、输尿管癌、结直肠癌、结肠癌和前列腺癌。在一个或多个实施方式中，癌症是转移性或晚期癌症。在一个或多个实施方式中，患者为具有增加的 Nectin-4 表达水平的患者。在一个或多个实施方式中，患者是人。可以将本发明的抗体或抗原结合单元或 ADC 出于治疗目的给予人患者。此外，本发明的抗体或抗原结合单元或 ADC 可以给予表达 Nectin-4 的非人哺乳动物（出于兽医学目的或作为人类疾病的动物模型）。所述人类疾病的动物模型可用于评估本发明抗体或抗原结合单元或 ADC 的治疗功效（例如，剂量测试和给药时间过程）。

对于任何特定患者的具体剂量和治疗方案将取决于各种因素，包括所使用的特定抗体或衍生物（例如 ADC 或药物组合物）、患者的年龄和体重、一般健康状况、性别和饮食，以及给药时间、代谢频率、药物组合，以及所治疗的特定疾病的严重程度。由包括在本领域普通技术人员范围内的医疗护理人员对这些因

素进行判断。所述剂量还将取决于待治疗的个体患者、给药途径、制剂类型、所用化合物的特性、疾病的严重程度以及所需的效果。所用剂量可以通过本领域熟知的药理学和药代动力学原理确定。在一个或多个实施方式中，有效剂量的范围为从约 0.1 mg/kg 到约 100 mg/kg，给药频率可以例如是每月给药一次。例如，给药方式可以是静脉输注，静脉推注，也可以是皮下注射、肌肉注射等。应注意，剂量值可随欲缓解的病状的类型及严重程度变化。此外应了解，对任何特定患者而言，特定给药方案可根据患者需要及给予组合物或监督组合物给予的人员的专业判断而随时调整，且本文所阐述的剂量范围仅为例示性的，且不意欲限制所要求的组合物的范畴或实践。

抗体或抗原结合单元或 ADC 的施用方法包括但不限于真皮内、肌肉、腹腔、静脉、皮下、鼻腔、硬脊膜外和口服。施用方式可以是全身施用或局部施用。此外，可能需要通过任何合适的途径将本发明的抗体或抗原结合单元或 ADC 引入中枢神经系统，包括脑室内和鞘内注射；脑室内注射可以通过脑室内导管连接到如贮液囊（可以是 Ommaya 贮液囊）来辅助注射。也可以通过肺部给药，例如通过使用吸入器或喷雾器，以及使用雾化的制剂。

各种已知输送系统可用于施用本发明抗体或抗原结合单元或编码其的多核苷酸或 ADC，例如包封于脂质体、微粒、微胶囊、能够表达所述化合物的重组细胞、受体介导的内吞作用（参见例如 Wu and Wu, 1987, J. Biol. Chem. 262:4429-4432）、作为逆转录病毒或其它载体的一部分的核酸的构建等。

联合疗法

在一个或多个实施方式中，本发明抗体或抗原结合单元或 ADC 可以结合其它治疗或预防方案，包括一种或多种本发明抗体或抗原结合单元或 ADC 以及一种或多种其它治疗剂或方法一起使用或组合使用。对于组合治疗，抗体或抗原结合单元或 ADC 可以与其它治疗剂可同时或分开施用。当分开施用时，可以在施用另一种其它治疗剂之前或之后施用本发明抗体或抗原结合单元或 ADC。

在一个或多个实施方式中，在向患者施用本发明的抗体或抗原结合单元或 ADC 时，还可以向患者联合施用本文公开的抗体或抗原结合单元或 ADC 或药物组合物或免疫缀合物，以及一种或多种其它疗法，例如治疗方式和/或其它制剂（例如治疗剂）。

在一个或多个实施方式中，本发明抗体或抗原结合单元或 ADC 可以与免疫检查点抑制剂一起使用。在一个或多个实施方式中，本发明抗体或抗原结合单元或 ADC 与其它治疗或预防方案联合施用，例如放射性疗法。

此类联合疗法涵盖组合施用（其中两种或更多种制剂包含在同一配制剂或分开的配制剂中），和分开施用，在该情况中，可以在施用别的疗法，例如治疗方式和/或治疗剂之前，同时，和/或之后发生本发明的抗体或抗原结合单元或 ADC 的施用。抗体或抗原结合单元或 ADC 和/或其他疗法，例如治疗剂或治疗方式可以在活动性疾病期间或在缓解或活动度更小的疾病期间施用。抗体或抗原结合单元或 ADC 可以在其他治疗前、与其他治疗同时、治疗后或在疾病缓解期间施用。

抗体制备方法

使用常规重组 DNA 技术，可将本发明的抗体的一个或多个 CDR 插入框架区。框架区可以是天然存在的或共有的框架区，优选人类框架区（参见 Chothia et al., J. Mol. Biol. 278:457-479（1998），其列出一系列人类框架区）。一些多核苷

酸可以编码框架区和CDR组合产生的与目标抗原的至少一个表位特异性结合的抗体。在框架区内可以进行一个或多个氨基酸取代，可以选择能够改善抗体与其抗原结合的氨基酸取代。另外，可用此法进行参与链间二硫键形成的一个或多个可变区中半胱氨酸残基的取代或缺失，从而产生缺少一个或多个链间二硫键的抗体分子。本领域技术范围内的对多核苷酸进行的其他改变也涵盖于本发明中。

抗体可以通过使用常规重组DNA技术制备。使用本领域技术人员公知的技术可以选择、构建和培养生产抗体的载体及细胞系等。这些技术在各种实验室手册和主要出版物中均有描述，例如Recombinant DNA Technology for Production of Protein Therapeutics in Cultured Mammalian Cells， D.L. Hacker, F.M. Wurm, in Reference Module in Life Sciences, 2017，其全部内容包括补充内容通过引用并入全文。

抗体（例如抗Nectin-4抗体）或其抗原结合单元基因可以通过标准方法（例如，连接抗体基因片段和载体上的互补限制性位点，或者如果不存在限制性位点，则平端连接）插入表达载体内。表达载体可以为质粒、逆转录病毒、YAC、EBV衍生的附加体等等。为了表达抗体（例如抗Nectin-4抗体），可将编码全长轻链和重链的DNA插入表达载体内，使得基因与转录和翻译控制序列可操作地连接。“可操作地连接”意指抗体基因连接到载体内，使得载体内的转录和翻译控制序列发挥其调节抗体基因转录和翻译的预期功能。

重链和轻链的一致性序列J区可用于设计用作引物的寡核苷酸，以便在J区内引入有用的限制性位点，用于随后将V区片段连接于C区片段。C区cDNA可通过定点诱变修饰，以在人序列的类似位置放置一个限制性位点。在一个或多个实施方式中，在插入抗体相关的轻链或重链可变区基因序列之前，表达载体已经携带抗体恒定区序列。例如，将抗Nectin-4抗体相关的VH和VL序列转换为全长抗体基因的一种方法是将它们分别插入已经编码重链恒定区和轻链恒定区的表达载体内，使得VH区段可操作地连接至载体内的CH区段，并且VL区段可操作地连接至载体内的CL区段。

重组表达载体可以编码促进宿主细胞分泌抗体重链和轻链的信号肽。或者，可以将抗体重链和轻链基因克隆到编码促进宿主细胞分泌抗体重链和轻链的信号肽的载体中，使得信号肽与抗体重链和轻链基因的氨基末端框内连接。信号肽可以是免疫球蛋白信号肽或异源信号肽（即，来自非免疫球蛋白蛋白的信号肽），例如，MELGLCWVFLVAILEGVQC（如SEQ ID NO:3所示），MDMRVPAQLLGLLLLWFPGSRC（如SEQ ID NO:4所示），MEWSWVFLFFLSVTTGVHS（如SEQ ID NO:39所示），MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARC（如SEQ ID NO:40所示）。

除抗体重链和轻链基因之外，重组表达载体还可以携带控制抗体链基因在宿主细胞中表达的调节序列。调节序列包括控制抗体链基因的转录或翻译的启动子、增强子和其它表达控制元件（例如，多腺苷酸化信号）。此类调节序列在例如Goeddel，Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185，Academic Press，San Diego，CA，1990中有描述。本领域技术人员了解表达载体的设计，包括调节序列的选择可以取决于待转化的宿主细胞的选择、所需蛋白质的表达水平等因素。用于哺乳动物宿主细胞表达的合适调节序列包括指导哺乳动物细胞中的高水平蛋白质表达的病毒元件，如衍生自巨细胞病毒（CMV）（如CMV启动子/增强子）、猿猴病毒40（SV40）（如SV40启动子/增强子）、腺病毒（如腺病毒主要晚期启动子（AdMLP））和多瘤的启动子和/或增强子。关于病毒调节

元件及其序列的进一步描述，参见例如美国专利 5,168,062， 4,510,245 和 4,968,615。

除抗体链基因和调节序列之外，重组表达载体可以携带另外的序列，例如调节载体在宿主细胞中复制的序列（例如，复制起点）和可选择标记物基因。可选择标记物基因促进载体已引入其内的宿主细胞的选择（参见例如，美国专利 4,399,216、4,634,665 和 5,179,017）。例如，通常可选择赋予已引入载体的宿主细胞针对药物（例如 G418、潮霉素或氨甲蝶呤）的抗性的标记物基因。合适的可选择标记物基因包括二氢叶酸还原酶（DHFR）基因（用于在具有氨甲蝶呤选择/扩增的 DHFR-宿主细胞中使用）、neo 基因（用于 G418 选择）和 GS 基因。对于重链和轻链的表达，通过标准技术将编码重链和轻链的表达载体转染到宿主细胞内。在一个或多个实施方式中，插入基因片段需含有筛选标记，常见的筛选标记包括二氢叶酸还原酶、谷氨酰胺合成酶、新霉素抗性、潮霉素抗性等筛选基因，以便于转染成功的细胞的筛选分离。将构建好的质粒转染到无上述基因的宿主细胞，经过选择性培养基培养，转染成功的细胞大量生长，产生想要获得的目的蛋白。抗体将通过一个或多个纯化步骤纯化。纯化可以采用常规方法进行，例如先离心细胞悬液并收集上清液，再次离心进一步去除杂质。Protein A 亲和柱和离子交换柱等方法可以用于纯化抗体蛋白。

本发明的抗体（例如抗 Nectin-4 抗体）可以通过在宿主细胞中重组表达抗体的重链和轻链基因来制备。例如，用一种或多种携带编码抗体的重链和轻链 DNA 片段的重组表达载体转染宿主细胞，使得重链和轻链在宿主细胞中表达，表达的抗体可以分泌到培养宿主细胞的培养基内，从所述培养基中可以回收抗体。“转染”指通常用于将外源 DNA 引入真核宿主细胞内的广泛多样的技术，例如电穿孔、脂转染、磷酸钙沉淀、DEAE-葡聚糖转染等等。用于获得抗体重链和轻链基因，将这些基因掺入表达载体内并将载体引入宿主细胞内的标准重组 DNA 方法在本领域众所周知，例如美国专利号 4,816,397 中描述的那些。表达抗体重链和轻链的 DNA 可以置入同一载体中或置入不同载体中；若置入不同载体中，表达抗体重链的载体和表达抗体轻链的载体可以以适当比例转染宿主细胞（如 Tihomir S. Dodev et al., A tool kit for rapid cloning and expression of recombinant antibodies, Scientific Reports volume 4, Article number: 5885 (2014)）。在一个或多个实施方式中，抗体表达载体包括至少一个启动子元件，抗体编码序列，转录终止信号和 polyA 尾巴。其他元件可以包括增强子，Kozak 序列及插入序列两侧 RNA 剪接的供体和受体位点。可以通过 SV40 的前期和后期启动子，来自逆转录病毒的长末端重复序列如 RSV、HTLV1、HIVI 及巨细胞病毒的早期启动子来获得高效的转录，也可应用其它一些细胞的启动子如肌动蛋白启动子。合适的表达载体可包括 pIRES1neo，pRetro-Off，pRetro-On，pLXSN，pLNCX，pcDNA3.1（+/-），pcDNA/Zeo(+/-)，pcDNA3.1/Hygro（+/-），pSVL，pMSG，pRSVcat，pSV2dhfr，pBC12MI，pCS2 或 pCHO1.0 等。

本发明的抗体（例如抗 Nectin-4 抗体）能够在真核宿主细胞中表达。在某些实施方案中，抗体的表达在真核细胞例如哺乳动物宿主细胞中进行。用于表达本发明抗体的示例性宿主细胞包括中国仓鼠卵巢细胞（CHO 细胞）或从 CHO 细胞修饰的 CHO-S、CHO-dhfr-、CHO/DG44 或 ExpiCHO、NSO 骨髓瘤细胞、COS 细胞、Cos1 细胞、Cos7 细胞、SP2 细胞、CV1 细胞、鼠 L 细胞、人胚肾细胞 HEK293 或从 HEK293 细胞修饰的 HEK293T、HEK293F 或 HEK293E 细胞。将编码抗体链基因的重组表达载体引入宿主细胞内后，将宿主细胞在培养基内培养

允许抗体在宿主细胞中表达或抗体分泌到培养基的一段时间来产生抗体。可以使用标准蛋白质纯化方法从培养基中回收抗体。

本发明的抗体（例如抗 Nectin-4 抗体）的重组表达，可以用两种重组表达载体共转染宿主细胞，第一重组表达载体编码抗体重链，第二重组表达载体编码抗体轻链。两个重组表达载体可以含有相同的可选择标记物，或者它们可以各自含有分开的可选择标记物。可替代地，可以使用编码抗体重链和轻链的重组表达载体转染宿主细胞。

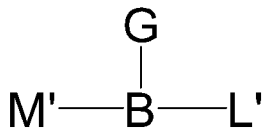
本发明的抗体（例如抗 Nectin-4 抗体）还可以通过化学合成（例如，通过 Solid Phase Peptide Synthesis，第 2 版，1984 The Pierce Chemical Co.，Rockford，Ill.中描述的方法）来生产。还可以使用无细胞平台（参见例如，Chu 等人，Biochemia No. 2，2001（Roche Molecular Biologicals）以及 Murray 等人，2013，Current Opinion in Chemical Biology，17:420–426）生成抗体变体。

通过重组表达产生的抗体（例如抗 Nectin-4 抗体），可以通过本领域已知的用于纯化免疫球蛋白分子的任何方法纯化，例如通过层析（例如，离子交换、亲和层析和分级柱层析）、离心、差异溶解度或纯化蛋白质的任何其它标准技术。例如利用蛋白 A 或蛋白 G 进行亲和层析，其主要提供了免疫血清中的 IgG 级分。另外，可将免疫球蛋白所靶向的特异抗原或其表位固定于柱上，以通过免疫亲和色谱来纯化免疫特异性抗体。本发明的抗体（例如抗 Nectin-4 抗体）可以与本领域已知的异源多肽序列融合，以促进纯化。免疫球蛋白的纯化可参考 D. Wilkinson 的文章（The Scientist，由 The Scientist, Inc., Philadelphia Pa.出版，第 14 卷，第 8 期（2000 年 4 月 17 日），第 25-28 页）。

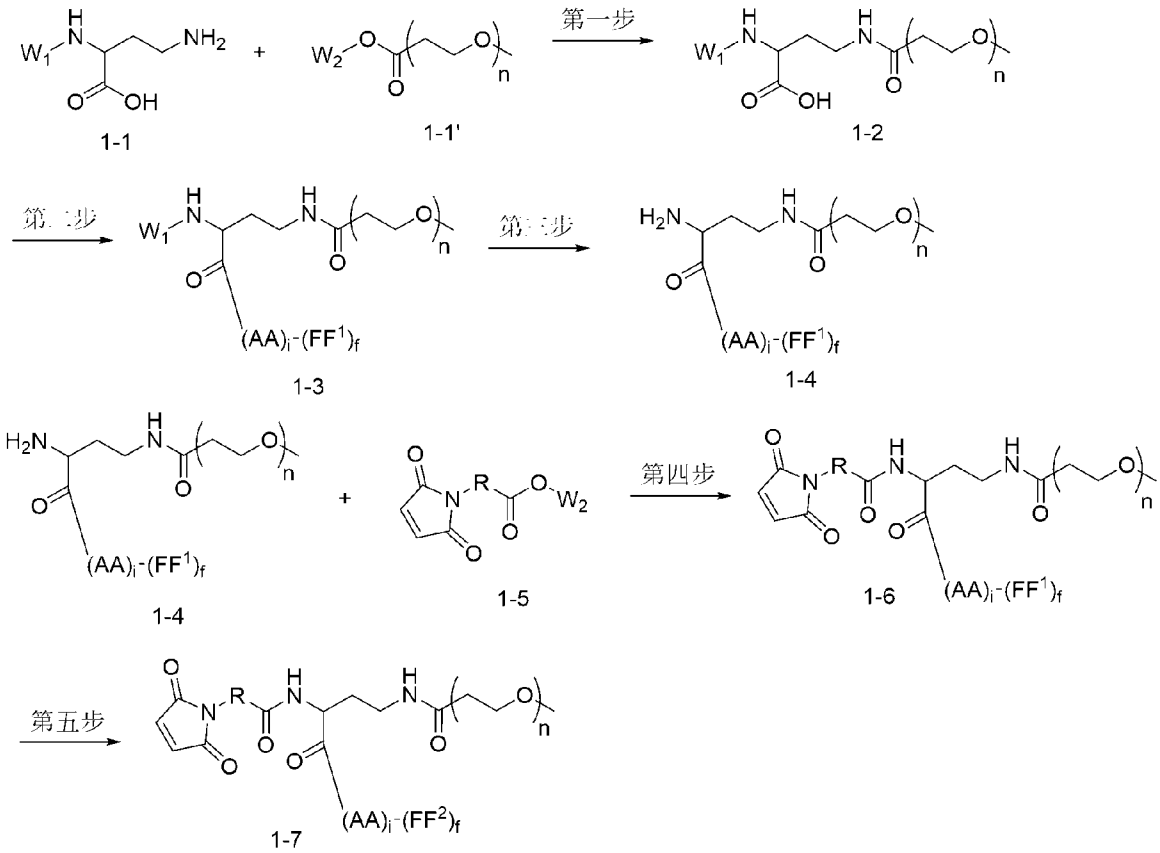
此外，可以使用本领域技术人员已知的标准技术在编码本发明的抗体的核苷酸序列中引入突变，包括但不限于导致氨基酸取代的定点突变和 PCR 介导的突变。变体（包括衍生物）编码相对于原重链可变区和轻链可变区来说少于 50 个氨基酸的取代、少于 40 个氨基酸的取代、少于 30 个氨基酸的取代、少于 25 个氨基酸的取代、少于 20 个氨基酸的取代、少于 15 个氨基酸的取代、少于 10 个氨基酸的取代、少于 5 个氨基酸的取代、少于 4 个氨基酸的取代、少于 3 个氨基酸的取代或少于 2 个氨基酸的取代。或者可以沿着全部或部分编码序列随机引入突变，例如通过饱和突变，以及可以筛选所得突变体的生物活性以鉴定保留活性的突变体。在一个或多个实施方式中，本文所述取代为保守氨基酸取代。

制备方法

本发明还提供了药物偶联物，如抗体药物偶联物，及中间体的制备方法。本发明的药物偶联物，如抗体药物偶联物，及中间体可以通过已知制剂和方法制备。在一些实施方式中，制备方法如下所述。



的制备方法



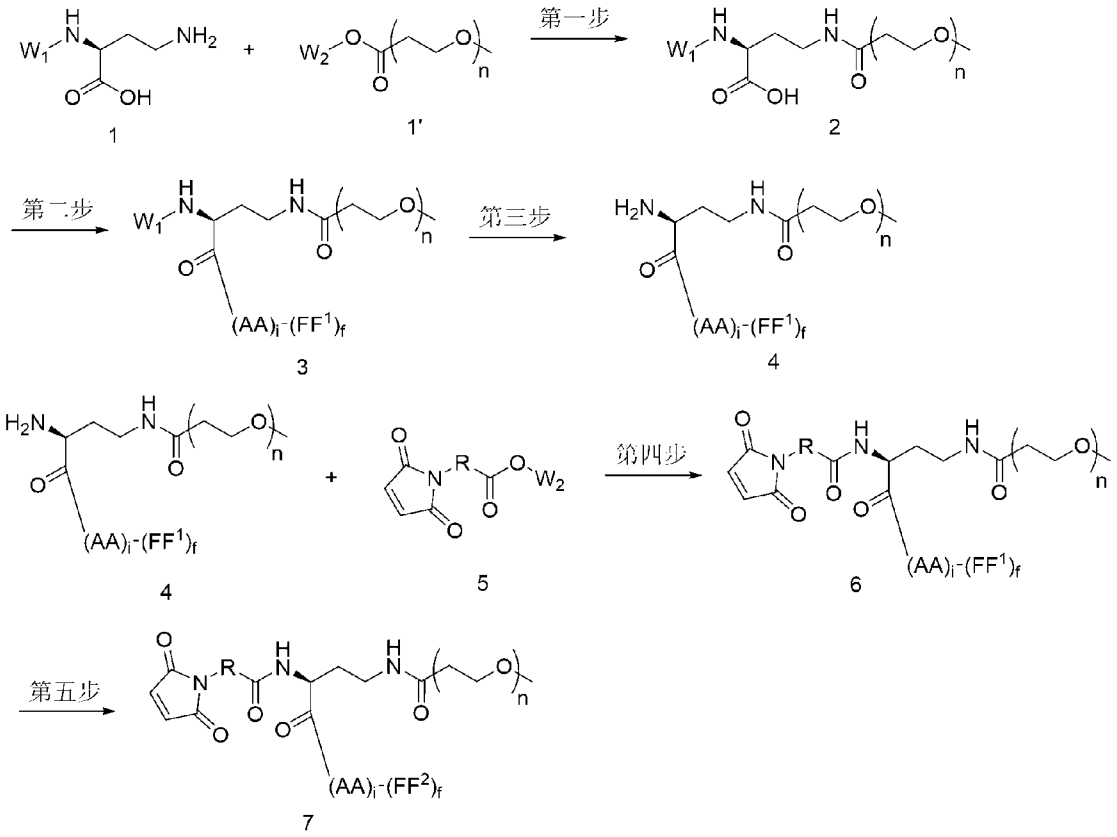
第一步：通式 1-1 化合物和通式 1-1’化合物在碱性条件下反应得到通式 1-2 化合物；

第二步：通式 1-2 化合物和通式$(AA)_i$-$(FF^1)_f$在缩合剂存在下、在碱性条件下反应得到通式 1-3 化合物；

第三步：去除通式 1-3 化合物氨基保护基 W_1 得到通式 1-4 化合物；

第四步：通式 1-4 化合物和通式 1-5 化合物在碱性条件下反应得到通式 1-6 化合物；

第五步：通式 1-6 化合物和二(对硝基苯)碳酸酯在碱性条件下反应得到通式 1-7 化合物。



第一步：通式1化合物和通式1'化合物在碱性条件下反应得到通式2化合物；

第二步：通式2化合物和通式$(AA)_i$-$(FF^1)_f$在缩合剂存在下、在碱性条件下反应得到通式3化合物；

第三步：去除通式3化合物氨基保护基W_1得到通式4化合物；

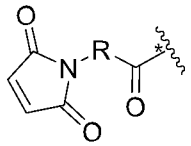
第四步：通式4化合物和通式5化合物在碱性条件下反应得到通式6化合物；

第五步：通式6化合物和二(对硝基苯)碳酸酯在碱性条件下反应得到通式7化合物。

其中

W_1为氨基保护基，例如为9-芴甲氧羰基；W_2为羧酸活性酯，例如为琥珀酰亚胺酯。

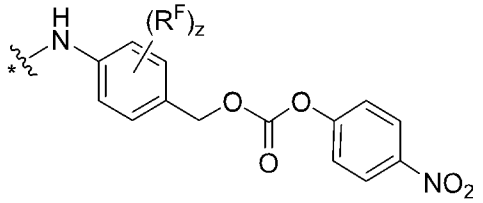
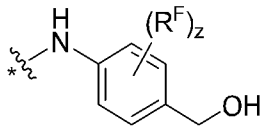
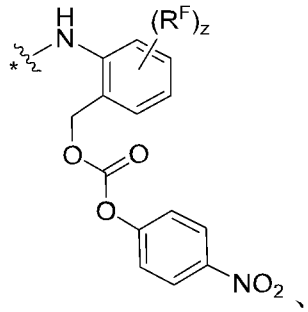
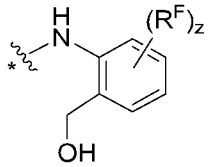
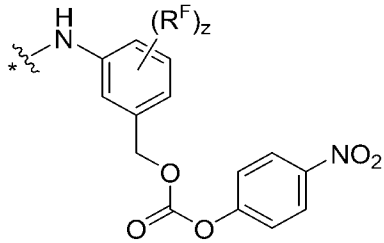
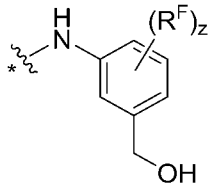
其中，B、G、n、AA、R、i、f如本文所定义；

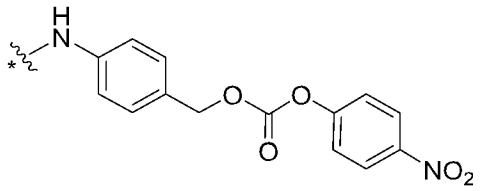
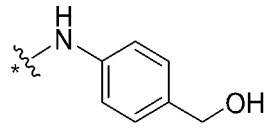
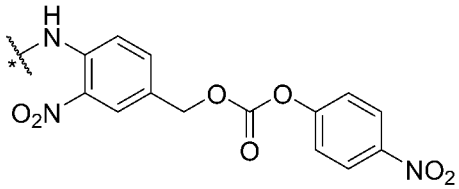
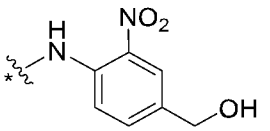
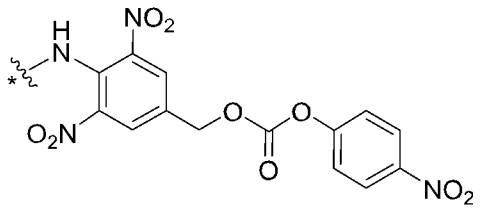


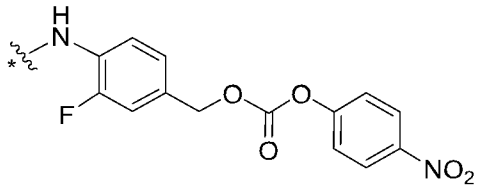
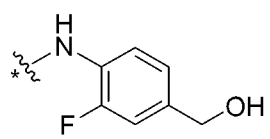
M'为 ，其中*连接B，R选自：$-(CH_2)_r-$、$-(CHR^m)_r-$、C3-C8碳环基、$-O-(CH_2)_r-$、亚芳基、$-(CH_2)_r$-亚芳基-、-亚芳基-$(CH_2)r-$、$-(CH_2)_r$-(C3-C8碳环基)-、-(C3-C8碳环基)-$(CH_2)_r-$、C3-C8杂环基、$-(CH_2)_r$-(C3-C8杂环基)-、-(C3-C8杂环基)-$(CH_2)_r-$、$-(CH_2)_rC(O)NR^m(CH_2)_r-$、$-(CH_2CH_2O)_r-$、$-(CH_2CH_2O)_r-CH_2-$、$-(CH_2)_rC(O)NR^m(CH_2CH_2O)_r-$、$-(CH_2)_rC(O)NR^m(CH_2CH_2O)_r-CH_2-$、$-(CH_2CH_2O)_rC(O)NR^m(CH_2CH_2O)_r-$、$-(CH_2CH_2O)_rC(O)NR^m(CH_2CH_2O)_r-CH_2-$和$-(CH_2CH_2O)_rC(O)NR^m(CH_2)_r-$；其中各$R^m$独立为H、C1-C6烷基、C3-C8碳环基、苯基或苄基；并且各r独立为1、2、

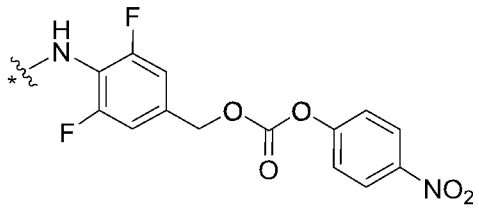
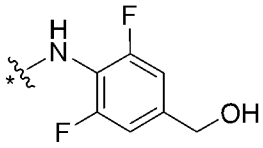
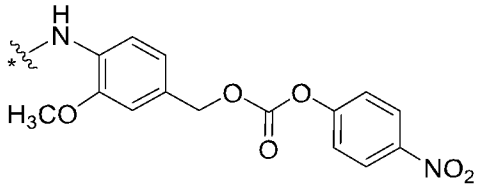
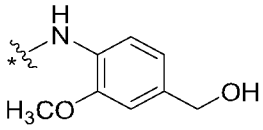
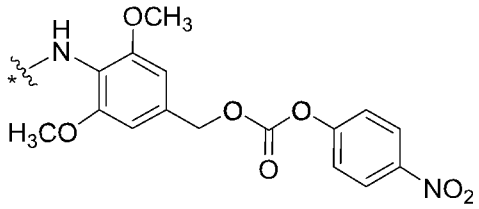
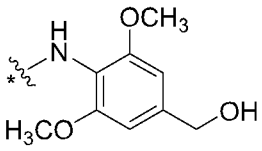
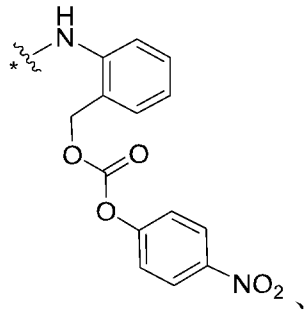
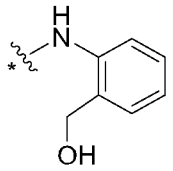
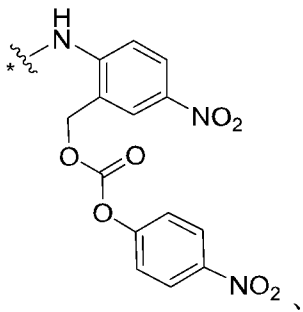
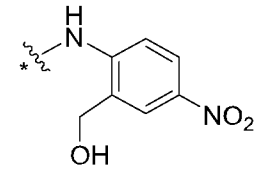
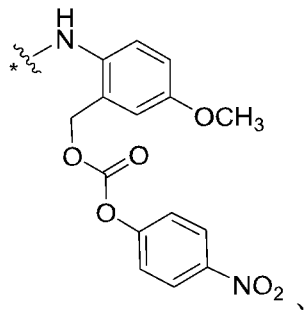
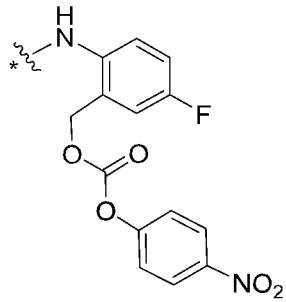
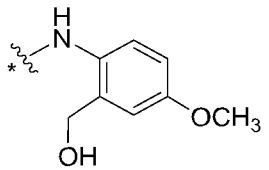
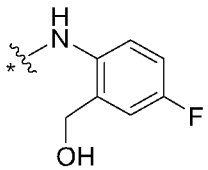
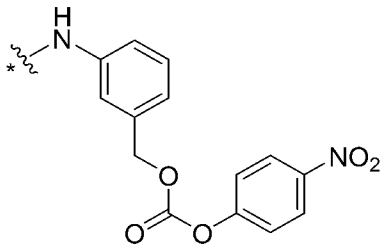
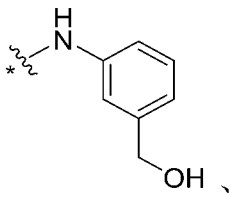
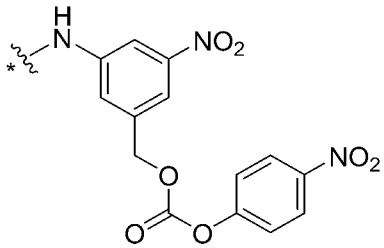
3、4、5、6、7、8、9 或 10；或 R 为-$(CH_2)_r$-，或 r 为 1 或 5；

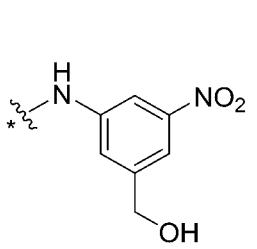
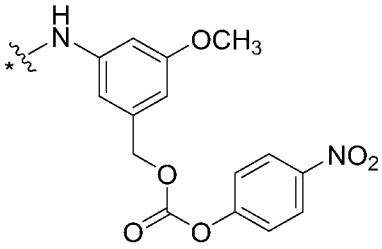
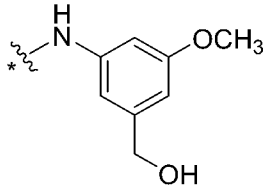
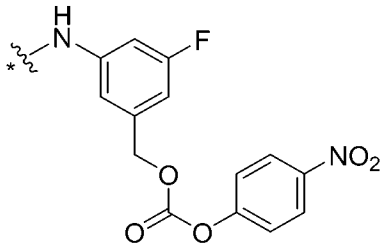
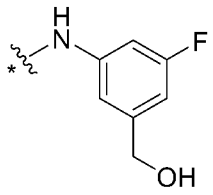
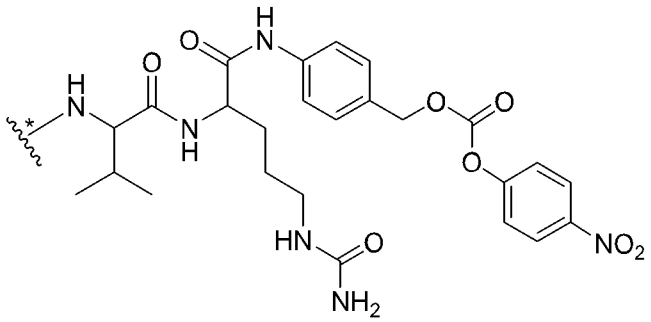
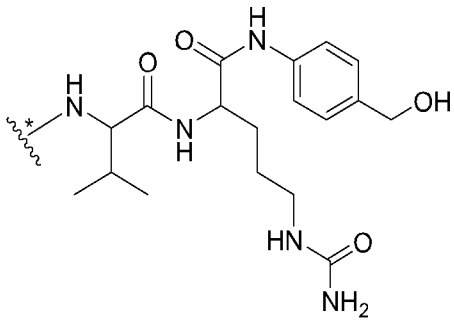
L'为-$(AA)_i$-$(FF')_f$，其中，AA 为氨基酸或多肽，i 是 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 或 20；或各 AA 独立选自以下氨基酸或肽序列：Val-Cit、Val-Lys、Phe-Lys、Lys-Lys、Ala-Lys、Phe-Cit、Leu-Cit、Ile-Cit、Trp、Cit、Phe-Ala、Phe-Phe-Lys、D-Phe-Phe-Lys、Gly-Phe-Lys、Leu-Ala-Leu、Ile-Ala-Leu、Val-Ala-Val、Ala-Leu-Ala-Leu、β-Ala-Leu-Ala-Leu 和 Gly-Phe-Leu-Gly；或 AA 为 Val-Cit，i 为 1；各 FF' 独立为

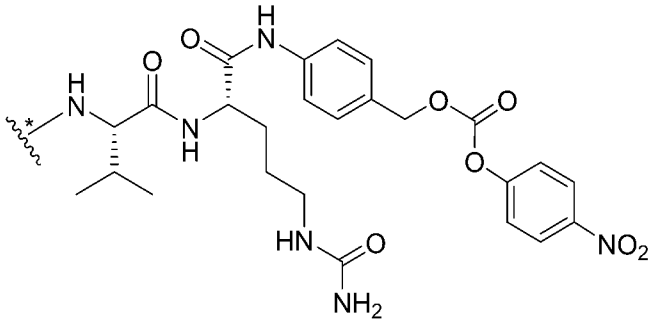

、

、

、

、

或

，其中各 R^F 独立为 C1-C6 烷基、C1-C6 烷氧基、-NO_2 或卤素，其中*连接 AA；或 z 为 0 或 R^F 为 F；或 z 为 0、1、2、3 或 4，或 z 为 1 或 2；或各 FF' 独立为


、

、

、

、

、

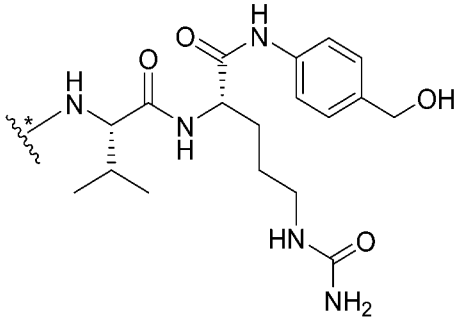
、

、

、

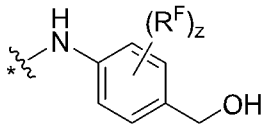
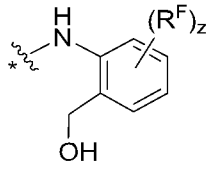
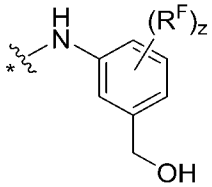

、

、

、

、或

，其中*连接 AA；f 为 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10；或 FF’为对氨基苯甲基(4-硝基苯基)碳酸酯或对氨基苄醇，f 为 1；或 L’为

或

，其中*连接 B；或 L’为

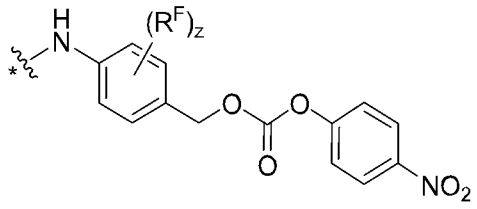
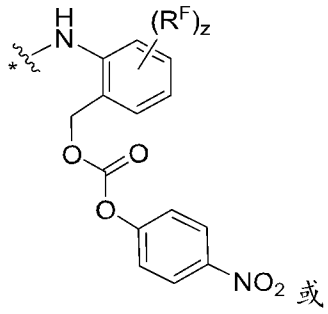
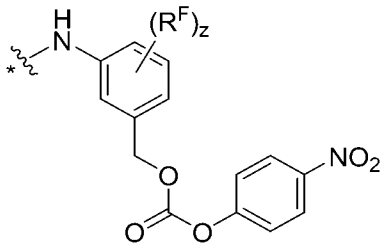


或



，其中*连接 B；

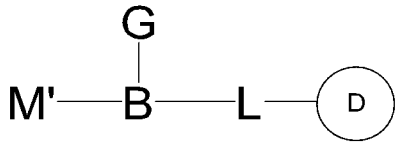
各 FF^1 独立为 、或，其中各 R^F 独立为 C1-C6 烷基、C1-C6 烷氧基、$-NO_2$ 或卤素；z 为 0、1、2、3 或 4；其中*与 AA 连接；

各 FF^2 独立为 、或，其中各 R^F 独立为 C1-C6 烷基、C1-C6 烷氧基、$-NO_2$ 或卤素；z 为 0、1、2、3 或 4；其中*与 AA 连接。

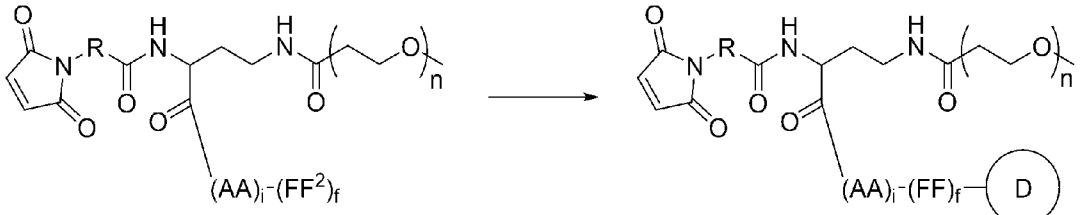
上述碱性条件可以用试剂来提供，该试剂包括有机碱和无机碱类，所述有机碱类包括但不限于三乙胺、二乙胺、N-甲基吗啉、吡啶、六氢吡啶、N,N-二异丙基乙胺、正丁基锂、二异丙基氨基锂、醋酸钾、叔丁醇钠或叔丁醇钾，所述无机碱类包括但不限于氢化钠、磷酸钾、碳酸钠、碳酸钾、碳酸铯、氢氧化钠和氢氧化锂。

上述缩合剂可以选自 N,N,N',N'-四甲基-O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)六氟磷酸脲、

4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基氯化吗啉盐、1-羟基苯并三唑和 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐、N,N'-二环己基碳化二亚胺、N,N'-二异丙基碳二酰亚胺、O-苯并三氮唑-N,N,N',N'-四甲基脲四氟硼酸酯、1-羟基苯并三唑、1-羟基-7-偶氮苯并三氮唑、O-苯并三氮唑-N,N,N',N'-四甲脲六氟磷酸酯、2-(7-偶氮苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯、苯并三氮唑-1-基氧基三(二甲基氨基)磷鎓六氟磷酸盐或六氟磷酸苯并三唑-1-基-氧基三吡咯烷基磷。

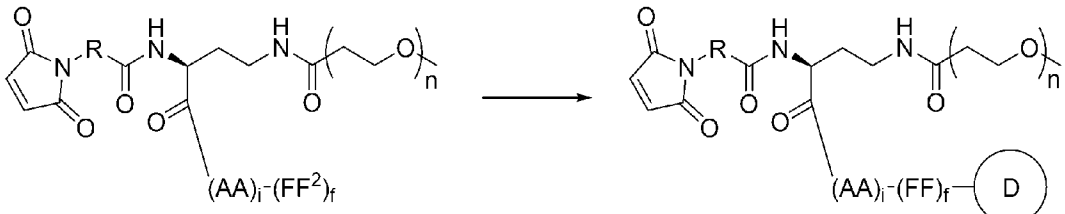


的制备方法



1-7 1-8

通式 1-7 化合物和 D 在缩合剂存在下、在碱性条件下反应得到通式 1-8 化合物。



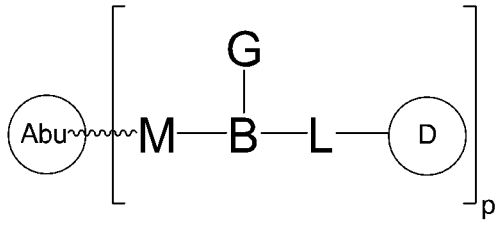
7 8

通式 7 化合物和 D 在缩合剂存在下、在碱性条件下反应得到通式 8 化合物。

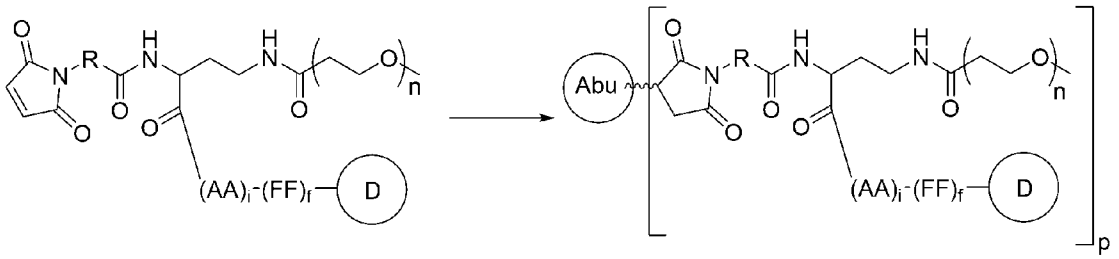
其中，M'、B、L、G、n、AA、R、i、f、FF、FF^2、D 如本文所定义。

上述碱性条件可以用试剂来提供，该试剂包括有机碱和无机碱类，所述有机碱类包括但不限于三乙胺、二乙胺、N-甲基吗啉、吡啶、六氢吡啶、N,N-二异丙基乙胺、正丁基锂、二异丙基氨基锂、醋酸钾、叔丁醇钠或叔丁醇钾，所述无机碱类包括但不限于氢化钠、磷酸钾、碳酸钠、碳酸钾、碳酸铯、氢氧化钠和氢氧化锂。

上述缩合剂可以选自 N,N,N',N'-四甲基-O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)六氟磷酸脲、4-(4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪-2-基)-4-甲基氯化吗啉盐、1-羟基苯并三唑和 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐、N,N'-二环己基碳化二亚胺、N,N'-二异丙基碳二酰亚胺、O-苯并三氮唑-N,N,N',N'-四甲基脲四氟硼酸酯、1-羟基苯并三唑、1-羟基-7-偶氮苯并三氮唑、O-苯并三氮唑-N,N,N',N'-四甲脲六氟磷酸酯、2-(7-偶氮苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯、苯并三氮唑-1-基氧基三(二甲基氨基)磷鎓六氟磷酸盐或六氟磷酸苯并三唑-1-基-氧基三吡咯烷基磷。

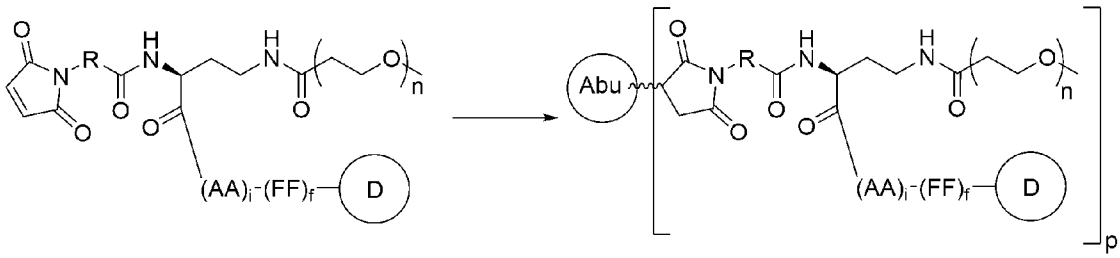


的制备方法



1-8 1-9

通式 1-8 化合物和 Abu 在弱酸性条件下偶联得到通式 1-9 化合物。



8 9

通式 8 化合物和 Abu 在弱酸性条件下偶联得到通式 9 化合物。

其中，Abu、M、B、L、G、D、p、n、AA、R、i、f、FF 如式 I-A 中所述。

上述弱酸性条件可以用试剂来提供，该试剂包括有机酸和无机酸类，所述有机酸类包括但不限于乙酸、苯甲酸、酒石酸、草酸、苹果酸、柠檬酸、抗坏血酸、柠檬酸、枸橼酸、水杨酸、咖啡酸、山梨酸、奎宁酸、齐墩果酸、丁二酸、绿原酸、甲酸、丙酸，所述无机酸类包括但不限于碳酸、亚硝酸、乙酸、次氯酸、氢氟酸，亚硫酸、氢硫酸、硅酸、偏硅酸、磷酸、偏磷酸、碳酸氢钠、亚硫酸氢钠。

药物偶联物可以采用常规方法进行纯化，例如用制备型高效液相色谱(prep-HPLC)等方法。

以下将结合具体实施例说明本申请，本申请的内容不限于此。

如无明确说明，以下方法中使用的试剂和仪器都是本领域常用试剂和仪器，可以通过商购方式获得；所使用的方法都是本领域常规方法，本领域技术人员根据实施例所描述的内容可以毫无疑义地施行所述方法并获得相应的结果。

实施例 1. 人 Nectin-4 胞外抗原表达

人 Nectin-4 胞外抗原（hNectin-4-His）按照常规方法进行制备：将人 Nectin-4 胞外序列（序列来源 GenBank No. Q96NY8）蛋白信号肽序列更换为白蛋白信号肽（MKWVTFISLLFLFSSAYS，如 SEQ ID NO:1 所示），并在其 C-末端添加组氨酸标签 8×His，获得抗原蛋白（序列如 SEQ ID NO:2 所示，表示为 hNectin-4-His），将抗原蛋白 hNectin-4-His 的 DNA 序列克隆至表达载体，瞬时转染真核细胞

HEK293F 细胞或稳定转染 CHO 细胞，挑选稳定细胞株，纯化表达。

MKWVTFISLLFLFSSAYSGELETSDVVTVVLGQDAKLPCFYRGDSGEQV GQVAWARVDAGEGAQELALLHSKYGLHVSPAYEGRVEQPPPPRNPLDGSVLL RNAVQADEGEYECRVSTFPAGSFQARLRLRVLVPPLPSLNPGPALEEGQGLTLA ASCTAEGSPAPSVTWDTEVKGTTSSRSFKHSRSAAVTSEFHLVPSRSMNGQPLT CVVSHPGLLQDQRITHILHVSFLAEASVRGLEDQNLWHIGREGAMLKCLSEG QPPPSYNWTRLDGPLPSGVRVDGDTLGFPPLTTEHSGIYVCHVSNEFSSRDSQ VTVDVLDPQEDSGKQVDLVSASHHHHHHHH（如 SEQ ID NO:2 所示，下划线部分为白蛋白信号肽）。

实施例 2. 对照抗体表达

对照抗体 ASG-22 的重链和轻链的氨基酸序列见表 1。为了便于在宿主细胞中表达，在重链和轻链的 N-末端分别添加信号肽，重链的 N-末端连接的信号肽序列为 MELGLCWVFLVAILEGVQC（如 SEQ ID NO:3 所示），轻链的 N-末端连接的信号肽序列为 MDMRVPAQLLGLLLLWFPGSRC（如 SEQ ID NO:4 所示）。按照常规方法合成重链和轻链的 DNA 序列并表达该抗体，该抗体与实施例 1 中 hNectin-4-His 的结合正常。

表 1. 对照抗体 ASG-22 的氨基酸序列

	氨基酸序列 （下划线表示根据 Kabat 编号系统确定的 CDR 序列）	SEQ ID NO:
重链	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYNMNWVRQAPGK GLEWVSYISSSSSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLSLQMNSLRD EDTAVYYCARAYYYGMDVWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK	5
轻链	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISGWLAWYQQKPGKA PKFLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQ QANSFPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	6

实施例 3. 抗 Nectin-4 抗体制备

1）抗体序列

表 2 示 scFv 的轻重链可变区，轻链可变区具有相同的氨基酸序列。

表 2. 重链可变区和轻链可变区的序列

克隆编号	类型	氨基酸序列 （下划线表示根据 Kabat 编号系统确定的 CDR 序列）
1B4	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPG KGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCARQTEDRYYGYDLDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:7) HCDR1： SYAMS (SEQ ID NO:8) HCDR2： AISGSGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:9) HCDR3： QTEDRYYGYDLDY (SEQ ID NO:10)
1G8	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPG KGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:11) HCDR1： SYAMS (SEQ ID NO:8) HCDR2： AISGSGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:9) HCDR3：QTEDRSYGYDLDY (SEQ ID NO:12)
1F3	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPG KGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:13) HCDR1： SYAMS (SEQ ID NO:8) HCDR2： AISGSGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:9) HCDR3： AELLAFDVYTASDY (SEQ ID NO:14)
10F4	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPG KGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRTPLDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:15) HCDR1： SYAMS (SEQ ID NO:8) HCDR2： AISGSGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:9) HCDR3： EYSDVVDYVSVRTPLDY (SEQ ID NO:16)
3A10	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPG KGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCARDRSDVYSYSYFPTPLDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:17) HCDR1： SYAMS (SEQ ID NO:8) HCDR2： AISGSGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:9) HCDR3： DRSDVYSYSYFPTPLDY (SEQ ID NO:18)
10A4	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPG KGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDMDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:19) HCDR1： SYAMS (SEQ ID NO:8) HCDR2： AISGSGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:9)

		HCDR3： QTEDRSYGYDMDY (SEQ ID NO:20)
1G7	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPG KGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCARERSDATYLRTPLDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:21) HCDR1：SYAMS (SEQ ID NO:8) HCDR2： AISGSGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:9) HCDR3： ERSDATYLRTPLDY (SEQ ID NO:22)
1G12	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPG KGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCARHTEDRYYGYYLDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:23) HCDR1： SYAMS (SEQ ID NO:8) HCDR2： AISGSGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:9) HCDR3： HTEDRYYGYYLDY (SEQ ID NO:24)
共用轻链可变区	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKA PKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQHYTTPPTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO:25) LCDR1： RASQGISSYLA (SEQ ID NO:26) LCDR2： AASSLQS (SEQ ID NO:27) LCDR3： QQHYTTPPT (SEQ ID NO:28)

VH 中的框架区 HFR1-HFR4 的序列如 SEQ ID NO:29-32 所示，VL 中的框架区 LFR1-LFR4 的序列如 SEQ ID NO:33-36 所示。

VH 中的框架区：

HFR1：EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS (SEQ ID NO:29)

HFR2：WVRQAPGKGLEWVS(SEQ ID NO:30)

HFR3：RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR(SEQ ID NO:31)

HFR4：WGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:32)

VL 中的框架区：

LFR1：DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO:33)

LFR2：WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:34)

LFR3：GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC (SEQ ID NO:35)

LFR4：FGQGTKVEIKR (SEQ ID NO:36)

2）scFv 制备

将上述 1F3、1G8 和 10F4 的 HCDR3 克隆入 HCDR1 和 HCDR2 的 scFv 噬菌体库，经过筛选并挑选噬菌体克隆的上清检测，将上清液稀释 50 倍，通过 ELISA 测定对 hNectin-4-His 的结合 OD 值，3 倍梯度稀释并通过 ELISA 测量上清液与抗原结合的滴度 EC_{50} 数值，挑选 OD 值较高的克隆进行测序，获得如表 3-8 所示的各克隆的重链可变区序列及 HCDR1 和 HCDR2 序列，轻链可变区序列如 SEQ ID NO:25 所示。其中 OD 值表示 ELISA 检测的数值，EC_{50} 值表示上清与抗原结合活性滴度的 EC_{50} 数值。

3）抗体制备

构建全抗：表 2-5 所示的重链可变区与重链恒定区（CH）组成抗体的重链，SEQ ID NO: 25 所示的轻链可变区与轻链恒定区（CL）组成抗体的轻链；CH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 37 所示，CL 的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 38 所示。为了便于在宿主细胞中表达，在重链和轻链的 N-末端分别添加信号肽，重链的 N-末端连接的信号肽序列为 MEWSWVFLFFLSVTTGVHS（如 SEQ ID NO: 39 所示），轻链的 N-末端连接的信号肽序列为 MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARC（如 SEQ ID NO: 40 所示）。抗体编号与重链可变区对应的克隆编号一致。轻链的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 250 所示，轻链的核酸序列如 SEQ ID NO: 359 所示。根据抗体序列实际合成核酸序列。以抗体 1F3 为例，其重链的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 232 所示；以抗体 1G8 为例，其重链的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 233 所示；以抗体 10F4 为例，其重链的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 249 所示；以抗体 10F4-3 为例，其重链的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 360 所示，重链的核酸序列如 SEQ ID NO: 364 所示；以抗体 1F3-1E4 为例，其重链的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 361 所示，重链的核酸序列如 SEQ ID NO: 365 所示；以抗体 1F3-2B9 为例，其重链的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 362 所示，重链的核酸序列如 SEQ ID NO: 366 所示；以抗体 1G8-1C10 为例，其重链的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 363 所示，重链的核酸序列如 SEQ ID NO: 367 所示。按照常规操作方法构建轻重链表达载体，转化 HEK293F 细胞，获取抗体进行进一步检测。

表 3. 1F3 系列重链可变区序列

克隆编号	VH 序列（下划线表示根据 Kabat 编号系统确定的 CDR 序列）	OD 值	EC_{50}
1F3	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTY YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGT LVTVSS (SEQ ID NO:13)	NA	NA
1F3-1A9	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFDNYAMSWVRQAPGKGLEWVSRISPTGGYAS YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGT LVTVSS (SEQ ID NO:41)	1.635	309.2
1F3-1B1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGTYGMSWVRQAPGKGLEWVSGIKPGDSTTY YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGT LVTVSS (SEQ ID NO:42)	1.651	195.1
1F3-1C11	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFSSYGMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTY YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGT LVTVSS(SEQ ID NO:43)	1.633	78.51
1F3-1C4	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGDYGMSWVRQAPGKGLEWVSGIKPWGSGT YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAELLAFDVYTASDYWGQG TLVTVSS(SEQ ID NO:44)	1.591	238.3
1F3-1D1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDIFTNYSMSWVRQAPGKGLEWVSGIYPSGDNNR YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGT LVTVSS(SEQ ID NO:45)	1.287	78.33
1F3-1D12	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYNFTDYGMSWVRQAPGKGLEWVSGISGSGDNK YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAELLAFDVYTASDYWGQG TLVTVSS(SEQ ID NO:46)	1.633	323.6
1F3-1D6	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSFYGFGMSWVRQAPGKGLEWVSGIYSHDADK RYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAELLAFDVYTASDYWGQG TLVTVSS(SEQ ID NO:47)	1.441	97.88
1F3-1E1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFDDYAMSWVRQAPGKGLEWVSIIYPTGSTNY YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGT LVTVSS(SEQ ID NO:48)	1.643	214.1
1F3-1E10	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFSSYGMSWVRQAPGKGLEWVSRISPYTDNKY YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGT LVTVSS(SEQ ID NO:49)	1.545	187.9
1F3-1E4	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFGTYGMSWVRQAPGKGLEWVSRISGDSANIR YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGT LVTVSS(SEQ ID NO:50)	1.615	386.4
1F3-1E9	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYAMSWVRQAPGKGLEWVSGIKPSSWTTY YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGT LVTVSS(SEQ ID NO:51)	1.555	192
1F3-1F4	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDIFTGSSMSWVRQAPGKGLEWVSGIYASGSDKR YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGT LVTVSS(SEQ ID NO:52)	1.421	147.1
1F3-1F8	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFGNYGMSWVRQAPGKGLEWVSRISGDGSNIN YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGT LVTVSS(SEQ ID NO:53)	1.671	677
1F3-1G11	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFTGYGMSWVRQAPGKGLEWVSGISPSGGTIG YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGT LVTVSS(SEQ ID NO:54)	1.652	417.3
1F3-1G2	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFGDYGMSWVRQAPGKGLEWVSRIDPWGASIR YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGT LVTVSS(SEQ ID NO:55)	1.598	164.2
1F3-1G5	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFGSYGMSWVRQAPGKGLEWVSGIKPSTSTTYY ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGTL VTVSS(SEQ ID NO:56)	1.565	122.6
1F3-1G7	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDIFSNYSMSWVRQAPGKGLEWVSGIYPSGDSRRY ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGTL VTVSS(SEQ ID NO:57)	1.56	198.3

1F3-1H11	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFTDYGMSWVRQAPGKGLEWVSRISQWGDTSNYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:58)	1.65	162
1F3-1H3	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFYNYGMSWVRQAPGKGLEWVSGIKPHSDVAHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:59)	1.725	313.6
1F3-2A11	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDNFYTFYMSWVRQAPGKGLEWVSGIKPTGSYINYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:60)	1.525	108.6
1F3-2A12	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFDSYGMSWVRQAPGKGLEWVSGIKPTGASTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:61)	1.646	264.7
1F3-2B1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYNFDNYAMSWVRQAPGKGLEWVSGIKPDSATTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:62)	1.617	268.7
1F3-2B2	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYNFYSYGMSWVRQAPGKGLEWVSIISPDGGYKRYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:63)	1.574	171.7
1F3-2B2-2	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFSDFGMSWVRQAPGKGLEWVSRIDPSGWSTSYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:64)	1.593	217
1F3-2B9	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFDSYAMSWVRQAPGKGLEWVSGIKPHTDDIYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:65)	1.568	289
1F3-2C6	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDIFTNYSMSWVRQAPGKGLEWVSGIYASGSDKRYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:66)	1.382	65.37
1F3-2C9	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFGGYGMSWVRQAPGKGLEWVSRISPGDSTPRYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:67)	1.586	191.4
1F3-2D2	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFSSYGMSWVRQAPGKGLEWVSRISPYTGTTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:68)	1.589	180.9
1F3-2D8	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFSDYGMSWVRQAPGKGLEWVSRISPSKAVKDYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:69)	1.56	155.8
1F3-2E12	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGNFTNSGMSWVRQAPGKGLEWVSGIKWSSDETYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:70)	1.519	95.06
1F3-2E8	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFSDYGMSWVRQAPGKGLEWVSWISPSKGSASYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:71)	1.556	209.9
1F3-2F1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDIFTGYSMSWVRQAPGKGLEWVSGIYQTGSNTRYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:72)	1.025	NA
1F3-2F3	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFSDYGMSWVRQAPGKGLEWVSRIDWDGGNTRYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:73)	1.567	325.3
1F3-2F6	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMSWVRQAPGKGLEWVSRISQYGGGIRYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:74)	1.519	129.4
1F3-2G10	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFSNYGMSWVRQAPGKGLEWVSRIKPTDGSTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:75)	1.54	120.2
1F3-2G9	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGGYGMSWVRQAPGKGLEWVSWISAWDGSIYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:76)	1.38	49.33
1F3-2H1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDSFDSSGMSWVRQAPGKGLEWVSGIKWITGESYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGT	1.59	130.5

2	LVTVSS(SEQ ID NO:77)		
1F3-2H6	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFSSYGMSWVRQAPGKGLEWVSRIKSDGGDTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:78)	1.311	53.49

表 4. 1G8 系列重链可变区序列

克隆编号	VH 序列（下划线表示根据 Kabat 编号系统确定的 CDR 序列）	OD 值	EC_{50}
1G8	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:11)	NA	NA
1G8-1A12	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGTFDTNAMSWVRQAPGKGLEWVSAISTGGDNKRYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:79)	1.612	518.8
1G8-1A3	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYNFGSYAMSWVRQAPGKGLEWVSRIYPGSWSPDYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:80)	1.625	316.4
1G8-1A7	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFDSYAMSWVRQAPGKGLEWVSRIKTTDDGKSYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:81)	1.573	307.6
1G8-1B11	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYNFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVSAIDASGGDTRYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:82)	1.582	597.6
1G8-1B7	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVSRISAWGSTNNYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:83)	1.558	295.9
1G8-1C1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYIFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVSRISTGFAGPDYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:84)	1.502	294.5
1G8-1C10	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFSDYSMSWVRQAPGKGLEWVSRIKASSGGSDYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:85)	1.606	618.1
1G8-1C12	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSFYGFGMSWVRQAPGKGLEWVSGIYSHDADKRYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:86)	1.415	24.26
1G8-1C8	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFGSSAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSSDSPRYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:87)	1.591	601.6
1G8-1D11	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDIFTGYAMSWVRQAPGKGLEWVSRIDGTGDSKFYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:88)	1.591	326.2
1G8-1D7	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVSWIDTTSAYASYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:89)	1.491	190.4
1G8-1E10	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDSFSTYAMSWVRQAPGKGLEWVSRISGSGDGKDYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:90)	1.602	512.5
1G8-1E12	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFTSYAMSWVRQAPGKGLEWVSRISAHKWDASYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:91)	1.613	272.3
1G8-1E6	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYIFTDYSMSWVRQAPGKGLEWVSRIYTDGWEKDYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:92)	1.481	225
1G8-1E8	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDGYAMSWVRQAPGKGLEWVSRISSYSWNPDYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:93)	1.546	303.5
1G8-1F11	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSRISQTGGTTDYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTL	1.601	580.7

	VTVSS(SEQ ID NO:94)		
1G8-1F5	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDIFDTYMSWVRQAPGKGLEWVSRIYTDGSSDYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:95)	1.564	551.9
1G8-1F7	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFYGYAMSWVRQAPGKGLEWVSAIDAIGGNKRYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:96)	1.576	423
1G8-1G12	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYNFTSSAMSWVRQAPGKGLEWVSRIYSISGNTDYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:97)	1.546	204.2
1G8-1G3	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFGTYAMSWVRQAPGKGLEWVSRISGISAGTNYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:98)	1.581	355.4
1G8-1G5	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYNFTTSAMSWVRQAPGKGLEWVSRIYADTAYNDYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:99)	1.482	170.1
1G8-1G9	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFGDFAMSWVRQAPGKGLEWVSRIYSGDDNASYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:100)	1.546	348
1G8-1H1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDTFSGYAMSWVRQAPGKGLEWVSRIYPYSSVRDYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:101)	1.398	89.93
1G8-1H6	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFSGFAMSWVRQAPGKGLEWVSRIYPTSSESDYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:102)	1.584	386.9
1G8-2A1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFDGFAMSWVRQAPGKGLEWVSRISGHDWSSSYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:103)	1.597	338.7
1G8-2A11	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDSFYNYSMSWVRQAPGKGLEWVSRISSDGWETFYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:104)	1.538	352.9
1G8-2A4	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDTFSSNAMSWVRQAPGKGLEWVSRIYGGSWDTDYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:105)	1.543	217.4
1G8-2A7	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFSDYAMSWVRQAPGKGLEWVSRISAYGWGKSYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:106)	1.602	311.7
1G8-2B10	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFTNNAMSWVRQAPGKGLEWVSRIDTIGGTSSYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:107)	1.559	344
1G8-2B12	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDTFGTSSMSWVRQAPGKGLEWVSRIDTWGWYKFYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:108)	1.392	NA
1G8-2B3	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYNFTTSAMSWVRQAPGKGLEWVSRIYQDSSTTDYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:109)	1.569	396.5
1G8-2B5	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYNFGNYAMSWVRQAPGKGLEWVSRIKSHDSTSHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:110)	1.578	NA
1G8-2B6	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSFGGYAMSWVRQAPGKGLEWVSRIYAYKSENDYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:111)	1.565	225.1
1G8-2C6	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDNFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSRIYGSDSTPDYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:112)	1.578	615.7
1G8-2C7	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFTNFAMSWVRQAPGKGLEWVSRISQDGGNKNYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:113)	1.585	404.3
1G8-	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFSGNAMSWVRQAPGKGLEWVSRIDGWGSYT	1.53	298.6

2D11	DYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:114)		
1G8-2D4	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYNFGGYAMSWVRQAPGKGLEWVSRISGTSGNNDYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:115)	1.577	492.1
1G8-2D6	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFDGYAMSWVRQAPGKGLEWVSRISAHSWNKDYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:116)	1.629	523.9
1G8-2D7	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDSFTSYAMSWVRQAPGKGLEWVSRISADSASPSYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:117)	1.544	418.6
1G8-2D9	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDIFDGYSMSWVRQAPGKGLEWVSRIDTGGSVKNYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:118)	1.537	436.6
1G8-2E7	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFGNYAMSWVRQAPGKGLEWVSRISPSTWNIDYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:119)	1.556	599.5
1G8-2F11	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFGSNAMSWVRQAPGKGLEWVSRISPDSSGISYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:120)	1.574	617
1G8-2F2	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDIFGSYAMSWVRQAPGKGLEWVSRISSHGASRDYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:121)	1.599	566.8
1G8-2F9	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVSRISAWGSTNNYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:122)	1.565	358.8
1G8-2G12	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNNAMSWVRQAPGKGLEWVSAIYASTDGRSYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:123)	1.505	300.9
1G8-2G3	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFIFGGNAMSWVRQAPGKGLEWVSRISSDKGTTNYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:124)	1.583	272.1
1G8-2G4	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGGYSMSWVRQAPGKGLEWVSRISTDGAYTNYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:125)	1.58	311.9
1G8-2G7	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGTFYTYAMSWVRQAPGKGLEWVSRIYSTKGTPDYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:126)	1.489	136
1G8-2G8	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFTNYAMSWVRQAPGKGLEWVSRISTYGDTTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:127)	1.584	370.9
1G8-2G9	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYIFTNYAMSWVRQAPGKGLEWVSRISQSGGTNDYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:128)	1.545	285.1
1G8-2H1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFYSYAMSWVRQAPGKGLEWVSRISQGGGVTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:129)	1.585	277.5
1G8-2H10	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYNFTNSAMSWVRQAPGKGLEWVSSIYYHSGVPRYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:130)	1.535	214.2
1G8-2H11	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFDNYAMSWVRQAPGKGLEWVSRIYGWDWYASYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:131)	1.347	NA
1G8-2H3	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFGGYAMSWVRQAPGKGLEWVSRISGIKAYNDYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:132)	1.531	208.9
1G8-2H4	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDSFTGYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:133)	1.578	440.5

1G8-2H8	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDIFGSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTY YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTL VTVSS(SEQ ID NO:134)	1.574	487.2
1G8-2H9	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFGNYAMSWVRQAPGKGLEWVSAIYSYFDEPR YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTL VTVSS(SEQ ID NO:135)	1.459	176.2

表 5. 10F4 系列重链可变区序列

克隆编号	VH 序列（下划线表示根据 Kabat 编号系统确定的 CDR 序列）	OD 值
原 10F4	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYAD SVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRTPLDYWGQGTLVTV SS(SEQ ID NO:15)	
10F4-1A1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFDNYDMSWVRQAPGKGLEWVSSIKPGSAYKFYAD SVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRTPLDYWGQGTLVTV SS(SEQ ID NO:136)	1.691
10F4-1A3	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFSNYDMSWVRQAPGKGLEWVSGIKGWKSYTGYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRTPLDYWGQGTLVT VSS(SEQ ID NO:137)	1.534
10F4-1B2	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFGNYWMSWVRQAPGKGLEWVSGIDGHSSYAFYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRTPLDYWGQGTLVT VSS(SEQ ID NO:138)	1.635
10F4-1B5	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFTDYWMSWVRQAPGKGLEWVSSIIGDDSTNHYAD SVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRTPLDYWGQGTLVTV SS(SEQ ID NO:139)	1.526
10F4-1B7	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFSGFDMSWVRQAPGKGLEWVSGIKAYKSTADYAD SVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRTPLDYWGQGTLVTV SS(SEQ ID NO:140)	1.605
10F4-1B9	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFDNYYMSWVRQAPGKGLEWVSSIYQTDASIFYAD SVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRTPLDYWGQGTLVTV SS(SEQ ID NO:141)	1.503
10F4-1C3	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFSDYWMSWVRQAPGKGLEWVSSIKQTGGVKHYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRTPLDYWGQGTLVT VSS(SEQ ID NO:142)	1.586
10F4-1C4	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFTDYWMSWVRQAPGKGLEWVSSIIGDDSTNHYAD SVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRTPLDYWGQGTLVTV SS(SEQ ID NO:143)	1.458
10F4-1C7	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDSFDNYWMSWVRQAPGKGLEWVSAIDTHSDNSFYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRTPLDYWGQGTLVT VSS(SEQ ID NO:144)	1.573
10F4-1C10	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYNFGSYDMSWVRQAPGKGLEWVSGIKTYGGNTHYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRTPLDYWGQGTLVT VSS(SEQ ID NO:145)	1.518
10F4-1D3	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFYDYDMSWVRQAPGKGLEWVSSIIQSGSTAFYADS VKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRTPLDYWGQGTLVTVS S(SEQ ID NO:146)	1.521
10F4-1D11	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFIFSDFDMSWVRQAPGKGLEWVSGIKQSSAGINYADS VKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRTPLDYWGQGTLVTVS S(SEQ ID NO:147)	1.46
10F4-1E1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDIFGNYWMSWVRQAPGKGLEWVSSIDASSGNRFYAD SVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRTPLDYWGQGTLVTV SS(SEQ ID NO:148)	1.627
10F4-1E10	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDTFDTYAMSWVRQAPGKGLEWVSGISQWGAYASYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRTPLDYWGQGTLVT VSS(SEQ ID NO:149)	1.289
10F4-1E12	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYNFSSYDMSWVRQAPGKGLEWVSGISDTGDYANYA DSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRTPLDYWGQGTLVT VSS(SEQ ID NO:150)	1.521
10F4	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSNYWMSWVRQAPGKGLEWVSAISPGDGTIFYADS	1.632

-1F1	VKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRTPLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:151)	
10F4-1F2	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYNFTNYYMSWVRQAPGKGLEWVSSISAYSDNRNYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRTPLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:152)	1.397
10F4-1F8	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTDYDMSWVRQAPGKGLEWVSSIITDGGGAFYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRTPLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:153)	1.492
10F4-1F9	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFGGFDMSWVRQAPGKGLEWVSGIKTYGGYRSYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRTPLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:154)	1.484
10F4-1G5	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFDSSWMSWVRQAPGKGLEWVSSIDAYGDYNFYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRTPLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:155)	1.408
10F4-1G7	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYNFGDYDMSWVRQAPGKGLEWVSSIIGHGDTKFYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRTPLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:156)	1.545
10F4-1G8	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFSDFDMSWVRQAPGKGLEWVSVIKPSGDYINYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRTPLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:157)	1.52
10F4-1H1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFGNFDMSWVRQAPGKGLEWVSGIKQYKGYTSYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRTPLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:158)	1.611
10F4-1H4	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFTNYWMSWVRQAPGKGLEWVSAISGTGGYTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRTPLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:159)	1.375
10F4-1H6	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFYDYDMSWVRQAPGKGLEWVSGIKTHSGGNGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRTPLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:160)	1.478
10F4-1H7	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFDTYDMSWVRQAPGKGLEWVSGIKQYKGYTSYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRTPLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:161)	1.49
10F4-1H11	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTGFWMSWVRQAPGKGLEWVSSISPDSGTKHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRTPLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:162)	1.562
10F4-2A1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFDDYDMSWVRQAPGKGLEWVSGIKAHSDNKRYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRTPLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:163)	1.758
10F4-2A5	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFTDYDMSWVRQAPGKGLEWVSGIKTYKSDARYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRTPLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:164)	1.59
10F4-2A9	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTDYDMSWVRQAPGKGLEWVSGIKQYKGYTSYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRTPLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:165)	1.567
10F4-2B11	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSFTNYWMSWVRQAPGKGLEWVSVIDSTGSNRFYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRTPLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:166)	1.548
10F4-2C2	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFSNYWMSWVRQAPGKGLEWVSVIDAHSANIRYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRTPLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:167)	1.584
10F4-2C4	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFGDYWMSWVRQAPGKGLEWVSVIDSGSGNKRYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRTPLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:168)	1.534
10F4-2C6	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFGGFDMSWVRQAPGKGLEWVSGIKQYKGYTSYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRTPLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:169)	1.517
10F4-2C12	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYNFGDYSMSWVRQAPGKGLEWVSVIDTTSAYTRYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRTPLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:170)	1.447

10F4-2E1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTTYDMSWVRQAPGKGLEWVSGIKYSKYYTHYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRTPLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:171)	1.596
10F4-2E4	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFDSYWMSWVRQAPGKGLEWVSAIDGTDSVAYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRTPLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:172)	1.429
10F4-2E6	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFGDYWMSWVRQAPGKGLEWVSAIDQGKATSFYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRTPLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:173)	1.454
10F4-2E8	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFGNYDMSWVRQAPGKGLEWVSSIIPHGDYSFYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRTPLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:174)	1.376
10F4-2F11	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYNFTSYDMSWVRQAPGKGLEWVSGIKTGGGSARYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRTPLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:175)	1.455
10F4-2G2	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYNFTDYDMSWVRQAPGKGLEWVSSIIASGSGNYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRTPLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:176)	1.485
10F4-2H5	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYIFTNYWMSWVRQAPGKGLEWVSSIDQGSGNIFYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRTPLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:177)	1.442
10F4-1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDSFTNYWMSWVRQAPGKGLEWVSGISQGGSYAYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRTPLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:178)	1.389
10F4-3	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFGDFAMSWVRQAPGKGLEWVSVIDGHTAYNSYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRTPLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:179)	1.325
10F4-5	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFIFDGYDMSWVRQAPGKGLEWVSVIKDHGGYKFYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRTPLDYWGQGTLVTVSS(SEQ ID NO:180)	1.308

注：NA 表示未检测

表 6. 1F3 系列重链可变区的 CDR 序列

编号	HCDR1					HCDR2												HCDR3
1F3	S	Y	A	MS	SEQ ID NO:8	A	I	S	G	S	G	G	S	T	Y	YADSVKG	SEQ ID NO:9	AELLAFDVYTASDY (SEQ ID NO:14)
1F3-1A9	N	Y	A	MS	SEQ ID NO:181	R	I	S	P	T	G	G	Y	A	S	YADSVKG	SEQ ID NO:196	
1F3-1B1	T	Y	G	MS	SEQ ID NO:182	G	I	K	P	G	D	S	T	T	Y	YADSVKG	SEQ ID NO: 197	
1F3-1C11	S	Y	G	MS	SEQ ID NO:183	A	I	S	G	S	G	G	S	T	Y	YADSVKG	SEQ ID NO:9	
1F3-1C4	D	Y	G	MS	SEQ ID NO:184	G	I	K	P	W	G	S	G	T	Y	YADSVKG	SEQ ID NO:199	
1F3-1D1	N	Y	S	MS	SEQ ID NO: 185	G	I	Y	P	S	G	D	N	N	R	YADSVKG	SEQ ID NO:200	
1F3-1D12	D	Y	G	MS	SEQ ID NO:184	G	I	S	G	S	G	D	N	K	Y	YADSVKG	SEQ ID NO:201	
1F3-1D6	G	F	G	MS	SEQ ID NO:186	G	I	Y	S	H	D	A	D	K	R	YADSVKG	SEQ ID NO:202	
1F3-1E1	D	Y	A	MS	SEQ ID NO:187	I	I	Y	P	T	G	S	T	N	Y	YADSVKG	SEQ ID NO:203	
1F3-1E10	S	Y	G	MS	SEQ ID NO:183	R	I	S	P	Y	T	D	N	K	Y	YADSVKG	SEQ ID NO:204	
1F3-1E4	T	Y	G	MS	SEQ ID NO:182	R	I	S	G	D	S	A	N	I	R	YADSVKG	SEQ ID NO:205	
1F3-1E9	D	Y	A	MS	SEQ ID NO:187	G	I	K	P	S	S	W	T	T	Y	YADSVKG	SEQ ID NO:206	

1F3-1F4	G	S	S	MS	SEQ ID NO:188	G	I	Y	A	S	G	S	D	K	R	YADSVKG	SEQ ID NO:207	
1F3-1F8	N	Y	G	MS	SEQ ID NO:189	R	I	S	G	D	G	S	N	I	N	YADSVKG	SEQ ID NO:208	
1F3-1G11	G	Y	G	MS	SEQ ID NO:190	G	I	S	P	S	G	G	T	I	G	YADSVKG	SEQ ID NO:209	
1F3-1G2	D	Y	G	MS	SEQ ID NO:184	R	I	D	P	W	G	A	S	I	R	YADSVKG	SEQ ID NO:210	
1F3-1G5	S	Y	G	MS	SEQ ID NO:183	G	I	K	P	S	T	S	T	T	Y	YADSVKG	SEQ ID NO:211	
1F3-1G7	N	Y	S	MS	SEQ ID NO:185	G	I	Y	P	S	G	D	S	R	R	YADSVKG	SEQ ID NO:212	
1F3-1H11	D	Y	G	MS	SEQ ID NO:184	R	I	S	Q	W	G	D	T	S	N	YADSVKG	SEQ ID NO:213	
1F3-1H3	N	Y	G	MS	SEQ ID NO:189	G	I	K	P	H	S	D	V	A	H	YADSVKG	SEQ ID NO:214	
1F3-2A11	T	F	Y	MS	SEQ ID NO:191	G	I	K	P	T	G	S	Y	I	N	YADSVKG	SEQ ID NO:215	
1F3-2A12	S	Y	G	MS	SEQ ID NO:183	G	I	K	P	T	G	A	S	T	Y	YADSVKG	SEQ ID NO:216	
1F3-2B1	N	Y	A	MS	SEQ ID NO:181	G	I	K	P	D	S	A	T	T	Y	YADSVKG	SEQ ID NO:217	
1F3-2B2	S	Y	G	MS	SEQ ID NO:183	I	I	S	P	D	G	G	Y	K	R	YADSVKG	SEQ ID NO:218	
1F3-2B2-2	D	F	G	MS	SEQ ID NO:192	R	I	D	P	S	G	W	S	T	S	YADSVKG	SEQ ID NO:219	
1F3-2B9	S	Y	A	MS	SEQ ID NO:8	G	I	K	P	H	T	D	D	I	Y	YADSVKG	SEQ ID NO:220	
1F3-2C6	N	Y	S	MS	SEQ ID NO:185	G	I	Y	A	S	G	S	D	K	R	YADSVKG	SEQ ID NO:207	
1F3-2C9	G	Y	G	MS	SEQ ID NO:190	R	I	S	P	G	D	S	T	P	R	YADSVKG	SEQ ID NO:222	
1F3-2D2	S	Y	G	MS	SEQ ID NO:183	R	I	S	P	Y	T	G	T	T	H	YADSVKG	SEQ ID NO:223	
1F3-2D8	D	Y	G	MS	SEQ ID NO:184	R	I	S	P	S	K	A	V	K	D	YADSVKG	SEQ ID NO:224	
1F3-2E12	N	S	G	MS	SEQ ID NO:193	G	I	K	W	S	S	D	E	T	Y	YADSVKG	SEQ ID NO:225	
1F3-2E8	D	Y	G	MS	SEQ ID NO:184	W	I	S	P	S	K	G	S	A	S	YADSVKG	SEQ ID NO:226	
1F3-2F1	G	Y	S	MS	SEQ ID NO:194	G	I	Y	Q	T	G	S	N	T	R	YADSVKG	SEQ ID NO:227	
1F3-2F3	D	Y	G	MS	SEQ ID NO:184	R	I	D	W	D	G	G	N	T	R	YADSVKG	SEQ ID NO:228	
1F3-2F6	D	Y	G	MS	SEQ ID NO:184	R	I	S	Q	Y	G	G	G	I	R	YADSVKG	SEQ ID NO:229	
1F3-2G10	N	Y	G	MS	SEQ ID NO:189	R	I	K	P	T	D	G	S	T	H	YADSVKG	SEQ ID NO:230	
1F3-2G9	G	Y	G	MS	SEQ ID NO:190	W	I	S	A	W	D	G	S	I	Y	YADSVKG	SEQ ID NO:231	
1F3-2H12	S	S	G	MS	SEQ ID NO:195	G	I	K	W	I	T	G	E	S	Y	YADSVKG	SEQ ID NO:198	
1F3-2H6	S	Y	G	MS	SEQ ID NO:183	R	I	K	S	D	G	G	D	T	H	YADSVKG	SEQ ID NO:221	

表 7. 1G8 系列重链可变区的 CDR 序列

编号	HCDR1					HCDR2												HCDR3
1G8	S	Y	A	MS	SEQ ID NO:8	A	I	S	G	S	G	G	S	T	Y	YADSVKG	SEQ ID NO:9	QTEDRSYGY DLDY SEQ ID NO:12
1G8-1A12	T	N	A	MS	SEQ ID NO:234	A	I	S	T	G	G	D	N	K	R	YADSVKG	SEQ ID NO:251	
1G8-1A3	S	Y	A	MS	SEQ ID NO:8	R	I	Y	P	G	S	W	S	P	D	YADSVKG	SEQ ID NO:252	
1G8-1A7	S	Y	A	MS	SEQ ID NO:8	R	I	K	T	T	D	D	G	K	S	YADSVKG	SEQ ID NO:253	

1G8-1B11	N	Y	A	MS	SEQ ID NO:181	A	I	D	A	S	G	G	D	T	R	YADSVKG	SEQ ID NO:254
1G8-1B7	N	Y	A	MS	SEQ ID NO:181	R	I	S	A	W	G	S	T	N	N	YADSVKG	SEQ ID NO:255
1G8-1C1	N	Y	A	MS	SEQ ID NO:181	R	I	S	T	G	F	A	G	P	D	YADSVKG	SEQ ID NO:256
1G8-1C10	D	Y	S	MS	SEQ ID NO:235	R	I	K	A	S	S	G	G	S	D	YADSVKG	SEQ ID NO:257
1G8-1C12	G	F	G	MS	SEQ ID NO:186	G	I	Y	S	H	D	A	D	K	R	YADSVKG	SEQ ID NO:202
1G8-1C8	S	S	A	MS	SEQ ID NO:236	A	I	S	G	S	S	D	S	P	R	YADSVKG	SEQ ID NO:258
1G8-1D11	G	Y	A	MS	SEQ ID NO:237	R	I	D	G	T	G	D	S	K	F	YADSVKG	SEQ ID NO:259
1G8-1D7	N	Y	A	MS	SEQ ID NO:181	W	I	D	T	T	S	A	Y	A	S	YADSVKG	SEQ ID NO:260
1G8-1E10	T	Y	A	MS	SEQ ID NO:238	R	I	S	G	S	G	D	G	K	D	YADSVKG	SEQ ID NO:261
1G8-1E12	S	Y	A	MS	SEQ ID NO:8	R	I	S	A	H	K	W	D	A	S	YADSVKG	SEQ ID NO:262
1G8-1E6	D	Y	S	MS	SEQ ID NO:235	R	I	Y	T	D	G	W	E	K	D	YADSVKG	SEQ ID NO:263
1G8-1E8	G	Y	A	MS	SEQ ID NO:237	R	I	S	S	Y	S	W	N	P	D	YADSVKG	SEQ ID NO:264
1G8-1F11	S	Y	A	MS	SEQ ID NO:8	R	I	S	Q	T	G	G	T	T	D	YADSVKG	SEQ ID NO:265
1G8-1F5	T	Y		MS	SEQ ID NO:239	R	I	Y	T	D	G		S	S	D	YADSVKG	SEQ ID NO:266
1G8-1F7	G	Y	A	MS	SEQ ID NO:237	A	I	D	A	I	G	G	N	K	R	YADSVKG	SEQ ID NO:267
1G8-1G12	S	S	A	MS	SEQ ID NO:236	R	I	Y	S	I	S	G	N	T	D	YADSVKG	SEQ ID NO:268
1G8-1G3	T	Y	A	MS	SEQ ID NO:238	R	I	S	G	I	S	A	G	T	N	YADSVKG	SEQ ID NO:269
1G8-1G5	T	S	A	MS	SEQ ID NO:240	R	I	Y	A	D	T	A	Y	N	D	YADSVKG	SEQ ID NO:270
1G8-1G9	D	F	A	MS	SEQ ID NO:241	R	I	Y	S	G	D	D	N	A	S	YADSVKG	SEQ ID NO:271
1G8-1H1	G	Y	A	MS	SEQ ID NO:237	R	I	Y	P	Y	S	S	V	R	D	YADSVKG	SEQ ID NO:272
1G8-1H6	G	F	A	MS	SEQ ID NO:242	R	I	Y	P	T	S	S	E	S	D	YADSVKG	SEQ ID NO:273
1G8-2A1	G	F	A	MS	SEQ ID NO:242	R	I	S	G	H	D	W	S	S	S	YADSVKG	SEQ ID NO:274
1G8-2A11	N	Y	S	MS	SEQ ID NO:185	R	I	S	S	D	G	W	E	T	F	YADSVKG	SEQ ID NO:275
1G8-2A4	S	N	A	MS	SEQ ID NO:243	R	I	Y	G	G	S	W	D	T	D	YADSVKG	SEQ ID NO:276
1G8-2A7	D	Y	A	MS	SEQ ID NO:187	R	I	S	A	Y	G	W	G	K	S	YADSVKG	SEQ ID NO:277
1G8-2B10	N	N	A	MS	SEQ ID NO:244	R	I	D	T	I	G	G	T	S	S	YADSVKG	SEQ ID NO:278
1G8-2B12	T	S	S	MS	SEQ ID NO:245	R	I	D	T	W	G	W	Y	K	F	YADSVKG	SEQ ID NO:279
1G8-2B3	T	S	A	MS	SEQ ID NO:240	R	I	Y	Q	D	S	S	T	T	D	YADSVKG	SEQ ID NO:280
1G8-2B5	N	Y	A	MS	SEQ ID NO:181	R	I	K	S	H	D	S	T	S	H	YADSVKG	SEQ ID NO:281
1G8-2B6	G	Y	A	MS	SEQ ID NO:237	R	I	Y	A	Y	K	S	E	N	D	YADSVKG	SEQ ID NO:282
1G8-2C6	S	Y	A	MS	SEQ ID NO:8	R	I	Y	G	S	D	S	T	P	D	YADSVKG	SEQ ID NO:283
1G8-2C7	N	F	A	MS	SEQ ID NO:246	R	I	S	Q	D	G	G	N	K	N	YADSVKG	SEQ ID NO:284
1G8-2D11	G	N	A	MS	SEQ ID NO:247	R	I	D	G	W	G	S	Y	T	D	YADSVKG	SEQ ID NO:285

1G8-2D4	G	Y	A	MS	SEQ ID NO:237	R	I	S	G	T	S	G	N	N	D	YADSVKG	SEQ ID NO:286
1G8-2D6	G	Y	A	MS	SEQ ID NO:237	R	I	S	A	H	S	W	N	K	D	YADSVKG	SEQ ID NO:287
1G8-2D7	S	Y	A	MS	SEQ ID NO:8	R	I	S	A	D	S	A	S	P	S	YADSVKG	SEQ ID NO:288
1G8-2D9	G	Y	S	MS	SEQ ID NO:194	R	I	D	T	G	G	S	V	K	N	YADSVKG	SEQ ID NO:289
1G8-2E7	N	Y	A	MS	SEQ ID NO:181	R	I	S	P	S	T	W	N	I	D	YADSVKG	SEQ ID NO:290
1G8-2F11	S	N	A	MS	SEQ ID NO:243	R	I	S	P	D	S	S	G	I	S	YADSVKG	SEQ ID NO:291
1G8-2F2	S	Y	A	MS	SEQ ID NO:8	R	I	S	S	H	G	A	S	R	D	YADSVKG	SEQ ID NO:292
1G8-2F9	N	Y	A	MS	SEQ ID NO:181	R	I	S	A	W	G	S	T	N	N	YADSVKG	SEQ ID NO:255
1G8-2G12	N	N	A	MS	SEQ ID NO:244	A	I	Y	A	S	T	D	G	R	S	YADSVKG	SEQ ID NO:293
1G8-2G3	G	N	A	MS	SEQ ID NO:247	R	I	S	S	D	K	G	T	T	N	YADSVKG	SEQ ID NO:294
1G8-2G4	G	Y	S	MS	SEQ ID NO:194	R	I	S	T	D	G	A	Y	T	N	YADSVKG	SEQ ID NO:295
1G8-2G7	T	Y	A	MS	SEQ ID NO:238	R	I	Y	S	T	K	G	T	P	D	YADSVKG	SEQ ID NO:296
1G8-2G8	N	Y	A	MS	SEQ ID NO:181	R	I	S	T	Y	G	D	T	T	H	YADSVKG	SEQ ID NO:297
1G8-2G9	N	Y	A	MS	SEQ ID NO:181	R	I	S	Q	S	G	G	T	N	D	YADSVKG	SEQ ID NO:298
1G8-2H1	S	Y	A	MS	SEQ ID NO:8	R	I	S	Q	G	G	G	V	T	H	YADSVKG	SEQ ID NO:299
1G8-2H10	N	S	A	MS	SEQ ID NO:248	S	I	Y	Y	H	S	G	V	P	R	YADSVKG	SEQ ID NO:300
1G8-2H11	N	Y	A	MS	SEQ ID NO:181	R	I	Y	G	W	D	W	Y	A	S	YADSVKG	SEQ ID NO:301
1G8-2H3	G	Y	A	MS	SEQ ID NO:237	R	I	S	G	I	K	A	Y	N	D	YADSVKG	SEQ ID NO:302
1G8-2H4	G	Y	A	MS	SEQ ID NO:237	A	I	S	G	S	G	G	S	T	Y	YADSVKG	SEQ ID NO:9
1G8-2H8	S	Y	A	MS	SEQ ID NO:8	A	I	S	G	S	G	G	S	T	Y	YADSVKG	SEQ ID NO:9
1G8-2H9	N	Y	A	MS	SEQ ID NO:181	A	I	Y	S	Y	F	D	E	P	R	YADSVKG	SEQ ID NO:303

表 8. 10F4 系列重链可变区的 CDR 序列

编号	HCDR1					HCDR2											HCDR3
10F4	S	Y	A	MS	SEQ ID NO: 8	A	I	S	G	S	G	G	S	T	Y	YADSVKG	SEQ ID NO:9	EYSDVVDY VSVRTPLDY SEQ ID NO:16
10F4-1A1	N	Y	D	MS	SEQ ID NO:304	S	I	K	P	G	S	A	Y	K	F	YADSVKG	SEQ ID NO:318	
10F4-1A3	N	Y	D	MS	SEQ ID NO:304	G	I	K	G	W	K	S	Y	T	G	YADSVKG	SEQ ID NO:319	
10F4-1B2	N	Y	W	MS	SEQ ID NO:305	G	I	D	G	H	S	S	Y	A	F	YADSVKG	SEQ ID NO:320	
10F4-1B5	D	Y	W	MS	SEQ ID NO:306	S	I	I	G	D	D	S	T	N	H	YADSVKG	SEQ ID NO:321	
10F4-1B7	G	F	D	MS	SEQ ID NO:307	G	I	K	A	Y	K	S	T	A	D	YADSVKG	SEQ ID NO:322	
10F4-1B9	N	Y	Y	MS	SEQ ID NO:308	S	I	Y	Q	T	D	A	S	I	F	YADSVKG	SEQ ID NO:323	
10F4-1C3	D	Y	W	MS	SEQ ID NO:306	S	I	K	Q	T	G	G	V	K	H	YADSVKG	SEQ ID NO:324	
10F4-1C4	D	Y	W	MS	SEQ ID NO:306	S	I	I	G	D	D	S	T	N	H	YADSVKG	SEQ ID NO:321	
10F4-1C7	N	Y	W	MS	SEQ ID NO:305	A	I	D	T	H	S	D	N	S	F	YADSVKG	SEQ ID NO:325	

10F4-1C10	S	Y	D	MS	SEQ ID NO:309	G	I	K	T	Y	G	G	N	T	H	YADSVKG	SEQ ID NO326
10F4-1D3	D	Y	D	MS	SEQ ID NO:310	S	I	I	Q	S	G	S	T	A	F	YADSVKG	SEQ ID NO:327
10F4-1D11	D	F	D	MS	SEQ ID NO:311	G	I	K	Q	S	S	A	G	I	N	YADSVKG	SEQ ID NO:328
10F4-1E1	N	Y	W	MS	SEQ ID NO:305	S	I	D	A	S	S	G	N	R	F	YADSVKG	SEQ ID NO:329
10F4-1E10	T	Y	A	MS	SEQ ID NO:238	G	I	S	Q	W	G	A	Y	A	S	YADSVKG	SEQ ID NO:330
10F4-1E12	S	Y	D	MS	SEQ ID NO:309	G	I	S	D	T	G	D	Y	A	N	YADSVKG	SEQ ID NO:331
10F4-1F1	N	Y	W	MS	SEQ ID NO:305	A	I	S	P	G	D	G	T	I	F	YADSVKG	SEQ ID NO:332
10F4-1F2	N	Y	Y	MS	SEQ ID NO:308	S	I	S	A	Y	S	D	N	R	N	YADSVKG	SEQ ID NO:333
10F4-1F8	D	Y	D	MS	SEQ ID NO:310	S	I	I	T	D	G	G	G	A	F	YADSVKG	SEQ ID NO:334
10F4-1F9	G	F	D	MS	SEQ ID NO:307	G	I	K	T	Y	G	G	Y	R	S	YADSVKG	SEQ ID NO:335
10F4-1G5	S	S	W	MS	SEQ ID NO:312	S	I	D	A	Y	G	D	Y	N	F	YADSVKG	SEQ ID NO:336
10F4-1G7	D	Y	D	MS	SEQ ID NO:310	S	I	I	G	H	G	D	T	K	F	YADSVKG	SEQ ID NO:337
10F4-1G8	D	F	D	MS	SEQ ID NO:311	V	I	K	P	S	G	D	Y	I	N	YADSVKG	SEQ ID NO:338
10F4-1H1	N	F	D	MS	SEQ ID NO:313	G	I	K	Q	Y	K	G	Y	T	S	YADSVKG	SEQ ID NO:339
10F4-1H4	N	Y	W	MS	SEQ ID NO:305	A	I	S	G	T	G	G	Y	T	Y	YADSVKG	SEQ ID NO:340
10F4-1H6	D	Y	D	MS	SEQ ID NO:310	G	I	K	T	H	S	G	G	N	G	YADSVKG	SEQ ID NO:341
10F4-1H7	T	Y	D	MS	SEQ ID NO:314	G	I	K	Q	Y	K	G	Y	T	S	YADSVKG	SEQ ID NO:339
10F4-1H11	G	F	W	MS	SEQ ID NO:315	S	I	S	P	D	S	G	T	K	H	YADSVKG	SEQ ID NO:342
10F4-2A1	D	Y	D	MS	SEQ ID NO:310	G	I	K	A	H	S	D	N	K	R	YADSVKG	SEQ ID NO:343
10F4-2A5	D	Y	D	MS	SEQ ID NO:310	G	I	K	T	Y	K	S	D	A	R	YADSVKG	SEQ ID NO:344
10F4-2A9	D	Y	D	MS	SEQ ID NO:310	G	I	K	Q	Y	K	G	Y	T	S	YADSVKG	SEQ ID NO:339
10F4-2B11	N	Y	W	MS	SEQ ID NO:305	V	I	D	S	T	G	S	N	R	F	YADSVKG	SEQ ID NO:345
10F4-2C2	N	Y	W	MS	SEQ ID NO:305	V	I	D	A	H	S	A	N	I	R	YADSVKG	SEQ ID NO:346
10F4-2C4	D	Y	W	MS	SEQ ID NO:306	V	I	D	S	G	S	G	N	K	R	YADSVKG	SEQ ID NO:347
10F4-2C6	G	F	D	MS	SEQ ID NO:307	G	I	K	Q	Y	K	G	Y	T	S	YADSVKG	SEQ ID NO:339
10F4-2C12	D	Y	S	MS	SEQ ID NO:235	V	I	D	T	T	S	A	Y	T	R	YADSVKG	SEQ ID NO:348
10F4-2E1	T	Y	D	MS	SEQ ID NO:314	G	I	K	Y	S	K	Y	Y	T	H	YADSVKG	SEQ ID NO:349
10F4-2E4	S	Y	W	MS	SEQ ID NO:316	A	I	D	G	T	D	S	V	A	Y	YADSVKG	SEQ ID NO:350
10F4-2E6	D	Y	W	MS	SEQ ID NO:306	A	I	D	Q	G	K	A	T	S	F	YADSVKG	SEQ ID NO:351
10F4-2E8	N	Y	D	MS	SEQ ID NO:304	S	I	I	P	H	G	D	Y	S	F	YADSVKG	SEQ ID NO:352
10F4-2F11	S	Y	D	MS	SEQ ID NO:309	G	I	K	T	G	G	G	S	A	R	YADSVKG	SEQ ID NO:353
10F4-2G2	D	Y	D	MS	SEQ ID NO:310	S	I	I	A	S	G	S	G	N	Y	YADSVKG	SEQ ID NO:354
10F4-2H5	N	Y	W	MS	SEQ ID NO:305	S	I	D	Q	G	S	G	N	I	F	YADSVKG	SEQ ID NO:355

10F4-1	N	Y	W	MS	SEQ ID NO:305	G	I	S	Q	G	G	S	Y	A	Y	YADSVKG	SEQ ID NO:356	
10F4-3	D	F	A	MS	SEQ ID NO:241	V	I	D	G	H	T	A	Y	N	S	YADSVKG	SEQ ID NO:357	
10F4-5	G	Y	D	MS	SEQ ID NO:317	V	I	K	D	H	G	G	Y	K	F	YADSVKG	SEQ ID NO:358	

抗体重链恒定区（CH）氨基酸序列：
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS
VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS
TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL
TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK（SEQ ID NO:37）
抗体轻链恒定区（CL）氨基酸序列：
TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS
KDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:38)
抗体 1F3 的重链氨基酸序列如下：
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTY
YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGTL
VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV
LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL
LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLP
PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD
KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK（SEQ ID NO:232）
抗体 1G8 的重链氨基酸序列如下：
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTY
YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTL
VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV
LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL
LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLP
PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD
KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK（SEQ ID NO:233）
抗体 10F4 的重链氨基酸序列如下：
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTY
YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRTPLDYWG
QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH
TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK
TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ
VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK（SEQ ID NO:249）
抗体 10F4-3 的重链氨基酸序列如下：
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFGDFAMSWVRQAPGKGLEWVSVIDGHTAYNS
YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRTPLDYWG
QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH
TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK
TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ
VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK（如 SEQ ID NO:360）
抗体 10F4-3 的重链核酸序列如下：
gaagtgcaattggtggaaagcggcggcggcctggtgcagccgggcggcagcctgcgcctgagctgcgcggcgtccggattctcttttggt

gacttcgctatgagctgggtgcgccaggcaccgggcaaaggcctcgaatgggtgagcgttattgacggtcatactgcttacaactcttatgc
ggatagcgtgaaaggccgctttaccattagccgcgataattcgaaaaacaccctgtatctgcaaatgaacagcctgcgtgcggaagatactg
cagtgtattattgcgcgcgtgaatactctgacgttgttgactacgtttctgttcgtactccgctggattattggggccaaggcaccctggtgacgg
tgagcagcgcctctaccaagggcccctctgtgtttcctctggctccctccagcaagtctacctctggtggaacagctgccctgggctgcctgg
tcaaggattactttcctgagcctgtcaccgtgtcctggaactctggcgctctgacatctggcgtgcacaccttccagctgtgctccagtcctcc
ggcctgtactctctgtcctctgtcgtgaccgtgccttctagctctctgggcacccagacctacatctgcaatgtgaaccacaagccttccaacac
caaggtggacaagaaggtggaacccaagtcctgcgacaagacccacacctgtcctccatgtcctgctccagaactgctcggcggaccttcc
gtgttcctgtttcctccaaagcctaaggacaccctgatgatctctcggacccctgaagtgacctgcgtggtggtggatgtgtctcacgaagatc
ccgaagtgaagttcaactggtacgtggacggcgtggaagtgcacaacgccaagaccaagcctagagaggaacagtacaactccacctac
agagtggtgtccgtgctgaccgtgctgcaccaggattggctgaacggcaaagagtacaagtgcaaggtgtccaacaaggccctgcctgctc
ctatcgaaaagaccatctccaaggccaagggccagcctagggaaccccaggtttacaccttgcctccatctcgggacgagctgaccaaga
accaggtgtccctgacctgtctcgtgaagggcttctaccctccgacatcgccgtggaatgggagtctaatggccagcctgagaacaactac
aagacaaccctcctgtgctggactccgacggctcattcttcctgtactccaagctgacagtggacaagtccagatggcagcagggcaacgt
gttctcctgctccgtgatgcacgaggccctgcacaatcactacacccagaagtccctgtctctgtcccctggcaaataa (SEQ ID
NO:364)

抗体 1F3-1E4 的重链氨基酸序列如下：

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFGTYGMSWVRQAPGKGLEWVSRISGDSANIR
YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGTL
VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV
LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL
LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLP
PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD
KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK（SEQ ID NO:361）

抗体 1F3-1E4 的重链核酸序列如下：

gaagtgcaattggtggaaagcggcggcggcctggtgcagccgggcggcagcctgcgcctgagctgcgcggcgtccggattctcttttggt
acttacggtatgagctgggtgcgccaggcaccgggcaaaggcctcgaatgggtgagccgtatttctggtgactctgctaacatccgttatgc
ggatagcgtgaaaggccgctttaccattagccgcgataattcgaaaaacaccctgtatctgcaaatgaacagcctgcgtgcggaagatactg
cagtgtattattgcgcgcgtgctgaactgctggctttcgacgtttacactgcttctgattattggggccaaggcaccctggtgacggtgagcag
cgcctctaccaagggcccctctgtgtttcctctggctccctccagcaagtctacctctggtggaacagctgccctgggctgcctggtcaagga
ttactttcctgagcctgtcaccgtgtcctggaactctggcgctctgacatctggcgtgcacaccttccagctgtgctccagtcctccggcctgta
ctctctgtcctctgtcgtgaccgtgccttctagctctctgggcacccagacctacatctgcaatgtgaaccacaagccttccaacaccaaggtg
gacaagaaggtggaacccaagtcctgcgacaagacccacacctgtcctccatgtcctgctccagaactgctcggcggaccttccgtgttcct
gtttcctccaaagcctaaggacaccctgatgatctctcggacccctgaagtgacctgcgtggtggtggatgtgtctcacgaagatcccgaagt
gaagttcaactggtacgtggacggcgtggaagtgcacaacgccaagaccaagcctagagaggaacagtacaactccacctacagagtgg
tgtccgtgctgaccgtgctgcaccaggattggctgaacggcaaagagtacaagtgcaaggtgtccaacaaggccctgcctgctcctatcga
aaagaccatctccaaggccaagggccagcctagggaaccccaggtttacaccttgcctccatctcgggacgagctgaccaagaaccaggt
gtccctgacctgtctcgtgaagggcttctaccctccgacatcgccgtggaatgggagtctaatggccagcctgagaacaactacaagacaa
ccctcctgtgctggactccgacggctcattcttcctgtactccaagctgacagtggacaagtccagatggcagcagggcaacgtgttctcct
gctccgtgatgcacgaggccctgcacaatcactacacccagaagtccctgtctctgtcccctggcaaataa (SEQ ID NO:365)

抗体 1F3-2B9 的重链氨基酸序列如下：

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFDSYAMSWVRQAPGKGLEWVSGIKPHTDDIY
YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGTL
VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV
LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL
LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLP
PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD
KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK（SEQ ID NO:362）

抗体 1F3-2B9 的重链核酸序列如下：

gaagtgcaattggtggaaagcggcggcggcctggtgcagccgggcggcagcctgcgcctgagctgcgcggcgtccggattcaactttga
ctcttacgctatgagctgggtgcgccaggcaccgggcaaaggcctcgaatgggtgagcggtattaaaccgcatactgacgacatctactatg
cggatagcgtgaaaggccgctttaccattagccgcgataattcgaaaaacaccctgtatctgcaaatgaacagcctgcgtgcggaagatact
gcagtgtattattgcgcgcgtgctgaactgctggctttcgacgtttacactgcttctgattattggggccaaggcaccctggtgacggtgagca
gcgcctctaccaagggcccctctgtgtttcctctggctccctccagcaagtctacctctggtggaacagctgccctgggctgcctggtcaagg
attactttcctgagcctgtcaccgtgtcctggaactctggcgctctgacatctggcgtgcacaccttccagctgtgctccagtcctccggcctgt
actctctgtcctctgtcgtgaccgtgccttctagctctctgggcacccagacctacatctgcaatgtgaaccacaagccttccaacaccaaggt
ggacaagaaggtggaacccaagtcctgcgacaagacccacacctgtcctccatgtcctgctccagaactgctcggcggaccttccgtgttc
ctgtttcctccaaagcctaaggacaccctgatgatctctcggacccctgaagtgacctgcgtggtggtggatgtgtctcacgaagatcccgaa
gtgaagttcaactggtacgtggacggcgtggaagtgcacaacgccaagaccaagcctagagaggaacagtacaactccacctacagagt
ggtgtccgtgctgaccgtgctgcaccaggattggctgaacggcaaagagtacaagtgcaaggtgtccaacaaggccctgcctgctcctatc
gaaaagaccatctccaaggccaagggccagcctagggaaccccaggtttacaccttgcctccatctcgggacgagctgaccaagaaccag
gtgtccctgacctgtctcgtgaagggcttctacccctccgacatcgccgtggaatgggagtctaatggccagcctgagaacaactacaagac
aaccctcctgtgctggactccgacggctcattcttcctgtactccaagctgacagtggacaagtccagatggcagcagggcaacgtgttctc
ctgctccgtgatgcacgaggccctgcacaatcactacacccagaagtccctgtctctgtccctggcaaataa (SEQ ID NO:366)

抗体 1G8-1C10 的重链核酸序列如下：

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFSDYSMSWVRQAPGKGLEWVSRIKASSGGSD
YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDLDYWGQGTL
VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV
LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL
LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLP
PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD
KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK（SEQ ID NO:363）

抗体 1G8-1C10 的重链核酸序列如下：

gaagtgcaattggtggaaagcggcggcggcctggtgcagccgggcggcagcctgcgcctgagctgcgcggcgtccggattcaacttttct
gactactctatgagctgggtgcgccaggcaccgggcaaaggcctcgaatgggtgagccgtattaaagcttcttctggtggttctgactatgcg
gatagcgtgaaaggccgctttaccattagccgcgataattcgaaaaacaccctgtatctgcaaatgaacagcctgcgtgcggaagatactgc
agtgtattattgcgcgcgtcagactgaagaccgttcttacggttacgacctggattattggggccaaggcaccctggtgacggtgagcagcg
cctctaccaagggcccctctgtgtttcctctggctccctccagcaagtctacctctggtggaacagctgccctgggctgcctggtcaaggatta
ctttcctgagcctgtcaccgtgtcctggaactctggcgctctgacatctggcgtgcacaccttccagctgtgctccagtcctccggcctgtact
ctctgtcctctgtcgtgaccgtgccttctagctctctgggcacccagacctacatctgcaatgtgaaccacaagccttccaacaccaaggtgga
caagaaggtggaacccaagtcctgcgacaagacccacacctgtcctccatgtcctgctccagaactgctcggcggaccttccgtgttcctgtt
tcctccaaagcctaaggacaccctgatgatctctcggacccctgaagtgacctgcgtggtggtggatgtgtctcacgaagatcccgaagtga
agttcaactggtacgtggacggcgtggaagtgcacaacgccaagaccaagcctagagaggaacagtacaactccacctacagagtggtgt
ccgtgctgaccgtgctgcaccaggattggctgaacggcaaagagtacaagtgcaaggtgtccaacaaggccctgcctgctcctatcgaaaa
gaccatctccaaggccaagggccagcctagggaaccccaggtttacaccttgcctccatctcgggacgagctgaccaagaaccaggtgtc
cctgacctgtctcgtgaagggcttctacccctccgacatcgccgtggaatgggagtctaatggccagcctgagaacaactacaagacaacc
cctcctgtgctggactccgacggctcattcttcctgtactccaagctgacagtggacaagtccagatggcagcagggcaacgtgttctcctgc
tccgtgatgcacgaggccctgcacaatcactacacccagaagtccctgtctctgtccctggcaaataa (SEQ ID NO:367)

共用轻链的氨基酸序列如下：

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR
FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ
LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK
ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC（SEQ ID NO:250）

共用轻链的核酸序列如下：

gatatccagatgacccagtcccccagctccctgagcgctagcgtgggcgaccgggtgaccatcacctgcagggcctcccagggcatcag
ctcctacctggcttggtatcagcagaagcctggcaaggcccctaagctgctgatctatgccgcttcctccctgcagtccggcgtgccttccag

gttcagcggctccggcagcggcaccgacttcaccctgaccatctcctccctgcagcctgaggacttcgccacctattattgccagcagcact ataccacccctcctacctttggccagggcaccaaggtggagatcaagcgtacggtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatg agcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgccc tccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaa gcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaagagcttcaacaggggaga gtgttga (SEQ ID NO:359)

实施例 4. 结合活性检测

通过 ELISA 方法检测抗体的结合活性，过程简述如下，包被实施例 1 的 hNectin-4-His 抗原蛋白，包被浓度为 1 μg/mL，脱脂奶粉过夜封闭后，分别加入梯度稀释的待检测抗体孵育（表 9 抗体的起始浓度为 2μg/mL，2 倍梯度稀释；表 10 和表 11 抗体的起始浓度为 10μg/mL，3 倍梯度稀释），室温孵育 2 小时（h）后，加入 HRP 标记的抗人-kappa（Sigma，A7164）二抗孵育 1h，随后加入 TMB（湖州英创生物科技，TMB-S-001）显色，并用 0.1M 的 H_2SO_4 终止显色，酶标仪读取 OD450 的吸光度后，通过四参数拟合计算各抗体的结合 EC_{50} 数值，比较各抗体的结合活性，结果见表 9-11。

表 9. 抗 Nectin-4 抗体结合活性

抗体编号	EC_{50}（μg/mL）	抗体编号	EC_{50}（μg/mL）
ASG-22	0.042	1G8	0.068
3A10	0.068	1G7	0.022
10F4	0.038	1B4	0.025
10A4	0.041	1F3	0.041
1G12	0.073		

表 10. 抗体结合活性

抗体编号	EC_{50}（μg/mL）	抗体编号	EC_{50}（μg/mL）
1G8-1E10	0.006	1F3-1C4	0.011
1G8-1C10	0.005	1F3-1D7	0.015
1G8-2B3	0.005	1F3-1E1	0.017
1G8-1G3	0.004	1F3-1F4	0.009
1G8-2C6	0.005	1F3-1F8	0.008
1G8-2G8	0.006	1F3-1G7	0.008
1G8-2F2	0.012	1F3-1G11	0.007
1G8-2F11	0.004	1F3-1D12	0.007
1G8-2H8	0.005	1F3-1H3	0.008
1F3-1A9	0.007	1F3-2B9	0.009
1G8-2H4	0.039	1F3-2D2	0.015
ASG-22	0.019	1F3-2E8	0.009
1F3	0.005	1F3-2F3	0.011
1F3-1B1	0.016	1F3-2B1	0.014

表 11. 抗体结合活性

抗体编号	EC_{50}(μg/mL)	抗体编号	EC_{50}(μg/mL)
ASG-22	0.042	ASG-22	0.046
10F4-1A1	0.051	10F4-1G7	0.068

10F4-1C3	0.053	10F4-1H6	0.063
10F4-1C10	0.058	10F4-1H11	0.059
10F4-1F1	0.057	10F4-2C6	0.09
10F4-1E1	0.067	10F4-2C12	0.06
10F4-1F8	0.054	10F4-2F11	0.078
10F4	0.041	10F4	0.043

实施例 5. 亲和力测定

本研究采用表面等离子体共振（Surface Plasmon Resonance，SPR）技术（BIAcore：GE Healthcare，T200）对抗体与人 Nectin-4 胞外抗原的亲和力进行检测。

用 Protein A 芯片（Cat#29127556，GE Healthcare）进行捕获，5μg/ml 抗体稀释液（稀释液是 HBS-EP+(10x)：GE Healthcare，cat#BR-1006-69，工作浓度为 1x）以 10μl/min 的流速通过实验流路(Fc2、Fc4)，捕获 10 秒（s）；之后流速调为 30 μl/min，依次进不同浓度的 hNectin-4-His 稀释液(0 nM、1.23nM、3.7nM、11.1nM、33.3 nM、100nM)，同时经过实验流路(Fc2、Fc4)和参比流路(Fc1、Fc3)表面，结合时间 120s，解离时间 180s，最后通过 Glycine 1.5 对芯片进行再生。使用 BiaEvaluation 3.2 进行拟合分析，拟合模型用 1:1 模型，拟合结果见表 12-13 和图 1。

表 12. 抗 Nectin-4 抗体与 hNectin-4-His 的亲和力

抗体编号	KD(M)	Ka（1/Ms）	Kd（1/s）	$Chi^2(RU^2)$
1G8	4.97E-09	6.05E+05	3.00E-03	0.626
ASG-22	6.03E-09	7.23E+05	4.36E-03	4.9
1G12	8.61E-09	5.39E+05	4.64E-03	0.891
1B4	5.33E-09	6.00E+05	3.20E-03	0.873
1G7	1.67E-08	3.77E+05	6.31E-03	0.124
10F4	2.77E-09	3.73E+05	1.03E-03	3.52
10A4	6.71E-09	3.46E+05	2.32E-03	1.15
3A10	2.1E-09	4.13E+05	8.67E-04	3.24
1F3	3.21E-09	8.13E+05	2.61E-03	8.81

表 13. 抗体亲和力

样品	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	Rmax (RU)	Chi^2 (RU^2)
1F3	7.85E+05	1.95E-03	2.49E-09	127.6	0.795
1F3-1B1	1.20E+06	2.04E-04	1.7E-10	142.5	0.974
1F3-1A9	1.55E+06	9.94E-04	6.41E-10	120.8	0.949
1F3-1E4	1.94E+06	8.25E-04	4.26E-10	132	1.16
1F3-1E1	1.51E+06	2.12E-04	1.41E-10	131.5	0.172
1F3-1G7	8.02E+05	5.96E-04	7.43E-10	135.8	1.96
1F3-1F8	1.71E+06	9.66E-04	5.64E-10	124.2	0.701
1F3-1H3	1.69E+06	1.05E-03	6.2E-10	130.8	0.972
1F3-1G11	1.41E+06	1.15E-03	8.15E-10	132.6	0.89
1F3-2B9	1.82E+06	1.01E-03	5.52E-10	124.4	0.91
1F3-2B1	1.32E+06	3.17E-04	2.41E-10	130.2	0.399
1F3-2F3	1.40E+06	5.19E-04	3.7E-10	125.4	0.694
1F3-2E8	1.17E+06	1.02E-03	8.72E-10	144.8	0.864

1G8	6.05E+05	3.00E-03	4.97E-09	48.4	0.626
1G8-1G3	4.71E+05	1.41E-03	3.00E-09	135.4	1.47
1G8-1E10	6.65E+05	8.70E-04	1.31E-09	109.6	1.71
1G8-2C6	7.34E+05	1.37E-03	1.87E-09	122.1	1.27
1G8-2B3	7.42E+05	1.47E-03	1.98E-09	102.6	0.817
1G8-2G8	7.58E+05	1.42E-03	1.87E-09	100.8	0.974
1G8-2F2	7.84E+05	1.66E-03	2.12E-09	53.8	0.516
ASG-22	5.77E+05	5.81E-03	1.01E-08	84.9	0.69
1G8-1G3	4.71E+05	1.41E-03	3E-09	135.4	1.47
10F4	3.75E+05	1.21E-03	3.23E-09	29.4	0.232
10F4-1	4.15E+05	2.26E-04	5.45E-10	94.8	1.16
10F4-5	3.43E+05	1.37E-04	3.99E-10	135.8	1.79
10F4-3	3.46E+05	1.22E-04	3.52E-10	110.3	1.26
ASG-22	5.40E+05	5.90E-03	1.09E-08	78.3	0.714
10F4-1C3	3.70E+05	2.18E-04	5.89E-10	123.6	1.3
10F4-1A1	4.30E+05	1.86E-04	4.32E-10	106.1	1.47
10F4-1C10	2.65E+05	1.16E-04	4.35E-10	108.3	0.238
10F4-1F8	4.24E+05	2.37E-04	5.58E-10	95.8	0.764
10F4-1H6	2.99E+05	1.51E-04	5.05E-10	118.7	0.348
10F4-1G7	3.89E+05	1.45E-04	3.74E-10	91	0.711
10F4-2C6	2.94E+05	8.36E-05	2.85E-10	108.6	0.927
10F4-1H11	3.50E+05	2.12E-04	6.05E-10	119	1.14
10F4-2F11	4.06E+05	1.61E-04	3.96E-10	81	1.15
10F4-2C12	5.70E+05	3.04E-04	5.33E-10	89.4	2.15

实施例 6. 内吞效率测定

本试验通过 FACS 方法检测 37℃孵育一定时间后残留在细胞表面抗体的相对数量，以反映内吞效率。方法简述如下，细胞使用 T-47D 细胞（人乳腺导管癌细胞，来源于中国科学院细胞库，目录号 TCHu 87），将待测抗体调整至 10μg/mL 与细胞在冰上结合 1h，预冷 PBS 洗 3 遍，随后放入 37℃分别孵育 0h、2h 和 4h，加入 0.2%N_3Na 终止内吞反应，PBS 洗三遍，随后加入 PE 标记的 anti-human Fc（Invitrogen 12-4998-82）的二抗，4℃孵育 30 分钟（min），流式细胞仪检测红色荧光信号。各待测抗体的内吞结果如表 14-15。

表 14. 抗 Nectin-4 抗体的内吞结果

抗体编号	MFI（平均荧光强度）			2h 内吞率	4h 内吞率
	0h	2h	4h		
ASG-22	107097.7	53739.06	27694.23	49.8%	74.1%
1B4	107856.3	52035.69	26450.5	51.8%	75.5%
1F3	121007.3	60512.22	28271.26	50.0%	76.6%
1G8	104517.6	56508.13	27760.32	45.9%	73.4%
3A10	105072.4	47336.81	20035.45	54.9%	80.9%
10A4	107039.3	53157.58	21358.23	50.3%	80.0%
10F4	104284.8	56913.51	24043.91	45.4%	76.9%

表 15. 抗 Nectin-4 抗体的内吞结果

抗体编号	MFI（平均荧光强度）			2h 内吞率	4h 内吞率
	0h	2h	4h		
ASG-22	58,591.2	37,973.0	37,844.0	35.2%	35.4%
10F4-1	58,616.6	31,049.2	29,267.8	47.0%	50.1%
10F4-3	61,231.7	34,751.4	27,044.8	43.2%	55.8%
10F4-5	63,449.1	37,060.1	20,132.5	41.6%	68.3%
1F3-1B1	65,333.1	36,442.5	33,275.2	44.2%	49.1%
1F3-1E1	73,387.8	45,103.4	31,632.0	38.5%	56.9%
1F3-1G11	60,470.8	48,303.1	42,145.4	20.1%	30.3%
1F3-2B1	59,430.8	38,232.6	30,476.3	35.7%	48.7%
1F3-2E8	58,160.4	36,480.4	32,490.0	37.3%	44.1%
1F3-2F3	68,970.9	45,880.7	31,065.2	33.5%	55.0%

实施例 7. 细胞结合曲线

本试验通过 FACS 检测不同抗体与 Nectin-4 表达阳性的 T-47D 细胞的结合活性，并通过四参数法分析抗体与细胞结合的 EC_{50}。方法简述如下，胰酶消化 T-47D 细胞（中国科学院细胞库，TCHu 87），梯度稀释抗体并于 4℃与 T-47D 细胞孵育 0.5-1h，随后加入 PE 标记的抗人 Fc（Invitrogen, 12-4998-82）的二抗，流式细胞仪检测红色荧光值的信号强度，并使用 Graphpad Prism 作图并计算 EC_{50}，结合曲线和 EC_{50} 结果如表 16 和图 2 所示。

表 16. 抗 Nectin-4 抗体与细胞结合的 EC_{50} 值

EC_{50}	ASG-22	1F3	1G8	3A10	10F4
μg/mL	0.118	0.116	0.109	0.186	0.156
nM	0.788	0.770	0.727	1.241	1.039

实施例 8. 特异性检测

本试验通过 ELISA 方法检测不同抗体与人 Nectin-4 同家族蛋白 hNectin-1（ACRO, PV1-H5223）、hNectin-2（ACRO, PV2-H52E2）、hNectin-3（ACRO, PV3-H52E4）、hNectin-4-His 的结合情况，确认抗体的特异性。方法和过程参考实施例 4，包被目的抗原（1μg/mL），封闭后加入梯度稀释候选抗体（起始浓度为 2μg/mL，2 倍梯度稀释），并加入 HRP 标记的抗人-Kappa 二抗显色，结果见表 17，抗体 3A10 与 hNectin-3 有较弱的结合外，其余抗体均有良好的特异性，不与同家族蛋白 hNectin-1/2/3 结合，与 hNectin-4-His 结合。结合曲线见图 3。

表 17. 抗 Nectin-4 抗体对人 Nectin-4 同家族蛋白的结合

	EC_{50}（μg/mL）			
	1F3	1G8	3A10	10F4
hNectin-1	NA	NA	NA	NA
hNectin-2	NA	NA	NA	NA
hNectin-3	NA	NA	0.626	NA
hNectin-4-His	0.040	0.041	0.062	0.045

注 NA 表示本试验中不结合。

实施例 9. 种属特异性检测

Nectin-4 在不同种属具有较高的同源性。

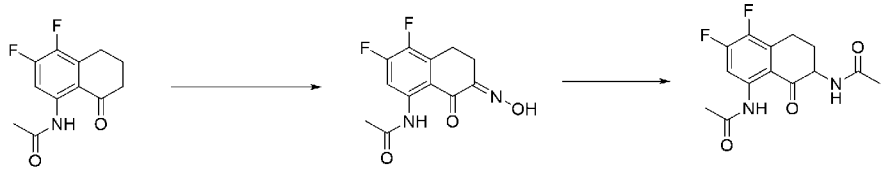
通过 ELISA 方法检测不同抗体与不同种属 Nectin-4 蛋白的结合情况。分别包被 hNectin-4-His，猴 cNectin-4 蛋白（ACRO, NE4-C52H4）和小鼠 mNectin-4 蛋白（ACRO, NE4-M52H3），梯度稀释抗体 ASG-22、1F3、1G8、3A10 和 10F4，并加入 HRP 标记的抗人-Kappa 二抗显色，结果见表 18 和图 4，待检测抗体与人、食蟹猴和小鼠 Nectin-4 具有接近的结合活性，对照抗体与鼠 Nectin-4 结合有弱结合。

表 18. 抗 Nectin-4 抗体对不同种属 Nectin-4 的结合

样品名称	EC_{50}（μg/mL）				
	ASG-22	1F3	1G8	3A10	10F4
hNectin-4-His	0.035	0.036	0.043	0.037	0.041
cNectin-4	0.033	0.034	0.036	0.042	0.041
mNectin-4	1.229	0.034	0.037	0.037	0.041

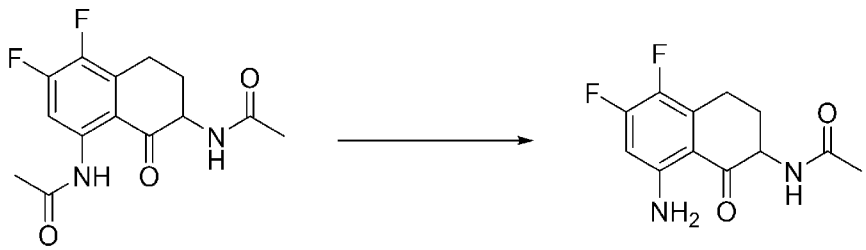
实施例 10. 化合物 (1S,9S)-1-氨基-9-乙基-4,5-二氟-9-羟基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H 苯并[de]哌喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮盐酸盐(D-1)的合成步骤

1. N,N'-(3,4-二氟-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1,7-二基)二乙酰胺的合成



氮气氛围中，将叔丁醇钾四氢呋喃溶液（42 mL，1 M）加入干燥反应瓶中搅拌，降温至 0-5℃。将溶于四氢呋喃 （25 mL）的 N-（3,4-二氟-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基）乙酰胺（CAS 号：143655-49-6，5 g，21 mmol），缓慢滴加到反应瓶中，随后滴加亚硝酸叔丁酯（4.32 g，2eq）（控温 0-5℃），升温至 15-20℃搅拌 2 h。反应完全后，降温至 0-5℃，滴加醋酸（25 mL）、醋酸酐（25 mL）（控温不超过 10℃），滴完搅拌 20 min。保持 5-10℃根据 N-（3,4-二氟-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1-基）乙酰胺的量加锌粉（8 eq），20-25℃搅拌 1h。过滤，乙酸乙酯（50 mL）漂洗固体，降温至 0-5℃，滴加 15%NaCO3 水溶液（50 mL）洗三次，乙酸乙酯（25 mL）萃取，合并有机相，饱和 NaCl 水溶液洗涤。加入乙酸乙酯（10 mL），40℃搅拌 30 min，缓慢降至 0-5℃搅拌 2 h。过滤，固体用乙酸乙酯/石油醚（1/2，10 mL）洗涤。真空干燥得灰色粉末（2.1 g，33.7%）。LC-MS: [M+H]+=297。

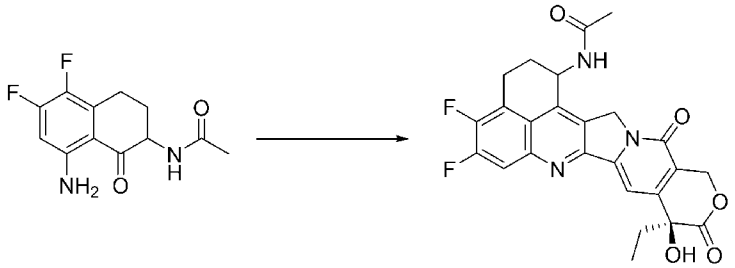
2. N-(8-氨基-5,6-二氟-1-氧代-1,2,3,4-四氢萘-2-基)乙酰胺的合成



将 N,N'-(3,4-二氟-8-氧代-5,6,7,8-四氢萘-1,7-二基)二乙酰胺（500 mg，1.68 mmol）加入 2 M 盐酸乙醇溶液（5 mL），50℃搅拌 4 h，检测反应完全后，加水（7.5 mL），降温至 0-5℃，滴加三乙胺（1.03 g）搅拌 3 h。过滤，分别用 40%冷乙醇水溶液（3 mL），水（3 mL）洗

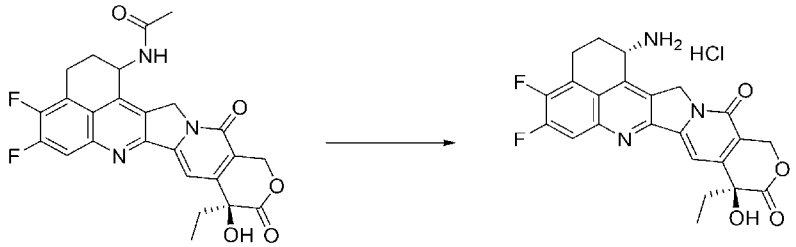
涤。真空干燥得灰色粉末（320 mg，74.6%）。LC-MS: [M+H]+=255。

3. N-((9S)-9-乙基-4,5-二氟-9-羟基-10,13-二氧-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H 苯并[de]哌喃并[3';4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)乙酰胺的合成



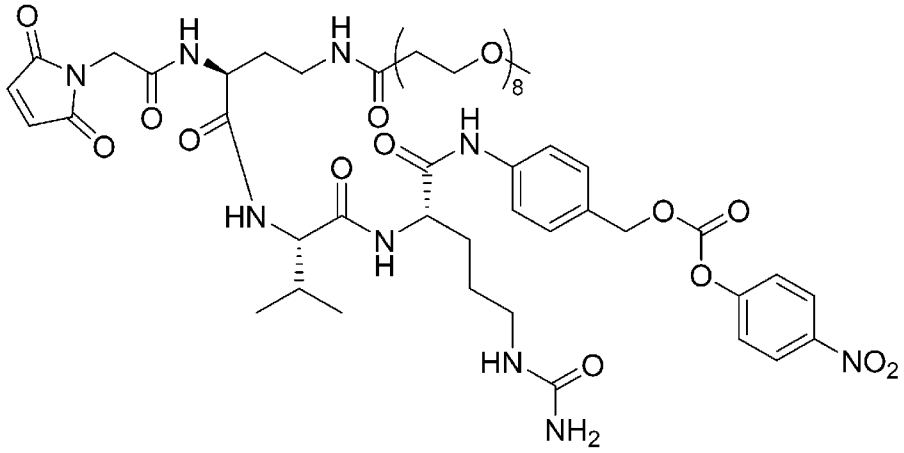
氮气氛围下将 N-(8-氨基-5,6-二氟-1-氧代-1,2,3,4-四氢萘-2-基)乙酰胺（1.1 g，1eq）、(S)-4-乙基-4-羟基-7,8-二氢-1H-哌喃并[3,4-f]吲哚嗪-3,6,10(4H)-三酮（1.15 g，1eq）及甲苯（50 mL）加入到反应瓶，升温至回流，搅拌 1 h 后加入 4-甲基苯磺酸吡啶（100 mg），继续搅拌回流 20 h。降至室温搅拌 1 h。过滤，固体分别用丙酮（10 mL），冷乙醇（5 mL）洗涤。真空干燥得灰褐色粉末（1.1 g，53%）。LC-MS: [M+H]+=482。

4. (1S,9S)-1-氨基-9-乙基-4,5-二氟-9-羟基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H 苯并[de]哌喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮盐酸盐的合成

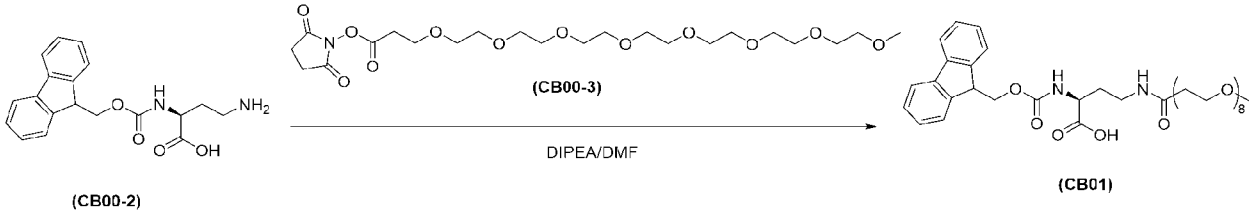


将 N-((9S)-9-乙基-4,5-二氟-9-羟基-10,13-二氧-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H 苯并[de]哌喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)乙酰胺（1.1 g，2.28 mmol）、6 M 盐酸水溶液（44 mL）加入到反应瓶，氮气氛围下回流搅拌 4 h。浓缩除去溶剂，HPLC 纯化得到白色粉末（200 mg，18%）。LC-MS: [M+H]+=440。

实施例 11. 4-((30S,33S,36S)-30-(2-(2,5-二氧-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰氨基)-33-异丙基-26,31,34-三氧-36-(3-脲丙基)-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧-27,32,35-三氮杂三十七烷-37-胺基)苯甲基 (4-硝基苯基) 碳酸酯(CB07)的合成步骤

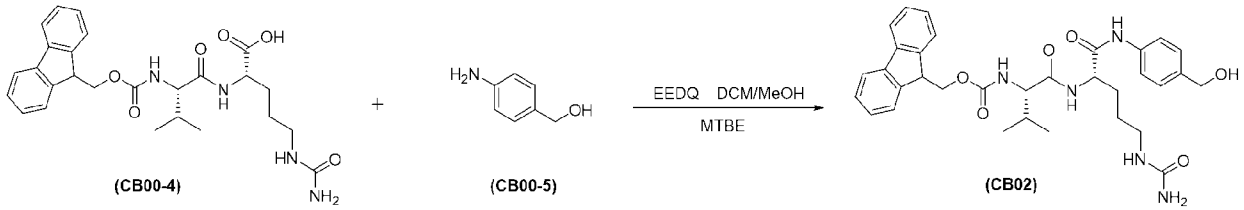


1) (S)-30-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-26-氧-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂-27-氮杂-三十一烷-31-酸(CB01)的合成。



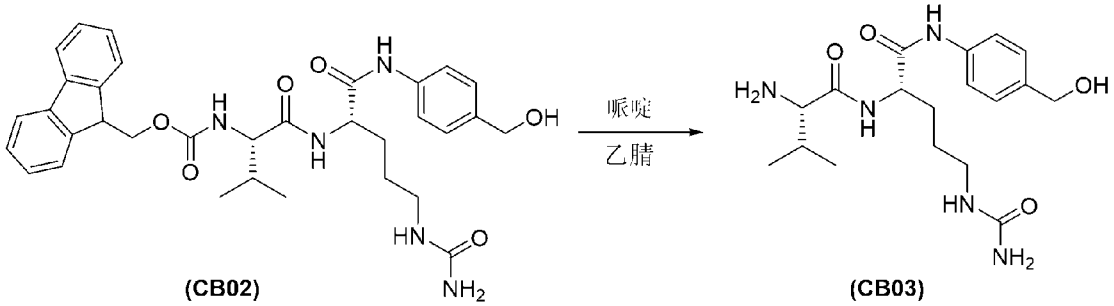
0-5℃氮气保护下，将 8.14 g N2-芴甲氧羰基-L-2,4-二氨基丁酸(CB00-2)用 40 mL 二甲基甲酰胺(DMF)溶解，加入 10 g 4,7,10,13,16,19,22,25-八氧杂二十六烷酸-N-琥珀酰亚胺酯(CB00-3)和 10 mL DMF，保持 0-5℃滴加 6.5 mL DIPEA，加完 1 h 后室温下搅拌反应 4 h，反应完成后减压除去 DMF，硅胶柱层析（二氯甲烷和甲醇体积比 20:1 作为洗脱溶剂）得到淡黄色油状液体 14.2 g CB01。

2) [(S)-1-[[(S)-1-[[4-(羟甲基)苯基]氨基]-1-氧代-5-脲基戊烷-2-基]氨基]-3-甲基-1-氧代丁-2-基]氨基甲酸(9H-芴-9-基)甲酯(CB02)的合成。



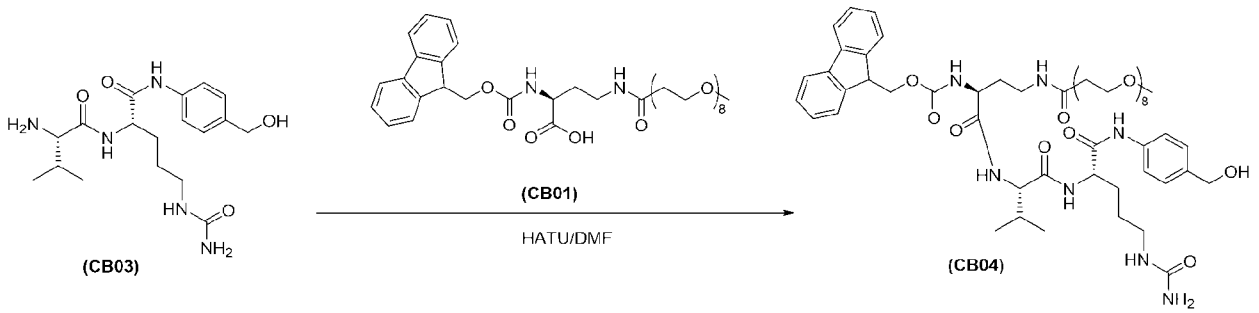
室温氮气保护下，11 g (S)-2-((S)-2-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-3-甲基丁酰氨基)-5-脲基戊酸(CB00-4)和 5.5 g 对氨基苯甲醇(CB00-5)用 400 mL 二氯甲烷和 200 mL 甲醇溶解，机械搅拌下，分批加入 17 g 2-乙氧基-1-乙氧碳酰基-1,2-二氢喹啉(EEDQ)，避光下反应 15 h。反应完成后减压除去溶剂得到糊状固体，硅胶柱层析（二氯甲烷和甲醇体积比 20:1 作为洗脱溶剂）得到灰白色固体 11.9 g。

3) (S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-N-(4-(羟基甲基)苯基)-5-脲基戊酰胺(CB03)的合成。



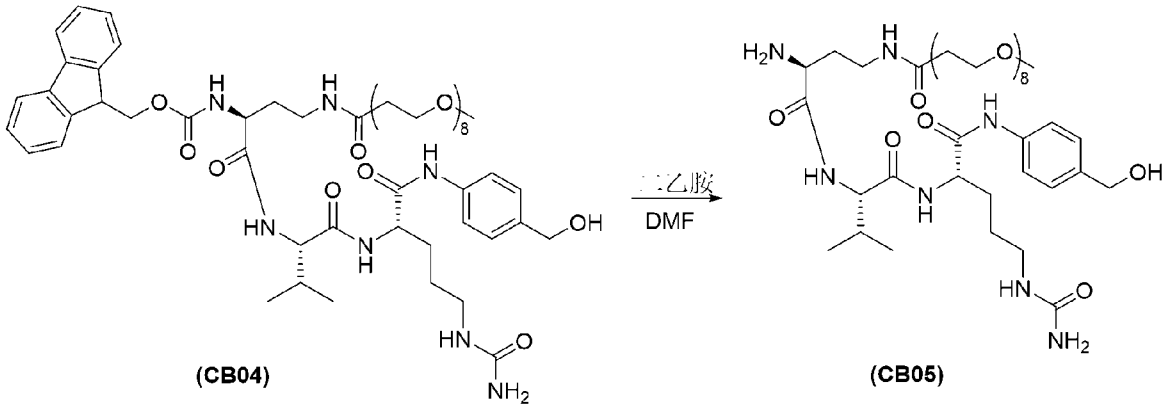
室温氮气保护下，11.9 g [(S)-1-[[(S)-1-[[4-(羟甲基)苯基]氨基]-1-氧代-5-脲基戊烷-2-基]氨基]-3-甲基-1-氧代丁-2-基]氨基甲酸(9H-芴-9-基)甲酯(CB02)中加入 300 mL 乙腈，搅拌下滴加 18 mL 哌啶，滴加完毕后室温下反应 2 h。反应完成后减压蒸馏除去溶剂和哌啶，硅胶柱层析（二氯甲烷和甲醇体积比 20:1 作为洗脱溶剂）得到白色固体 7.5 g CB03。

4) (9H-芴-9-基)甲基 ((30S,33S,36S)-41-氨基-36-((4-(羟甲基)苯基)氨基甲酰基)-33-异丙基-26,31,34,41-四氧-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂-27,32,35,40-四氮杂-30-基)氨基甲酸酯(CB04)的合成。



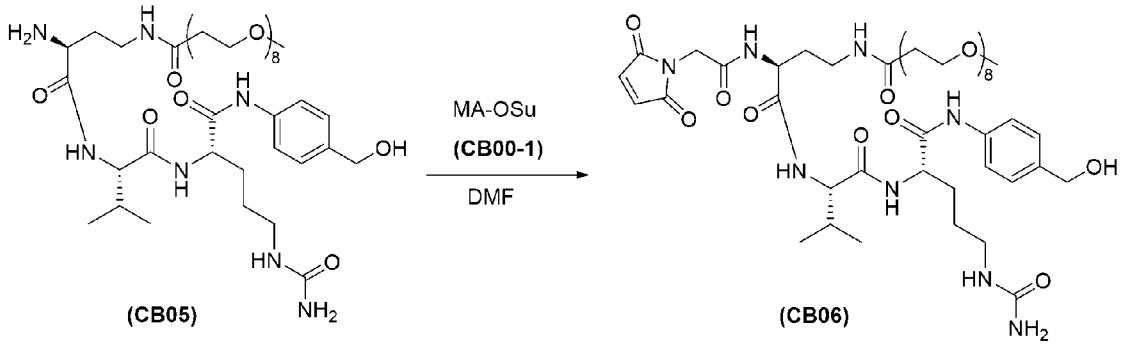
0℃氮气氛围下，将 14.2 g (S)-30-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)氨基)-26-氧-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂-27-氮杂-三十一烷-31-酸(CB01)溶解于 100 mL DMF 中，分批加入 11 g N,N,N′,N′-四甲基-O-(7-氮杂苯并三唑-1-基)六氟磷酸脲(HATU)，搅拌反应 30 min 后，加入 7.5 g 的(S)-2-((S)-2-氨基-3-甲基丁酰胺基)-N-(4-(羟基甲基)苯基)-5-脲基戊酰胺(CB03)，保持 0℃下反应 2.5 h。反应完成后减压蒸馏除去溶剂，硅胶柱层析（二氯甲烷和甲醇体积比 10:1 作为洗脱溶剂）得到固体 9.66 g CB04。

5) N-((S)-3-氨基-4(((S)-1-(((S)-1-((4-(羟甲基)苯基)胺基)-1-氧代-5-脲基戊烷-2-基)胺基)-3-甲基-1-氧丁烷-2-基)胺基)-4-氧基)-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十六烷-26-酰胺(CB05)的合成。



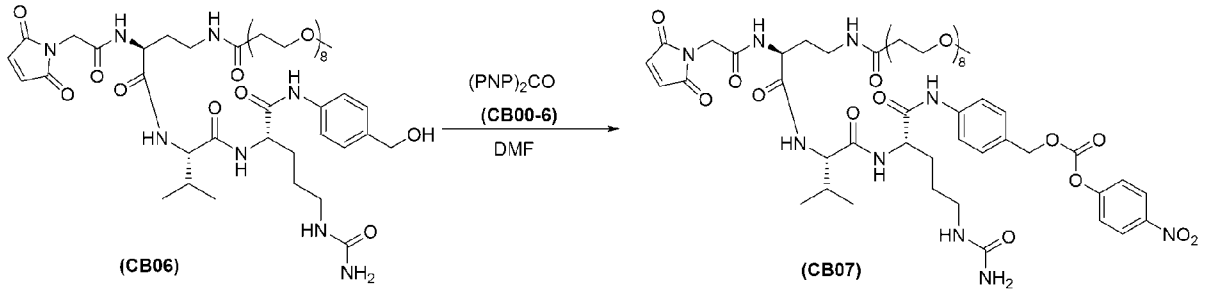
室温氮气保护下，9.66 g 的(9H-芴-9-基)甲基((30S,33S,36S)-41-氨基-36-((4-(羟甲基)苯基)氨基甲酰基)-33-异丙基-26,31,34,41-四氧-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂-27,32,35,40-四氮杂-30-基)氨基甲酸酯(CB04)溶解于 50 mL DMF，加入 12 mL 二乙胺，搅拌反应 1.5 h。反应完成后减压蒸馏除去溶剂，硅胶柱层析（二氯甲烷和甲醇体积比 7.5:1 作为洗脱溶剂）得到淡黄色固体 7.7 g CB05。

6) N-((S)-3-(2-(2,5-二氧-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰氨基)-4-(((S)-1-(((S)-1-((4-(羟甲基)苯基)胺基)-1-氧-5-脲基戊烷-2-基)胺基)-3-甲基-1-丁酮-2-基)胺基)-4-氧代)-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十六烷-26-酰胺(CB06)的合成。



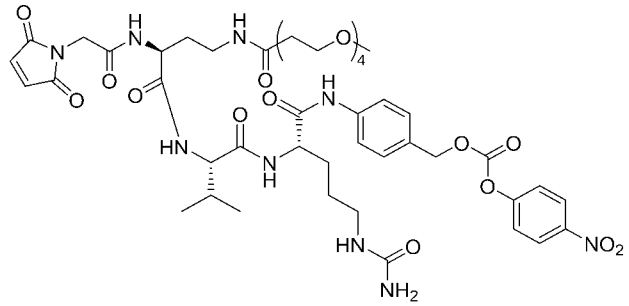
7.7 g N-((S)-3-氨基-4(((S)-1-(((S)-1-((4-(羟甲基)苯基)胺基)-1-氧代-5-脲基戊烷-2-基)胺基)-3-甲基-1-氧丁烷-2-基)胺基)-4-氧基)-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十六烷-26-酰胺(CB05)溶于 40 mL DMF 中，0-5℃氮气氛围下，分批加入马来酰亚胺基乙酸琥珀酰亚胺酯(CB00-1)，保持 0-5℃反应 4 h。反应完成后减压蒸馏除去溶剂，硅胶柱层析（二氯甲烷和甲醇体积比 10:1 作为洗脱溶剂）得到淡黄色固体 9.5 g CB06。

7) 4-((30S,33S,36S)-30-(2-(2,5-二氧-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰氨基)-33-异丙基-26,31,34-三氧-36-(3-脲丙基)-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧-27,32,35-三氮杂三十七烷-37-胺基)苯甲基 (4-硝基苯基) 碳酸酯(CB07)的合成。



9.5 g N-((S)-3-(2-(2,5-二氧-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰氨基)-4-(((S)-1-(((S)-1-((4-(羟甲基)苯基)胺基)-1-氧-5-脲基戊烷-2-基)胺基)-3-甲基-1-丁酮-2-基)胺基)-4-氧代)-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂二十六烷-26-酰胺(CB06)溶于 50 mL DMF 中，0℃氮气氛围下，加入 14.0 g 二(对硝基苯)碳酸酯((PNP)$_2$CO)，溶解后再加入 8.2 mL N,N-二异丙基乙胺(DIPEA)，保持 0℃反应 4 h。反应完成后减压蒸馏除去溶剂，硅胶柱层析（二氯甲烷和甲醇体积比 8:1 作为洗脱溶剂）得到白色固体 2.6 g CB07。

实施例 12. 4-((18S,21S,24S)-18-(2-(2,5-二氧-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰氨基)-21-异丙基-14,19,22-三氧-24-(3-脲丙基)-2,5,8,11-四氧-15,20,23-三氮杂二十五烷-25-胺基)苯甲基(4-硝基苯基)碳酸酯（CB14）的合成

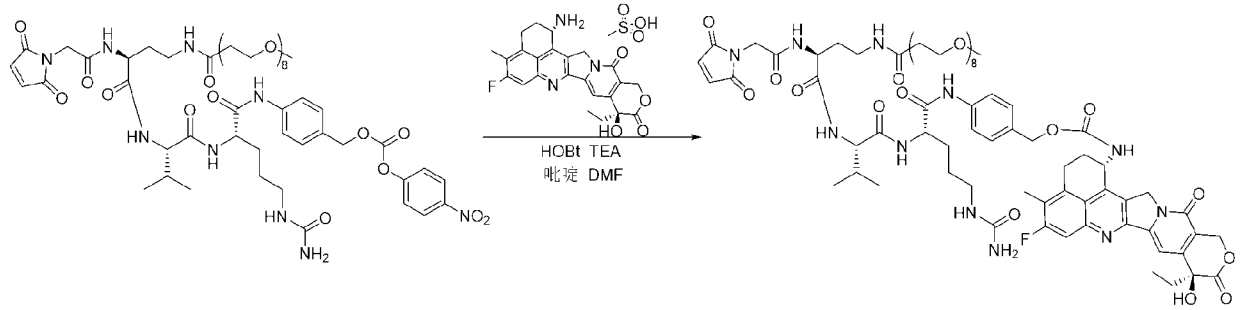


(CB14)

CB14 的制备参考实施例 11 中 CB07 的合成，将 4,7,10,13,16,19,22,25-八氧杂二十六烷酸-N-琥珀酰亚胺酯替换为 4,7,10,13-四氧杂十四烷酸-N-琥珀酰亚胺酯。最终得到白色固体 CB14。

实施例 13. 中间体（CB07-Exatecan）的合成

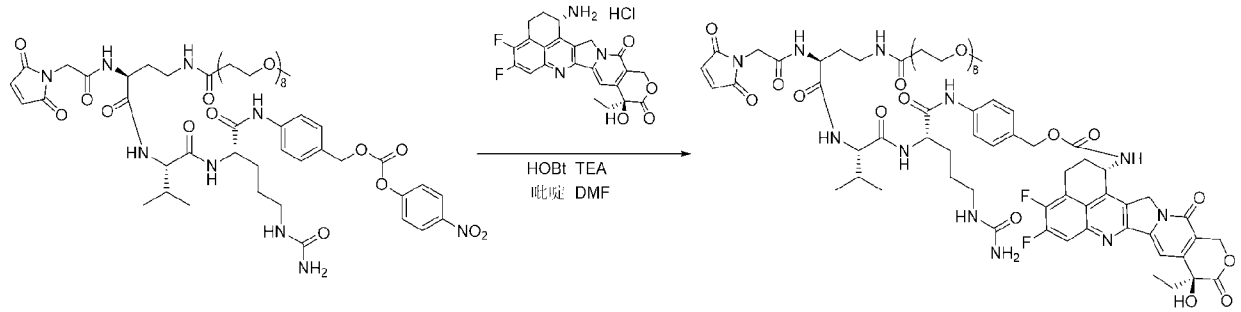
4-(30S,33S,36S)-30-(2-(2,5-二氧杂-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰氨基)-33-异丙基-26,31,34-三氧杂-36-(3-脲丙基)-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂-27,32,35-三氮杂庚三氨基乌头-37-基)苯甲酰基 (1s,9s)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-氨基甲酸酯的合成。



将 4-((30S,33S,36S)-30-(2-(2,5-二氧-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰氨基)-33-异丙基-26,31,34-三氧-36-(3-脲丙基)-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧-27,32,35-三氮杂三十七烷-37-胺基)苯甲基 (4-硝基苯基) 碳酸酯(CB07) (2.6 g，2.21 mmol)与 N,N-二甲基甲酰胺(23 mL)加入反应瓶 R1，氮气保护下搅拌降温至 0-5℃。同时取(1S,9S)-1-氨基-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮甲磺酸盐(依喜替康甲磺酸盐，0.98 g，1.84 mmol，Advanced ChemBlocks 公司)与 N,N-二甲基甲酰胺(5 mL)加入到另一个反应瓶 R2，0-5℃滴加三乙胺(230 mg，2.27 mmol)，搅拌至全溶后。将反应瓶 R2 中溶液滴加到反应瓶 R1 中，然后用 N,N-二甲基甲酰胺(2 mL)洗涤反应瓶 R2 后，洗涤液加入到反应瓶 R1 中。再称取 1-羟基苯并三唑(497 mg，3.68 mmol)、吡啶(1.45 g，18.4 mmol)加入到反应瓶 R1。0-5℃搅拌 10 min，升至室温搅拌 5.5 h 反应完全后，35℃减压浓缩除去溶剂。用制备型高效液相色谱(prep-HPLC)纯化，冻干，得到白色粉末(1.6 g，59%)。LC-MS: [1/2M+H]+=737。

实施例 14. 中间体（CB07- D-1）的合成

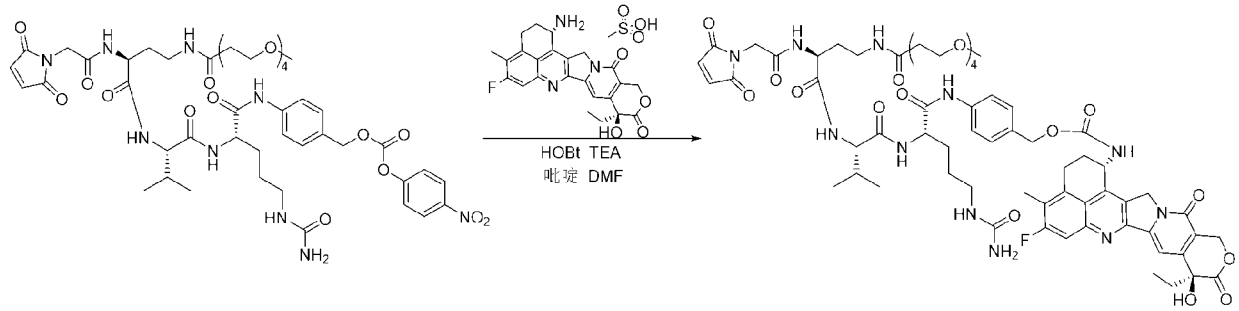
4-(30S,33S,36S)-30-(2-(2,5-二氧杂-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰氨基)-33-异丙基-26,31,34-三氧杂-36-(3-脲丙基)-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧杂-27,32,35-三氮杂庚三氨基乌头-37-基)苯甲酰基 (1S,9S)-9-乙基-4,5-二氟-9-羟基-10,13-二氧-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-氨基甲酸酯的合成



将 4-((30S,33S,36S)-30-(2-(2,5-二氧-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰氨基)-33-异丙基-26,31,34-三氧-36-(3-脲丙基)-2,5,8,11,14,17,20,23-八氧-27,32,35-三氮杂三十七烷-37-胺基)苯甲基 (4-硝基苯基) 碳酸酯(CB07) (220 mg，0.189 mmol)与 N,N-二甲基甲酰胺(5 mL)加入反应瓶 R1，氮气保护下搅拌降温至 0-5℃。同时取(1S,9S)-1-氨基-9-乙基-4,5-二氟-9-羟基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H 苯并[de]哌喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮盐酸盐（D-1）(90 mg，0.189 mmol)与 N,N-二甲基甲酰胺(5 mL)加入到另一个反应瓶 R2，0-5℃滴加三乙胺 3 滴，搅拌至全溶后。将反应瓶 R2 中溶液滴加到反应瓶 R1 中，再称取 1-羟基苯并三唑(60 mg，0.44 mmol)、吡啶(0.5 mL)加入到反应瓶 R1。0-5℃搅拌 10 min，升至室温搅拌 3 h 反应完全后，减压浓缩除去溶剂。用制备型高效液相色谱(prep-HPLC)纯化，冻干，得到白色粉末(55 mg，20%)。LC-MS: [1/2M+H]+=739。

实施例 15. 中间体（CB14-Exatecan）的合成

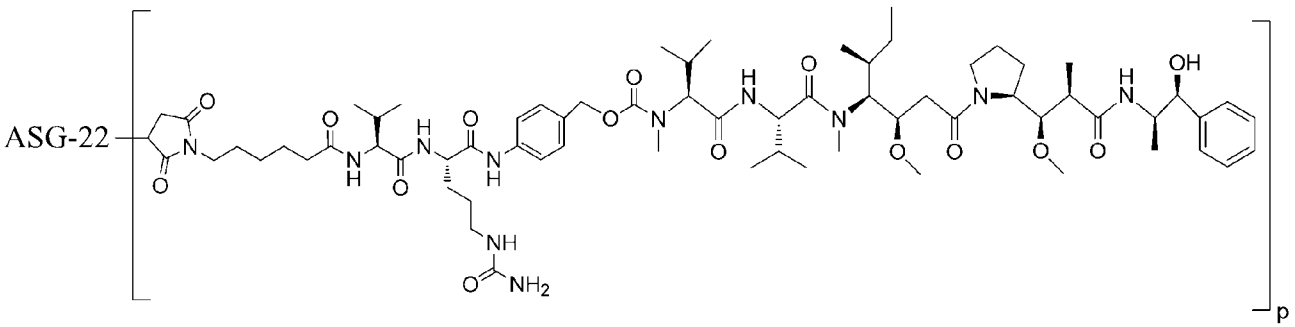
4-(18S,21S,24S)-18-(2-(2,5-二氧六环-2,5-二氢-1h-吡咯-1-基)乙酰氨基)-21-异丙基-14,19,22-三氧代-24-(3-脲基丙基)-2,5,8,11-四氧-15,20,23-三氮杂二十五烷-25-胺基)-(1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-10,13-二氧-2,3,9,10,13,15-六氢-1H,12H-苯并[de]吡喃[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-氨基甲酸酯的合成



类似地，将4-((18S,21S,24S)-18-(2-(2,5-二氧-2,5-二氢-1H-吡咯-1-基)乙酰氨基)-21-异丙基-14,19,22-三氧-24-(3-脲丙基)-2,5,8,11-四氧-15,20,23-三氮杂二十五烷-25-胺基)苯甲基(4-硝基苯基)碳酸酯(190 mg，0.19 mmol)与N,N-二甲基甲酰胺(23 mL)加入反应瓶R1，氮气保护下搅拌降温至0-5℃。同时取(1S,9S)-1-氨基-9-乙基-5-氟-9-羟基-4-甲基-1,2,3,9,12,15-六氢-10H,13H-苯并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-10,13-二酮甲磺酸盐(依喜替康甲磺酸盐；101 mg，0.19 mmol；Advanced ChemBlocks公司)与N,N-二甲基甲酰胺(5 mL)加入到另一个反应瓶R2，0-5℃滴加三乙胺(3滴)，搅拌至全溶后。将反应瓶R2中溶液滴加到反应瓶R1中，然后用N,N-二甲基甲酰胺(1 mL)洗涤反应瓶R2后，洗涤液加入到反应瓶R1中。再称取1-羟基苯并三唑(60 mg，0.44 mmol)、吡啶(0.5 mL)加入到反应瓶R1。0-5℃搅拌10 min，升至室温搅拌5.5 h反应完全后，35℃减压浓缩除去溶剂。用制备型高效液相色谱(prep-HPLC)纯化，冻干，得到白色粉末。

实施例16. ASG-22-MMAE的制备

ASG-22-MMAE的结构式如下



将抗体ASG-22用10mM琥珀酸调整到浓度为10mg/ml，加入2.5摩尔当量TCEP(三(2-羧乙基)膦，tris(2-carboxyethyl)phosphine)，然后用1M Tris碱（Tris base）将体系pH调至8。25℃孵育1.5小时还原。用10mM琥珀酸超滤换液去除TCEP。巯基抗体值通过测定吸光度确定，通过硫基与DTNB（5,5'-二硫代双（2-硝基苯甲酸），Aldrich公司）的反应物，然后测定412nm处的吸收值来确定硫基的浓度。

偶联反应时，加入6摩尔当量的MC-VC-PAB-MMAE，25℃搅拌1小时后，加入0.1M乙酰半胱氨酸至终浓度为2mM，继续搅拌15分钟终止反应。反应混合物用0.22微米的滤器过滤后，用10mM琥珀酸经Sephadex G-25树脂洗脱交换。

DAR值采用反向色谱进行检测，ASG-22-MMAE的DAR值为3.14。

DAR值的测定：

实验方法

样品处理：将待测样品用水稀释至约 1mg/mL，加入 0.5M DTT（二硫苏糖醇），在 37℃水浴还原 30min，13000g 离心 5min 后，取上清液进行液相色谱分析。

仪器条件：采用 0.1%DFA（二氟乙酸） ACN（乙腈）和 0.05%DFA H_2O 为流动相，流速 0.5mL/min，使用 Waters BioResolve 色谱柱（2.1*100 mm, 2.7μm）进行液相色谱分离，检测波长 214nm。

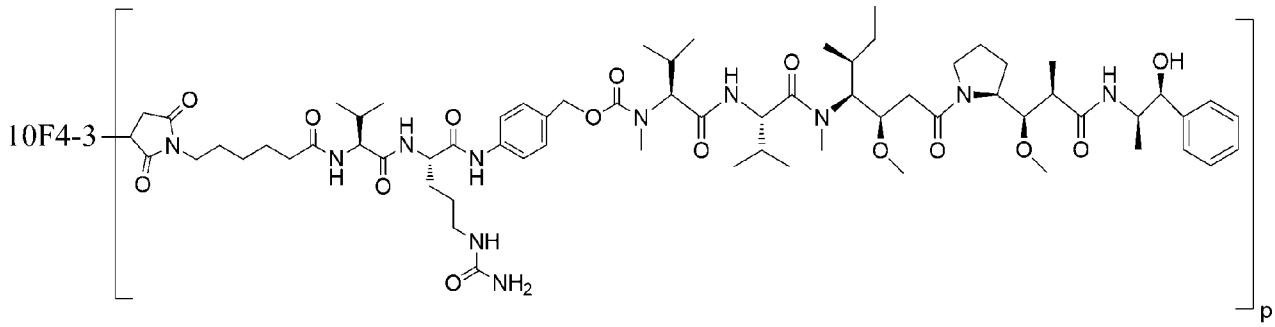
结果计算：样品经还原后，经反相色谱分离可以得到轻重链偶联不同个数药物的色谱峰，采用面积归一化法计算各峰的百分含量，通过这些峰的百分含量计算药物抗体偶联比（DAR）。

$$DAR = 2 \times \left(\frac{L1}{L0 + L1} + \frac{H1 + 2 \times H2 + 3 \times H3}{H0 + H1 + H2 + H3}\right)$$

其中 L0 为轻链不偶联小分子药物的百分含量，L1 为轻链偶联 1 个小分子药物的百分含量，H0 为重链不偶联小分子药物的百分含量，H1 为重链偶联 1 个小分子药物的百分含量，H2 为重链偶联 2 个小分子药物的百分含量，H3 为重链偶联 3 个小分子药物的百分含量。

实施例 17. 10F4-3-MMAE 的制备

10F4-3-MMAE 的结构式如下



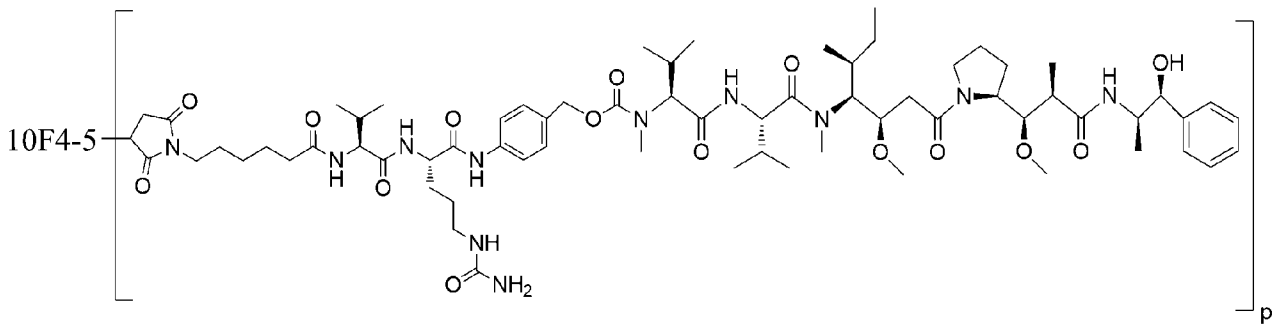
将抗体 10F4-3 用 10mM 琥珀酸调整到浓度为 10mg/ml，加入 2.5 摩尔当量 TCEP，然后用 1M Tris base 将体系 pH 调至 8。25℃孵育 1.5 小时还原。用 10mM 琥珀酸超滤换液去除 TCEP。巯基抗体值通过测定吸光度确定，通过硫基与 DTNB（5,5'-二硫代双（2-硝基苯甲酸），Aldrich 公司）的反应物，然后测定 412nm 处的吸收值来确定硫基的浓度。

偶联反应时，加入 6 摩尔当量的 MC-VC-PAB-MMAE，25℃搅拌 1 小时后，加入 0.1M 乙酰半胱氨酸至终浓度为 2mM，继续搅拌 15 分钟终止反应。反应混合物用 0.22 微米的滤器过滤后，用 10mM 琥珀酸经 Sephadex G-25 树脂洗脱交换。

通过反相色谱测得 10F4-3-MMAE 的 DAR 值为 3.22。

实施例 18. 10F4-5-MMAE 的制备

10F4-5-MMAE 的结构式如下



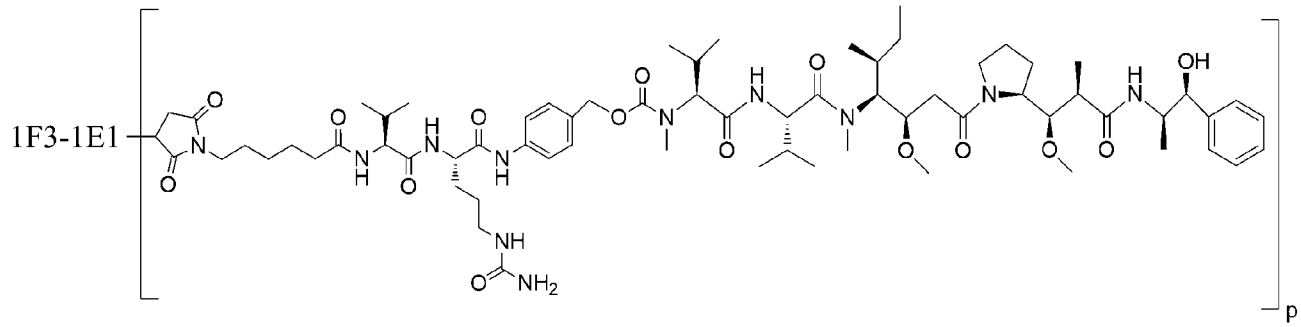
将抗体 10F4-5 用 10mM 琥珀酸调整到浓度为 10mg/ml，加入 2.5 摩尔当量 TCEP，然后用 1M Tris base 将体系 pH 调至 8。25℃孵育 1.5 小时还原。用 10mM 琥珀酸超滤换液去除 TCEP。巯基抗体值通过测定吸光度确定，通过硫基与 DTNB（5,5'-二硫代双（2-硝基苯甲酸），Aldrich 公司）的反应物，然后测定 412nm 处的吸收值来确定硫基的浓度。

偶联反应时，加入 6 摩尔当量的 MC-VC-PAB-MMAE，25℃搅拌 1 小时后，加入 0.1M 乙酰半胱氨酸至终浓度为 2mM，继续搅拌 15 分钟终止反应。反应混合物用 0.22 微米的滤器过滤后，用 10mM 琥珀酸经 Sephadex G-25 树脂洗脱交换。

通过反相色谱测得 10F4-5-MMAE 的 DAR 值为 2.97。

实施例 19. 1F3-1E1-MMAE 的制备

1F3-1E1-MMAE 的结构式如下



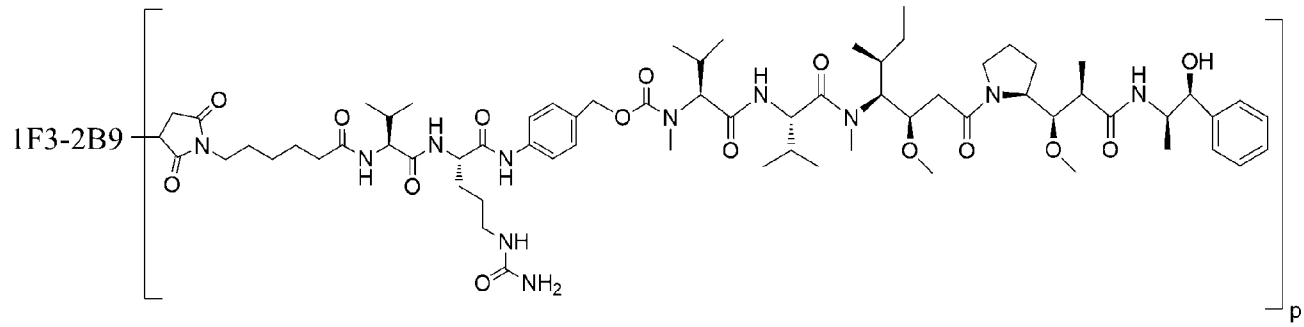
将抗体 1F3-1E1 用 10mM 琥珀酸调整到浓度为 10mg/ml，加入 2.5 摩尔当量 TCEP，然后用 1M Tris base 将体系 pH 调至 8。25℃孵育 1.5 小时还原。用 10mM 琥珀酸超滤换液去除 TCEP。巯基抗体值通过测定吸光度确定，通过硫基与 DTNB（5,5'-二硫代双（2-硝基苯甲酸），Aldrich 公司）的反应物，然后测定 412nm 处的吸收值来确定硫基的浓度。

偶联反应时，加入 6 摩尔当量的 MC-VC-PAB-MMAE，25℃搅拌 1 小时后，加入 0.1M 乙酰半胱氨酸至终浓度为 2mM，继续搅拌 15 分钟终止反应。反应混合物用 0.22 微米的滤器过滤后，用 10mM 琥珀酸经 Sephadex G-25 树脂洗脱交换。

通过反相色谱测得 1F3-1E1-MMAE 的 DAR 值为 3.83。

实施例 20. 1F3-2B9-MMAE 的制备

1FE-2B9-MMAE 的结构式如下



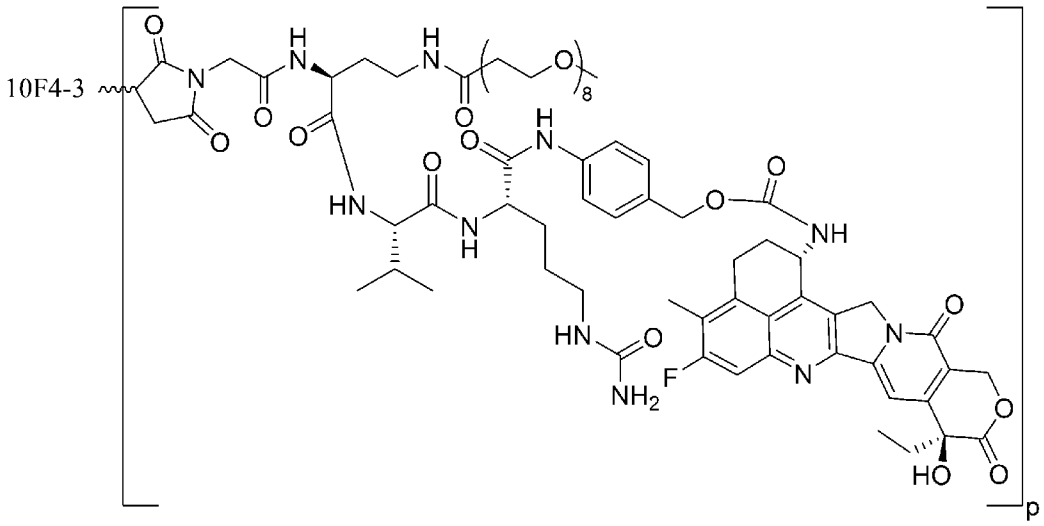
将抗体 1F3-2B9 用 10mM 琥珀酸调整到浓度为 10mg/ml，加入 2.5 摩尔当量 TCEP，然后用 1M Tris base 将体系 pH 调至 8。25℃孵育 1.5 小时还原。用 10mM 琥珀酸超滤换液去除 TCEP。巯基抗体值通过测定吸光度确定，通过硫基与 DTNB（5,5'-二硫代双（2-硝基苯甲酸），Aldrich 公司）的反应物，然后测定 412nm 处的吸收值来确定硫基的浓度。

偶联反应时，加入 6 摩尔当量的 MC-VC-PAB-MMAE，25℃搅拌 1 小时后，加入 0.1M 乙酰半胱氨酸至终浓度为 2mM，继续搅拌 15 分钟终止反应。反应混合物用 0.22 微米的滤器过滤后，用 10mM 琥珀酸经 Sephadex G-25 树脂洗脱交换。

通过反相色谱测得 1F3-2B9-MMAE 的 DAR 值为 3.52。

实施例 21. 10F4-3-ExaD8 的制备

10F4-3-ExaD8 的结构式如下



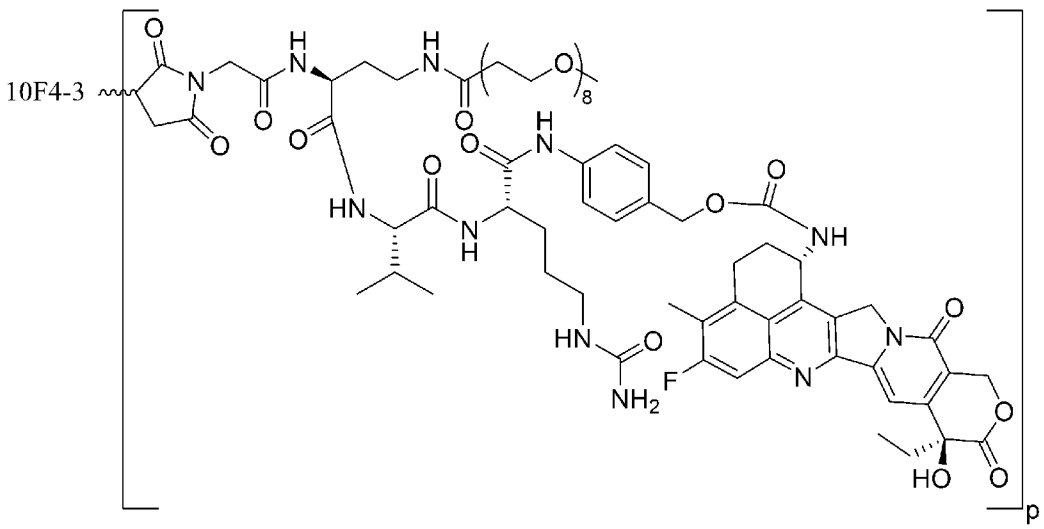
将抗体 10F4-3 用 10mM 琥珀酸调整到浓度为 18mg/ml，加入 4.5 摩尔当量 TCEP (tris(2-carboxyethyl)phosphine)，然后用 1M Tris base 将体系 pH 调至 8。25°C孵育 1.5 小时还原。用 10mM 琥珀酸超滤换液去除 TCEP。巯基抗体值通过测定吸光度确定，通过硫基与 DTNB（5,5'-二硫代双（2-硝基苯甲酸），Aldrich 公司）的反应物，然后测定 412nm 处的吸收值来确定硫基的浓度。

偶联反应时，加入 12 摩尔当量的 CB07-Exatecan，25°C搅拌 1 小时后，加入 0.1M 乙酰半胱氨酸至终浓度为 2mM，继续搅拌 15 分钟终止反应。反应混合物用 0.22 微米的滤器过滤后，用 10mM 琥珀酸经 Sephadex G-25 树脂洗脱交换。

通过反相色谱测得 10F4-3-ExaD8 的 DAR 为 7.87。

实施例 22. 10F4-3-ExaD4 的制备

10F4-3-ExaD4 的结构式如下



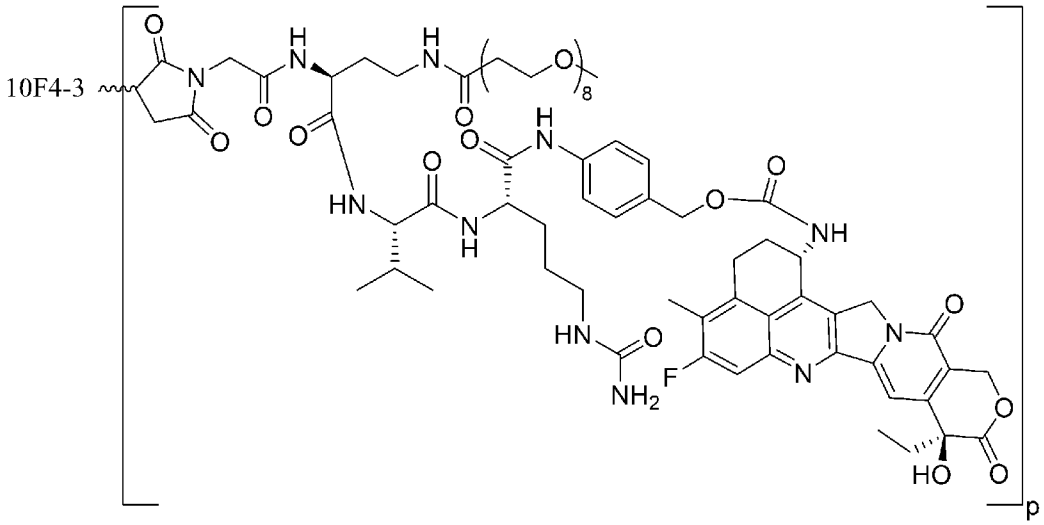
将抗体 10F4-3 用 10mM 琥珀酸调整到浓度为 18mg/ml，加入 2.5 摩尔当量 TCEP (tris(2-carboxyethyl)phosphine)，然后用 1M Tris base 将体系 pH 调至 8。25℃孵育 1.5 小时还原。用 10mM 琥珀酸超滤换液去除 TCEP。巯基抗体值通过测定吸光度确定，通过硫基与 DTNB（5,5'-二硫代双（2-硝基苯甲酸），Aldrich 公司）的反应物，然后测定 412nm 处的吸收值来确定硫基的浓度。

偶联反应时，加入 6 摩尔当量的 CB07-Exatecan，25℃搅拌 1 小时后，加入 0.1M 乙酰半胱氨酸至终浓度为 2mM，继续搅拌 15 分钟终止反应。反应混合物用 0.22 微米的滤器过滤后，用 10mM 琥珀酸经 Sephadex G-25 树脂洗脱交换。

通过反相色谱测得的 DAR 为 7.63。

实施例 23. 10F4-3-ExaD6 的制备

10F4-3-ExaD6 的结构式如下



将抗体 10F4-3 用 10mM 琥珀酸调整到浓度为 18mg/ml，加入 3.2 摩尔当量 TCEP (tris(2-carboxyethyl)phosphine)，然后用 1M Tris base 将体系 pH 调至 8。25℃孵育 1.5 小时还原。用 10mM 琥珀酸超滤换液去除 TCEP。巯基抗体值通过测定吸光度确定，通过硫基与 DTNB（5,5'-二硫代双（2-硝基苯甲酸），Aldrich 公司）的反应物，然后测定 412nm 处的吸收值来确定硫基的浓度。

偶联反应时，加入 7 摩尔当量的 CB07-Exatecan，25℃搅拌 1 小时后，加入 0.1M 乙酰半胱氨酸至终浓度为 2mM，继续搅拌 15 分钟终止反应。反应混合物用 0.22 微米的滤器过滤后，用 10mM 琥珀酸经 Sephadex G-25 树脂洗脱交换。

通过反相色谱测得 10F4-3-ExaD6 的 DAR 为 6.1。

实施例 24. ADC 体外药效

1）本试验使用 OVCAR-3 和 MDA-MB-468 细胞进行，分别消化细胞并铺于 96 孔板中，OVCAR-3 和 MDA-MB-468 细胞都按照每孔 6000 个细胞的密度进行铺板，培养箱培养 4h 加入待测试药物，待测药物按照 12.5μg/mL 起始，4 倍梯度稀释，共 9 个梯度。培养箱培养 3 天后，用细胞计数试剂盒-8（CCK-8，日本同仁化学）试剂进行相对细胞增殖分析。试验结果（参见图 5A-C）可知，ASG-22-MMAE, 10F4-3-MMAE, 10F4-5-MMAE, 1F3-1E1-MMAE 和 1F3-2B9-MMAE 在体外有相近的体外药效。

2）本试验比较 10F4-3-ExaD8，10F4-3-ExaD8 在多种细胞上的体外药效，试验步骤参

考步骤 1），药物加入后孵育时间调整为 7 天，ADC 对不同细胞的 EC_{50} 结果如表 19。

表 19. ADC 对不同细胞的 EC_{50}（nM）

细胞名称	10F4-3-ExaD4	10F4-3-ExaD8
MDA-MB-468	45.16	26.67
OVCAR3	28.25	8.14
Jeg3	57.01	21.56

实施例 25. 大鼠体内药代动力学检测

取 3 只 6-8 周健康成年的 Sprague Dawley 大鼠，尾静脉推注 10F4-3-ExaD6 和 10F4-3-ExaD8 每只 200μg，分别在给药结束后 3h、24h、48h、72h、120h、168h、240h 和 336h 采集血液，于 30-120 分钟之内离心分离血清。通过常规的 ELISA 方法检测血样中总抗体（Tab）和 ADC 的浓度。

总抗体的检测方法简述如下，4℃包被 hNectin-4-His 胞外抗原过夜，浓度 1μg/mL，37 摄氏度 5%的脱脂奶粉封闭 2h，加入标曲和质控点孵育 2h，随后加入 1:8000 稀释加入山羊抗人κ轻链过氧化物酶抗体（厂家：sigma，货号：A7164-1ML）二抗，孵育 1h，PBST 洗 8 遍后，加入 TMB（湖州英创，TMB-S-001）显色，0.1M 硫酸终止，OD450 酶标仪读板，使用酶标检测仪分析软件 SoftMax Pro，计算不同时间点血样浓度。

ADC 的检测方法简述如下，4℃包被 hNectin-4-His 胞外抗原过夜，浓度 1μg/mL，37 摄氏度 5%的脱脂奶粉封闭 2h，加入标曲和质控点孵育 2h，随后 1:5000 稀释加入抗小分子抗体二抗（Dxd 鼠单抗 9A8，9A8-20201221），孵育 1h 后 1:5000 稀释加入 HRP 标记的驴抗鼠 IgG 二抗（生工，D110085），孵育 1h，PBST 洗 8 遍，加入 100μL 的单组分 TMB 显色液（湖州英创，TMB-S-001）显色，0.1M 硫酸终止，OD450 酶标仪读板，使用酶标检测仪分析软件 SoftMax Pro，计算不同时间点血样浓度，使用 ELISA 绘制出血液中药物浓度变化曲线，见图 6，10F4-3-ExaD6 和 10F4-3-ExaD8 的 ADC 浓度与总抗体浓度基本重合，在血液中很稳定。

实施例 26. 旁观者效应

本试验通过转移培养上清检测 10F4-3-ExaD6 的旁观者效应，步骤简述如下，CHO-K1 是 Nectin-4 阴性细胞，CHO-Nectin-4(CHO-N4)是过表达人全长 Nectin-4 的细胞株，将待测物 10F4-3-ExaD6 梯度稀释后分别加入 CHO-K1 和 CHO-Nectin-4 培养皿中，培养 2-4 天后，分别将 CHO-K1 和 CHO-N4 的培养上清转入提前铺板的 CHO-K1 细胞中，继续培养 3 天后，用细胞计数试剂盒-8（CCK-8，日本同仁化学）试剂进行相对细胞增殖分析。10F4-3-ExaD6 对 CHO-N4 和 CHO-K1 的增殖抑制效果在体外培养 5 天后检测。10F4-3-ExaD6 对 CHO-N4 有明显杀伤作用，对 CHO-K1 无杀伤作用，CHO-N4 培养上清转移后对 CHO-K1 有较为显著的杀伤作用，但 CHO-K1 培养上清转移后对 CHO-K1 无杀伤作用，说明 10F4-3-ExaD6 是在杀伤靶细胞后释放了小分子 Exatecan，对 Nectin-4 阴性细胞进行杀伤（见图 7A 和图 7B）。

CHO-Nectin-4 细胞株构建：

合成人 Nectin-4 全长序列，并构建表达载体，通过电转将质粒转染入 CHO-K1 细胞，经过加压筛选后并经过亚克隆，筛选到稳定表达 Nectin-4 全长的 CHO-K1 细胞，命名为

CHO-Nectin-4。

实施例 27. 测试药物在 MDA-MB-468 移植瘤模型中的药效

本研究用人乳腺癌 MDA-MB-468 裸鼠皮下移植瘤模型对测试药物的体内抗肿瘤活性进行评价。

研究中，雌性裸鼠皮下接种 MDA-MB-468 肿瘤细胞，建立 MDA-MB-468 裸鼠移植瘤模型。接种 18 天后，平均肿瘤体积约为 140 mm^3 左右，根据肿瘤体积大小采用随机区组法将动物分组，每组 6 只，分组当天记为 Day 0。实验中，ASG-22-MMAE、10F4-3-MMAE 和 10F4-5-MMAE 均分别设 1mg/kg 和 5mg/kg 剂量组，于 Day 0 分组当天各组小鼠通过尾静脉注射（IV）单独给药，共给药 1 次。同时设溶媒对照组（生理盐水），分组当天尾静脉（IV）单次给药，共给药 1 次。

人乳腺癌 MDA-MB-468 裸鼠皮下移植瘤模型各治疗组和对照组肿瘤生长情况见表 20 和图 8。

给药 21 天后，溶媒对照组平均肿瘤体积为 382.85 ± 23.2 mm^3，Day 21 试验结束。与溶媒对照组相比，Day21 时，不同剂量 ASG-22-MMAE（1mg/kg 和 5mg/kg）组，相对肿瘤增殖率（T/C）分别为 49.82%（TGI = 49.14%，P < 0.001）和 17.56%（TGI = 81.91%，P < 0.001）。

不同剂量 10F4-3-MMAE（1mg/kg 和 5mg/kg）组，相对肿瘤增殖率（T/C）分别为 59.50%（TGI = 38.68%，P < 0.001）和 24.37%（TGI = 75.07%，P < 0.001）。

不同剂量 10F4-5-MMAE（1mg/kg 和 5mg/kg）组，相对肿瘤增殖率（T/C）分别为 57.35%（TGI = 41.14%，P < 0.01）和 32.97%（TGI = 66.17%，P < 0.001）。

在本次试验中，Day 21 时，溶媒对照组动物平均体重上涨，上涨了 3.11%。ASG-22-MMAE 的低、高剂量组、10F4-3-MMAE 的低、高剂量组、10F4-5-MMAE 低、高剂量，动物平均体重均有上涨，分别上涨了 1.03%、2.42%、3.04%、1.16%、3.28%和 3.04%。试验中药物相关死亡动物数均为 0，未发现药物相关的其他毒副作用。

表 20. 各测试药物对人乳腺癌 MDA-MB-468 裸鼠异种移植瘤模型动物肿瘤体积的影响

组别	动物数	测试药物	剂量 mg/kg	肿瘤体积 (mm³, Mean ± SEM) Day 0	肿瘤体积 (mm³, Mean ± SEM) Day 21	肿瘤体积抑瘤率%TGI Day 21	相对肿瘤增殖率%T/C Day 21
1	6	生理盐水	NA	140.29 ± 9.02	382.85 ± 23.21	N/A	N/A
2	6	ASG-22-MMAE	1	140.84 ± 9.30	194.71 ± 24.5 ***	49.14	49.82
3	6	ASG-22-MMAE	5	140.47 ± 8.46	69.26 ± 28.28 ***	81.91	17.56
6	6	10F4-3-MMAE	1	142.00 ± 5.76	234.63 ± 7.07 ***	38.68	59.50
7	6	10F4-3-MMAE	5	141.33 ± 6.05	95.43 ± 17.69 ***	75.07	24.37
8	6	10F4-5-MMAE	1	140.02 ± 5.97	225.34 ± 24.10 ***	41.14	57.35
9	6	10F4-5-MMAE	5	139.00 ± 5.66	129.5 ± 15.87 ***	66.17	32.97

注：1. Day 0 表示分组给药当天；2. *：与溶媒对照组相比，$P < 0.05$；**：与溶媒对照组相比，$P < 0.01$；***：与溶媒对照组相比，$P < 0.001$。

实施例 28. JEG-3 细胞株皮下异种移植瘤的药效学评价

研究目的：

临床前评价测试药物 10F4-3-ExaD8 在人绒毛膜癌 JEG-3 细胞株皮下异种移植雌性 NOD/SCID 小鼠动物模型中的药效学研究。

实验设计

本实验分组，每组 6 只，给药开始于分组当天。实验设计详见表 21。

表 21. 人绒毛膜癌 JEG-3 皮下异种移植模型中的给药途径、剂量及方案

组别	动物数	给药组	剂量(mg/kg)	给药方式	给药体积（μL/g）	给药周期
1	6	溶媒对照	--	*i.v.*	10	单次给药
6	6	10F4-3-ExaD8	5	*i.v.*	10	单次给药

试验方法

JEG-3 细胞培养在含 10%胎牛血清的 MEM 添加 0.01 mM NEAA 培养液中。收集指数生长期的 JEG-3 细胞，PBS 重悬至适合浓度用于小鼠皮下肿瘤接种。

实验小鼠于右侧背部皮下接种 1×10^7 JEG-3 细胞，细胞重悬在 1：1 的 PBS 与基质胶中（0.2 mL/只）定期观察肿瘤生长情况待肿瘤生长至平均体积 129.56 mm^3 时根据肿瘤大小和小鼠体重随机分组给药。分组当天设定为 Day 0，给药开始于 Day 0。

试验结果

JEG-3 细胞株皮下异种移植移植模型中治疗组和对照组给药后各组小鼠无明显异常或体重降低。

JEG-3 异种移植模型各治疗组和对照组肿瘤生长情况见表 22 和图 9。治疗组单次给药后能显著抑制肿瘤生长。

表 22. JEG-3 异种移植模型中各组药效分析表

实验组	平均肿瘤体积 (Day 0)[a]	平均肿瘤体积 (Day 13)[a]	TGI (%)[b]	*P* Value （相较于对照组）[c]
第 1 组 Vehicle, 0 mg/kg, 单次给药, *i.v.*	129.61±7.16	2072.05±230.27	-	-
第 6 组 10F4-3-ExaD8, 5 mg/kg,	129.58±7.40	95.19±7.17	101.77%	6.88e-10***

注：a. 数据以“平均值 ± 标准误差”表示；

b. TGI%=[1-(Ti-T0)/(Ci-C0)]x100 其中 T0 及 C0 分别是给药组及溶媒对照组分组当天 (Day 0) 的平均肿瘤体积，Ti 及 Ci 分别是给药组及溶媒对照组 Day 13 时的平均肿瘤体积；

c. *P<0.05，**P<0.01 及***P<0.001 与溶媒对照组肿瘤体积相比。

实施例 29. 测试药物在 BL0597 膀胱癌皮下异种移植模型中的药效评价

实验目的：

评价测试药物 10F4-3-ExaD4 和 10F4-5-ExaD8 在 HuPrime®膀胱癌 BL0597 异种移植 BALB/c 裸鼠动物模型中的抗肿瘤作用。

实验设计：

本实验分为以下 5 组，每组 8 只，给药开始于分组当天。实验设计详见表 23。

表 23. HuPrime®膀胱癌 BL0597 皮下异种移植模型中的给药途径、剂量及方案

组别	动物数	给药组	剂量(mg/kg)	给药方式	给药体积（μL/g）	给药周期
1	8	溶媒对照	--	*i.v.*	10	单次给药
2	8	10F4-3-ExaD4	5	*i.v.*	10	单次给药
3	8	10F4-3-ExaD4	8	*i.v.*	10	单次给药
4	8	10F4-3-ExaD8	3	*i.v.*	10	单次给药
5	8	10F4-3-ExaD8	5	*i.v.*	10	单次给药

注：分组当天定义为第 0 天，给药从第 0 天开始。

实验方法

从 HuPrime®膀胱癌异种移植模型 BL0597 荷瘤小鼠收取肿瘤组织，切成直径为 2-3mm 的瘤块接种于 BALB/c 裸鼠右前肩胛处皮下。

当荷瘤鼠平均肿瘤体积到达约 143.67mm^3 时，将小鼠按照表 23 随机分组。分组当天设定为第 0 天，给药开始于第 0 天。

实验结果

BL0597 皮下异种移植移植模型中治疗组和对照组给药后小鼠体重均无明显变化。

10F4-3-ExaD4 和 10F4-3-ExaD8 单次给药后对 BL0597 异种移植模型均有明显的抑瘤效果，各治疗组之间没有见到明显区别，治疗组和对照组肿瘤生长情况图 10 和表 24。

表 24. BL0597 异种移植模型中各组药效分析表

实验组	平均肿瘤体积 (Day 0)[a]	平均肿瘤体积 (Day 28)[a]	TGI (%)[b]	*p* 值（相较于对照组）[c]
第 1 组 Vehicle, 0 mg/kg	143.66±10.26	691.91±67.43	-	-
第 2 组 10F4-3-ExaD4, 5 mg/kg	143.60±9.95	252.64±48.29	80.11	3.04e-03**
第 3 组 10F4-3-ExaD4, 8 mg/kg	143.62±9.72	257.08±33.98	79.31	1.24e-02*
第 4 组 10F4-3-ExaD8, 3 mg/kg	143.66±10.27	296.11±92.30	72.19	3.73e-03**
第 5 组 10F4-3-ExaD8, 5 mg/kg	143.71±10.31	233.79±29.35	83.57	5.61e-03**

注：a. 数据以“平均值 ± 标准误差”表示；

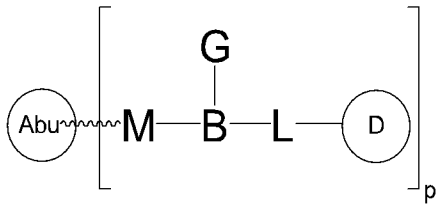
b. TGI%=[1-(Ti-T0)/(Ci-C0)]x100 其中 T0 及 C0 分别是给药组及溶媒对照组分组当天 (Day 0) 的平均肿瘤体积，Ti 及 Ci 分别是给药组及溶媒对照组 Day 28 时的平均肿瘤体积；

c. * p<0.05，** p<0.01 及*** p<0.001 与溶媒对照组肿瘤体积相比。

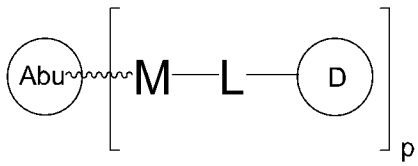
权 利 要 求 书

1. 一种抗体药物偶联物或者其药学上可接受的盐或溶剂合物，其包含通过接头与药物偶联的抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元或特异性结合 Nectin-4 的多肽；或者，所述接头为可裂解的接头。

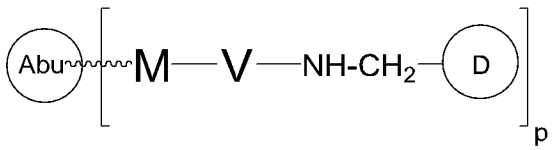
2. 具有式 I-A、式 I-B、式 I-C 结构或者其立体异构体的抗体药物偶联物或者其药学上可接受的盐或溶剂合物：



式 I-A



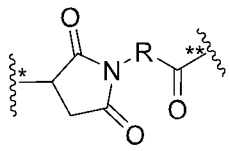
式 I-B

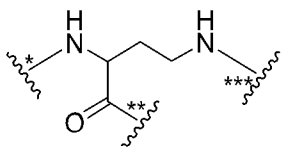


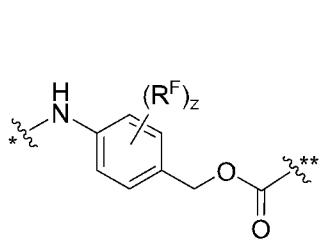
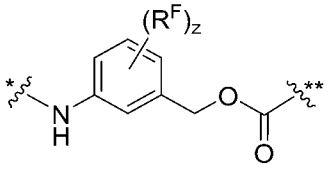
式 I-C

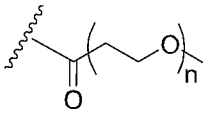
Abu 为抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元或特异性结合 Nectin-4 的多肽；

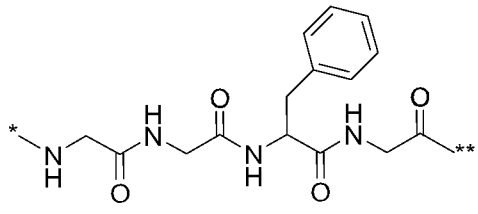
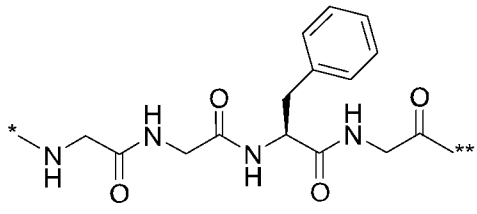
D 为药物；

M 为 ，R 选自：$-(CH_2)_r-$、$-(CHR^m)_r-$、C3-C8 碳环基、$-O-(CH_2)_r-$、亚芳基、$-(CH_2)_r-$亚芳基-、-亚芳基-$(CH_2)_r-$、$-(CH_2)_r-$(C3-C8 碳环基)-、-(C3-C8 碳环基)-$(CH_2)_r-$、C3-C8 杂环基、$-(CH_2)_r-$(C3-C8 杂环基)-、-(C3-C8 杂环基)-$(CH_2)_r-$、$-(CH_2)_rC(O)NR^m(CH_2)_r-$、$-(CH_2CH_2O)_r-$、$-(CH_2CH_2O)_r-CH_2-$、$-(CH_2)_rC(O)NR^m(CH_2CH_2O)_r-$、$-(CH_2)_rC(O)NR^m(CH_2CH_2O)_r-CH_2-$、$-(CH_2CH_2O)_rC(O)NR^m(CH_2CH_2O)_r-$、$-(CH_2CH_2O)_rC(O)NR^m(CH_2CH_2O)_r-CH_2-$和$-(CH_2CH_2O)_rC(O)NR^m(CH_2)_r-$；其中各 R^m 独立为 H、C1-C6 烷基、C3-C8 碳环基、苯基或苄基；并且各 r 独立为 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10；在式 I-A 中*连接 Abu，**连接 B；在式 I-B 中*连接 Abu，**连接 L；在式 I-C 中*连接 Abu，**连接 V；

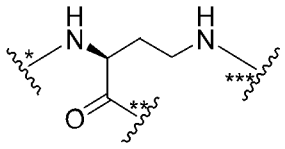
B 为 ；其中*连接 M，**连接 L，***连接 G；

L 为-$(AA)_i$-$(FF)_f$-，其中，AA 为氨基酸或多肽，i 是 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 或 20；各 FF 独立为 、或 ，其中各 R^F 独立为 C1-C6 烷基、C1-C6 烷氧基、-NO_2 或卤素，其中*连接 AA，**连接 D，z 为 0、1、2、3 或 4；f 为 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10；

G 为 ，其中 n 为 1-24；

V 为 ，或 V 为 ，其中*连接 M，**连接-NH-CH_2-；

p 为 1-10。

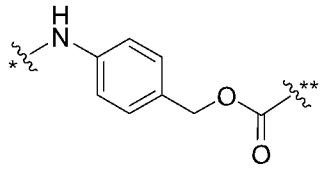
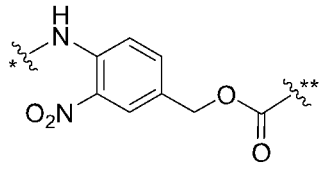
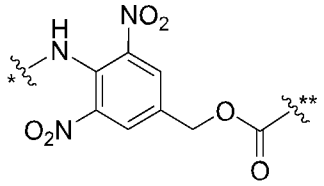
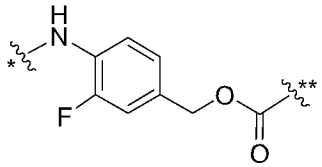
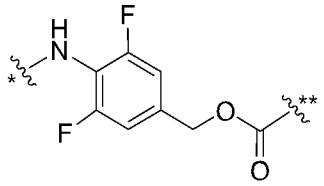
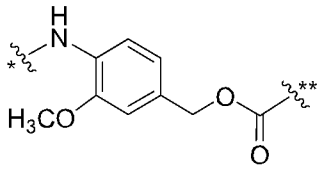
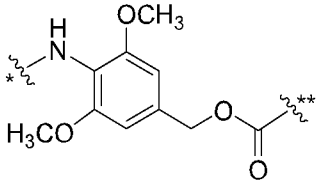
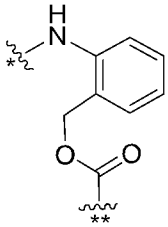
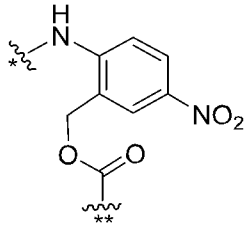
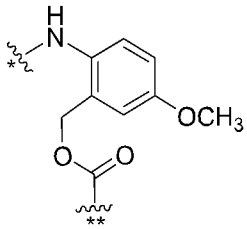
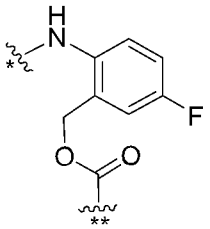
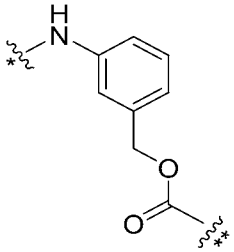
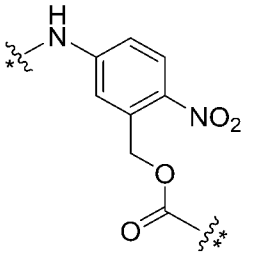
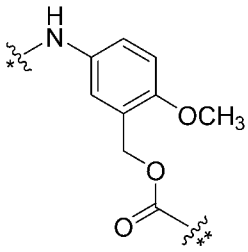
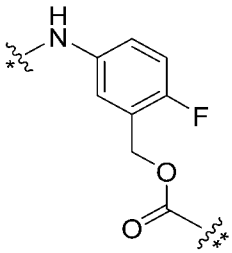
3. 如权利要求 2 所述的抗体药物偶联物或者其药学上可接受的盐或溶剂合物，其特征在于，B 为 ；其中*连接 M，**连接 L，***连接 G。

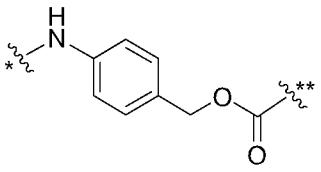
4. 如权利要求 2 或 3 所述的抗体药物偶联物或者其药学上可接受的盐或溶剂合物，其特征在于，各 AA 独立选自以下氨基酸或肽序列：Val-Cit、Val-Lys、Phe-Lys、Lys-Lys、Ala-Lys、Phe-Cit、Leu-Cit、Ile-Cit、Trp、Cit、Phe-Ala、Phe-Phe-Lys、D-Phe-Phe-Lys、Gly-Phe-Lys、Leu-Ala-Leu 、 Ile-Ala-Leu 、 Val-Ala-Val 、 Ala-Leu-Ala-Leu 、 β -Ala-Leu-Ala-Leu 和 Gly-Phe-Leu-Gly。

5. 如权利要求 4 所述的抗体药物偶联物或者其药学上可接受的盐或溶剂合物，其特征在于，AA 为 Val-Cit。

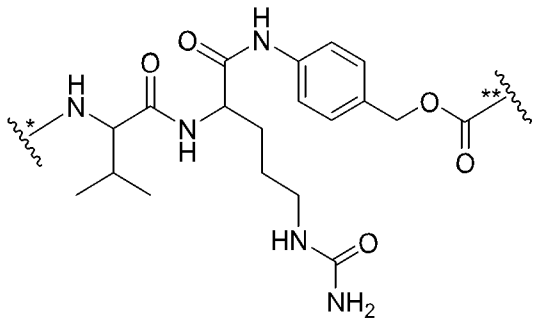
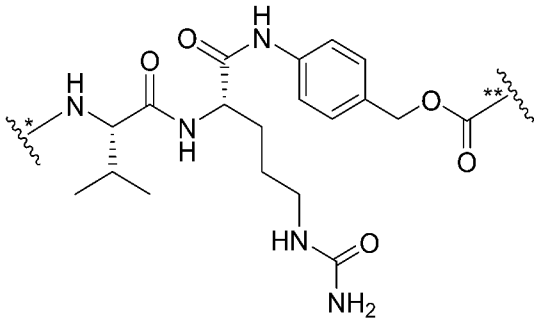
6. 如权利要求 2-5 任一项所述的抗体药物偶联物或者其药学上可接受的盐或溶剂合物，其特征在于，i 为 1。

7. 如权利要求 2-6 任一项所述的抗体药物偶联物或者其药学上可接受的盐或溶剂合物，

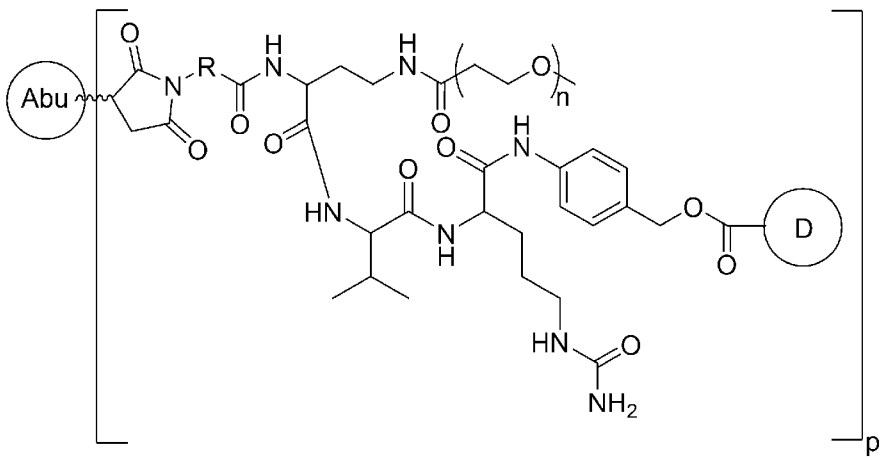
其特征在于，各 FF 独立为  、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、 、或   ，其中*连接 AA，**连接 D。

8. 如权利要求 7 所述的抗体药物偶联物或者其药学上可接受的盐或溶剂合物，其特征在于，FF 为  ，其中*连接 AA，**连接 D。

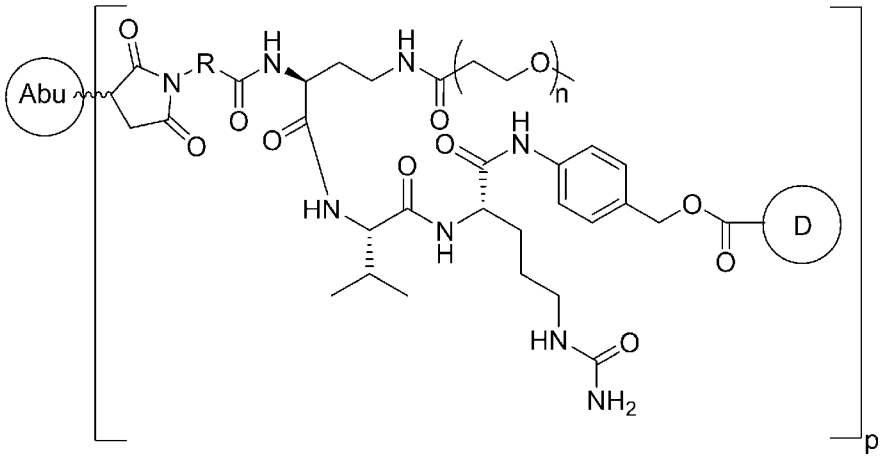
9. 如权利要求 2-8 任一项所述的抗体药物偶联物或者其药学上可接受的盐或溶剂合物，其特征在于，f 为 1。

10. 如权利要求 2-9 任一项所述的抗体药物偶联物或者其药学上可接受的盐或溶剂合物，其特征在于，L 为 ，或 ，在式 I-A 中*连接 B，**连接 D，在式 I-B 中*连接 M，**连接 D。

11. 具有式I-A-1或 I-A-2结构或者其立体异构体的抗体药物偶联物或者其药学上可接受的盐或溶剂合物，其中所述式 I-A-1、I-A-2 为：



式 I-A-1



式 I-A-2

其中

Abu 为抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元或特异性结合 Nectin-4 的多肽；

R 选自：$-(CH_2)_r-$、$-(CHR^m)_r-$、C3-C8 碳环基、$-O-(CH_2)_r-$、亚芳基、$-(CH_2)_r-$亚芳基-、-亚芳基$-(CH_2)r-$、$-(CH_2)_r-$(C3-C8 碳环基)-、-(C3-C8 碳环基)$-(CH_2)_r-$、C3-C8 杂环基、$-(CH_2)_r-$(C3-C8 杂环基)-、-(C3-C8 杂环基)$-(CH_2)_r-$、$-(CH_2)_rC(O)NR^m(CH_2)_r-$、$-(CH_2CH_2O)_r-$、$-(CH_2CH_2O)_r-CH_2-$、$-(CH_2)_rC(O)NR^m(CH_2CH_2O)_r-$、$-(CH_2)_rC(O)NR^m(CH_2CH_2O)_r-CH_2-$、$-(CH_2CH_2O)_rC(O)NR^m(CH_2CH_2O)_r-$、$-(CH_2CH_2O)_rC(O)NR^m(CH_2CH_2O)_r-CH_2-$ 和 $-(CH_2CH_2O)_rC(O)NR^m(CH_2)_r-$；其中各 R^m 独立为 H、C1-C6 烷基、C3-C8 碳环基、苯基或苄基；并且各 r 独立为 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10；

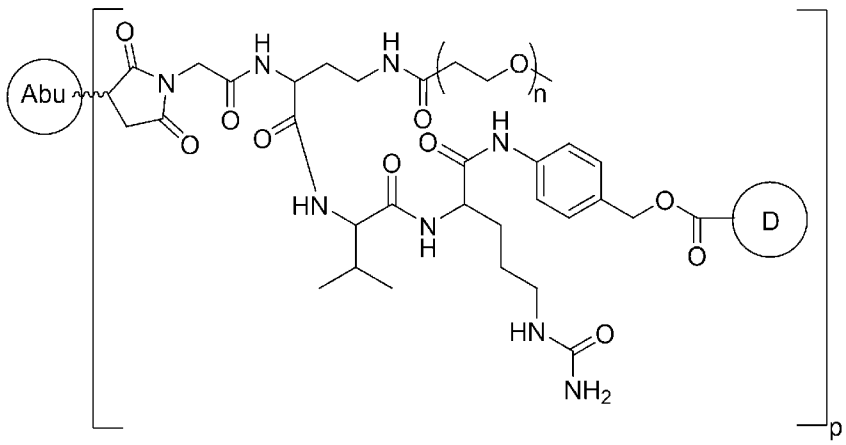
D 为药物；

n 为 1-24 的整数；

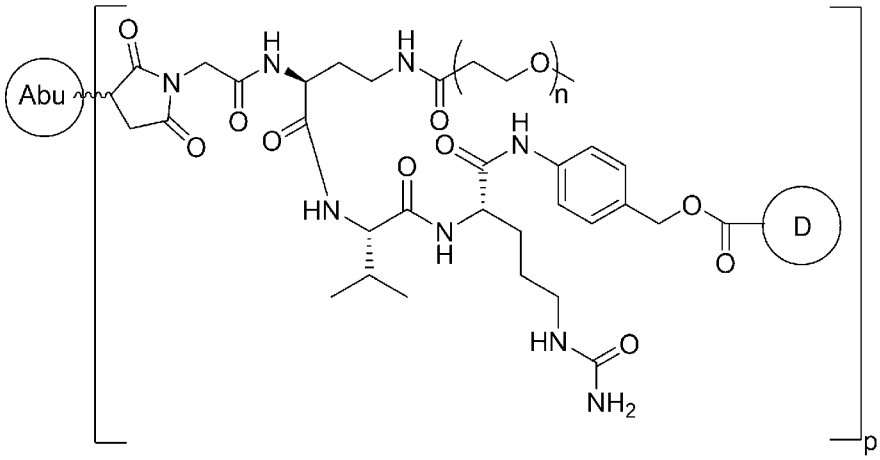
p 为 1-10。

12. 如权利要求 2-11 任一项所述的抗体药物偶联物或者其药学上可接受的盐或溶剂合物，其特征在于，R 为$-(CH_2)_r-$，r 为 1 或 5。

13. 具有式I-A-3或 I-A-4结构或者其立体异构体的抗体药物偶联物或者其药学上可接受的盐或溶剂合物，其中所述式I-A-3、 I-A-4 为：



式 I-A-3



式 I-A-4

其中

Abu 为抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元或特异性结合 Nectin-4 的多肽；

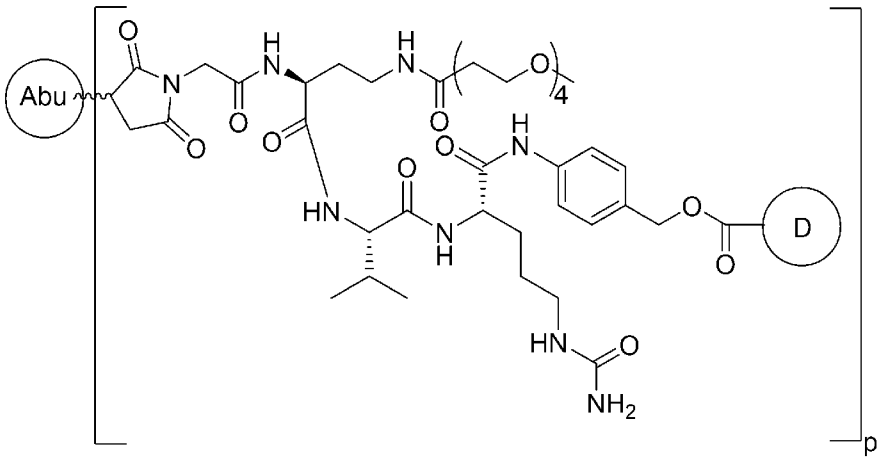
D 为药物；

n 为 1-24 的整数；

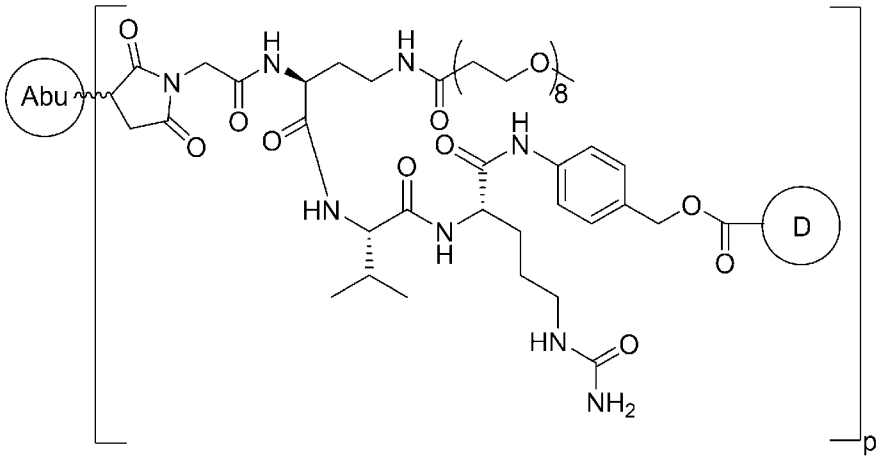
p 为 1-10。

14. 如权利要求 2-13 任一项所述的抗体药物偶联物或者其药学上可接受的盐或溶剂合物，其特征在于，n 为 4-12；或 n 为 4-8；或 n 为 4 或 8。

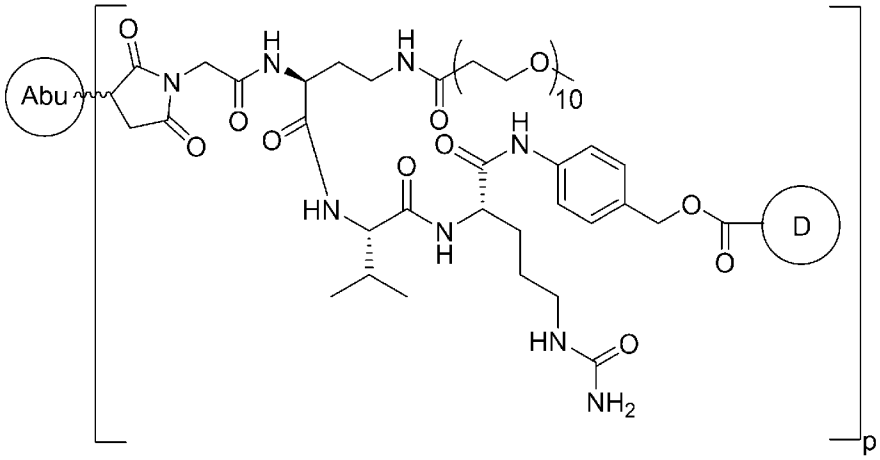
15. 具有式 I-A-5、I-A-6、I-A-7、I-A-8、I-A-9、I-A-10 或 I-A-11 结构或者其立体异构体的抗体药物偶联物或者其药学上可接受的盐或溶剂合物，其中所述式 I-A-5、I-A-6、I-A-7、I-A-8、I-A-9、I-A-10、I-A-11 为：



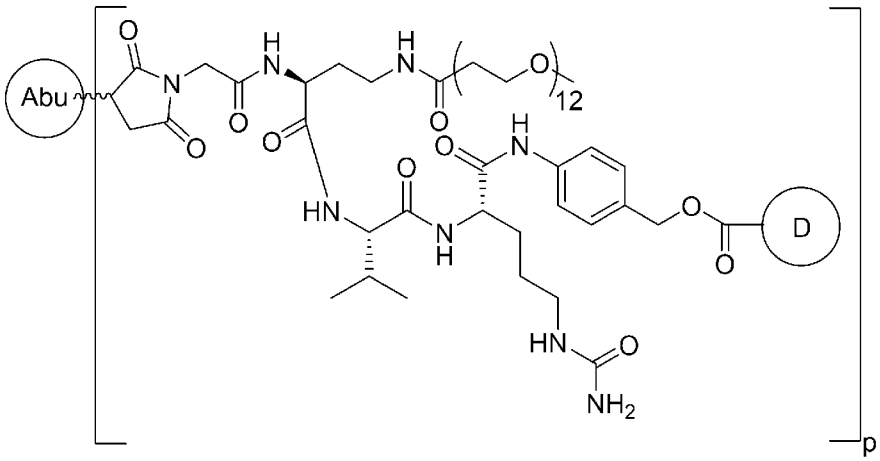
式 I-A-5



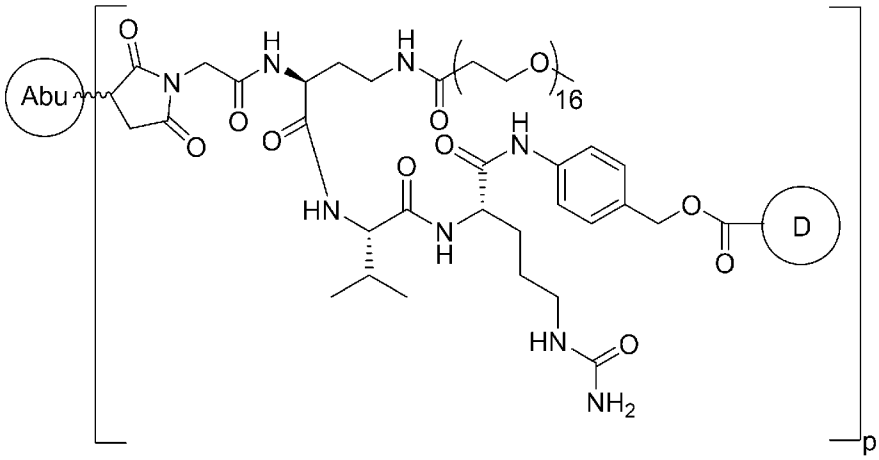
式 I-A-6



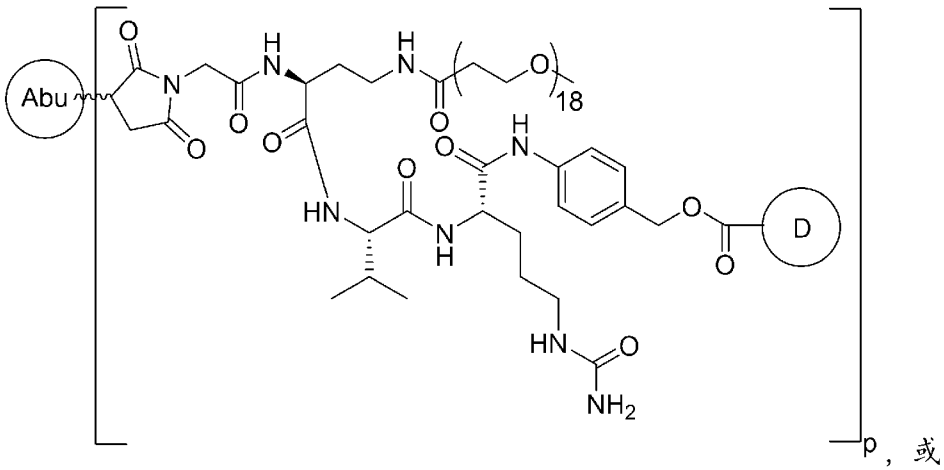
式 I-A-7



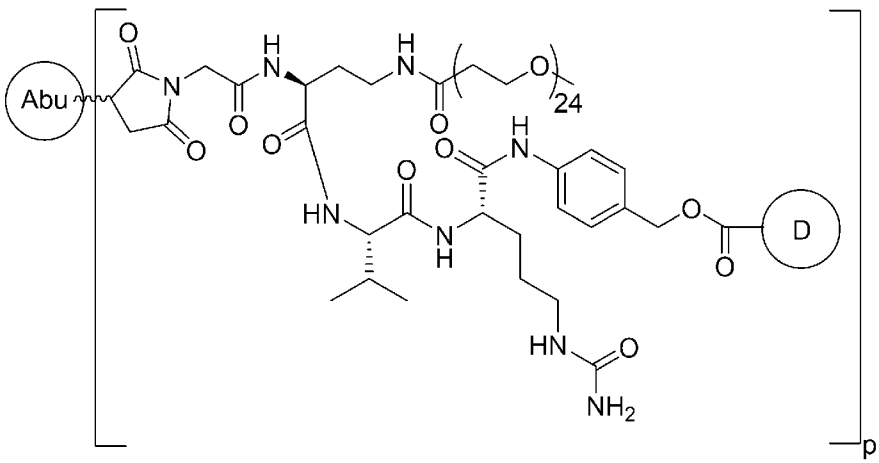
式 I-A-8



式 I-A-9



式 I-A-10



式 I-A-11

其中

Abu 为抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元或特异性结合 Nectin-4 的多肽；

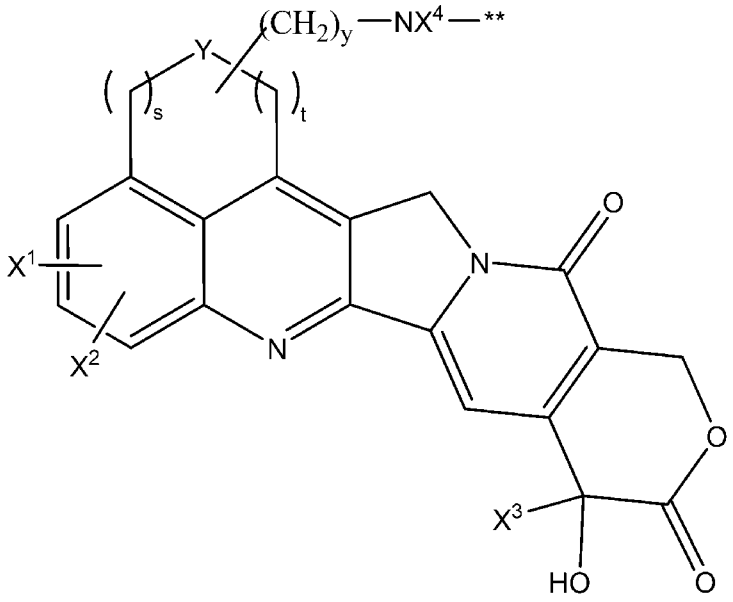
D 为药物；

p 为 1-10。

16. 权利要求 1-15 任一项所述的抗体药物偶联物或者其药学上可接受的盐或溶剂合物，其中所述药物为抗癌药物、细胞毒性药物、细胞分化因子、干细胞营养因子、类固醇类药物、治疗自身免疫疾病的药物、抗炎症药物或治疗传染性疾病的药物；或药物为抗癌药物；

或药物为微管蛋白抑制剂、DNA 损伤剂或 DNA 拓扑异构酶抑制剂；或所述微管蛋白抑制剂选自海兔毒素(dolastatin)、奥瑞他汀(auristatin)类、美登素(maytansine)类；或药物为奥瑞他汀(auristatin)类，选自 MMAE、MMAF 或 AF；或药物为 DNA 损伤剂，选自卡奇霉素(calicheamicin)类、倍癌霉素(duocarmycin)类、安曲霉素类衍生物 PBD(pyrrolobenzodiazepine，吡咯并苯并二氮杂)；或药物为 DNA 拓扑异构酶抑制剂或其盐，选自伊立替康、伊立替康盐酸盐、喜树碱、9-氨基喜树碱、9-硝基喜树碱、10-羟基喜树碱、9-氯-10-羟基喜树碱、喜树碱类衍生物 SN-38、22-羟基旱莲木碱、拓扑替康、勒托替康、贝洛替康、依喜替康、硅基高喜树碱(homosilatecan)、6,8-二溴-2-甲基-3-[2-(D-吡喃木糖基氨基)苯基]-4(3H)-喹唑啉酮、2-氰基-3-(3,4-二羟基苯基)-N-(苯基甲基)-(2E)-2-丙烯酰胺、2-氰基-3-(3,4-二羟基苯基)-N-(3-羟基苯基丙基)-(E)-2-丙烯酰胺、12-β-D-吡喃葡萄糖基-12,13-二氢-2,10-二羟基-6-[[2-羟基-1-(羟基甲基)乙基]氨基]-5H-吲哚并[2,3-a]吡咯并[3,4-c]咔唑-5,7(6H)-二酮、N-[2-(二甲基氨基)乙基]-4-吖啶甲酰胺二盐酸盐、N-[2-(二甲基氨基)乙基]-4-吖啶甲酰胺；或所述 DNA 拓扑异构酶抑制剂为喜树碱、10-羟基喜树碱、拓扑替康、贝洛替康、伊立替康、22-羟基旱莲木碱或依喜替康。

17. 如权利要求 1-15 任一项所述的抗体药物偶联物或者其药学上可接受的盐或溶剂合物，其特征在于，所述药物为



，其中

X^1 和 X^2 各自独立地为：

H，

羟基，

C1-C6 烷基，

被一个或多个羟基、卤素、硝基或氰基取代的 C1-C6 烷基，

C2-C6 烯基，

C2-C6 炔基，

C1-C6 烷氧基，

C1-C6 氨基烷氧基，

卤素，

硝基，

氰基，

巯基，

烷硫基，

氨基，被氨基保护基取代的氨基，在氨基部分任选被氨基保护基或 C1-C6 烷基取代的 C1-C6 氨基烷基，

在氨基部分任选被氨基保护基或 C1-C6 烷基取代的 C1-C6 氨基烷基氨基，

连接至杂环的 C1-C6 烷基，所述杂环任选被一个或多个 C1-C6 烷基、C1-C6 烷氧基、氨基、卤素、硝基或氰基取代，

连接至杂环的 C1-C6 烷基氨基，所述杂环任选被 C1-C6 烷基、C1-C6 烷氧基取代，所述氨基任选被氨基保护基、卤素、硝基、氰基或保护基取代，

氨基取代的杂环基，其在杂环部分的氮原子或氨基部分任选被保护基或一个或多个 C1-C6 烷基取代，

杂环氨基，其在杂环部分的氮原子或氨基部分任选被保护基或 C1-C6 烷基取代，

任选被氨基甲酰基保护基或 C1-C6 烷基取代的氨基甲酰基，

吗啉-1-基，或

哌啶-1-基；

X^3 为 C1-C6 烷基；

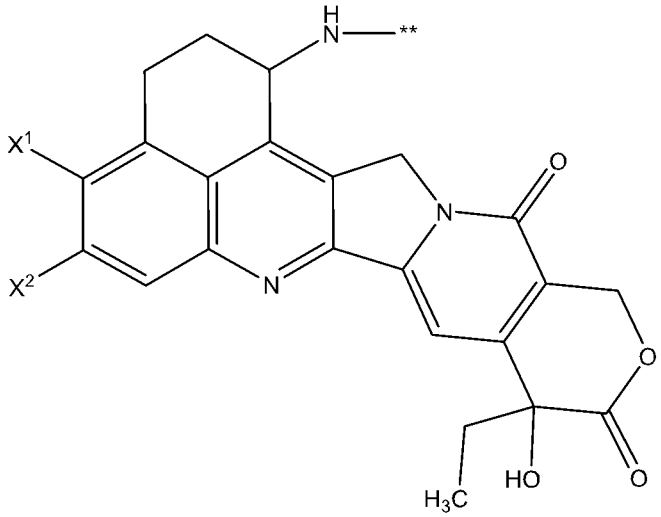
X^4 为 H、$-(CH_2)_q-CH_3$、$-(CHR^n)_q-CH_3$、C3-C8 碳环基、$-O-(CH_2)_q-CH_3$、亚芳基$-CH_3$、$-(CH_2)_q-$亚芳基$-CH_3$、-亚芳基$-(CH_2)_q-CH_3$、$-(CH_2)_q-$(C3-C8 碳环基)$-CH_3$、-(C3-C8 碳环基)$-(CH_2)_q-CH_3$、C3-C8 杂环基、$-(CH_2)_q-$(C3-C8 杂环基)$-CH_3$、-(C3-C8 杂环基)$-(CH_2)_q-CH_3$、$-(CH_2)_qC(O)NR^n(CH_2)_q-CH_3$、$-(CH_2CH_2O)_q-CH_3$、$-(CH_2CH_2O)_q-CH_2-CH_3$、$-(CH_2)_qC(O)NR^n(CH_2CH_2O)_q-CH_3$、$-(CH_2)_qC(O)NR^n(CH_2CH_2O)_q-CH_2-CH_3$、$-(CH_2CH_2O)_qC(O)NR^n(CH_2CH_2O)_q-CH_3$、$-(CH_2CH_2O)_qC(O)NR^n(CH_2CH_2O)_q-CH_2-CH_3$、或$-(CH_2CH_2O)_qC(O)NR^n(CH_2)_q-CH_3$；其中各 R^n 独立为 H、C1-C6 烷基、C3-C8 碳环基、苯基或苄基；并且各 q 独立为 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10；或者 X^4 为 H 或 C1-C6 烷基；

**为连接点；

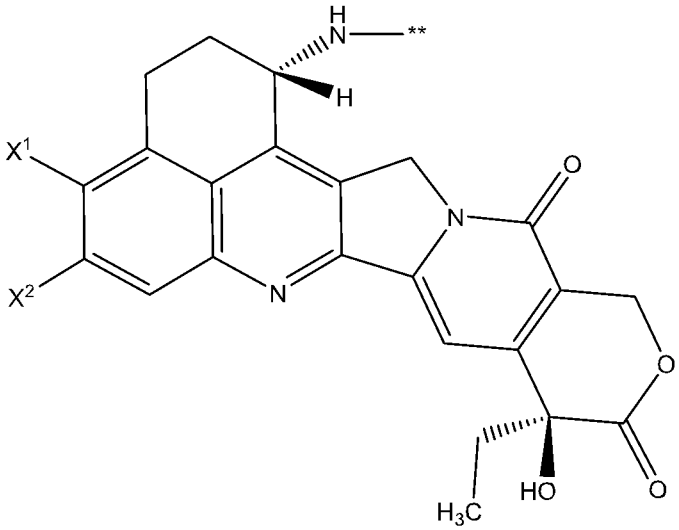
y 为 0、1 或 2；

Y 为 O、S 或 $CR^{1D}R^{2D}$，其中 R^{1D} 和 R^{2D} 各自独立地为 H 或 C1-C6 烷基；

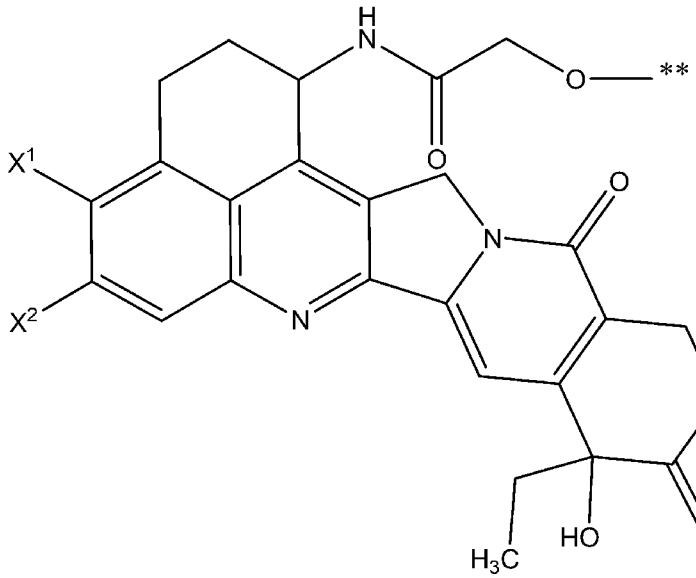
s 和 t 各自独立为 0、1 或 2，但不同时为 0；

或药物为 

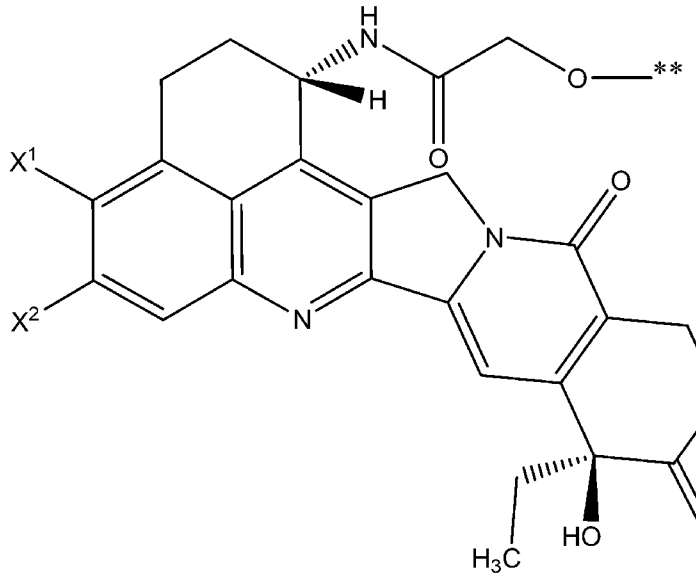
，其中 X^1 和 X^2 各自独立地为 C1-C6 烷基、卤素或-OH；或所述 C1-C6 烷基为$-CH_3$；或所述卤素为 F；**为连接点；或药



物为 ，其中 X^1 和 X^2 各自独立地为 C1-C6 烷基、卤素或-OH；或所述 C1-C6 烷基为-CH_3，或所述卤素为 F；**为连接点；

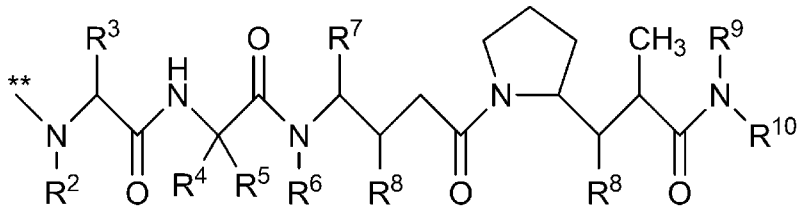


或药物为 ，其中 X^1 和 X^2 各自独立地为 C1-C6 烷基、卤素或-OH；或所述 C1-C6 烷基为-CH_3；或所述卤素为 F；**为连接点；或药物为



，其中 X^1 和 X^2 各自独

立地为 C1-C6 烷基、卤素或-OH；或所述 C1-C6 烷基为-CH_3，或所述卤素为 F；**为连接点；

或者药物为 ，其中

**为连接点；

R^2 为 H 或 C1-C8 烷基；

R^3 为 H、C1-C8 烷基、C3-C8 碳环基、芳基、C1-C8 烷基-芳基、C1-C8 烷基-(C3-C8 碳环基)、C3-C8 杂环基或 C_1-C_8 烷基-(C3-C8 杂环基)；

R^4 为 H、C1-C8 烷基、C3-C8 碳环基、芳基、C1-C8 烷基-芳基、C1-C8 烷基-(C3-C8 碳环基)、C3-C8 杂环基或 C1-C8 烷基-(C3-C8 杂环基)；

R^5 为 H 或甲基；

或者 R^4 和 R^5 连接形成碳环基，并具有式结构式-$(CR^aR^b)_j$-，其中 R^a 和 R^b 各自独立地为 H、C1-C8 烷基或 C3-C8 碳环基，j 为 2、3、4、5 和 6；

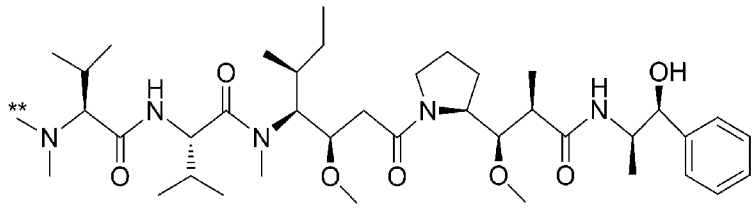
R^6 为 H 或 C1-C8 烷基；

R^7 为 H、C1-C8 烷基、C3-C8 碳环基、芳基、C1-C8 烷基-芳基、C1-C8 烷基-(C3-C8 碳环基)、C3-C8 杂环基或 C1-C8 烷基-(C3-C8 杂环基)；

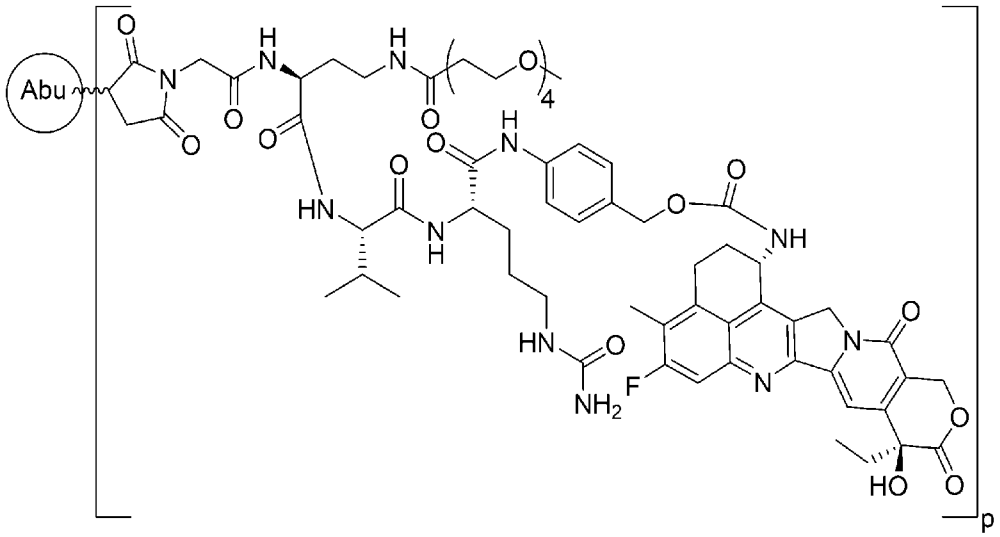
各个 R^8 各自为 H、OH、C_1-C_8 烷基、C3-C8 碳环基或 O-(C1-C8 烷基)；

R^9 为 H 或 C1-C8 烷基；并且

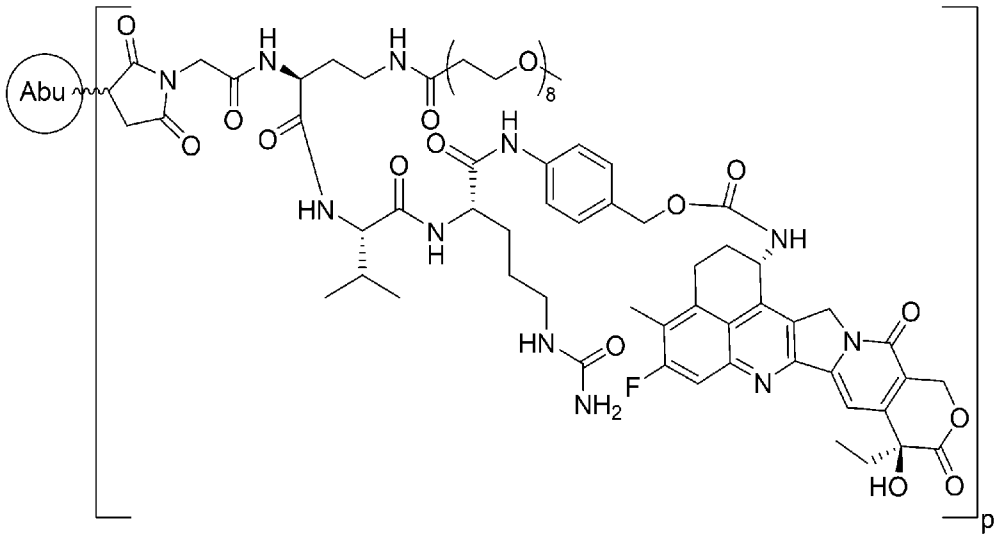
R^{10} 为–$C(R^8)_2$–$C(R^8)_2$–芳基、–$C(R^8)_2$–$C(R^8)_2$–(C3-C8 杂环基)或–$C(R^8)_2$–$C(R^8)_2$–(C3-C8 碳环基)；

或药物为 ，其中**为连接点。

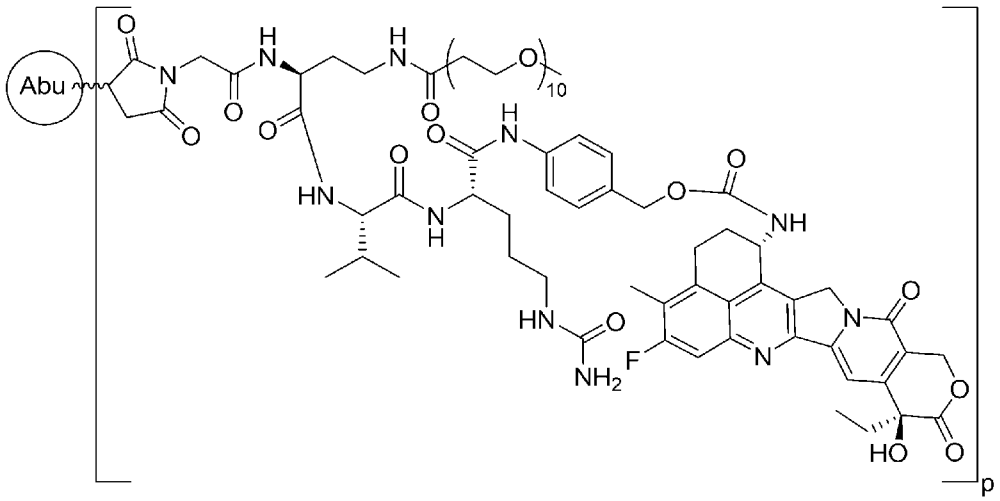
18. 具有式 I-A-12、I-A-13、I-A-14、I-A-15、I-A-16、I-A-17、I-A-18、I-A-19、I-A-20、I-A-21、I-A-22、I-A-23、I-A-24、I-A-25、式 I-B-1 或式 I-C-1 结构或者其立体异构体的抗体药物偶联物或者其药学上可接受的盐或溶剂合物，其中所述式 I-A-12、I-A-13、I-A-14、I-A-15、I-A-16、I-A-17、I-A-18、I-A-19、I-A-20、I-A-21、I-A-22、I-A-23、I-A-24、I-A-25、式 I-B-1、式 I-C-1 为：



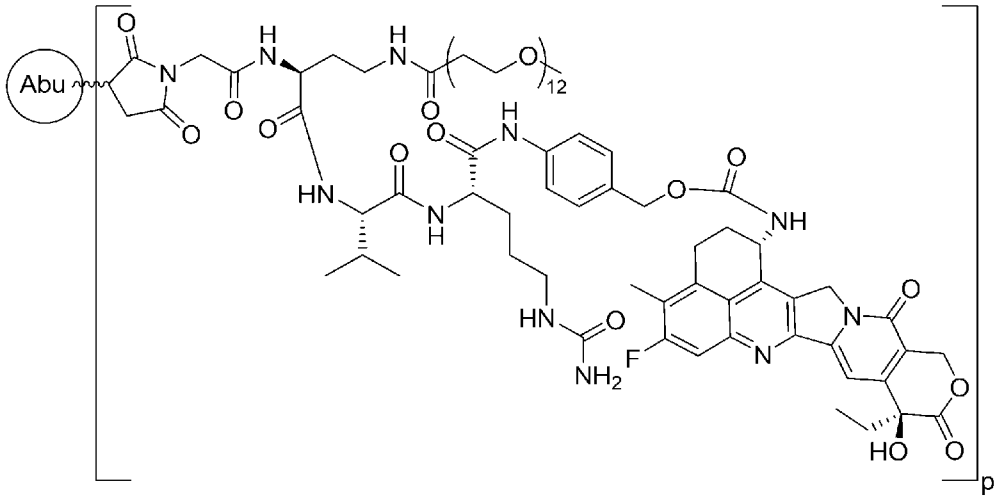
式 I-A-12



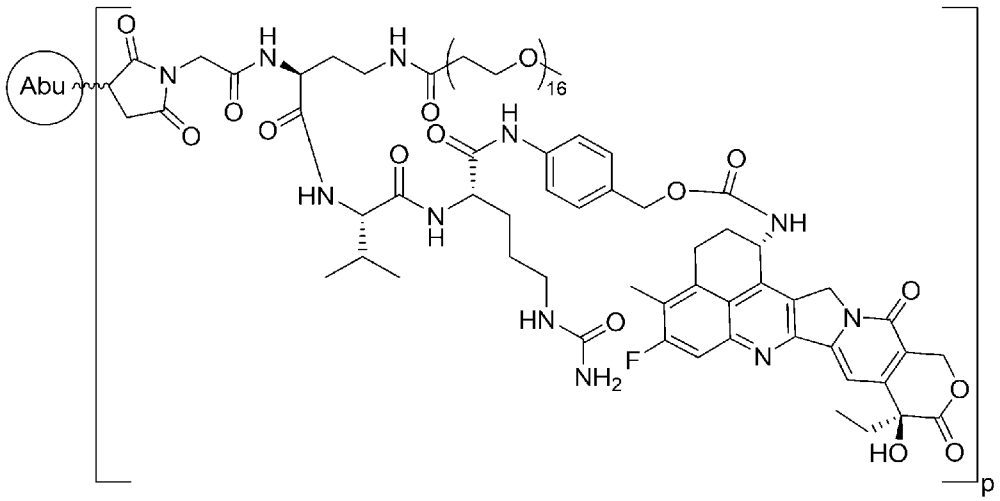
式 I-A-13



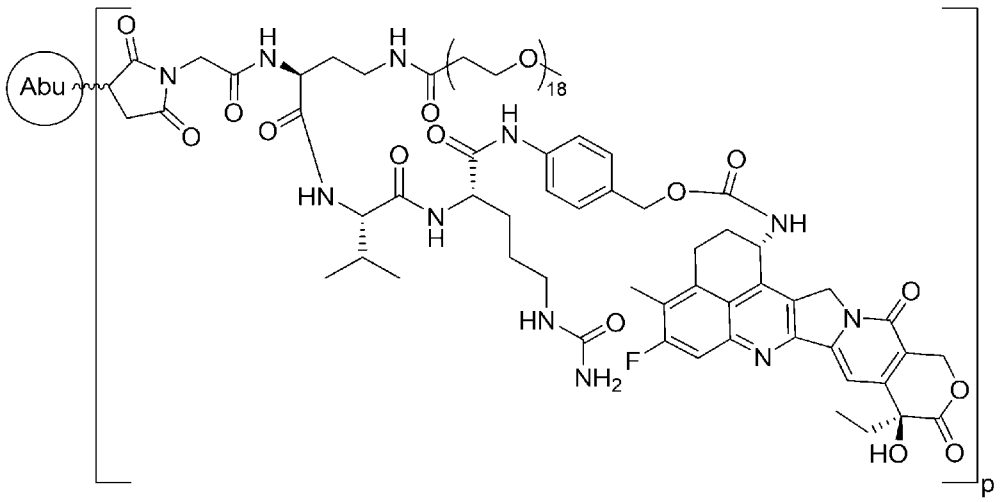
式 I-A-14



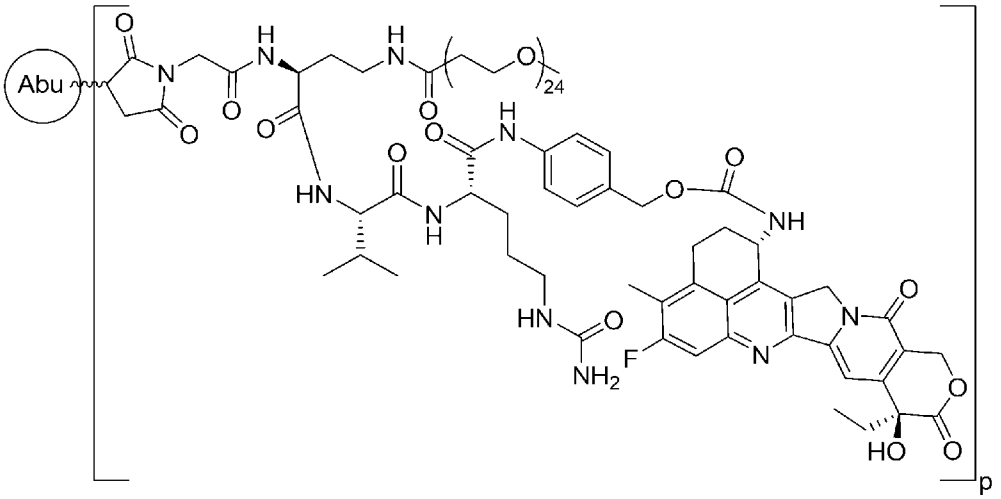
式 I-A-15



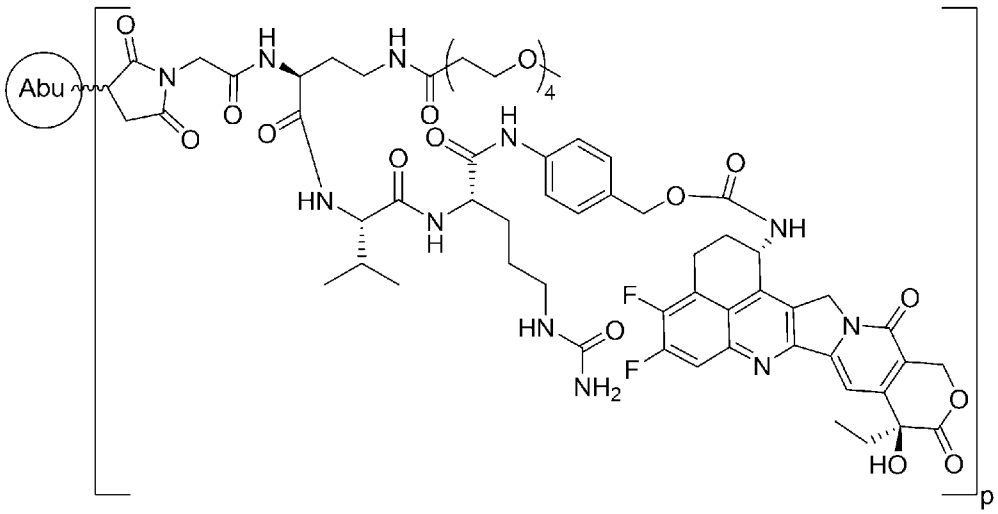
式 I-A-16



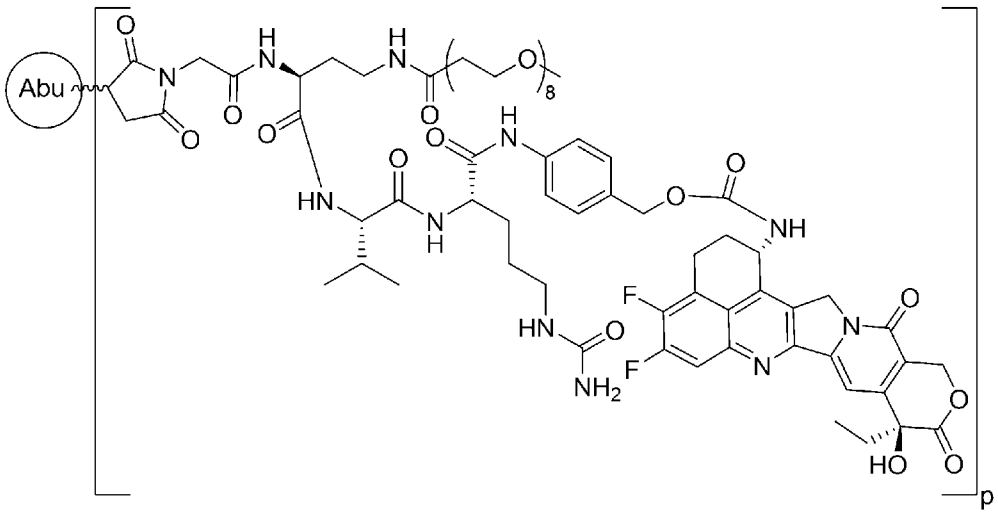
式 I-A-17



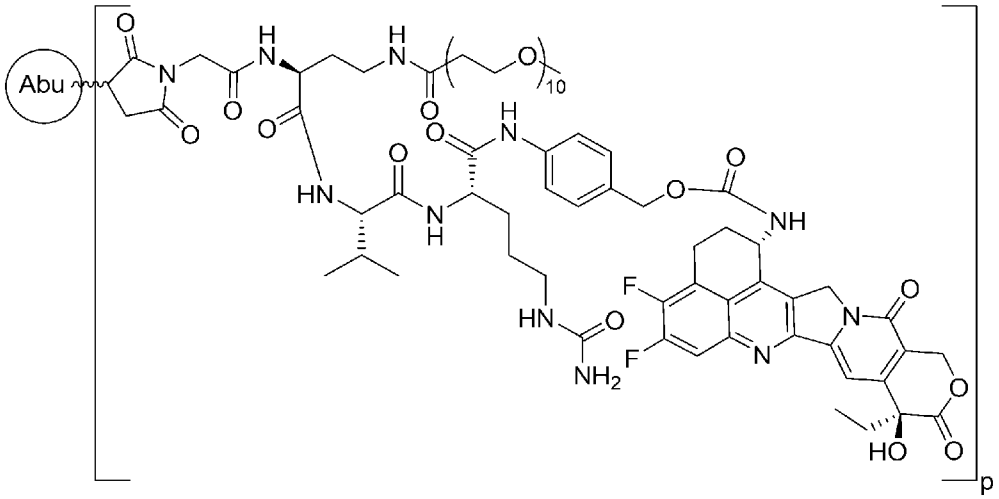
式 I-A-18



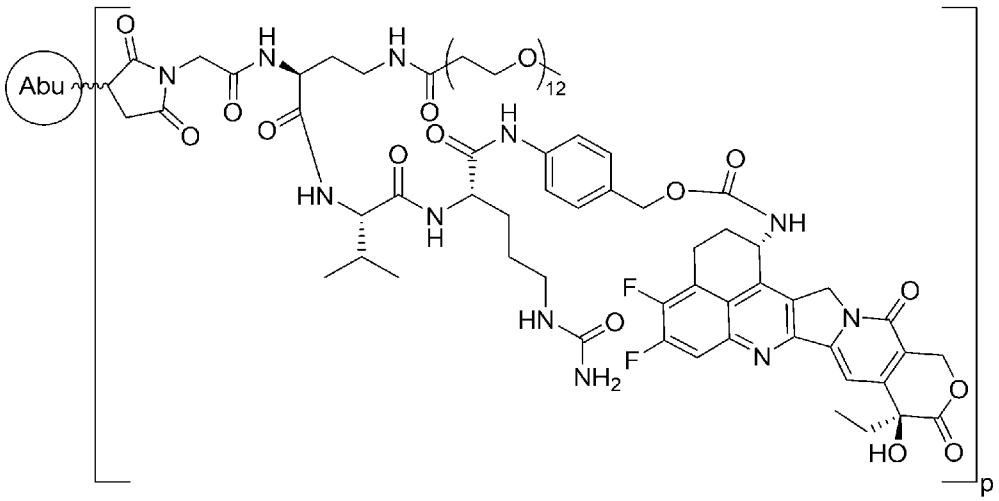
式 I-A-19



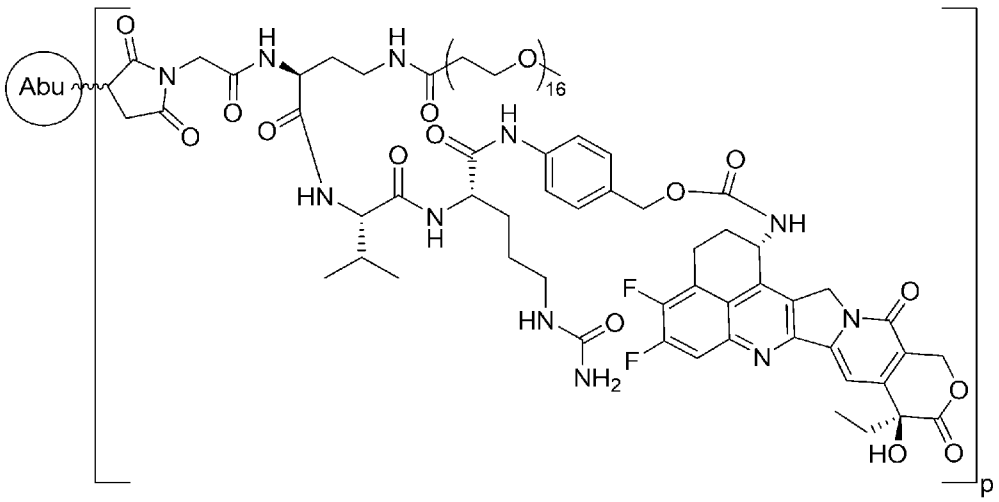
式 I-A-20



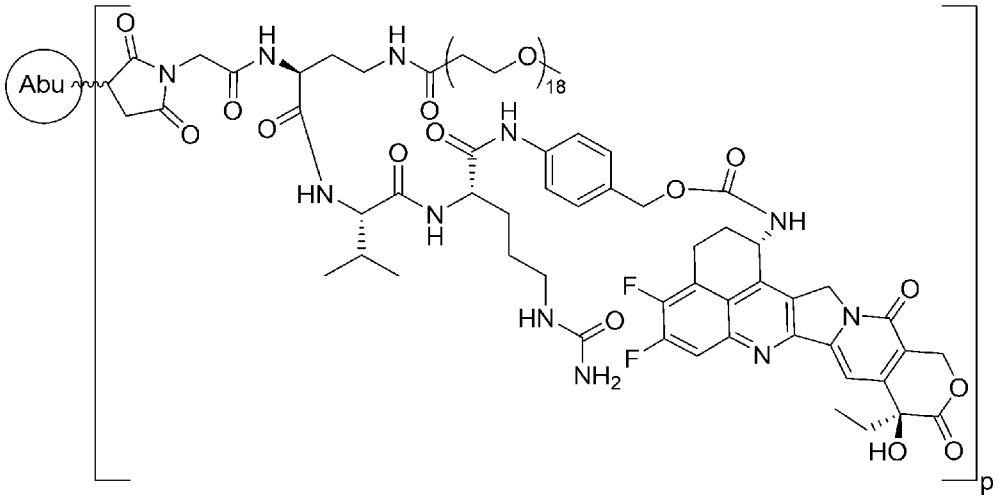
式 I-A-21



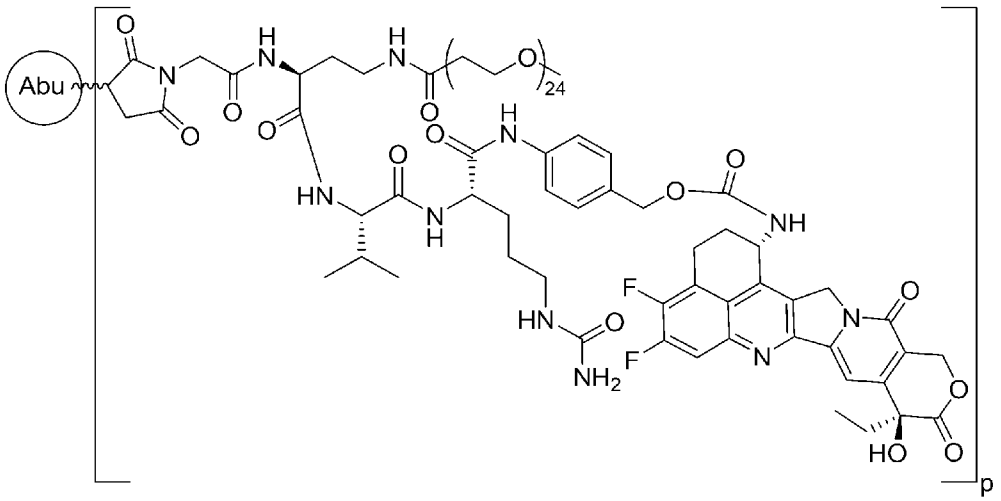
式 I-A-22



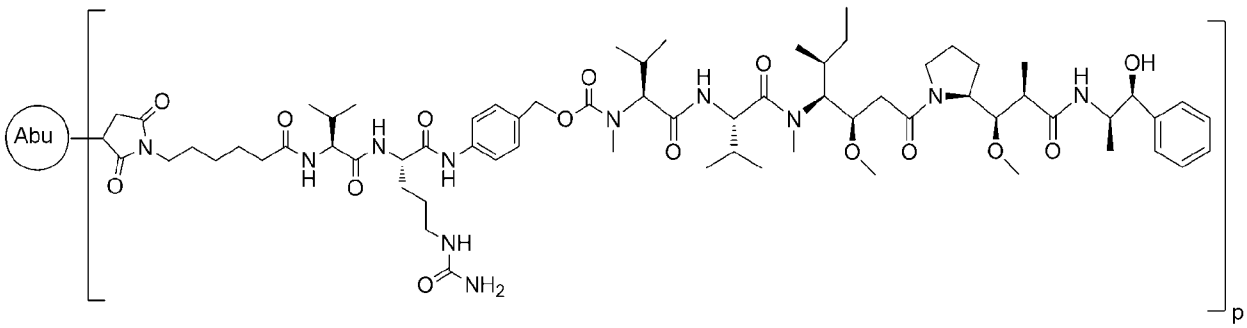
式 I-A-23



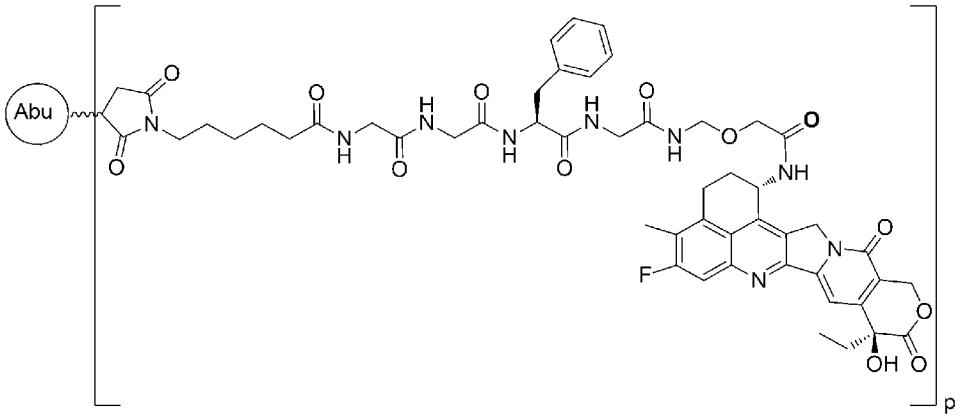
式 I-A-24



式 I-A-25



式 I-B-1



式 I-C-1

其中

Abu 为抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元或特异性结合 Nectin-4 的多肽；

p 为 1-10。

19. 如权利要求 2-18 任一项所述的抗体药物偶联物或者其药学上可接受的盐或溶剂合物，其特征在于，p 为 2-8；或 p 为 4-8；或 p 为 6-8；或 p 为 7-8。

20. 如权利要求 1-19 任一项所述的抗体药物偶联物或者其药学上可接受的盐或溶剂合物，其中所述抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元包含以下 HCDR1，HCDR2，和 HCDR3 或其变体中的一个或多个：

(1)按照 Kabat 编号系统，HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO: 8，SEQ ID NO: 181-195，SEQ ID NO: 234-248 和 SEQ ID NO: 304-317 任一项所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO: 9，SEQ ID NO: 196-231，SEQ ID NO: 251-303 和 SEQ ID NO: 318-358 任一项所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO: 10，SEQ ID NO: 12，SEQ ID NO: 14，SEQ ID NO: 16，SEQ ID NO: 18，SEQ ID NO: 20，SEQ ID NO: 22 和 SEQ ID NO: 24 任一项所示的序列或由其组成；

(2) SEQ ID NO:7 所示的重链可变区包含的 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3；

如按照 Kabat 编号系统，HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:10 所示的序列或由其组成；

(3) SEQ ID NO:11 所示的重链可变区包含的 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3；

如按照 Kabat 编号系统，HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:12 所示的序列或由其组成；

(4) SEQ ID NO:13 所示的重链可变区包含的 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3；

如按照 Kabat 编号系统，HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:14 所示的序列或由其组成；

(5) SEQ ID NO:15 所示的重链可变区包含的 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3；

如按照 Kabat 编号系统，HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:16 所示的序列或由其组成；

(6) SEQ ID NO:17 所示的重链可变区包含的 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3；

如按照 Kabat 编号系统，HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:18 所示的序列或由其组成；

(7) SEQ ID NO:19 所示的重链可变区包含的 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3；

如按照 Kabat 编号系统，HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:20 所示的序列或由其组成；

(8) SEQ ID NO:21 所示的重链可变区包含的 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3；

如按照 Kabat 编号系统，HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:22 所示的序列或由其组成；

(9) SEQ ID NO:23 所示的重链可变区包含的 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3；

如按照 Kabat 编号系统，HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:24 所示的序列或由其组成；

(10) HCDR1 的序列包含 X1X2X3MS 所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 X1'IX2'X3'X4'X5'X6'X7'X8'X9'YADSVKG 所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:12，14 或 16 所示的序列或由其组成，其中 X1，X2，X3，X1'，X2'，X3'，X4'，X5'，X6'，X7'，X8'，X9'和 X10'表示独立选自 G，A，V，L，I，S，T，C，M，N，Q，K，R，D，E，F，Y，H，P 和 W 中的任意一种氨基酸，

如，X1 表示 S，N，T，D 或 G，X2 表示 Y，F 或 S，X3 表示 A，G，S 或 Y，X1'表示 A，R，G，I 或 W，X2'表示 S，K，Y 或 D，X3'表示 G，P，S，A，Q 或 W，X4'表示 S，T，G，Y，H，D，W 或 I，X5'表示 G，D，T，S，A 或 K，X6'表示 G，S，D，A 或 W，X7'表示 S，Y，T，N，D，V，E 或 G，X8'表示 T，A，N，K，I，R，S 或 P，X9'表示 Y，S，H，R，N，G，F 或 D；

或，X1 表示 S，N，T，D 或 G，X2 表示 Y，N，F 或 S，X3 表示 A，G，S 或不存在，X1'表示 A，R，G，W 或 S，X2'表示 S，K，Y 或 D，X3'表示 G，P，S，T，A，Q 或 Y，X4'表示 S，T，G，Y，H，D，W 或 I，X5'表示 G，D，T，S，F 或 K，X6'表示 G，S，D，A，W 或不存在，X7'表示 S，Y，T，N，D，V，E 或 G，X8'表示 T，A，N，K，I，R，S 或 P，X9'表示 Y，S，H，R，N，F 或 D；

或，X1 表示 S，N，D，G 或 T，X2 表示 Y，F 或 S，X3 表示 A，D，W，S 或 Y，X1'表示 A，S，G 或 V，X2'表示 S，K，I，Y 或 D，X3'表示 G，P，S，A，Q，Y，T 或 D，X4'表示 S，T，G，Y，H，D 或 W，X5'表示 G，D，T，S 或 K，X6'表示 G，S，D，A 或 Y，X7'表示 S，Y，T，N，D，V 或 G，X8'表示 T，A，N，K，I，R 或 S，X9'表示 Y，S，H，R，N，G，F 或 D；

或，HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 和 SEQ ID NO:181-195 任一项所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 和 SEQ ID NO:196-231 任一项所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:14 所示的序列或由其组成；

或，HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8，SEQ ID NO:181，SEQ ID NO:185，SEQ ID NO:186，SEQ ID NO:187，SEQ ID NO:194 和 SEQ ID NO:234-248 任一项所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9，SEQ ID NO:202 和 SEQ ID NO:251-303 任一项所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:12 所示的序列或由其组成；

或，HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:235，SEQ ID NO:238，SEQ ID NO:241 和 SEQ ID NO:304-317 任一项所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:318-358 任一项所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:16 所示的序列或由其组成；

其中所述变体序列与所述对应的 CDR 序列分别具有 3，2 或 1 个氨基酸差异（优选保守氨基酸置换）或分别具有至少 60%、65%、70%、75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%同一性，并且所述变体保留与 Nectin-4 的结合亲和力。

21. 如权利要求 20 所述的抗体药物偶联物或者其药学上可接受的盐或溶剂合物，其中重链可变区中的框架区 HFR1-HFR4 的序列分别如 SEQ ID NO:29-32 所示；或者，重链可变区中的框架区 HFR1 的序列如 SEQ ID NO:41-180 任一项所示的序列的位置 1-30 位氨基酸序列所示，HFR2-HFR4 的序列分别如 SEQ ID NO:30-32 所示。

22. 如权利要求 1-21 所述的抗体药物偶联物或者其药学上可接受的盐或溶剂合物，其中所述抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元包含 SEQ ID NO: 7，11，13，15，17，19，21，23，41-180 任一项所示的序列或由其组成的重链可变区，或其变体；

其中所述变体序列与所述对应的可变区序列分别具有 3，2 或 1 个氨基酸差异（优选保守氨基酸置换）或分别具有至少 60%、65%、70%、75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%同一性，并且所述变体保留与 Nectin-4 的结合亲和力。

23. 如权利要求 20-22 任一项所述的抗体药物偶联物或其药学上可接受的盐或溶剂合物，其中所述抗 Nectin-4 抗体的重链恒定区的氨基酸序列如 SEQ ID NO:37 所示；或者，所述抗 Nectin-4 抗体的重链包含 SEQ ID NO:7，SEQ ID NO:11，SEQ ID NO:13，SEQ ID NO:15，SEQ ID NO:17，SEQ ID NO:19，SEQ ID NO:21，SEQ ID NO:23 和 SEQ ID NO:41-180 任一项所示的重链可变区和 SEQ ID NO:37 所示的重链恒定区；或者，所述抗 Nectin-4 抗体的重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:232，SEQ ID NO:233，SEQ ID NO:249 和 SEQ ID NO:360-363 任一项所示。

24. 如权利要求 1-23 任一项所述的抗体药物偶联物或者其药学上可接受的盐或溶剂合物，其中所述抗原结合单元选自 Fab、Fab'、$F(ab')_2$、$F(ab)_2$、Fd、Fv、dAb、Fab/c、互补决定区片段、scFv、scFv 多聚体、二硫键稳定性 Fv、$(dsFv)_2$、双特异性 dsFv、双链抗体、二硫键稳定的双链抗体、由包含一个或多个 CDR 的抗体的一部分形成的多特异性抗体、单域抗体、纳米抗体、结构域抗体或二价结构域抗体。

25. 如权利要求 20-24 任一项所述的抗体药物偶联物或者其药学上可接受的盐或溶剂合物，其中所述抗体或抗原结合单元还包含 SEQ ID NO:25 所示的轻链可变区包含的 LCDR1，LCDR2 和 LCDR3，如按照 Kabat 编号系统，LCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:26 所示的序列或由其组成，LCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:27 所示的序列或由其组成，LCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:28 所示的序列或由其组成；或者，轻链可变区中的框架区 LFR1-LFR4 的序列分别如 SEQ ID NO:33-36 所示；或者，所述抗体或抗原结合单元包含 SEQ ID NO:25 所示的轻链可变区；或者所述抗体或抗原结合单元还包含 SEQ ID NO:38 所示的轻链恒定区。

26. 如权利要求 1-25 任一项所述的抗体药物偶联物或者其药学上可接受的盐或溶剂合物，其中所述抗 Nectin-4 抗体或抗原结合单元来自鸟类和哺乳动物；或者，所述抗 Nectin-4 抗体是人源、鼠源、驴源、兔源、山羊源、骆驼源、美洲驼源、马源或鸡源抗体。

27. 如权利要求 1-19 任一项所述的抗体药物偶联物或者其药学上可接受的盐或溶剂合物，其中所述特异性结合 Nectin-4 的多肽，其选自以下各项组成的组：

(1) 多肽，其包含 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3 的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分，其中 HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO: 8，SEQ ID NO: 181-195，SEQ ID NO: 234-248 和 SEQ ID NO: 304-317 任一项所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO: 9，SEQ ID NO: 196-231，SEQ ID NO: 251-303 和 SEQ ID NO: 318-358 任一项所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO: 10，SEQ ID NO: 12，SEQ ID NO: 14，SEQ ID NO: 16，SEQ ID NO: 18，SEQ ID NO: 20，SEQ ID NO: 22 和 SEQ ID NO: 24 任一项所示的序列或由其组成；

(2) 多肽，其包含 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3 的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分，其中 HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:10 所示的序列或由其组成；

(3) 多肽，其包含 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3 的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分，其中 HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8，SEQ ID NO:181，SEQ ID NO:185，SEQ ID NO:186，SEQ ID NO:187，SEQ ID NO:194 和 SEQ ID NO:234-248 任一项所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9，SEQ ID NO:202 和 SEQ ID NO:251-303 任一项所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:12 所示的序列或由其组成；

(4) 多肽，其包含 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3 的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分，其中 HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 和 SEQ ID NO:181-195 任一项所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 和 SEQ ID NO:196-231 任一项所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:14 所示的序列或由其组成；

(5) 多肽，其包含 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3 的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分，其中 HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8，SEQ ID NO:235，SEQ ID NO:238，SEQ ID NO:241 和 SEQ ID NO:304-317 任一项所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 和 SEQ ID NO:318-358 任一项所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:16 所示的序列或由其组成；

(6)多肽，其包含 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3 的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分，其中 HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:18 所示的序列或由其组成；

(7) 多肽，其包含 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3 的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分，其中 HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:20 所示的序列或由其组成；

(8) 多肽，其包含 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3 的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分，其中 HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所

示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:22 所示的序列或由其组成；

(9) 多肽，其包含 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3 的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分，其中 HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:24 所示的序列或由其组成；

(10) 多肽，其包含 SEQ ID NO:7，11，13，15，17，19，21，23，41-180 任一项所示的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分；

可选的，所述多肽还包含 SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27 和 SEQ ID NO:28 所示的序列，或 SEQ ID NO:25 所示的序列或其变体，

其中所述变体序列与所述对应的序列分别具有 3，2 或 1 个氨基酸差异（优选保守氨基酸置换）或分别具有至少 60%、65%、70%、75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 同一性，并且所述变体保留与 Nectin-4 的结合亲和力。

28. 一种药物组合物，其包含权利要求 1-27 任一项所述的抗体药物偶联物或者其药学上可接受的盐或溶剂合物以及药物可接受的载体、赋形剂和/或辅料；或者，任选的其他抗癌药物。

29. 权利要求 1-27 任一项所述的抗体药物偶联物或者其药学上可接受的盐或溶剂合物或者权利要求 28 所述的药物组合物在治疗和/或预防疾病或制备治疗和/或预防疾病的药物中的用途；或所述用途还包括与其他抗癌药物联用；或者，所述疾病为 Nectin-4 异常表达相关的疾病；或者，所述疾病为表达或过表达 Nectin-4 的肿瘤；或者，所述疾病为表达或过表达 Nectin-4 的癌症；或者，所述疾病为实体瘤或血液肿瘤；或者，所述疾病选自乳腺癌、胰腺癌、膀胱癌、尿路上皮癌、黑色素瘤、肺癌、头颈癌、宫颈癌、卵巢癌、绒毛膜癌、皮肤癌、食管癌、胃癌、子宫癌、胆囊癌、肝癌、肝细胞癌、尿道癌、肾盂癌、输尿管癌、结直肠癌、结肠癌和前列腺癌。

30. 治疗疾病的方法，包括向有需要的患者施用有效量的权利要求 1-27 任一项所述的抗体药物偶联物或者其药学上可接受的盐或溶剂合物或者权利要求 28 所述的药物组合物；或者，所述疾病为 Nectin-4 异常表达相关的疾病；或者，所述疾病为表达或过表达 Nectin-4 的肿瘤；或者，所述疾病为表达或过表达 Nectin-4 的癌症；或者，所述疾病为实体瘤或血液肿瘤；或者，所述疾病选自乳腺癌、胰腺癌、膀胱癌、尿路上皮癌、黑色素瘤、肺癌、头颈癌、宫颈癌、卵巢癌、绒毛膜癌、皮肤癌、食管癌、胃癌、子宫癌、胆囊癌、肝癌、肝细胞癌、尿道癌、肾盂癌、输尿管癌、结直肠癌、结肠癌和前列腺癌。

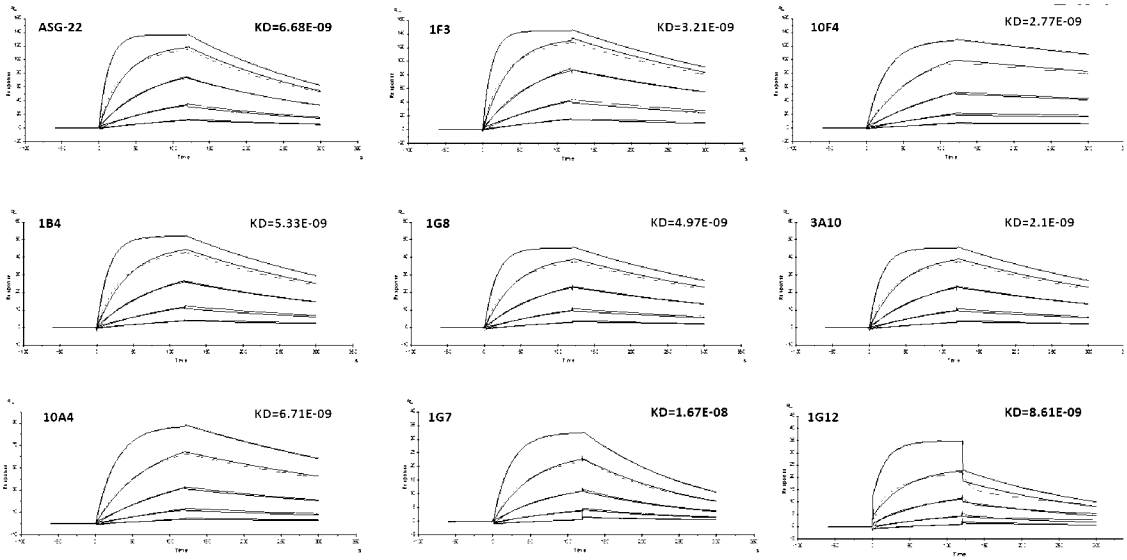

ASG-22
KD=6.68E-09
1F3
KD=3.21E-09
10F4
KD=2.77E-09
1B4
KD=5.33E-09
1G8
KD=4.97E-09
3A10
KD=2.1E-09
10A4
KD=6.71E-09
1G7
KD=1.67E-08
1G12
KD=8.61E-09

图 1

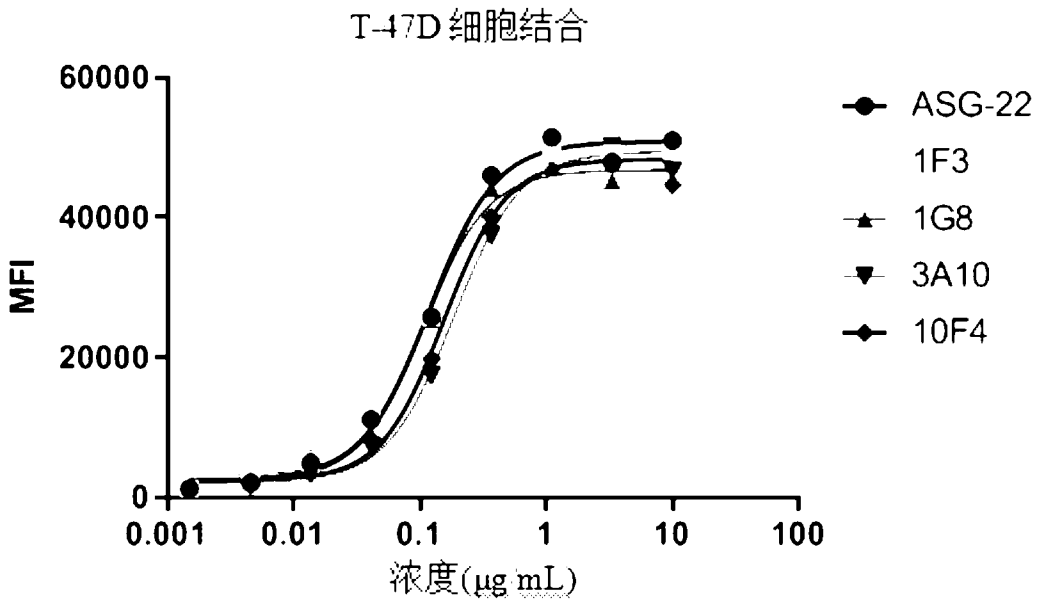

T-47D 细胞结合
60000
40000
20000
0
MFI
0.001
0.01
0.1
1
10
100
浓度(μg mL)
ASG-22
1F3
1G8
3A10
10F4

图 2

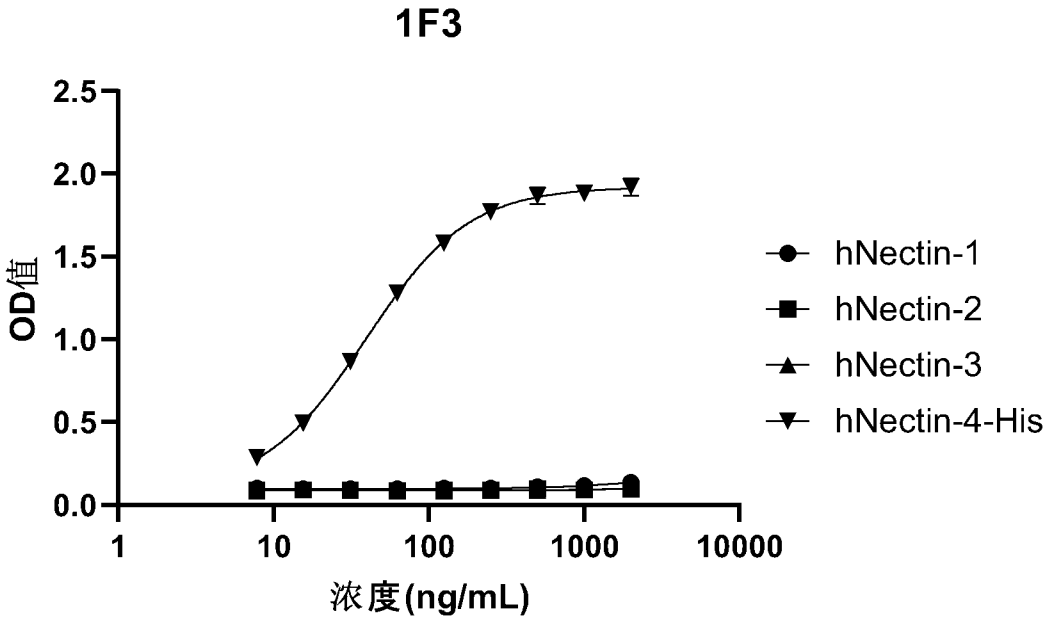

1F3
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
OD值
1
10
100
1000
10000
浓度(ng/mL)
hNectin-1
hNectin-2
hNectin-3
hNectin-4-His

图 3A

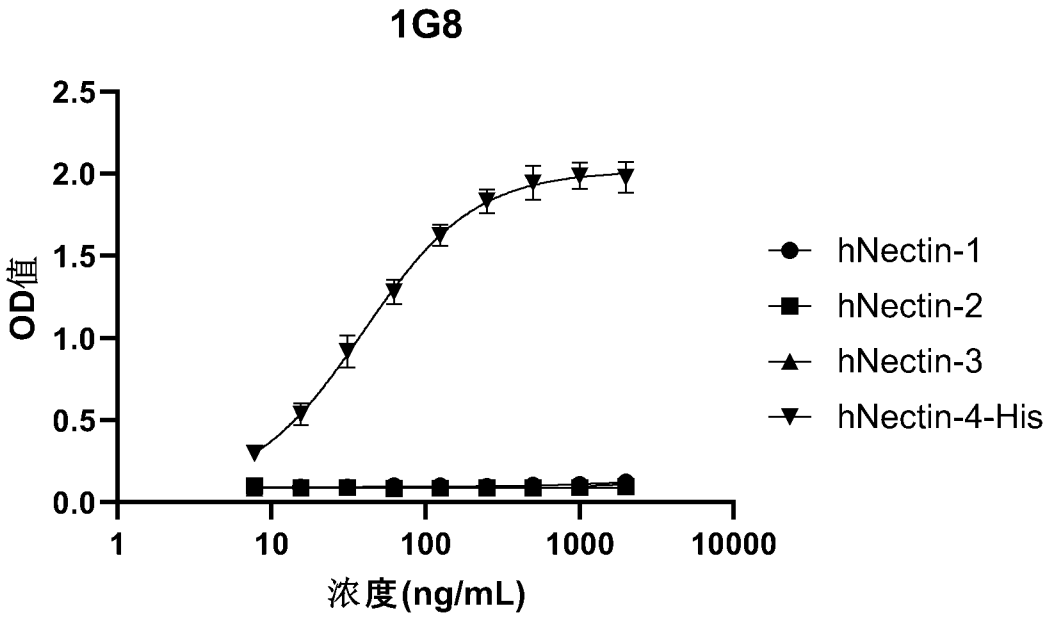

1G8
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
OD值
1
10
100
1000
10000
浓度(ng/mL)
hNectin-1
hNectin-2
hNectin-3
hNectin-4-His

图 3B

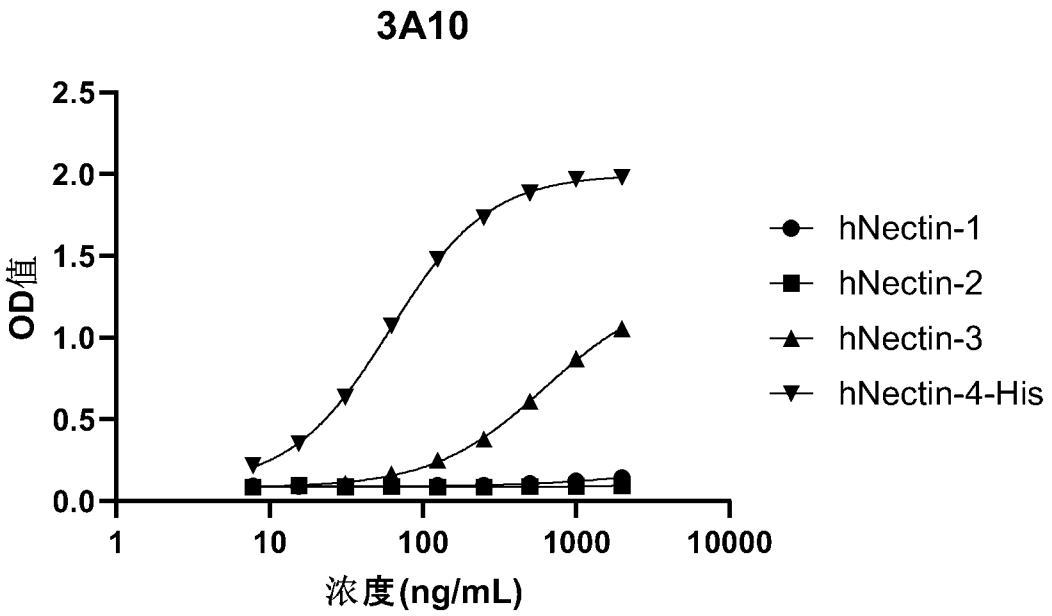

3A10
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
OD值
1
10
100
1000
10000
浓度(ng/mL)
hNectin-1
hNectin-2
hNectin-3
hNectin-4-His

图 3C

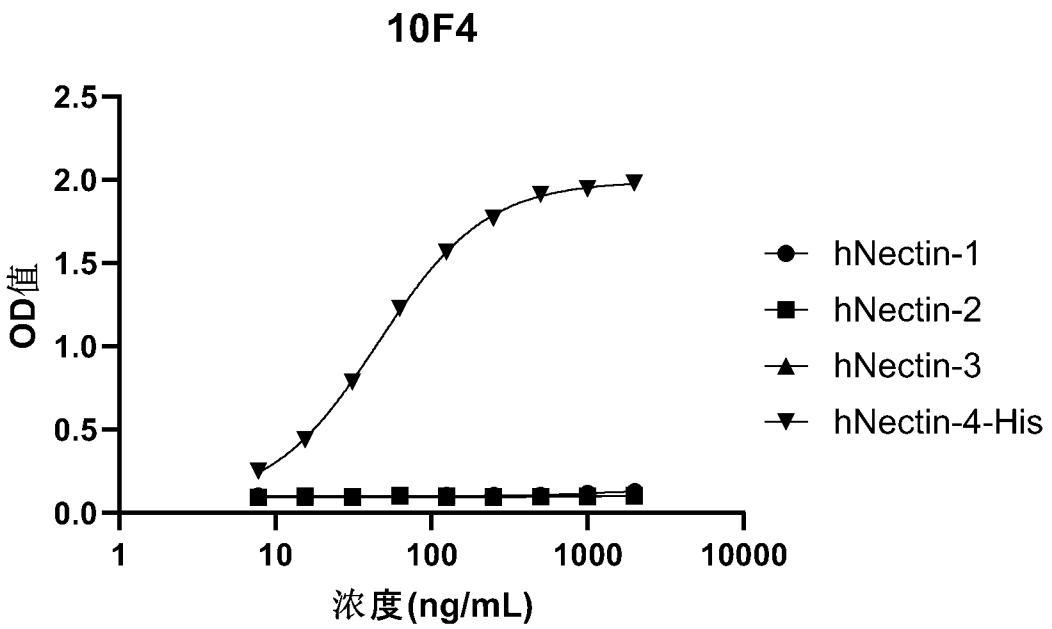

10F4
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
OD值
1
10
100
1000
10000
浓度(ng/mL)
hNectin-1
hNectin-2
hNectin-3
hNectin-4-His

图 3D

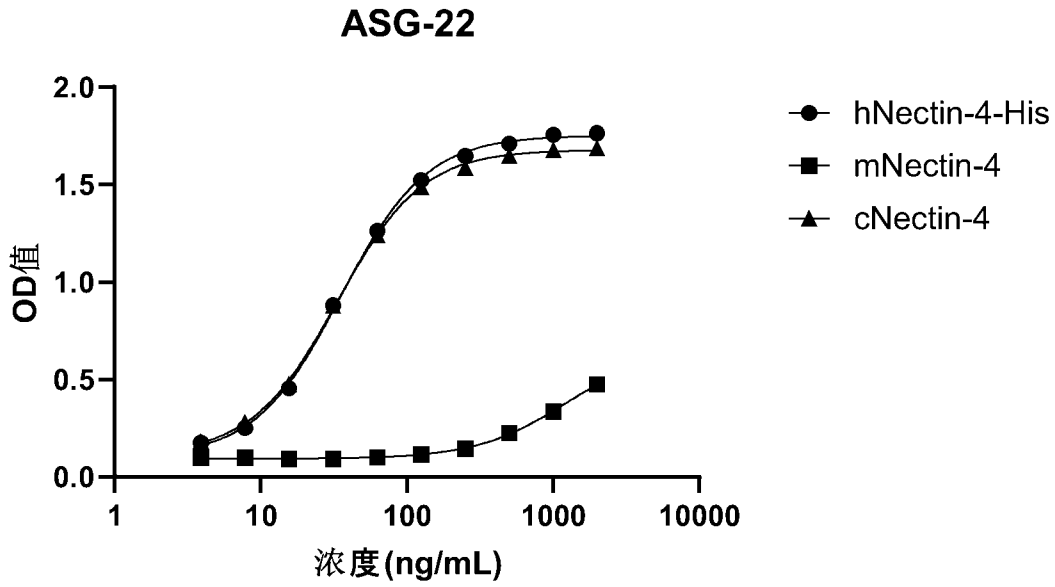

ASG-22
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
OD值
1
10
100
1000
10000
浓度(ng/mL)
hNectin-4-His
mNectin-4
cNectin-4

图 4A

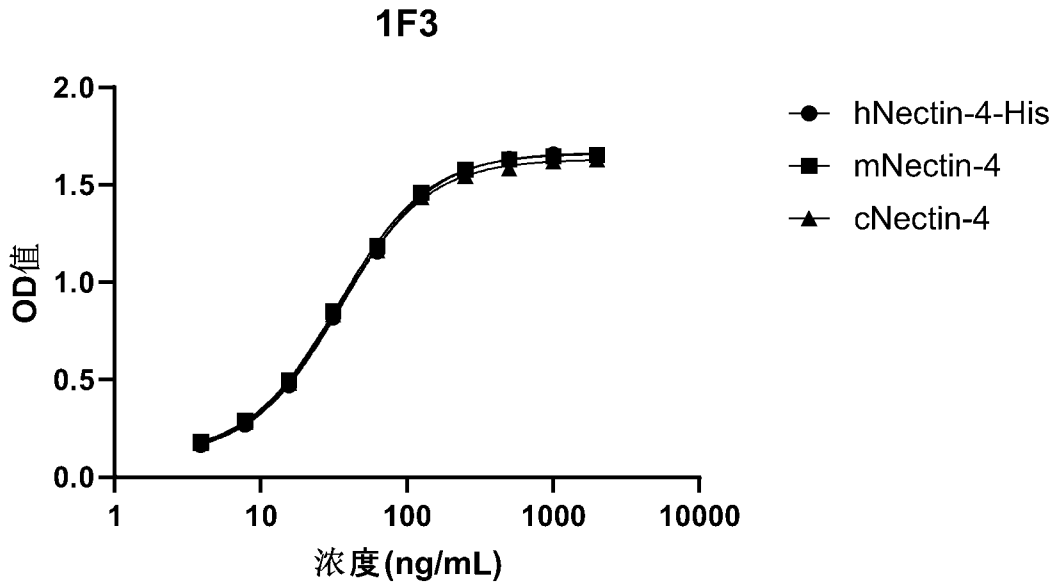

1F3
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
OD值
1
10
100
1000
10000
浓度(ng/mL)
hNectin-4-His
mNectin-4
cNectin-4

图 4B

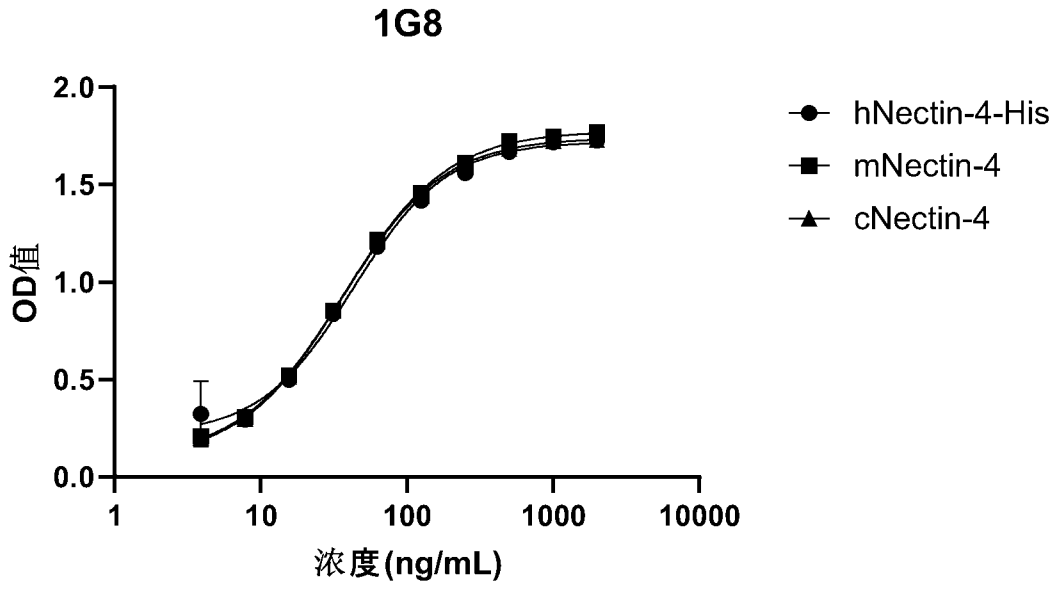

1G8
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
OD值
1
10
100
1000
10000
浓度(ng/mL)
hNectin-4-His
mNectin-4
cNectin-4

图 4C

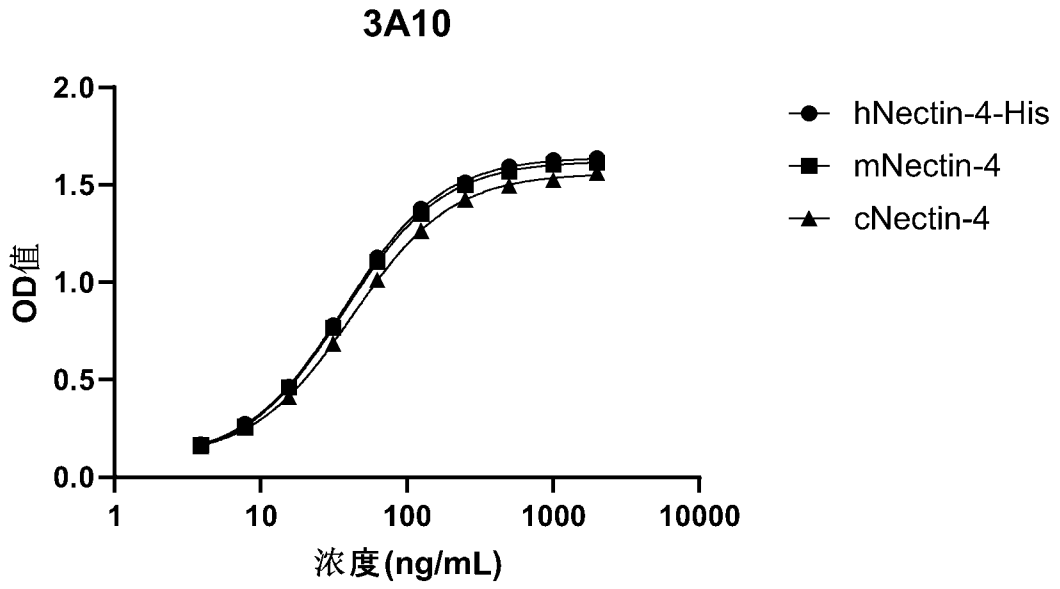

3A10
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
OD值
1
10
100
1000
10000
浓度(ng/mL)
hNectin-4-His
mNectin-4
cNectin-4

图 4D

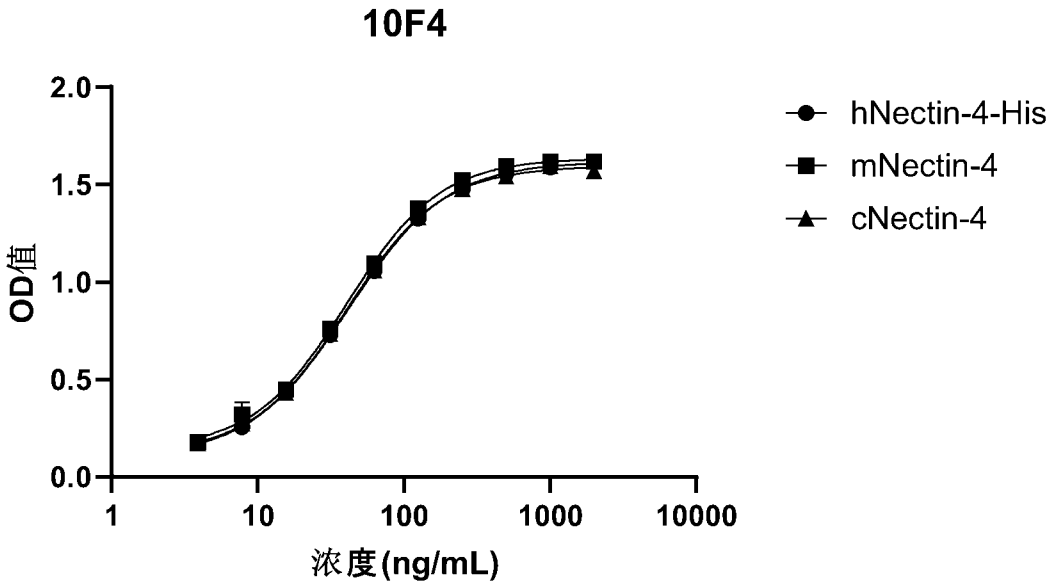

10F4
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
OD值
1
10
100
1000
10000
浓度(ng/mL)
hNectin-4-His
mNectin-4
cNectin-4

图 4E

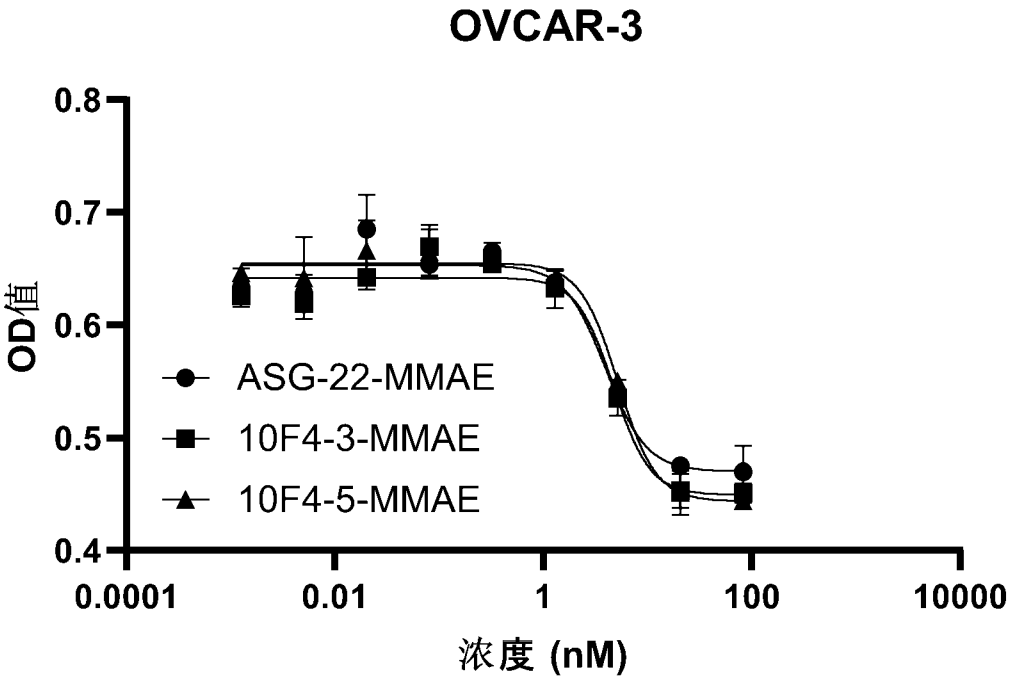

OVCAR-3
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
OD值
0.0001
0.01
1
100
10000
浓度 (nM)
ASG-22-MMAE
10F4-3-MMAE
10F4-5-MMAE

图 5A

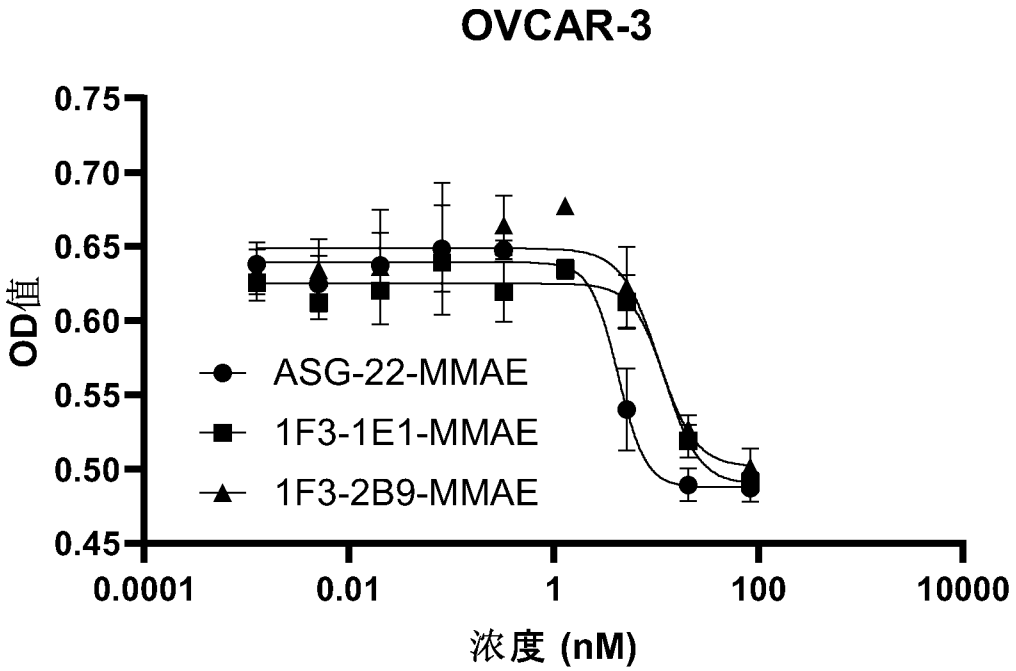

OVCAR-3
0.75
0.70
0.65
0.60
0.55
0.50
0.45
OD值
ASG-22-MMAE
1F3-1E1-MMAE
1F3-2B9-MMAE
0.0001
0.01
1
100
10000
浓度 (nM)

图 5B

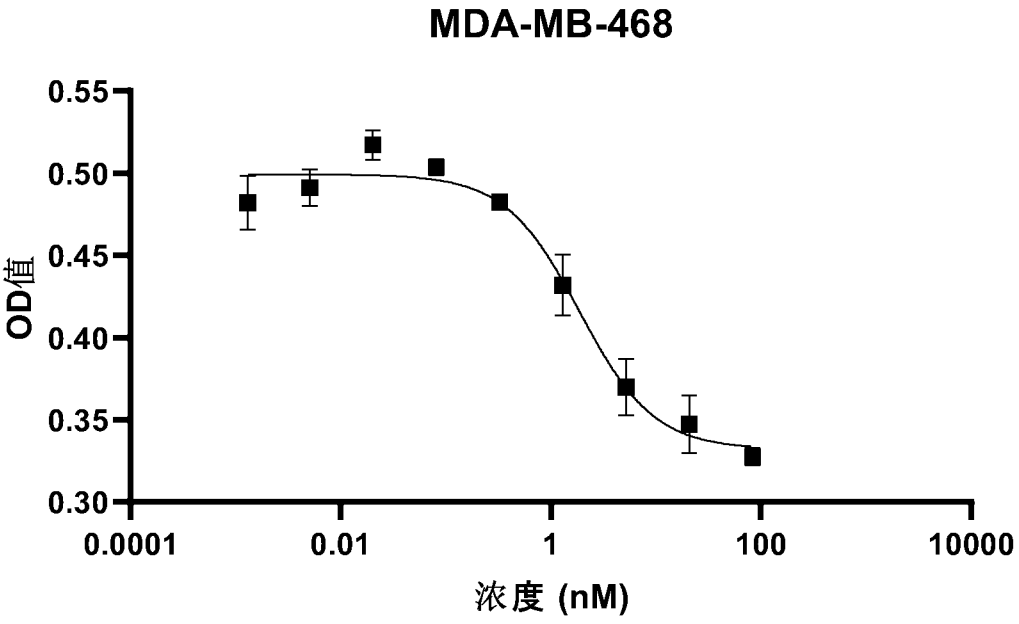

MDA-MB-468
0.55
0.50
0.45
0.40
0.35
0.30
OD值
0.0001
0.01
1
100
10000
浓度 (nM)

图5C

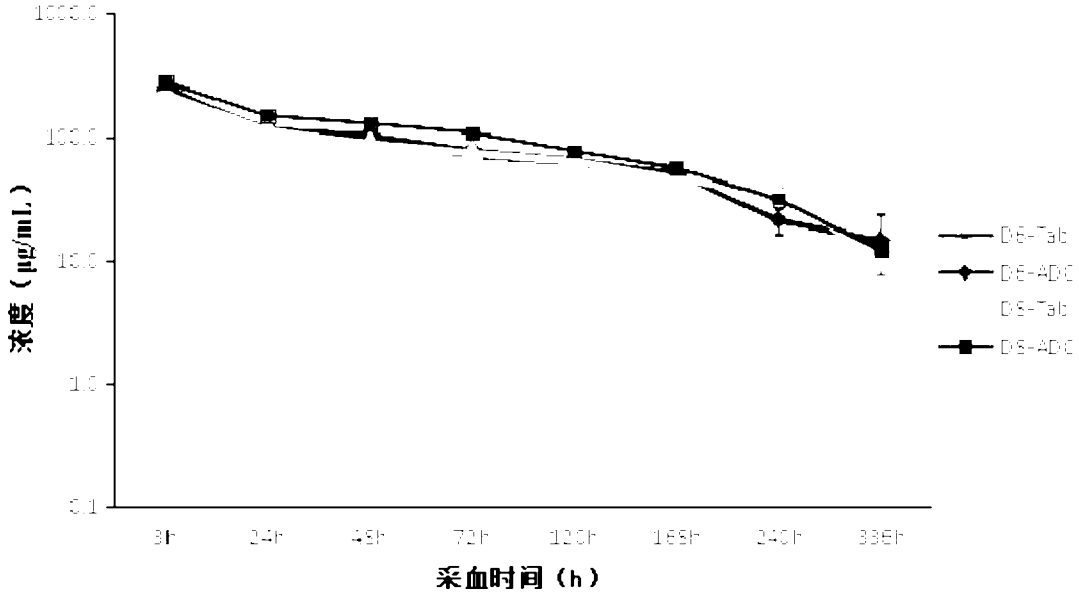

浓度（μg/mL）
采血时间（h）
D6-Tab
D6-ADC
D8-Tab
D8-ADC

图6

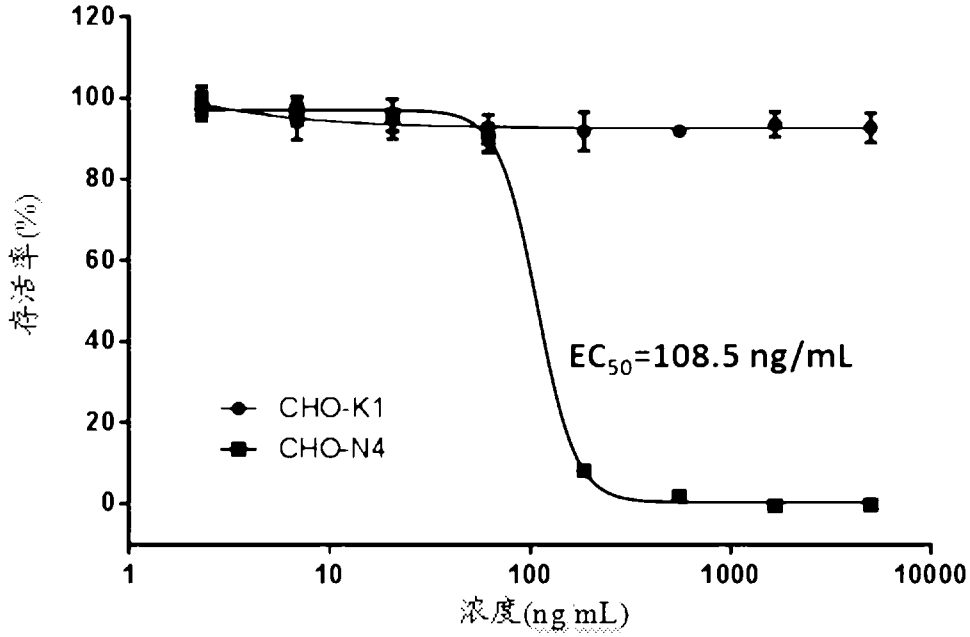

存活率(%)
浓度(ng mL)
EC50=108.5 ng/mL
CHO-K1
CHO-N4

图7A

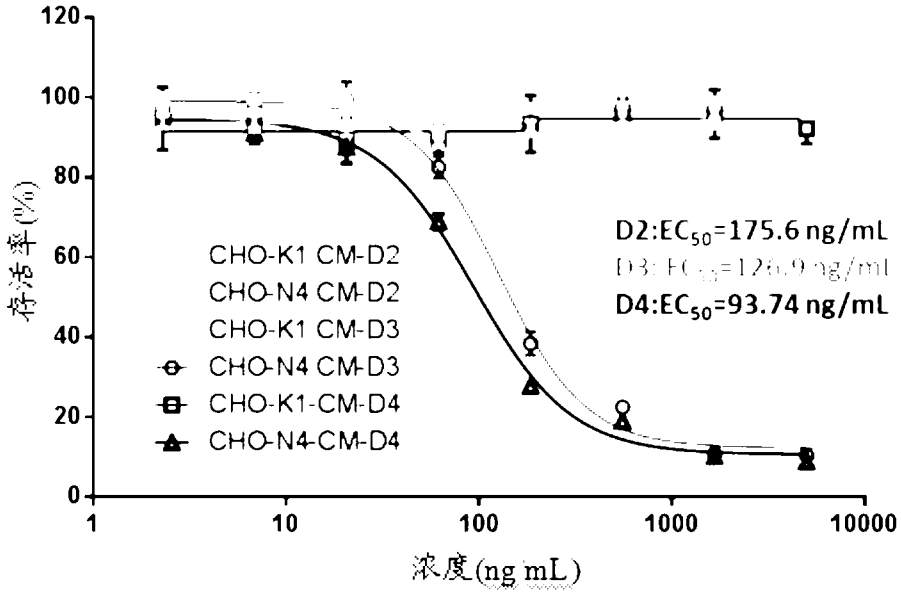

120
100
80
60
40
20
0
存活率(%)
CHO-K1 CM-D2
CHO-N4 CM-D2
CHO-K1 CM-D3
CHO-N4 CM-D3
CHO-K1-CM-D4
CHO-N4-CM-D4
D2:EC50=175.6 ng/mL
D4:EC50=93.74 ng/mL
1
10
100
1000
10000
浓度(ng mL)

图7B

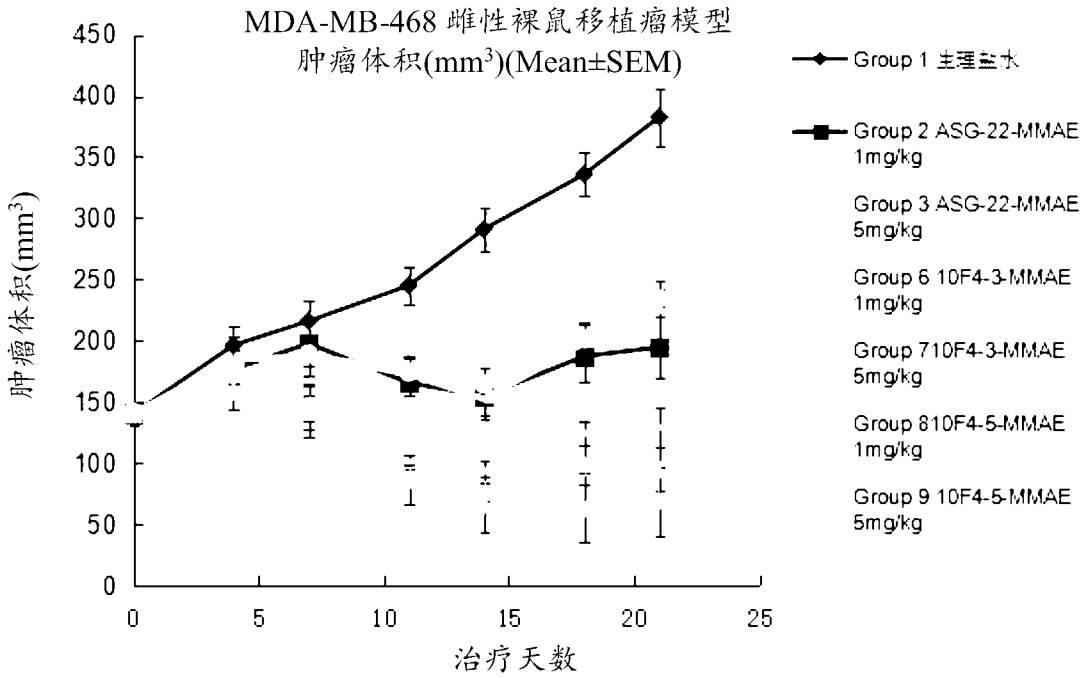

MDA-MB-468 雌性裸鼠移植瘤模型
肿瘤体积(mm3)(Mean±SEM)
肿瘤体积(mm3)
450
400
350
300
250
200
150
100
50
0
0
5
10
15
20
25
治疗天数
Group 1 生理盐水
Group 2 ASG-22-MMAE 1mg/kg
Group 3 ASG-22-MMAE 5mg/kg
Group 6 10F4-3-MMAE 1mg/kg
Group 710F4-3-MMAE 5mg/kg
Group 810F4-5-MMAE 1mg/kg
Group 9 10F4-5-MMAE 5mg/kg

图8

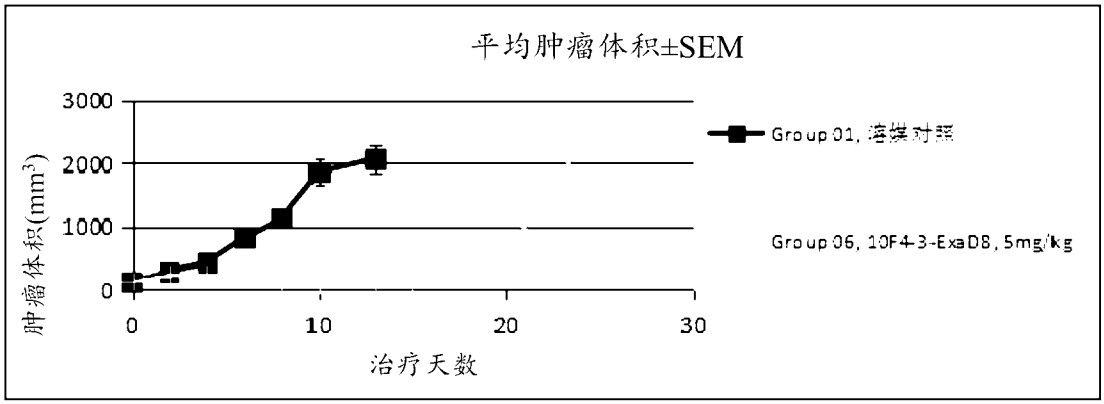

平均肿瘤体积±SEM
3000
2000
1000
0
肿瘤体积(mm3)
0
10
20
30
治疗天数
Group 01, 溶媒对照
Group 06, 10F4-3-ExaD8, 5mg/kg

图9

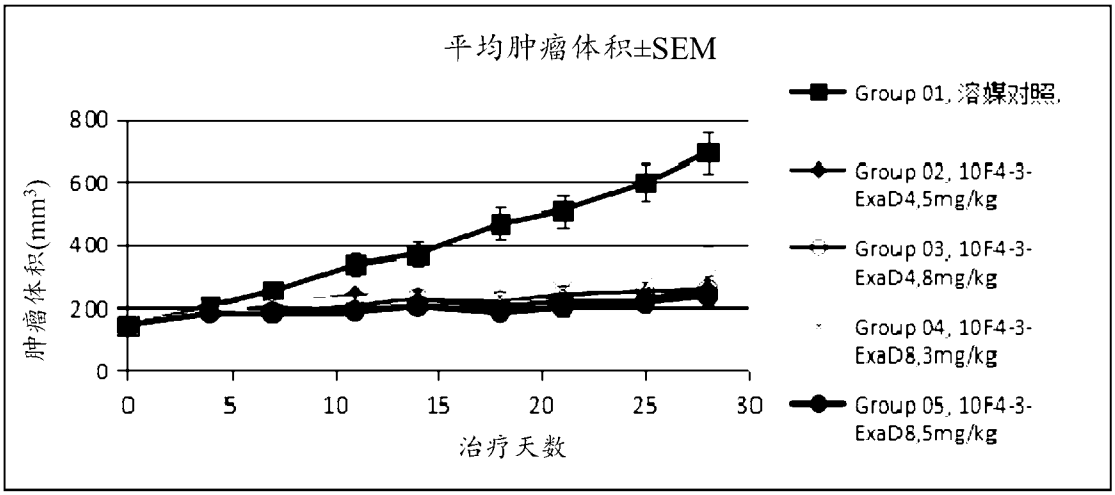

平均肿瘤体积±SEM
800
600
400
200
0
肿瘤体积(mm3)
0
5
10
15
20
25
30
治疗天数
Group 01, 溶媒对照,
Group 02, 10F4-3-ExaD4,5mg/kg
Group 03, 10F4-3-ExaD4,8mg/kg
Group 04, 10F4-3-ExaD8,3mg/kg
Group 05, 10F4-3-ExaD8,5mg/kg

图10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2023/107301

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K47/68(2017.01)i; A61K47/65(2017.01)i; C07K16/28(2006.01)i; A61P35/00(2006.01)i

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC: A61K, C07K, A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNABS, DWPI, CNTXT, EPTXT, WOTXT, USTXT, CNKI, ISI web of science, baidu, Pubmed, NCBI, STN on Web, genbank, blast, 中文专利序列检索系统, China Patent Biological Sequence Search System, 百奥泰生物制药股份有限公司, 梅星星, Nectin-4, 偶联, 缀合, conjugates, 树碱, 依喜替康, exatecan, 框架, Fr1-4, 聚乙二醇, 连接子, linker, PEG, SEQ ID NOs: 7-38, 41-358

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	WO 2022253284 A1 (BIO-THERA SOLUTIONS, LTD.) 08 December 2022 (2022-12-08) claims 1-35	1-19, 28-30
PY	WO 2022253284 A1 (BIO-THERA SOLUTIONS, LTD.) 08 December 2022 (2022-12-08) claims 1-35	20-30
PX	WO 2022228406 A1 (JIANGSU HENGRUI PHARMACEUTICALS CO., LTD. et al.) 03 November 2022 (2022-11-03) claims 13-24	1, 28-30
PY	WO 2022228406 A1 (JIANGSU HENGRUI PHARMACEUTICALS CO., LTD. et al.) 03 November 2022 (2022-11-03) claims 1-8	20-30

☑ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☑ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"D" document cited by the applicant in the international application
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
12 October 2023	**19 October 2023**
Name and mailing address of the ISA/CN **China National Intellectual Property Administration (ISA/CN)** **China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088**	Authorized officer Telephone No.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2021151984 A1 (INNATE PHARMA) 05 August 2021 (2021-08-05) page 11, lines 10-26, page 35, line 1 to page 38, line 13, page 46, line 5 to page 58, line 8, page 53, line 15, page 64, paragraph 2, page 66, line 5, page 70, line 15, page 73, line 30 to page 74, line 35, page 86, paragraph 2 from the bottom, page 93, line 20, and page 93, paragraph 1	1-30
X	WO 2022057651 A1 (SICHUAN KELUN-BIOTECH BIOPHARMACEUTICAL CO., LTD.) 24 March 2022 (2022-03-24) claims 1-29	1, 28-30
Y	WO 2022057651 A1 (SICHUAN KELUN-BIOTECH BIOPHARMACEUTICAL CO., LTD.) 24 March 2022 (2022-03-24) claims 1-29	2-30
Y	US 2021093733 A1 (OBI PHARMA, INC.) 01 April 2021 (2021-04-01) description, page 58	2-30
Y	WO 2022076767 A1 (AGENSYS, INC.) 14 April 2022 (2022-04-14) abstract, and claims 30-34	20-30
A	WO 2021257525 A1 (BIOATLA, INC.) 23 December 2021 (2021-12-23) entire document	1-30

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2023/107301

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

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
   a. ☑ forming part of the international application as filed.
   b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13*ter*.1(a)),
      ☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.

2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2023/107301

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

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

1. ☑ Claims Nos.: **29, 30**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claims 29 (in part) and 30 relate to a method for treatment of a disease (PCT Rule 39.1(iv)); however, the search opinion is still provided on the basis of the pharmaceutical use thereof.

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

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2023/107301

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
WO	2022253284	A1	08 December 2022	None			
WO	2022228406	A1	03 November 2022	TW	202302649	A	16 January 2023
WO	2021151984	A1	05 August 2021	EP	4096717	A1	07 December 2022
				US	2023099149	A1	30 March 2023
				CA	3160557	A1	05 August 2021
				AU	2021213421	A1	23 June 2022
				JP	2023512036	A	23 March 2023
WO	2022057651	A1	24 March 2022	PE	20230844	A1	23 May 2023
				ECSP	23019525	A	31 May 2023
				DOP	2023000054	A	15 June 2023
				AU	2021345721	A1	20 April 2023
				IL	301387	A	01 May 2023
				CO	2023003210	A2	17 April 2023
				EP	4215546	A1	26 July 2023
				BR	112022026611	A2	11 April 2023
				KR	20230069111	A	18 May 2023
				CA	3194765	A1	24 March 2022
US	2021093733	A1	01 April 2021	None			
WO	2022076767	A1	14 April 2022	KR	20230106607	A	13 July 2023
				IL	302006	A	01 June 2023
				TW	202228788	A	01 August 2022
				CA	3198359	A1	14 April 2022
				EP	4225379	A1	16 August 2023
				AU	2021356542	A1	25 May 2023
WO	2021257525	A1	23 December 2021	US	2023235054	A1	27 July 2023
				TW	202204425	A	01 February 2022
				CA	3182395	A1	23 December 2021
				KR	20230038711	A	21 March 2023
				AU	2021293183	A1	16 February 2023
				JP	2023531185	A	21 July 2023
				IL	298903	A	01 February 2023
				EP	4168453	A1	26 April 2023

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2023/107301

A. 主题的分类

A61K47/68(2017.01)i；A61K47/65(2017.01)i；C07K16/28(2006.01)i；A61P35/00(2006.01)i

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

IPC：A61K，C07K，A61P

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称，和使用的检索词（如使用））

CNABS，DWPI，CNTXT，EPTXT，WOTXT，USTXT，CNKI，ISI web of science，baidu，Pubmed，NCBI, STN on Web, genbank, blast, 中文专利序列检索系统，百奥泰生物制药股份有限公司，梅星星，Nectin-4，偶联，缀合，conjugates，树碱，依喜替康，exatecan，框架，Fr1-4，聚乙二醇，连接子，linker，PEG，SEQ ID NOs：7-38,41-358

C. 相关文件

类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
PX	WO 2022253284 A1 (百奥泰生物制药股份有限公司) 2022年12月8日 (2022 - 12 - 08) 权利要求1-35	1-19,28-30
PY	WO 2022253284 A1 (百奥泰生物制药股份有限公司) 2022年12月8日 (2022 - 12 - 08) 权利要求1-35	20-30
PX	WO 2022228406 A1 (江苏恒瑞医药股份有限公司 等) 2022年11月3日 (2022 - 11 - 03) 权利要求13-24	1,28-30
PY	WO 2022228406 A1 (江苏恒瑞医药股份有限公司 等) 2022年11月3日 (2022 - 11 - 03) 权利要求1-8	20-30
X	WO 2021151984 A1 (INNATE PHARMA) 2021年8月5日 (2021 - 08 - 05) 第11页第10-26行，第35页第1行-第38页第13行，第46页第5行-第58页第8行，第53页第15行，第64页第2段，第66页第5行，第70页第15行，第73页第30行-第74页第35行，第86页倒数第2段、第93页第20行、第93页第1段	1-30
X	WO 2022057651 A1 (四川科伦博泰生物医药股份有限公司) 2022年3月24日 (2022 - 03 - 24) 权利要求1-29	1,28-30

☑ 其余文件在C栏的续页中列出。

☑ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型：

"A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

"D" 申请人在国际申请中引证的文件

"E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

"L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件，或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件（如具体说明的）

"O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

"P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

"T" 在申请日或优先权日之后公布，与申请不相抵触，但为了理解发明之理论或原理的在后文件

"X" 特别相关的文件，单独考虑该文件，认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

"Y" 特别相关的文件，当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时，要求保护的发明不具有创造性

"&" 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期	国际检索报告邮寄日期
2023年10月12日	2023年10月19日
ISA/CN的名称和邮寄地址 中国国家知识产权局 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088	受权官员 陈皓 电话号码 (+86) 010-53962068

C. 相关文件

类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
Y	WO 2022057651 A1 (四川科伦博泰生物医药股份有限公司) 2022年3月24日 (2022 - 03 - 24) 权利要求1-29	2-30
Y	US 2021093733 A1 (OBI PHARMA, INC.) 2021年4月1日 (2021 - 04 - 01) 说明书第58页	2-30
Y	WO 2022076767 A1 (AGENSYS, INC.) 2022年4月14日 (2022 - 04 - 14) 说明书摘要，权利要求30-34	20-30
A	WO 2021257525 A1 (BIOATLA, INC.) 2021年12月23日 (2021 - 12 - 23) 全文	1-30

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2023/107301

第I栏　　核苷酸和/或氨基酸序列(续第1页第1.c项)

1. 关于国际申请中所公开的任何核苷酸和/或氨基酸序列,国际检索是基于下列序列表进行的：

a. ☑ 作为国际申请的一部分提交的：

b. ☐ 为国际检索的目的在国际申请日之后提交（细则13之三.1(a)），

☐ 附有说明序列表不超出所提交国际申请公开范围的声明。

2. ☐ 本报告是在没有收到符合WIPO ST.26标准的序列表的情况下，考虑了国际申请中披露的任何核苷酸和/或氨基酸序列，在可进行有意义检索的范围内做出的。

3. 补充意见：

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2023/107301

第II栏　某些权利要求被认为是不能检索的意见(续第1页第2项）

根据条约第17条(2)(a)，对某些权利要求未做国际检索报告的理由如下:

1. ☑ 权利要求：29,30
因为它们涉及不要求本单位进行检索的主题，即：

权利要求29（部分）、30涉及PCT细则39.1（iv）规定的疾病的治疗方法，但仍然基于其制药用途，做出检索意见。

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

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

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2023/107301

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
WO	2022253284	A1	2022年12月8日	无			
WO	2022228406	A1	2022年11月3日	TW	202302649	A	2023年1月16日
WO	2021151984	A1	2021年8月5日	EP	4096717	A1	2022年12月7日
				US	2023099149	A1	2023年3月30日
				CA	3160557	A1	2021年8月5日
				AU	2021213421	A1	2022年6月23日
				JP	2023512036	A	2023年3月23日
WO	2022057651	A1	2022年3月24日	PE	20230844	A1	2023年5月23日
				ECSP	23019525	A	2023年5月31日
				DOP	2023000054	A	2023年6月15日
				AU	2021345721	A1	2023年4月20日
				IL	301387	A	2023年5月1日
				CO	2023003210	A2	2023年4月17日
				EP	4215546	A1	2023年7月26日
				BR	112022026611	A2	2023年4月11日
				KR	20230069111	A	2023年5月18日
				CA	3194765	A1	2022年3月24日
US	2021093733	A1	2021年4月1日	无			
WO	2022076767	A1	2022年4月14日	KR	20230106607	A	2023年7月13日
				IL	302006	A	2023年6月1日
				TW	202228788	A	2022年8月1日
				CA	3198359	A1	2022年4月14日
				EP	4225379	A1	2023年8月16日
				AU	2021356542	A1	2023年5月25日
WO	2021257525	A1	2021年12月23日	US	2023235054	A1	2023年7月27日
				TW	202204425	A	2022年2月1日
				CA	3182395	A1	2021年12月23日
				KR	20230038711	A	2023年3月21日
				AU	2021293183	A1	2023年2月16日
				JP	2023531185	A	2023年7月21日
				IL	298903	A	2023年2月1日
				EP	4168453	A1	2023年4月26日