



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I832235 B

(45)公告日：中華民國 113 (2024) 年 02 月 11 日

(21)申請案號：111117333

(22)申請日：中華民國 111 (2022) 年 05 月 09 日

(51)Int. Cl. : C07K16/28 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

A61K47/68 (2017.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2021/05/08

中國大陸

202110502421.4

(71)申請人：大陸商榮昌生物製藥（煙臺）股份有限公司（中國大陸）REMEGEN CO., LTD.
(CN)

中國大陸

(72)發明人：房 健民 FANG, JIANMIN (CA)；李 元浩 LI, YUANHAO (US)；朱 瑪麗 M
ZHU, MARIE M. (US)；姜靜 JIANG, JING (CN)；沈月雷 SHEN, YUELEI (CN)；
李慎軍 LI, SHENJUN (CN)；羅文婷 LUO, WENTING (CN)；張曉萍 ZHANG,
XIAOPING (CN)；王麗麗 WANG, LILI (CN)；王凌 WANG, LING (CN)；張欽
斌 ZHANG, QINBIN (CN)；楊放 YANG, FANG (CN)

(74)代理人：李錦招

(56)參考文獻：

TW 202108627A

WO 2019/242505A1

WO 2020/228806A1

審查人員：吳思瑩

申請專利範圍項數：27 項 圖式數：7 共 57 頁

(54)名稱

一種抗 Claudin18.2 抗體及其抗體藥物偶聯物

(57)摘要

本發明提供了一種靶向 Claudin 18.2 的抗體、抗體藥物偶聯物及其在治療癌症中的用途。本發明還提供了編碼上述 Claudin 18.2 抗體的核苷酸、多核苷酸組合、表達載體及表達載體組合、包含上述 Claudin 18.2 的抗體、抗體藥物偶聯物的藥物組合物以及它們在製備治療或預防癌症藥物中的應用。

The present invention provides an antibody targeting Claudin 18.2, an antibody-drug conjugate and its use in treating cancer. The present invention also provides nucleotides, polynucleotide combinations, expression vectors and expression vector combinations encoding the above-mentioned Claudin 18.2 antibodies, pharmaceutical compositions comprising the above-mentioned Claudin 18.2 antibodies or antibody-drug conjugates, and their use in manufacture of a medicament for treatment or prevention of a cancer.

指定代表圖：

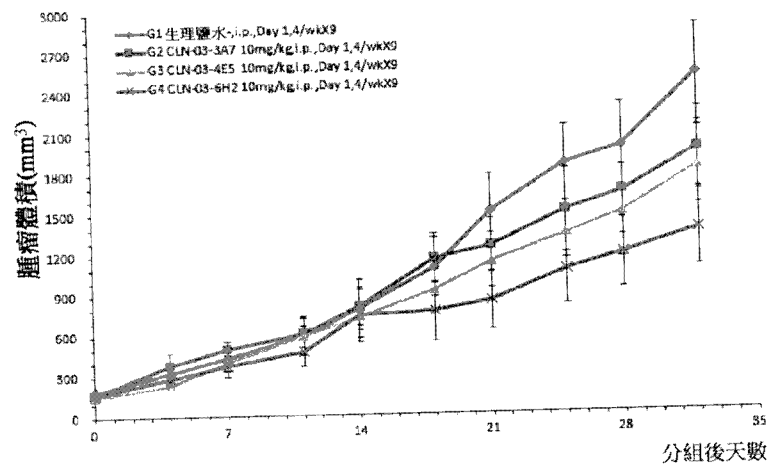


圖1

I832235

發明摘要

※ 申請案號：

※ 申請日：

※IPC 分類：

【發明名稱】

一種抗 Claudin18.2 抗體及其抗體藥物偶聯物

An anti-Claudin18.2 antibody and its antibody-drug conjugate

【中文】

本發明提供了一種靶向 **Claudin 18.2** 的抗體、抗體藥物偶聯物及其在治療癌症中的用途。本發明還提供了編碼上述 **Claudin 18.2** 抗體的核苷酸、多核苷酸組合、表達載體及表達載體組合、包含上述 **Claudin 18.2** 的抗體、抗體藥物偶聯物的藥物組合物以及它們在製備治療或預防癌症藥物中的應用。

【英文】

The present invention provides an antibody targeting **Claudin 18.2**, an antibody-drug conjugate and its use in treating cancer. The present invention also provides nucleotides, polynucleotide combinations, expression vectors and expression vector combinations encoding the above-mentioned **Claudin 18.2** antibodies, pharmaceutical compositions comprising the above-mentioned **Claudin 18.2** antibodies or antibody-drug conjugates, and their use in manufacture of a medicament for treatment or prevention of a cancer.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（ 圖1 ）圖。

無

【本代表圖之符號簡單說明】：

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

發明專利說明書

【發明名稱】

一種抗 Claudin18.2 抗體及其抗體藥物偶聯物
An anti-Claudin18.2 antibody and its antibody-drug conjugate

【技術領域】

【0001】 本發明涉及生物醫藥領域，尤其涉及一種抗 Claudin18.2 抗體及其抗體藥物偶聯物，本發明還涉及上述抗體及其抗體藥物偶聯物的用途。

【先前技術】

【0002】 近年來，全球惡性腫瘤的總體發病率呈現持續升高的趨勢，嚴重威脅著人類的健康和生存。目前臨床上治療惡性腫瘤主要以手術、化療和放療為主，但是都很難達到滿意的療效。抗體藥物偶聯物(antibody-drug conjugate，ADC)是一種通過化學連接子(Linker)將具有生物活性的藥物(Drug)和抗體(Antibody)連接起來的一類生物藥。近些年，多個抗體藥物偶聯物在治療惡性腫瘤方面取得了突破性的進展，使其成為了繼手術、化療、放療後的一大新興治療方法。但截止到 2021 年 3 月，全球僅批准了 11 種抗體偶聯藥物(美國 FDA 批准了 10 種，日本 PMDA 批准了一種)，且獲批適應症種類較少，遠不能滿足目前惡性腫瘤患者的臨床需求。

表 1 已上市抗體藥物偶聯物

藥品通用名	公司	靶點	上市時間
Brentuximab vedotin	Seattle、武田	CD30	上市/2011 年
Ado-trastuzumab emtansine	基因泰克	Her2	上市/2013 年
Inotuzumab ozogamicin	輝瑞	CD22	上市/2017 年
Gemtuzumab ozogamicin	輝瑞	CD33	上市/2017 年
Moxetumomab pasudotox-tdfk	阿斯利康	CD22	上市/2018 年
Enfortumab vedotin-ejfv	西雅圖/阿斯泰來	Nectin-4	上市/2019 年
Polatuzumab vedotin-pliq	基因泰克	CD79b	上市/2019 年

Fam-trastuzumab deruxtecan-nxki	阿斯利康/日本第一三共	Her2	上市/2019 年
Sacituzumab govitecan-hziy	Immunomedics	Trop2	上市/2020 年
Belantamab mafodotin	Glaxosmithkline (Ireland) Ltd	BCMA	上市/2020 年
Cetuximab sarotalocan	Rakuten Medical	EGFR	上市/2020 年

注：Mylotarg 於 2000 年獲批上市後在 2010 年撤市，後於 2017 年重新獲批上市。

【0003】 細胞連接密蛋白(Claudins 或 CLDNs)廣泛分佈於各種上皮組織，是細胞緊密連接的重要結構成分。研究發現，CLDNs 蛋白與上皮細胞維持滲透壓、屏障功能以及細胞極性密切相關（文獻 1：Gunzel D. Claudins: vital partners in transcellular and paracellular transport coupling[J]. Pflugers Arch, 2017, 469(1):35-44.），且參與對病原體的免疫防禦過程（文獻 2：Colpitts CC, Baumert TF. Claudins in viral infection: from entry to spread[J]. Pflugers Arch, 2017, 469(1):27-34.）。另外，CLDNs 被證實在許多腫瘤的發生發展過程中存在表達模式的改變，將 CLDNs 譜系作為特異性標誌蛋白的靶向治療研究已得到廣泛關注。但是，儘管大部分的 CLDNs 廣泛表達，但其中的個別成員如 CLDN 18 蛋白往往高度選擇性地表達於胃腸道等特定組織。CLDN 18 基因位於人第 3 號染色體的 3q22.3，其基因第一個外顯子有兩種選擇，由此形成兩種不同的剪切突變體，可表達出 N 端 69 個不同胺基酸序列的兩種蛋白亞型，分別為 Claudin 18.1 蛋白和 CLDN 18.2 蛋白（文獻 3：Hayashi D, Tamura A, Tanaka H, et al. Deficiency of claudin- 18 causes paracellular H⁺ leakage, up- regulation of interleukin- 1 β , and atrophic gastritis in mice[J]. Gastroenterology, 2012, 142(2):292-304.），其中 Claudin 18.1 蛋白是肺泡上皮細胞選擇性表達的特異性抗原，僅在正常肺泡組織中高度表達，而在其他正常組織包括胰管等組織均未發現（文獻 4：Li G, Flodby P, Luo J, et al. Knockout mice reveal key roles for claudin 18 in alveolar barrier properties and fluid homeostasis[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2014, 51(2):210-222.）；Claudin 18.2 蛋白也是一種具有高度選擇性的標誌蛋白，但其分佈的組織與 Claudin 18.1 蛋白完全不同。Claudin 18.2 蛋白在正常健康組織中表達高度受限，但在胃癌、乳腺癌、結腸癌、肝癌、頭頸癌、支氣管癌以及非小細胞肺癌等多種原發惡性腫瘤中異常啟動和過度表達，尤其好

發於消化系統惡性腫瘤，包括胃癌(70%)，胰腺癌(50%)，食管癌(30%)等(文獻 5：Kumar V, Soni P, Garg M, et al. Emerging Therapies in the Management of Advanced-Stage Gastric Cancer[J]. Front Pharmacol, 2018, 9:404.)。另有研究表明，CLDN 18.2 蛋白的表達並不局限于原發灶，在轉移灶中也高度表達，可能參與惡性腫瘤細胞增殖和趨化轉移的過程(文獻 6：Woll S, Schlitter AM, Dhaene K, et al. Claudin 18.2 is a target for IMAB362 antibody in pancreatic neoplasms[J]. Int J Cancer, 2014, 134(3):731-739；文獻 7：Jiang H, Shi Z, Wang P, et al. Claudin18.2-Specific Chimeric Antigen Receptor Engineered T Cells for the Treatment of Gastric Cancer[J]. J Natl Cancer Inst, 2018, 111(4):1-10.)。因此，Claudin 18.2 是一種非常理想的腫瘤患者標記物和抗腫瘤藥物開發靶點，特別是胃癌、胰腺癌、食管癌、肺癌、卵巢癌等，但是由於其靶點的特殊性(結構與 Claudin 18.1 高度相似，且二者胞外區第一結構域完全相同)，Claudin 18.2 治療性抗體的開發非常困難，這也是限制 Claudin 18.2 靶向藥物開發的主要原因。

【0004】 目前靶向 Claudin 18.2 的抗體藥物偶聯物均處於臨床前研究階段，尚無一款推進到臨床階段。因此，開發靶向 Claudin 18.2 的抗體藥物偶聯物為臨床提供更多的選擇已迫在眉睫。

【發明內容】

【0005】 本發明提供了一種靶向 Claudin 18.2 的抗體、抗體藥物偶聯物及其在治療癌症中的用途。本發明還提供了編碼上述 Claudin 18.2 抗體的核苷酸、多核苷酸組合、表達載體及表達載體組合、包含上述 Claudin 18.2 的抗體、抗體藥物偶聯物的藥物組合物以及它們在製備治療或預防癌症藥物中的應用。

【0006】 具體的，本發明提供了一種抗 Claudin18.2 抗體或其抗原結合片段，所述抗體或其抗原結合片段包括重鏈可變區和輕鏈可變區，所述重鏈可變區的 CDR 和/或所述輕鏈可變區的 CDR 與如下序列限定的抗體具有相同的 CDR 序列或在如下序列限定的抗體的 CDR 上進行 1-2 胺基酸替換，所述序列限定的抗體為：

(1) 重鏈可變區胺基酸序列為 SEQ ID NO:1 所示；和/或

(2) 輕鏈可變區胺基酸序列為 SEQ ID NO:2 所示。

【0007】 在特定實施方案中，根據採用不同的測定方法或系統認定，相

應重鏈和輕鏈可變區的互補決定區 CDR1-3 如表 2 所示。

表 2 重鏈和輕鏈可變區 CDR1-3 胺基酸序列

類別	系統	CDR1	CDR2	CDR3
重鏈	Chothia	SEQ ID NO:3 GYAFTNY	SEQ ID NO:8 NPGSGG	SEQ ID NO:13 GGYYGNSFAY
	AbM	SEQ ID NO:4 GYAFTNYLIE	SEQ ID NO:9 LINPGSGGTN	SEQ ID NO:14 GGYYGNSFAY
	Kabat	SEQ ID NO:5 NYLIE	SEQ ID NO:10 LINPGSGGTNYNEKFKG	SEQ ID NO:15 GGYYGNSFAY
	Contact	SEQ ID NO:6 TNYLIE	SEQ ID NO:11 WMGLINPGSGGTN	SEQ ID NO:16 ARGGYYGNSFA
	IMGT	SEQ ID NO:7 GYAFTNYL	SEQ ID NO:12 INPGSGGT	SEQ ID NO:17 ARGGYYGNSFAY
輕鏈	Chothia	SEQ ID NO:18 KSSQSLLNSGNQKNYLT	SEQ ID NO:23 WASTRES	SEQ ID NO:28 QNAYYYPYT
	AbM	SEQ ID NO:19 KSSQSLLNSGNQKNYLT	SEQ ID NO:24 WASTRES	SEQ ID NO:29 QNAYYYPYT
	Kabat	SEQ ID NO:20 KSSQSLLNSGNQKNYLT	SEQ ID NO:25 WASTRES	SEQ ID NO:30 QNAYYYPYT
	Contact	SEQ ID NO:21 LNSGNQKNYLTWY	SEQ ID NO:26 LLIYWASTRE	SEQ ID NO:31 QNAYYYPY
	IMGT	SEQ ID NO:22 QSLNLSGNQKNY	SEQ ID NO:27 WAS	SEQ ID NO:32 QNAYYYPYT

【0008】 進一步的，本發明還提供了一種抗 Claudin18.2 抗體或抗原結合片段，在某些具體實施方案中，其包含重鏈和輕鏈可變區序列，其中

(1)重鏈可變區 CDR1 胺基酸序列如 SEQ ID NO:3、4、5、6 或 7 所示或對 SEQ ID NO:3、4、5、6 或 7 進行 1 或 2 個胺基酸替換後的胺基酸序

列；CDR2 胺基酸序列如 SEQ ID NO:8、9、10、11 或 12 所示或對 SEQ ID NO:8、9、10、11 或 12 進行 1 或 2 個胺基酸替換後的胺基酸序列；CDR3 胺基酸序列如 SEQ ID NO:13、14、15、16 或 17 所示或對 SEQ ID NO:13、14、15、16 或 17 進行 1 或 2 個胺基酸替換後的胺基酸序列；

(2)輕鏈可變區 CDR1 胺基酸序列如 SEQ ID NO:18、19、20、21 或 22 所示或對 SEQ ID NO:18、19、20、21 或 22 進行 1 或 2 個胺基酸替換後的胺基酸序列；CDR2 胺基酸序列如 SEQ ID NO:23、24、25、26 或 27 所示或對 SEQ ID NO:23、24、25、26 或 27 進行 1 或 2 個胺基酸替換後的胺基酸序列；CDR3 胺基酸序列如 SEQ ID NO:28、29、30、31 或 32 所示或對 SEQ ID NO:28、29、30、31 或 32 進行 1 或 2 個胺基酸替換後的胺基酸序列。

【0009】 進一步的，本發明提供的抗 Claudin18.2 抗體或抗原結合片段，在某些具體的實施方案中，其中：

(1)重鏈可變區 CDR 1-3 胺基酸序列為 SEQ ID NO:3、8、13 或對 SEQ ID NO:3、8、13 進行 1 或 2 個胺基酸替換後的胺基酸序列；和/或輕鏈可變區 CDR 1-3 胺基酸序列為 SEQ ID NO:18、23、28 或對 SEQ ID NO:18、23、28 進行 1 或 2 個胺基酸替換後的胺基酸序列；

(2)重鏈可變區 CDR 1-3 胺基酸序列為 SEQ ID NO:4、9、14 或對 SEQ ID NO:4、9、14 進行 1 或 2 個胺基酸替換後的胺基酸序列；和/或輕鏈可變區 CDR 1-3 胺基酸序列為 SEQ ID NO:19、24、29 或對 SEQ ID NO:19、24、29 進行 1 或 2 個胺基酸替換後的胺基酸序列；

(3)重鏈可變區 CDR 1-3 胺基酸序列為 SEQ ID NO:5、10、15 或對 SEQ ID NO:5、10、15 進行 1 或 2 個胺基酸替換後的胺基酸序列；和/或輕鏈可變區 CDR 1-3 胺基酸序列為 SEQ ID NO:20、25、30 或對 SEQ ID NO:20、25、30 進行 1 或 2 個胺基酸替換後的胺基酸序列；

(4)重鏈可變區 CDR 1-3 胺基酸序列為 SEQ ID NO:6、11、16 或對 SEQ ID NO:6、11、16 進行 1 或 2 個胺基酸替換後的胺基酸序列；和/或輕鏈可變區 CDR 1-3 胺基酸序列為 SEQ ID NO:21、26、31 或對 SEQ ID NO:21、26、31 進行 1 或 2 個胺基酸替換後的胺基酸序列；

(5)重鏈可變區 CDR 1-3 胺基酸序列為 SEQ ID NO:7、12、17 或對 SEQ ID NO:7、12、17 進行 1 或 2 個胺基酸替換後的胺基酸序列；和/或輕鏈可變區 CDR 1-3 胺基酸序列為 SEQ ID NO:22、27、32 或對 SEQ ID NO:22、

27、32 進行 1 或 2 個胺基酸替換後的胺基酸序列。

【00010】 在某些具體實施方案中，本發明所提供的抗體或其抗原結合片段，其包括選自如下一組的可變區：

(1)重鏈可變區的胺基酸序列如 SEQ ID NO:1 所示，或與 SEQ ID NO:1 具有相同的 CDR 1-3 且與 SEQ ID NO:1 相比同一性大於 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99% 的序列；和/或

(2)輕鏈可變區的胺基酸序列如 SEQ ID NO:2 所示，或與 SEQ ID NO:2 具有相同的 CDR 1-3 且與 SEQ ID NO:2 相比同一性大於 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99% 的序列。

【00011】 在特定的實施例中，本發明涉及的抗 Claudin18.2 抗體的重鏈可變區胺基酸序列如下 (SEQ ID NO:1)：

```
QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYAFT NYLIEWVRQA PGQGLEWMGL INPGSGGTNY      60
NEKEFKGRVTM TRDTSTSTVY MELSSLRSED TAVYYCARGG YYGNSFAYWG QGTLVTVSS      119
```

【00012】 在特定的實施例中，本發明涉及的抗 Claudin18.2 抗體的輕鏈可變區胺基酸序列如下 (SEQ ID NO:2)：

```
DIVMTQSPLS LPVTPGEPAS ISCKSSQSLN NSGNQKNYLT WYLQKPGQSP QLLIYWASTR      60
ESGVPDRFSG SGSGTDFTLK ISRVEAEDVG VYYCQYAYY PYTFGGGTKV EIK      113
```

【00013】 在特定的實施例中，本發明涉及的抗 Claudin18.2 的：(1) 重鏈可變區的胺基酸序列如 SEQ ID NO:1 所示；和/或 (2) 輕鏈可變區的胺基酸序列如 SEQ ID NO:2 所示。

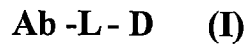
【00014】 在某些具體實施方案中，本發明所提供的抗體或其抗原結合片段，其中：(1)重鏈的胺基酸序列如 SEQ ID NO:33 所示；和/或(2)輕鏈的胺基酸序列如 SEQ ID NO:34 所示。

【00015】 本發明所提供的抗體可以是單株抗體、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂、Fv、單鏈 Fv(“scFv”)、雙抗體、雙特異性抗體、多特異性抗體、嵌合抗體、人源化抗體或包含抗體的抗原結合部分的融合蛋白；優選的，所述的抗體為人源化單株抗體。

【00016】 本發明所提供的抗體進一步包括人或鼠恒定區；優選的，所述恒定區選自 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4。

【00017】 本發明還提供了一種抗體藥物偶聯物，其含有前述任一項所述的抗體或其抗原結合片段。

【00018】 進一步的，所述的抗體藥物偶聯物結構如式(I)所示：



其中：

Ab 為前述任一項所述的抗體或其抗原結合片段；

D 為活性藥物單元；

L 為任一連接基團，其分別與抗體或其抗原結合片段 Ab 及活性藥物單元 D 共價連接；

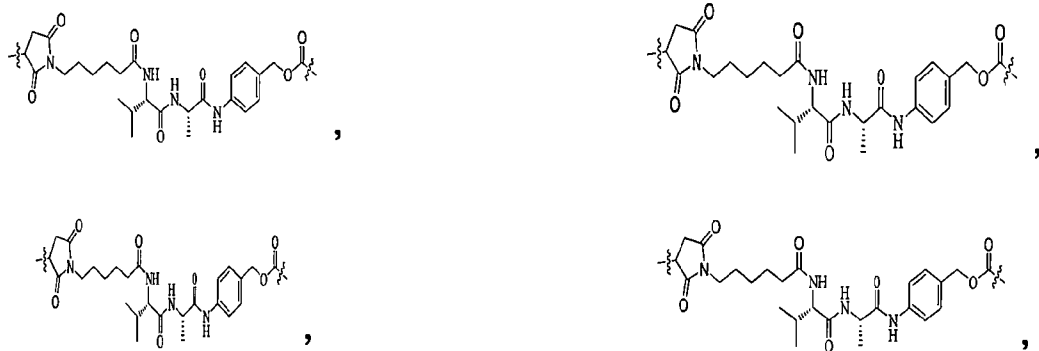
其中，所述 Ab 上通過一個或多個連接基團 L 連接一個或多個活性藥物單元 D。

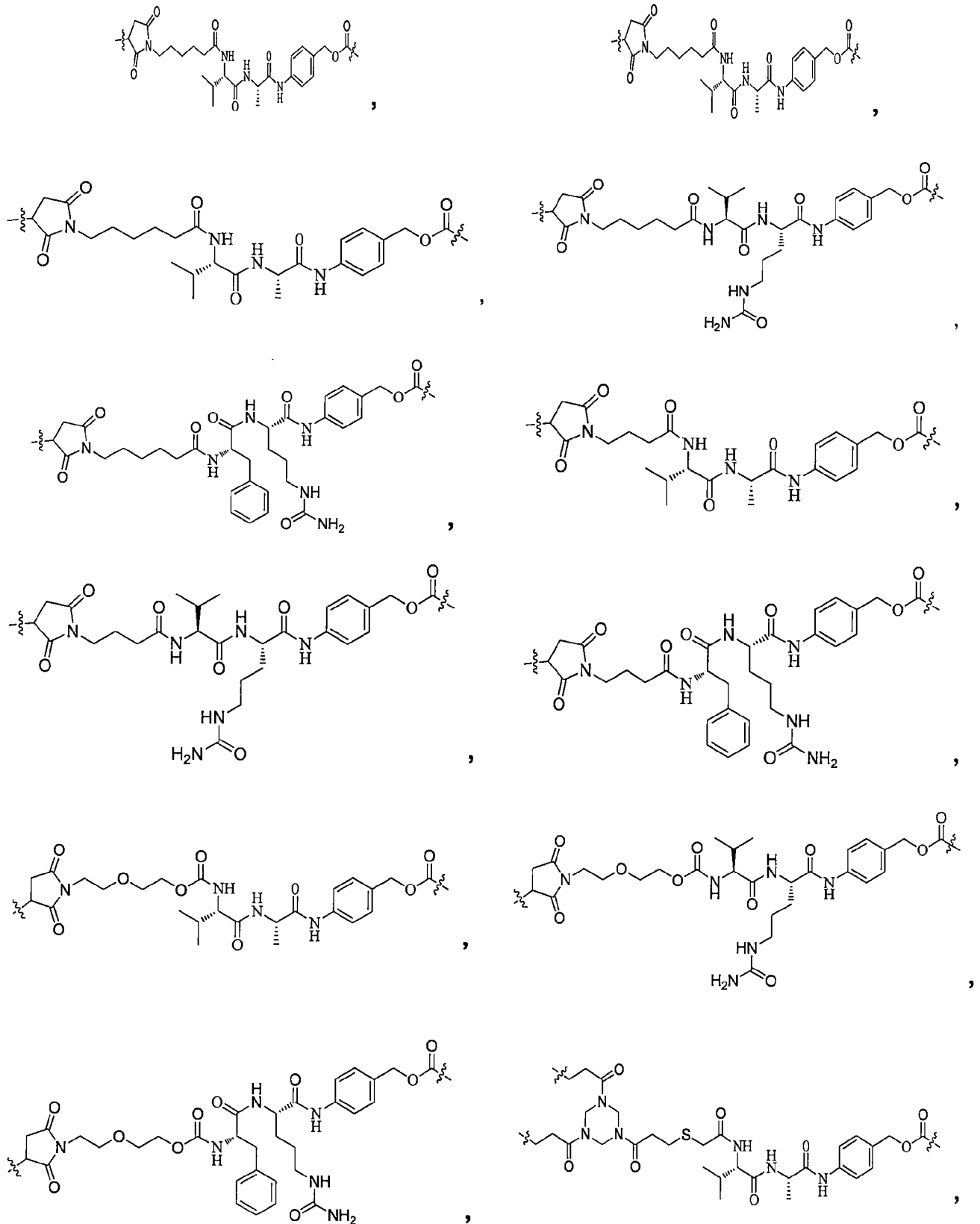
【00019】 進一步的，所述的 L 與抗體 Ab 上氨基殘基或巰基殘基共價連接；優選的，所述 L 與抗體 Ab 上的巰基殘基共價連接；更優選的，所述 L 與抗體 Ab 上的鏈間二硫鍵打開後形成的巰基殘基共價連接。

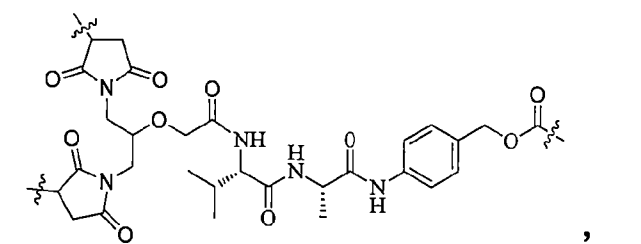
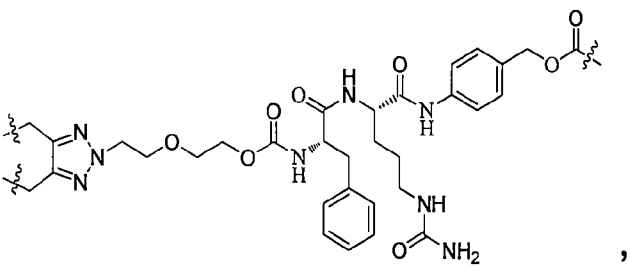
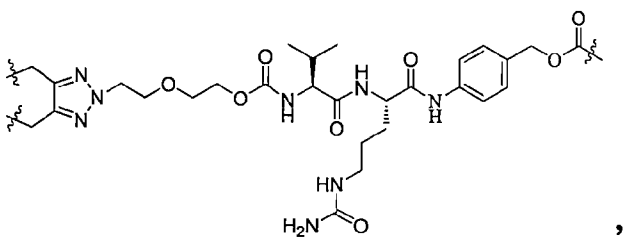
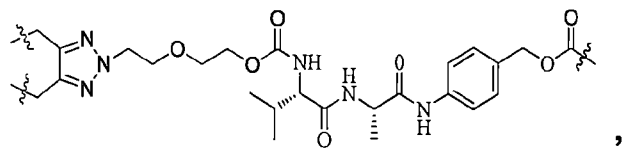
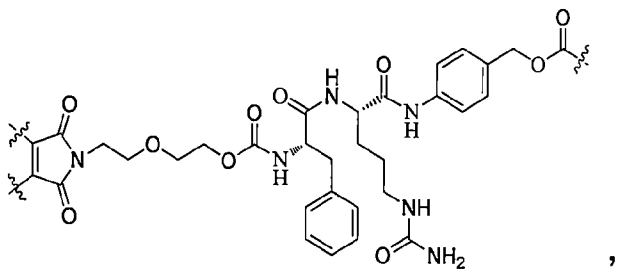
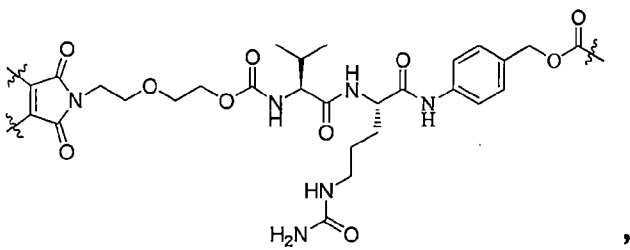
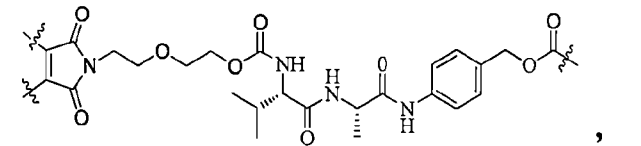
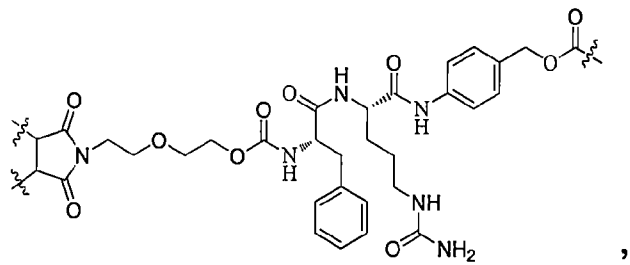
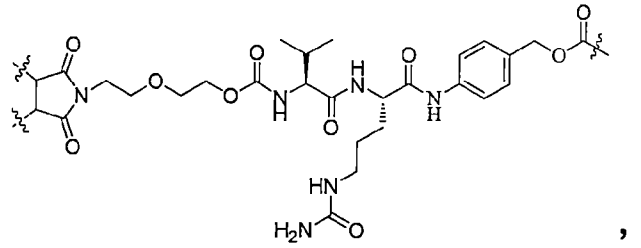
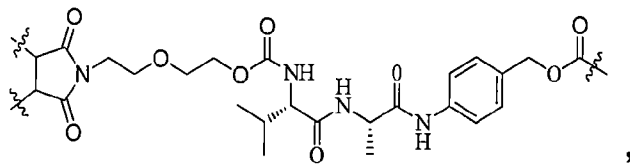
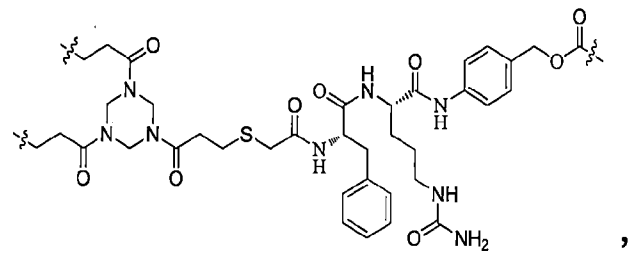
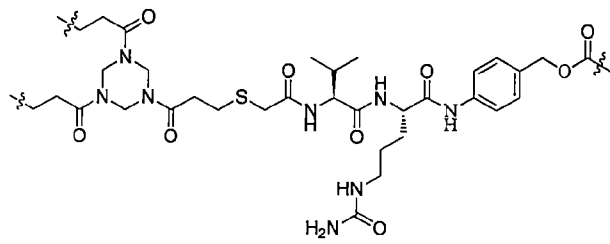
【00020】 進一步的，所述的 L 為可裂解連接子和不可裂解連接子。

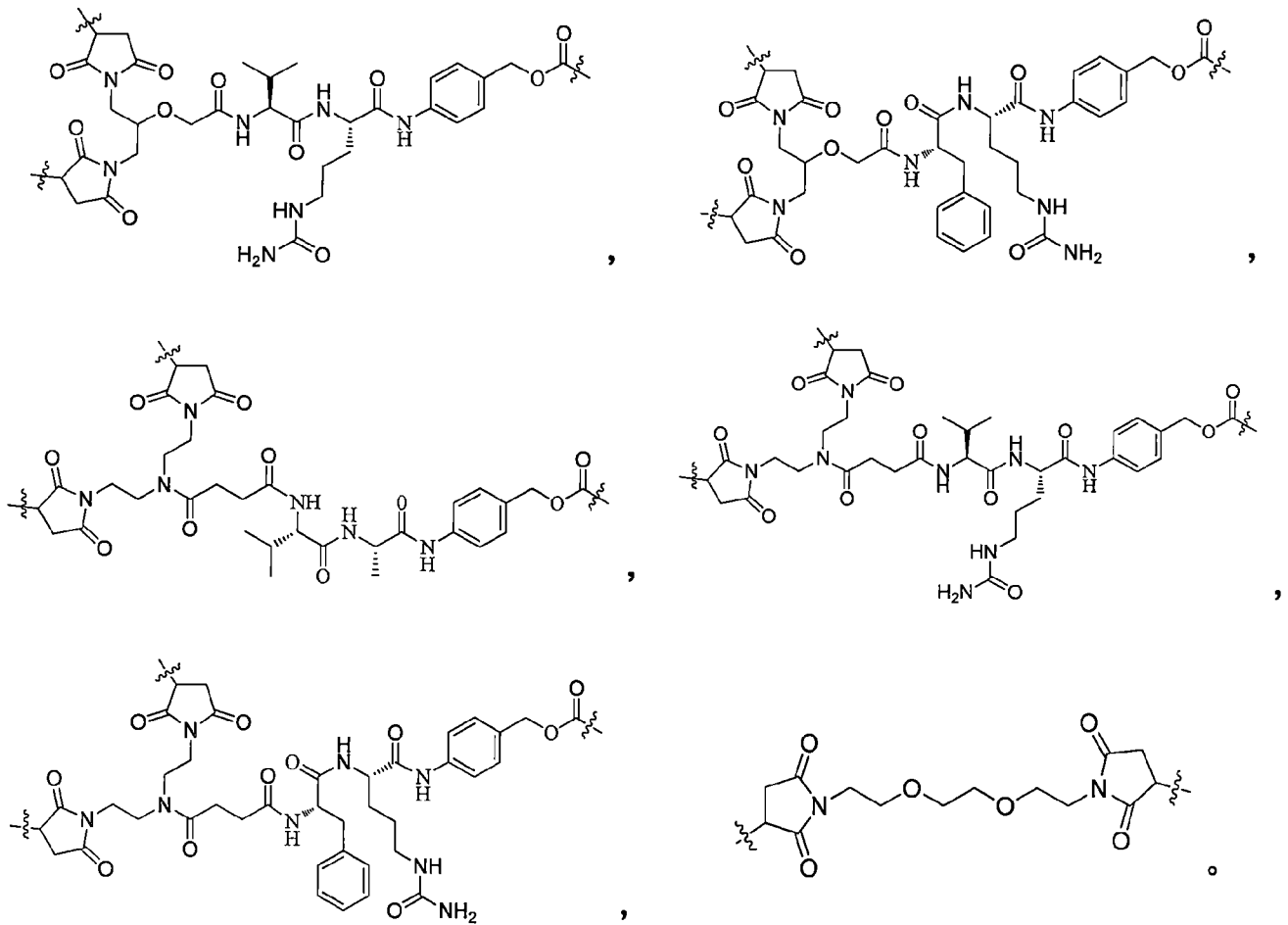
【00021】 更進一步的，所述的可裂解連接子包括肽單元，所述的肽單元包含 2-20 個胺基酸，優選的所述的肽單元選自由-纈胺酸-瓜胺酸-(-Val-Cit-)、-甘胺酸-甘胺酸-苯丙胺酸-甘胺酸-(-Gly-Gly-Phe-Gly-)、-纈胺酸-丙胺酸-(-Val-Ala-)、-纈胺酸-賴胺酸-(-Val-Lys-)、-纈胺酸-精胺酸-(-Val-Arg-)、-苯丙胺酸-瓜胺酸-(-Phe-Cit-)、-苯丙胺酸-賴胺酸-(-Phe-Lys-)、-苯丙胺酸-精胺酸-(-Phe-Arg-)及它們的組合。

【00022】 進一步的，前述任一項所述的抗體藥物偶聯物，其特徵在於，所述的 L 包括現有的連接子結構（專利公開號為 CN110997010A 的中國發明專利說明書第 7-10 頁）：

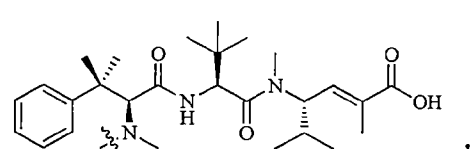
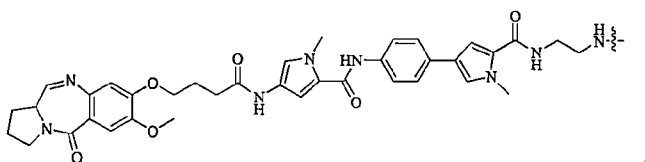
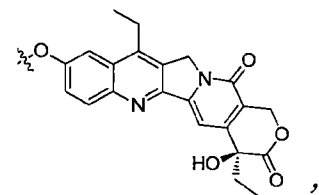
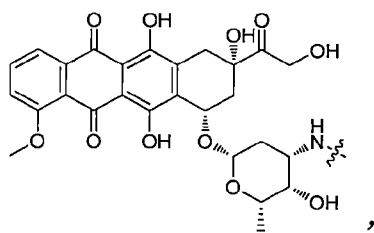
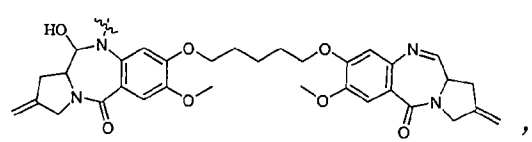
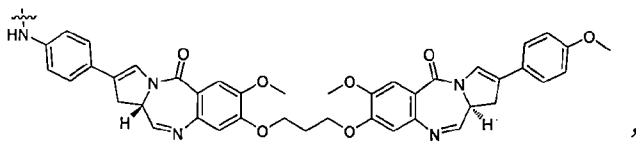
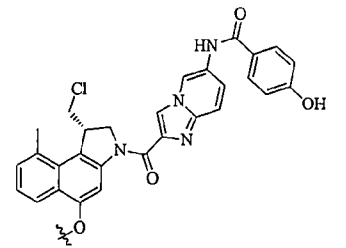
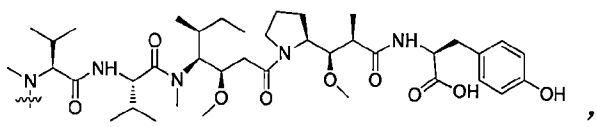
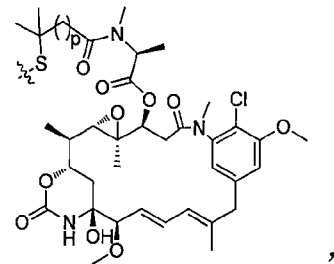
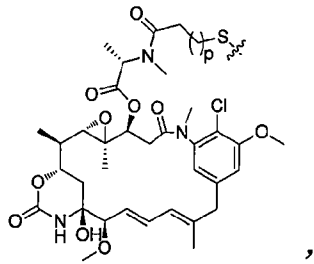
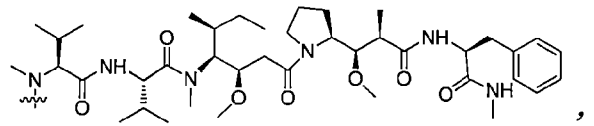
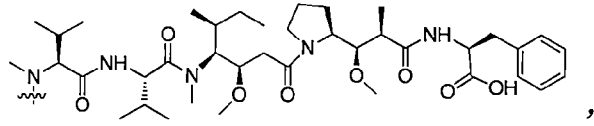
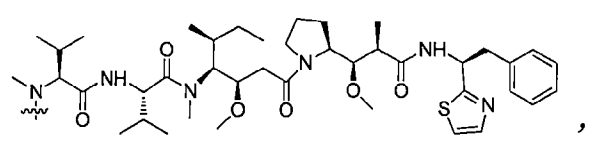
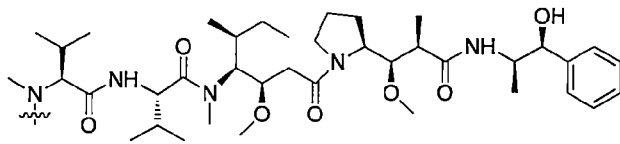


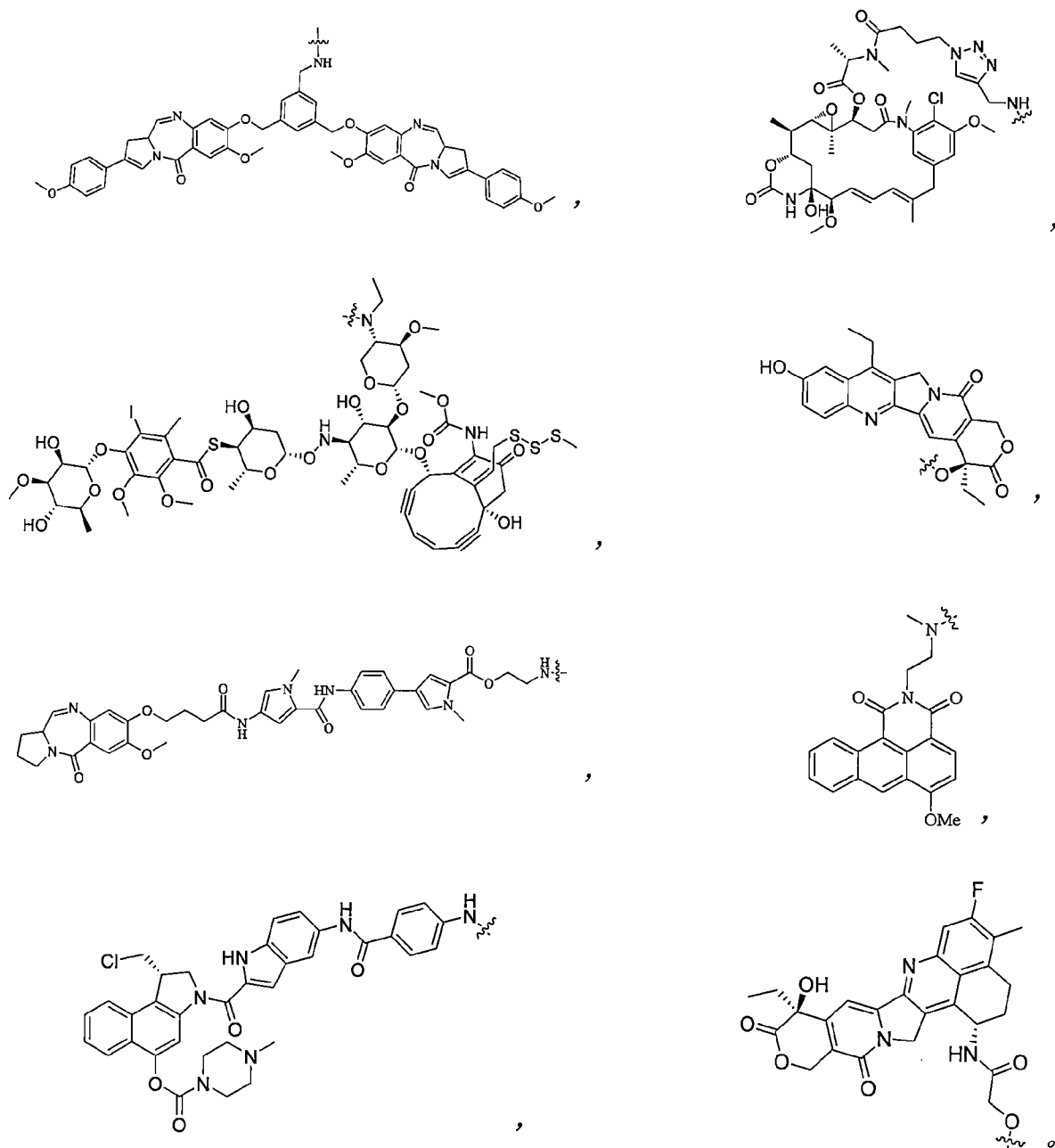




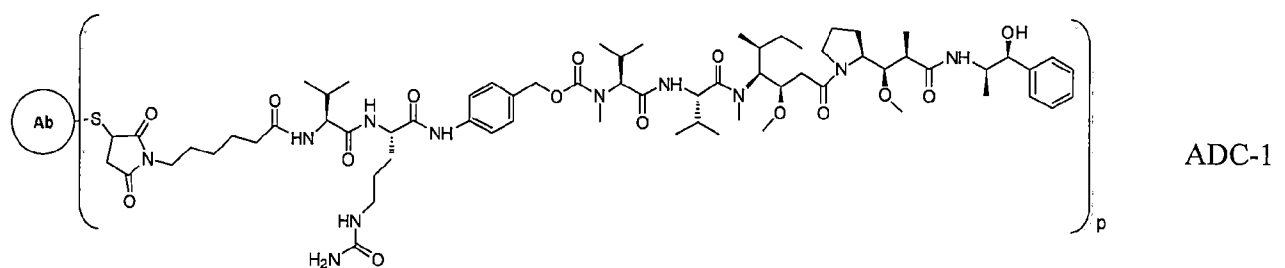


【00023】 進一步的，所述的活性藥物單元 **D** 為細胞毒分子、細胞分化因子、幹細胞營養因子、類固醇類藥物、治療自身免疫疾病的藥物、抗炎症藥物或治療傳染性疾病的藥物；優選的，所述細胞毒分子包括但不限於微管蛋白抑制劑或 DNA 損傷劑，所述微管蛋白抑制劑包括但不限於海兔毒素(dolastatin)及奧瑞他汀(auristatin)類細胞毒分子，美登素(maytansine)類細胞毒分子；所述 DNA 損傷劑包括但不限於卡奇黴素類(calicheamicin)、倍癌黴素(duocarmycin)類、安黴黴素類衍生物 PBD、喜樹碱(camptothecins)及喜樹碱類衍生物、SN-38；更優選的，所述奧瑞他汀(auristatin)類細胞素分子包括但不限於 MMAE 或 MMAF 或它們的衍生物，所述美登素類細胞毒分子包括但不限於 DM1、DM4 或它們的衍生物。更進一步的，所述的活性藥物單元 **D** 包含現有的用於 ADC 中的活性藥物單元（專利公開號為 CN110997010A 的中國發明專利說明書第 12-14 頁）：



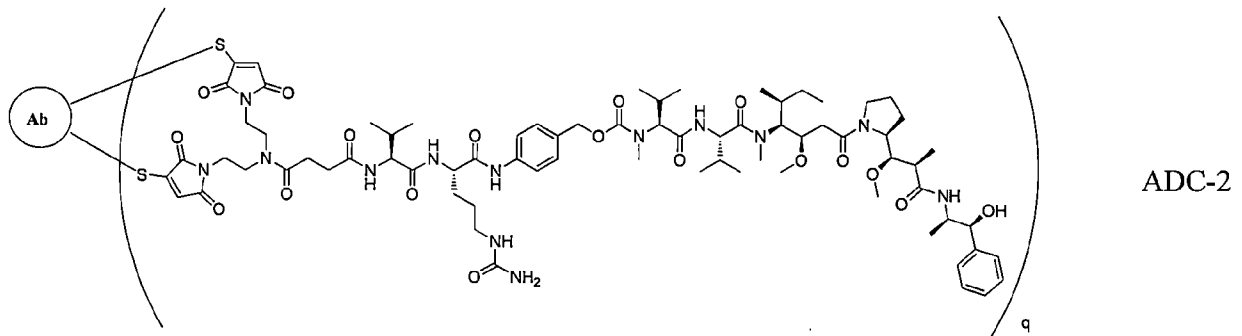


【00024】 在一些優選的實施例中，本發明提供了如下結構的抗體藥物偶聯物（即 **Ab--Mc-Val-Cit-PAB-MMAE**）：



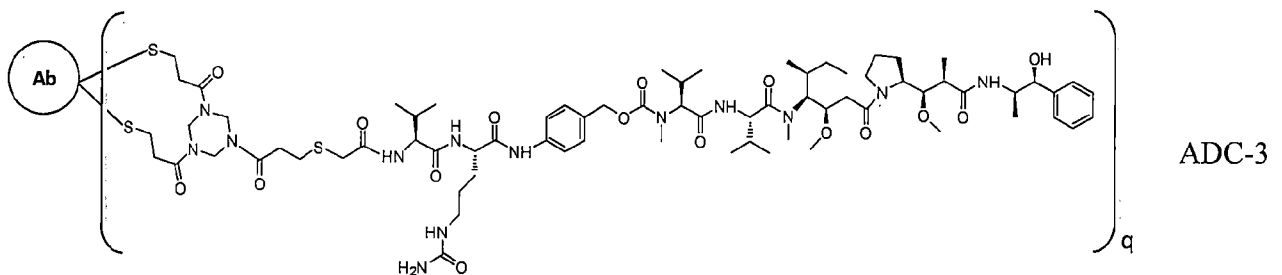
其中， p 為選自 1、2、3、4、5、6、7、8 的整數。

【00025】 在另一些優選的實施例中，本發明提供了如下結構的抗體藥物偶聯物（即 **Ab-D07-Val-Cit-PAB-MMAE**）：



其中， q 為選自 1、2、3、4 的整數。

【00026】 在另一些優選的實施例中，本發明提供了如下結構的抗體藥物偶聯物（即 **Ab--PY-Val-Cit-MMAE**）：



其中， q 為選自 1、2、3、4 的整數。

【00027】 本發明還提供了一種分離的多核苷酸，其編碼前述任一項所述的抗體或其抗原結合片段。

【00028】 本發明還提供了一種分離的多核苷酸的組合，其包括：編碼前述任一項所述抗體或其抗原結合片段之重鏈的多核苷酸和編碼前述任一項所述抗體或其抗原結合片段之輕鏈的多核苷酸。

【00029】 本發明還提供了一種核酸構建體，其包含前述所述的多核苷酸。

【00030】 進一步的，所述核酸構建體為載體。

【00031】 本發明還提供了一種宿主細胞，其包含前述所述的核酸構建體或載體。

【00032】 進一步的，所述的宿主細胞是原核細胞、真核細胞、酵母細胞、哺乳動物細胞、大腸桿菌細胞或 CHO 細胞、NS0 細胞、Sp2/0 細胞、

BHK 細胞。

【00033】 本發明還提供了一種藥物組合物，包含前述任一項所述的抗體或其抗原結合片段和/或抗體藥物偶聯物，以及藥學上可接受的載體。

【00034】 本發明還提供了一種製備抗 Claudin18.2 抗體的方法，其包括在適合表達編碼抗 Claudin18.2 抗體或抗原結合片段的載體的條件下培養前述所述的宿主細胞，並且回收所述抗體或片段。

【00035】 前述任一項所述的抗體或其抗原結合片段、抗體藥物偶聯物、多核苷酸、多核苷酸組合、核酸構建體、載體、或藥物組合物在製備用於治療或預防癌症的藥物中的用途，其中所述癌症為實體瘤；進一步的，所述實體瘤包括胃癌、胰腺癌。

【圖式簡單說明】

【00036】 圖 1 為抗 Claudin18.2 鼠源抗體 CLN-03-3A7、CLN-03-4E5、CLN-03-6H2 給藥後動物腫瘤體積變化曲線圖；

【00037】 圖 2 為抗 Claudin18.2 鼠源抗體 CLN-03-3A7、CLN-03-4E5、CLN-03-6H2 給藥後動物體重變化曲線圖；

【00038】 圖 3 為嵌合抗體 CLN-03-4E5-01、CLN-03-6H2-01 及 IMAB362 親和力檢測對比圖；

【00039】 圖 4A 顯示了在胃癌模型 KATOIII 中 CLN-03-6H2-01 和 IMAB362 的內吞效率對比圖；圖 4B 顯示了在胰腺癌模型 AsPC-1 中 CLN-03-6H2-01 和 IMAB362 的內吞效率對比圖；圖 4C 顯示了在肺癌模型 A549 中 CLN-03-6H2-01 和 IMAB362 的內吞效率對比圖；

【00040】 圖 5 為流式細胞法檢測 RGCLN18.2 及 RGCLN18.2-PY-Val-Cit-PAB-MMAE、RGCLN18.2-MC-Val-Cit-PAB-MMAE、RGCLN18.2-D07-Val-Cit-PAB-MMAE、IMAB362-MC-Val-Cit-MMAE 的內吞效果對比圖；

【00041】 圖 6 為 RGCLN18.2-MC-Val-Cit-PAB-MMAE、IMAB362-MC-Val-Cit-PAB-MMAE 及 PBS 給藥後動物體重變化曲線圖；

【00042】 圖 7 為 RGCLN18.2-MC-Val-Cit-PAB-MMAE、IMAB362-MC-Val-Cit-PAB-MMAE 及 PBS 給藥後荷瘤體積變化曲線

圖。

【實施方式】

[定義]

- 【00043】 除非另有定義，本文使用的所有科技術語具有本領域普通技術人員所理解的相同含義。關於本領域的定義及術語，專業人員具體可參考 **Current Protocols in Molecular Biology(Ausubel)**。胺基酸殘基的縮寫是本領域中所用的指代 20 個常用 L-胺基酸之一的標準 3 字母和/或 1 字母代碼。
- 【00044】 在本發明中，抗體可變域的互補決定區(CDR)測定或編號方法包括本領域熟知的 **IMGT、Kabat、Chothia、AbM 以及 Contact** 法。
- 【00045】 對本發明來說，兩種核酸或者胺基酸序列間的“一致性”、“同一性”或“相似性”是指，在最佳比對(最優比對)後所獲得的、待比較的兩序列之間相同核苷酸或相同胺基酸殘基的百分數，該百分數是純粹統計學的並且兩種序列間的差異隨機分佈並覆蓋其全長。兩種核酸或者胺基酸序列之間的序列比較通常是在以最優方式使它們匹配以後，通過比較這些序列而進行，所述比較能夠通過區段或者通過“比較窗”實施。除了能夠手工實施外，用於比較序列的最優比對，還能夠通過 **Smith 和 Waterman(1981)[Ad.App.Math.2：482]**的局部同源性演算法、通過 **Neddleman 和 Wunsch 的(1970)[J.Mol.Biol.48：443]**局部同源性演算法、通過 **Pearson 和 Lipman 的(1988)[Proc. Natl.Acad.Sci.USA 85:2444]**相似性搜索方法、通過使用這些演算法的電腦軟體實施(**GAP、BESTFIT、FASTA 和 TFASTA in the Wisconsin Genetics Software Package，Genetics Computer Group，575Science Dr.，Madison，WI，或者通過 BLAST N or BLAST P 比較軟體**)。
- 【00046】 本文所使用的“抗體”以最廣義使用，並且涵蓋各種抗體結構，包括但不限於單株抗體、多特異性抗體（例如雙特異性抗體）；本文所使用的“抗原結合片段”是指抗體片段由其來源抗體的重或輕可變鏈的部分序列構成或者包含它們，所述部分序列足以保留與其來源抗體相同的結合特異性和充分的親和力，優選至少等於其來源抗體親和力的 1/100，在更優選方式中至少等於 1/10。這種功能片段將包含最少 5 個胺基酸，優選其來源的抗體序列的 10、15、25、50 和 100 個連續胺基

酸。包括(特別是)Fab、F(ab')、F(ab')₂、Fv、dAb、Fd、互補決定區(CDR)片段、單鏈抗體(scFv)、二價單鏈抗體，其含有至少一個足以使得特異性抗原結合於該多肽的免疫球蛋白片段。上述片段可經合成、或酶法、或通過對完整免疫球蛋白的化學切割而製備，或通過重組 DNA 技術進行遺傳工程改造。其生產的方法在本領域中眾所周知。一條重鏈包含一重鏈可變區(縮寫為 VH)和一重鏈恒定區。重鏈恒定區包含三個域(domain)，CH1、CH2 和 CH3。一條輕鏈包含一輕鏈可變區(縮寫為 VL)和一輕鏈恒定區。該輕鏈恒定區包含一個域，CL。VH 和 VL 區域還可再細分為具有高可變性的多個區，被稱為互補決定區(CDR)，其間散佈有更為保守的被稱為框架區(FR)的多個區域。每個 VH 和 VL 均由三個 CDR 和四個 FR 構成，按照以下順序從氨基端至羧基端排布：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。重鏈和輕鏈的這些可變區包含與抗原相互作用的結合域。抗體的恒定區可介導免疫球蛋白與宿主的組織或因子結合，包括免疫系統的各種細胞(如效應細胞)和經典補體系統的第一成分(C1q)。嵌合或人源化抗體也涵蓋在根據本發明的抗體中。

【00047】 術語“人源化抗體”是指一種抗體，其包含來源於非人源抗體的 CDR 區、並且該抗體分子的其他部分來源於一種(或幾種)人抗體。而且，為了保留結合親和力，可以修飾骨架(稱為 FR)區段的一些殘基(文獻 8: Jones et al., Nature, 321: 522-525, 1986; Verhoeyen et al., Science, 239: 1534-1536, 1988; Riechmann et al., Nature, 332: 323-327, 1988.)。通過本領域技術人員已知的技術可以製備根據本發明的人源化抗體或其片段(文獻 9: Singer et al., J.Immun.150: 2844-2857, 1992; Mountain et al., Biotechnol.Genet.Eng.Rev., 10: 1-142, 1992; 或 Bebbington et al., Bio/Technology, 10: 169-175, 1992.)。

【00048】 術語“嵌合抗體”系指以下抗體，其中的可變區序列來自一物種而恒定區序列來自另一物種，例如可變區序列來自小鼠抗體而恒定區序列來自人抗體的抗體。通過使用基因重組技術可以製備根據本發明的嵌合抗體或其片段。例如，所述嵌合抗體可以通過克隆重組 DNA 來生產，所述重組 DNA 包含啟動子和編碼根據本發明的非人尤其是鼠單株抗體可變區的序列、以及編碼人抗體恒定區的序列。由這種重組基因編碼的本發明嵌合抗體將是，例如，鼠-人嵌合體，該抗體的特異性由來源於鼠 DNA 的可變區確定，並且其同種型由來源於人 DNA 的恒定區來確定。對於製備嵌合抗體的方法，例如，可以參考檔

Verhoeyn et al.(BioEssays , 8 : 74 , 1988)。

【00049】 術語“單株抗體”系指具有單一分子組成的抗體分子的製備物。單株抗體組合物顯示出對於特定表位元的單一結合特異性和親和性。

【00050】 術語“分離地”核酸分子是從至少一個污染物核酸分子中鑒別與分離的核酸分子，在抗體核酸的天然來源中其一般地與該污染物核酸分子有聯繫。分離的核酸分子在其形式或環境上與其在自然界中發現時不同。分離的核酸分子因此不同于其在自然細胞中存在的核酸分子。然而，分離的核酸分子包括在通常表達抗體的細胞中加以包含的核酸分子，在該細胞中例如核酸分子位於與自然細胞不同的染色體位置上。

【00051】 通常，為了製備單株抗體或其功能片段，尤其是鼠源的單株抗體或其功能片段，可以參考尤其描述在手冊“Antibodies”中的技術(文獻 10 : Harlow and Lane , Antibodies : A Laboratory Manual , Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor NY, pp.726, 1988) 或者參考 Kohler 和 Milstein 描述的從雜交瘤細胞製備的技術(Nature , 256 : 495-497 , 1975)。

[實施例]

【00052】 下面將結合實施例對本發明的實施方案進行詳細描述，但是本領域技術人員將會理解，下面實施例僅用於說明本發明，而不應視為限定本發明的範圍。

【00053】 實施例 1 抗 Claudin18.2 鼠源抗體篩選及親和力檢測

【00054】 以包含編碼 Claudin18.2 第一胞外區蛋白的真核表達質粒的細胞作為免疫原免疫 Claudin18.2 敲除小鼠（來源於百奧賽圖（北京）醫藥科技股份有限公司）。

【00055】 共篩選獲得鼠源抗體 22 株，分別是：CLN-40-3C8、CLN-07-4C3、CLN-39-8D11、CLN-39-1E1、CLN-03-6H2、CLN-03-4E5、CLN-03-1A8、CLN-03-4A11、CLN-07-5B10、CLN-07-5G11、CLN-03-3A7、CLN-03-4C11、CLN-38-4H3、CLN-03-4G7、CLN-39-1B6、CLN-39-3E7、CLN-03-1F5、CLN-38-8A1、CLN-39-7H7、CLN-03-6G10、CLN-40-6C9、CLN-07-5D9。

【00056】 採用 FACS 的方法，檢測獲得的 22 株鼠源抗體同 Claudin18.2 的結合活性。將樣品稀釋至終濃度依次為：10 ug/mL、1 ug/mL、0.1 ug/mL、0.01 ug/mL、0.001 ug/mL，分別與 CHO-Claudin18.2 細胞 4

℃反應 30min 後，離心棄上清，每孔加入 200 μ l PBS, 2000rpm, 5min, 洗滌 2 遍後，每孔加入 50 μ L 1: 100 倍稀釋的 anti-mouse IgG₁-FITC 抗體 (Abcam, 貨號 ab97264), 4℃反應 30min, 後重複洗滌步驟，洗滌一次，最後每孔加 200 μ L PBS, 重懸，上機檢測。檢測結果如表 3 所示，多株抗體表現較好的結合活性。

表 3 抗 Claudin18.2 鼠源抗體親和力檢測結果

克隆號	細胞結合活性 EC50	
	ug/mL	nM
CLN-40-3C8	0.5022	0.335
CLN-07-4C3	0.703	0.469
CLN-39-8D11	0.8661	0.557
CLN-39-1E1	0.8726	0.582
CLN-03-6H2	1.168	0.779
CLN-03-4E5	1.281	0.854
CLN-03-1A8	1.367	0.911
CLN-03-4A11	1.373	0.915
CLN-07-5B10	1.511	1.007
CLN-07-5G11	1.601	1.067
CLN-03-3A7	2.386	1.59
CLN-03-4C11	2.655	1.77
CLN-38-4H3	2.792	1.86
CLN-03-4G7	3.337	2.22
CLN-39-1B6	3.635	2.43
CLN-39-3E7	3.676	2.42
CLN-03-1F5	4.259	2.83
CLN-38-8A1	4.806	3.2

CLN-39-7H7	5.154	3.43
CLN-03-6G10	6.054	4.03
CLN-40-6C9	7.185	4.78
CLN-07-5D9	9.093	6.06

- 【00057】 實施例 2 抗 Claudin18.2 鼠源抗體體內藥效評價
- 【00058】 選取 11 株親和力較好的抗 Claudin18.2 鼠源抗體 (CLN-40-3C8 、 CLN-07-4C3 、 CLN-39-8D11 、 CLN-39-1E1 、 CLN-03-6H2 、 CLN-03-4E5 、 CLN-03-1A8 、 CLN-03-4A11 、 CLN-07-5B10、CLN-07-5G11、CLN-03-3A7)，通過胃癌 PDX 模型選出 CLN-03-3A7，CLN-03-4E5，CLN-03-6H2 具有治療潛力，繼而對上述 3 株抗體進行後續的體內藥效評價。
- 【00059】 將胃癌腫瘤接種於 B-NDG 小鼠(本小鼠模型由百奧賽圖江蘇基因生物技術有限公司提供)皮下，待腫瘤體積達到 150mm³時進行分組，每個實驗組 5 只小鼠。分組後，分別將內吞和結合表現較優的鼠源抗體 CLN-03-3A7，CLN-03-4E5，CLN-03-6H2 按照每週兩次 10mg/kg 的劑量注射入小鼠腹腔，每週兩次監測小鼠的腫瘤生長情況(腫瘤體積=0.5*長徑*短徑²)。具體結果如圖 1 和圖 2 所示，實驗結果顯示了 Claudin18.2 鼠源抗體對腫瘤有明顯的抑制作用，並且抗體安全性良好，小鼠的體重沒有發生明顯變化，且三株鼠源抗體的抑腫瘤活性大小為 CLN-03-6H2 >CLN-03-4E5 > CLN-03-3A7。
- 【00060】 實施例 3 嵌合抗體製備及親和力檢測
- 【00061】 對 CLN-03-4E5 和 CLN-03-6H2 兩株鼠源抗體分別進行嵌合抗體改造後獲得 CLN-03-4E5-01，CLN-03-6H2-01 嵌合抗體。比較 CLN-03-4E5-01，CLN-03-6H2-01 和 IMAB362(人鼠嵌合單抗，claudiximab)的親和力。結果可見(如表 4 和圖 3 所示)，CLN-03-4E5-01，CLN-03-6H2-01 和 IMAB362 均表現出良好的親和活性，且本發明提供的 CLN-03-4E5-01，CLN-03-6H2-01 兩株嵌合抗體的結合活性均優於 IMAB362。

表 4 嵌合抗體與 IMAB362 親和力 EC₅₀ 值

名稱	EC ₅₀ 值(μg/ml)
----	---------------------------

CLN-03-4E5-01	0.4475
CLN-03-6H2-01	0.4103
IMAB362	0.475

【00062】 實施例 4 嵌合抗體內吞效率檢測

【00063】 對 CLN-03-6H2-01 嵌合抗體和 IMAB362(人鼠嵌合單抗, claudiximab)的內吞效率進行了檢測和比較, 按照 promega PHAb 抗體染料標記試劑盒 (Promega G9841) 說明書標記純化的嵌合抗體, 抗體標記前濃度為 2mg/mL。將標記好的抗體與胃癌模型 KATOIII (ATCC), 胰腺癌模型 AsPC-1 (ATCC), 肺癌模型 A549 (ATCC) 細胞按照一定的濃度梯度, 於 37 °C 孵育。時間梯度設置為: 0h, 2h, 4h, 6h, 8h, 12h, 24h, 濃度梯度設定為: 0.1nM, 1nM, 10nM。每個採樣點結束後採用細胞流式儀檢測螢光強度。實驗結果 (參見圖 4) 顯示嵌合抗體 CLN-03-6H2-01 在不同腫瘤細胞系上的內吞效應均優於 IMAB362。

【00064】 實施例 5 嵌合抗體 CLN-03-6H2-01 的人源化改造

【00065】 通過移植輕鏈或重鏈 CDR 到免疫球蛋白輕鏈或重鏈框架區對嵌合抗體 CLN-03-6H2-01 進行人源化改造。嵌合抗體 CLN-03-6H2-01 抗體輕鏈和重鏈的 CDR 用 Kabat 系統確定。通過對抗體可變區資料庫比對, 確定人 IgG1 框架區。設計並合成了不同的人源化 Clandin 18.2 抗體的輕鏈可變區序列和不同的人源化 Clandin 18.2 抗體的重鏈可變區序列。將人源化 Clandin 18.2 抗體輕鏈可變區與人 kappa 恒定區通過 PCR 融合, 得到人源化 Clandin 18.2 輕鏈全長; 將人源化 Clandin 18.2 重鏈可變區與 IgG1 恒定區用 PCR 方法融合, 得到人源化 Clandin 18.2 重鏈全長。不同輕重鏈組合並表達, 採用流式 (FACS) 的方法檢測純化後的多株人源化抗體的親和力 (見表 5), 選擇具有最佳親和力的 H-1 號抗體 (命名為 RGCLN18.2 抗體) 進行測序。

表 5 嵌合抗體 CLN-03-6H2-01 人源化改造抗體親和力比較

人源化抗體序號	EC50(ug/mL)
H-1	0.1656

H-2	0.2443
H-3	0.3006
H-4	0.3120
H-5	0.3969
H-6	0.3971
H-7	0.4884
H-8	0.5953
H-9	0.8415
H-10	0.8469
H-11	1.009
H-12	1.122
H-13	1.541
H-14	1.636
H-15	1.940
CLN-03-6H2-01	0.462

【00066】 表 6 示出了 RGCLN18.2 抗體輕鏈和重鏈的 CDR 胺基酸序列 (Kabat 編號)。

表 6 RGCLN18.2 抗體重鏈和輕鏈的胺基酸序列 (Kabat 編號)

重 鏈	CDR1	SEQ ID NO:5	NYLIE
	CDR2	SEQ ID NO:10	LINPGSGGTNYNEKFKG
	CDR3	SEQ ID NO:15	GGYYGNSFAY
輕 鏈	CDR1	SEQ ID NO:20	KSSQSLLNSGNQKNYLT
	CDR2	SEQ ID NO:25	WASTRES
	CDR3	SEQ ID NO:30	QNAYYYPYT

【00067】 RGCLN18.2 抗體重鏈可變區胺基酸序列 (SEQ ID NO:1) :

QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYAFT NYLIEWVRQA PGQGLEWMGL INPGSGGTNY 60

NEKFKGRVTM TRDTSTSTVY MELSSLRSED TAVYYCARGG YGNSFAYWG QGTLVTVSS 119

【00068】 RGCLN18.2 抗體輕鏈可變區胺基酸序列 (SEQ ID NO:2) :

DIVMTQSPLS LPVTPGEPAS ISCKSSQSLL NSGNQKNYLT WYLQKPGQSP QLLIYWASTR 60
ESGVPDRFSG SGSSTDFTLK ISRVEAEDVG VYVCQNAYYY PYTFGGGTKV EIK 113

【00069】 RGCLN18.2 抗體的重鏈胺基酸序列 (SEQ ID NO:33) :

QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYAFT NYLIEWVRQA PGQGLEWMGL INPGSGGTNY 60
NEKFKGRVTM TRDTSTSTVY MELSSLRSED TAVYYCARGG YGNSFAYWG QGTLVTVSSA 120
STKGPSVFPL APSSKSTSGG TAALGCLVKD YFPEPVTWSW NSGALTSGVH TFPAYLQSSG 180
LYSLSSVVTY PSSSLGTQTY ICNVNHKPSN TKVDKKVEPK SCDKTHTCPP CPAPELLGGP 240
SVFLEFPKPK DTLMISRTPE VTCVVDVSH EDPEVKFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQYNS 300
TYRVVSVLTV LKQDWLNGKE YKCKVSNKAL PAPIEKTISK AKGQPREPQV YTLPPSREEM 360
TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTPPVVL DSDGSFFLYS KLTVDKSRWQ 420
QGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSPGK 449

【00070】 RGCLN18.2 抗體的輕鏈胺基酸序列 (SEQ ID NO:34) :

DIVMTQSPLS LPVTPGEPAS ISCKSSQSLL NSGNQKNYLT WYLQKPGQSP QLLIYWASTR 60
ESGVPDRFSG SGSSTDFTLK ISRVEAEDVG VYVCQNAYYY PYTFGGGTKV EIKRTVAAPS 120
VFIFPPSDEQ LKSGTASVVC LLNNFYPREA KVQWKVDNAL QSGNSQESVT EQDSKDYSTYS 180
LSSTLTLSKA DYKHKVYAC EVTHQGLSSP VTKSFNRGEC 220

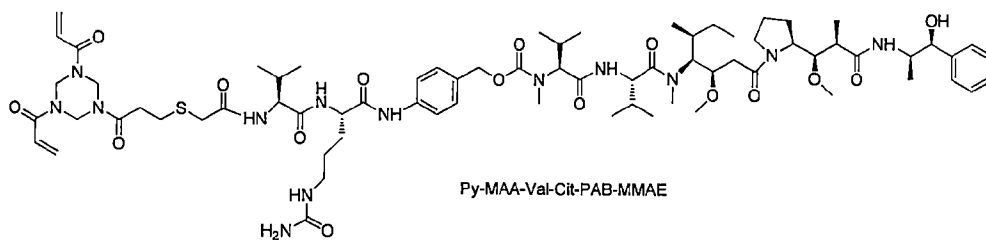
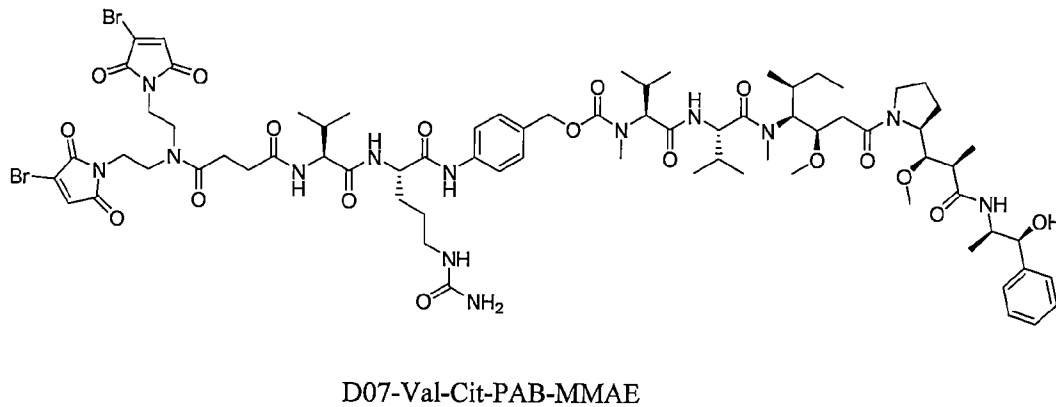
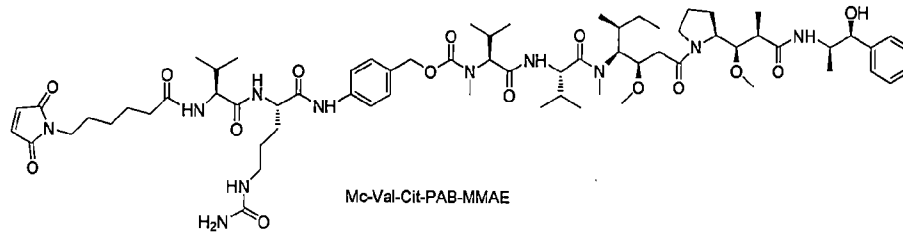
【00071】 實施例 6 抗體藥物偶聯物 (ADC) 的製備

【00072】 抗體藥物偶聯物 (ADC) 的製備採用通用的偶聯方法：用純化水分別配製還原劑和保護劑如下：1~20 mM TCEP (Tris-2-carboxyethyl-phosphine)、1~20 mM DTPA (Diethylene triamine pentacetate acid)母液，還原劑用量根據所需偶聯率不同可在一定濃度範圍內添加，與一定濃度單株抗體（如：5~30 mg/mL）按照一定體積比（1:1）混合，TCEP 與抗體的終濃度摩爾比 0.5~6.0:1，於 25℃ 攪拌反應 1h。TCEP 還原後的抗體可直接進行偶聯。

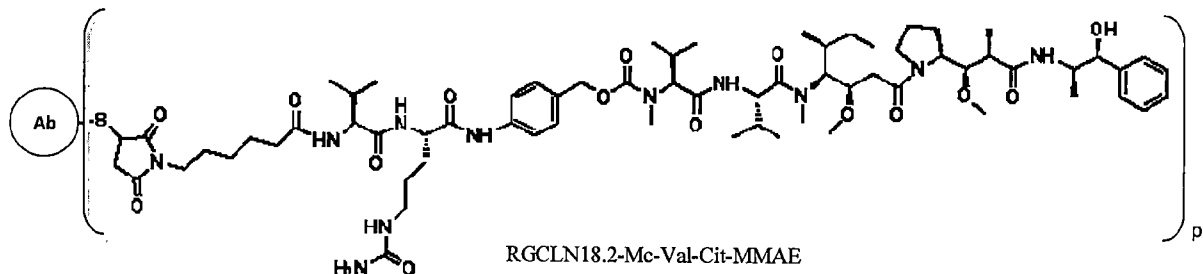
【00073】 配製一定濃度（5mM）連接子-活性藥物單元化合物溶於 25% 的 DMSO (dimethyl sulfoxide，二甲亞砜)，按照藥物與巰基的摩爾比 0.3~2.8:1 緩慢加藥，於 25℃ 攪拌反應 1-4h。反應結束後，用 PBS 緩衝液離心超濾 3 次，純化去除殘餘未反應藥物以及 DMSO 等游離小分子，並且利用 SDS-PAGE 電泳和疏水高效液相 (HIC-HPLC) 法檢測偶聯情況。

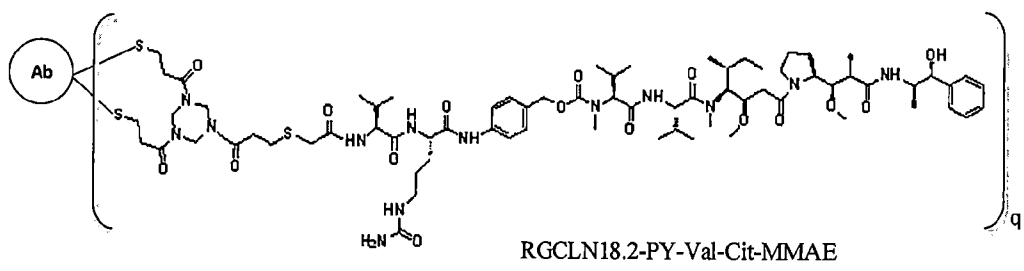
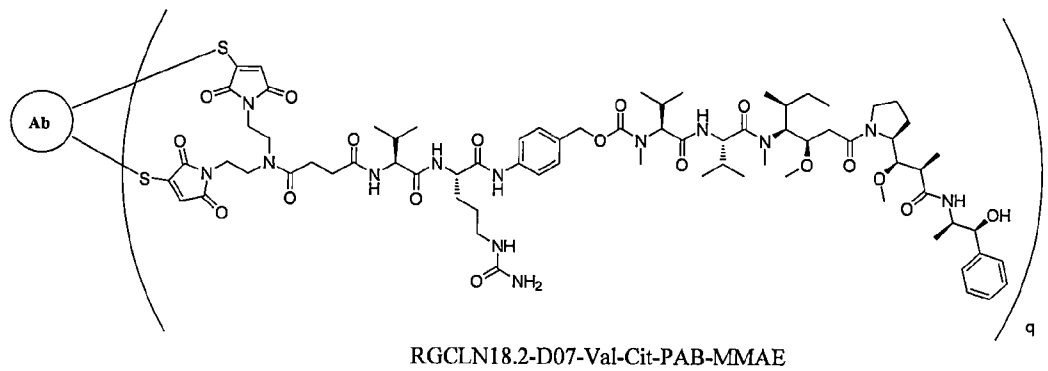
【00074】 本實施例採用的連接子-活性藥物單元化合物為 MC-Val-Cit-PAB-MMAE、D07-Val-Cit-PAB-MMAE 和 Py-MAA-Val-Cit-PAB-MMAE，其結構式分別如下所示（合成方法分別

參見專利申請 CN108853514A (說明書第 14 頁), CN111433188A (說明書第 53 頁), WO2019223579A1 (說明書第 25-27 頁))。

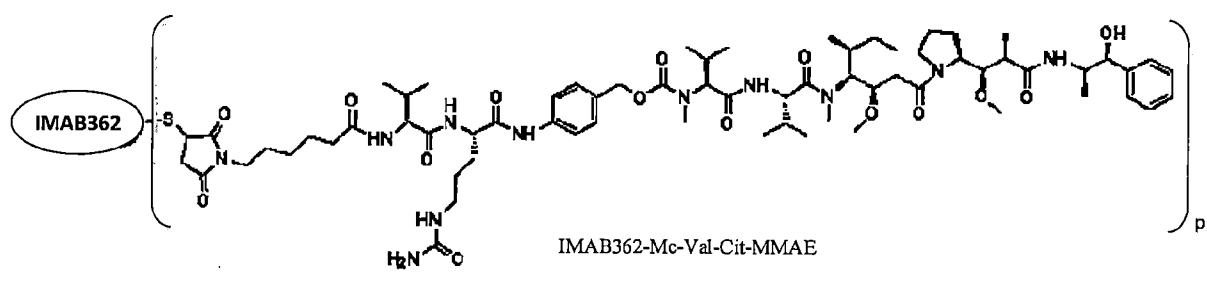


【00075】 利用上述方法製備了如下 ADC (p 為選自 1、2、3、4、5、6、7、8 的整數, q 為選自 1、2、3、4 的整數, Ab 為本發明提供的 RGCLN18.2 抗體), 這些 ADC 的平均 DAR 為 3.5-4.5。





及



實施例 7 抗體藥物偶聯物的細胞內吞實驗

【00076】 將人胃癌細胞 NCI-N87 細胞系每孔約 1×10^5 個細胞重懸于 6 孔板中。將 RGCLN18.2、RGCLN18.2-PY-Val-Cit-PAB-MMAE、RGCLN18.2-MC-Val-Cit-PAB-MMAE、RGCLN18.2-D07-Val-Cit-PAB-MMAE 分別與 pHAb 胺反應性染料綴合，然後用細胞培養基稀釋至 $10 \mu\text{g/ml}$ 。將 $100 \mu\text{l}$ RGCLN18.2 及 ADC 的染料複合物加入到細胞中，在指示時間（0 小時、1 小時、3 小時、5 小時、21 小時和 24 小時）下于 37°C 溫育。通過流式細胞儀測量 RGCLN18.2 及 ADC 的內吞效果。結果如圖 5 所示，從內吞實驗結果來看，發現 RGCLN18.2-PY-Val-Cit-PAB-MMAE、RGCLN18.2-MC-Val-Cit-PAB-MMAE、

RGCLN18.2-D07-Val-Cit-PAB-MMAE ADC 在 24h 時的內吞率均為 98%左右。結果表明 RGCLN18.2 ADC 在人胃癌細胞 NCI-N87 細胞中有非常好的內吞效果。

【00077】 實施例 8 抗體藥物偶聯物的體外細胞評價

【00078】 將人胃癌細胞 NCI-N87 細胞株懸液以 100 μ L/孔、5000 個/孔的密度加到 96 孔板中，置於水飽和的 37℃的 CO₂ 培養箱培養過夜。將抗體藥物偶聯物（RGCLN18.2-PY-Val-Cit-PAB-MMAE、RGCLN18.2-D07-Val-Cit-PAB-MMAE、RGCLN18.2-MC-Val-Cit-PAB-MMAE、IMAB362-MC-Val-Cit-MMAE）濃度進行梯度稀釋並加到含有細胞的 96 孔板中，100 μ L/孔。繼續置於 37℃培養箱中培養 72 小時。酶標儀讀取 450nm 處 OD 值，抑制率計算公式為：IR%=(OD 空白-OD 藥物)×100/OD 空白。由曲線擬合軟體 Softmax Pro7.0.3 Gxp 計算得 IC₅₀ 值，結果見表 7 所示。從以上實驗資料體外藥效試驗來看，發現 RGCLN18.2-PY-Val-Cit-PAB-MMAE、RGCLN18.2-MC-Val-Cit-PAB-MMAE、RGCLN18.2-D07-Val-Cit-PAB-MMAE ADC 的增值抑制效果均優於 IMAB362-MC-Val-Cit-MMAE。

表 7 抗體藥物偶聯物的體外細胞 IC₅₀ 值、最大抑制率結果

ADC	DAR	IC ₅₀ (ng/ml)	抑制率 (%)
RGCLN18.2-PY-Val-Cit-PAB-MMAE	4.1	10.51	54.5
RGCLN18.2-D07-Val-Cit-PAB-MMAE	3.84	4.94	54.3
RGCLN18.2-MC-Val-Cit-PAB-MMAE	4.03	6.23	53.08
IMAB362-MC-Val-Cit-PAB-MMAE	4.22	501	52.27

實施例 9 抗體藥物偶聯的 PDX（人源腫瘤組織來源移植瘤模型）實驗

【00079】 將人胰腺癌組織清洗後切成小塊，用套針接種於裸鼠背部右側肩胛處，待腫瘤生長至 100~300mm³ 後將動物隨機分組，對照組及實驗組給藥情況如表 8 所示。

表 8 PDX 實驗對照組及實驗組給藥情況

受試藥物	死亡動物只數
PBS	給藥後第 25 天死亡一隻

IMAB362-MC-Val-Cit-PAB-MMAE	第 14、18、53 天各死亡一隻
RGCLN18.2-MC-Val-Cit-PAB-MMAE	無死亡

【00080】 實驗結果如圖 6、圖 7 所示，其中圖 6 給出了對照組及實驗組動物體重變化曲線，圖 7 給出了對照組及實驗組動物荷瘤體積變化曲線，結果顯示，RGCLN18.2-MC-Val-Cit-PAB-MMAE 在人胰腺癌 PDX 模型中的抑腫瘤藥效強於 IMAB362-MC-Val-Cit-PAB-MMAE。

【00081】 以上描述地僅是優選實施方案，其只作為示例而不限制實施本發明所必需特徵的組合。所提供的標題並不意指限制本發明的多種實施方案。術語例如“包含”、“含”和“包括”不意在限制。此外，除非另有說明，沒有數詞修飾時包括複數形式，以及“或”、“或者”意指“和/或”。除非本文另有定義，本文使用的所有技術和科學術語的意思與本領域技術人員通常理解的相同。

【00082】 本申請中提及的所有公開物和專利通過引用方式併入本文。不脫離本發明的範圍和精神，本發明的所描述的方法和組合物的多種修飾和變體對於本領域技術人員是顯而易見的。雖然通過具體的優選實施方式描述了本發明，但是應該理解所要求保護的本發明不應該被不適當地局限於這些具體實施方式。事實上，那些對於相關領域技術人員而言顯而易見的用於實施本發明的所描述的模式的多種變體意在包括在隨附的請求項的範圍內。

【符號說明】

無

【生物材料寄存】

國內寄存資訊【請依寄存機構、日期、號碼順序註記】

國外寄存資訊【請依寄存國家、機構、日期、號碼順序註記】

序列表

<110> 榮昌生物製藥（煙臺）股份有限公司(REMEGEN CO., LTD.)

<120> 一種抗Claudin18.2抗體及其抗體藥物偶聯物

<130> 2021

<140> 111117333

<141> 2022-05-09

<150> CN 202110502421.4

<151> 2021-05-08

<160> 34

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 重鏈可變區

<400> 1

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr
 20 25 30

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

Gly Leu Ile Asn Pro Gly Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Gly Tyr Tyr Gly Asn Ser Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 2
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 輕鏈可變區

<400> 2

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

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

Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
85 90 95

Ala Tyr Tyr Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 3
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 重鏈CDR

<400> 3

Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr
1 5

<210> 4
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 重鏈CDR

<400> 4

Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr Leu Ile Glu
1 5 10

<210> 5
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 重鏈CDR

<400> 5

Asn Tyr Leu Ile Glu
1 5

<210> 6
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 重鏈CDR

<400> 6

Thr Asn Tyr Leu Ile Glu
1 5

<210> 7
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 重鏈CDR

<400> 7

Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr Leu
1 5

<210> 8
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 重鏈CDR

<400> 8

Asn Pro Gly Ser Gly Gly
1 5

<210> 9
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 重鏈CDR

<400> 9

Leu Ile Asn Pro Gly Ser Gly Gly Thr Asn
1 5 10

<210> 10

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 重鏈CDR

<400> 10

Leu Ile Asn Pro Gly Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 11

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 重鏈CDR

<400> 11

Trp Met Gly Leu Ile Asn Pro Gly Ser Gly Gly Thr Asn
1 5 10

<210> 12

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 重鏈CDR

<400> 12

Ile Asn Pro Gly Ser Gly Gly Thr
1 5

<210> 13
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 重鏈CDR

<400> 13

Gly Gly Tyr Tyr Gly Asn Ser Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 14
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 重鏈CDR

<400> 14

Gly Gly Tyr Tyr Gly Asn Ser Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 15
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 重鏈CDR

<400> 15

Gly Gly Tyr Tyr Gly Asn Ser Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 16

<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 重鏈CDR

<400> 16

Ala Arg Gly Gly Tyr Tyr Gly Asn Ser Phe Ala
1 5 10

<210> 17
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 重鏈CDR

<400> 17

Ala Arg Gly Gly Tyr Tyr Gly Asn Ser Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 18
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 輕鏈CDR

<400> 18

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15

Thr

<210> 19
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 輕鏈CDR

<400> 19

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15

Thr

<210> 20

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 輕鏈CDR

<400> 20

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15

Thr

<210> 21

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 輕鏈CDR

<400> 21

Leu Asn Ser Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr
1 5 10

<210> 22

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 輕鏈CDR

<400> 22

Gln Ser Leu Leu Asn Ser Gly Asn Gln Lys Asn Tyr
1 5 10

<210> 23

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 輕鏈CDR

<400> 23

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 24

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 輕鏈CDR

<400> 24

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 25

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 輕鏈CDR

<400> 25

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 26
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 輕鏈CDR

<400> 26

Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu
1 5 10

<210> 27
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 輕鏈CDR

<400> 27

Trp Ala Ser
1

<210> 28
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 輕鏈CDR

<400> 28

Gln Asn Ala Tyr Tyr Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 29
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 輕鏈CDR

<400> 29

Gln Asn Ala Tyr Tyr Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 30

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 輕鏈CDR

<400> 30

Gln Asn Ala Tyr Tyr Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 31

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 輕鏈CDR

<400> 31

Gln Asn Ala Tyr Tyr Tyr Pro Tyr
1 5

<210> 32

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 輕鏈CDR

<400> 32

Gln Asn Ala Tyr Tyr Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 33

<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 重鏈

<400> 33

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

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

Gly Leu Ile Asn Pro Gly Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Gly Tyr Tyr Gly Asn Ser Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

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

175

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

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

Lys

- <210> 34
- <211> 220
- <212> PRT
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 輕鏈

<400> 34

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

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

Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
85 90 95

Ala Tyr Tyr Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
115 120 125

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
130 135 140

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
145 150 155 160

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
165 170 175

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
180 185 190

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
195 200 205

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215 220

申請專利範圍

1.一種抗 Claudin18.2 抗體或其抗原結合片段，所述抗體或其抗原結合片段包括重鏈可變區和輕鏈可變區，其中：

(1)重鏈可變區 CDR 1-3 胺基酸序列分別為 SEQ ID NO:3、8、13 的胺基酸序列；和輕鏈可變區 CDR 1-3 胺基酸序列分別為 SEQ ID NO:18、23、28 的胺基酸序列；

(2)重鏈可變區 CDR 1-3 胺基酸序列分別為 SEQ ID NO:4、9、14 的胺基酸序列；和輕鏈可變區 CDR 1-3 胺基酸序列分別為 SEQ ID NO:19、24、29 的胺基酸序列；

(3)重鏈可變區 CDR 1-3 胺基酸序列分別為 SEQ ID NO:5、10、15 的胺基酸序列；和輕鏈可變區 CDR 1-3 胺基酸序列分別為 SEQ ID NO:20、25、30 的胺基酸序列；

(4)重鏈可變區 CDR 1-3 胺基酸序列分別為 SEQ ID NO:6、11、16 的胺基酸序列；和輕鏈可變區 CDR 1-3 胺基酸序列分別為 SEQ ID NO:21、26、31 的胺基酸序列；或

(5)重鏈可變區 CDR 1-3 胺基酸序列分別為 SEQ ID NO:7、12、17 的胺基酸序列；和輕鏈可變區 CDR 1-3 胺基酸序列分別為 SEQ ID NO:22、27、32 的胺基酸序列；

其中，

序列 SEQ ID NO:3、8、13、18、23 和 28 為按 Chothia 系統編號；

序列 SEQ ID NO:4、9、14、19、24 和 29 為按 AbM 系統編號；

序列 SEQ ID NO:5、10、15、20、25 和 30 為按 Kabat 系統編號；

序列 SEQ ID NO:6、11、16、21、26 和 31 為按 Contact 系統編號；

序列 SEQ ID NO:7、12、17、22、27 和 32 為按 IMGT 系統編號。

2.根據請求項 1 所述的抗體或其抗原結合片段，其特徵在於：

(1)重鏈可變區的胺基酸序列如 SEQ ID NO:1 所示；和(2)輕鏈可變區的胺基酸序列如 SEQ ID NO:2 所示。

3.根據請求項 2 所述的抗體或其抗原結合片段，其中，

(1)重鏈的胺基酸序列如 SEQ ID NO:33 所示；和

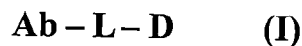
(2)輕鏈的胺基酸序列如 SEQ ID NO:34 所示。

4.根據請求項 1 所述的抗體或抗原結合片段，所述的抗體或其功能性結合片段包括單克隆抗體、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂、Fv、單鏈 Fv(scFv)、雙特異性抗體、多特異性抗體、嵌合抗體、人源化抗體或包含抗體的抗原結合部分的融合蛋白。

5.根據請求項 1-4 任一項所述的抗體或其抗原結合片段，其進一步包括人或鼠恒定區。

6.一種抗體藥物偶聯物，其含有請求項 1-5 任一項所述的抗體或其抗原結合片段。

7.根據請求項 6 所述的抗體藥物偶聯物，其特徵在於，所述的抗體藥物偶聯物結構如式(I)所示：



其中：

Ab 為請求項 1-5 任一項所述的抗體或其抗原結合片段；

D 為活性藥物單元；

L 為任一連接基團，其分別與抗體或其抗原結合片段 Ab 及活性藥物單元 D 共價連接；

其中，所述 Ab 上通過一個或多個連接基團 L 連接一個或多個活性藥物單元 D。

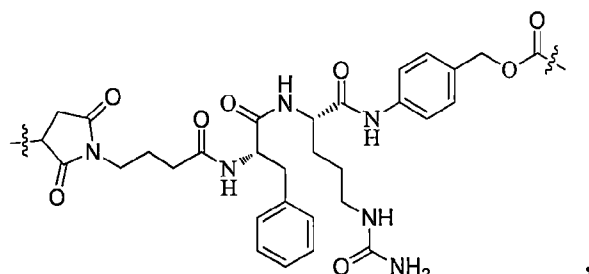
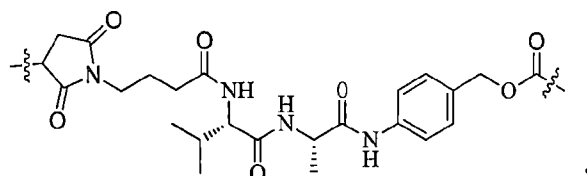
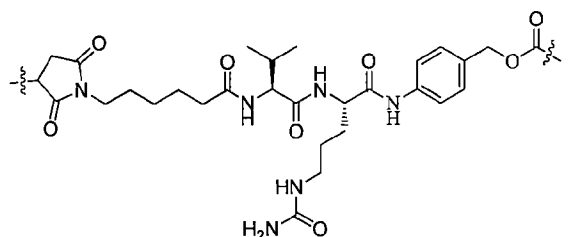
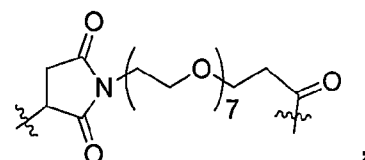
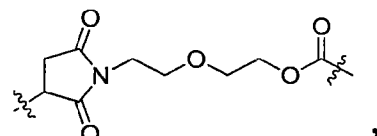
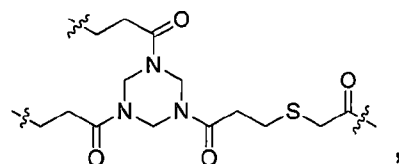
8.根據請求項 7 所述的抗體藥物偶聯物，其特徵在於，所述 L 與所述 Ab 上胺基殘基或巰基殘基共價連接。

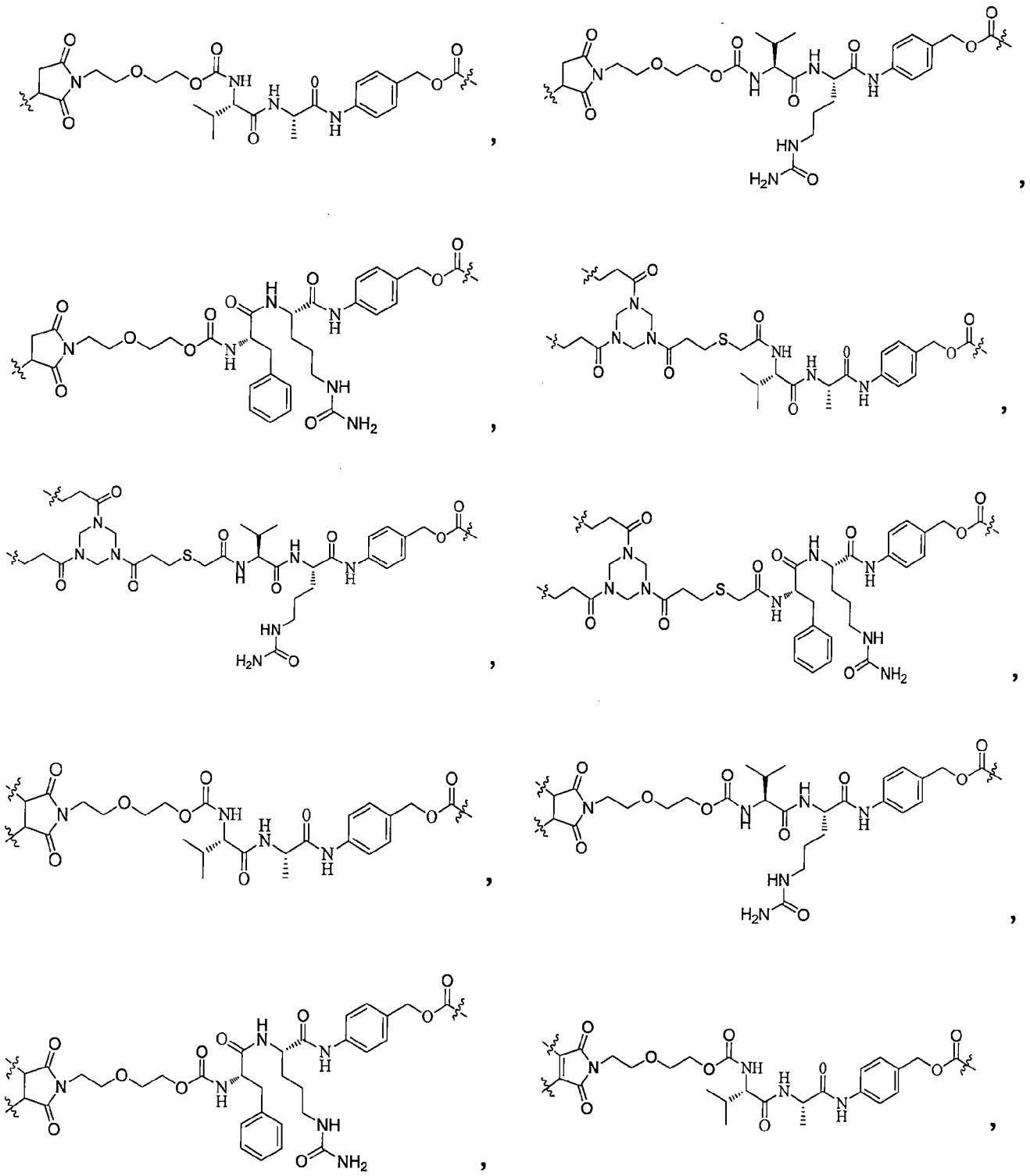
9.根據請求項 7 所述的抗體藥物偶聯物，其特徵在於，所述 L 包括可裂解連接子和不可裂解連接子。

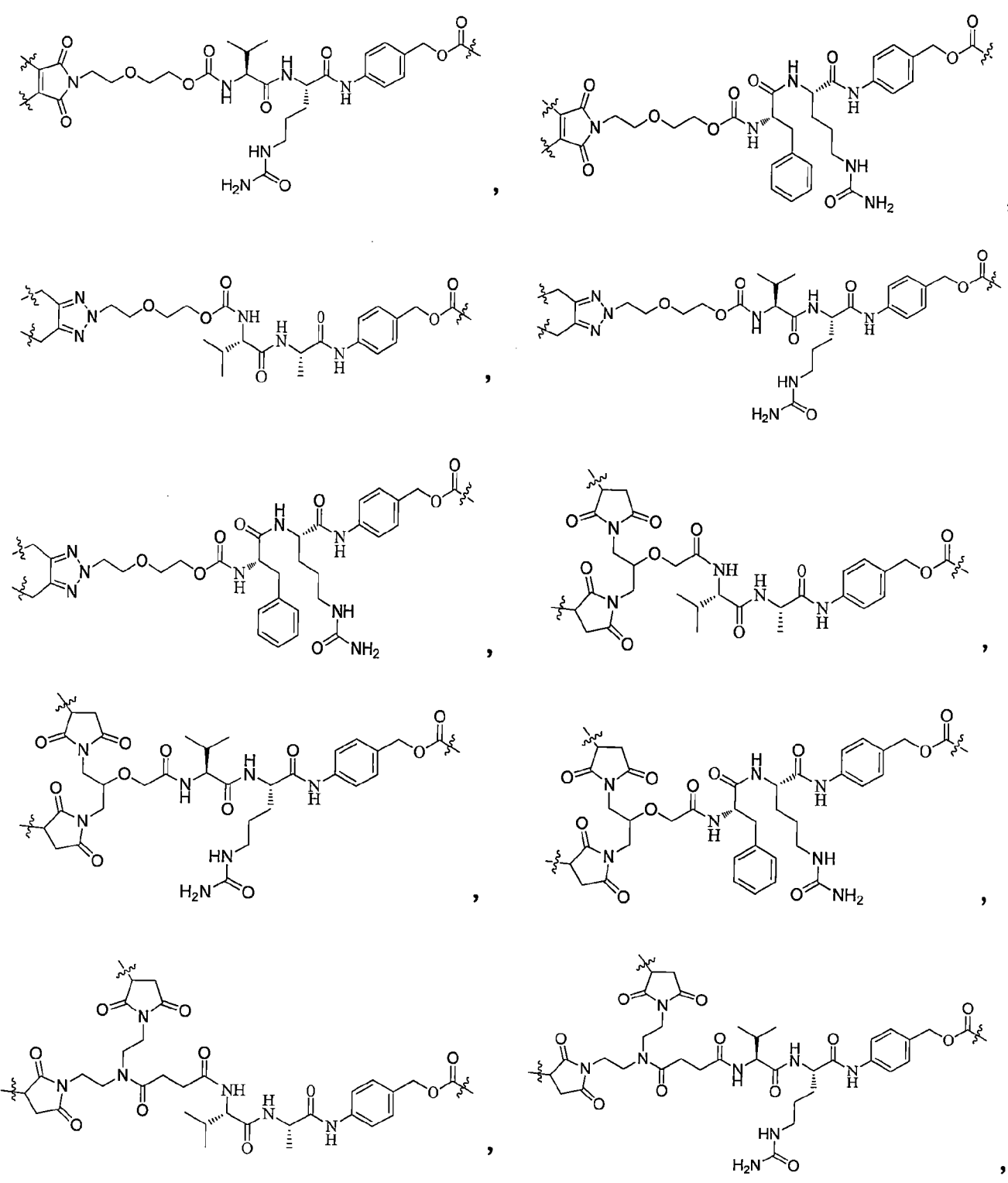
10.根據請求項 9 所述的抗體藥物偶聯物，其特徵在於：所述的可裂解連接子包括肽單元，所述的肽單元包含 2-20 個胺基酸。

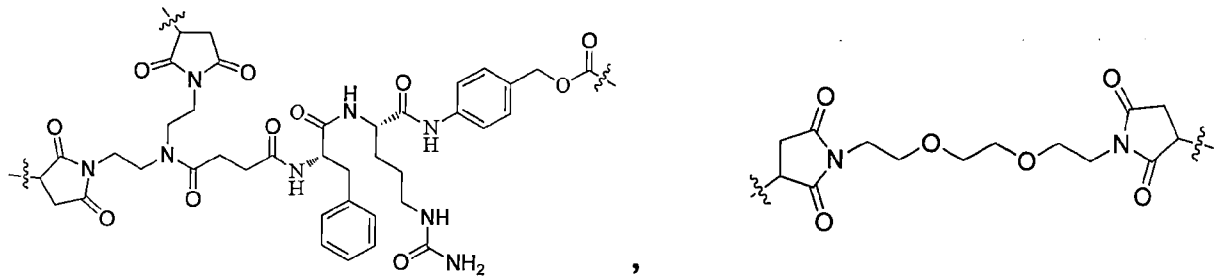
11. 根據請求項 9 所述的抗體藥物偶聯物，其特徵在於：所述的肽單元選自由-纈胺酸-瓜胺酸-(-Val-Cit-)、-甘胺酸-甘胺酸-苯丙胺酸-甘胺酸-(-Gly-Gly-Phe-Gly-)、-纈胺酸-丙胺酸-(-Val-Ala-)、-纈胺酸-賴胺酸-(-Val-Lys-)、-纈胺酸-精胺酸-(-Val-Arg-)、-苯丙胺酸-瓜胺酸-(-Phe-Cit-)、-苯丙胺酸-賴胺酸-(-Phe-Lys-)、-苯丙胺酸-精胺酸

12. 根據請求項 7-11 任一項所述的抗體藥物偶聯物，其特徵在於，所述的 L 选自以下結構：







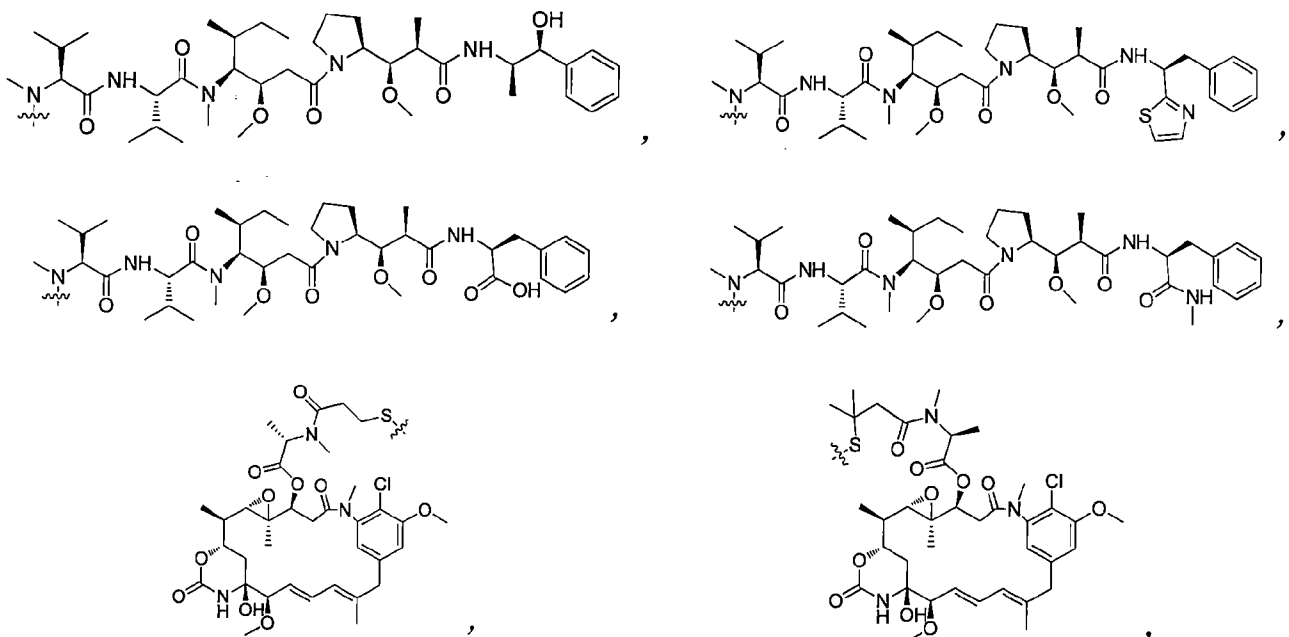


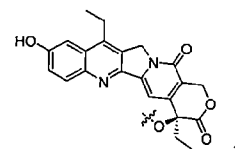
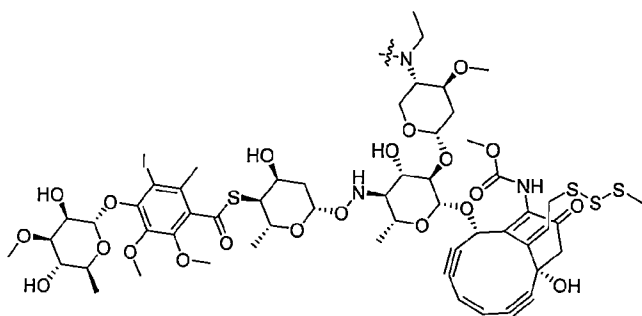
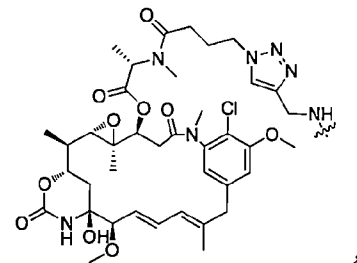
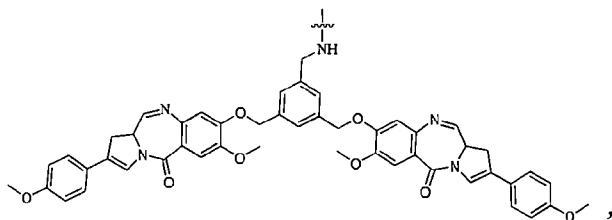
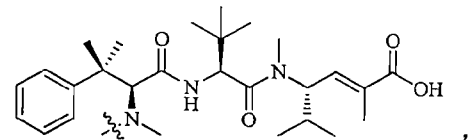
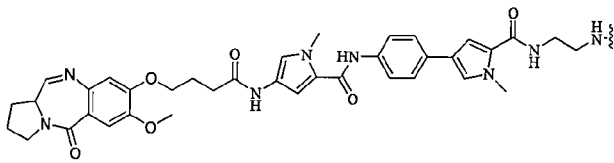
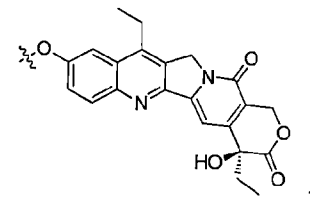
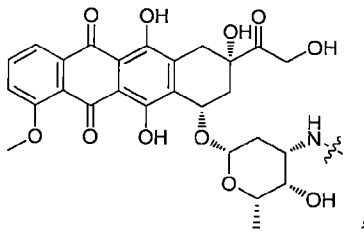
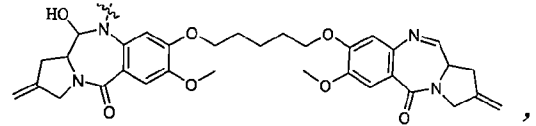
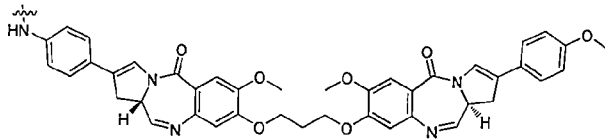
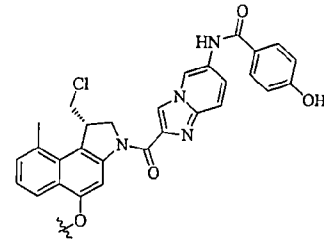
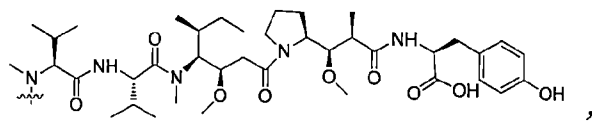
13. 根據請求項 7 所述的抗體藥物偶聯物，其特徵在於，所述的活性藥物單元 D 為細胞毒分子、細胞分化因子、幹細胞營養因子、類固醇類藥物、治療自身免疫疾病的藥物、抗炎症藥物或治療傳染性疾病的藥物。

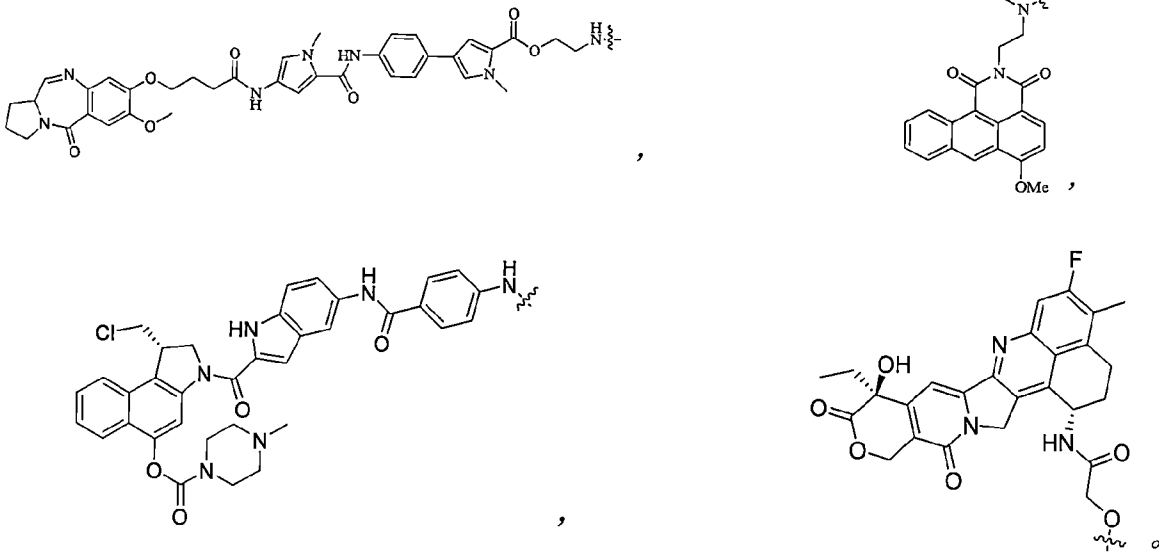
14. 根據請求項 13 所述的抗體藥物偶聯物，其特徵在於，所述細胞毒分子選自微管蛋白抑制劑或 DNA 損傷劑，所述微管蛋白抑制劑選自海兔毒素(dolastatin)及奧瑞他汀(auristatin)類細胞毒分子，美登素(maytansine)類細胞毒分子；所述 DNA 損傷劑選自卡奇黴素類(calicheamicin)、倍癌黴素(duocarmycin)類、安甦黴素類衍生物 PBD、喜樹碱(camptothecins)及喜樹碱類衍生物、SN-38。

15. 根據請求項 14 所述的抗體藥物偶聯物，其特徵在於，所述奧瑞他汀(auristatin)類細胞毒分子選自 MMAE 或 MMAF 或它們的衍生物，所述美登素類細胞毒分子選自 DM1、DM4 或它們的衍生物。

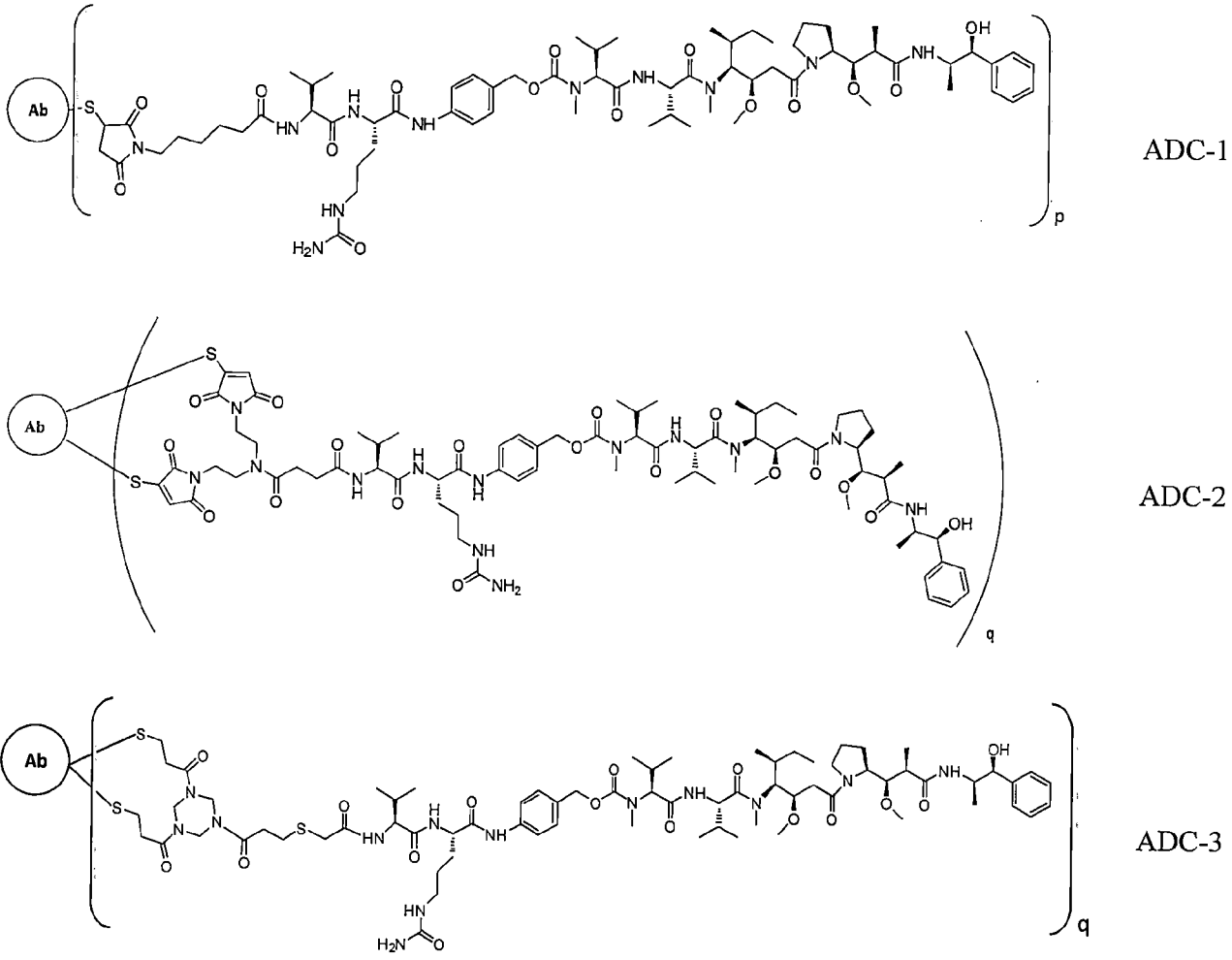
16. 根據請求項 7 所述的抗體藥物偶聯物，其特徵在於，所述的活性藥物單元 D 選自以下結構：







17.根據請求項 7 所述的抗體藥物偶聯物，其特徵在於，所述抗體藥物偶聯物結構如下所示：



其中， p 為選自 1、2、3、4、5、6、7、8 的整數， q 為選自 1、2、3、

4 的整數。

18.一種分離的多核苷酸或其組合，其編碼請求項 1-5 中任一項所述的抗體或其抗原結合片段。

19.一種核酸構建體，其包含請求項 18 的多核苷酸。

20.根據請求項 19 所述的核酸構建體，所述核酸構建體為載體。

21.一種宿主細胞，其包含請求項 19 或 20 中的核酸構建體。

22.請求項 21 所述的宿主細胞，所述細胞是原核細胞、真核細胞、酵母細胞、哺乳動物細胞、大腸桿菌細胞或 CHO 細胞、NS0 細胞、Sp2/0 細胞、BHK 細胞。

23.一種藥物組合物，包含請求項 1-5 中任一項所述的抗體或其抗原結合片段和/或請求項 6 或 16 的抗體藥物偶聯物，以及藥學上可接受的載體。

24.一種製備抗 Claudin18.2 抗體的方法，其包括在適合表達編碼抗 Claudin18.2 抗體或抗原結合片段的載體的條件下培養請求項 21 或 22 所述的宿主細胞，並且回收所述抗體或片段。

25.一種如請求項 1-5 中任一項所述的抗體或其抗原結合片段、請求項 6-16 所述的抗體藥物偶聯物、請求項 18 的多核苷酸或其組合、請求項 19 的核酸構建體、請求項 20 的載體、或請求項 23 的藥物組合物在製備用於治療或預防癌症的藥物中的用途。

26. 根據請求項 25 所述的用途，其中所述癌症為實體瘤。

27. 根據請求項 26 所述的用途，其中所述實體瘤包括胃癌、胰腺癌。

圖式

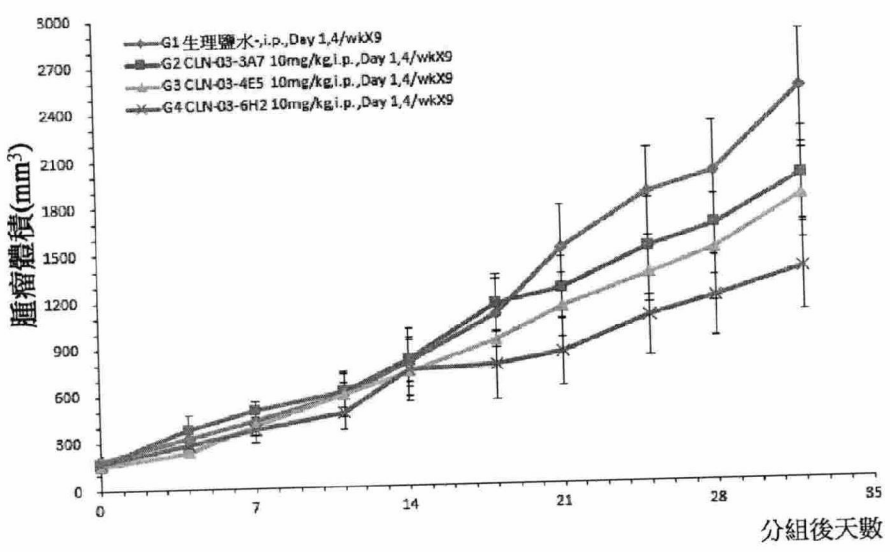


圖1

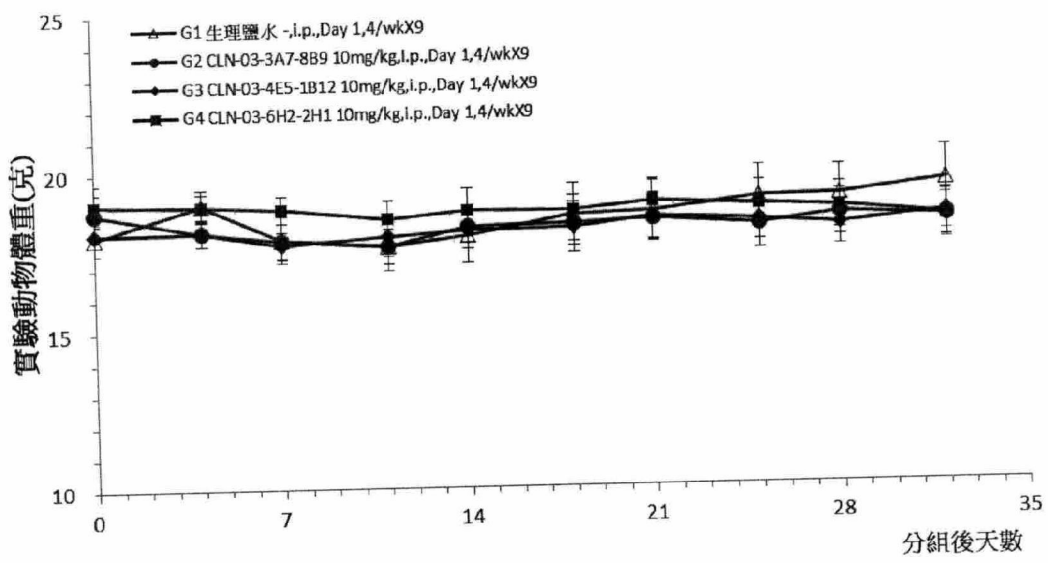


圖2

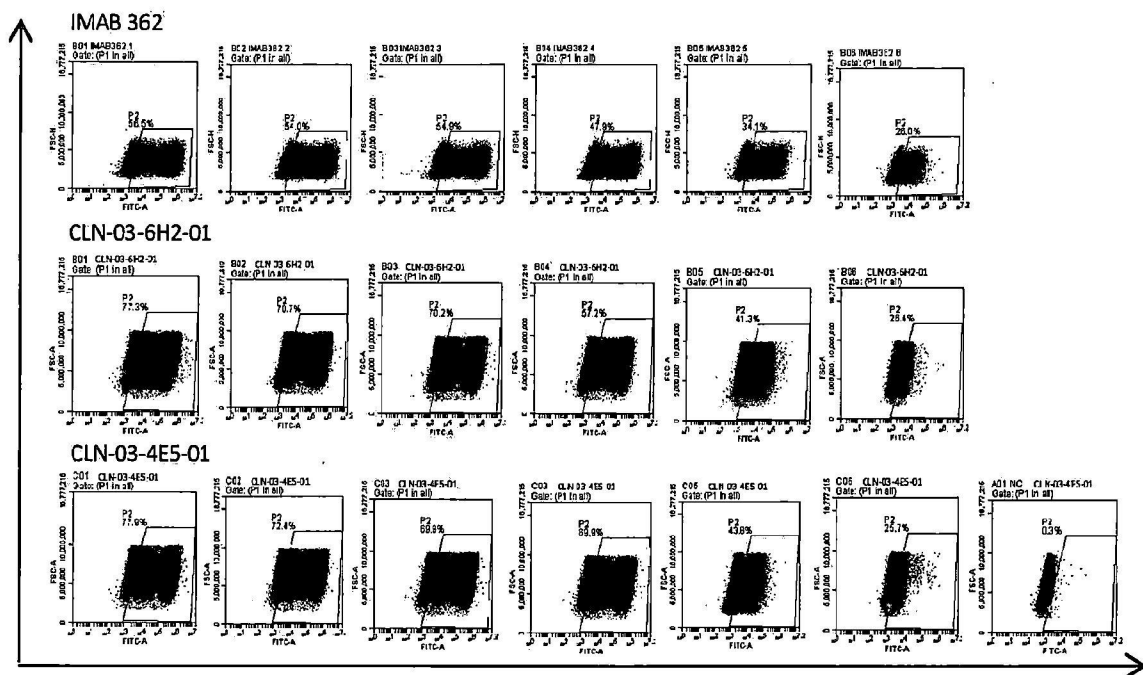


圖3

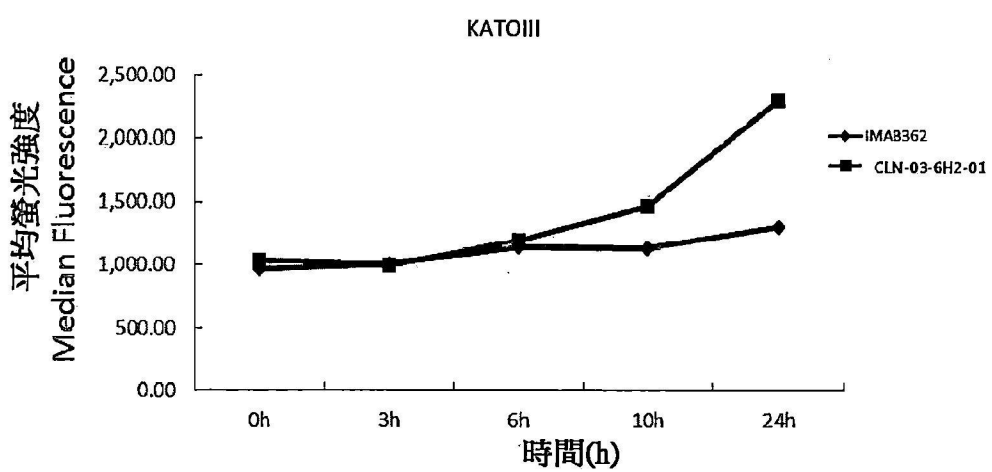


圖4A

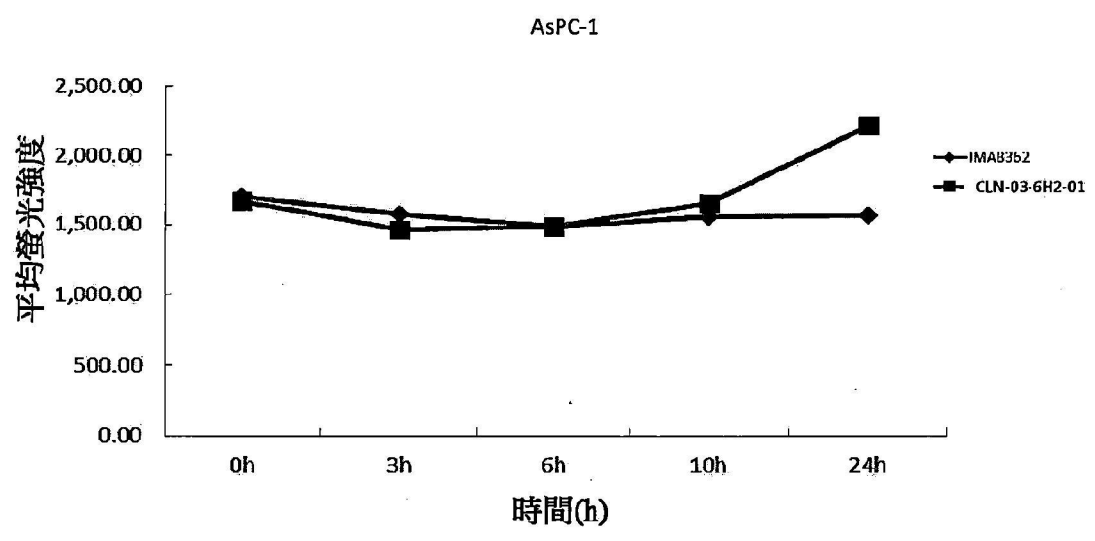


圖4B

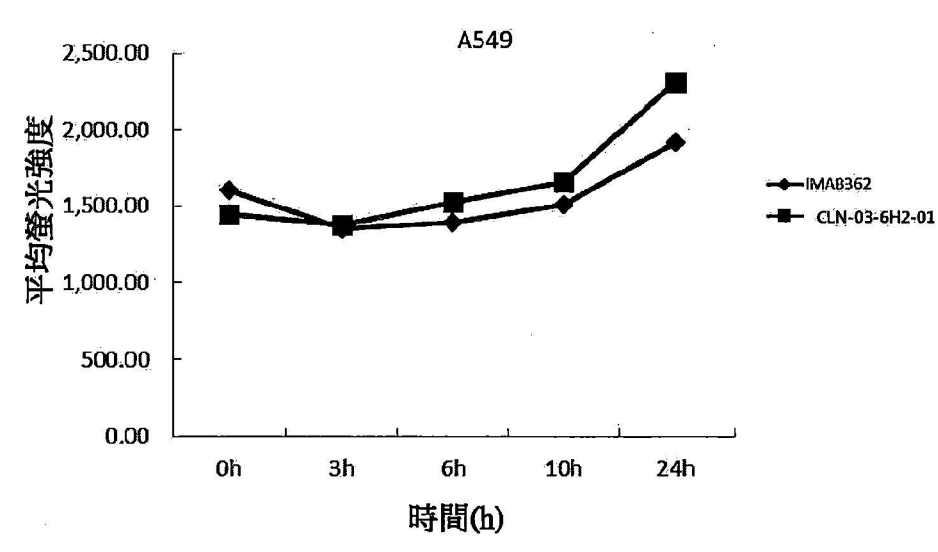


圖4C

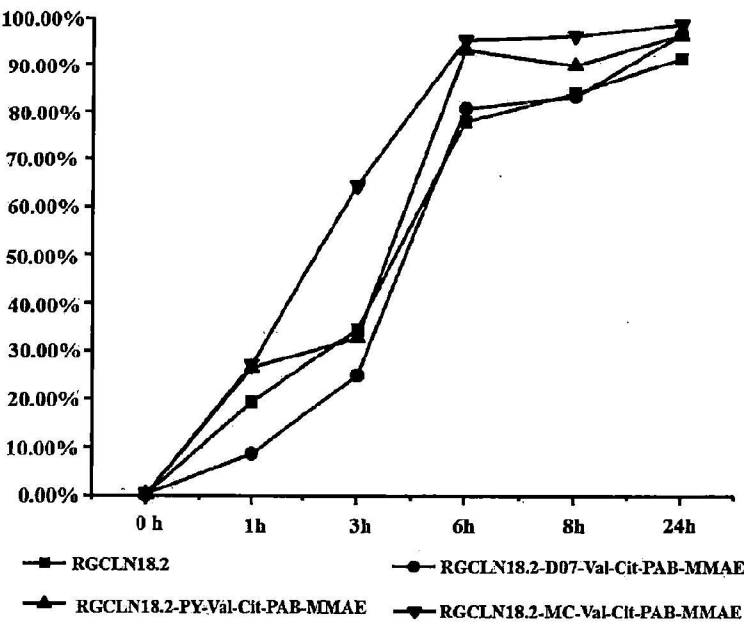


圖5

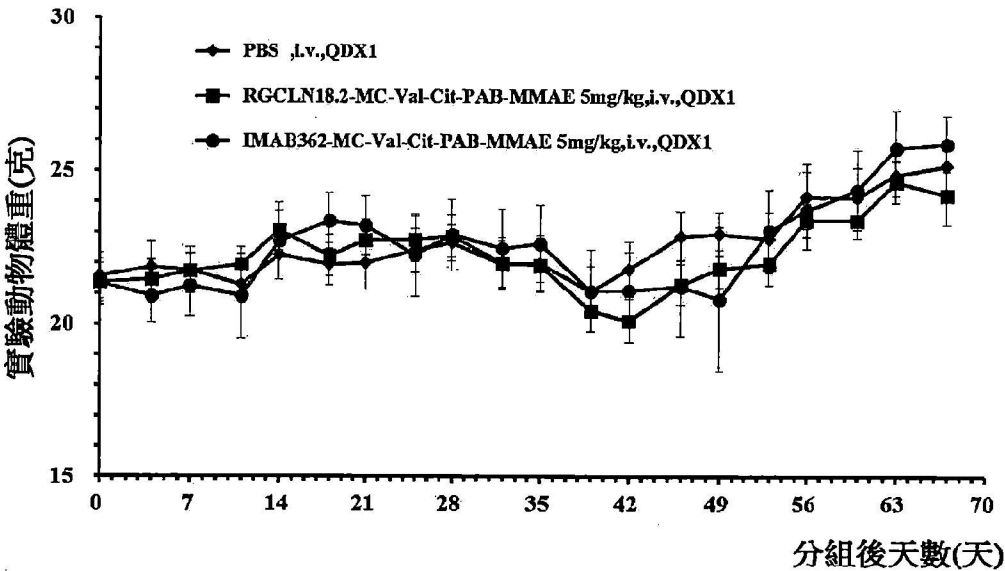


圖6

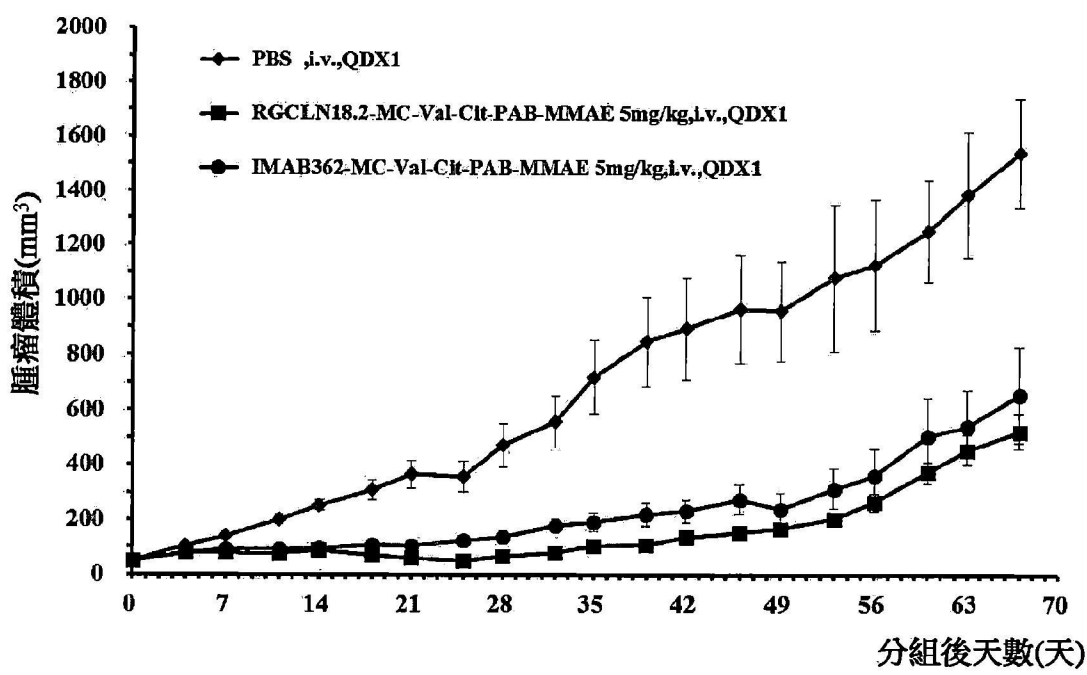


圖7