

(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5月2日 (02.05.2024)



(10) 国际公布号  
**WO 2024/087515 A1**

(51) 国际专利分类号:  
*C07K 16/28* (2006.01) *A61P 37/02* (2006.01)  
*C07K 16/46* (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)  
*C12N 15/13* (2006.01) *G01N 33/68* (2006.01)  
*A61K 39/395* (2006.01) *G01N 33/574* (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2023/086262

(22) 国际申请日: 2023年4月4日 (04.04.2023)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:  
202211327361.8 2022年10月27日 (27.10.2022) CN

(71) 申请人: 合肥天港免疫药物有限公司 (HEFEI TG IMMUNOPHARMA CO., LTD.) [CN/CN]; 中国安徽省合肥市经济技术开发区芙蓉路268号合肥创新创业园1#C二楼2001, Anhui 230001 (CN)。

(72) 发明人: 成赢 (CHENG, Ying); 中国安徽省合肥市经济技术开发区芙蓉路268号合肥创新创业园1#C二楼2001, Anhui 230001 (CN)。曹国帅 (CAO, Guoshuai); 中国安徽省合肥市经济技术开发区芙蓉路268号合肥创新创业园1#C二楼2001, Anhui 230001 (CN)。武玉伟 (WU, Yuwei); 中国安徽省合肥市经济技术开发区芙蓉路268号合肥创新创业园1#C二楼2001, Anhui 230001 (CN)。李洋洋 (LI, Yangyang); 中国安徽省合肥市经济技术开发区芙蓉路268号合肥创新创业园1#C二楼2001, Anhui 230001 (CN)。

(74) 代理人: 北京清亦华知识产权代理事务所 (普通合伙) (TSINGYIHUA INTELLECTUAL PROPERTY LLC); 中国北京市海淀区阜成路73号裕惠大厦B座806, Beijing 100142 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG,

BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

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

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

(54) Title: ANTI-CD16A ANTIBODY AND APPLICATION THEREOF

(54) 发明名称: 抗CD16A的抗体及其应用

(57) Abstract: Provided are an anti-CD16A antibody and an application thereof. The antibody comprises heavy chain variable region CDR1, CDR2 and CDR3 sequences as shown in SEQ ID NOs: 1, 2 and 3 respectively, or amino acid sequences at least 95% identical to SEQ ID NOs: 1, 2 and 3; and/or light chain variable region CDR1, CDR2 and CDR3 sequences as shown in SEQ ID NOs: 4, 5 and 6 respectively, or amino acid sequences at least 95% identical to SEQ ID NOs: 4, 5 and 6.

(57) 摘要: 本发明提出了一种抗CD16A的抗体及其应用, 该抗体包括分别如SEQ ID NO:1、2和3或者与SEQ ID NO:1、2和3具有至少95%同一性的氨基酸序列所示的重链可变区CDR1、CDR2、CDR3序列; 和/或分别如SEQ ID NO:4、5和6或者与4、5和6具有至少95%同一性的氨基酸序列所示的轻链可变区CDR1、CDR2、CDR3序列。



WO 2024/087515 A1

## 抗 CD16A 的抗体及其应用

## 5 技术领域

本发明涉及生物医药领域，具体地，涉及一种抗 CD16A 的抗体及应用。

## 背景技术

自然杀伤细胞 (natural killer cells, NK 细胞) 是组成固有免疫系统的重要成员，与 T 细胞不同的是，NK 细胞并不表达抗原特异性受体。NK 细胞本身具有广谱的肿瘤杀伤能力，在增强抗体和 T 细胞应答中也起到了重要作用。目前，基于 NK 细胞的肿瘤免疫治疗形式多样，采用的手段也不尽相同。NK 细胞数量减少或者功能受损与各种类型癌症的进展相关。“冷肿瘤”是免疫不敏感的，它表面表达的 MHC I 类分子很少或没有，因此几乎不被 T 细胞识别，但是可以被 NK 细胞识别和杀伤，这一概念的引入提高了 NK 细胞在抗肿瘤免疫治疗中的地位。

CD16 分子是 NK 细胞表面重要标志，它可以激活 IgE NK 细胞受体(FcεRIγ)和 CD3ζ 的免疫受体酪氨酸活化基序 (ITAM) 发生 ADCC 作用。因此，CD16 靶点在基于 NK 细胞再导向的双特异性抗体中被优先选择。

CD16 靶点在基于 NK 细胞再导向的双特异性抗体中被广泛选择(McCall et al., 1999, Gleason et al., 2014)。AFM13 是针对 CD16A 和 CD30 分子的双特异性抗体，它可以促进 NK 细胞杀伤 CD30+非霍奇金淋巴瘤细胞(Reusch et al., 2014, Pahl et al., 2018)。在另一些 NK 细胞相关的双特异性抗体中，研究者利用 CD16、NKp46 及肿瘤靶点来构建三功能抗体(NKCEs)。NKCEs 相比临床治疗单抗有着更强的体外杀伤能力，同时其体内稳定性和肿瘤控制能力表现优异(Gauthier et al., 2019)。

人 CD16 可以分为 CD16A 和 CD16B，其中 CD16A 主要在 NK 细胞表达。CD16B 主要由多核粒细胞产生，同时也在人血清中也存在可溶形式的受体。CD16A 在人群中存在多个等位基因，例如 CD16A 在第 158 位存在多态性差异。CD16A<sup>158V</sup> 相比 CD16A<sup>158F</sup> 与抗体 Fc 结构域具有更高的亲和力。CD16B 在人群中也存在多态性差异，即 CD16B<sup>NA1</sup>，CD16B<sup>NA2</sup> 和 CD16B<sup>SH</sup>。在之前的 CD16 抗体 (如 3G8) 中基本都是识别 CD16 而非特异性识别 CD16A 的，因此在双特异性抗体或者多特异性抗体设计中为了特异性靶向 NK 细胞就需要开发识别 CD16A 的抗体。

25

## 发明内容

本申请是基于发明人对下列问题和事实的发现而提出的：

NK 细胞本身具有广谱的肿瘤杀伤能力，在增强抗体和 T 细胞应答中也起到了重要作用，而 CD16A 蛋白主要在 NK 细胞中进行表达，CD16 靶点在基于 NK 细胞再导向的双特异性抗体中被优先选择。

本申请的发明人成功地筛选到一种鼠源抗 CD16A 单克隆抗体，该单克隆抗体与人或猴 CD16A 蛋白具有较高的结合活性，此外，发明人对上述单克隆抗体的恒定区进行人源化，保留鼠源抗 CD16A 单克隆抗体的 CDR，以获得嵌合抗体，更进一步地，将所述嵌合抗体的轻链可变区或重链可变区中的框架区进行人源化，得到抗 CD16A 的完全人源化抗体，所述人源化抗体不仅能够特异性的靶向结合人 CD16A 蛋白和猴 CD16A 蛋白，而且具有免疫原性低的特点，能够有效治疗和/或预防 CD16A 介导的相关疾病，如自身免疫疾病。

此外，利用所述抗 CD16A 抗体制备的双特异性结合分子或者多特异性结合分子同样能够特异性的靶向结合人 CD16A 蛋白和猴 CD16 蛋白，且通常地，基于双特异性结合分子或者多特异性结合分子的特异性，所述双特异性结合分子或者多特异性结合分子能够把 NK 细胞靶向到其它抗原，通过 NK 细胞介导的细胞杀伤作用来消除产生这种抗原的细胞，从而治疗多种疾病，如肿瘤。

因此，在本发明的第一方面，本发明提出了一种抗体或抗原结合片段。根据本发明的实施例，包括分别如 SEQ ID NO: 1、2 和 3 或者与 SEQ ID NO:1、2 和 3 具有至少 95%同一性的氨基酸序列所示的重链可变区 CDR1、CDR2、CDR3 序列；和/或分别如 SEQ ID NO: 4、5 和 6 或者与 4、5 和 6 具有至少 95%同一性的氨基酸序列所示的轻链可变区 CDR1、CDR2、CDR3 序列。根据本发明实施例的抗体或抗原结合片段能够与人或猴 CD16A 蛋白进行结合，有效治疗或预防 CD16A 介导的相关疾病。

根据本发明的实施例，上述抗体或抗原结合片段还可以进一步包括下列附加技术特征中的至少之一：

根据本发明的实施例，所述抗体或抗原结合片段包括：重链 FR 区和轻链 FR 区中的至少之一。

根据本发明的实施例，所述重链 FR 区和轻链 FR 区的至少之一的至少一部分来自于人源抗体、灵长目源抗体和鼠源

抗体或其突变体中的至少之一。

根据本发明的实施例，所述抗体或抗原结合片段包括：分别如 SEQ ID NO: 7~10 所示的重链框架区 HFR1、HFR2、HFR3 和 HFR4 序列中的至少之一；或分别如 SEQ ID NO: 15~18 所示的重链框架区 HFR1、HFR2、HFR3 和 HFR4 序列中的至少之一。

5 根据本发明的实施例，所述抗体或抗原结合片段包括：分别如 SEQ ID NO: 11~14 所示的轻链框架区 LFR1、LFR2、LFR3 和 LFR4 序列中的至少之一；或分别如 SEQ ID NO: 19~22 所示的轻链框架区 LFR1、LFR2、LFR3 和 LFR4 序列中的至少之一。

10 根据本发明的实施例，所述抗体或抗原结合片段包括：分别如 SEQ ID NO: 7~10 所示的重链框架区 HFR1、HFR2、HFR3 和 HFR4 序列中的至少之一；分别如 SEQ ID NO: 11~14 所示的轻链框架区 LFR1、LFR2、LFR3 和 LFR4 序列中的至少之一；或者分别如 SEQ ID NO: 15~18 所示的重链框架区 HFR1、HFR2、HFR3 和 HFR4 序列中的至少之一；分别如 SEQ ID NO: 19~22 所示的轻链框架区 LFR1、LFR2、LFR3 和 LFR4 序列中的至少之一。

根据本发明的实施例，所述抗体或抗原结合片段包括：如 SEQ ID NO: 23 或 SEQ ID NO: 25 所示的重链可变区；和/或如 SEQ ID NO: 24 或 SEQ ID NO: 26 所示的轻链可变区。

15 根据本发明的实施例，所述抗体或抗原结合片段包括：1) 如 SEQ ID NO: 23 所示的重链可变区，和如 SEQ ID NO: 24 所示的轻链可变区；或 2) 如 SEQ ID NO: 25 所示的重链可变区，和如 SEQ ID NO: 26 所示的轻链可变区。

根据本发明的实施例，所述抗体或抗原结合片段含有重链恒定区和轻链恒定区的至少之一，所述重链恒定区和轻链恒定区的至少之一的至少一部分来自于人源抗体、灵长目源抗体和鼠源抗体或其突变体中的至少之一。

根据本发明的实施例，所述轻链恒定区和重链恒定区均来自于鼠源 IgG 抗体或其突变体或人源 IgG 抗体或其突变体。

20 根据本发明的实施例，所述轻链恒定区和重链恒定区均来自于鼠源 IgG1 抗体或其突变体或人源 IgG1 抗体或其突变体。

根据本发明的实施例，所述抗体具有如 SEQ ID NO: 27 或 29 所示氨基酸序列的重链恒定区和/或如 SEQ ID NO: 28 或 30 所示氨基酸序列的轻链恒定区。

根据本发明的实施例，所述抗体或抗原结合片段具有 SEQ ID NO: 31、33 和 35 任一项所示氨基酸序列的重链和具有 SEQ ID NO: 32、34 和 36 任一项所示氨基酸序列的轻链。

25 根据本发明的实施例，所述抗体或抗原结合片段具有 SEQ ID NO: 31 所示氨基酸序列的重链和 SEQ ID NO: 32 所示氨基酸序列的轻链；所述抗体或抗原结合片段具有 SEQ ID NO: 33 所示氨基酸序列的重链和 SEQ ID NO: 34 所示氨基酸序列的轻链；或所述抗体或抗原结合片段具有 SEQ ID NO: 35 所示氨基酸序列的重链和 SEQ ID NO: 36 所示氨基酸序列的轻链。

根据本发明的实施例，所述抗体或抗原结合片段包括单抗或多抗。

根据本发明的实施例，所述单抗包括 Fv、单链抗体、Fab、单域抗体以及最小识别单位中的至少之一。

30 根据本发明的实施例，所述抗体或其抗原结合片段能够结合 SEQ ID NO: 37 和/或 38 所示的氨基酸序列。

在本发明的第二方面，本发明提出了一种双特异性结合分子。根据本发明的实施例，包括第一结合区，所述第一结合区包含第一方面所述的抗体或抗原结合片段；和第二结合区，所述第二结合区具有 BCMA 或 B7H6 结合活性。根据本发明实施例的双特异性结合分子能够与人或猴 CD16A 蛋白和 BCMA 蛋白进行结合，或者与人或猴 CD16A 蛋白和 B7H6 蛋白进行结合，可以将其应用于科学研究，或有效治疗或预防 CD16A 和 BCMA，或者 CD16A 和 B7H6 介导的相关疾病。

35 本领域技术人员可以理解，所述第二结合区的结合活性并不受特别限制，也可以具有其它结合活性，只要所述双抗具有第一方面所述的抗体或抗原结合片段，且所述抗体或抗原结合片段和所述第二结合区均能够有效发挥功能即可。此外，也可以利用本申请所述的抗体或抗原结合片段制备更多特异性抗体，如三特异性、四特异性、五特异性，基于所述抗体的多特异性，本发明的抗体或抗原结合片段能够把 NK 细胞靶向到其它抗原，通过 NK 细胞介导的细胞杀伤作用来消除产生这种抗原的细胞。

40 根据本发明的实施例，上述双特异性结合分子还可以进一步包括下列附加技术特征中的至少之一：

根据本发明的实施例，所述双特异性结合分子包括对称双特异性结合分子或不对称双特异性结合分子。

根据本发明的实施例，所述双特异性结合分子为非对称双特异性结合分子。

根据本发明的实施例，所述抗体或抗原结合片段为抗 CD16A 单链抗体。

45 根据本发明的实施例，所述第二结合区包括具有 BCMA 或 B7H6 结合活性的全长抗体、Fv、单链抗体、Fab、单域抗体以及最小识别单位中的至少之一。

根据本发明的实施例，所述第二结合区包括抗 BCMA 单链抗体或抗 B7H6 单链抗体。

根据本发明的实施例，所述抗 CD16A 单链抗体包括抗 CD16A 抗体轻链可变区和抗 CD16A 抗体重链可变区，所述抗 CD16A 抗体重链可变区具有 SEQ ID NO: 23 或 25 所示的氨基酸序列，所述抗 CD16A 抗体轻链可变区具有如 SEQ ID NO: 24 或 26 所示的氨基酸序列。

5 根据本发明的实施例，所述抗 CD16A 单链抗体进一步包括连接肽 1，其中，所述连接肽 1 的 N 端与所述抗 CD16A 抗体重链可变区的 C 端相连，所述连接肽 1 的 C 端与所述抗 CD16A 抗体轻链可变区的 N 端相连；或所述连接肽 1 的 N 端与所述抗 CD16A 抗体轻链可变区的 C 端相连，所述连接肽 1 的 C 端与所述抗 CD16A 抗体重链可变区的 N 端相连。

根据本发明的实施例，所述抗 BCMA 单链抗体包括抗 BCMA 抗体轻链可变区和抗 BCMA 抗体重链可变区，所述抗 BCMA 抗体重链可变区具有 SEQ ID NO:59 所示的氨基酸序列，所述抗 BCMA 抗体轻链可变区具有如 SEQ ID NO: 60 所示的氨基酸序列。

10 根据本发明的实施例，所述抗 BCMA 单链抗体进一步包括连接肽 2，其中，所述连接肽 2 的 N 端与所述抗 BCMA 抗体重链可变区的 C 端相连，所述连接肽 2 的 C 端与所述抗 BCMA 抗体轻链可变区的 N 端相连；或所述连接肽 2 的 N 端与所述抗 BCMA 抗体轻链可变区的 C 端相连，所述连接肽 2 的 C 端与所述抗 BCMA 抗体重链可变区的 N 端相连。

15 根据本发明的实施例，所述抗 B7H6 单链抗体包括抗 B7H6 抗体轻链可变区和抗 B7H6 抗体重链可变区，所述抗 B7H6 抗体重链可变区具有 SEQ ID NO: 61 所示的氨基酸序列，所述抗 B7H6 抗体轻链可变区具有如 SEQ ID NO: 62 所示的氨基酸序列。

根据本发明的实施例，所述抗 B7H6 单链抗体进一步包括连接肽 3，其中，所述连接肽 3 的 N 端与所述抗 B7H6 抗体重链可变区的 C 端相连，所述连接肽 3 的 C 端与所述抗 B7H6 抗体轻链可变区的 N 端相连；或所述连接肽 3 的 N 端与所述抗 B7H6 抗体轻链可变区的 C 端相连，所述连接肽 3 的 C 端与所述抗 B7H6 抗体重链可变区的 N 端相连。

20 根据本发明的实施例，所述连接肽 1、连接肽 2 和连接肽 3 中的至少之一具有氨基酸序列 (GGGGS)<sub>n</sub>，其中 n 为大于或等于 1 的整数，优选为 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10。本领域技术人员可以理解，本领域常规连接肽均可使用，如常规的柔性氨基酸片段或刚性氨基酸片段。

根据本发明的实施例，所述连接肽 1、连接肽 2 和连接肽 3 中的至少之一具有 SEQ ID NO:44 所示的氨基酸序列。

根据本发明的实施例，所述抗 CD16A 单链抗体具有如 SEQ ID NO:41 所示的氨基酸序列。

根据本发明的实施例，所述抗 BCMA 单链抗体具有如 SEQ ID NO:42 所示的氨基酸序列。

25 根据本发明的实施例，所述抗 B7H6 单链抗体具有如 SEQ ID NO:43 所示的氨基酸序列。

根据本发明的实施例，所述第一抗原结合区进一步包括第一 Fc 肽段，所述第一 Fc 肽段的 N 端与所述抗体或抗原结合片段的 C 端相连。

根据本发明的实施例，所述第二抗原结合区进一步包括第二 Fc 肽段，所述第二 Fc 肽段的 N 端与所述抗 BCMA 单链抗体或所述抗 B7H6 单链抗体的 C 端相连。

30 根据本发明的实施例，所述第一 Fc 肽段具有 SEQ ID NO:45 所示的氨基酸序列。

根据本发明的实施例，所述第二 Fc 肽段具有 SEQ ID NO:46 所示的氨基酸序列。

根据本发明的实施例，所述第一 Fc 肽段和所述第二 Fc 肽段通过 knob-into-hole 结构进行连接。本领域技术人员可以理解，所述第一 Fc 肽段和所述第二 Fc 肽段的氨基酸序列可以相同或者不同，例如：当所述第一 Fc 肽段和所述第二 Fc 肽段的氨基酸序列相同时，两者可以通过二硫键进行连接。

35 根据本发明的实施例，所述第一抗原结合区具有 SEQ ID NO:47 所示的氨基酸序列，所述第二抗原结合区具有 SEQ ID NO:48 或 49 所示的氨基酸序列。

编码本发明的抗体或其抗原结合片段或者所述双特异性结合分子的核酸在本发明的范围内，根据其氨基酸序列，本领域技术人员能够很容易得到相应的核酸序列。

40 因此，在本发明的第三方面，本发明提供了一种核酸分子，所述核酸分子编码第一方面所述的抗体或抗原结合片段或所述双特异性结合分子。根据本发明一些具体实施方式中的核酸分子编码的抗体或抗原结合片段能够与人或猴 CD16A 蛋白进行结合，有效治疗或预防 CD16A 介导的相关疾病，所述核酸分子编码的双特异性结合分子能够与人或猴 CD16A 蛋白和 BCMA 蛋白进行结合，或者与人或猴 CD16A 蛋白和 B7H6 蛋白进行结合，有效治疗或预防 CD16A 和 BCMA，或者 CD16A 和 B7H6 介导的相关疾病。

根据本发明的实施例，上述核酸分子还可以包括下列附加技术特征中的至少之一：

45 根据本发明的实施例，所述核酸分子为 DNA。

需要说明的是，对于本发明说明书和权利要求书中所提及的核酸，本领域技术人员应当理解，实际包括互补双链的

任意一条，或者两条。为了方便，在本说明书和权利要求书中，虽然多数情况下只给出了一条链，但实际上也公开了与之互补的另一条链。另外，本申请中的核酸序列包括 DNA 形式或 RNA 形式，公开其中一种，意味着另一种也被公开。

在本发明的第四方面，本发明提出了一种表达载体，所述表达载体携带前面所述的核酸分子。所述表达载体可包括可选的控制序列，所述控制序列与所述核酸分子进行可操作地连接。其中，所述控制序列为可指导所述核酸分子在宿主中表达的一个或多个控制序列。本发明实施例所提出的表达载体可在适合的宿主细胞中高效大量表达所述抗体或抗原结合片段。

本文中“可操作地连接”是指将外源基因连接到载体上，使得载体内的控制元件，例如转录控制序列和翻译控制序列等等，能够发挥其预期的调节外源基因的转录和翻译的功能。在将上述核酸分子连接到载体上时，可以将核酸分子与载体上的控制元件直接或者间接相连，只要这些控制元件能够控制核酸分子的翻译和表达等即可。当然这些控制元件可以直接来自于载体本身，也可以是外源性的，即并非来自于载体本身。本领域技术人员可以理解，用来编码抗体或抗原结合片段的核酸分子，可以分别独立的插入到不同的载体上，常见的是插入到同一载体上。常用的载体例如可以为质粒、噬菌体等等。例如 Plasmid-X 质粒。

在本发明的第五方面，本发明提出了一种制备前面所述的抗体或抗原结合片段或双特异性结合分子的方法，包括：将前面所述的表达载体引入到细胞中；将所述细胞在适于蛋白表达和分泌的条件下进行培养，以便获得所述抗体或抗原结合片段或双特异性结合分子。根据本发明一些具体实施方式所提出的方法可以有效体外大量获得所述抗体或抗原结合片段或所述双特异性结合分子。

根据本发明的一些具体实施方式，上述制备前面所述的抗体或抗原结合片段或双特异性结合分子的方法还可以包括下列附加技术特征中的至少之一：

根据本发明的一些具体实施方式，所述细胞不受特别限制，原核细胞或真核细胞均可使用。

根据本发明的一些具体实施方式，所述细胞为真核细胞。

根据本发明的一些具体实施方式，所述真核细胞为哺乳动物细胞。根据本发明的一些具体实施例，当所述细胞为真核细胞，如哺乳动物细胞时所述重组抗体的表达效率较高。

在本发明的第六方面，本发明提出了一种重组细胞，所述重组细胞前面所述的核酸，或表达载体，或能够表达前面所述的抗体或抗原结合片段或所述双特异性结合分子。所述重组细胞是通过转染或者转化所述表达载体获得的。根据本发明的一些具体实施方式，所述重组细胞在合适条件下可高效并大量表达上述抗体或抗原结合片段或所述双特异性结合分子。

需要注意的是，本发明所述重组细胞不受特别限制，可以为原核细胞、真核细胞或噬菌体。所述原核细胞可以为大肠杆菌、枯草杆菌、链霉菌或奇异变形菌等。所述真核细胞包括巴斯德毕赤酵母、酿酒酵母、裂殖酵母、木霉等真菌，草地粘虫等昆虫细胞，烟草等植物细胞，BHK 细胞、CHO 细胞、COS 细胞、骨髓瘤细胞等哺乳动物细胞。在一些实施例中，本发明所述重组细胞优选为哺乳动物细胞，包括 BHK 细胞、CHO 细胞、NSO 细胞或 COS 细胞，且不包括动物生殖细胞、受精卵或胚胎干细胞。

需要说明的是，本申请说明书中所述的“适合条件”，是指适合本申请所述抗体或抗原结合片段、或所述双特异性结合分子表达的条件。本领域技术人员容易理解的是，适合抗体或抗原结合片段或所述双特异性结合分子表达的条件包括但不限于合适的转化或转染方式、合适的转化或转条件、健康的宿主细胞状态、合适的宿主细胞密度、适宜的细胞培养环境、适宜的细胞培养时间。“适合条件”不受特别限制，本领域技术人员可根据实验室的具体环境，优化最适的所述抗体或抗原结合片段表达的条件。

在本发明的第七方面，本发明提出了一种免疫缀合物，包括前面所述的抗体或抗原结合片段或所述双特异性结合分子，和治疗剂。如前所述，本发明实施例的抗体或抗原结合片段能够有效 CD16A 蛋白进行结合，所述双特异性结合分子能够与人或猴 CD16A 蛋白和 BCMA 蛋白进行结合，或者与人或猴 CD16A 蛋白和 B7H6 蛋白进行结合，有效治疗或预防 CD16A 和 BCMA，或者 CD16A 和 B7H6 介导的相关疾病，因此，包含所述抗体或抗原结合片段的免疫缀合物同样能够与人或猴的 CD16A 蛋白进行结合，包含所述双特异性结合分子的免疫缀合物同样能够与人或猴 CD16A 蛋白和 BCMA 蛋白，或者与人或猴 CD16A 蛋白和 B7H6 蛋白进行结合，所述免疫缀合物具有良好的预防和/或治疗 CD16A 介导的疾病，或者 CD16A 和 BCMA，或者 CD16A 和 B7H6 介导的相关疾病效果。

在本发明的第八方面，本发明提出了一种组合物，包括前面所述的抗体或抗原结合片段、双特异性结合分子、核酸分子、表达载体或重组细胞。如前所述，本发明一些具体实施方式的所述抗体或抗原结合片段能够有效与人或猴 CD16A 蛋白进行结合，所述双特异性结合分子能够与人或猴 CD16A 蛋白和 BCMA 蛋白进行结合，或者与人或猴 CD16A 蛋白和 B7H6 蛋白进行结合，并有效抑制肿瘤细胞的增殖，因此，包含上述物质的组合物同样可以有效与人或猴 CD16A 蛋白，

或者与人或猴 CD16A 蛋白和 BCMA 蛋白, 或者与人或猴 CD16A 蛋白和 B7H6 蛋白进行结合, 具有良好的预防和/或治疗 CD16A 介导的疾病, 或者 CD16A 和 BCMA, 或者 CD16A 和 B7H6 介导的相关疾病效果, 所述组合物的种类不受特别限制, 可以为食品组合物或药物组合物。

本发明的组合物也可以相互组合、或与一种或多种其它的治疗化合物组合给药, 例如, 与化疗剂组合给药。因此, 所述组合物还可以含有化疗剂。本发明的抗体或其抗原结合片段、或免疫缀合物还可以与第二治疗剂组合, 所述第二治疗剂的示例性试剂包括但不限于抑制 CD16A 活性的其他试剂(包括其他抗体或其抗原结合片段、肽抑制剂、小分子拮抗剂等)和/或干扰 CD16A 上游或下游信号转导的试剂。

需要注意的是, 所述组合物包括在时间和/或空间上分开的组合, 只要其能够共同作用以实现本发明的目的。例如, 所述组合物中所含的成分可以以整体施用于受试者, 或者分开施用于受试者。当所述组合物中所含的成分分开地施用于受试者时, 各个成分可以同时或依次施用于受试者。

在本发明的第九方面, 本发明提出了一种药物, 包括前面所述的抗体或抗原结合片段、双特异性结合分子、核酸分子、表达载体、重组细胞或组合物。如前所述, 本发明一些具体实施方式的所述抗体或抗原结合片段能够有效与人或猴 CD16A 蛋白进行结合, 所述双特异性结合分子能够与人或猴 CD16A 蛋白和 BCMA 蛋白进行结合, 或者与人或猴 CD16A 蛋白和 B7H6 蛋白进行结合, 因此, 包含有效量的所述抗体或抗原结合片段或者所述双特异性结合分子的活性成分或其一系列物质的药物同样可以有效与人或猴 CD16A 蛋白进行结合, 或者与人或猴 CD16A 蛋白和 BCMA 蛋白, 或者与人或猴 CD16A 蛋白和 B7H6 蛋白进行结合, 具有良好的预防和/或治疗 CD16A 介导的疾病, 或者 CD16A 和 BCMA, 或者 CD16A 和 B7H6 介导的相关疾病效果。

根据本发明的实施例, 上述药物还可以进一步包括如下附加技术特征至少之一:

根据本发明的实施例, 所述药物还可以包括药学上可接受的载体。

如本文所用, 术语“有效量”或“有效剂量”是指可对人和/或动物产生功能或活性的且可被人或/或动物所接受的量。

本发明所述的抗体或抗原结合片段或所述双特异性结合分子的有效量可随给药的模式和待治疗的疾病的严重程度等而变化。优选的有效量的选择可以由本领域普通技术人员根据各种因素来确定(例如通过临床试验)。所述的因素包括但不限于: 所述的活性成分的药代动力学参数例如生物利用率、代谢、半衰期等; 患者所要治疗的疾病的严重程度、患者的体重、患者的免疫状况、给药的途径等。例如, 由治疗状况的迫切要求, 可每天给予若干次分开的剂量, 或将剂量按比例地减少。

如本文所用, “药学上可接受的”的成分是适用于人和/或哺乳动物而无过度不良反应(如毒性、刺激和变态反应)的, 即具有合理的效益/风险比的物质。术语“药学上可接受的载体”指用于治疗剂给药的载体, 包括各种赋形剂和稀释剂。

本发明的药物含有安全有效量的本发明的活性成分以及药学上可接受的载体。这类载体包括(但并不限于): 盐水、缓冲液、葡萄糖、水、甘油、乙醇、及其组合。通常药物制剂应与给药方式相匹配, 其中, 给药的方式可以为口服给药、经鼻给药、皮内给药、皮下给药、肌内给药或静脉给药或腹腔内给药, 本发明的药物的剂型为注射剂、口服制剂(片剂、胶囊、口服液)、透皮剂、缓释剂。例如用生理盐水或含有葡萄糖和其他辅剂的水溶液通过常规方法进行制备。所述的药物宜在无氧条件下制造。所述抗体或抗原结合片段可通过静脉输注或注射或肌肉内或皮下注射来施用。

当然, 本文中的抗 CD16A 单抗或双特异性结合分子还可以根据需要被制成试剂盒或者其他诊断性试剂的一部分。

在本发明的第十方面, 本发明提出了一种试剂盒, 所述试剂盒含有前面所述抗体或其抗原结合片段、双特异性结合分子、核酸分子、表达载体或重组细胞。如前所述, 本发明一些具体实施方式的抗体或抗原结合片段能够有效与人或猴 CD16A 蛋白进行结合, 所述双特异性结合分子能够与人或猴 CD16A 蛋白和 BCMA 蛋白进行结合, 或者与人或猴 CD16A 蛋白和 B7H6 蛋白进行结合, 因此, 包含所述抗体或抗原结合片段的试剂盒能够有效的对人或猴的 CD16A 蛋白进行定性或定量检测, 包含所述双特异性结合分子的试剂盒能够有效的对人或猴 CD16A 蛋白和 BCMA 蛋白, 或者人或猴 CD16A 蛋白和 B7H6 蛋白进行定性或定量检测。应用本发明提供的试剂盒, 例如可以用于免疫印迹、免疫沉淀等涉及到利用人或猴 CD16A 和抗体特异性结合性能来检测的试剂盒等。这些试剂盒可包含下列中的任意一种或多种: 拮抗剂、抗 CD16A 抗体或者药物参照材料; 蛋白纯化柱; 免疫球蛋白亲和纯化缓冲剂; 细胞的测定稀释剂; 说明书或者文献等。抗 CD16A 抗体可被用于不同类型的诊断测试, 例如可以在体外或者体内检测各种各样的疾病或者药物、毒素或者其他蛋白等的存在, 例如可以通过对受试者的血清或者血液进行检测, 用来测试相关疾病, 也可以进行科学研究, 利用所述试剂盒检测待测样品中的人或猴 CD16A 蛋白, 或者人或猴 CD16A 蛋白和 BCMA 蛋白, 或者人或猴 CD16A 蛋白和 B7H6 蛋白。这

种相关疾病可包括 CD16A 相关疾病,例如自身免疫性疾病或者癌症。当然本文提供的抗体或抗原结合片段也可以用于上述疾病的放射免疫检测和放射免疫治疗等等。针对于上述应用场景,所述双特异性结合分子同样适用,此处不再累述。

所述试剂盒还可以包括常规用于检测 CD16A,或者 CD16A 和 BCMA,或者 CD16A 和 B7H6 的试剂,如包被液等。

5 在本发明的第十一方面,本发明提出了前面所述的抗体或其抗原结合片段核酸分子、表达载体、重组细胞或组合物在制备药物中的用途,所述药物用于预防和/或治疗 CD16A 介导的相关疾病。如前所述,本发明一些具体实施方式的所述抗体或抗原结合片段能够有效与人或猴 CD16A 蛋白进行结合,因此,包含有效量的所述抗体或抗原结合片段或其一系列物质的药物同样可以有效与人或猴 CD16A 蛋白进行结合,具有良好的预防和/或治疗 CD16A 介导的疾病,或者 CD16A 和 BCMA,或者 CD16A 和 B7H6 介导的相关疾病效果。

根据本发明的实施例,上述制备药物的用途还可以包括下列附加技术特征中的至少之一:

10 根据本发明的实施例,所述 CD16A 介导的相关疾病包括自身免疫性疾病。

所述自身免疫性疾病包括下列中的至少之一:系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、系统性血管炎、硬皮病、皮炎、自身免疫性溶血性贫血、甲状腺自身免疫病、溃疡性结肠炎、慢性淋巴细胞性甲状腺炎、甲状腺功能亢进、胰岛素依赖型糖尿病、重症肌无力、溃疡性结肠炎、恶性贫血伴慢性萎缩性胃炎、肺出血肾炎综合征、寻常天疱疮、类天疱疮、原发性胆汁性肝硬化、多发性脑脊髓硬化症和急性特发性多神经炎。

15 在本发明的第十二方面,本发明提出了前面所述的双特异性结合分子、核酸分子、表达载体、重组细胞或组合物在制备药物中的用途,所述药物用于预防和/或治疗 CD16A 和 BCMA,或者 CD16A 和 B7H6 介导的相关疾病。如前所述,本发明一些具体实施方式的所述双特异性结合分子能够与人或猴 CD16A 蛋白和 BCMA 蛋白进行结合,或者与人或猴 CD16A 蛋白和 B7H6 蛋白进行结合,因此,包含有效量的所述双特异性结合分子的活性成分或其一系列物质的药物同样可以有效与人或猴 CD16A 蛋白和 BCMA 蛋白,或者与人或猴 CD16A 蛋白和 B7H6 蛋白进行结合,具有良好的预防和/或治疗 CD16A 和 BCMA,或者 CD16A 和 B7H6 介导的相关疾病效果。

根据本发明的实施例,上述制备药物的用途还可以包括下列附加技术特征中的至少之一:

根据本发明的实施例,所述 CD16A 和 BCMA,或者 CD16A 和 B7H6 介导的相关疾病包括癌症。

25 根据本发明的实施例,所述癌症包括下列中的至少之一:血管瘤、胃癌、肝癌、肺癌、乳腺癌、结肠癌、鼻咽癌、膀胱癌、宫颈癌、前列腺癌、骨癌、皮肤癌、甲状腺癌、肾癌、食道癌、黑色素瘤、纤维肉瘤、横纹肌肉瘤、星形细胞瘤、神经母细胞瘤和神经胶质瘤。

在本发明的第十三方面,本发明提出了前面所述的抗体或抗原结合片段、核酸分子、表达载体或重组细胞在制备试剂盒中的用途,所述试剂盒用于检测 CD16A。如前所述,本发明一些具体实施方式的抗体或抗原结合片段能够有效与人或猴 CD16A 蛋白进行结合,并阻断所述 CD16A 蛋白与其受体进行结合,因此,所述抗体或抗原结合片段可以用于制备检测 CD16A 蛋白的试剂盒,所述试剂盒能够有效的对人或猴的 CD16A 蛋白进行定性或定量检测。

30 在本发明的第十四方面,本发明提出了前面所述的双特异性结合分子、核酸分子、表达载体或重组细胞在制备试剂盒中的用途,所述试剂盒用于检测 CD16A 和/或 BCMA,或者,CD16A 和/或 B7H6。如前所述,本发明一些具体实施方式的双特异性结合分子能够有效与人或猴 CD16A 蛋白和 BCMA 蛋白进行结合,或者与人或猴 CD16A 蛋白和 B7H6 蛋白进行结合,因此,所述双特异性结合分子可以用于制备检测 CD16A 和/或 BCMA,或者,CD16A 和/或 B7H6 的试剂盒,所述试剂盒能够有效的对人或猴的 CD16A 和/或 BCMA,或者,CD16A 和/或 B7H6 进行定性或定量检测。

35 在本发明的第十五方面,本发明提出了一种治疗或预防 CD16A,或者 CD16A 和/或 BCMA,或者,CD16A 和/或 B7H6 介导的相关疾病的方法。根据本发明的实施例,所述方法包括向受试者施用以下中的至少之一:1)前面所述的抗体或抗原结合片段;2)前面所述的双特异性结合分子;3)前面所述的核酸分子;4)前面所述的表达载体;5)前面所述的重组细胞;6)前面所述的组合物;和 7)前面所述的药物。如前所述,所述双特异性结合分子能够有效与人或猴 CD16A 蛋白和 BCMA 蛋白进行结合,或者与人或猴 CD16A 蛋白和 B7H6 蛋白进行结合,所述抗体或抗原结合片段能够有效与人或猴 CD16A 蛋白进行结合,能够有效治疗或预防 CD16A,或者 CD16A 和/或 BCMA,或者,CD16A 和/或 B7H6 介导的相关疾病,优选为自身免疫性疾病或癌症,因此,根据本发明实施例的方法能够有效治疗或预防 CD16A,或者 CD16A 和/或 BCMA,或者,CD16A 和/或 B7H6 介导的相关疾病,例如自身免疫性疾病或癌症。

根据本发明的实施例,上述治疗或预防疾病的方法还可以进一步包括如下附加技术特征至少之一:

根据本发明的实施例,所述 CD16A 介导的相关疾病包括自身免疫性疾病。

45 所述自身免疫性疾病包括下列中的至少之一:系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、系统性血管炎、硬皮病、皮炎、自身免疫性溶血性贫血、甲状腺自身免疫病、溃疡性结肠炎、慢性淋巴细胞性甲状腺炎、甲状腺功能亢进、胰岛素依赖

型糖尿病、重症肌无力、溃疡性结肠炎、恶性贫血伴慢性萎缩性胃炎、肺出血肾炎综合征、寻常天疱疮、类天疱疮、原发性胆汁性肝硬化、多发性脑脊髓硬化症和急性特发性多神经炎。

根据本发明的实施例，所述 CD16A 和 BCMA，或者 CD16A 和 B7H6 介导的相关疾病包括癌症。

5 根据本发明的实施例，所述癌症包括下列中的至少之一：血管瘤、胃癌、肝癌、肺癌、乳腺癌、结肠癌、鼻咽癌、膀胱癌、宫颈癌、前列腺癌、骨癌、皮肤癌、甲状腺癌、肾癌、食道癌、黑色素瘤、纤维肉瘤、横纹肌肉瘤、星形细胞瘤、神经母细胞瘤和神经胶质瘤。

在本发明的第十六方面，本发明提出了一种诊断 CD16A，或者 CD16A 和/或 BCMA，或者，CD16A 和/或 B7H6 介导的相关疾病的方法。根据本发明的实施例，包括使用下列中的至少之一对待测样品中的 CD16A，或者 CD16A 和/或 BCMA，或者，CD16A 和/或 B7H6 进行检测：1) 前面所述的抗体或抗原结合片段；2) 前面所述的双特异性结合分子；  
10 3) 前面所述的核酸分子；4) 前面所述的表达载体；和 5) 前面所述的重组细胞，基于所述 CD16A，或者 CD16A 和/或 BCMA，或者，CD16A 和/或 B7H6 的检测结果，确定所述待测样品中 CD16A，或者 CD16A 和/或 BCMA，或者，CD16A 和/或 B7H6 的含量。本申请提出的所述抗体或抗原结合片段，或核酸分子、表达载体、重组细胞表达的抗体或抗原结合片段均可以有效与人或猴 CD16A 蛋白进行结合，所述双特异性结合分子，或核酸分子、表达载体、重组细胞表达的双特异性结合分子均可以有效与 CD16A，或者 CD16A 和/或 BCMA，或者，CD16A 和/或 B7H6 进行结合，因此，采用本申请所述的方法可以有效检测来源于受试个体的待测样品中 CD16A，或者 CD16A 和/或 BCMA，或者 CD16A 和/或 B7H6  
15 的含量，并可以对 CD16A，或者 CD16A 和/或 BCMA，或者 CD16A 和/或 B7H6 引起的相关疾病进行有效诊断。

根据本发明的实施例，上述诊断疾病的方法还可以进一步包括下列附加技术特征中的至少之一：

根据本发明的实施例，所述待测样品中 CD16A，或者 CD16A 和/或 BCMA，或者 CD16A 和/或 B7H6 的含量不低于患病的最低标准是待测样品来源于患有 CD16A，或者 CD16A 和/或 BCMA，或者 CD16A 和/或 B7H6 引起的相关疾病的  
20 患者的指示。所述最低标准的值可以通过对大量患有所述 CD16A，或者 CD16A 和/或 BCMA，或者 CD16A 和/或 B7H6 引起的相关疾病的个体和大量健康个体的待测样本中的 CD16A，或者 CD16A 和/或 BCMA，或者 CD16A 和/或 B7H6 的含量进行差异比较分析、以及验证，而确定下来。

根据本发明的实施例，所述待测样品包括下列中的至少之一：血液、唾液、汗液、组织、细胞、血液、血清、血浆、粪便和尿液。

25 根据本发明的实施例，所述 CD16A 介导的相关疾病包括自身免疫性疾病。

所述自身免疫性疾病包括下列中的至少之一：系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、系统性血管炎、硬皮病、皮炎、自身免疫性溶血性贫血、甲状腺自身免疫病、溃疡性结肠炎、慢性淋巴细胞性甲状腺炎、甲状腺功能亢进、胰岛素依赖型糖尿病、重症肌无力、溃疡性结肠炎、恶性贫血伴慢性萎缩性胃炎、肺出血肾炎综合征、寻常天疱疮、类天疱疮、原发性胆汁性肝硬化、多发性脑脊髓硬化症和急性特发性多神经炎。

30 根据本发明的实施例，所述 CD16A 和 BCMA，或者 CD16A 和 B7H6 介导的相关疾病包括癌症。

根据本发明的实施例，所述癌症包括下列中的至少之一：血管瘤、胃癌、肝癌、肺癌、乳腺癌、结肠癌、鼻咽癌、膀胱癌、宫颈癌、前列腺癌、骨癌、皮肤癌、甲状腺癌、肾癌、食道癌、黑色素瘤、纤维肉瘤、横纹肌肉瘤、星形细胞瘤、神经母细胞瘤和神经胶质瘤。

在本发明的第十六方面，本发明提出了一种对 CD16A，或者 CD16A 和/或 BCMA，或者 CD16A 和/或 B7H6 介导的相关疾病进行分期的方法。根据本发明的实施例，包括使用下列中的至少之一对待测样品中的 CD16A，或者 CD16A 和/或 BCMA，或者 CD16A 和/或 B7H6 进行检测：1) 前面所述的抗体或抗原结合片段；2) 前面所述的双特异性结合分子；  
35 3) 前面所述的核酸分子；4) 前面所述的表达载体；和 5) 前面所述的重组细胞，基于所述 CD16A，或者 CD16A 和/或 BCMA，或者 CD16A 和/或 B7H6 的检测结果，确定所述待测样品中 CD16A，或者 CD16A 和/或 BCMA，或者 CD16A 和/或 B7H6 的含量。本申请提出的所述双特异性结合分子，或核酸分子、表达载体、重组细胞表达的双特异性结合分子均可以有效与人或猴的 CD16A 和/或 BCMA，或者 CD16A 和/或 B7H6 进行结合，所述抗体或抗原结合片段，或核酸分子、表达载体、重组细胞表达的抗体或抗原结合片段均可以有效与人或猴的 CD16A 蛋白进行结合，因此，采用本申请所述的方法可以有效检测来源于受试个体的待测样品中 CD16A，或者 CD16A 和/或 BCMA，或者 CD16A 和/或 B7H6 含量，并基于所述 CD16A，或者 CD16A 和/或 BCMA，或者 CD16A 和/或 B7H6 含量对 CD16A，或者 CD16A 和/或 BCMA，或者 CD16A 和/或 B7H6 引起的相关疾病所处的时期进行评估。  
40

45 根据本发明的实施例，上述对疾病进行分期的方法还可以进一步包括下列附加技术特征中的至少之一：

根据本发明的实施例，所述待测样品中 CD16A，或者 CD16A 和/或 BCMA，或者 CD16A 和/或 B7H6 的含量不低于肿瘤 IV 期患病标准水平是待测样品来源于患有肿瘤 IV 期的患者的指示，所述待测样品中 CD16A，或者 CD16A 和/或

BCMA, 或者 CD16A 和/或 B7H6 的含量位于肿瘤 IV 期和 III 期患病标准水平之间是待测样品来源于患有肿瘤 III 期的患者的指示; 所述待测样品中 CD16A, 或者 CD16A 和/或 BCMA, 或者 CD16A 和/或 B7H6 的含量处于肿瘤 III 期和 II 期患病标准水平之间是待测样品来源于患有肿瘤 II 期的患者的指示; 所述待测样品中 CD16A, 或者 CD16A 和/或 BCMA, 或者 CD16A 和/或 B7H6 的含量处于 I 期和 II 期患病标准水平之间是待测样品来源于患有肿瘤 I 期的患者的指示。本领域技术人员可以理解, 所述的肿瘤 I 期、II 期、III 期、IV 期患病时 CD16A, 或者 CD16A 和/或 BCMA, 或者 CD16A 和/或 B7H6 的水平根据肿瘤种类的不同而变化, 判断肿瘤所述时期, 只要将所述待测样品中 CD16A, 或者 CD16A 和/或 BCMA, 或者 CD16A 和/或 B7H6 的含量与对应的该肿瘤阶段 CD16A, 或者 CD16A 和/或 BCMA, 或者 CD16A 和/或 B7H6 的标准水平进行对比即可知晓, 或将所述待测样品中 CD16A, 或者 CD16A 和/或 BCMA, 或者 CD16A 和/或 B7H6 的含量与已知患病时期的个体或群体来源的样品 CD16A, 或者 CD16A 和/或 BCMA, 或者 CD16A 和/或 B7H6 的含量进行对比。所述肿瘤 I 期、II 期、III 期、IV 期标准水平的值可以通过对大量所述患有血管生成引起的相关疾病的个体和大量健康个体的待测样本中的 CD16A, 或者 CD16A 和/或 BCMA, 或者 CD16A 和/或 B7H6 的含量的差异进行比较分析、以及验证, 而确定下来。

根据本发明的实施例, 所述待测样品包括下列中的至少之一: 血液、唾液、汗液、组织、细胞、血液、血清、血浆、粪便和尿液。

根据本发明的实施例, 所述 CD16A 介导的相关疾病包括自身免疫性疾病。

所述自身免疫性疾病包括下列中的至少之一: 系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、系统性血管炎、硬皮病、皮炎、自身免疫性溶血性贫血、甲状腺自身免疫病、溃疡性结肠炎、慢性淋巴细胞性甲状腺炎、甲状腺功能亢进、胰岛素依赖型糖尿病、重症肌无力、溃疡性结肠炎、恶性贫血伴慢性萎缩性胃炎、肺出血肾炎综合征、寻常天疱疮、类天疱疮、原发性胆汁性肝硬化、多发性脑脊髓硬化症和急性特发性多神经炎。

根据本发明的实施例, 所述 CD16A 和 BCMA, 或者 CD16A 和 B7H6 介导的相关疾病包括癌症。

根据本发明的实施例, 所述癌症包括下列中的至少之一: 血管瘤、胃癌、肝癌、肺癌、乳腺癌、结肠癌、鼻咽癌、膀胱癌、宫颈癌、前列腺癌、骨癌、皮肤癌、甲状腺癌、肾癌、食道癌、黑色素瘤、纤维肉瘤、横纹肌肉瘤、星形细胞瘤、神经母细胞瘤和神经胶质瘤。

在本发明的第十七方面, 本发明提出了一种评估 CD16A, 或者 CD16A 和/或 BCMA, 或者 CD16A 和/或 B7H6 介导的相关疾病预后的方法。根据本发明的实施例, 包括使用下列中的至少之一对待测样品中的 CD16A, 或者 CD16A 和/或 BCMA, 或者 CD16A 和/或 B7H6 进行检测: 2) 前面所述的双特异性结合分子; 2) 前面所述的抗体或抗原结合片段; 3) 前面所述的核酸分子; 4) 前面所述的表达载体; 和 5) 前面所述的重组细胞, 基于所述 CD16A, 或者 CD16A 和/或 BCMA, 或者 CD16A 和/或 B7H6 的检测结果, 确定所述待测样品中 CD16A, 或者 CD16A 和/或 BCMA, 或者 CD16A 和/或 B7H6 的含量。如前所述, CD16A, 或者 CD16A 和/或 BCMA, 或者 CD16A 和/或 B7H6 的含量对癌症具有重要影响, 患有相关疾病个体进行治疗后, 通过监测其组织或排泄物, 如外周血、尿液等中的 CD16A, 或者 CD16A 和/或 BCMA, 或者 CD16A 和/或 B7H6 的含量可以有效评估该类疾病的预后, 例如, 将治疗前后的受试者体内 CD16A, 或者 CD16A 和/或 BCMA, 或者 CD16A 和/或 B7H6 的含量进行比较, 或将治疗后的受试者体内 CD16A, 或者 CD16A 和/或 BCMA, 或者 CD16A 和/或 B7H6 的含量与正常个体或患病个体的 CD16A, 或者 CD16A 和/或 BCMA, 或者 CD16A 和/或 B7H6 水平进行比较等方式, 本申请提出的所述双特异性结合分子, 或核酸分子、表达载体或重组细胞表达的双特异性结合分子均可以有效与 CD16A 和/或 BCMA, 或者 CD16A 和/或 B7H6 进行结合, 所述抗体或抗原结合片段, 或核酸分子、表达载体、重组细胞表达的抗体或抗原结合片段均可以有效与人或猴 CD16A 进行结合, 因此, 采用本申请所述的方法可以有效检测来源于受试个体的待测样品中 CD16A, 或者 CD16A 和/或 BCMA, 或者 CD16A 和/或 B7H6 的含量, 并基于所述 CD16A, 或者 CD16A 和/或 BCMA, 或者 CD16A 和/或 B7H6 的含量对 CD16A, 或者 CD16A 和/或 BCMA, 或者 CD16A 和/或 B7H6 引起的相关疾病的预后进行评估。

根据本发明的实施例, 上述评估疾病预后的方法还可以进一步包括下列附加技术特征中的至少之一:

根据本发明的实施例, 所述待测样品来源于治疗前或治疗后的患有 CD16A, 或者 CD16A 和/或 BCMA, 或者 CD16A 和/或 B7H6 介导的相关疾病的患者。

根据本发明的实施例, 所述待测样品包括下列中的至少之一: 血液、唾液、汗液、组织、细胞、血液、血清、血浆、粪便和尿液。

根据本发明的实施例, 基于所述治疗前或治疗后的患有 CD16A, 或者 CD16A 和/或 BCMA, 或者 CD16A 和/或 B7H6 介导的相关疾病的患者的待测样品中的 CD16A, 或者 CD16A 和/或 BCMA, 或者 CD16A 和/或 B7H6 的含量, 确定 CD16A, 或者 CD16A 和/或 BCMA, 或者 CD16A 和/或 B7H6 介导的相关疾病的预后效果。

根据本发明的实施例, 治疗后的患有 CD16A, 或者 CD16A 和/或 BCMA, 或者 CD16A 和/或 B7H6 介导的相关疾病的患者的待测样品中的 CD16A, 或者 CD16A 和/或 BCMA, 或者 CD16A 和/或 B7H6 的含量下降是患者预后良好的指示。

根据本发明的实施例, 所述 CD16A 介导的相关疾病包括自身免疫性疾病。

所述自身免疫性疾病包括下列中的至少之一: 系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、系统性血管炎、硬皮病、皮炎、自身免疫性溶血性贫血、甲状腺自身免疫病、溃疡性结肠炎、慢性淋巴细胞性甲状腺炎、甲状腺功能亢进、胰岛素依赖

型糖尿病、重症肌无力、溃疡性结肠炎、恶性贫血伴慢性萎缩性胃炎、肺出血肾炎综合征、寻常天疱疮、类天疱疮、原发性胆汁性肝硬化、多发性脑脊髓硬化症和急性特发性多神经炎。

根据本发明的实施例，所述 CD16A 和 BCMA，或者 CD16A 和 B7H6 介导的相关疾病包括癌症。

5 根据本发明的实施例，所述癌症包括下列中的至少之一：血管瘤、胃癌、肝癌、肺癌、乳腺癌、结肠癌、鼻咽癌、膀胱癌、宫颈癌、前列腺癌、骨癌、皮肤癌、甲状腺癌、肾癌、食道癌、黑色素瘤、纤维肉瘤、横纹肌肉瘤、星形细胞瘤、神经母细胞瘤和神经胶质瘤。

在本发明的第十八方面，本发明提出了本发明提出了前面所述的双特异性结合分子，抗体或抗原结合片段，核酸分子，表达载体、重组细胞，组合物或药物在治疗或预防 CD16A，或者 CD16A 和/或 BCMA，或者，CD16A 和/或 B7H6 介导的相关疾病中的用途。如前所述，所述双特异性结合分子与 CD16A 和/或 BCMA，或者，CD16A 和/或 B7H6 均具有较高的结合活性，所述抗体或抗原结合片段能够与人或猴 CD16A 进行有效结合，能够有效治疗或预防 CD16A，或者 CD16A 和/或 BCMA，或者，CD16A 和/或 B7H6 介导的相关疾病。

根据本发明的实施例，上述用途还可以进一步包括如下附加技术特征至少之一：

根据本发明的实施例，所述 CD16A 介导的相关疾病包括自身免疫性疾病。

15 所述自身免疫性疾病包括下列中的至少之一：系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、系统性血管炎、硬皮病、皮炎、自身免疫性溶血性贫血、甲状腺自身免疫病、溃疡性结肠炎、慢性淋巴细胞性甲状腺炎、甲状腺功能亢进、胰岛素依赖型糖尿病、重症肌无力、溃疡性结肠炎、恶性贫血伴慢性萎缩性胃炎、肺出血肾炎综合征、寻常天疱疮、类天疱疮、原发性胆汁性肝硬化、多发性脑脊髓硬化症和急性特发性多神经炎。

根据本发明的实施例，所述 CD16A 和 BCMA，或者 CD16A 和 B7H6 介导的相关疾病包括癌症。

20 根据本发明的实施例，所述癌症包括下列中的至少之一：血管瘤、胃癌、肝癌、肺癌、乳腺癌、结肠癌、鼻咽癌、膀胱癌、宫颈癌、前列腺癌、骨癌、皮肤癌、甲状腺癌、肾癌、食道癌、黑色素瘤、纤维肉瘤、横纹肌肉瘤、星形细胞瘤、神经母细胞瘤和神经胶质瘤。

在本发明的第十九方面，本发明提出了前面所述的双特异性结合分子，抗体或抗原结合片段，核酸分子，表达载体或重组细胞在诊断 CD16A，或者 CD16A 和/或 BCMA，或者，CD16A 和/或 B7H6 介导的相关疾病、对 CD16A，或者 CD16A 和/或 BCMA，或者，CD16A 和/或 B7H6 介导的相关疾病进行分期或评估 CD16A，或者评估 CD16A，或者 CD16A 和/或 BCMA，或者，CD16A 和/或 B7H6 介导的相关疾病预后中的用途。如前所述，本申请提出的所述双特异性结合分子，或核酸分子、表达载体或重组细胞表达的双特异性结合分子均可以有效与 CD16A 和/或 BCMA，或者，CD16A 和/或 B7H6 进行结合，所述抗体或抗原结合片段，或核酸分子、表达载体、重组细胞表达的抗体或抗原结合片段均可以有效与人或猴 CD16A 进行结合，因此，采用本申请所述的方法可以有效检测来源于受试个体的待测样品中 CD16A，或者 CD16A 和/或 BCMA，或者，CD16A 和/或 B7H6 含量，并可以对 CD16A，或者 CD16A 和/或 BCMA，或者，CD16A 和/或 B7H6 介导的相关疾病进行有效诊断、疾病分期和疾病预后评估。

根据本发明的实施例，上述用途还可以进一步包括如下附加技术特征至少之一：

根据本发明的实施例，所述 CD16A 介导的相关疾病包括自身免疫性疾病。

35 所述自身免疫性疾病包括下列中的至少之一：系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、系统性血管炎、硬皮病、皮炎、自身免疫性溶血性贫血、甲状腺自身免疫病、溃疡性结肠炎、慢性淋巴细胞性甲状腺炎、甲状腺功能亢进、胰岛素依赖型糖尿病、重症肌无力、溃疡性结肠炎、恶性贫血伴慢性萎缩性胃炎、肺出血肾炎综合征、寻常天疱疮、类天疱疮、原发性胆汁性肝硬化、多发性脑脊髓硬化症和急性特发性多神经炎。

根据本发明的实施例，所述 CD16A 和 BCMA，或者 CD16A 和 B7H6 介导的相关疾病包括癌症。

40 根据本发明的实施例，所述癌症包括下列中的至少之一：血管瘤、胃癌、肝癌、肺癌、乳腺癌、结肠癌、鼻咽癌、膀胱癌、宫颈癌、前列腺癌、骨癌、皮肤癌、甲状腺癌、肾癌、食道癌、黑色素瘤、纤维肉瘤、横纹肌肉瘤、星形细胞瘤、神经母细胞瘤和神经胶质瘤。

本发明中涉及的“受试者”或“个体”一般指哺乳动物，如灵长类动物和/或啮齿类动物，特别是人、猴或鼠。

#### 本发明的有益效果：

1) 本发明获得的所述鼠源的抗 CD16A 的单克隆抗体较现有 CD16A 单克隆抗体具有更高的 CD16A 蛋白结合活性，且所述 CD16A 蛋白包括人 CD16A 蛋白和猴 CD16A 蛋白。

45 2) 将所述鼠源抗 CD16A 单克隆抗体进行人源化后获得的所述人源化抗体同样较现有 CD16A 单克隆抗体具有更高的 CD16A 蛋白结合活性，所述 CD16A 蛋白包括人 CD16A 蛋白和猴 CD16A 蛋白，且所述人源化抗体具有较低的免疫原性，

安全性更高，效力更加持久。

本发明的附加方面和优点将在下面的描述中部分给出，部分将从下面的描述中变得明显，或通过本发明的实践了解到。

#### 附图说明

- 5 本发明的上述和/或附加的方面和优点从结合下面附图对实施例的描述中将变得明显和容易理解，其中：
- 图 1A 为根据本发明实施例的不同浓度的鼠源 CD16A 抗体 (m40F5) 结合人 CD16A<sup>158F</sup> 蛋白的 ELISA 检测结果图；
- 图 1B 为根据本发明实施例的不同浓度的鼠源 CD16A 抗体结合人 CD16A<sup>158V</sup> 蛋白的 ELISA 检测结果图；
- 图 1C 为根据本发明实施例的不同浓度的鼠源 CD16A 抗体结合猴 CD16 蛋白的 ELISA 检测结果图；
- 图 1D 为根据本发明实施例的不同浓度的鼠源 CD16A 抗体结合人 CD16B<sup>NA1</sup> 蛋白的 ELISA 检测结果图；
- 10 图 1E 为根据本发明实施例的不同浓度的鼠源 CD16A 抗体结合人 CD16B<sup>NA2</sup> 蛋白的 ELISA 检测结果图；
- 图 1F 为根据本发明实施例的不同浓度的鼠源 CD16A 抗体结合人 CD16B<sup>SH</sup> 蛋白的 ELISA 检测结果图；
- 图 2A 为根据本发明实施例的不同浓度的鼠源 CD16A 抗体结合人过表达人 CD16A 蛋白的 CHO 细胞的检测结果图；
- 图 2B 为根据本发明实施例的不同浓度的鼠源 CD16A 抗体结合人过表达食蟹猴 CD16A 蛋白的 CHO 细胞的检测结果图；
- 15 图 3A 为根据本发明实施例的不同浓度的人源化 CD16A 抗体 (h40F5) 结合人 CD16A<sup>158F</sup> 蛋白的 ELISA 检测结果图；
- 图 3B 为根据本发明实施例的不同浓度的人源化 CD16A 抗体 (h40F5) 结合人 CD16A<sup>158V</sup> 蛋白的 ELISA 检测结果图；
- 图 3C 为根据本发明实施例的不同浓度的人源化 CD16A 抗体 (h40F5) 结合猴 CD16 蛋白的 ELISA 检测结果图；
- 图 3D 为根据本发明实施例的不同浓度的人源化 CD16A 抗体 (h40F5) 结合人 CD16B<sup>NA1</sup> 蛋白的 ELISA 检测结果图；
- 图 3E 为根据本发明实施例的不同浓度的人源化 CD16A 抗体 (h40F5) 结合人 CD16B<sup>NA2</sup> 蛋白的 ELISA 检测结果图；
- 20 图 3F 为根据本发明实施例的不同浓度的人源化 CD16A 抗体 (h40F5) 结合人 CD16B<sup>SH</sup> 蛋白的 ELISA 检测结果图；
- 图 4A 为根据本发明实施例的不同浓度的 CD16A×BCMA 双特异性抗体结合人 CD16A 蛋白的检测结果图；
- 图 4B 为根据本发明实施例的不同浓度的 CD16A×BCMA 双特异性抗体结合人 BCMA 蛋白的检测结果图；
- 图 5 为根据本发明实施例的不同浓度的 CD16A×BCMA 双特异性抗体对 NCI-H929 细胞的杀伤检测结果图；
- 图 6A 为根据本发明实施例的不同浓度的 CD16A×B7H6 双特异性抗体结合人 CD16A 蛋白的检测结果图；
- 25 图 6B 为根据本发明实施例的不同浓度的 CD16A×B7H6 双特异性抗体结合人 B7H6 蛋白的检测结果图；以及
- 图 7 为根据本发明实施例的不同浓度的 CD16A×BCMA 双特异性抗体对 HCT-15 细胞的杀伤检测结果图。

#### 具体实施方式

下面详细描述本发明的实施例。下面描述的实施例是示例性的，仅用于解释本发明，而不能理解为对本发明的限制。

- 30 需要说明的是，术语“第一”、“第二”仅用于描述目的，而不能理解为指示或暗示相对重要性或者隐含指明所指示的技术特征的数量。由此，限定有“第一”、“第二”的特征可以明示或者隐含地包括一个或者更多个该特征。进一步地，在本发明的描述中，除非另有说明，“多个”的含义是两个或两个以上。

- 在本文中所披露的范围的端点和任何值都不限于该精确的范围或值，这些范围或值应当理解为包含接近这些范围或值的值。对于数值范围来说，各个范围的端点值之间、各个范围的端点值和单独的点值之间，以及单独的点值之间可以彼此组合而得到一个或多个新的数值范围，这些数值范围应被视为在本文中具体公开。
- 35

为了更容易理解本发明，以下具体定义了某些技术和科学术语。除显而易见在本文件中的它处另有明确定义，否则本文中使用的其它技术和科学术语都具有本发明所属领域的一般技术人员通常理解的含义。氨基酸残基的缩写是本领域中所用的指代 20 个常用 L-氨基酸之一的标准 3 字母和/或 1 字母代码。

- 本发明所述的抗体或抗原结合片段通常由生物合成的方法制备。根据本发明所述的核苷酸序列，本领域技术人员可方便地用各种已知方法制得本发明的编码核酸。这些方法例如但不限于：PCR，DNA 人工合成等，具体的方法可参见 J. 萨姆布鲁克，《分子克隆实验指南》。
- 40

- 本发明所述的抗体或抗原结合片段通常由生物合成的方法制备。根据本发明所述的核苷酸序列，本领域技术人员可方便地用各种已知方法制得本发明的编码核酸。这些方法例如但不限于：PCR，DNA 人工合成等，具体的方法可参见 J. 萨姆布鲁克，《分子克隆实验指南》。作为本发明的一种实施方式，可通过分段合成核苷酸序列再进行重叠延伸 PCR 的方法来构建本发明的编码核酸序列。其中，所述抗体或抗原片段是采用 Kabat 编号系统进行编号和定义的。
- 45

本文中，所述“单抗”是指具有单一抗原结合位点的抗体。

本文中，所述“双抗”是指具有两个不同抗原结合位点的抗体。

在本文中，术语“突变体”或“变体”可以指包含对任何天然存在的或工程化的分子进行包含一个或多个核苷酸或氨基酸突变获得的分子。

术语“互补决定区”或“CDR”或“CDR 序列”是指抗体中负责抗原结合的氨基酸序列，例如，通常包括：轻链可变区中 23-34(L1)、50-56(L2)和 89-97(L3)附近，和重链可变区中 31-35B(H1)、50-65(H2)和 95-102(H3)附近的氨基酸残基（Kabat 等人，Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD.(1991)）；和/或来自“高变环”（例如，轻链可变区中 26-32(L1)、50-52(L2)和 91-96(L3)，和重链可变区中 26-32(H1)、53-55(H2)和 96-101(H3)附近的氨基酸残基（Chothia 和 Lesk J.Mol.Biol.196: 901-917(1987)））。

在本文中，术语“同一性”用于描述相对于参考序列的氨基酸序列或核酸序列时，采用通过常规的方法进行确定两个氨基酸序列或核酸序列之间的相同氨基酸或核苷酸的百分比，例如参见，Ausubel 等，编著(1995)，Current Protocols in Molecular Biology, 第 19 章(Greene Publishing and Wiley-Interscience, New York); 和 ALIGN 程序 (Dayhoff(1978), Atlas of Protein Sequence and Structure 5: Suppl.3(National Biomedical Research Foundation, Washington, D.C.)). 关于比对序列和测定序列同一性有很多算法，包括，Needleman 等(1970)J.Mol.Biol.48: 443 的同源性比对算法；Smith 等(1981)Adv.Appl.Math.2: 482 的局部同源性算法；Pearson 等(1988)Proc.Natl.Acad.Sci.85: 2444 的相似性搜索方法；Smith-Waterman 算法(Meth.Mol.Biol.70: 173-187(1997)；和 BLASTP, BLASTN, 和 BLASTX 算法(参见 Altschul 等(1990)J.Mol.Biol.215: 403-410)。利用这些算法的计算机程序也是可获得的，并且包括但不限于：ALIGN 或 Megalign(DNASTAR)软件，或者 WU-BLAST-2(Altschul 等, Meth.Enzym., 266: 460-480(1996))；或者 GAP, BESTFIT, BLAST Altschul 等，上文，FASTA, 和 TFASTA, 在 Genetics Computing Group(GCG)包, 8 版, Madison, Wisconsin, USA 中可获得；和 Intelligenetics, Mountain View, California 提供的 PC/Gene 程序中的 CLUSTAL。

在不实质性影响抗体活性（保留至少 95%的活性）的前提下，本领域技术人员可以对本发明的序列替换、添加和/或缺失一个或多个（例如 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 个或多个）氨基酸，以获得所述抗体或其功能性片段之序列的变体。它们都被视为包括在本发明保护的范围内。如在可变区将具有类似性质的氨基酸进行替换。本发明所述变体序列可以与参比序列具有至少 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或 99%的一致性（或同源性）。本发明所述的序列一致性可以使用序列分析软件测量。例如使用缺省参数的计算机程序 BLAST，尤其是 BLASTP 或 TBLASTN。本发明述及的氨基酸序列均按照 N 端至 C 端的方式示出。

如前所述，本发明的单抗可以是全长抗体或仅包含其功能性片段（例如，Fab、F(ab')<sub>2</sub> 或 scFv 片段），或可以被修饰以影响功能。本发明包括具有修饰的糖基化模式的抗 CD16A 抗体。在一些应用中，进行修饰以除去不期望的糖基化位点可以是有用的，或在寡糖链上不存在岩藻糖部分以例如增强抗体依赖性细胞毒性(ADCC) 功能的抗体。在另一些应用中，可进行半乳糖基化修饰以改变补体依赖性细胞毒性(CDC)。

在本文中，所述“全长抗体”是由两条相同的轻链和两条相同的重链通过链间二硫键连接而成的四肽链结构，如免疫球蛋白 G (IgG)、免疫球蛋白 A (IgA)、免疫球蛋白 M (IgM)、免疫球蛋白 D (IgD) 或免疫球蛋白 E (IgE)。

本文所使用的术语“功能性片段”尤其是指抗体片段如 CDR 移植抗体、Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、Fv 或 scFv，纳米抗体、或者通过化学修饰或通过掺入脂质体中应能够增加半寿期的任何片段，所述化学修饰例如添加聚(亚烷基)二醇，如聚乙二醇(“聚乙二醇化，PEG 化”) (被称为 Fv-PEG、scFv-PEG、Fab-PEG、F(ab')<sub>2</sub>-PEG 或 Fab'-PEG 的聚乙二醇化片段) (“PEG”为聚乙二醇)，所述片段具有 CD16A 结合活性。优选地，所述功能性片段将由其来源抗体的重链可变区或轻链可变区的部分序列构成或者包含它们，所述部分序列足以保留与其来源抗体相同的结合特异性和充分的亲和力，对于 CD16A，优选至少等于其来源抗体亲和力的 1/100，在更优选方式中至少等于 1/10。这种功能片段将包含最少 3 个氨基酸，优选其来源的抗体序列的 5、10、15、25、50 和 100 个连续氨基酸。

在本发明中，在未作相反说明的情况下，使用的术语“抗原结合片段”通常是指抗原结合性抗体片段，可以包括完整抗体的一部分，一般是抗原结合区或可变区，示例性的，如包括 CDR 移植抗体、Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、Fv 或 scFv，纳米抗体等。

在本文中，术语“CDR 移植抗体”是指将一个物种单抗的 CDR 移植至另一物种抗体可变区。例如，可将鼠源单抗的 CDR 移植至人源抗体可变区，以便替代人源抗体 CDR，使人源抗体获得鼠源单抗的抗原结合特异性，同时减少其异源性。

在本文中，术语“Fab 抗体”或“Fab”通常是指仅含 Fab 分子的抗体，其由重链的 VH 和 CH1 以及完整的轻链构成，轻链和重链之间通过一个二硫键连接。

在本文中，术语“纳米抗体”（单域抗体或 VHH 抗体），其最初被描述为“重链抗体”（即“缺乏轻链的抗体”）的抗原结

合免疫球蛋白(可变)域(Hamers-Casterman C ,AtarhouchT ,Muyldermans S ,Robinson G ,Hamers C ,Songa EB,Bendahman N ,Hamers R .:“Naturallyoccurring antibodies devoid of light chains”; Nature 363 ,446-448(1993)), 只包含重链可变区 (VH) 和常规的 CH2 与 CH3 区, 其通过重链可变区与抗原特异性结合。

5 在本文中, 术语“Fv 抗体”通常是指仅由轻链可变区 (VL) 和重链可变区 (VH) 通过非共价键连接而成的抗体, 是抗体分了保留完整抗原结合部位的最小功能片段。

在本文中, 术语“单链抗体”或“scFv”是由抗体重链可变区和轻链可变区通过短肽连接而成的片段。

10 在本文中, “knob into hole 结构”为在抗体重链恒定区的 CH3 区形成钮 (Knob)扣 (hole)突变, 便于重链咬合, 形成异二聚体, 例如, 本申请中, 通过突变人 IgG1 重链恒定区 CH3 结构域中氨基酸 (一条链中为 T366S、L368A、Y407V、Y349C 突变, 即“hole”; 另一链中为 T366W、S354C 突变, 即“knob”) 实现。其中, 此处的氨基酸编号为根据 Kabat 编号系统进行编号, 例如, 所述“T366S”是指按照 Kabat 编号系统编号第 366 位的 T 氨基酸被 S 氨基酸替代。

本发明所涉及的氨基酸或核酸序列详见表 1。

表 1:

SEQ ID NO:	序列	说明
1	SDYAWN	鼠源 m40F5 抗体重链可变区 CDR1(HCDR1)
2	YISYSGYTNYNPSLES	鼠源 m40F5 抗体重链可变区 CDR2(HCDR2)
3	EVGLRLGWFA Y	鼠源 m40F5 抗体重链可变区 CDR3(HCDR3)
4	KASQSVNNDVA	鼠源 m40F5 抗体轻链可变区 CDR1(LCDR1)
5	YASNRYT	鼠源 m40F5 抗体轻链可变区 CDR2(LCDR2)
6	QQHYSSPWT	鼠源 m40F5 抗体轻链可变区 CDR3(LCDR3)
7	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSIT	鼠源 m40F5 抗体重链可变区 FR1(mHFR1)
8	WIRQFPGNKLEWMG	鼠源 m40F5 抗体重链可变区 FR2(mHFR2)
9	RISVTRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCAR	鼠源 m40F5 抗体重链可变区 FR3(mHFR3)
10	WGQGTLVAVSA	鼠源 m40F5 抗体重链可变区 FR4(mHFR4)
11	SIVMTQTPKFL LISAGDRV TITC	鼠源 m40F5 抗体轻链可变区 FR1(mLFR1)
12	WYQQKPGQSPKLLIY	鼠源 m40F5 抗体轻链可变区 FR2(mLFR2)
13	GVPDHF TGSYGTDFTFTISTVQAEDLAVYFC	鼠源 m40F5 抗体轻链可变区 FR3(mLFR3)
14	FGGGTKLEFK	鼠源 m40F5 抗体轻链可变区 FR4(mLFR4)
15	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGYSIT	人源化 h40F5 抗体重链可变区 FR1(HFR1)
16	WIRQPPGKGLEWMG	人源化 h40F5 抗体重链可变区 FR2(HFR2)
17	RVTISRDT SKNQFSLKLSVTAADTAVYYCAR	人源化 h40F5 抗体重链可变区 FR3(HFR3)
18	WGQGTLVTVSS	人源化 h40F5 抗体重链可变区 FR4(HFR4)
19	DIQMTQSPSSLSASV GDRV TITC	人源化 h40F5 抗体轻链可变区 FR1(LFR1)
20	WYQQKPGKAPKLLIY	人源化 h40F5 抗体轻链可变区 FR2(LFR2)
21	GVPSRFSGSGSDFTFTISSLQPEDIATYYC	人源化 h40F5 抗体轻链可变区 FR3(LFR3)
22	FGGGTKLEIK	人源化 h40F5 抗体轻链可变区 FR4(LFR4)
23	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDYAWN WIRQFPGNKLEW	鼠源 m40F5 抗体/人-鼠嵌合抗

	MGYISYSGYTNYNPSLESRISVTRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCA REVGLRLGWFAFWGQGLVAVSA	体 ch40F5 重链可变区 (m40F5-VH/ch40F5-VH)
24	SIVMTQTPKFLLISAGDRVITITCKASQSVNNDVAWYQQKPGQSPKLLIY YASNRYTGVPDHFHTGSGYGTDFFTISTVQAEDLAVYFCQQHYSSPWTF GGGTKLEFK	鼠源 m40F5 抗体/人-鼠嵌合抗 体 ch40F5 轻链可变区 (m40F5-VL/ch40F5-VL)
25	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGYSITSDYAWNWIROPKGGLEW MGYISYSGYTNYNPSLESRVITISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCA REVGLRLGWFAFWGQGLVTVSS	人源化 h40F5 抗体重链可变区 (h40F5-VH)
26	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQSVNNDVAWYQQKPGKAPKLLIY YASNRYTGVPSPRFSGSGSGTDFFTISSLPEDIATYYCQQHYSSPWTFG GGTKLEIK	人源化 h40F5 抗体轻链可变区 (h40F5-VL)
27	AKTTAPSVYPLAPVCGDITGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSSGSLSSG VHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKIEPR GPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFFPKIKDVLMSLSPIVTCVVVDVSE DDPDVQISWVFNVEVHTAQQTTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMS GKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVT LTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSGDSYFMYSKLR VEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK	鼠源 m40F5 抗体重链恒定区
28	RADAAPTVISIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSRQ NGVLNSWTDQDSKDYSLSSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPI VKSFNRECE	鼠源 m40F5 抗体轻链恒定区
29	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKVV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSPGK	人源化 m40F5 抗体/人-鼠嵌合 抗体 ch40F5 重链恒定区
30	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCFLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLTKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC	人源化 m40F5 抗体/人-鼠嵌合 抗体 ch40F5 轻链恒定区
31	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDYAWNWIROPKGNKLEW MGYISYSGYTNYNPSLESRISVTRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCA REVGLRLGWFAFWGQGLVAVSAAKTAPSVYPLAPVCGDITGSSVTL GCLVKGYFPEPVTLTWNSSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSST WPSQSITCNVAHPASSTKVDKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFI FFPKIKDVLMSLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNVEVHTAQQT HREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPK GSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKT ELNYKNTEPVLDSGDSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHN HHTTKSFSRTPGK	鼠源 m40F5 抗体重链
32	SIVMTQTPKFLLISAGDRVITITCKASQSVNNDVAWYQQKPGQSPKLLIY YASNRYTGVPDHFHTGSGYGTDFFTISTVQAEDLAVYFCQQHYSSPWTF GGGTKLEFKRADAAPTVISIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVK WKIDGSRQNGVLNSWTDQDSKDYSLSSSTLTLTKDEYERHNSYTCE ATHKTSTSPIVKSFNRECE	鼠源 m40F5 抗体轻链
33	DVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCTVTGYSITSDYAWNWIROPKGNKLEW MGYISYSGYTNYNPSLESRISVTRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCA REVGLRLGWFAFWGQGLVAVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV LFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHN HYTQKLSLSPGK	嵌合抗体 ch40F5 重链
34	SIVMTQTPKFLLISAGDRVITITCKASQSVNNDVAWYQQKPGQSPKLLIY YASNRYTGVPDHFHTGSGYGTDFFTISTVQAEDLAVYFCQQHYSSPWTF GGGTKLEFKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCFLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLTKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC	嵌合抗体 ch40F5 轻链
35	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGYSITSDYAWNWIROPKGGLEW MGYISYSGYTNYNPSLESRVITISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCA REVGLRLGWFAFWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV LFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS	人源化 h40F5 抗体重链

	KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSGFFLYSKLTVDKSRWQOQGNVFSVMSVHEALHN HYTQKLSLSLSPGK	
36	DIQMTQSPSSLSASVGVDRVITITCKASQSVNNDVAWYQOKPGKAPKLLIY YASNRYTGVPSTRFSGSGSDFTFTISSLPEDIATYYCQQHYSSPWTFG GGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC	人源化 h40F5 抗体轻链
37	MGGGAGERLFTSSCLVGLVPLGLRISLVTCLQCGLMWOQLLLPTALLL VSAGMRTEDELPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCGAYSPEDNSTQW FHNESLISSQASSYFIDAATVDDSGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLL LQAPRWVFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRKYFHNSDF YIPKATLKDSGSYFCRGLFGSKNVSSSETVNIITITQGLAVSTISSFFPPGYQ VSFCLVMVLLFAVDTGlyFSVKTNIRSSSTRDWKDHKFKWRKDPQDK	人 CD16A 蛋白氨基酸序列
38	MWQLLLPTALLLVSAGMRAEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDRVTLKC QGAYSPEDNSTRWFHNESLISSQTSYFIAAARVNNSGEYRCQTSLSLTS DPVQLEVHIGWLLQAPRWVFKEEESIHLRCHSWKNTLLHKVTYLQNG KGRKYFHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGLIGSKNVSSSETVNIITITQDL AVSSISSFFPPGYQVSFCLVMVLLFAVDTGlyFSMKKSIPSSSTRDWEDHK FKWSKDPQDK	猴 CD16A 蛋白氨基酸序列
39	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCCGGCCCCGGCCTGGTGAAGCCCTCCG AGACCCTGTCCCTGACCTGCACCGTGTCCGGCTACTCCATCACCTCC GACTACGCCTGGAAGTGGATCAGGCAGCCCCCGGCAAGGGCCTGG AGTGGATGGGCTACATCTCCTACTCCGGCTACACCAACTACAACCC TCCCTGGAGTCCAGGGTGACCATCTCCAGGGACACCTCCAAGAACC AGTTCTCCCTGAAGCTGTCTCCGTGACCGCCGCCACCGCCGTG TACTACTGCGCCAGGGAGGTGGCCTGAGGCTGGGCTGGTTCGCCTA CTGGGGCCAGGGCACCTGGTGACCGTGTCTCCGCCTCCACCAAG GGCCCCCTCCGTGTTCCCCCTGGCCCCCTCCTCCAAGTCCACCTCCGG CGGCACCGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAG CCCGTGACCGTGTCTGGAAGTCCGGCGCCCTGACCTCCGGCGTGC ACACCTTCCCCCGCGTGTCTGCAGTCTCCGGCCTGTACTCCCTGTCC TCCGTGGTGACCGTGCCTCCTCCTCCCTGGGCAAGGAGACTACAT CTGCAACGTGAACCAAGCCCTCCAACACCAAGGTGGACAAGAA GGTGGAGCCCAAGTCTGCGACAAGACCCACACCTGCCCCCCTGC CCCCCCCCGAGCTGCTGGGCGGCCCTCCGTGTTCCCTGTTCCCCC CAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCAGGACCCCGAGGTGACC TGCGTGGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCCCGAGGTGAAGTTCA ACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCC CAGGGAGGAGCAGTACAACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTG ACCGTGTGCACAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGA AGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCCGCCCCATCGAGAAGACCATCTC CAAGGCCAAGGGCCAGCCAGGGAGCCCAAGGTGTACACCCTGCC CCCTCCAGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCC TGGTGAAGGGCTTACCCCTCCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGTCC AACGGCCAGCCCGAGAACAATAACAAGACCACCCCCCGTGTGCTGG ACTCCGACGGCTCCTTCTTCTTCTTCAAGCTGACCGTGGACAAG TCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCGTGATGCACG AGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCCCC GGCAAG	编码人源化 h40F5 抗体重链的 核苷酸序列
40	GACATCCAGATGACCCAGTCCCCCTCCTCCCTGTCCGCCTCCGTGGG CGACAGGGTGACCATCACCTGCAAGGCCTCCAGTCCGTGAACAAC GACGTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGC TGATCTACTACGCCTCCAACAGGTACACCGCGTGCCTCCAGGTTC TCCGGTCCGGCTCCGGCACCGACTTCACTTCACTTCACTCCTCCT GCAGCCCGAGGACATCGCCACCTACTACTGCCAGCAGCACTACTCCT CCCCCTGGACCTTCGGCGGGCCACCAAGCTGGAGATCAAGAGGAC CGTGGCCGCCCCCTCCGTGTTTCTTCCCCCTCCGACGAGCAGC TGAAGTCCGGCACCGCCTCCGTGGTGTGCTGTAACAACCTTCTAC CCCAGGGAGGCCAAGGTGCAGTGAAGGTGGACAACGCCCTGCAG TCCGGCAACTCCCAGGAGTCCGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACT CCACTACTCCCTGTCCTCCACCTGACCCGTGTAAGGCCGACTAC GAGAAGCAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCGGGCCTGT CCTCCCCCGTGAACAAGTCTTCAACAGGGGCGAGTGC	编码人源化 h40F5 抗体轻链的 核苷酸序列
41	DIQMTQSPSSLSASVGVDRVITITCKASQSVNNDVAWYQOKPGKAPKLLIY YASNRYTGVPSTRFSGSGSDFTFTISSLPEDIATYYCQQHYSSPWTFG CGTKLEIKGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGVQLQESGPGLVKPSSETLSL TCTVSGYSITSDYAWNWRQPPGKCLEWVMGYISYSGYTNYNPSLESRT ISRDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCAREVGLRLGWFAWYWGQGLVT	人源化 h40F5 单链抗体 (CD16A scFv)

	VSS	
42	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIY YTSNLHSGVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQYRKLPTWTFG QGKLEIKRGGGGSGGGGSGGGGSGVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSK ASGGTFSNYWMHWVRQAPGQGLEWMGATYRGHSDTYYNQKFKGRV TITADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGAIYDGYDVLNHWGQGT LTVSS	BCMA 单链抗体 (BCMA scFv)
43	DIVLTQTPLSLSVTPGQPASISCKASQSVDYDGDSYMNWYLQKPGQPPQ LLIYAASLHSGIPDRFSGSGSGTDFLTIKISRVEAEDVGVYYCQQSKEDP RTFGQGTLEIKGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTDYNMDWVRQAPGQGLEWIGDINPNNGGTLYNQKFRGR VTLTVDTSISTAYMELSLRSDDTAVYYCARSEVFGNYADYWGQGT LTVSS	B7H6 单链抗体 (B7H6 scFv)
44	GGGGSGGGGSGGGGSGGGG	连接肽 1
45	EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTK NQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSPGK	第一 Fc 肽段
46	EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTK NQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSPGK	第二 Fc 肽段
47	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCKASQSVNNDVAWYQQKPGKAPKLLIY YASNRYTGVPSPRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQHYSSPWTFG CQGTLEIKRGGGGSGGGGSGGGGSGVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSK TCTVSGYTSIDYAWNWRQPPGKCLEWMGYISYSGYTNYNPSLESRT ISRDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCAREVGLRLGWFAFWGQGT VVSSEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREE MTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSPGK	第一抗原结合区 (CD16A scFv-Fc)
48	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIY YTSNLHSGVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQYRKLPTWTFG QGKLEIKRGGGGSGGGGSGGGGSGVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSK ASGGTFSNYWMHWVRQAPGQGLEWMGATYRGHSDTYYNQKFKGRV TITADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGAIYDGYDVLNHWGQGT LTVSSEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL VHQDWLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRE EMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSPGK	第二结合区 (BCMA scFv-Fc)
49	DIVLTQTPLSLSVTPGQPASISCKASQSVDYDGDSYMNWYLQKPGQPPQ LLIYAASLHSGIPDRFSGSGSGTDFLTIKISRVEAEDVGVYYCQQSKEDP RTFGQGTLEIKGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTDYNMDWVRQAPGQGLEWIGDINPNNGGTLYNQKFRGR VTLTVDTSISTAYMELSLRSDDTAVYYCARSEVFGNYADYWGQGT LTVSSEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL VHQDWLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRE EMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSPGK	第二结合区 (B7H6 scFv-Fc)
50	GACGTGCAGCTGCAGGAGTCCGGCCCCGGCCTGGTGAAGCCCTCCC AGTCCCTGTCCCTGACCTGCACCGTGACCGGCTACTCCATCACCTCC GACTACGCCTGGAAGTGGATCAGGCAGTTCCTCCCGCAACAAGCTGG AGTGGATGGGCTACATCTCTACTCCGGCTACACCAACTACAACCC TCCCTGGAGTCCAGGATCTCCGTGACCAGGACACCTCCAAGAACC AGTTCCTCCTGCAGCTGAAGTCCGTGACCACCGAGGACACCGCCAC CTACTACTGCGCCAGGGAGGTGGGCCCTGAGGCTGGGCTGGTTCGCCT ACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGGCCGTGTCCGCCCAAGACCAC CGCCCCCTCCGTGACCCCTGGCCCCGTGTGCGGCGACACCACCG GCTCCTCCGTGACCCTGGGCTGCTGGTGAAGGGCTACTTCCCGAG CCCGTGACCCTGACCTGGAAGTCCGGCTCCCTGTCTCCGGCGTGCA CACCTTCCCGCCGTGCTGCAGTCCGACCTGTACACCCTGTCTCCT CCGTGACCGTGACCTCCTCCACCTGGCCCTCCAGTCCATCACCTGC AACGTGGCCACCCCGCTCCTCCACCAAGGTGGACAAGAAGATCG	编码鼠源 m40F5 抗体重链的 核苷酸序列

	<p>AGCCCAGGGGCCCCACCATCAAGCCCTGCCCCCCTGCAAGTGCC CGCCCCAACCTGCTGGGCGCCCCCTCCGTGTTTCATCTTCCCCCA AGATCAAGGACGTGCTGATGATCTCCCTGTCCCCATCGTGACCTGC GTGGTGGTGGACGTGTCCGAGGACGACCCCGACGTGCAGATCTCT GGTTCGTGAACAACGTGGAGGTGCACACCGCCAGACCCAGACCCA CAGGGAGGACTACAACCTCACCCCTGAGGGTGGTGTCCGCCCTGCC ATCCAGCACCAGGACTGGATGTCCGGCAAGGAGTTCAAGTGCAAGG TGAACAACAAGGACCTGCCCGCCCCATCGAGAGGACCATCTCAA CCCCAAGGGCTCCGTGAGGGCCCCCAGGTGTACGTGCTGCCCCC CCCAGGAGGAGATGACCAAGAAGCAGGTGACCTGACCTGCATGG TGACCGACTTCATGCCCGAGGACATCTACGTGGAGTGGACCAACAA CGGCAAGACCGAGCTGAACCTACAAGAACACCGAGCCCGTGTGGAC TCCGACGGCTCCTACTTCATGTACTCCAAGCTGAGGGTGGAGAAGAA GAACTGGGTGGAGAGGAACTCCTACTCCTGCTCCGTGGTGCACGAG GGCCTGCACAACCACACACCAAGTCCTTCTCCAGGACCCCCG GCAAG</p>	
51	<p>TCCATCGTGATGACCCAGACCCCCAAGTTCTGCTGATCTCCGCCG CGACAGGGTGACCATCACCTGCAAGCCCTCCAGTCCGTGAACAAC GACGTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCCAGTCCCCAACGCTGC TGATCTACTACGCCTCCAACAGGTACACCGGCGTGCCCGACCACTT ACCGGCTCCGGCTACGGCACCGACTTCACCTTACCATCTCCACCGT GCAGGCCGAGGACCTGGCCGTGTACTTCTGCCAGCAGCACTACTCCT CCCCCTGGACCTTCGGCGGGCACCAGCTGGAGTTCAAGAGGGC CGACGCCGCCCCACCGTGTCCATCTTCCCCCCTCCTCCGAGCAGC TGACCTCCGGCGGGCCCTCCGTGGTGTGCTTCTTGAACAACCTTAC CCAAGGACATCAACGTGAAGTGGAAAGATCGACGGCTCCGAGAGGC AGAACGGCGTGTGAACTCCTGGACCGACCAGGACTCCAAGGACTC CACCTACTCCATGTCTCCACCCTGACCCTGACCAAGGACGAGTACG AGAGGCACAACCTTACACCTGCGAGGCCACCCACAAGACCTCCAC CTCCCCATCGTGAAGTCCTTCAACAGGAACGAGTGC</p>	<p>编码鼠源 m40F5 抗体轻链的 核苷酸序列</p>
52	<p>GACGTGCAGCTGCAGGAGTCCGGCCCCGGCCTGGTGAAGCCCTCCC AGTCCCTGTCCCTGACCTGCACCGTGACCGGCTACTCCATCACCTCC GACTACGCCTGGAACCTGGATCAGGCAGTTCCCCGCAACAAGCTGG AGTGGATGGGCTACATCTCCTACTCCGGCTACACCAACTACAACCCC TCCCTGGAGTCCAGGATCTCCGTGACCAGGGACACCTCCAAGAACC AGTTCTTCTGAGCTGAACTCCGTGACCACCGAGGACACCGCCAC CTACTACTGCGCCAGGGAGGTGGGCCCTGAGGCTGGGCTGGTTCCCT ACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGGCCGTGTCCGCCGCTCCACCAA GGGCCCCCTCCGTGTTCCCCCTGGCCCCCTCCTCCAAGTCCACCTCCG GCGGCACCGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGA GCCCCGTGACCGTGTCTGGAACCTCCGGCGCCCTGACCTCCGGCGTG CACACCTTCCCCGCGGTGCTGCAGTCTCCGGCCTGTACTCCCTGTC CTCCGTGGTGACCGTGCCCTCCTCCTCCCTGGGCACCCAGACCTACA TCTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAGGTGGACAAGAA GGTGGAGCCCAAGTCTGCGACAAGACCCACACCTGCCCCCCTGC CCCCCCCCGAGCTGCTGGGCGGCCCTCCGTGTTCTGTTCCCCC CAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCAGGACCCCGAGGTGACC TGCCTGGTGGTGGACGTGTCCCACGAGGACCCCGAGGTGAAGTTCA ACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCC CAGGGAGGAGCAGTACAACCTCACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTG ACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCA AGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCGCCCCCATCGAGAAGACCATCTC CAAGGCCAAGGGCCAGCCCAGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCC CCCTCCAGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGCC TGGTGAAGGGCTTCTACCCTCCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGTCC AACGGCCAGCCCAGACAACAACAAGACCACCCCCCCTGCTGG ACTCCGACGGCTCCTTCTTCTGACTCCAAGCTGACCGTGGACAAG TCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCGTGATGCACG AGGCCCTGCACAACCCTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCCCC GGCAAG</p>	<p>编码人-鼠嵌合抗体 ch40F5 抗 体重链的核苷酸序列</p>
53	<p>TCCATCGTGATGACCCAGACCCCCAAGTTCTGCTGATCTCCGCCG CGACAGGGTGACCATCACCTGCAAGCCCTCCAGTCCGTGAACAAC GACGTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCCAGTCCCCAACGCTGC TGATCTACTACGCCTCCAACAGGTACACCGGCGTGCCCGACCACTT ACCGGCTCCGGCTACGGCACCGACTTCACCTTACCATCTCCACCGT GCAGGCCGAGGACCTGGCCGTGTACTTCTGCCAGCAGCACTACTCCT CCCCCTGGACCTTCGGCGGGCACCAGCTGGAGTTCAAGAGGAC CGTGGCCGCCCCCTCCGTGTTTCATCTTCCCCCCTCCGACGAGCAGC TGAAGTCCGGCACCGCCTCCGTGGTGTGCTGTAACAACCTTCTAC</p>	<p>编码人-鼠嵌合抗体 ch40F5 抗 体轻链的核苷酸序列</p>

	<p>CCCAGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAAGGTGGACAACGCCCTGCAG TCCGGCAACTCCCAGGAGTCCGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGACT CCACCTACTCCCTGCCCTCACCCCTGACCCCTGTCCAAGGCCGACTAC GAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGT CCTCCCCCGTGACCAAGTCCCTTCAACAGGGGCGAGTGC</p>	
<p>54</p>	<p>GACATCCAGATGACCCAGTCCCCCTCCTCCCTGTCCGCCTCCGTGGG CGACAGGGTGACCATCACCTGCAAGGCCTCCAGTCCGTGAACAAC GACGTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGC TGATCTACTACGCCTCCAACAGGTACACCGGCGTGCCCTCCAGGTTC TCCGGTCCGGCTCCGGCACCGACTTCACCTTCACCATCTCCTCCCT GCAGCCCCAGGACATCGCCACCTACTACTGCCAGCAGCACTACTCCT CCCCCTGGACCTTCGGCTGCGGCACCAAGCTGGAGATCAAGGGCGG CGGCGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCCGGCGGC GGCGGCTCCAGGTGCAGCTGCAGGAGTCCGGCCCCGGCCTGGTGA AGCCCTCCGAGACCCTGTCCCTGACCTGCACCGTGTCCGGCTACTCC ATCACCTCCGACTACGCCTGGAAGTGGATCAGGCAGCCCCCGGCAA GTGCCTGGAGTGGATGGGCTACATCTCCTACTCCGGCTACACCAACT ACAACCCTCCCTGGAGTCCAGGTGACCATCTCCAGGGACACCTC CAAGAACCAGTTCCTCCCTGAAGCTGTCTCCGTGACCGCCGCGGAC ACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGGAGGTGGGCCTGAGGCTGGGCT GGTTCGCCTACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACCGTGTCTCCGA GCCAAGTCTGCGACAAGACCCACACCTGCCCCCCCTGCCCGCC CCCGAGGCCGCGGCGGCCCCCTCCGTGTTCCCTGTTCCCCCCCCAAGCC CAAGGACACCCCTGATGATCTCCAGGACCCCGAGGTGACCTGCGTG TAAGGTGGACGTGTCCACGAGGACCCCGAGGTGAAGTTCAACTGGT ACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCAGGG AGGAGCAGTACAACCTCACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGT GCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTG TCCAACAAGGCCCTGCCCGCCCCATCGAGAAGACCATCTCCAAGG CCAAGGGCCAGCCAGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCCCTG CAGGGAGGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGTGGTGCCTGGTG AAGGGCTTCTACCCCTCCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGTCCAACG GCCAGCCCCGAGAACAACACTACAAGACCACCCCCCGTGTGGACTC CGACGGCTCCTTCTCCTGTACTCCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCA GGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCGTGATGCACGAGGC CCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCCCCCGGCA AG</p>	<p>编码第一结合区的核苷酸序 列（CD16A scFv-Fc）</p>
<p>55</p>	<p>GACATCCAGATGACCCAGTCCCCCTCCTCCCTGTCCGCCTCCGTGGG CGACAGGGTGACCATCACCTGCTCCGCCTCCAGGACATCTCCAACCT ACCTGAACTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCT GATCTACTACACCTCCAACCTGCACTCCGGCGTGCCCTCCAGGTTCT CCGGCTCCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCCTGACCATCTCCTCCCTG CAGCCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACAGGAAGC TGCCCTGGACCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAGAGGGG CGGCGGCGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCCAG GTGCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCCGAGGTGAAGAAGCCCCGCTCCT CCGTGAAGGTGTCTGCAAGGCCTCCGGCGGCACCTTCTCCAACCTAC TGGATGCACTGGGTGAGGCAGGCCCCCGGCCAGGGCCTGGAGTGGG TGGGCGCCACCTACAGGGGCCACTCCGACACCTACTACAACCAGAA GTTCAAGGGCAGGGTGACCATCACCGCCGACAAGTCCACCTCCACC GCCTACATGGAGCTGTCTCCCTGAGGTCCGAGGACACCGCCGTGTA CTACTGCGCCAGGGGCGCCATCTACGACGGCTACGACGTGCTGGAC AACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACCGTGTCTCCGAGCCCAAGT CTGCGACAAGACCCACACCTGCCCCCCCTGCCCGCCCCCGAGGC CGCCGGCGGCCCCCTCCGTGTTCCCTGTTCCCCCCCCAAGCCCAAGGACA CCCTGATGATCTCCAGGACCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGAC GTGTCCCACGAGGACCCCGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACG GCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCAGGGAGGAGCAGT ACAACCTCACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGCACCA GGACTGGTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTGTCCAACAA GGCCCGCCCCCATCGAGAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGC CAGCCCAGGGAGCCCCAGGTGTGCACCCCTGCCCCCCCTCCAGGGAGG AGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGTCTGCGCCGTGAAGGGCTT CTACCCCTCCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGTCCAACGGCCAGCCC GAGAACAACACTACAAGACCACCCCCCGTGTGGACTCCGACGGCT CCTTCTCCTGGTGTCCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCA GCAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCAC AACCCTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCCCCCGGCAAG</p>	<p>编码第二结合区（BCMA scFv-Fc）的核苷酸序列</p>
<p>56</p>	<p>GACATCGTGTGACCCAGACCCCTGTCCCTGTCCGTGACCCCGG</p>	<p>编码第二结合区（B7H6</p>

	<p>CCAGCCCCTCCATCTCCTGCAAGGCCTCCCAGTCCGTGGACTACG ACGGCGACTCCTACATGAACTGGTACCTGCAGAAGCCCGCCAGCC CCCCAGCTGCTGATCTACGCCCGCTCCACCCTGCCTCCGGCATCC CCGACAGGTTCTCCGGCTCCGGCTCCGGCACCGACTTACCCTGAA GATCTCCAGGGTGGAGGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTACTGCCAG CAGTCCAAGGAGGACCCAGGACCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTGG AGATCAAGGGCGGCGGCGGCTCCGGCGGCGGCGGCTCCGGCGGCG GCGGCTCCGAGGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCCGAGGTGAAGAA GCCCGGCGCCTCCGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCCTCCGGCTACACCT TCACCGACTACAACATGGACTGGGTGAGGCAGGCCCGCCAGGG CCTGGAGTGGATCGGCGACATCAACCCCAACAACGGCGGCAACCCTG TACAACCAGAAGTTCAGGGGCAGGGTGACCCTGACCGTGGACACCT CCATCTCCACCGCTACATGGAGCTGTCCAGGCTGAGGTCCGACGAC ACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGTCCGAGGTGTTCTACGGCAACTA CGCCGACTACTGGGGCCAGGGCACACCGTGACCGTGTCTCCGAG CCCAAGTCTCGCAAGACCCACACCTGCCCCCTGCCCCGCCC CCGAGGCCCGCGGCGGCCCCCTCCGTGTTCTGTTCCCCCAAGCCC AAGGACCCCTGATGATCTCCAGGACCCCGAGGTGACCTGCGTGG TGGTGGACGTGTCCACGAGGACCCGAGGTGAAGTTCAACTGGTA CGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGGGA GGAGCAGTACAACCTCCACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTG CTGACACAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTGT CCAACAAGGCCCTGCCGCCCCATCGAGAAGACCATCTCCAAGGC CAAGGGCCAGCCAGGGAGCCCCAGGTGTGACCCCTGCCCCCTCC AGGGAGGAGTACCAAGAACCAGGTGTCCCTGTCTGCGCCGTGA AGGGCTTCTACCCCTCCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGTCCAACGG CCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCGTGCTGGACTCC GACGGCTCCTTCTCCTGGTGTCCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAG GTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCC CTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCCCCCGCAA G</p>	<p>scFv-Fc) 的核苷酸序列</p>
<p>57</p>	<p>ATGGGTGGAGGGCTGGGGAAAGGCTGTTTACTTCCCTCTGTCTAGT CGTTTTGGTCCCTTTAGGGCTCCGGATATCTTTGGTGACTTGTCCACT CCAGTGTGGCATCATGTGGCAGCTGCTCCTCCCAACTGCTCTGTACT TTCTAGTTTCAGTGGCATGCGGACTGAAGATCTCCCAAAGGCTGTG GTGTTCCCTGGAGCCTCAATGGTACAGGGTGTGCGAGAAGGACAGTG TGACTCTGAAGTGCCAGGGAGCCTACTCCCCTGAGGACAATTCCACA CAGTGGTTTACAATGAGAGCCTCATCTCAAGCCAGGCCTCGAGCTA CTTCATTGACGCTGCCACAGTCGACGACAGTGGAGAGTACAGGTGC CAGACAACCTCTCCACCTCAGTGACCCGTTGAGTGAAGTCC ATATCGGCTGGCTGTTGCTCCAGGCCCTCGGTGGGTGTTCAAGGAG GAAGACCCTATTACCTGAGGTGTACAGCTGGAAGAACAAGTCTCT GCATAAGGTACATATTACAGAATGGCAAAGGCAGGAAGTATTTTC ATCATAATTCTGACTTCTACATTTCCAAAAGCCACACTCAAAGACAGC GGCTCCTACTTCTGCAGGGGGCTTTTTGGGAGTAAAAATGTGCTTC AGAGACTGTGAACATCACCTCACTCAAGGTTTGGCAGTGTCAACCA TCTCATATTCTTTCCACCTGGGTACCAAGTCTTTCTGCTTGGTGA TGGTACTCCTTTTTGCAGTGGACACAGGACTATATTTCTCTGTGAAGA CAAACATTGAAAGCTCAACAAGAGACTGGAAGGACCATAAATTTAA ATGGAGAAAGGACCCTCAAGACAAA</p>	<p>编码人 CD16A 蛋白的核苷酸序列</p>
<p>58</p>	<p>ATGTGGCAGCTGCTCCTCCCAACTGCTCTGCTACTTCTAGTTTCAGCT GGCATGCGGGCTGAAGATCTCCCAAAGGCTGTGGTGTTCCTGGAGC CTCAATGGTACAGGGTGTGCGAGAAGGACCGTGTGACTCTGAAGTG CCAGGGAGCCTACTCCCCTGAGGACAATTCCACAGGTGGTTTCA ATGAGAGCCTCATCTCAAGCCAGACCTCGAGCTACTTATTGCTGCT GCCAGAGTCAACAACAGTGGAGAGTACAGGTGCCAGACAAGCCTCT CCACACTCAGTGACCCGGTGCAGCTGGAAGTCCATATCGGCTGGCTA TTGCTCCAGGCCCTCGGTGGGTGTTCAAGGAGGAAGAATCTATTCA CCTGAGGTGTACAGCTGGAAGAACAAGTCTTCTGCATAAGGTACAGT ATTTACAGAATGGCAAAGGCAGGAAGTATTTTCATCAGAATTCTGAC TTCTACATTTCCAAAAGCCACACTCAAAGACAGCGGCTCCTACTTCTG CAGGGGACTTATTGGGAGTAAAAATGTATCTTCAGAGACTGTGAACA TCACCATCACTCAAGATTTGGCAGTGTCCATCTCATATTCTTTTC CACCTGGGTACCAAGTCTCTTTCTGCCTGGTGTGGTACTCCTTTTTG CAGTGGACACAGGACTATATTTCTCTATGAAGAAAAGCATTCCAAGC TCAACAAGGGACTGGGAGGACCATAAATTTAAATGGAGCAAGGACC CTCAAGACAAATGA</p>	<p>编码食蟹猴 CD16 蛋白的核苷酸序列</p>
<p>59</p>	<p>QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSNYWMHWVRQAPGQGLE WMGATYRGHSDTYYNQKFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDYAVY</p>	<p>抗 BCMA 抗体重链可变区</p>

	YCARGAIYDGYDVLNWDGQGLTVTVSS	
60	DIVLTQTPLSLSVTPGQPASISCKASQSVYDYGDSYMNWYLQKPGQPPQ LLIYAASLHSGIPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYYCQQSKEDP RTFGQGTKLEIK	抗 BCMA 抗体轻链可变区
61	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYNMDWVRQAPGQGLE WIGDINPNNGGTLNQLKFRGRVTLTVDTSISTAYMELSRRLSDDTAVYY CARSEVFGYNYADYWGQGTITVTVSS	抗 B7H6 抗体重链可变区
62	DIVLTQTPLSLSVTPGQPASISCKASQSVYDYGDSYMNWYLQKPGQPPQ LLIYAASLHSGIPDRFSGSGSGTDFTLTKISRVEAEDVGVYYCQQSKEDP RTFGQGTKLEIK	抗 B7H6 抗体轻链可变区

以下将通过实施例对本发明进行详细描述。实施例或测试例中，未注明具体条件的实验方法的，均按照常规条件进行。

下面将结合实施例对本发明的方案进行解释。本领域技术人员将会理解，下面的实施例仅用于说明本发明，而不应视为限定本发明的范围。实施例中未注明具体技术或条件的，按照本领域内的文献所描述的技术或条件或者按照产品说明书进行。所用试剂或仪器未注明生产厂商者，均为可以通过市购获得的常规产品。

### 实施例 1 构建过表达人和食蟹猴 CD16A 的 CHO-K1 细胞

在 T150 培养瓶内将 HEK293T 细胞铺板，用 DMEM 完全培养基培养。培养过夜后，取无内毒素的 psPAX2，pMD2.G 和 pCDH-CMV-FCGR3A-IRES-puro(pCDH-CMV-MCS-IRES-puro 载体多克隆位点之间插入有人 CD16A 蛋白(SEQ ID NO: 37)的编码序列 (SEQ ID NO: 57) 或者食蟹猴蛋白 (SEQ ID NO: 38) 的编码序列 (SEQ ID NO: 58) 载体按照 7: 3: 10 的比例加入到 1.5 mL Opti-MEM (Gibco, 货号 31985070) 培养基中，再加入 100  $\mu$ L P3000 转染试剂。取 100  $\mu$ L Lipofectamine 3000 (thermo, 货号 L3000008) 转染试剂加入到 1.5 mL Opti-MEM 培养基中，充分混匀。将 DNA 稀释液和脂质体稀释液按体积比 1: 1 混匀，室温孵育 5-10 min 后加入到 293T 细胞中，培养 48 小时后收获病毒上清。将病毒上清于 4 $^{\circ}$ C，2000 g 离心 10 min，取上清，用 0.45  $\mu$ m 滤器过滤后加入 PEG8000 溶液 (上海生工)，充分混匀，4 $^{\circ}$ C 放置过夜，然后于 2200 g 离心 90 min，离心管底部有白色沉淀，用无菌 PBS 缓冲液重悬病毒。

向 DME/F12 培养基中加入 polybrene (sigma, TR-1003) (终浓度 8  $\mu$ g/mL)，混匀后再加入适量病毒溶液。取 2E5 的 CHO-K1 细胞于 24 孔板中，加入带有病毒的培养基，放入培养箱 8 小时后更换新鲜培养基。48 小时通过流式细胞仪检测 CHO-K1 细胞表面的 CD16A 表达水平，出现阳性群细胞后再进行有限稀释，即把细胞消化后稀释密度为每毫升 4 个细胞，再接种于 96 孔平底板中，每孔加入 200  $\mu$ L，培养 2 周待细胞明显成为单个细胞团后，再通过流式细胞术检测每个克隆细胞表面 CD16A 的表达水平，全阳性细胞即为满足需要的过表达人 CD16A 或者食蟹猴 CD16 的 CHO-K1 细胞。

### 实施例 2 抗人 CD16A 杂交瘤单克隆抗体的制备

本发明中，抗人 CD16A 单克隆抗体通过免疫小鼠产生。实验用 C57BL/6 小鼠，雌性，6 周龄 (江苏集萃药康生物科技有限公司)，免疫抗原为人 CD16A 胞外段蛋白 (ACRO, CDA-H5220)，首次免疫用弗氏完全佐剂 (Sigma, F5881) 与抗原混合乳化后腹腔免疫，每只小鼠腹腔注射 100  $\mu$ g (请贵方补充黄色高亮标记的免疫方式)，后续免疫用 Ribi 佐剂系统 (Sigma, S6322) 与抗原混合后腹腔免疫，其中，首免后每 2 周免疫一次，共免疫 3 次。取免疫后的小鼠血清进行抗体滴度 ELISA 检测，其操作方法为本领域常规方法。

根据抗体滴度的检测结果，选择血清中抗体滴度高小鼠进行脾细胞融合，融合前 72 小时冲刺免疫所选小鼠，使用 Ribi 佐剂系统和上述抗原的混合物腹腔注射。采用优化的 PEG 介导的融合步骤将脾淋巴细胞与骨髓瘤细胞 Sp2/0 细胞 (ATCC, CRL-8287) 进行融合得到杂交瘤细胞。融合好的杂交瘤细胞用 HAT 完全培养基 (含 20% FBS、1 $\times$ HAT 和 1 $\times$ OPI 的 RPMI-1640 培养基) 重悬，分装于 96 孔细胞培养板中，于 37 $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 孵育。融合后的第 5 天加入 HAT 完全培养基，50  $\mu$ L/孔。融合后第 7 天~8 天，根据细胞生长密度，全换液，培养基为 HT 完全培养基 (含 20% FBS、1 $\times$ HT 和 1 $\times$ OPI 的 RPMI-1640 培养基)，200  $\mu$ L/孔。

融合后第 10-11 天，根据细胞生长密度，进行流式细胞术结合检测。阳性孔换液，并根据细胞密度及时扩大至 24 孔板中。移入 24 孔板的细胞株经过复测后进行保种和第一次亚克隆。第一次亚克隆筛选为阳性的进行保种，并进行第二次亚克隆。第二次亚克隆为阳性的进行保种和蛋白表达。其中，亚克隆和保种操作均为本领域常规技术操作，通过无血清细胞培养法进一步制备抗体，通过 protein G 亲和层析纯化鼠源抗体，用于后续功能活性检测。

### 实施例 3 鼠源 CD16A 抗体 ELISA 结合实验

ELISA 实验用于检测实施例 1 获得的鼠源 CD16A 抗体 m40F5 的结合特性。将人 CD16A<sup>158F</sup> (ACRO biosystems, CDA-H5220), 人 CD16A<sup>158V</sup> (ACRO biosystems, CD8-H52H4), 食蟹猴 CD16 (ACRO biosystems, FC6-C52H9), 人 CD16B<sup>NA1</sup> (ACRO biosystems, CDB-H5227), 人 CD16B<sup>NA2</sup> (ACRO biosystems, CDB-H5222) 和人 CD16B<sup>SH</sup> (义翘神州, 11046-H08H2) 分别用包被缓冲液 (35 mM NaHCO<sub>3</sub>, 15 mM Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, pH 9.6) 稀释至 2 μg/mL, 向酶联板中每孔加入 100 μL, 4℃过夜。之后用 PBST 清洗 3 遍 (0.05% Tween 20-PBS, pH7.2)。向板中加入 300 μL 封闭缓冲液 (1% BSA, 0.05% Tween20-PBS, pH 7.2), 室温静置 2h。再用 PBST 清洗 3 遍。每孔加入鼠源抗体 m40F5 或者对照抗体 LS21 (WO2006/125668 EN), 室温孵育 1 小时。再用 PBST 清洗 3 遍。每孔加入 100μL 用封闭缓冲液稀释的 HRP-羊抗鼠 IgG 二抗 (booster, 货号 BA1051), 室温孵育 1 小时。用 PBST 清洗 3 遍, 每孔加入 TMB, 室温避光反应 2-5 分钟, 每孔再用 2M 硫酸终止反应, 最后用酶标仪读取 OD450 数值。其中, 图 1A 表明本发明的鼠源 m40F5 抗体可以结合人 CD16A<sup>158F</sup>, 图 1B 表明本发明的鼠源 m40F5 抗体也可以结合人 CD16A<sup>158V</sup>, 图 1C 表明本发明的鼠源 m40F5 可以结合食蟹猴 CD16, 图 1D 表明本发明的鼠源 m40F5 不结合人 CD16B<sup>NA1</sup>, 图 1E 表明本发明的鼠源 40F5 不结合人 CD16B<sup>NA2</sup>, 图 1F 表明本发明的鼠源 40F5 不结合人 CD16B<sup>SH</sup>。

#### 实施例 4 鼠源 CD16A 抗体流式细胞术结合实验

用 PBS 将实施例 1 获得的过表达人 CD16A 的 CHO-K1 细胞或者过表达食蟹猴 CD16 的 CHO-K1 细胞稀释为 2×10<sup>6</sup>/mL, 以 100μL/管的体积加于 1.5mL EP 管中, 向其中加入 10μL/管山羊血清, 于 4℃封闭 30min。加入梯度浓度 (5 倍稀释, 终浓度最高 10μg/mL) 的 CD16A 抗体以及对照抗体 mIgG, 于 4℃孵育 30min。向 EP 管中加入 1mL PBS, 于 4℃, 3500rpm×5min 离心, 弃尽上清, 再用 PBS 洗一遍。离心后弃尽上清, 用 100μL/管 PBS 重悬细胞, 向其中加入 0.1μL/管 Alexa488 标记的山羊抗小鼠抗体二抗 (Invitrogen), 4℃避光孵育 30min。用 PBS 洗两遍, 离心后弃尽上清。用 200μL/管 PBS 重悬细胞, 用流式细胞仪进行检测。图 2A 和 2B 结果表明鼠源 m40F5 抗体可以结合过表达人 CD16A 和过表达食蟹猴 CD16 的 CHO-K1 细胞, 说明鼠源 CD16A 抗体可以结合细胞表面的 CD16A 蛋白。

#### 实施例 5 杂交瘤细胞测序

将上述实施例筛选到的 m40F5 抗体候选杂交瘤细胞总数量培养到 10<sup>6</sup>, 800rpm 离心 10 分钟收集细胞, 并以 Trizol 试剂盒 (Invitrogen) 提取总 RNA; 以总 RNA 为模板, 逆转录合成 cDNA 文库 (Invitrogen), 又以 cDNA 为模板 PCR 扩增杂交瘤细胞的所对应的 m40F5 抗体可变区核酸序列。PCR 扩增反应中所使用的引物序列与抗体可变区第一框架区或信号肽区和恒定区互补 (具体序列选择参考 Larrick, J.W., et al., (1990) Scand. J. Immunol., 32, 121-128 和 Coloma, J.J. et al., (1991) BioTechniques, 11, 152-156)。PCR 扩增在 50μL 反应体系中进行, 分别加入 cDNA 2μL, 10×PCR 缓冲液 5μL, 上游及下游引物 2μL (5μM), dNTP 2μL, Taq 酶 1μL (Takara, Ex Taq), H<sub>2</sub>O 38μL; 95℃预变性 5min, 进入温度循环, 进行 PCR 扩增。反应条件为: 94℃变性 30S, 58℃退火 45S, 72℃延伸 50S, 共 32 个循环, 然后于 72℃延伸 7min。将扩增产物进行测序后, 得到鼠单抗 m40F5 的重链可变区 (SEQ ID NO:23) 和轻链可变区 (SEQ ID NO:24) 序列。

#### 实施例 6 抗人 CD16A 单克隆抗体的人源化

##### 6.1 CD16A 单克隆抗体可变区框架的选择与回复突变

在实施例 5 获的基础上, 通过比对 IMGT 人类抗体重链可变区种系基因数据库和 MOE 软件, 分别挑选与鼠源单克隆抗体 m40F5 同源性高的重链或轻链可变区种系基因作为模板, 将鼠源单克隆抗体的 CDR 分别移植到相应的人源模板中, 形成次序为 FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4 的可变区序列。其中氨基酸残基由 Kabat 编号系统确定并注释。

为了保持 CDR 区构象, 对于 VL 和 VH 结合界面上的残基, 靠近 CDR 并且包埋于蛋白内部的残基, 与 CDR 有直接相互作用的残基进行回复突变, 以保证可变区的活性不会受影响。

##### 6.2 CD16A 人源化抗体的表达

对上述 CD16A 单克隆抗体可变区框架进行选择与回复突变后, 获得的人源化 CD16A 抗体 h40F5 的重链可变区序列如 SEQ ID NO: 25 所示, 轻链可变区序列如 SEQ ID NO: 26 所示。将带有编码人源化抗体重链的核苷酸序列 (SEQ ID NO: 39) 和编码人源化抗体轻链的核苷酸序列 (SEQ ID NO: 40) 通过分子生物学技术分别重组到 pTT5 质粒上。

用上述携带有人源化抗人 CD16A 抗体 h40F5 轻链和重链的 pTT5 载体瞬时转染 ExpiCHO-S 细胞 (Gibco, 货号 A29127) 来制备 CD16A 抗体。转染前一天, 将 ExpiCHO-S 细胞调整细胞密度为 (3~4) × 10<sup>6</sup>/mL, 37℃, 8%CO<sub>2</sub>, 120 rpm 摇动培养过夜。转染当天, 细胞生长到 7×10<sup>6</sup>~1×10<sup>7</sup>/mL, 存活率大于 95% 时准备转染, 使用新鲜预热的 ExpiCHO 培养基 (Gibco,

货号 A2910002) 将细胞稀释到  $6 \times 10^6$ /mL, 将上述携带有人源化抗人 CD16A 抗体 h40F5 轻链和重链的 pTT5 质粒和 ExpiFectamine CHO 转染试剂 (Gibco, 货号 A29129) 以 2:1 摩尔比转染到 ExpiCHO-S 细胞中, 于  $37^\circ\text{C}$ , 8%  $\text{CO}_2$ , 120 rpm 摇动培养。转染后 18-22 h, 将 ExpiFectamine CHO Enhancer 和 ExpiCHO Feed 混匀后立即加入转染后细胞, 混匀, 于  $32^\circ\text{C}$ , 5% $\text{CO}_2$ , 120 rpm 摇动培养。转染后第 5 天, 向细胞中再补加 8 mL ExpiCHO Feed, 混匀后继续培养。每日观察细胞数和细胞活率变化, 待细胞活率下降至 80% 以下或培养 10~14 天后离心收获细胞。表达的上清用  $0.22\mu\text{m}$  滤膜过滤, 利用 Mabselect prism A 亲和层析柱 (GE 公司, 货号 17549854) 从表达上清中捕获带有 Fc 结构域的抗体, 用 pH7.2 的磷酸盐缓冲液平衡层析柱后, 上清过亲和层析柱, 用洗脱缓冲液 (100mM 柠檬酸, pH2.7) 洗脱, 最后用 PBS 缓冲液浓缩置换, 纯化后的抗体通过 SDS-PAGE 鉴定纯度在 95% 以上, 最终获得了人源化 h40F5 抗体 (重链如 SEQ ID NO: 35 所示, 轻链如 SEQ ID NO: 36 所示)。

### 6.3 人源化抗体 h40F5 亲和力验证

用 BIACORE 测试人源化 h40F5 抗体与人 CD16A 抗原、人 CD16B 和猴 CD16 抗原的亲和力, 得到的结果如表 2 所示, 获得的人源化抗体与 CD16A 抗原具有较好的亲和力。

表 2

抗体	抗原	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
h40F5	人 CD16A	8.31E+05	9.60E-04	1.15E-09
h40F5	食蟹猴 CD16	1.32E+06	3.90E-04	2.96E-10
h40F5	人 CD16B	NA	NA	NA

### 实施例 7 人源化抗体 h40F5 的 ELISA 结合实验

ELISA 实验用于检测人源化抗体 h40F5 的结合特性, 其中, 以野生型人源 IgG1 抗体为对照。将人 CD16A<sup>158F</sup> (ACRO biosystems, CDA-H5220), 人 CD16A<sup>158V</sup> (ACRO biosystems, CD8-H52H4), 食蟹猴 CD16 (ACRO biosystems, FC6-C52H9), 人 CD16B<sup>NA1</sup> (ACRO biosystems, CDB-H5227), 人 CD16B<sup>NA2</sup> (ACRO biosystems, CDB-H5222) 和人 CD16B<sup>SH</sup> (义翘神州, 11046-H08H2) 用包被缓冲液 (35 mM  $\text{NaHCO}_3$ , 15 mM  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , pH 9.6) 稀释至  $2\mu\text{g}/\text{mL}$ , 向酶联板中每孔加入  $100\mu\text{L}$ ,  $4^\circ\text{C}$  过夜。之后用 PBST 清洗 3 遍 (0.05% Tween 20-PBS, pH7.2)。向板中加入  $300\mu\text{L}$  封闭缓冲液 (1% BSA, 0.05% Tween20-PBS, pH 7.2), 室温静置 2h。再用 PBST 清洗 3 遍。每孔加入梯度浓度的人源化抗人 CD16A 抗体 h40F5 或人源 IgG1 抗体, 室温孵育 1 小时。再用 PBST 清洗 3 遍。每孔加入  $100\mu\text{L}$  用封闭缓冲液稀释的 HRP-山羊抗人 IgG 二抗 (Jackson ImmunoResearch, 109-036-170), 室温孵育 1 小时。用 PBST 清洗 3 遍, 每孔加入 TMB, 室温避光反应 2~5 分钟, 每孔再用 2M 硫酸终止反应, 最后用酶标仪读取 OD450 数值。图 3A 表明本发明的人源化 h40F5 抗体可以结合人 CD16A<sup>158F</sup>, 图 3B 表明本发明的人源化 h40F5 抗体也可以结合人 CD16A<sup>158V</sup>, 图 3C 表明本发明的人源化 h40F5 可以结合食蟹猴 CD16, 图 3D 表明本发明的人源化 h40F5 不结合人 CD16B<sup>NA1</sup>, 图 3E 表明本发明的人源化 h40F5 不结合人 CD16B<sup>NA2</sup>, 图 3F 表明本发明的人源化 h40F5 不结合人 CD16B<sup>SH</sup>。

### 实施例 8 CD16A×BCMA 的双特异性抗体的制备及结合活性和细胞杀伤能力检测

基于实施例 1-7 的实验结果, 发明人设计了一种双特异性抗体 CD16A×BCMA, 并对该双特异性抗体的结合活性和细胞杀伤能力进行检测。

#### 8.1 CD16A×BCMA 的双特异性抗体的设计及制备

该抗体含有两个单价单元, 其中一个单价单元为抗 CD16A scFv-Fc 形式, 其重链可变区和轻链可变区氨基酸序列来自本发明实施例 6 获得的人源化抗体 h40F5 的序列, 另一个单价单元为抗 BCMA 的 scFv-Fc 形式 (序列来自 US009273141B2), 该双特异性抗体命名为 CD16A×BCMA。该双特异性抗体含有两条多肽链, 分别是: 含有 CD16A 单链抗体 scFv (SEQ ID NO: 41) 的重链, 含有 BCMA 单链抗体 scFv (SEQ ID NO: 42) 的重链, 其中两条链的重链恒定区来自于人源抗体 IgG1。由于该分子有特殊的非对称结构, 为了减少同源二聚体的产生, 所以在两条链的恒定区引入了不同的氨基酸突变。同时为了防止由  $\text{Fc}\gamma$  受体引起的交联活化, 在重链恒定区也引入了 (L234A/L235A) 突变。

双特异性抗体的制备方法参考实施例 6.2 所述方法, 并结合质粒配比 (1:1 或其他比例) 并经过一步亲和纯化制备所述双特异性抗体, 其中, 所述双特异性抗体 CD16A×BCMA 的相关序列如表 3 所示。

表 3

	CD16 重链	BCMA 重链
氨基酸序列	SEQ ID NO: 47	SEQ ID NO: 48
核苷酸序列	SEQ ID NO: 54	SEQ ID NO: 55

8.2 CD16A×BCMA 双特异性抗体与抗原的结合活性测定 (ELISA)

5 将人 BCMA (ACRO biosystems, BCA-H522y) 或人 CD16A 抗原 (ACRO biosystems, CDD-H52W1) 用包被缓冲液 (35 mM NaHCO<sub>3</sub>, 15 mM Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, pH 9.6) 稀释至 2 μg/mL, 向酶联板中每孔加入 100 μL, 于 4℃ 过夜。之后用 PBST 清洗 3 遍 (0.05% Tween 20-PBS, pH7.2)。向板中加入 300 μL 封闭缓冲液 (1% BSA, 0.05% Tween20-PBS, pH 7.2), 室温静置 2h。再用 PBST 清洗 3 遍。每孔加入相应双特异性抗体或对照抗体 hIgG1, 室温孵育 1 小时。再用 PBST 清洗沉淀 3 遍。每孔加入 100μL 用封闭缓冲液稀释的 HRP-山羊抗人 IgG 二抗 (Jackson ImmunoResearch, 109-036-170), 于室温孵育 1 小时。用 PBST 清洗 3 遍, 每孔加入 TMB, 室温避光反应 2~5 分钟, 每孔再用 2M 硫酸终止反应, 最后用酶标仪读取 OD450 数值。图 4A 和 4B 显示本发明 CD16A×BCMA 可以结合 CD16A 和 BCMA 这两种抗原。

8.3 细胞杀伤实验

15 将多发性骨髓瘤 NCI-H929 细胞标记 CellTrace Violet (thermo, C34557), 调整细胞密度为 1×10<sup>5</sup>/mL。PBMC 调整细胞密度 1×10<sup>6</sup>/mL, 将 PBMC 和标记后的 NCI-H929 细胞以 1: 1 混合后加入到 96 孔圆底板中, 再加入梯度浓度的上述双特异性抗体, 混合均匀。于 37℃ 孵育 24 h 后过 200 目尼龙网转入流式管, 加入 7AAD 后 10 min 进行检测, 利用 CTV+7AAD+细胞比例表征杀伤效率。图 5 结果显示随着 CD16A×BCMA 双特异性抗体浓度增加, PBMC 对 NCI-H929 多发性骨髓瘤细胞的杀伤效率逐渐增加。

实施例 9 CD16A×B7H6 的双特异性抗体的制备及结合活性和细胞杀伤能力检测

20 基于实施例 1-6 的实验结果, 发明人设计了一种双特异性抗体 CD16A×B7H6, 并对该双特异性抗体的结合活性和细胞杀伤能力进行检测。

9.1 CD16A×B7H6 的双特异性抗体的设计及制备

25 该抗体含有两个单价单元, 其中一个单价单元为抗 CD16A scFv-Fc 形式, CD16A scFv 中的轻链可变区和重链可变区来自本发明实施例 6 人源化后序列, 另一个单价单元为抗 B7H6 scFv-Fc 形式 (B7H6 scFv 序列来自 CN114395045A), 这个双特异性抗体命名为 CD16A×B7H6。该双特异性抗体含有两条多肽链, 分别是: 含有 CD16A 单链抗体 scFv (SEQ ID NO: 41) 的重链, 含有 B7H6 单链抗体 scFv (SEQ ID NO: 43) 的重链。由于该分子有特殊的非对称结构, 为了减少同源二聚体的产生, 所以在两条链的恒定区引入了不同的氨基酸突变。同时为了防止由 Fcγ 受体引起的交联活化, 在重链恒定区也引入了 (L234A/L235A) 突变。

30 CD16A×B7H6 的双特异性抗体的制备方法参考实施例 6.2, 并结合质粒配比 (1: 1 或其他比例) 并经过一步亲和纯化制备 CD16A×B7H6 双特异性抗体, 所述双特异性抗体 CD16A×B7H6 的相关序列如表 4 所示。

表 4

项目	CD16A 重链	B7H6 重链
氨基酸序列	SEQ ID NO: 47	SEQ ID NO: 49
核苷酸序列	SEQ ID NO: 54	SEQ ID NO: 56

9.2 双特异性抗体与抗原的结合活性测定 (ELISA)

35 将人 B7H6 (ACRO biosystems, B76-H52H8) 或人 CD16A 抗原 (ACRO biosystems, 货号 CDA-H5220) 用包被缓冲液 (35 mM NaHCO<sub>3</sub>, 15 mM Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, pH 9.6) 稀释至 2 μg/mL, 向酶联板中每孔加入 100 μL, 于 4℃ 过夜。之后用 PBST 清洗 3 遍 (0.05% Tween 20-PBS, pH7.2)。向板中加入 300 μL 封闭缓冲液 (1% BSA, 0.05% Tween20-PBS, pH 7.2), 室温静置 2h。再用 PBST 清洗 3 遍。每孔加入相应双特异性抗体或对照抗体 hIgG, 室温孵育 1 小时。再用 PBST 清洗 3 遍。每孔加入 100μL 用封闭缓冲液稀释的 HRP-山羊抗人 IgG 二抗 (Jackson ImmunoResearch, 109-036-170), 于室温孵育 1 小时。孵育结束后, 用 PBST 清洗沉淀 3 遍, 每孔加入 TMB, 室温避光反应 2~5 分钟, 每孔再用 2M 硫酸终止反应, 最后用酶标仪读取 OD450 数值。图 6A 和 6B 显示, 本发明的双特异性抗体 CD16A×B7H6 可以有效结合 CD16A 和 B7H6 这两种抗原。

9.3 细胞杀伤实验

5 将结直肠癌 HCT-15 细胞消化后计数，调整细胞密度为  $2 \times 10^5/\text{mL}$ 。打开 RTCA 仪器（安捷伦），选择仪器类型 DP，选择实验模式，填写细胞信息和药物信息。进入 schedule 设置实验步骤，将板子加入  $50\mu\text{L}$  新鲜培养基（89% RPMI 1640 培养基+10%胎牛血清+1%青链霉素）后放入仪器中，关好，点击第一步开始。完成 Done 后取出板子，加入  $100\mu\text{L}$  细胞悬液，室温静置 15-30min 防止边缘效应，放入仪器，点击开始。待生长到对数期后，暂停，加入  $50\mu\text{L}$  PBMC ( $4 \times 10^6/\text{mL}$ )，并加入梯度浓度的双特异性抗体 CD16A×B7H6 或对照抗体 hIgG，点击开始，一段时间后进行分析。图 7 结果显示，随着 CD16A×B7H6 双特异性抗体浓度增加，PBMC 对结直肠癌 HCT-15 细胞的杀伤效率逐渐增加，说明 CD16A×B7H6 可以很好地促进 PBMC 特异性地杀伤 B7H6<sup>+</sup> 的肿瘤细胞。

10 在本说明书的描述中，参考术语“一个实施例”、“一些实施例”、“示例”、“具体示例”、或“一些示例”等的描述意指结合该实施例或示例描述的具体特征、结构、材料或者特点包含于本发明的至少一个实施例或示例中。在本说明书中，对上述术语的示意性表述不必针对的是相同的实施例或示例。而且，描述的具体特征、结构、材料或者特点可以在任一个或多个实施例或示例中以合适的方式结合。此外，在不相互矛盾的情况下，本领域的技术人员可以将本说明书中描述的不同实施例或示例以及不同实施例或示例的特征进行结合和组合。

15 尽管上面已经示出和描述了本发明的实施例，可以理解的是，上述实施例是示例性的，不能理解为对本发明的限制，本领域的普通技术人员在本发明的范围内可以对上述实施例进行变化、修改、替换和变型。

## 权 利 要 求 书

1. 一种抗体或抗原结合片段，其特征在于，包括：

分别如 SEQ ID NO: 1、2 和 3 或者与 SEQ ID NO:1、2 和 3 具有至少 95%同一性的氨基酸序列所示的重链可变区 CDR1、CDR2、CDR3 序列；和/或

5 分别如 SEQ ID NO: 4、5 和 6 或者与 4、5 和 6 具有至少 95%同一性的氨基酸序列所示的轻链可变区 CDR1、CDR2、CDR3 序列。

2. 根据权利要求 1 所述的抗体或抗原结合片段，其特征在于，包括：

如 SEQ ID NO: 1 所示的重链可变区 CDR1 序列，如 SEQ ID NO: 2 所示的重链可变区 CDR2，如 SEQ ID NO: 3 所示的重链可变区 CDR3，SEQ ID NO: 4 所示的轻链可变区 CDR1，SEQ ID NO: 5 所示的轻链可变区 CDR2，SEQ ID NO: 6 所示的轻链可变区 CDR3。

3. 根据权利要求 2 所述的抗体或抗原结合片段，其特征在于，包括：重链 FR 区和轻链 FR 区中的至少之一。

4. 根据权利要求 3 所述的或抗原结合片段，其特征在于，所述重链 FR 区和轻链 FR 区的至少之一的至少一部分来自于人源抗体、灵长目源抗体和鼠源抗体或其突变体中的至少之一。

5. 根据权利要求 4 所述的抗体或抗原结合片段，其特征在于，包括：

15 分别如 SEQ ID NO: 7~10 所示的重链框架区 HFR1、HFR2、HFR3 和 HFR4 序列中的至少之一；或

分别如 SEQ ID NO: 15~18 所示的重链框架区 HFR1、HFR2、HFR3 和 HFR4 序列中的至少之一。

6. 根据权利要求 4 所述的抗体或抗原结合片段，其特征在于，包括：

分别如 SEQ ID NO: 11~14 所示的轻链框架区 LFR1、LFR2、LFR3 和 LFR4 序列中的至少之一；或

分别如 SEQ ID NO: 19~22 所示的轻链框架区 LFR1、LFR2、LFR3 和 LFR4 序列中的至少之一。

20 7. 根据权利要求 5~6 任一项所述的抗体或其抗原结合片段，其特征在于，包括：分别如 SEQ ID NO: 7~10 所示的重链框架区 HFR1、HFR2、HFR3 和 HFR4 序列中的至少之一；分别如 SEQ ID NO: 11~14 所示的轻链框架区 LFR1、LFR2、LFR3 和 LFR4 序列中的至少之一；或者

分别如 SEQ ID NO:15~18 所示的重链框架区 HFR1、HFR2、HFR3 和 HFR4 序列中的至少之一；分别如 SEQ ID NO: 19~22 所示的轻链框架区 LFR1、LFR2、LFR3 和 LFR4 序列中的至少之一。

25 8. 根据权利要求 7 所述的抗体或其抗原结合片段，其特征在于，包括：

如 SEQ ID NO: 23 或 SEQ ID NO:25 所示的重链可变区；和/或

如 SEQ ID NO: 24 或 SEQ ID NO:26 所示的轻链可变区。

9. 根据权利要求 8 所述的抗体或其抗原结合片段，其特征在于，包括：

1) 如 SEQ ID NO: 23 所示的重链可变区，和如 SEQ ID NO: 24 所示的轻链可变区；或

30 2) 如 SEQ ID NO:25 所示的重链可变区，和如 SEQ ID NO: 26 所示的轻链可变区。

10. 根据权利要求 1~9 任一项所述的抗体或抗原结合片段，其特征在于，所述抗体或抗原结合片段含有重链恒定区和轻链恒定区的至少之一，所述重链恒定区和轻链恒定区的至少之一的至少一部分来自于人源抗体、灵长目源抗体和鼠源抗体或其突变体中的至少之一。

35 11. 根据权利要求 10 所述的抗体或抗原结合片段，其特征在于，所述轻链恒定区和重链恒定区均来自于鼠源 IgG 抗体或其突变体或人源 IgG 抗体或其突变体。

12. 根据权利要求 11 所述的抗体或抗原结合片段，其特征在于，所述轻链恒定区和重链恒定区均来自于鼠源 IgG1 抗体或其突变体或人源 IgG1 抗体或其突变体。

13. 根据权利要求 12 所述的抗体或抗原结合片段，其特征在于，所述抗体具有如 SEQ ID NO:27 或 29 所示氨基酸序列的重链恒定区和/或如 SEQ ID NO:28 或 30 所示氨基酸序列的轻链恒定区。

40 14. 根据权利要求 10 所述的抗体或抗原结合片段，其特征在于，所述抗体或抗原结合片段具有 SEQ ID NO:31、33 和 35 任一项所示氨基酸序列的重链和具有 SEQ ID NO:32、34 和 36 任一项所示氨基酸序列的轻链。

15. 根据权利要求 10 所述的抗体或抗原结合片段，其特征在于，所述抗体或抗原结合片段具有 SEQ ID NO:31 所示氨基酸序列的重链和 SEQ ID NO:32 所示氨基酸序列的轻链；

所述抗体或抗原结合片段具有 SEQ ID NO:33 所示氨基酸序列的重链和 SEQ ID NO:34 所示氨基酸序列的轻链；或

45 所述抗体或抗原结合片段具有 SEQ ID NO:35 所示氨基酸序列的重链和 SEQ ID NO:36 所示氨基酸序列的轻链。

16. 根据权利要求 1 所述的抗体或其抗原结合片段，其特征在于，所述抗体或抗原结合片段包括单抗或多抗。

17. 根据权利要求 16 所述的抗体或其抗原结合片段, 其特征在于, 所述单抗包括全长抗体、Fv、单链抗体、Fab、单域抗体以及最小识别单位中的至少之一。

18. 根据权利要求 16 所述的抗体或其抗原结合片段, 其特征在于, 所述抗体或其抗原结合片段能够结合 SEQ ID NO: 37 和/或 38 所示的氨基酸序列。

5 19. 一种双特异性结合分子, 其特征在于, 包括:

第一结合区, 所述第一结合区包含权利要求 1~18 任一项所述的抗体或抗原结合片段; 和

第二结合区, 所述第二结合区具有 BCMA 或 B7H6 结合活性。

20. 根据权利要求 19 所述的双特异性结合分子, 其特征在于, 所述双特异性结合分子包括对称双特异性结合分子或不对称双特异性结合分子。

10 21. 根据权利要求 19 所述的双特异性结合分子, 其特征在于, 所述双特异性结合分子为非对称双特异性结合分子。

22. 根据权利要求 19 所述的双特异性结合分子, 其特征在于, 所述抗体或抗原结合片段为抗 CD16A 单链抗体。

23. 根据权利要求 22 所述的双特异性结合分子, 其特征在于, 所述第二结合区包括具有 BCMA 或 B7H6 结合活性的全长抗体、Fv、单链抗体、Fab、单域抗体以及最小识别单位中的至少之一。

15 24. 根据权利要求 23 所述的双特异性结合分子, 其特征在于, 所述第二结合区包括抗 BCMA 单链抗体或抗 B7H6 单链抗体。

25. 根据权利要求 24 所述的双特异性结合分子, 其特征在于, 所述抗 CD16A 单链抗体包括抗 CD16A 抗体轻链可变区和抗 CD16A 抗体重链可变区, 所述抗 CD16A 抗体重链可变区具有 SEQ ID NO: 23 或 25 所示的氨基酸序列, 所述抗 CD16A 抗体轻链可变区具有如 SEQ ID NO: 24 或 26 所示的氨基酸序列。

20 26. 根据权利要求 25 所述的双特异性结合分子, 其特征在于, 所述抗 CD16A 单链抗体进一步包括连接肽 1, 其中, 所述连接肽 1 的 N 端与所述抗 CD16A 抗体重链可变区的 C 端相连, 所述连接肽 1 的 C 端与所述抗 CD16A 抗体轻链可变区的 N 端相连; 或所述连接肽 1 的 N 端与所述抗 CD16A 抗体轻链可变区的 C 端相连, 所述连接肽 1 的 C 端与所述抗 CD16A 抗体重链可变区的 N 端相连。

25 27. 根据权利要求 26 所述的双特异性结合分子, 其特征在于, 所述抗 BCMA 单链抗体包括抗 BCMA 抗体轻链可变区和抗 BCMA 抗体重链可变区, 所述抗 BCMA 抗体重链可变区具有 SEQ ID NO:59 所示的氨基酸序列, 所述抗 BCMA 抗体轻链可变区具有如 SEQ ID NO: 60 所示的氨基酸序列。

28. 根据权利要求 27 所述的双特异性结合分子, 其特征在于, 所述抗 BCMA 单链抗体进一步包括连接肽 2, 其中, 所述连接肽 2 的 N 端与所述抗 BCMA 抗体重链可变区的 C 端相连, 所述连接肽 2 的 C 端与所述抗 BCMA 抗体轻链可变区的 N 端相连; 或所述连接肽 2 的 N 端与所述抗 BCMA 抗体轻链可变区的 C 端相连, 所述连接肽 2 的 C 端与所述抗 BCMA 抗体重链可变区的 N 端相连。

30 29. 根据权利要求 28 所述的双特异性结合分子, 其特征在于, 所述抗 B7H6 单链抗体包括抗 B7H6 抗体轻链可变区和抗 B7H6 抗体重链可变区, 所述抗 B7H6 抗体重链可变区具有 SEQ ID NO: 61 所示的氨基酸序列, 所述抗 B7H6 抗体轻链可变区具有如 SEQ ID NO: 62 所示的氨基酸序列。

35 30. 根据权利要求 29 所述的双特异性结合分子, 其特征在于, 所述抗 B7H6 单链抗体进一步包括连接肽 3, 其中, 所述连接肽 3 的 N 端与所述抗 B7H6 抗体重链可变区的 C 端相连, 所述连接肽 3 的 C 端与所述抗 B7H6 抗体轻链可变区的 N 端相连; 或所述连接肽 3 的 N 端与所述抗 B7H6 抗体轻链可变区的 C 端相连, 所述连接肽 3 的 C 端与所述抗 B7H6 抗体重链可变区的 N 端相连。

31. 根据权利要求 30 所述的双特异性结合分子, 其特征在于, 所述连接肽 1、连接肽 2 和连接肽 3 中的至少之一具有氨基酸序列 (GGGGS)<sub>n</sub>, 其中 n 为大于或等于 1 的整数。

32. 根据权利要求 31 所述的双特异性结合分子, 其特征在于, n 为 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10。

40 33. 根据权利要求 31 所述的双特异性结合分子, 其特征在于, 所述连接肽 1、连接肽 2 和连接肽 3 中的至少之一具有 SEQ ID NO:44 所示的氨基酸序列。

34. 根据权利要求 22 所述的双特异性结合分子, 其特征在于, 所述抗 CD16A 单链抗体具有如 SEQ ID NO:41 所示的氨基酸序列。

45 35. 根据权利要求 24 所述的双特异性结合分子, 其特征在于, 所述抗 BCMA 单链抗体具有如 SEQ ID NO:42 所示的氨基酸序列。

36. 根据权利要求 24 所述的双特异性结合分子, 其特征在于, 所述抗 B7H6 单链抗体具有如 SEQ ID NO:43 所示的

氨基酸序列。

37. 根据权利要求 19 所述的双特异性结合分子,其特征在於,所述第一抗原结合区进一步包括第一 Fc 肽段,所述第一 Fc 肽段的 N 端与所述抗体或抗原结合片段的 C 端相连。

38. 根据权利要求 37 所述的双特异性结合分子,其特征在於,所述第二抗原结合区进一步包括第二 Fc 肽段,所述第二 Fc 肽段的 N 端与所述抗 BCMA 单链抗体或所述抗 B7H6 单链抗体的 C 端相连。

39. 根据权利要求 38 所述的双特异性结合分子,其特征在於,所述第一 Fc 肽段具有 SEQ ID NO:45 所示的氨基酸序列。

40. 根据权利要求 39 所述的双特异性结合分子,其特征在於,所述第二 Fc 肽段具有 SEQ ID NO:46 所示的氨基酸序列。

41. 根据权利要求 40 所述的双特异性结合分子,其特征在於,所述第一 Fc 肽段和所述第二 Fc 肽段通过 knob-into-hole 结构进行连接。

42. 根据权利要求 19 所述的双特异性结合分子,其特征在於,所述第一抗原结合区具有 SEQ ID NO:47 所示的氨基酸序列,所述第二抗原结合区具有 SEQ ID NO:48 或 49 所示的氨基酸序列。

43. 一种核酸分子,其特征在於,所述核酸分子编码权利要求 1~18 任一项所述的抗体或抗原结合片段或权利要求 19~42 任一项所述的双特异性结合分子。

44. 一种表达载体,其特征在於,携带权利要求 43 所述的核酸分子。

45. 一种重组细胞,其特征在於,携带权利要求 43 所述的核酸分子、权利要求 44 所述的表达载体或能够表达权利要求 1~18 任一项所述的抗体或抗原结合片段或权利要求 19~42 任一项所述的双特异性结合分子。

46. 根据权利要求 45 所述的重组细胞,其特征在於,所述重组细胞是通过将权利要求 44 所述的表达载体导入至宿主细胞中而获得的。

47. 根据权利要求 46 所述的重组细胞,其特征在於,所述重组细胞为真核细胞。

48. 根据权利要求 46 所述的重组细胞,其特征在於,所述重组细胞为哺乳动物细胞。

49. 一种组合物,其特征在於,包括权利要求 1~18 任一项所述的抗体或抗原结合片段、权利要求 19~42 任一项所述的双特异性结合分子、权利要求 43 所述的核酸分子、权利要求 44 所述的表达载体或权利要求 45~48 任一项所述的重组细胞。

50. 一种药物,其特征在於,包括权利要求 1~18 任一项所述的抗体或抗原结合片段、权利要求 19~42 任一项所述的双特异性结合分子、权利要求 43 所述的核酸分子、权利要求 44 所述的表达载体、权利要求 45~48 任一项所述的重组细胞或权利要求 49 所述的组合物。

51. 一种试剂盒,其特征在於,所述试剂盒含有权利要求 1~18 任一项所述的抗体或抗原结合片段、权利要求 19~42 任一项所述的双特异性结合分子、权利要求 43 所述的核酸分子、权利要求 44 所述的表达载体或权利要求 45~48 任一项所述的重组细胞。

52. 权利要求 1~18 任一项所述的抗体或抗原结合片段、权利要求 43 所述的核酸分子、权利要求 44 所述的表达载体、权利要求 45~48 任一项所述的重组细胞或权利要求 49 所述的组合物在制备药物中的用途,所述药物用于预防和/或治疗 CD16A 介导的相关疾病。

53. 根据权利要求 52 所述的用途,其特征在於,所述 CD16A 介导的相关疾病包括自身免疫性疾病。

54. 根据权利要求 52 所述的用途,其特征在於,所述自身免疫性疾病包括下列中的至少之一:系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、系统性血管炎、硬皮病、皮炎、自身免疫性溶血性贫血、甲状腺自身免疫病、溃疡性结肠炎、慢性淋巴细胞性甲状腺炎、甲状腺功能亢进、胰岛素依赖型糖尿病、重症肌无力、溃疡性结肠炎、恶性贫血伴慢性萎缩性胃炎、肺出血肾炎综合征、寻常天疱疮、类天疱疮、原发性胆汁性肝硬化、多发性脑脊髓硬化症和急性特发性多神经炎。

55. 权利要求 19~42 任一项所述的双特异性结合分子、权利要求 43 所述的核酸分子、权利要求 44 所述的表达载体、权利要求 45~48 任一项所述的重组细胞或权利要求 49 所述的组合物在制备药物中的用途,所述药物用于预防和/或治疗 CD16A 和 BCMA,或者 CD16A 和 B7H6 介导的相关疾病。

56. 根据权利要求 55 所述的用途,其特征在於,所述 CD16A 和 BCMA,或者 CD16A 和 B7H6 介导的相关疾病包括癌症。

57. 根据权利要求 55 所述的用途,其特征在於,所述癌症包括下列中的至少之一:血管瘤、胃癌、肝癌、肺癌、乳腺癌、结肠癌、鼻咽癌、膀胱癌、宫颈癌、前列腺癌、骨癌、皮肤癌、甲状腺癌、肾癌、食道癌、黑色素瘤、纤维肉瘤、

横纹肌肉瘤、星形细胞瘤、神经母细胞瘤和神经胶质瘤。

58. 权利要求 1~18 任一项所述的抗体或抗原结合片段、权利要求 43 所述的核酸分子、权利要求 44 所述的表达载体或权利要求 45~48 任一项所述的重组细胞在制备试剂盒中的用途，所述试剂盒用于检测 CD16A。

59. 权利要求 19~42 任一项所述的双特异性结合分子、权利要求 43 所述的核酸分子、权利要求 44 所述的表达载体或权利要求 45~48 任一项所述的重组细胞在制备试剂盒中的用途，所述试剂盒用于检测 CD16A 和/或 BCMA，或者，CD16A 和/或 B7H6。

60. 权利要求 1~18 任一项所述的抗体或抗原结合片段、权利要求 43 所述的核酸分子、权利要求 44 所述的表达载体、权利要求 45~48 任一项所述的重组细胞、权利要求 49 所述的组合物或权利要求 50 所述的药物在预防和/或治疗 CD16A 介导的相关疾病的用途。

61. 根据权利要求 60 所述的用途，其特征在于，所述 CD16A 介导的相关疾病包括自身免疫性疾病。

62. 根据权利要求 61 所述的用途，其特征在于，所述自身免疫性疾病包括下列中的至少之一：系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、系统性血管炎、硬皮病、皮炎、自身免疫性溶血性贫血、甲状腺自身免疫病、溃疡性结肠炎、慢性淋巴细胞性甲状腺炎、甲状腺功能亢进、胰岛素依赖型糖尿病、重症肌无力、溃疡性结肠炎、恶性贫血伴慢性萎缩性胃炎、肺出血肾炎综合征、寻常天疱疮、类天疱疮、原发性胆汁性肝硬化、多发性脑脊髓硬化症和急性特发性多神经炎。

63. 权利要求 19~42 任一项所述的双特异性结合分子、权利要求 43 所述的核酸分子、权利要求 44 所述的表达载体、权利要求 45~48 任一项所述的重组细胞、权利要求 49 所述的组合物或权利要求 50 所述的药物在预防和/或治疗 CD16A 和 BCMA，或者 CD16A 和 B7H6 介导的相关疾病的用途。

64. 根据权利要求 63 所述的用途，其特征在于，所述 CD16A 和 BCMA，或者 CD16A 和 B7H6 介导的相关疾病包括癌症。

65. 根据权利要求 64 所述的用途，其特征在于，所述癌症包括下列中的至少之一：血管瘤、胃癌、肝癌、肺癌、乳腺癌、结肠癌、鼻咽癌、膀胱癌、宫颈癌、前列腺癌、骨癌、皮肤癌、甲状腺癌、肾癌、食道癌、黑色素瘤、纤维肉瘤、横纹肌肉瘤、星形细胞瘤、神经母细胞瘤和神经胶质瘤。

66. 一种预防和/或治疗 CD16A 介导的相关疾病的方法，其特征在于，给予患者药理学上可接受剂量的权利要求 1~18 任一项所述的抗体或抗原结合片段、权利要求 43 所述的核酸分子、权利要求 44 所述的表达载体、权利要求 45~48 任一项所述的重组细胞、权利要求 49 所述的组合物或权利要求 50 所述的药物。

67. 一种诊断 CD16A 介导的相关疾病的方法，其特征在于，包括使用权利要求 1~18 任一项所述的抗体或抗原结合片段、权利要求 43 所述的核酸分子、权利要求 44 所述的表达载体或权利要求 45~48 任一项所述的重组细胞中的至少一对待测样品中的 CD16A 进行检测，基于所述 CD16A 的检测结果，确定所述待测样品中 CD16A 的含量。

68. 根据权利要求 67 所述的方法，其特征在于，所述待测样品中 CD16A 的含量不低于患病的最低标准是待测样品来源于患有 CD16A 引起的相关疾病的患者的指示。

69. 一种评估 CD16A 介导的相关疾病预后的方法，其特征在于，包括使用权利要求 1~18 任一项所述的抗体或抗原结合片段、权利要求 43 所述的核酸分子、权利要求 44 所述的表达载体或权利要求 45~48 任一项所述的重组细胞中的至少一对待测样品中的 CD16A 进行检测，确定所述待测样品中 CD16A 的含量，并基于所述 CD16A 的含量对 CD16A 引起的相关疾病的预后进行评估。

70. 根据权利要求 67 或 69 所述的方法，其特征在于，所述待测样品包括下列中的至少之一：血液、唾液、汗液、组织、细胞、血液、血清、血浆、粪便和尿液。

71. 根据权利要求 66、67 或 69 任一项所述的方法，其特征在于，所述 CD16A 介导的相关疾病包括自身免疫性疾病。

72. 根据权利要求 71 所述的方法，其特征在于，所述自身免疫性疾病包括下列中的至少之一：系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、系统性血管炎、硬皮病、皮炎、自身免疫性溶血性贫血、甲状腺自身免疫病、溃疡性结肠炎、慢性淋巴细胞性甲状腺炎、甲状腺功能亢进、胰岛素依赖型糖尿病、重症肌无力、溃疡性结肠炎、恶性贫血伴慢性萎缩性胃炎、肺出血肾炎综合征、寻常天疱疮、类天疱疮、原发性胆汁性肝硬化、多发性脑脊髓硬化症和急性特发性多神经炎。

73. 一种预防和/或治疗 CD16A 和 BCMA，或者 CD16A 和 B7H6 介导的相关疾病的方法，其特征在于，给予患者药理学上可接受剂量的权利要求 19~42 任一项所述的双特异性结合分子、权利要求 43 所述的核酸分子、权利要求 44 所述的表达载体、权利要求 45~48 任一项所述的重组细胞、权利要求 49 所述的组合物或权利要求 50 所述的药物。

74. 一种诊断 CD16A 和 BCMA，或者 CD16A 和 B7H6 介导的相关疾病的方法，其特征在于，包括使用权利要求 19~42 任一项所述的双特异性结合分子、权利要求 43 所述的核酸分子、权利要求 44 所述的表达载体或权利要求 45~48 任一项

所述的重组细胞中的至少之一对待测样品中的 CD16A 和 BCMA，或者，CD16A 和 B7H6 进行检测，基于所述 CD16A 和 BCMA，或者，CD16A 和 B7H6 的检测结果，确定所述待测样品中 CD16A 和 BCMA，或者，CD16A 和 B7H6 的含量。

75. 根据权利要求 74 所述的方法，其特征在于，所述待测样品中 CD16A 和 BCMA，或者，CD16A 和 B7H6 的含量不低于患病的最低标准是待测样品来源于患有 CD16A 和 BCMA，或者，CD16A 和 B7H6 引起的相关疾病的患者的指示。

5 76. 一种评估 CD16A 和 BCMA，或者，CD16A 和 B7H6 介导的相关疾病预后的方法，其特征在于，包括使用权利要求 19-42 任一项所述的双特异性结合分子、权利要求 43 所述的核酸分子、权利要求 44 所述的表达载体或权利要求 45-48 任一项所述的重组细胞中的至少之一对待测样品中的 CD16A 和 BCMA，或者，CD16A 和 B7H6 进行检测，确定所述待测样品中 CD16A 和 BCMA，或者，CD16A 和 B7H6 的含量，并基于所述 CD16A 和 BCMA，或者，CD16A 和 B7H6 的含量对 CD16A 和 BCMA，或者，CD16A 和 B7H6 引起的相关疾病的预后进行评估。

10 77. 根据权利要求 74 或 76 所述的方法，其特征在于，所述待测样品包括下列中的至少之一：血液、唾液、汗液、组织、细胞、血液、血清、血浆、粪便和尿液。

78. 根据权利要求 73、74 或 76 任一项所述的方法，其特征在于，所述 CD16A 和 BCMA，或者 CD16A 和 B7H6 介导的相关疾病包括癌症。

15 79. 根据权利要求 78 所述的方法，其特征在于，所述癌症包括下列中的至少之一：血管瘤、胃癌、肝癌、肺癌、乳腺癌、结肠癌、鼻咽癌、膀胱癌、宫颈癌、前列腺癌、骨癌、皮肤癌、甲状腺癌、肾癌、食道癌、黑色素瘤、纤维肉瘤、横纹肌肉瘤、星形细胞瘤、神经母细胞瘤和神经胶质瘤。

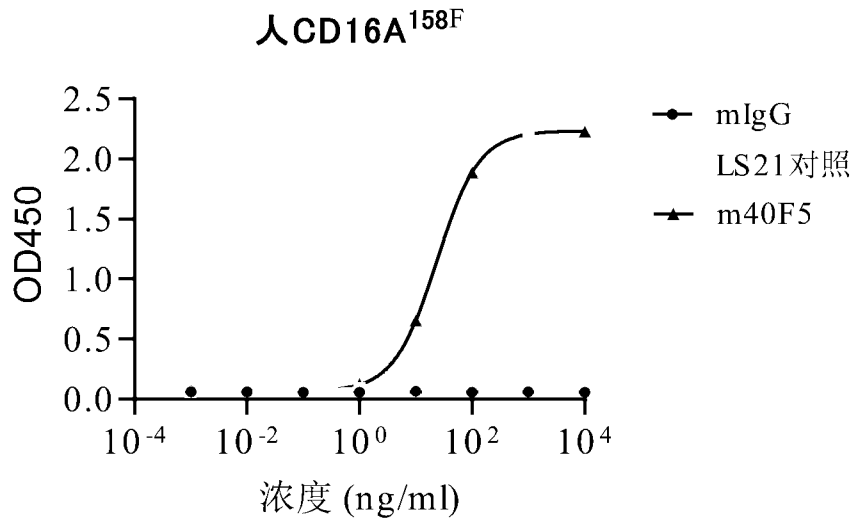


图 1A

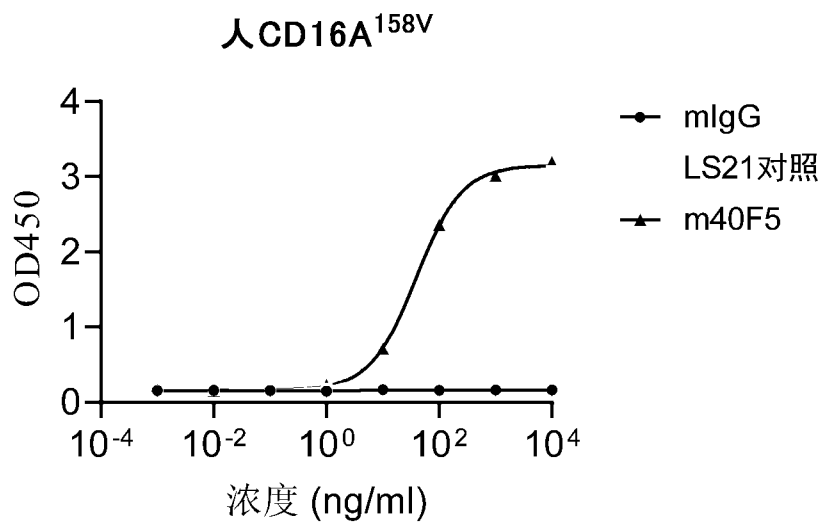


图 1B

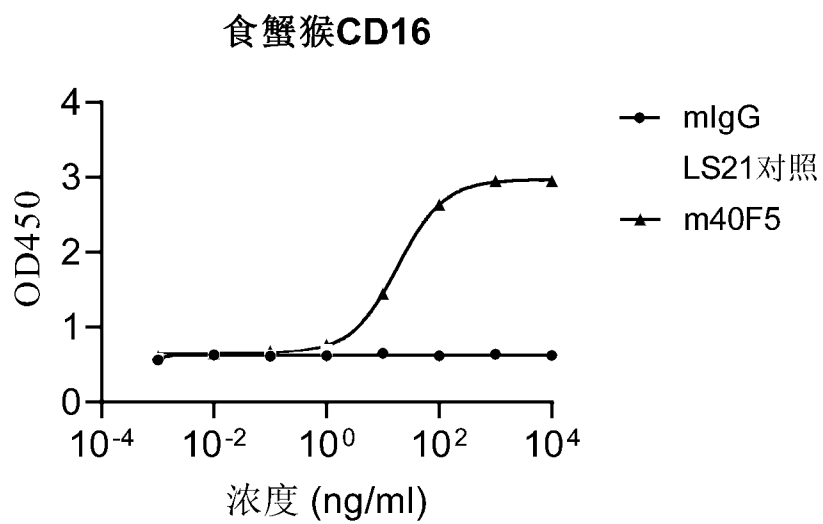


图 1C

人CD16B<sup>NA1</sup>

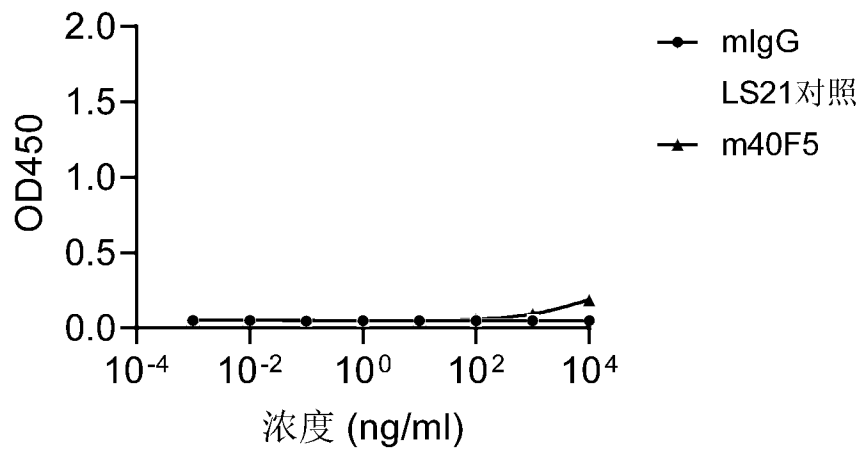


图 1D

人CD16B<sup>NA2</sup>

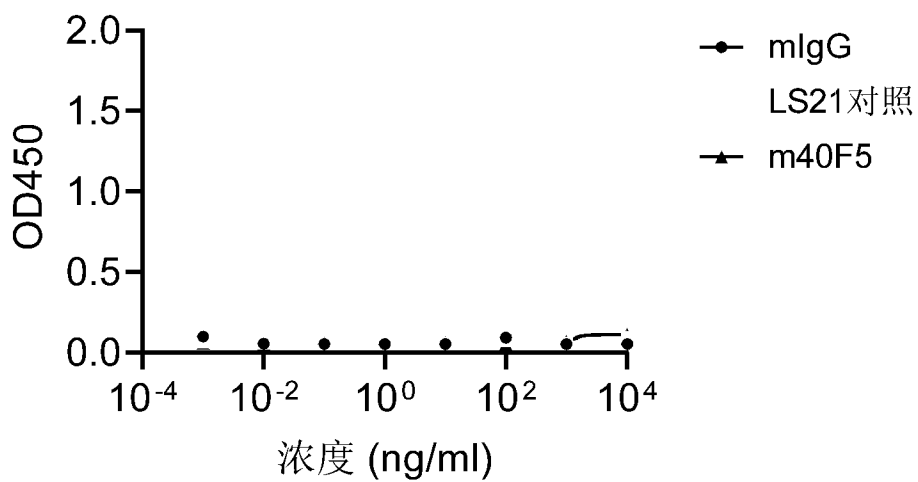


图 1E

人CD16B<sup>SH</sup>

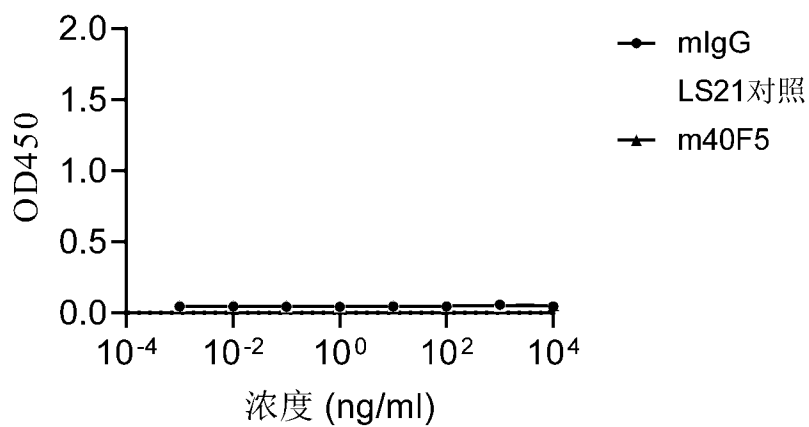


图 1F

过表达人CD16A的CHO细胞

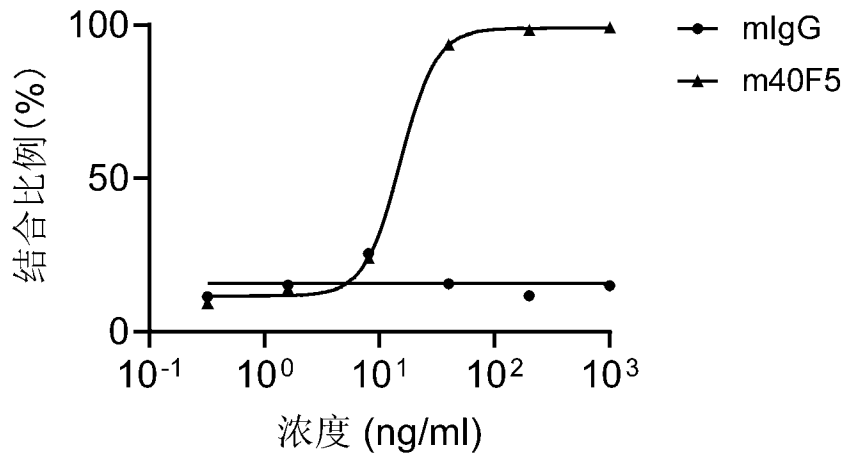


图 2A

过表达食蟹猴CD16的CHO细胞

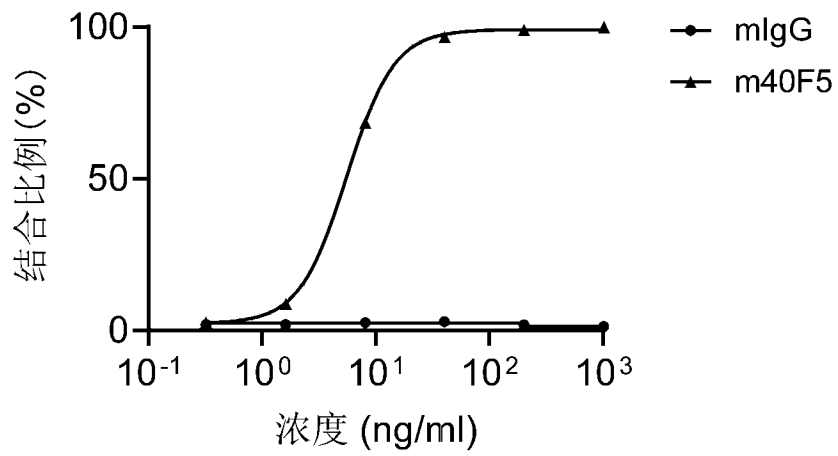


图 2B

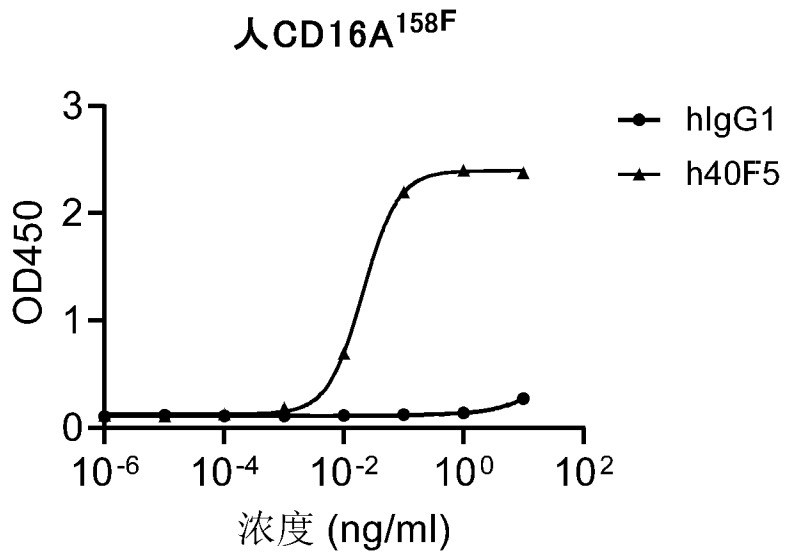


图 3A

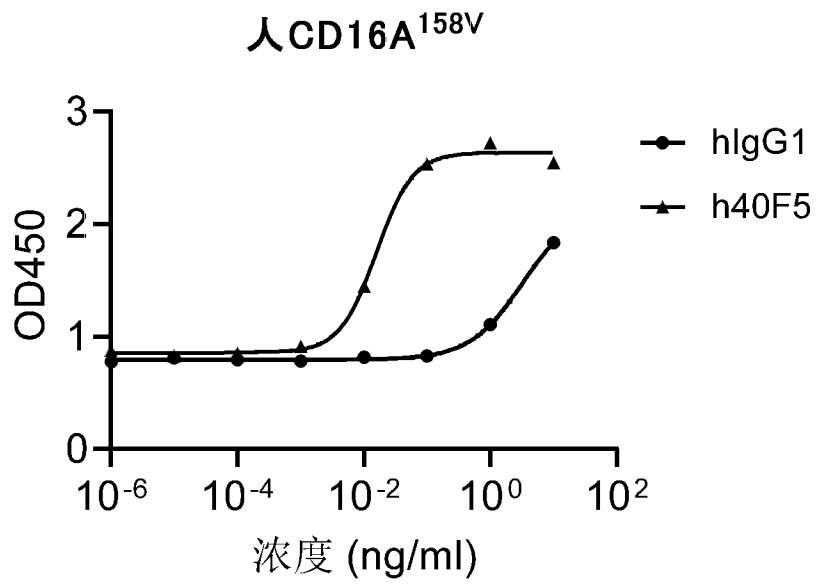


图 3B

### 食蟹猴CD16

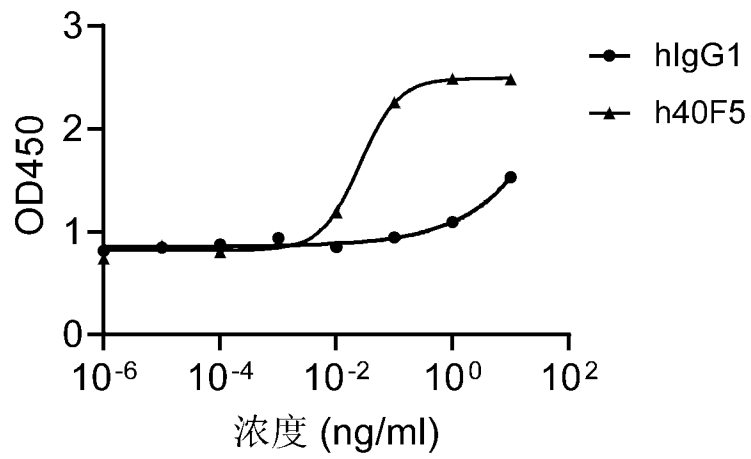


图 3C

### 人CD16B<sup>NA1</sup>

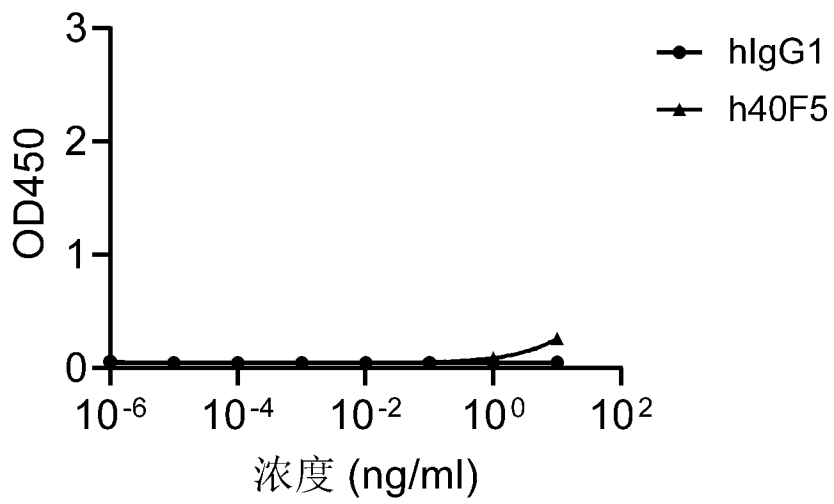


图 3D

### 人CD16B<sup>NA2</sup>

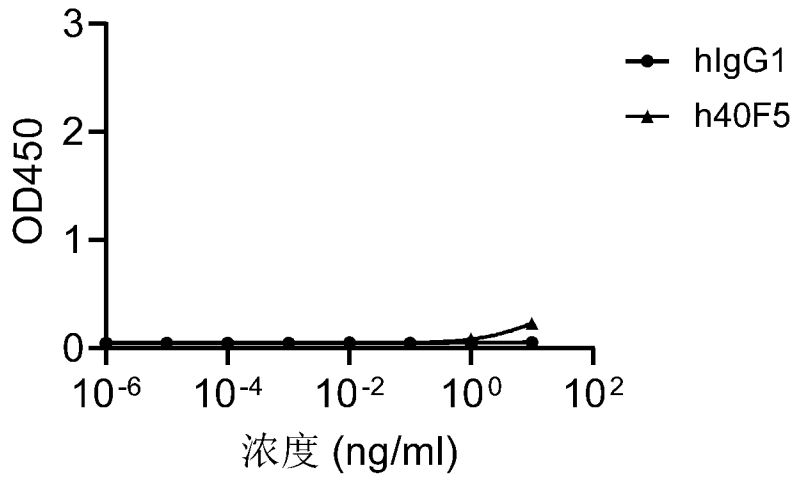


图 3E

### 人CD16B<sup>SH</sup>

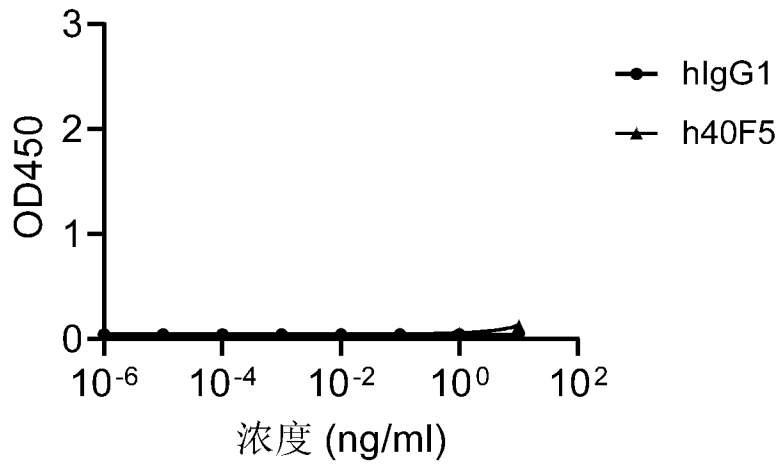


图 3F

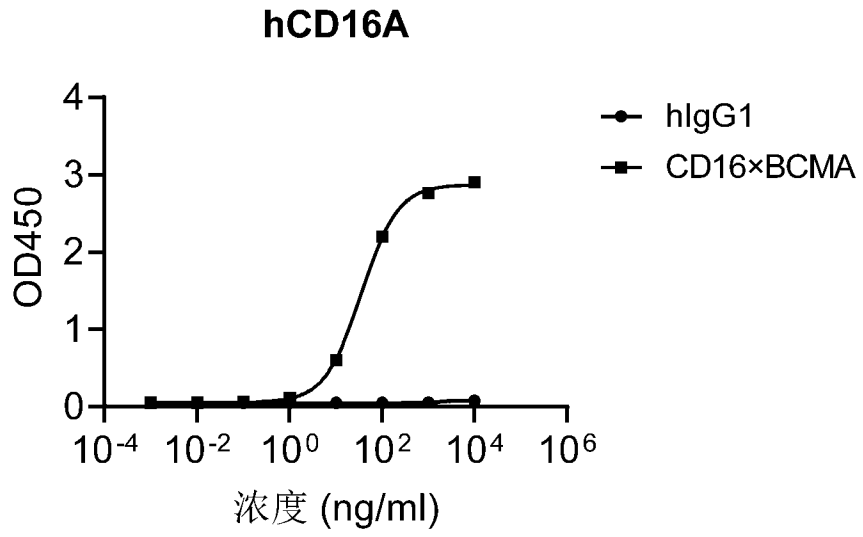


图 4A

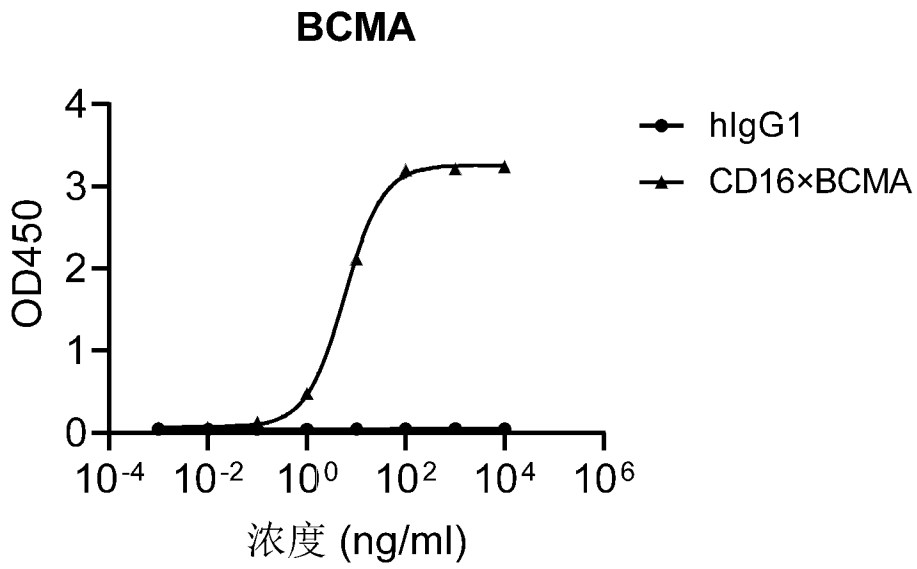


图 4B

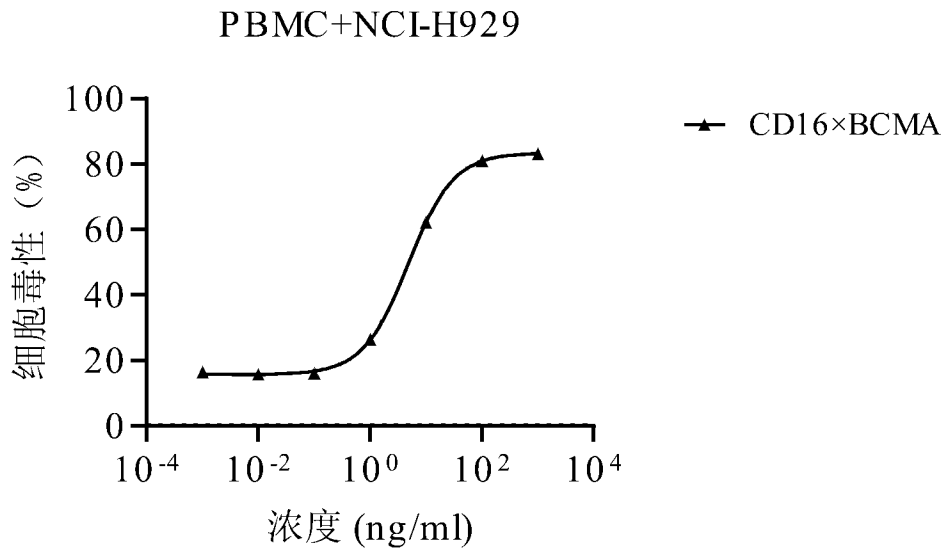


图 5

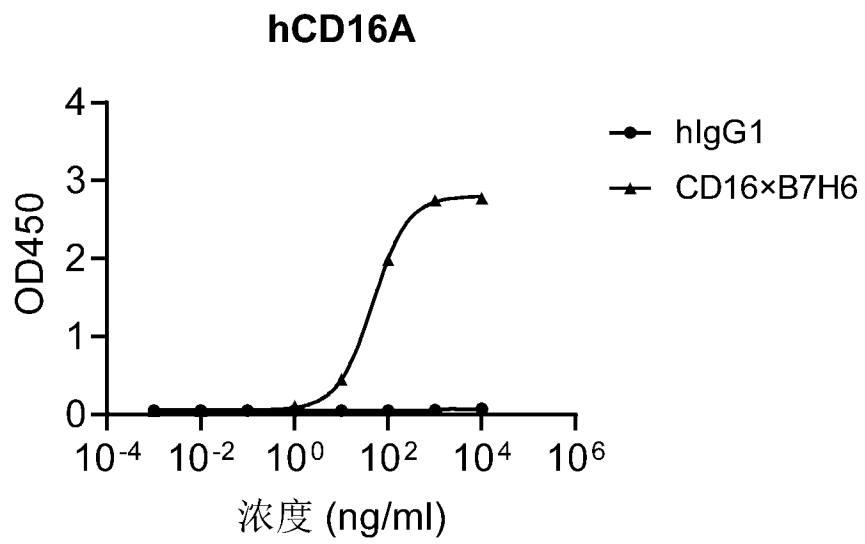


图 6A

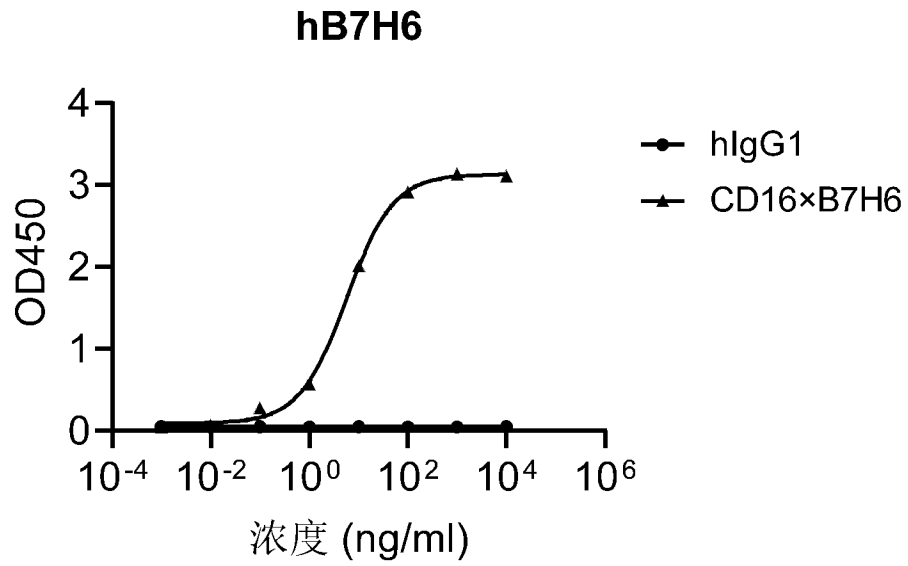


图 6B

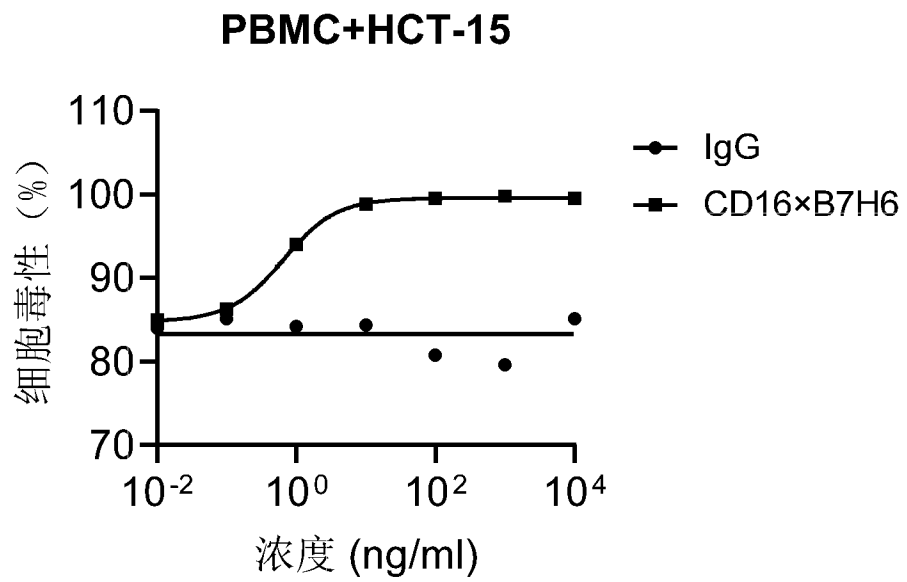


图 7

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2023/086262

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>		
C07K16/28(2006.01)i; C07K16/46(2006.01)i; C12N15/13(2006.01)i; A61K39/395(2006.01)i; A61P37/02(2006.01)i; A61P35/00(2006.01)i; G01N33/68(2006.01)i; G01N33/574(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC: C07K C12N A61K A61P G01N		
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) CNTXT; VCN; VEN; ENTXT; ENTXTC; OETXT; CNKI; 万方, WANFANG; 读秀学术, Duxiu Scholar; 中国专利生物序列检索系统, China Patent Biological Sequence Search System; Genbank; EMBL; STNEXT; ISI Web of Science; Springer; 合肥天港免疫药物有限公司, CD16A, 抗体, 抗原, BCMA, B7H6, 自身免疫, 癌症, 肿瘤, HEFEI TG IMMUNOPHARMA, antibody, antigen, autoimmune, cancer, tumor, 基于序列1-6的检索, search based on sequences 1-6		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 113490687 A (XILIO DEVELOPMENT, INC.) 08 October 2021 (2021-10-08) abstract, and claims 1, 20, 39-41 and 51-55	1-59, 67-72, 74-79
A	CN 114395044 A (HEFEI TG IMMUNOPHARMA CO., LTD.) 26 April 2022 (2022-04-26) claims 1-23	1-59, 67-72, 74-79
A	CN 110959015 A (SICHUAN KELUN-BIOTECH BIOPHARMACEUTICAL CO., LTD.) 03 April 2020 (2020-04-03) claims 1-25	1-59, 67-72, 74-79
A	CN 110382539 A (AFFIMED GMBH) 25 October 2019 (2019-10-25) claims 1-12	1-59, 67-72, 74-79
A	CN 112789291 A (DRAGONFLY THERAPEUTICS, INC.) 11 May 2021 (2021-05-11) claims 1-61 and 113-131	1-59, 67-72, 74-79
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "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 <b>02 June 2023</b>		Date of mailing of the international search report <b>07 July 2023</b>
Name and mailing address of the ISA/CN <b>China National Intellectual Property Administration (ISA/ CN) China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088</b>		Authorized officer  Telephone No.

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

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
  - a.  forming part of the international application as filed.
  - b.  furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.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:

**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.: **60-79**  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  

The use and method involved in claims 60-79 are practiced on a living human or animal body for the direct purpose of disease treatment and diagnosis, which falls within the category of disease diagnosis and treatment methods as defined in PCT Rule 39.1(4).

With regard to claims 67-72 and 74-79, the reasonably expected amendments are made as follows:

Claim 67: the use of at least one of the antibody or antigen-binding fragment of any one of claims 1-18, the nucleic acid molecule of claim 43, the expression vector of claim 44 and the recombinant cell of any one of claims 45-48 in the preparation of a product for diagnosis of CD16A-mediated related diseases, characterized by measuring CD16A in a sample to be detected, and on the basis of a measurement result of the CD16A, determining the content of the CD16A in the sample to be detected.

Claim 68 refers to claim 67.

Claim 69: the use of at least one of the antibody or antigen-binding fragment of any one of claims 1-18, the nucleic acid molecule of claim 43, the expression vector of claim 44 and the recombinant cell of any one of claims 45-48 in the preparation of a product for evaluating the prognosis of CD16A-mediated related diseases, characterized by measuring CD16A in a sample to be detected, determining the content of the CD16A in the sample to be detected, and evaluating the prognosis of related diseases caused by the CD16A on the basis of the content of the CD16A.

Claims 70 and 71 refer to claim 67 or 69, and claim 72 refers to claim 71.

Claim 74: the use of at least one of the bispecific binding molecule of any one of claims 19-42, the nucleic acid molecule of claim 43, the expression vector of claim 44 and the recombinant cell of any one of claims 45-48 in the preparation of a product for diagnosing CD16A and BCMA-mediated or CD16A and B7H6-mediated related diseases, characterized by measuring CD16A and BCMA, or CD16A and B7H6 in a sample to be detected, and on the basis of a measurement result of the CD16A and BCMA, or the CD16A and B7H6, determining the content of the CD16A and BCMA, or the CD16A and B7H6 in the sample to be detected.

Claim 75 refers to claim 74.

Claim 76: the use of at least one of the bispecific binding molecule of any one of claims 19-42, the nucleic acid molecule of claim 43, the expression vector of claim 44 and the recombinant cell of any one of claims 45-48 in the preparation of a product for evaluating the prognosis of CD16A and BCMA-mediated or CD16A and B7H6-mediated related diseases, characterized by measuring CD16A and BCMA, or CD16A and B7H6 in a sample to be detected, determining the content of the CD16A and BCMA, or the CD16A and B7H6 in the sample to be detected, and on the basis of the content of the CD16A and BCMA, or the CD16A and B7H6, evaluating the prognosis of CD16A and BCMA-mediated or CD16A and B7H6-mediated related diseases.

Claims 77 and 78 refer to claim 74 or 76, and claim 79 refers to claim 78.
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/CN2023/086262**

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	113490687	A	08 October 2021	PH	12021551500	A1	28 February 2022
				KR	20210141447	A	23 November 2021
				IL	284381	A	31 August 2021
				PH	12021551498	A1	28 February 2022
				US	2022073613	A1	10 March 2022
				MX	2021007768	A	24 August 2021
				WO	2020139926	A2	02 July 2020
				WO	2020139926	A3	06 August 2020
				EP	3902832	A2	03 November 2021
				IL	284382	A	31 August 2021
				EA	202191784	A1	20 October 2021
				KR	20210142594	A	25 November 2021
				AU	2019416216	A1	08 July 2021
				EP	3902833	A2	03 November 2021
				JP	2022516881	A	03 March 2022
				AU	2019416220	A1	22 July 2021
				US	2022064301	A1	03 March 2022
				WO	2020139920	A2	02 July 2020
				WO	2020139920	A3	06 August 2020
				JP	2022516503	A	28 February 2022
				CA	3122773	A1	02 July 2020
				BR	112021012536	A2	14 September 2021
				EA	202191785	A1	29 November 2021
CA	3123050	A1	02 July 2020				
SG	11202106498	A1	29 July 2021				
-----							
CN	114395044	A	26 April 2022	None			
-----							
CN	110959015	A	03 April 2020	WO	2019011167	A1	17 January 2019
-----							
CN	110382539	A	25 October 2019	JP	2020510659	A	09 April 2020
				JP	7115758	B2	09 August 2022
				US	2022041717	A1	10 February 2022
				EP	3589655	A1	08 January 2020
				EP	3589655	B1	26 October 2022
				DK	3589655	T3	28 November 2022
				US	2019345249	A1	14 November 2019
				US	11180558	B2	23 November 2021
				AU	2018228719	A1	08 August 2019
				AU	2018228719	B2	30 March 2023
				WO	2018158349	A1	07 September 2018
				CA	3051062	A1	07 September 2018
				-----			
CN	112789291	A	11 May 2021	MX	2021001510	A	02 July 2021
				WO	2020033702	A1	13 February 2020
				IL	280673	A	25 March 2021
				JP	2021534096	A	09 December 2021
				SG	11202101294	RA	30 March 2021
				KR	20210044237	A	22 April 2021
				BR	112021002278	A2	20 July 2021
				EP	3833686	A1	16 June 2021
				EP	3833686	A4	11 January 2023
				AU	2019319906	A1	04 March 2021
				CA	3108915	A1	13 February 2020

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
**Information on patent family members**

International application No.

**PCT/CN2023/086262**

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
-----			
		US 2021206859 A1	08 July 2021

<p><b>A. 主题的分类</b></p> <p>C07K16/28(2006.01)i; C07K16/46(2006.01)i; C12N15/13(2006.01)i; A61K39/395(2006.01)i; A61P37/02(2006.01)i; A61P35/00(2006.01)i; G01N33/68(2006.01)i; G01N33/574(2006.01)i</p> <p>按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类</p>																				
<p><b>B. 检索领域</b></p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>IPC: C07K C12N A61K A61P G01N</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))</p> <p>CNTXT;VCN;VEN;ENTXT;ENTXTC;OETXT;CNKI;万方;读秀学术;中国专利生物序列检索系统;Genbank;EMBL;STNEXT;ISI Web of Science;Springer;合肥天港免疫药物有限公司, CD16A, 抗体, 抗原, BCMA, B7H6, 自身免疫, 癌症, 肿瘤, HEFEI TG IMMUNOPHARMA, antibody, antigen, autoimmune, cancer, tumor, 基于序列1-6的检索</p>																				
<p><b>C. 相关文件</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>类型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>A</td> <td>CN 113490687 A (西利欧发展公司) 2021年10月8日 (2021 - 10 - 08) 说明书摘要、权利要求1、20、39-41、51-55</td> <td>1-59、67-72、74-79</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 114395044 A (合肥天港免疫药物有限公司) 2022年4月26日 (2022 - 04 - 26) 权利要求1-23</td> <td>1-59、67-72、74-79</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 110959015 A (四川科伦博泰生物医药股份有限公司) 2020年4月3日 (2020 - 04 - 03) 权利要求1-25</td> <td>1-59、67-72、74-79</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 110382539 A (阿菲姆德股份有限公司) 2019年10月25日 (2019 - 10 - 25) 权利要求1-12</td> <td>1-59、67-72、74-79</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 112789291 A (蜻蜓疗法股份有限公司) 2021年5月11日 (2021 - 05 - 11) 权利要求1-61、113-131</td> <td>1-59、67-72、74-79</td> </tr> </tbody> </table> <p><input type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。 <input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p> <p>* 引用文件的具体类型:          “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          “&amp;” 同族专利的文件</p>			类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	A	CN 113490687 A (西利欧发展公司) 2021年10月8日 (2021 - 10 - 08) 说明书摘要、权利要求1、20、39-41、51-55	1-59、67-72、74-79	A	CN 114395044 A (合肥天港免疫药物有限公司) 2022年4月26日 (2022 - 04 - 26) 权利要求1-23	1-59、67-72、74-79	A	CN 110959015 A (四川科伦博泰生物医药股份有限公司) 2020年4月3日 (2020 - 04 - 03) 权利要求1-25	1-59、67-72、74-79	A	CN 110382539 A (阿菲姆德股份有限公司) 2019年10月25日 (2019 - 10 - 25) 权利要求1-12	1-59、67-72、74-79	A	CN 112789291 A (蜻蜓疗法股份有限公司) 2021年5月11日 (2021 - 05 - 11) 权利要求1-61、113-131	1-59、67-72、74-79
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求																		
A	CN 113490687 A (西利欧发展公司) 2021年10月8日 (2021 - 10 - 08) 说明书摘要、权利要求1、20、39-41、51-55	1-59、67-72、74-79																		
A	CN 114395044 A (合肥天港免疫药物有限公司) 2022年4月26日 (2022 - 04 - 26) 权利要求1-23	1-59、67-72、74-79																		
A	CN 110959015 A (四川科伦博泰生物医药股份有限公司) 2020年4月3日 (2020 - 04 - 03) 权利要求1-25	1-59、67-72、74-79																		
A	CN 110382539 A (阿菲姆德股份有限公司) 2019年10月25日 (2019 - 10 - 25) 权利要求1-12	1-59、67-72、74-79																		
A	CN 112789291 A (蜻蜓疗法股份有限公司) 2021年5月11日 (2021 - 05 - 11) 权利要求1-61、113-131	1-59、67-72、74-79																		
国际检索实际完成的日期	2023年6月2日	国际检索报告邮寄日期	2023年7月7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	授权官员	李小晶 电话号码 (+86) 0512-88996463																	

第1栏

核苷酸和/或氨基酸序列(续第1页第1.c项)

1. 关于国际申请中所公开的任何核苷酸和/或氨基酸序列, 国际检索是基于下列序列列表进行的:
- a.  作为国际申请的一部分提交的;
- 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:

## 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: 60-79  
因为它们涉及不要求本单位进行检索的主题, 即:  
权利要求60-79涉及的用途、方法是以诊断、治疗有生命的动物体的疾病为最终目的, 属于PCT细则39.1(4)条规定的疾病诊断和治疗方法范畴。  
对权利要求67-72、74-79的合理预期的修改如下:  
权利要求67: 权利要求1~18任一项所述的抗体或抗原结合片段、权利要求43所述的核酸分子、权利要求44所述的表达载体或权利要求45~48任一项所述的重组细胞中的至少之一在制备用于诊断CD16A介导的相关疾病的产品中的应用, 其特征在于, 对待测样品中的CD16A进行检测, 基于所述CD16A的检测结果, 确定所述待测样品中CD16A的含量。  
权利要求68引用权利要求67。  
权利要求69: 权利要求1~18任一项所述的抗体或抗原结合片段、权利要求43所述的核酸分子、权利要求44所述的表达载体或权利要求45~48任一项所述的重组细胞中的至少之一在制备评估CD16A介导的相关疾病预后的产品中的应用, 其特征在于, 对待测样品中的CD16A进行检测, 确定所述待测样品中CD16A的含量, 并基于所述CD16A的含量对CD16A引起的相关疾病的预后进行评估。  
权利要求70、71引用权利要求67或69, 权利要求72引用权利要求71。  
权利要求74: 权利要求19~42任一项所述的双特异性结合分子、权利要求43所述的核酸分子、权利要求44所述的表达载体或权利要求45~48任一项所述的重组细胞中的至少之一在制备诊断CD16A和BCMA, 或者CD16A和B7H6介导的相关疾病的产品中的应用, 其特征在于, 对待测样品中的CD16A和BCMA, 或者, CD16A和B7H6进行检测, 基于所述CD16A和BCMA, 或者, CD16A和B7H6的检测结果, 确定所述待测样品中CD16A和BCMA, 或者, CD16A和B7H6的含量。  
权利要求75引用权利要求74。  
权利要求76: 权利要求19~42任一项所述的双特异性结合分子、权利要求43所述的核酸分子、权利要求44所述的表达载体或权利要求45~48任一项所述的重组细胞中的至少之一在制备评估CD16A和BCMA, 或者, CD16A和B7H6介导的相关疾病预后的产品中的应用, 其特征在于, 对待测样品中的CD16A和BCMA, 或者, CD16A和B7H6进行检测, 确定所述待测样品中CD16A和BCMA, 或者, CD16A和B7H6的含量, 并基于所述CD16A和BCMA, 或者, CD16A和B7H6的含量对CD16A和BCMA, 或者, CD16A和B7H6引起的相关疾病的预后进行评估。  
权利要求77、78引用权利要求74或76, 权利要求79引用权利要求78。
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/CN2023/086262

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	113490687	A	2021年10月8日	PH	12021551500	A1	2022年2月28日
				KR	20210141447	A	2021年11月23日
				IL	284381	A	2021年8月31日
				PH	12021551498	A1	2022年2月28日
				US	2022073613	A1	2022年3月10日
				MX	2021007768	A	2021年8月24日
				WO	2020139926	A2	2020年7月2日
				WO	2020139926	A3	2020年8月6日
				EP	3902832	A2	2021年11月3日
				IL	284382	A	2021年8月31日
				EA	202191784	A1	2021年10月20日
				KR	20210142594	A	2021年11月25日
				AU	2019416216	A1	2021年7月8日
				EP	3902833	A2	2021年11月3日
				JP	2022516881	A	2022年3月3日
				AU	2019416220	A1	2021年7月22日
				US	2022064301	A1	2022年3月3日
				WO	2020139920	A2	2020年7月2日
				WO	2020139920	A3	2020年8月6日
				JP	2022516503	A	2022年2月28日
				CA	3122773	A1	2020年7月2日
				BR	112021012536	A2	2021年9月14日
				EA	202191785	A1	2021年11月29日
CA	3123050	A1	2020年7月2日				
SG	11202106498	A1	2021年7月29日				
CN	114395044	A	2022年4月26日	无			
CN	110959015	A	2020年4月3日	WO	2019011167	A1	2019年1月17日
CN	110382539	A	2019年10月25日	JP	2020510659	A	2020年4月9日
				JP	7115758	B2	2022年8月9日
				US	2022041717	A1	2022年2月10日
				EP	3589655	A1	2020年1月8日
				EP	3589655	B1	2022年10月26日
				DK	3589655	T3	2022年11月28日
				US	2019345249	A1	2019年11月14日
				US	11180558	B2	2021年11月23日
				AU	2018228719	A1	2019年8月8日
				AU	2018228719	B2	2023年3月30日
				WO	2018158349	A1	2018年9月7日
				CA	3051062	A1	2018年9月7日
CN	112789291	A	2021年5月11日	MX	2021001510	A	2021年7月2日
				WO	2020033702	A1	2020年2月13日
				IL	280673	A	2021年3月25日
				JP	2021534096	A	2021年12月9日
				SG	11202101294	RA	2021年3月30日
				KR	20210044237	A	2021年4月22日
				BR	112021002278	A2	2021年7月20日
				EP	3833686	A1	2021年6月16日
				EP	3833686	A4	2023年1月11日
				AU	2019319906	A1	2021年3月4日

国际检索报告  
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2023/086262

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)
		CA 3108915 A1	2020年2月13日
		US 2021206859 A1	2021年7月8日
<hr/>			