



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 116635085 A

(43) 申请公布日 2023. 08. 22

(21) 申请号 202180085938.6

U • 莫比乌斯

(22) 申请日 2021.12.23

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

11105

(30) 优先权数据

专利代理师 陈丹丹

20216800.1 2020.12.23 EP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

(51) Int.Cl.

2023.06.19

A61K 47/68 (2017.01)

(86) PCT国际申请的申请数据

A61K 31/5383 (2006.01)

PCT/EP2021/087495 2021.12.23

C07K 16/28 (2006.01)

(87) PCT国际申请的公布数据

A61K 47/65 (2017.01)

W02022/136642 EN 2022.06.30

A61P 35/00 (2006.01)

(71) 申请人 斯迪安生物技术公司

地址 捷克共和国布拉格

(72) 发明人 L • 巴默特 L • 基里奇萨迪尔科瓦

S • 霍斯卡瓦 I • 瓦伦托瓦

L • 瓦尔德迈耶 R • 比尔利

权利要求书5页 说明书70页

序列表65页 附图59页

(54) 发明名称

肿瘤特异性密蛋白18.2抗体-药物缀合物

(57) 摘要

本发明提供了基于与CLDN18.2结合的抗体的ADC,其中该抗体或其片段与表达CLDN18.2的健康组织相比展现出增加的对表达CLDN18.2的肿瘤组织的结合。

1. 具有通式A-(L-T)_n的抗体-药物缀合物, 其中

a. A为与CLDN18.2结合的抗体或其片段, 其包含分别为SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22和SEQ ID NO:23的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列, 以及分别为SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25和SEQ ID NO:26的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列,

b. L为接头, 且

c. T为毒素,

其中所述毒素为葱环类,

其中n为介于 ≥ 1 和 ≤ 10 之间的整数;

或其药学上可接受的盐或酯。

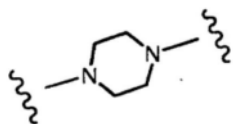
2. 权利要求1的抗体-药物缀合物, 其中所述接头L包含至少一种不可切割的接头元件, 优选地, 其中所述不可切割的接头元件选自下组:

a. 乙二胺(EDA),

b. N-甲酰基-N,N'-二甲基乙二胺,

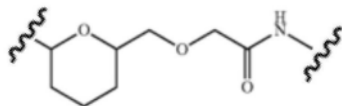
c. 二乙胺(DEA),

d. 下式的哌嗪衍生化合物:



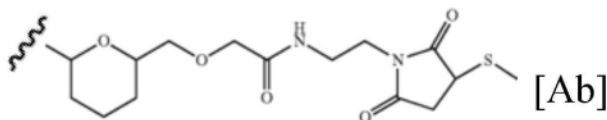
其中波浪线表示与所述毒素和另一接头元件的衔接,

e. 下式的化合物:



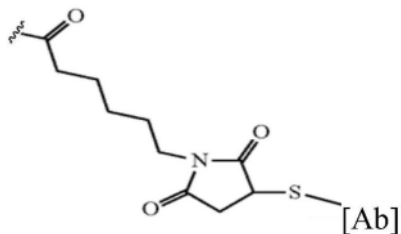
其中波浪线表示与所述毒素和另一接头元件的衔接,

f. 下式的化合物:



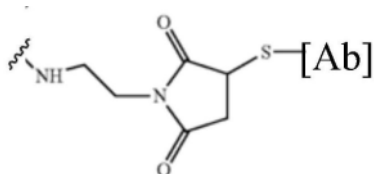
其中波浪线表示与所述毒素的衔接且[Ab]表示所述抗体或其片段,

g. 下式的马来酰亚胺基己酰基化合物:



其中波浪线表示与另一接头元件的衔接且[Ab]表示所述抗体或其片段,

h. 下式的化合物:



其中波浪线表示与毒素的附接且[Ab]表示所述抗体或其片段，

且其中所述不可切割的接头元件通过酰胺键或醚键与所述毒素缀合。

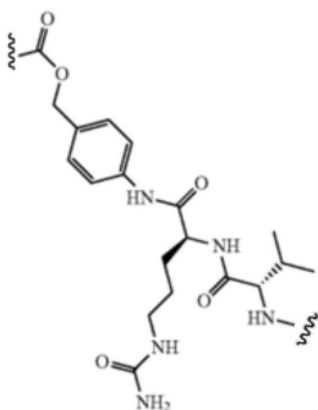
3. 权利要求2的抗体-药物缀合物，其中所述接头进一步包含寡肽接头元件和/或酶可切割的接头元件和/或间隔物元件。

4. 权利要求3的抗体-药物缀合物，其中一个寡肽接头元件包含选自以下的分选酶识别基序寡肽：-LPXTG_m-、-LPXAG_m-、-LPXSG_m-、-LAXTG_m-、-LPXTG_m-、-LPXTA_m-、-NPQTG_m-或-NPQTN_m-，其中G_m为寡甘氨酸且m为介于≥1和≤21之间的整数，A_m为寡丙氨酸且m为介于≥1和≤21之间的整数，N_m为寡天冬酰胺且m为介于≥1和≤21之间的整数，并且X为任何可能的氨基酸，优选地，所述分选酶识别基序寡肽为-LPQTGG-或-LPETGG-，优选地，其中所述寡肽接头元件包含：

a. 序列SEQ ID NO:131, 或

b. 序列SEQ ID NO:132。

5. 权利要求3或4的抗体-药物缀合物，其中所述酶可切割的接头元件包含根据下式的化合物的val-cit-PAB接头：



其中波浪线表示与其他接头元件的附接。

6. 权利要求3至5中任一项的抗体-药物缀合物，其中所述间隔物元件包含肽类柔性寡肽，优选地，其中所述肽类柔性寡肽由G和S组成，更优选地，其中所述肽类柔性寡肽为(GGGGS)_o，且o为1、2、3、4或5。

7. 权利要求1至6中任一项的抗体-药物缀合物，其中所述抗体-药物缀合物具有以下结构：

a. A-([寡肽接头元件-不可切割的接头元件]-T)_n且优选地，其中所述接头选自：

i. [LPXTGG]-[乙二胺]，和

ii. [LPXTGG]-[

b. A-([寡肽接头元件-酶可切割的接头元件-不可切割的接头元件]-T)_n且优选地，其中

所述接头选自：

i. [LPXTGG] - [vc-PAB] - [N-甲酰基-N,N' -二甲基乙二胺]，和

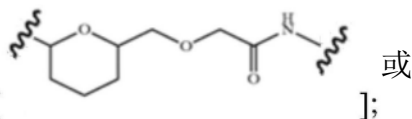
ii. [LPXTGG] - [vc-PAB] - [哌嗪]；

c. A - ([间隔物元件-寡肽接头元件-不可切割的接头元件] - T)_n 且优选地，其中所述接头选自：

i. [GGGGS] - [LPXTGG] - [乙二胺]，和

ii

[GGGGS] - [LPXTGG] - [



];

d. A - ([间隔物元件-寡肽接头元件-酶可切割的接头元件-不可切割的接头元件] - T)_n 且优选地，其中所述接头选自：

i. [GGGGS] - [LPXTGG] - [vc-PAB] - [N-甲酰基-N,N' -二甲基乙二胺]，和

ii. [GGGGS] - [LPXTGG] - [vc-PAB] - [哌嗪]。

8. 权利要求7的抗体-药物缀合物，其中所述不可切割的接头元件为乙二胺且其中所述寡肽接头元件为LPXTGG，其中X为Q或E，优选地，其中X为Q。

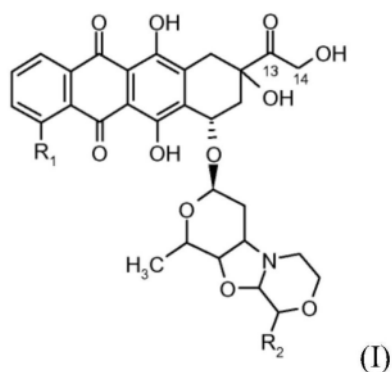
9. 权利要求1至8中任一项的抗体-药物缀合物，其中

a. (L-T) 与所述抗体的两条轻链共价连接，

b. (L-T) 与所述抗体的两条重链共价连接，或

c. (L-T) 与所述抗体的两条轻链和两条重链共价连接。

10. 权利要求1至9中任一项的抗体-药物缀合物，其中所述蒽环类衍生物具有以下式(I)，且所述蒽环类衍生物通过C₁₃与所述不可切割的接头元件共价连接，导致C₁₄和羟基的损失，或所述蒽环类衍生物通过C₁₄上的羟基与所述不可切割的接头元件共价连接：



且其中R₁为氢原子、羟基或甲氧基，

且其中R₂为C₁-C₅烷氧基，优选地，其中所述蒽环类衍生物为3' - 去氨基-3'', 4' - 脱水-[2'' (S) - 甲氧基-3'' (R) - 氧基-4'' - 吗啉基]阿霉素(PNU-159682)的衍生物。

11. 权利要求1至10中任一项的抗体-药物缀合物，其中所述抗体或其片段A包含：

a. 分别为SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:15和SEQ ID NO:3的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列，以及分别为SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列；

b. 分别为SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:16和SEQ ID NO:3的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列，以及分别为SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列；

c. 分别为SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:16和SEQ ID NO:3的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列，以

及分别为SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:14和SEQ ID NO:11的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列；

d. 分别为SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:16和SEQ ID NO:3的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列，以及分别为SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19和SEQ ID NO:11的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列；

e. 分别为SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:15和SEQ ID NO:3的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列，以及分别为SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列；

f. 分别为SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:20和SEQ ID NO:3的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列，以及分别为SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列；

g. 分别为SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:20和SEQ ID NO:3的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列，以及分别为SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19和SEQ ID NO:11的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列；

h. 分别为SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:20和SEQ ID NO:8的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列，以及分别为SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列；或

i. 分别为SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:20和SEQ ID NO:8的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列，以及分别为SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:14和SEQ ID NO:11的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列。

12. 权利要求1至10中任一项的抗体-药物缀合物，其中所述抗体或其片段A包含：

a. 分别为SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2和SEQ ID NO:3的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列，以及分别为SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列；

b. 分别为SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列，以及分别为SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10和SEQ ID NO:11的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列；或

c. 分别为SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:2和SEQ ID NO:3的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列，以及分别为SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14和SEQ ID NO:11的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列，

优选地，其中所述抗体或其片段A包含：

a. SEQ ID NO:27的VH序列和SEQ ID NO:28的VL序列；

b. SEQ ID NO:29的VH序列和SEQ ID NO:30的VL序列；或

SEQ ID NO:31的VH序列和SEQ ID NO:32的VL序列。

13. 权利要求1至11中任一项的抗体-药物缀合物，其中所述抗体或其片段A包含：

a. SEQ ID NO:33的VH序列和SEQ ID NO:38的VL序列；

b. SEQ ID NO:34的VH序列和SEQ ID NO:38的VL序列；

c. SEQ ID NO:34的VH序列和SEQ ID NO:39的VL序列；

d. SEQ ID NO:34的VH序列和SEQ ID NO:40的VL序列；

e. SEQ ID NO:35的VH序列和SEQ ID NO:38的VL序列；

f. SEQ ID NO:36的VH序列和SEQ ID NO:41的VL序列；

g. SEQ ID NO:36的VH序列和SEQ ID NO:40的VL序列；

h. SEQ ID NO:37的VH序列和SEQ ID NO:41的VL序列；

i. SEQ ID NO:37的VH序列和SEQ ID NO:38的VL序列；或

j. SEQ ID NO:37的VH序列和SEQ ID NO:39的VL序列；

优选地，其中所述抗体或其片段A包含：

a. SEQ ID NO:46的重链序列和SEQ ID NO:51的轻链序列；

b. SEQ ID NO:47的重链序列和SEQ ID NO:51的轻链序列；

c. SEQ ID NO:47的重链序列和SEQ ID NO:52的轻链序列；

- d. SEQ ID NO:47的重链序列和SEQ ID NO:53的轻链序列;
 - e. SEQ ID NO:48的重链序列和SEQ ID NO:51的轻链序列;
 - f. SEQ ID NO:47的重链序列和SEQ ID NO:54的轻链序列;
 - g. SEQ ID NO:49的重链序列和SEQ ID NO:53的轻链序列;
 - h. SEQ ID NO:50的重链序列和SEQ ID NO:54的轻链序列;
 - i. SEQ ID NO:50的重链序列和SEQ ID NO:51的轻链序列;或
 - j. SEQ ID NO:50的重链序列和SEQ ID NO:52的轻链序列;
- 或其具有工程化Fc域的版本。

14. 产生权利要求1至19中任一项的抗体-药物缀合物的方法,其中所述方法包括以下步骤:

- a. 提供抗体或其片段A,所述抗体或其片段A具有寡肽接头元件,优选地,在其C端,任选地,在所述抗体轻链和/或重链处的间隔物元件之前,
- b. 提供具有不可切割的接头元件的一种或多种毒素T,和
- c. 将所述抗体与所述毒素缀合以产生所述抗体-药物缀合物。

15. 抗体-药物缀合物,其由以下组成:

- 由根据SEQ ID NO:46的氨基酸序列的两条重链,和根据SEQ ID NO:51的氨基酸序列的两条轻链组成的抗体,其中所述抗体与CLDN18.2结合,

- 位于所述轻链C端的接头[GGGGS]-[LPQTGG]-[乙二胺],和

- 基于葱环类的小分子毒素3'-去氨基-3'',4'-脱水-[2''(S)-甲氧基-3''(R)-氧基-4''-吗啉基]阿霉素(PNU-159682),其与所述接头的乙二胺在C₁₃处共价连接,导致C₁₄和羟基的损失;或

- 由根据SEQ ID NO:133的氨基酸序列的两条重链,和根据SEQ ID NO:51的氨基酸序列的两条轻链组成的抗体,其中所述抗体与CLDN18.2结合,

- 位于所述轻链C端的接头[GGGGS]-[LPQTGG]-[乙二胺],和

- 基于葱环类的小分子毒素3'-去氨基-3'',4'-脱水-[2''(S)-甲氧基-3''(R)-氧基-4''-吗啉基]阿霉素(PNU-159682),其与所述接头的乙二胺在C₁₃处共价连接,导致C₁₄和羟基的损失;或

- 由根据SEQ ID NO:134的氨基酸序列的两条重链,和根据SEQ ID NO:51的氨基酸序列的两条轻链组成的抗体,其中所述抗体与CLDN18.2结合,

- 位于所述轻链C端的接头[GGGGS]-[LPQXTGG]-[乙二胺],和

- 基于葱环类的小分子毒素3'-去氨基-3'',4'-脱水-[2''(S)-甲氧基-3''(R)-氧基-4''-吗啉基]阿霉素(PNU-159682),其与所述接头的乙二胺在C₁₃处共价连接,导致C₁₄和羟基的损失。

16. 药物组合物,其包含权利要求1至15中任一项的抗体-药物缀合物和赋形剂。

17. 权利要求1至15中任一项的抗体-药物缀合物,其用于治疗。

18. 权利要求1至15中任一项的抗体-药物缀合物,其用于治疗癌症,优选地,其中所述癌症选自胰腺癌、胃癌、食管癌、卵巢癌和肺癌。

肿瘤特异性密蛋白18.2抗体-药物缀合物

[0001] 发明背景

[0002] 紧密接合是连接相邻的上皮或内皮细胞以形成屏障,阻止分子在细胞之间通过,并有助于维持细胞和组织的极性的多蛋白复合物。紧密连接由三大组跨膜蛋白组成:密蛋白和闭合蛋白、细胞质斑块蛋白和带蛋白。它们还含有细胞骨架蛋白和信号传导蛋白,例如肌动蛋白、肌球蛋白II和PKC ζ 。这些蛋白质相互作用以维持紧密连接结构(Yu和Turner 2008)。

[0003] 密蛋白形成23种蛋白质的家族(Hewitt, Agarwal和Morin 2006)。密蛋白18是由CLDN18基因编码的人类蛋白质,可在上皮细胞中形成紧密连接股。人CLDN18可以在两个可变第一外显子的情况下可变剪接,产生两种蛋白质同等型(isoform)CLDN18.1(或密蛋白18.1)和CLDN18.2(或密蛋白18.2)。CLDN18.2在W02000/015659中首次公开为Zsig28蛋白。这两种同等型的不同之处在于涵盖第一细胞外环的N端69个氨基酸。第一胞外域的跨度从氨基酸28到氨基酸80。在此范围内,CLDN18.1和CLDN18.2之间存在8个氨基酸差异。这两种不同的同等型在不同的组织中表达,CLDN18.1主要在肺组织中表达,而CLDN18.2显示出胃特异性(Niimi等人2001)。CLDN18.2在正常胃中的表达限于胃上皮的分化的短寿命细胞。CLDN18.2的表达已在各种肿瘤组织中得到进一步鉴定。例如,已发现CLDN18.2在胰腺、食管、卵巢和肺部的肿瘤中表达,与不同的组织学亚型相关(Sahin等人2008)。人CLDN18.2蛋白的氨基酸序列具有NCBI参考序列:NP_001002026.1。该序列也可以衍生自SEQ ID NO: 135。

[0004] 鉴于CLDN18.2在正常组织中的受限表达模式以及其在人类癌症中的异位表达,其是上皮肿瘤抗体治疗的有吸引力的癌症靶标。已经对这种抗体疗法进行了许多研究。W02004/047863鉴定了CLDN18的剪接变体并筛选了针对衍生自CLDN18.2的不同肽的抗体:肽DQWSTQDLYN(SEQ ID NO:57),CLDN18.2的N端胞外,与糖基化无关;肽NNPVTAVFNYQ(SEQ ID NO:58),CLDN18.2的N端胞外,大体上未糖基化;和肽STQDLYNNPVTAVF(SEQ ID NO:59),CLDN18.2的N端胞外域,未糖基化。其还公开了用在CLDN18.1和CLDN18.2同等型共同的C端胞外域中的泛CLDN18肽TNFWMSTANMYTG(SEQ ID NO:60)筛选的多克隆兔抗体。W02005/113587公开了针对由肽序列定义的CLDN18.2特定表位的抗体:ALMIVGIVLGAIGLLV(SEQ ID NO:61)和RIGSMEDSAKANMTLTSGIMFIVS(SEQ ID NO:62)。W02007/059997公开了通过用肽METDTLLLWVLLLWVPGSTGDAAQPARRARRTKLGTGLSTPVWWSADGRMDQWSTQDLYNNPVTAVFNYQGLWRSCVRESSGFTECRGYFTLLGLPAMLQAVRAAIQHSGGRSRRARTKTHLRRGSE(SEQ ID NO:63)免疫获得的CLDN18.2特异性单克隆抗体,包括具有N-端和C-端延伸的CLDN18.2的第一胞外域。通过这种免疫获得的抗体通过补体依赖性细胞毒性(CDC)和抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)介导细胞杀伤。抗体IMAB362,也称为Claudiximab或Zolbetuximab,公开于W02007/059997和W02016/165762。IMAB362是衍生自鼠单克隆抗体的IgG1抗体,并且已经被嵌合以展示人IgG1恒定区供临床使用。W02008/145338还公开了与第一胞外域内的重叠肽(MDQWSTQDLYNNPVT(SEQ ID NO:64)、LYNNPVTAVFNYQGL(SEQ ID NO:65)、VFNYQGLWRSCVRES(SEQ ID NO:66)、QGLWRSCVRESSGFT(SEQ ID NO:67)和RSCVRESSGFTECRG(SEQ ID NO:68))

结合的抗体。为了产生靶向CLDN18.2的C-端部分的抗体以用于检测癌症组织切片的细胞中的CLDN18.2表达的诊断目的,W02013/167259公开了与CLDN18.2的C-端表位结合的抗体。这两个表位的序列是TEDEVQSYPSKHDYV (SEQ ID NO:69) 和EVQSYPSKHDYV (SEQ ID NO:70)。W02013/174509提出了抗CLDN18.2抗体与稳定 $\gamma\delta$ T细胞的药剂或与稳定或增加CLDN18.2表达的药剂的组合。抗体可以与治疗部分如细胞毒素、药物(例如,免疫抑制剂)或放射性同位素缀合。W02014/075788公开了使用结合CLDN18.2和CD3的双特异性抗体治疗癌症疾病的方法。W02014/127906公开了稳定或增加CLDN18.2表达的组合物。W02016/166122公开了抗CLDN18.2单克隆抗体,该抗体可在CLDN18.2结合后高效内化,因此适用于抗体-药物缀合物(ADC)开发。此外,还公开了分别使用可切割的SPDB或缬氨酸-瓜氨酸接头将此类抗体与药物DM4和MMAE缀合。然而,尽管专利申请中公开了所有抗体,但目前只有W02007/059997和W02016/165762中公开的嵌合IMAB362在临床试验中得到测试。除了这些抗体和ADC,W02018/006882还公开了基于抗CLDN18.2单克隆抗体的嵌合抗原受体(CAR)。W02018/006882的抗体已经人源化,其序列在与Jiang等人2018(Jiang等人2018)相关的补充材料部分中公开。基于人源化抗体的CAR T细胞目前正在晚期胃腺癌和胰腺癌患者的I期临床试验(ClinicalTrials.gov标识符:NCT03159819)中进行测试。CN109762067公开了介导通过CDC和ADCC的细胞杀伤的其他抗CLDN18.2单克隆抗体。W02019/173420公开了具有ADCC活性的抗CLDN18.2人源化单克隆抗体。W02019/175617公开了相较于IMAB362结合不同的表位的抗CLDN18.2单克隆抗体。W02019/219089公开了结合CLDN18.2突变体的单克隆抗体。与CLDN18.2结合的其他抗体已在W02019/242505、W02020/038404、W02020/043044、W02020/063988、W02020/082209、W02020/018852、W02020/023679、W02020/135674、W02020/135201、W02020/139956、W02020/025792、W02020160560、CN111808194和W02020200196中公开。

[0005] 已描述CLDN18.2以不同的构象存在并含有潜在的细胞外N-糖基化位点(参见W02007/059997第3页,第一段),这可能导致正常细胞和肿瘤细胞之间潜在不同的拓扑结构/差异糖基化(参见W02007/059997第4页,第二段)。然而,报道的抗体无一优先靶向肿瘤细胞上表达的CLDN18.2。由于CLDN18.2不仅在肿瘤中表达,而且在健康组织即在胃组织中表达(Sahin等人2008),显然有益的是具有仅靶向肿瘤中表达的CLDN18.2的抗体,以避免经常与治疗性抗体对健康器官/组织的中靶作用相关的安全问题和副作用(Hansel等人2010),特别是如针对IMAB362报道(Sahin等人2018;Tureci等人2019)。

[0006] 除了以高亲和力与靶标结合外,治疗性抗体还应在开发、生产、储存和临床应用(体内)期间保持其期望特性。翻译后修饰(PTM)可能会损害抗体的稳定性(Lu等人2019;Gervais 2016)。由于不受控制的PTM可能导致抗体的功效、活性、效力或稳定性低于期望,因此在开发治疗性抗体期间设计具有最小可能PTM的抗体非常重要。PTM还可以对生物仿制药的监管接受、技术转让或工艺和开发产生深远的影响。主要的修饰是氧化、脱酰胺和异构化。此外,IMAB362是仍具有延伸的小鼠序列的嵌合抗体,所述小鼠序列可能会导致某些患者产生抗药抗体,其例如在重复应用后可能会导致治疗效果下降。

[0007] 如上所述,IMAB362也已开发为抗体-药物缀合物(ADC)(在W02016/165762中公开),其中抗体已与MMAE或DM4药物缀合。DM4药物经由SPBD(N-琥珀酰亚胺基-3-(2吡啶基二硫代)丁酸酯)与IMAB362偶联,SPBD是一种氨基和巯基反应性异双功能蛋白质交联剂,其经由N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)酯与抗体的伯胺(如在蛋白质的赖氨酸侧链或N端中发现)反应。

缬氨酸-瓜氨酸-MMAE药物与硫醇化的IMAB362偶联。在那种情况下,IMAB362最初用与赖氨酸残基的游离胺反应的异双功能接头2-IT(2-亚胺基噻吩(2-iminothiolane))进行硫醇化。缬氨酸-瓜氨酸是一种可由组织蛋白酶切割的接头。上面列出的与IMAB362相关的所有注意事项也适用于基于相同抗体的ADC。

[0008] 因此,需要改进的对CLDN18.2特异性的抗体和ADC,用于治疗肿瘤患者。

[0009] 定义

[0010] “抗体”,也称为“免疫球蛋白”(Ig),通常包含四条多肽链—两条重(H)链和两条轻(L)链,因此是多聚体蛋白质,或包含其等效的Ig同源物(例如,仅包含重链的骆驼科抗体,单域抗体(sdAb)或纳米抗体,其可以衍生自重链或轻链)。术语“抗体”包括基于抗体的结合蛋白、保留靶标结合能力的修饰抗体形式。术语“抗体”还包括保留Ig分子的基本表位结合特征的全长功能突变体、变体或衍生物(包括但不限于鼠的、嵌合的、人源化的和完全人的抗体),并且包括双重特异性、双特异性、多特异性和双可变域Ig。Ig分子可以是任何类别(例如,IgG、IgE、IgM、IgD、IgA和IgY)或亚类(例如,IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2)和同种异型。Ig分子也可以发生突变,例如增强或降低对Fc γ 受体或新生Fc受体(FcRn)的亲合力。

[0011] 如本文所用,“抗体片段”涉及非全长的并表现出靶标结合的包含衍生自抗体的至少一条多肽链的分子。抗体片段能够与其相应的全长抗体结合相同的表位或靶标。抗体片段包括但不限于单独或任意组合的(i) Fab片段,其是由可变轻(VL)域、可变重(VH)域、恒定轻(CL)域和恒定重1(CH1)域组成的单价片段;(ii) F(ab')₂片段,其是包含两个在铰链区通过二硫键连接的Fab片段的二价片段(F(ab')₂)片段的还原产生具有游离巯基的两个Fab'片段;(iii) Fab(Fa)片段的重链部分,其由VH和CH1域组成;(iv) 可变片段(Fv)片段,其由抗体单臂的VL和VH域组成;(v) 域抗体(dAb)片段,其包含单个可变域;(vi) 分离的互补决定区(CDR);(vii) 单链Fv片段(scFv);(viii) 双抗体,其为二价双特异性抗体,其中VH和VL域在单个多肽链上表达,但使用的接头太短而无法使同一链上的两个域之间配对,从而迫使域与另一条链的互补域配对并产生两个抗原结合位点;(ix) 线性抗体,其包含一对串联的Fv片段(VH-CH1-VH-CH1),与互补轻链多肽一起形成一对抗原结合区;(x) 双重可变域免疫球蛋白;(xi) 免疫球蛋白重链和/或轻链的其他非全长部分,或其突变体、变体或衍生物。

[0012] 如本文所用,“基于抗体的结合蛋白”可代表在其他非免疫球蛋白或非抗体衍生组分的情况下含有至少一个抗体衍生的VH、VL或CH免疫球蛋白域的任何蛋白质。此类基于抗体的蛋白质包括但不限于(i) 结合蛋白的Fc融合蛋白,包括具有全部或部分免疫球蛋白CH域的受体或受体组分,(ii) 结合蛋白,其中VH和/或VL域与替代分子支架偶联,或(iii) 分子,其中免疫球蛋白VH和/或VL和/或CH域以天然存在的抗体或抗体片段中通常找不到的方式组合和/或组装。

[0013] 如本文所用,术语“修饰的抗体形式”涵盖抗体-药物缀合物(ADC)、聚环氧烷修饰的scFv、单抗体、双抗体、骆驼科抗体、域抗体、双特异性或三特异性抗体、IgA、或由J链和分泌组分连接的两种IgG结构、鲨鱼抗体、新大陆灵长类动物框架和非新大陆灵长类动物CDR、去除铰链区的IgG4抗体、具有工程改造进入CH3域中的两个额外结合位点的IgG、具有改变的Fc区以增强或降低对Fc γ 受体的亲和力的抗体、包含CH3、VL和VH的二聚化构建体等。

[0014] Kabat编号方案(Martin和Allemon 2014)已经应用于公开的抗体。

[0015] 术语“抗体-药物缀合物”或“ADC”是指已与毒素(或药物)连接的抗体或抗体片段。在ADC中,毒素通过可切割或不可切割的接头与抗体或抗体片段缀合。可切割的接头可以设计成在肿瘤环境中在细胞外切割,或在胞质溶胶内在细胞内切割。可切割的接头利用可能存在于靶细胞外部或内部的还原力或酶促降解的差别条件。不可切割的接头需要将ADC内化,该抗体-接头组分需要通过用于待释放的毒素的溶酶体蛋白酶降解。该接头与抗体的缀合也可能不同。缀合可以依赖抗体的多肽结构内的赖氨酸和半胱氨酸残基的存在作为缀合点。接头上的反应性基团可以,例如通过酰胺或脒键形成与赖氨酸残基的侧链缀合。经由半胱氨酸残基的缀合需要抗体的部分还原。或者,可以使用位点特异性酶促缀合。这需要与抗体反应并可以诱导位点特异性或氨基酸序列特异性修饰的酶。这些酶识别的肽序列可能必须插入到待缀合的遗传工程化抗体或片段中。已用于此类目的的酶为分选酶、转谷氨酰胺酶、半乳糖基转移酶、唾液酸转移酶和微管蛋白-酪氨酸连接酶。Ponziani et al,2020 (Ponziani et al.2020)中可以找到ADC接头缀合和毒素的综述。Aguiar et al,2018 (Aguiar et al.2018)中可以找到毒素与抗体片段的缀合的综述。用于将毒素与抗体或抗体片段缀合的接头类型和缀合方法可以确定药物对抗体的比率(DAR)。

[0016] 术语“毒素”是指可以基于合成、植物、真菌或细菌分子的细胞毒性剂和/或细胞抑制剂。细胞毒性或细胞抑制意指其抑制细胞生长和/或抑制细胞复制和/或杀死细胞,特别是通常由于其更新增加的恶性细胞。在优选的实施方案中,该毒素选自蒽环类及其衍生物。蒽环类为显示出细胞毒活性的抗生素化合物,且其可以通过不同机制杀死细胞,包括药物分子嵌入细胞的DNA中或DNA断绝活性,从而抑制DNA依赖性核酸合成、由药物生成自由基,该自由基与细胞大分子反应以造成细胞损伤、DNA烷基化和/或药物分子与细胞膜的相互作用。蒽环类包括多柔比星(doxorubicin)、表柔比星(epirubicin)、伊达比星(idarubicin)、道诺霉素(daunomycin)、奈莫柔比星(nemorubicin)及其衍生物。众所周知且优选的蒽环类衍生物为PNU-159682,或简称为PNU,CAS编号202350-68-3。其为奈莫柔比星的高度有力代谢物,具有突出的细胞毒性。据了解,蒽环类衍生物由于与特异性配体缀合而还包括毒素,其中由于使用的缀合化学,该原始毒素的一些原子可能会丢失(Broggini 2008;Quintieri et al.2005)。在一些情况下,术语蒽环类衍生物可以理解为溶酶体降解的结果,其中该接头的片段可以保持与蒽环类分子附接。如本文所用,术语“蒽环类”是指蒽环类和蒽环类衍生物。

[0017] 如本文所用,术语“与CLDN18.2选择性结合”或“与CLDN18.2的选择性结合”是指展现出与CLDN18.2结合,同时展现出不与CLDN18.1(特异性)结合的抗体。因此,与CLDN18.2选择性结合的抗体不展现出与CLDN18.1的交叉反应性。

[0018] 在本说明书和权利要求书中使用术语“包含”时,其不排除其他元素。出于本发明的目的,认为术语“由……组成”是术语“包含……”的优选实施方案。如果在下文中将组限定为包括至少一定数量的实施方案,这也应理解为公开了优选地仅由这些实施方案组成的组。

[0019] 除非另有明确说明,涉及单数名词时使用的不定冠词或定冠词例如“一”、“一个”或“该”,包括该名词的复数形式。

[0020] 技术术语按其常识使用。如果将特定含义传达给某些术语,则将在以下使用该术语的上下文中给出术语的定义。

[0021] 发明详述

[0022] 本发明人惊奇地鉴定出如本文进一步描述的包含抗CLDN18.2抗体和毒素的新型抗体-药物缀合物(ADC),其展现出相较于表达CLDN18.2的健康胃细胞对表达CLDN18.2的肿瘤细胞的结合增加和/或具有改进的稳定性和/或在保留其改进的特性的情况下人源化。

[0023] 本发明提供了基于与CLDN18.2结合的抗体的ADC,其中该抗体或其片段展现出相较于表达CLDN18.2的健康组织对表达CLDN18.2的肿瘤组织的结合增加。在一个实施方案中,用于比较的健康细胞或组织是健康胃细胞或健康胃组织。

[0024] 分别如实施例4和5中所示,本文提供的抗体或其片段对肿瘤组织的结合增加可以通过生物分析方法如流式细胞术(FC)或免疫组织化学(IHC)来显示。可以通过将表达CLDN18.2的A549细胞皮下注射到Balb/c小鼠中来生成表达CLDN18.2的肿瘤。表达CLDN18.2的A549细胞可以如实施例4中所示生成,并且可以在2019年12月6日保藏在DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH Inhoffenstr.7B 38124Braunschweig DE的登录号DSM ACC3360下获得。健康组织(例如健康胃组织)也可以来源于携带肿瘤的小鼠。因此可以在肿瘤组织和从同一动物获得的健康组织上显示相较于健康组织对肿瘤组织的结合增加。

[0025] 相较于在健康组织中表达的CLDN18.2,对在肿瘤组织中表达的CLDN18.2的结合增加可能是由于翻译后修饰,如CLDN18.2的差异糖基化或CLDN18.2的错误折叠。

[0026] 流式细胞术(FC)可以用作测试抗体结合的生物分析方法。CLDN18.2阳性细胞的百分比可以例如通过特异性抗CLDN18.2抗体的FC测量。另一种可能的结合读数可以例如是肿瘤细胞样品中CLDN18.2阳性细胞的百分比相对于从健康组织(如健康胃组织)获得的细胞样品中CLDN18.2阳性细胞的百分比的比率。与健康细胞(如健康胃细胞)相比,抗体对由表达CLDN18.2的A549细胞生成的表达CLDN18.2的肿瘤细胞的结合增加,可以通过>2、>5、≥10、优选地≥15、以及更优选地≥20的比率显示。

[0027] 与健康细胞(如健康胃细胞)相比,抗体对由表达CLDN18.2的A549细胞生成的表达CLDN18.2的肿瘤细胞的结合增加,也可以通过显示相较于健康细胞(如健康胃细胞),抗体结合至少2倍更多、至少5倍更多、至少10倍更多、优选地至少15倍更多、优选地至少20倍更多的肿瘤细胞来描述。

[0028] 免疫组织化学(IHC)可用作测试抗体结合的生物分析方法。优选地,用于IHC的组织样品应在切除后速冻,一旦解冻,就如例如实施例5所示固定在丙酮中。由于CLDN18.2是健康组织中的紧密连接蛋白,因此阳性CLDN18.2染色应导致在健康组织和/或肿瘤组织中的细胞-细胞界面处膜染色占主导的显现。因此,阴性CLDN18.2染色或弱染色应导致膜染色的缺乏。

[0029] 在另一个实施方案中,当通过对过表达CLDN18.2的HEK293T细胞的流式细胞术(FC)滴定进行测量时,抗体或其片段以高于0.4μg/ml、高于0.5μg/ml、优选地高于0.6μg/ml、但不高于1μg/ml的半数最大有效浓度(EC50)值与CLDN18.2结合。可以如实施例3中所述生成过表达CLDN18.2的HEK293T细胞。当通过对过表达CLDN18.2的HEK293T细胞的流式细胞术(FC)滴定进行测量时,抗体的EC50值可以是0.4至1μg/ml、0.5至1μg/ml或优选地0.6至1μg/ml。

[0030] 或者,当通过对过表达CLDN18.2的HEK293T细胞的流式细胞术进行测量时,抗体的

EC50值可以与IMAB362的EC50值进行比较,其中抗体的EC50值比IMAB362的EC50值至少高1.1倍、至少高1.2倍、优选地至少高1.5倍、更优选地至少高2倍、甚至更优选地至少高2.5倍,但比IMAB362的EC50值高不超过5倍。当通过对过表达CLDN18.2的HEK293T细胞的流式细胞术测量时,抗体的EC50值可以比IMAB362的EC50值高1.1倍至高2.5倍、高1.2倍至高2.5倍、优选地高1.5倍至高2.5倍、或更优选地高2倍至高2.5倍。

[0031] 在另一个实施方案中,当通过对PA-TU-8988S-High细胞的流式细胞术滴定进行测量时,抗体或其片段以高于0.6 μ g/ml、高于1 μ g/ml、优选地高于1.5 μ g/ml、更优选地高于2 μ g/ml但不高于3 μ g/ml的EC50值结合CLDN18.2。可以如实施例2中所述生成PA-TU-8988S-High细胞。当通过对PA-TU-8988S-High细胞的流式细胞术滴定进行测量时,抗体的EC50值可以是0.6至3 μ g/ml、1至3 μ g/ml、优选地1.5至3 μ g/ml、或更优选地2至3 μ g/ml。

[0032] 或者,当通过对PA-TU-8988S-High细胞的流式细胞术进行测量时,抗体的EC50值可以与IMAB362的EC50值进行比较,其中抗体的EC50值比IMAB362的EC50值至少高1.5倍、至少高2倍、优选地至少高3倍、更优选至少高4倍,但高不超过5倍。当通过流式细胞术对PA-TU-8988S-High细胞进行测量时,抗体的EC50值可以比IMAB362的EC50值高1.5倍至高5倍、高2倍至高5倍、高3倍至高5倍、或高4倍至高5倍。

[0033] 在另一个实施方案中,当通过对过表达CLDN18.2的HEK293T细胞的流式细胞术进行测量时,抗体或其片段以IMAB362的maxMFI值的 $\pm 40\%$ 内的maxMFI值结合CLDN18.2。当通过对PA-TU-8988S-High细胞的流式细胞术进行测量时,抗体或其片段还可以等于IMAB362的maxMFI值或比IMAB362的maxMFI值高至多2倍的maxMFI值结合CLDN18.2。

[0034] 相较于表达CLDN18.2的健康组织对表达CLDN18.2的肿瘤组织的结合增加的抗体或其功能片段可以相较于不能区分表达CLDN18.2的健康组织与表达CLDN18.2的肿瘤组织的抗体具有治疗优势。肿瘤特异性抗体可以不导致通常与治疗性抗体在健康器官/组织中的中靶作用有关的安全问题和副作用(Hansel等人2010)。例如对于IMAB362,已经报道了这种不想要的效应(Sahin等人2018;Tureci等人2019)。

[0035] 本发明还提供了包含与CLDN18.2结合的抗体或其片段的ADC,其包含分别为SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22和SEQ ID NO:23的重链互补决定区(HCDR)HCDR1、HCDR2和HCDR3序列以及分别为SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25和SEQ ID NO:26的轻链CDR LCDR1、LCDR2和LCDR3序列,和毒素。在一个实施方案中,该毒素为葱环类。

[0036] 在另一个实施方案中,本发明人已对上述的基于新型抗CLDN18.2抗体的新型ADC进行工程化改造,相比于基于IMAB362的类似ADC,其令人意外地展现出更好的对肿瘤细胞的细胞毒活性。

[0037] 本发明的ADC具有通式A-(LT)_n,其中

[0038] a.A为与CLDN18.2结合的抗体或其片段,其包含分别为SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22和SEQ ID NO:23的重链互补决定区(CDR)HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25和SEQ ID NO:26的轻链CDR LCDR1、LCDR2和LCDR3序列,

[0039] b.L为接头,且

[0040] c.T为毒素,

[0041] 其中该毒素为葱环类。

[0042] 在一个实施方案中,n为 ≥ 1 和 ≤ 10 的整数。本发明也涉及该ADC的药学上可接受的

盐或酯。

[0043] 本发明还提供了包含与CLDN18.2结合的抗体的ADC,该抗体包含SEQ ID NO:23的重链HCDR3序列和SEQ ID NO:26的轻链LCDR3序列。

[0044] 相应的共有序列可以在表1中找到。应当理解,包含基于衍生自共有序列的CDR的任意组合并结合CLDN18.2的抗体或其片段的任何ADC是本发明的一部分。

[0045] 表1:分离的抗体CDR共有序列

[0046]

CDRs	序列	SEQ ID
HCDR1	DYAMX 第 5 位的 X 是 H 或 Y	SEQ ID NO: 21
HCDR2	WINXYTGKPTYXXXFXG 第 4 位的 X 是 T 或 A; 第 12 位的 X 是 A 或 S; 第 13 位的 X 是 D 或 Q; 第 14 位的 X 是 D 或 K; 第 16 位的 X 是 K 或 Q	SEQ ID NO: 22
HCDR3	AVXYGYTMDA 第 3 位的 X 是 F 或 Y	SEQ ID NO: 23
LCDR1	RXSEDIYSNXA 第 2 位的 X 是 A 或 T; 第 10 位的 X 是 L 或 F	SEQ ID NO: 24
LCDR2	XXXRLQD	SEQ ID NO: 25

[0047]

	第 1 位的 X 是 S 或 A; 第 2 位的 X 是 V 或 I; 第 3 位的 X 是 K 或 N	
LCDR3	LQGSXFPLT 第 5 位的 X 是 K 或 N	SEQ ID NO: 26

[0048] 在一个实施方案中,本发明的ADC的接头L包含至少一种不可切割的接头元件。不可切割的接头元件可以定义为仅经受溶酶体降解、并非特定酶的底物且在血浆和胞质溶胶中稳定的接头元件。

[0049] 该不可切割的接头元件可以选自下组:

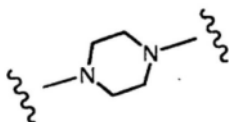
[0050] a. 乙二胺(EDA),

[0051] b. N-甲酰基-N,N'-二甲基乙二胺,

[0052] c. 二乙胺(DEA),

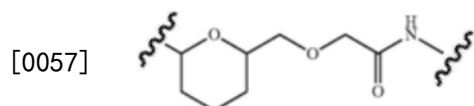
[0053] d. 下式的哌嗪衍生化合物:

[0054]



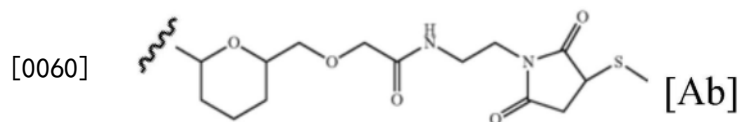
[0055] 其中波浪线表示与毒素和另一接头元件的附接，

[0056] e. 下式的化合物：



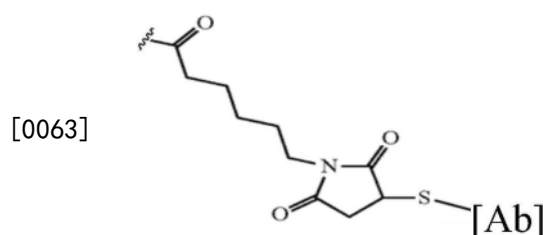
[0058] 其中波浪线表示与毒素和另一接头元件的附接，

[0059] f. 下式的化合物：



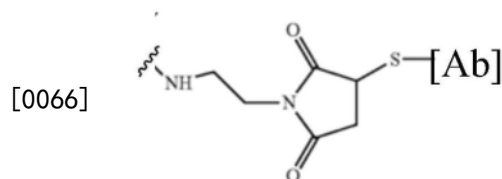
[0061] 其中波浪线表示与毒素的附接且[Ab]表示该抗体或其片段，

[0062] g. 下式的马来酰亚胺基己酰基化合物：



[0064] 其中波浪线表示与另一接头元件的附接且[Ab]表示该抗体或其片段，

[0065] h. 下式的化合物：

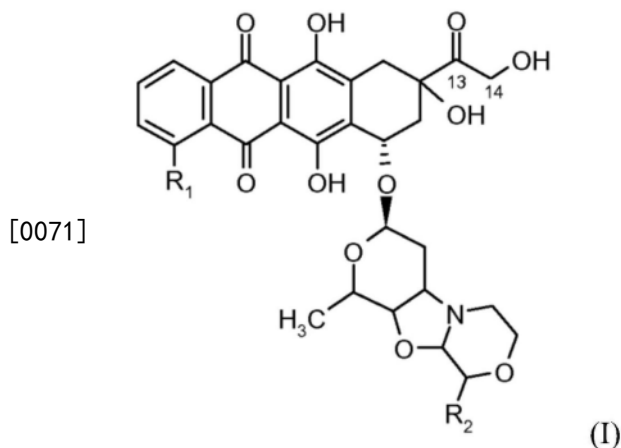


[0067] 其中波浪线表示与毒素的附接且[Ab]表示抗体或其片段，且其中该不可切割的接头元件通过酰胺键或醚键与该毒素缀合。

[0068] 该不可切割的接头元件可以直接共价附接至抗体(并从而形成接头)，或者其可以经由其他接头元件，诸如寡肽接头元件附接。替代地或另外地，可切割的接头元件可以存在于该接头中。

[0069] 该不可切割的接头元件可以经由抗体序列的氨基酸与抗体连接，该氨基酸具有侧链，该侧链带有可用的亲核基团，诸如赖氨酸的 ϵ -NH₂和半胱氨酸的巯基SH基团。马来酰亚胺化学允许与半胱氨酸侧链的联接，而酰化化学通常用于与赖氨酸侧链的联接。关于此类联接的大量信息可以在Jain等人2015(Jain et al. 2015)中找到。不可切割的接头元件与寡肽接头元件的联接可以通过碳二亚胺交联化学进行。此类交联化学的指导可以在Thermo Scientific Crosslinking Technical Handbook(2012) (“Crosslinking Technical Handbook” 2012)中找到。

[0070] 该不可切割的接头元件也可以直接附接至蒽环。在一个实施方案中，该不可切割的接头元件通过与C₁₃的酰胺键或与C₁₄的醚键附接至式I的蒽环类，其中R₁为氢原子、羟基或甲氧基，且R₂为C₁-C₅烷氧基。



[0072] 应理解的是,可使用一种或多种接头元件的组合来形成接头以将抗体与毒素连接,包括酶可切割的接头元件。

[0073] 在另一元件中,该接头进一步包含寡肽接头元件和/或酶可切割的接头元件和/或间隔物元件。

[0074] 该寡肽接头元件被认为是除了形成抗体或其片段的肽链外存在的寡肽。该寡肽接头元件可以直接附接至形成该抗体或其片段的重链和/或轻链的C端。在一个实施方案中,该寡肽接头元件的DNA编码序列可以为编码形成该抗体或其片段的各自重链和/或轻链的DNA的一部分。

[0075] 在另一个实施方案中,该寡肽接头元件可以为用于连接二个或更多个寡肽接头元件的肽连接的结果。连接可以通过肽连接酶,诸如分选酶(即,Sortase A)、天冬酰胺内切蛋白酶(即,Butelase 1)、胰蛋白酶相关酶(即,Trypsiligase)或枯草杆菌蛋白酶(subtilisin)衍生变体(即,Peptiligase)催化(Nuijens et al.2019)。该寡肽接头元件因此可以包括肽连接酶识别基序。

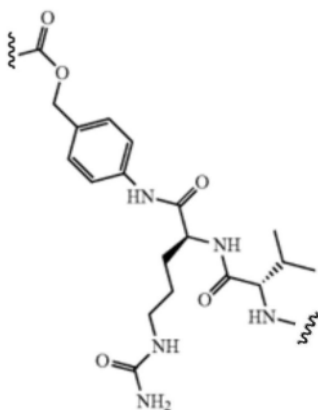
[0076] 在本发明的上下文中,术语间隔物元件应被理解为添加至接头以避免空间位阻并允许毒素与抗体或其片段适当缀合的间隔物。

[0077] 在一个实施方案中,该寡肽接头元件包含选自以下的分选酶识别基序寡肽:-LPXTG_m-、-LPXAG_m-、-LPXSG_m-、-LAXTG_m-、-LPXTG_m-、-LPXTA_m-、-NPQTG_m-或-NPQTN_m-,其中G_m为寡甘氨酸且m为介于≥1和≤21之间的整数,A_m为寡丙氨酸且m为介于≥1和≤21之间的整数,N_m为寡天冬酰胺且m为介于≥1和≤21之间的整数并且X为任何可想到的氨基酸。优选地,m为2或3,尤其是2。在优选的实施方案中,该分选酶识别基序寡肽为-LPQTGG-或-LPETGG-。该分选酶识别基序寡肽可以存在于抗体或其片段的重链和/或轻链的C端,优选地,存在于轻链的C端。

[0078] 在进一步优选的实施方案中,该ADC的寡肽接头元件包含序列SEQ ID NO:131。在一个实施方案中,序列SEQ ID NO:131位于抗体重链的C端,且在另一个优选的实施方案中位于抗体轻链的C端。

[0079] 在另一个实施方案中,该酶可切割的接头元件存在于接头中。该酶可切割的接头元件可以包含根据下式的化合物的val-cit-PAB接头:

[0080]



[0081] 其中波浪线表示与其他接头元件或抗体或毒素的附接。该酶可切割的接头元件可以通过已知交联剂化学附接至另一接头元件或抗体或毒素，如上针对不可切割的接头元件所述。

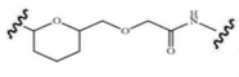
[0082] 在又一个实施方案中，该接头进一步包含间隔物元件。在一个实施方案中，该间隔物元件包括肽类柔性寡肽。当连接的组分需要某种程度的移动或相互作用时，可以应用柔性接头元件。柔性寡肽通常由小的非极性（例如G）或极性（例如S或T）氨基酸构成。这些氨基酸的小尺寸提供柔性并允许该连接的功能组分移动。S或T的掺入可以通过与水分子形成氢键来维持该接头在水溶液中的稳定性，从而减少接头与蛋白质部分之间的不利相互作用。对肽类柔性寡肽的进一步指导可以在Chen et al, 2013 (Chen, Zaro, and Shen 2013) 中找到。

[0083] 优选地，该间隔物元件包含由G和S组成的肽类柔性寡肽，更优选地，该肽类柔性寡肽为(GGGGS)_o，其中o为1、2、3、4或5。

[0084] 本发明还提供具以下结构的ADC：

[0085] a. A-([寡肽接头元件-不可切割的接头元件]-T)_n且优选地，其中该接头选自：

[0086] i. [LPXTGG]-[乙二胺]，和

[0087] ii. [LPXTGG]-[];

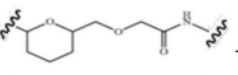
[0088] b. A-([寡肽接头元件-酶可切割的接头元件-不可切割的接头元件]-T)_n且优选地，其中该接头选自：

[0089] i. [LPXTGG]-[vc-PAB]-[N-甲酰基-N,N'-二甲基乙二胺]，和

[0090] ii. [LPXTGG]-[vc-PAB]-[哌嗪]；

[0091] c. A-([间隔物元件-寡肽接头元件-不可切割的接头元件]-T)_n且优选地，其中该接头选自：

[0092] i. [GGGGS]-[LPXTGG]-[乙二胺]，和

[0093] ii. [GGGGS]-[LPXTGG]-[]; 或

[0094] d. A-([间隔物元件-寡肽接头元件-酶可切割的接头元件-不可切割的接头元件]-T)_n且优选地，其中该接头选自：

[0095] i. [GGGGS]-[LPXTGG]-[vc-PAB]-[N-甲酰基-N,N'-二甲基乙二胺]，和

[0096] ii. [GGGGS]-[LPXTGG]-[vc-PAB]-[哌嗪]。

[0097] 其中A为与CLDN18.2结合的抗体或其片段,其包含分别为SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22和SEQ ID NO:23的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25和SEQ ID NO:26的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列,且T为蒽环类。

[0098] 在一个实施方案中, $n \geq 1$ 且 ≤ 10 的整数。本发明还涉及ADC的药学上可接受的盐或酯。

[0099] 据理解,该毒素可以经由接头与抗体重链和/或轻链的C端,或在抗体片段的C端缀合。

[0100] 在优选的实施方案中,该不可切割的接头元件为乙二胺且该寡肽接头元件为LPXTGG,其中X为Q或E,优选地,其中X为Q。

[0101] 在一个实施方案中,

[0102] a. (L-T)与该抗体的两条轻链共价连接,

[0103] b. (L-T)与该抗体的两条重链共价连接,或

[0104] c. (L-T)与该抗体的两条轻链和两条重链共价连接。

[0105] 在一个实施方案中,(L-T)

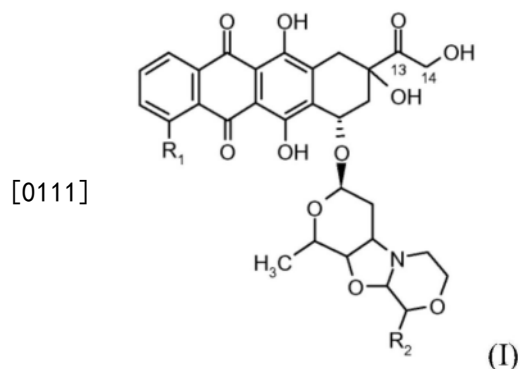
[0106] a. 与抗体轻链或抗体重链的C端连接,或

[0107] b. 与抗体轻链或抗体重链的氨基酸侧链连接。

[0108] 在毒素与抗体轻链或抗体重链的C端连接的情况下,当抗体以此类C端标签重组表达时,寡肽接头元件和任选的间隔物元件可以为该抗体氨基酸序列的一部分。在毒素与抗体氨基酸序列的氨基酸侧链连接的情况下,根据所选择的氨基酸侧链,该接头元件可以通过马来酰亚胺化学或酰化化学连接。

[0109] 令人惊讶地,与基于IMAB362的类似ADC相比,本发明的ADC对表达CLDN18.2的细胞具有较高的细胞毒活性,表明新鉴定的抗体在ADC的背景下也优于现有技术的抗体,本发明的ADC中的毒素经由仅在HC的寡肽接头元件-不可切割的酶接头元件、经由仅在LC的间隔物元件-寡肽接头元件-不可切割的酶接头元件,或在HC和LC的此类接头-毒素组合缀合(参见图11至19,以及实施例8)。与先前W02016/165762中公开的基于IMAB362并经由MC-vc-PAB接头与MMAE缀合的ADC相比,本发明的ADC还具有更较高的细胞毒活性(参见图11)。

[0110] 在一个实施方案中,该蒽环类具有下列式(I):



[0112] 其中 R_1 为氢原子、羟基或甲氧基,且其中 R_2 为 C_1 - C_5 烷氧基。在一个实施方案中,该蒽环类经由 C_{13} 附接至接头,导致 C_{14} 和羟基的损失或经由 C_{14} 附接至接头,导致羟基的损失。

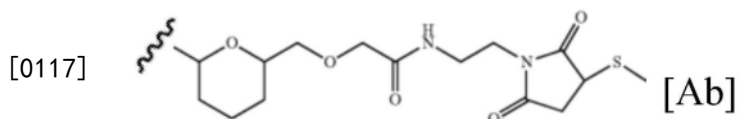
[0113] 据理解,将毒素与抗体连接(经由 C_{13} 或 C_{14})将不会影响该毒素的细胞毒活性。

[0114] 关于PNU-159682的合成及其在ADC中用作毒素的更多信息可以在Holte D等人

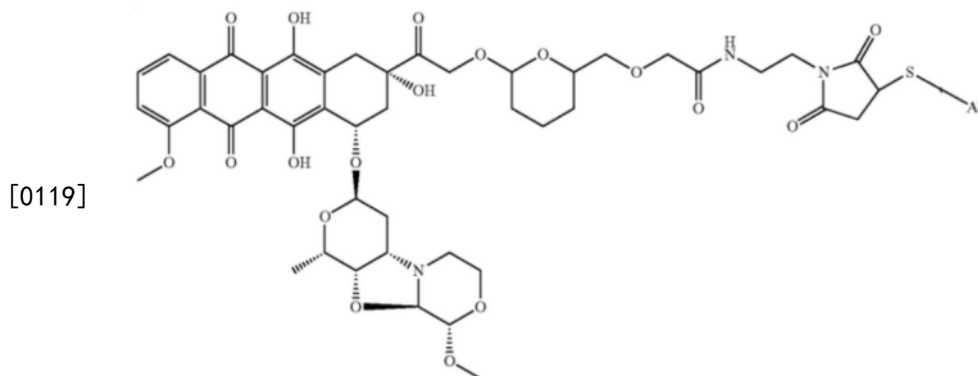
2020(Holte et al.2020)中找到。

[0115] PNU-159682可以通过如下所示的不可切割或酶可切割的接头与抗体连接。

[0116] 该接头可以为马来酰亚胺缩醛接头：

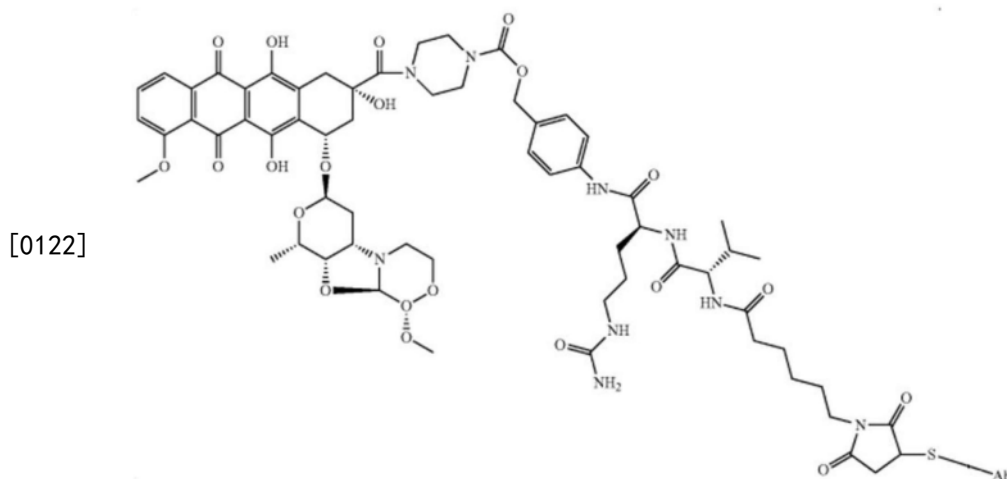


[0118] 此类接头用于以下所示的PNU-159682-马来酰亚胺缩醛-Ab ADC中：



[0120] 此类PNU-159682马来酰亚胺缩醛-Ab ADC已在US 10,435,471第90栏中公开。PNU-159682马来酰亚胺缩醛化合物已在W02010/009124中作为化合物51公开并且可以如实施例3d中所公开(第[0576]至[0578]段),基于同一申请的实施例2(第[0542]至[0550]段)中制备的化合物制备。

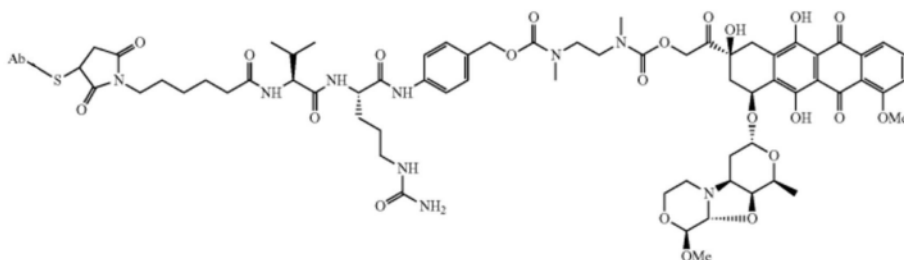
[0121] PNU-159682也可以通过val-cit-PAB酶可切割的接头与抗体连接以形成PNU-159682-val-cit-PAB-Ab ADC,如下所示：



[0123] 此类ADC已公开于US 10,435,471,第91至92栏中。PNU-159682-val-cit-PAB化合物已于W02010/009124中作为化合物55公开,且可以如同同一申请的实施例3b(第[0567]-[0573]段和图7d)中所示制备。

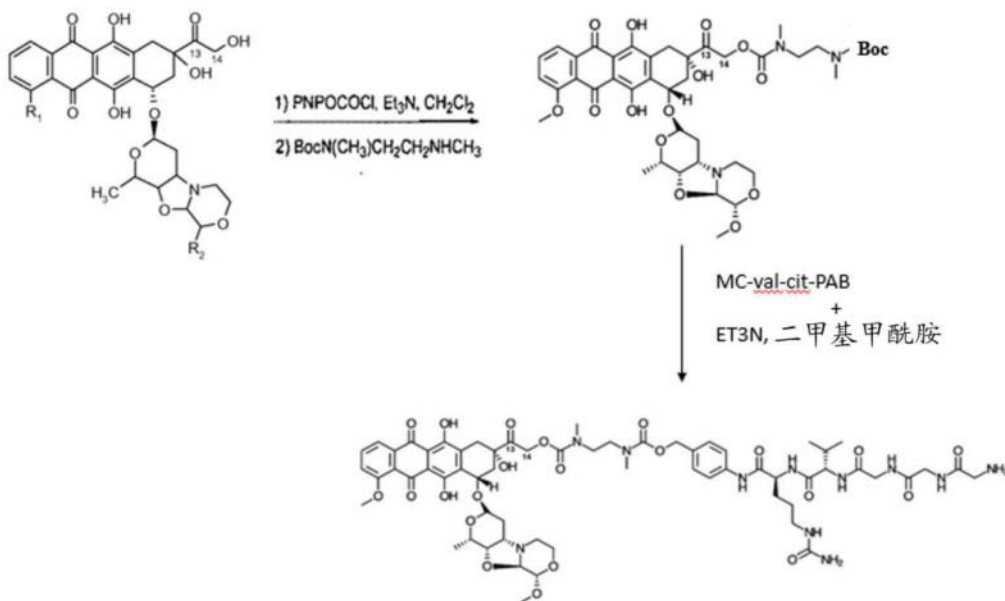
[0124] PNU-159682也可以经由酶可切割的接头val-cit-PAB和另外的不可切割的接头元件与抗体连接,如下所示：

[0125]



[0126] 此类ADC已公开于US 10,435,471,第91至92栏和Yu SF et Clin Cancer Research 2015(Yu et al.2015)中。PNU-159682-val-cit-PAB+不可切割的接头化合物可如下所示制备:

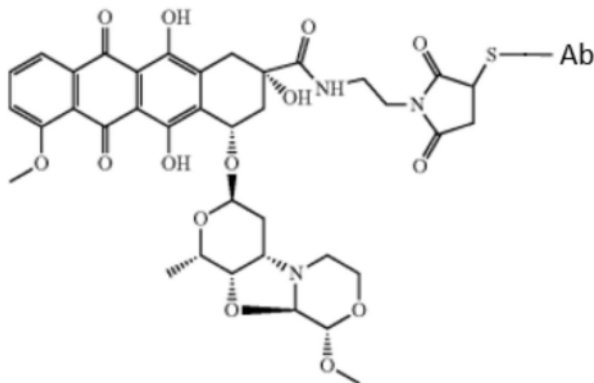
[0127]



[0128] 其中MC-val-cit-PAB是市售的 (MedChemExpre目录号:HY-78738),且Boc为叔丁氧羰基保护基。

[0129] PNU-159682也可以经由不可切割的马来酰亚胺接头与抗体连接,如下所示:

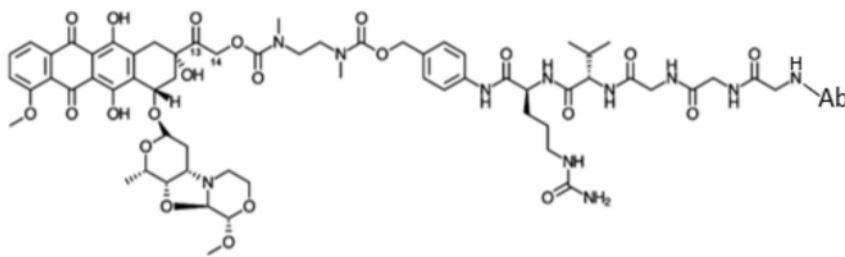
[0130]



[0131] 此类ADC已公开于US 10,435,471,第93栏中。PNU-159682-马来酰亚胺化合物于W02010/009124中作为化合物55公开并且其制备公开于实施例3a中(同一申请的第[0564]至[0566]段)。

[0132] 还已使用不可切割、酶可切割和寡肽接头元件的组合来将PNU-159682与抗体连接。此类ADC如下所示:

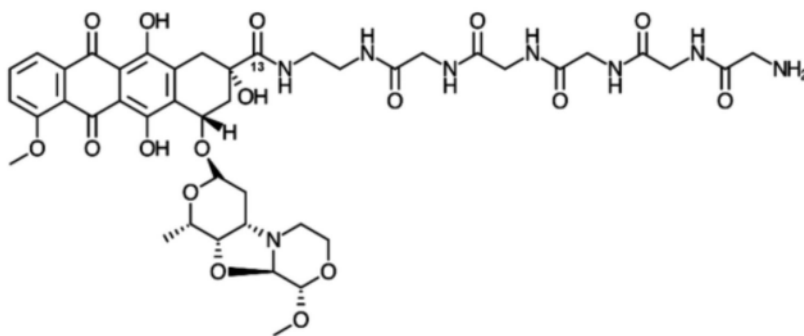
[0133]



[0134] 此类化合物公开于Stefan等人(Stefan et al.2017)中。此类ADC可以如上文关于PNU-159682-val-cit-PAB+不可切割的接头ADC所公开来合成,但使用Fmoc-Gly3-Val-Cit-PAB取代MC-Val-Cit-PAB(可从MedChemExpress商购,目录编号:HY-136106),并且所产生的接头-毒素化合物可以如W02016/102679,第34页,第2段中所公开与抗体缀合。

[0135] PNU-159682也可以经由与寡肽接头元件(-GGGGG-)组合的不可切割的EDA接头元件与抗体连接,如下所示:

[0136]



[0137] 此类化合物公开于W02016/102679,图3A中。其可以如W02016/102679的图3B和第33页最后一段至第34页第1段的方案中所公开的制备,且所产生的接头-毒素化合物可以如W02016/102679第34页第2段中所公开与抗体结合。上文中使用的寡聚肽接头元件也可以为(-GGG-),或优选为(-GG-)。

[0138] 抗体结合或结合亲和力通常用平衡结合或解离常数(分别为 K_a 或 K_d)表示,它们又是解离和结合速率常数(分别为 k_{off} 和 k_{on})的倒数比。因此,只要速率常数的比率保持不变,等效的亲和力可对应于不同的速率常数。结合亲和力和/或速率常数可以使用本领域熟知的或本文描述的技术来确定,如ELISA、流式细胞术滴定、等温滴定量热法(ITC)、Biacore (SPR)、生物层干涉量度法(biolayer interferometry)或荧光偏振。在一些情况下,由于抗原的性质,抗体的 K_a 或 K_d 可能难以测量。对于如膜蛋白的整合膜蛋白而言,尤其如此(Hashimoto等人2018)。在这种情况下,整合膜蛋白可以表达为蛋白脂质体或脂质颗粒。此类脂质颗粒可以固定化在塑料上并用于ELISA测定以确定抗体与固定化抗原的结合亲和力。因此,可以计算每个测试抗体或其功能片段的半数最大有效浓度(EC50)值,代替 K_a 或 K_d 值,反映其与抗原的结合亲和力(或结合强度)。下面的实施例2和图1举例说明了具有包含在表1的共有序列中的CDR的抗体的ELISA测定结合亲和力曲线。EC50值和最大结合值可用于定量抗体与CLDN18.2的结合。下面的实施例3涉及通过对表达CLDN18.2的细胞的流式细胞术,计算具有包含在表1的共有序列中的CDR的抗体的EC50值。

[0139] ADC的细胞毒活性可以通过从ADC细胞毒性测定中检索到的EC50值表征。下文中的实施例8和表9涉及使用表达CLDN18.2的细胞进行的细胞毒性测定来计算本发明的ADC的EC50值。

[0140] 尽管在过表达CLDN18.2的HEK293T细胞系和PA-TU-8988S-High细胞系上测量的所有hC1抗体的抗体结合EC50($\mu\text{g/ml}$)值高于在相同细胞系上测量的参考抗体IMAB362的抗体结合EC50值(参见表4和实施例2)(即,与IMAB362相比,本文提供的hC1抗体以较低的亲和力结合CLDN18.2),本发明人现已令人惊讶地证明在过表达CLDN18.2的HEK293T和A549细胞系和在PA-TU-8988S-High细胞系上测量的本发明的ADC的ADC细胞毒性EC50(ng/ml)值低于在相同细胞系上测量的基于IMAB362的ADC的细胞毒性EC50值(参见表9和实施例8)。这表明与基于IMAB362的ADC相比,本发明的ADC具有更高的细胞毒活性,尽管该抗体比IMAB362具有更低的对靶标的结合亲和力。

[0141] 同样地,本发明的ADC在患者衍生肿瘤异种移植模型中显示出比基于IMAB362的ADC更高的体内功效(参见实施例9)。

[0142] 在一个实施方案中,抗体或其片段与CLDN18.2结合,并包含分别为SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:1266和SEQ ID NO:23的重链CDR HCDR1、HCDR2和HCDR3序列以及分别为SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25和SEQ ID NO:26的轻链CDR LCDR1、LCDR2和LCDR3序列。

[0143] 在一个实施方案中,抗体或其片段与CLDN18.2结合,并包含:

[0144] a.分别为SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:15和SEQ ID NO:3的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;

[0145] b.分别为SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:16和SEQ ID NO:3的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;

[0146] c.分别为SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:16和SEQ ID NO:3的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:14和SEQ ID NO:11的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;

[0147] d.分别为SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:16和SEQ ID NO:3的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19和SEQ ID NO:11的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;

[0148] e.分别为SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:15和SEQ ID NO:3的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;

[0149] f.分别为SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:20和SEQ ID NO:3的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;

[0150] g.分别为SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:20和SEQ ID NO:3的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19和SEQ ID NO:11的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;

[0151] h.分别为SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:20和SEQ ID NO:8的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;或

[0152] i.分别为SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:20和SEQ ID NO:8的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:14和SEQ ID NO:11的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列。

[0153] 在另一优选的实施方案中,基于该抗体的ADC相比基于IMAB362的对应ADC具有更高的对表达CLDN18.2的细胞的细胞毒活性,如例如细胞毒活性的EC50值所示。

[0154] 在又一个实施方案中,抗体或其片段与CLDN18.2结合,并包含:

[0155] a.分别为SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2和SEQ ID NO:3的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,及分别为SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;

[0156] b.分别为SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,及分别为SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10和SEQ ID NO:11的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;或

[0157] c.分别为SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:2和SEQ ID NO:3的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,及分别为SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14和SEQ ID NO:11的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列。

[0158] 在又一个实施方案中,抗体或其片段与CLDN18.2结合,并包含:

[0159] a.SEQ ID NO:27的VH序列和SEQ ID NO:28的VL序列;

[0160] b.SEQ ID NO:29的VH序列和SEQ ID NO:30的VL序列;或

[0161] c.SEQ ID NO:31的VH序列和SEQ ID NO:32的VL序列。

[0162] 在另一个实施方案中,抗体或其片段与CLDN18.2结合,并包含:

[0163] a.SEQ ID NO:33的VH序列;

[0164] b.SEQ ID NO:34的VH序列;

[0165] c.SEQ ID NO:35的VH序列;

[0166] d.SEQ ID NO:36的VH序列;或

[0167] e.SEQ ID NO:37的VH序列;

[0168] 和

[0169] f.SEQ ID NO:38的VL序列;

[0170] g.SEQ ID NO:39的VL序列;

[0171] h.SEQ ID NO:40的VL序列;或

[0172] i.SEQ ID NO:41的VL序列。

[0173] 在另一个实施方案中,抗体或其片段与CLDN18.2结合,并包含:

[0174] a.SEQ ID NO:33的VH序列和SEQ ID NO:38的VL序列;

[0175] b.SEQ ID NO:34的VH序列和SEQ ID NO:38的VL序列;

[0176] c.SEQ ID NO:34的VH序列和SEQ ID NO:39的VL序列;

[0177] d.SEQ ID NO:34的VH序列和SEQ ID NO:40的VL序列;

[0178] e.SEQ ID NO:35的VH序列和SEQ ID NO:38的VL序列;

[0179] f.SEQ ID NO:36的VH序列和SEQ ID NO:41的VL序列;

[0180] g.SEQ ID NO:36的VH序列和SEQ ID NO:40的VL序列;

[0181] h.SEQ ID NO:37的VH序列和SEQ ID NO:41的VL序列;

[0182] i.SEQ ID NO:37的VH序列和SEQ ID NO:38的VL序列;或

[0183] j.SEQ ID NO:37的VH序列和SEQ ID NO:39的VL序列。

[0184] 在另一个实施方案中,抗体与CLDN18.2结合,并包含:

[0185] a.SEQ ID NO:46的重链序列和SEQ ID NO:51的轻链序列;

[0186] b.SEQ ID NO:47的重链序列和SEQ ID NO:51的轻链序列;

[0187] c.SEQ ID NO:47的重链序列和SEQ ID NO:52的轻链序列;

[0188] d.SEQ ID NO:47的重链序列和SEQ ID NO:53的轻链序列;

[0189] e.SEQ ID NO:48的重链序列和SEQ ID NO:51的轻链序列;

[0190] f.SEQ ID NO:47的重链序列和SEQ ID NO:54的轻链序列;

[0191] g.SEQ ID NO:49的重链序列和SEQ ID NO:53的轻链序列;

[0192] h.SEQ ID NO:50的重链序列和SEQ ID NO:54的轻链序列;

[0193] i.SEQ ID NO:50的重链序列和SEQ ID NO:51的轻链序列;或

[0194] j.SEQ ID NO:50的重链序列和SEQ ID NO:52的轻链序列。

[0195] 所公开的抗体的恒定轻链区CL和恒定重链区CH1和Fc区可以分别具有SEQ ID NO: 127和SEQ ID NO:128的氨基酸序列。

[0196] 与具有仅与轻链缀合的蕈环类衍生物的IMAB362相比,具有仅与轻链缀合的蕈环类的本发明的ADC具有较高的对表达CLDN18.2的细胞的细胞毒活性(参见图11至19)。具有与重链和轻链、或仅与重链、或仅与轻链缀合的蕈环类的本发明的ADC也比先前公开于W02016/165762中的IMAB362-MC-vc-PAB-MMAE具有更高的细胞毒活性(参见图11)。

[0197] 本发明人也表明与基于IMAB362的相同ADC相比,本发明的ADC具有更高的对患者衍生胃肿瘤异种移植模型、结肠肿瘤异种移植模型、胰腺肿瘤异种移植模型和肺肿瘤异种移植模型的体内细胞毒活性(分别参见图21至24,以及实施例9)。在优选的实施方案中,该抗体与CLDN18.2结合并包含SEQ ID NO:46的重链序列和SEQ ID NO:51的轻链序列。

[0198] 在进一步优选的实施方案中,抗体与CLDN18.2结合,并由SEQ ID NO:46的重链序列和SEQ ID NO:51的轻链序列组成。

[0199] 抗体可以具有与本发明抗体的氨基酸序列有至少80%同一性、至少85%同一性、至少90%同一性、至少95%同一性或至少98%同一性的氨基酸序列,相较于表达CLDN18.2的健康胃细胞,其表现出对表达CLDN18.2的肿瘤细胞的结合增加。

[0200] 在一个实施方案中,抗体与CLDN18.2结合,并具有与包含以下的抗体有至少80%同一性、至少85%同一性、至少90%同一性、至少95%同一性或至少98%同一性的氨基酸序列:

[0201] a. SEQ ID NO:27的VH序列和SEQ ID NO:28的VL序列;

[0202] b. SEQ ID NO:29的VH序列和SEQ ID NO:30的VL序列;

[0203] c. SEQ ID NO:31的VH序列和SEQ ID NO:32的VL序列。

[0204] 在进一步的实施方案中,抗体与CLDN18.2结合,并具有与包含以下的抗体有至少80%同一性、至少85%同一性、至少90%同一性、至少95%同一性或至少98%同一性的氨基酸序列:

[0205] a. SEQ ID NO:33的VH序列和SEQ ID NO:38的VL序列;

[0206] b. SEQ ID NO:34的VH序列和SEQ ID NO:38的VL序列;

[0207] c. SEQ ID NO:34的VH序列和SEQ ID NO:39的VL序列;

[0208] d. SEQ ID NO:34的VH序列和SEQ ID NO:40的VL序列;

[0209] e. SEQ ID NO:35的VH序列和SEQ ID NO:38的VL序列;

[0210] f. SEQ ID NO:36的VH序列和SEQ ID NO:41的VL序列;

[0211] g. SEQ ID NO:36的VH序列和SEQ ID NO:40的VL序列;

[0212] h. SEQ ID NO:37的VH序列和SEQ ID NO:41的VL序列;

[0213] i. SEQ ID NO:37的VH序列和SEQ ID NO:38的VL序列;或

[0214] j. SEQ ID NO:37的VH序列和SEQ ID NO:39的VL序列。

[0215] 在又一个实施方案中,抗体与CLDN18.2结合,并具有与由SEQ ID NO:46的重链序列和SEQ ID NO:51的轻链序列组成的抗体有至少80%同一性、至少85%同一性、至少90%同一性、至少95%同一性或至少98%同一性的氨基酸序列。

[0216] 在另一个实施方案中,抗体(或存在的抗体片段)的Fc域可以包含修饰或突变,如下表2中列出的修饰或突变。可以引入此类修饰或突变来调节抗体的Fc域的效应器活性。抗

体的修饰还可以包括添加到抗体HC链和/或LC链的C端的肽标签。此类标签可以用于例如蛋白质纯化或蛋白质缀合。在另一个实施方案中,与CLDN18.2结合的抗体或其片段是IgA1、IgA2、IgD、IgE、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、合成IgG、IgM、F(ab)₂、Fv、scFv、IgGACH2、F(ab')₂、scFvCH3、Fab、VL、VH、scFv4、scFv3、scFv2、dsFv、Fv、scFv-Fc、(scFv)₂、非消耗性(non-depleting)IgG、双抗体、二价抗体或其Fc工程化版本。在优选的实施方案中,抗体是IgG1类型的抗体。免疫球蛋白的Fc区与多种Fc γ 受体(Fc γ R)和补体蛋白(例如,C1q)相互作用,并介导免疫效应器功能,如通过抗体依赖性细胞毒性(ADCC)、抗体依赖性细胞吞噬作用(ADCP)或补体依赖性细胞毒性(CDC)消除靶细胞。对于治疗方法,增强或沉默相关效应器功能可能是有益的。免疫球蛋白的类型(IgA、IgD、IgE、IgG、IgM)可以根据与Fc域相关的抗体的期望效应器功能来选择。也可以使用合成免疫球蛋白,如具有IgG2氨基酸118至260和IgG4氨基酸261至447的免疫球蛋白或具有来自IgG4的点突变(例如,H268Q/V309L/A30S/P331S)的IgG2变体。此类合成免疫球蛋白降低了抗体的效应器功能。Fc工程化免疫球蛋白也可以用于调节抗体效应器功能。表2显示了此类Fc工程化的实例。在具有改变的岩藻糖基化的生产细胞系中的表达也可以影响Fc γ R结合。

[0217] 表2:调节抗体效应器功能的修饰的实例。除非另有说明,否则突变位于IgG1亚类上(Wang,Mathieu和Brezski 2018)。

[0218]

工程化改造和预期功能	突变	参考文献
增强 ADCC		
增加的 FcγRIIIa 结合	F243L/R292P/Y300L/V305I/P396L S239D/I332E S298A/E333A/K334A 在一条重链中: L234Y/L235Q/G236W/S239M/H268D /D270E/S298A, 在相对的重链中: D270E/K326D/A330M/K334E	(Stavenhagen 等人 2007) (Lazar 等人 2006) (Shields 等人 2001) (Mimoto 等人 2013)
增加的 FcγRIIIa 结合, 减少的 FcγRIIb 结合	S239D/I332E/A330L	(Lazar 等人 2006)
增强 ADCP		
增加的 FcγRIIIa 结合, 增加的 FcγRIIIa 结合	G236A/S239D/I332E	(Richards 等人 2008)
增强 CDC		
增加的 C1q 结合	K326W/E333S S267E/H268F/S324T IgG1/IgG3 交叉亚类	(Idusogie 等人 2001) (Moore 等人 2010) (Natsume 等人 2008)
六聚化	E345R/E430G/S440Y	(Diebolder 等人 2014)
降低效应器功能		
无糖基化	N297A 或 N297Q 或 N297G	(Bolt 等人 1993; Leabman 等人 2013; Tao 和 Morrison 1989; Walker 等人 1989)
降低的 FcγR 和 C1q 结合	L235E IgG1: L234A/L235A 或 L234A/L235A/P329G IgG4:F234A/L235A IgG2/IgG4 交叉同种型 IgG2: H268Q/V309L/A330S/P331S IgG2: V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/ A330S/P331S	(Alegre 等人 1992) (Xu 等人 2000; Lo 等人 2017) (Xu 等人 2000) (Rother 等人 2007) (An 等人 2009) (Vafa 等人 2014)
增加半衰期		
在 pH 6.0 下增加的 FcRn 结合	M252Y/S254T/T256E M428L/N434S	(Dall'Acqua 等人 2002) (Zalevsky 等人 2010)
增加的共同参与		
增加的 FcγRIIb 结合	S267E/L328F	(Chu 等人 2008)
增加的 FcγRIIIa 结合,	N325S/L328F	(Shang 等人 2014)

[0219]

减少的 FcγRIIIa 结合	
-----------------	--

[0220] 也可以调节抗体的体内半衰期。Fc 域在抗体的稳定性和血清半衰期中起着核心作用。对于治疗方法, 抗体半衰期可通过使用缺少 Fc 域或具有截短 Fc 域的抗体片段来缩短, 如 F(ab)2、Fv、scFv、IgGACH2、F(ab')2、scFvCH3、Fab、VL、VH、scFv4、scFv3、scFv2、dsFv、Fv、scFv-Fc 或 (scFv)2。抗体也可以是双抗体或二价抗体的形式。双抗体或二价抗体可用于增加对靶标的亲和力, 从而允许较低剂量。缺少 Fc 域或具有截短 Fc 域的功能片段也可用于开发其他治疗方法, 如嵌合抗原受体 T 细胞 (CAR T 细胞) 或双特异性 T 细胞接合剂 (BiTE)。在 CAR 构建体中, 一个 VH 域和一个 VL 域通常通过短肽接头连接以形成单链可变片段 (scFv), 并且 scFv 片段进一步连接到跨膜域和胞质内 T 细胞免疫受体的基于酪氨酸的激活基序 (来自例如 CD3ζ) 和共刺激分子的其他域 (来自例如 CD28、4-1BB (CD127) 或 OX40) (Chang 和 Chen

2017)。scFv片段中使用的VH和VL域可以是表3中列出的抗体。BiTE通常由两种不同抗体的两个scFv的融合物组成。一个scFv域可以是表3中列出的结合CLDN18.2的分离的抗体,而另一个scFv域来自结合例如CD3、CD16、NKG2D、NKp46、CD2、CD28或CD25的抗体。可在Diego Ellerman(2019)的综述中找到用于T细胞重定向的BiTE抗体形式和其他双特异性抗体形式的充分指导。

[0221] 在另一个实施方案中,抗体或其片段与CLDN18.2结合,该抗体具有SEQ ID NO:127的恒定轻链区(CL)和优选地具有降低的Fc γ R结合的SEQ ID NO:129的恒定重链区CH1以及Fc区,其在恒定重链区CH2中具有L234A/L235A突变。更优选地,该抗体具有SEQ ID NO:130的恒定重链区CH1和Fc区,其在恒定重链区CH1和Fc区中具有L234A/L235A/P329G突变,具有甚至进一步降低的Fc γ R结合。

[0222] 本发明人现已令人惊讶地表明与基于IMAB362的相同ADC相比,基于重链恒定区CH2中具有L234A/L235A突变的抗体的本发明的ADC对患者衍生肿瘤异种移植模型具有更高的体内细胞毒活性(参见图21C和23B,及实施例9)。

[0223] 在另一个优选的实施方案中,抗体或其片段与CLDN18.2结合,并包含SEQ ID NO:33的VH序列、SEQ ID NO:38的VL序列、SEQ ID NO:127的恒定轻链区(CL)以及具有L234A/L235A的SEQ ID NO:129的恒定重链区CH1和Fc区。

[0224] 在另一个优选的实施方案中,抗体或其片段与CLDN18.2结合,并由SEQ ID NO:33的VH序列、SEQ ID NO:38的VL序列、SEQ ID NO:127的恒定轻链区(CL)以及具有L234A/L235A的SEQ ID NO:129的恒定重链区CH1和Fc区组成。

[0225] 在另一个实施方案中,抗体或其片段与CLDN18.2结合,其中该抗体或其片段是人源化的。单克隆抗体的人源化是完善建立的。Handbook of Therapeutic Antibodies,第二版提供了单克隆抗体的人源化(Saldanha 2014)、用于分析此类抗体的生物信息学工具(Martin和Allemn 2014)以及治疗性抗体的开发和制备(Jacobi等人2014)的充分信息。

[0226] 在另一个实施方案中,抗体或其片段是与CLDN18.2结合的分离的抗体或分离的片段。

[0227] 在另一个实施方案中,抗体或其片段与CLDN18.2结合,其中该抗体或其片段不结合CLDN18.1。因此,抗体不表现出与CLDN18.1的交叉反应性或交叉结合。抗体与靶蛋白的结合可以通过对表达靶蛋白的细胞的流式细胞术进行测试。测试抗体与其靶蛋白的特异性结合可以在直方图上可视化。此图在抗体特异性结合表达的靶蛋白时产生具有高荧光信号的峰,而在抗体不结合或仅非常弱地结合表达的靶蛋白时产生具有低荧光信号的峰。结合程度也可以用条形图表示,显示通过流式细胞术测量的最大平均荧光强度(maxMFI),高maxMFI反映强结合,低/无maxMFI反映无结合或非常弱的结合。比较同一实验设置中不同抗体的maxMFI值也可以表明抗体与靶标的亲和力,较高的maxMFI表示较低的解离率(off rate)和较高的亲和力。在实施例3以及图4和图5中可以找到此结合测定的实例。

[0228] 在另一个实施方案中,ADC与另一个部分结合。抗体或其片段与另一部分的结合可以是共价的或非共价的。该部分可以包括放射性同位素、荧光标签、组织学标志物、细胞毒素或细胞因子。该部分与抗体的共价结合可以通过本领域中已知的接头促进。

[0229] 在又一个实施方案中,特异性抗体或其片段与CLDN18.2结合,其中该抗体对翻译后脱酰胺化的易感性低于IMAB362。在另一个实施方案中,肿瘤特异性抗体或其片段与

CLDN18.2结合,其中该抗体不经历翻译后脱酰胺化。翻译后修饰(PTM)是抗体开发以及抗体生产和储存中的重要问题。不受控制的PTM可能导致抗体具有较低的功效、活性、效力或稳定性。PTM可以是N-糖基化、赖氨酸糖基化和生物加工过程中来自细胞培养基的其他半胱氨酸、谷胱甘肽或其他含巯基的化合物加帽的半胱氨酸、或者由于通过共价二硫键连接的半胱氨酸形成二聚体和更高级的寡聚体。在PTM中,天冬酰胺(Asn,N)残基的脱酰胺化、天冬氨酸盐(天冬氨酸,Asp,D)残基的异构化和琥珀酰亚胺中间体的形成是在生产、储存期间或施用后体内的治疗性抗体的最常见的修饰反应。Asn的脱酰胺化和Asp的异构化取决于序列倾向、结构环境和储存条件,特别是溶液pH值和储存温度。这些修饰可能导致功能或生物活性降低或甚至丧失,特别是在受影响的残基参与靶标结合的情况下。Asn和Asp残基面临修饰的风险,特别是当它们位于结构柔性的区域(如CDR环)中时,以及满足某些其他结构的先决条件时,而已观察到框架区对修饰具有可比较的抗性。除了Asn和Asp残基的结构位置外,还鉴定了Asn脱酰胺和Asp异构化的典型基序。这些典型基序分别为NG、NS、NN、NT、NH、以及DG、DS、DD、DT和DH(Lu等人2019)。在计算机分析中,公开的抗体在VL域的CDR2的最后一个氨基酸和HC的CH2和CH3区(VL-CDR2(在位置62)、CH2(在位置282)、CH3(在位置403))中呈现DG Asp异构化基序。

[0230] Asp的异构化可以通过将抗体置于低pH(即pH 5.5)和加热(即40℃)两周来测试,而抗体的Asn脱酰胺化可以通过将抗体置于高pH(即pH 8.0)和加热(即40℃)一周,模拟生产和储存条件来测试。

[0231] 发明人现已表明,尽管在这些苛刻条件下,所公开的抗体在它们的CDR中含有Asn和Asp,并且带有Asp-Gly(DG) Asp-异构化基序,但是令人惊讶地它们没有Asn脱酰胺化(参见表6)和Asp异构化(参见表7)并且它们与CLDN18.2的结合亲和力不受影响。另一方面,IMAB362在这种条件下显示出Asn脱酰胺化,诱导结合亲和力丧失(如表6和图10所示)。因此,本发明提供了结合CLDN18.2的分离的抗体或其片段,并且在生产、储存和临床应用(体内)期间与IMAB362相比不易受PTM影响,并且保证在生产、储存和临床应用(体内)期间维持的与CLDN18.2的结合亲和力。

[0232] 在一个实施方案中,该抗体与包含SEQ ID NO:46的重链序列和SEQ ID NO:51的轻链序列的抗体结合相同的表位。

[0233] 本发明进一步提供与本文所述抗体竞争结合的抗体。在一个实施方案中,该抗体与包含SEQ ID NO:46的重链序列和SEQ ID NO:51的轻链序列的抗体竞争结合。

[0234] 本发明进一步提供竞争性抑制本文所述抗体与密蛋白18.2结合的抗体。在一个实施方案中,该抗体竞争性地抑制包含SEQ ID NO:46的重链序列和SEQ ID NO:51的轻链序列的抗体与密蛋白18.2的结合。

[0235] 检测抗体与相同抗原的结合的合适方法包括定位抗原-抗体相互作用的方法。此方法已描述于Abbott 2014(Abbott,Damschroder和Lowe 2014)。检测竞争的合适方法包括通过表位分箱(bin)进行的竞争性测定,如Abdiche2009(Abdiche等人2009)中所述。检测竞争性抑制的合适方法包括ELISA测定。

[0236] 在另一个实施方案中,本发明涉及产生本发明的ADC的方法。

[0237] 在一个实施方案中,该方法包含以下步骤:

[0238] a.提供具有一种或多种接头元件的抗体或其片段A,

[0239] b.提供具有一种或多种接头元件的一种或多种毒素T,和

[0240] c.将该抗体与该毒素缀合以产生抗体-药物缀合物。

[0241] 在一个实施方案中,该方法包含以下步骤:

[0242] d.提供抗体或其片段A,该抗体或其片段A具有寡肽接头元件,优选地,在其C端,任选地,在该抗体轻链和/或重链处的间隔物元件之前,

[0243] e.提供具有不可切割的接头元件的一种或多种毒素T,任选地,随后为寡肽接头元件,和

[0244] f.将该抗体与该毒素缀合以产生抗体-药物缀合物。

[0245] 应理解的是,本文公开的任何抗体A可以与本文公开的任何寡肽接头元件和任选的间隔物元件一起提供。同样地,任何葱环类毒素T可以与本文公开的任何不可切割的接头元件连接。缀合的类型可能取决于该接头元件和/或用于制备ADC的方法。图25中可以找到通过该方法产生的ADC的代表。

[0246] 在优选的实施方案中,本发明的ADC由以下组成:

[0247] • 由根据SEQ ID NO:46的氨基酸序列的两条重链,和根据SEQ ID NO:51的氨基酸序列的两条轻链组成的抗体,其中该抗体与CLDN18.2结合,

[0248] • 位于该轻链C端的接头[GGGGS]-[LPQTGG]-[乙二胺],和

[0249] • 基于葱环类的小分子毒素3'-去氨基-3",4'-脱水-[2"(S)-甲氧基-3"(R)-氧基-4"-吗啉基]阿霉素(PNU-159682),其与该接头的乙二胺在C₁₃处共价连接,导致C₁₄和羟基的损失。

[0250] 在另一个优选的实施方案中,本发明的ADC由以下组成:

[0251] • 由根据SEQ ID NO:133的氨基酸序列的两条重链,和根据SEQ ID NO:51的氨基酸序列的两条轻链组成的抗体,其中该抗体与CLDN18.2结合,

[0252] • 位于该轻链C端的接头[GGGGS]-[LPQTGG]-[乙二胺],和

[0253] • 基于葱环类的小分子毒素3'-去氨基-3",4'-脱水-[2"(S)-甲氧基-3"(R)-氧基-4"-吗啉基]阿霉素(PNU-159682),其与该接头的乙二胺在C₁₃处共价连接,导致C₁₄和羟基的损失。

[0254] 在又一个优选的实施方案中,本发明的ADC由以下组成:

[0255] • 由根据SEQ ID NO:134的氨基酸序列的两条重链,和根据SEQ ID NO:51的氨基酸序列的两条轻链组成的抗体,其中该抗体与CLDN18.2结合,

[0256] • 位于该轻链C端的接头[GGGGS]-[LPQTGG]-[乙二胺],和

[0257] • 基于葱环类的小分子毒素3'-去氨基-3",4'-脱水-[2"(S)-甲氧基-3"(R)-氧基-4"-吗啉基]阿霉素(PNU-159682),其与该接头的乙二胺在C₁₃处共价连接,导致C₁₄和羟基的损失。

[0258] 本发明也涉及包含所公开的ADC和赋形剂的药物组合物。

[0259] 还提供了编码结合CLDN18.2的分离的肿瘤特异性抗体或其功能片段的核酸序列,其用于制造ADC中。核酸序列可以编码单独的CDR、编码VH和VL区、或编码抗体的整个重链和轻链。这些核酸序列可以在表3中找到。核酸序列还可以编码F(ab)₂、Fv、scFv、IgGACH2、F(ab')₂、scFvCH3、Fab、VL、VH、scFv4、scFv3、scFv2、dsFv、Fv、scFv-Fc、(scFv)₂、非消耗性IgG、双抗体、二价抗体或其Fc工程化版本。编码的免疫球蛋白可以是IgA1、IgA2、IgD、IgE、

IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、合成IgG、IgM或其突变和Fc工程化版本。该核酸可以另外包含直接融合至抗体重链和/或抗体轻链的C端的寡肽接头元件的编码序列。

[0260] 还提供了表达载体,其包含本发明的核酸或由于密码子简并性而导致的简并核酸。表达载体可以是用于在哺乳动物细胞、细菌、真菌或昆虫细胞中表达蛋白质的表达载体,并且选择用于携带包含编码抗体或其功能片段的核酸的表达载体的宿主细胞类型。在Green和Sambrook (Green和Sambrook 2012) 中可以找到构建此类载体的充分指导。优选的是用于哺乳动物细胞,尤其是CHO细胞的表达载体。

[0261] 还提供了包含本发明的核酸或表达载体的宿主细胞。宿主细胞可以是哺乳动物细胞或细胞系、细菌细胞、真菌细胞或昆虫细胞。优选的是哺乳动物细胞,尤其是CHO细胞。

[0262] 在另一个实施方案中,本发明涉及与CLDN18.2结合的本发明的ADC,其用于治疗中。

[0263] 本发明的另一个实施方案涉及本发明的ADC,其用于治疗患有癌症/增生性疾病的受试者。

[0264] 在另一个实施方案中,本发明涉及ADC,其用于治疗有发展增生性疾病风险的受试者,和/或用于治疗被诊断患有增生性疾病的受试者。

[0265] 所公开的ADC可以用作单一疗法。在优选的实施方案中,所公开的ADC与增生性疾病的既定护理标准结合使用。

[0266] 增生性疾病可以是选自胰腺癌、胃癌、食管癌、卵巢癌和肺癌中的至少一种疾病。据了解,待治疗的增生性疾病表达CLDN18.2。

[0267] 在一个实施方案中,受试者是哺乳动物。在优选的实施方案中,受试者是人。

[0268] 本发明的另一个实施方案提供了使用本文提供的ADC治疗增生性疾病的方法,该增生性疾病包括胰腺癌、胃癌、食管癌、卵巢癌或肺癌,其中该方法包括向有此需要的受试者提供施用有效量的ADC。治疗方法可以是单一疗法或优选地与增生性疾病的既定护理标准的联合疗法。

[0269] 人CLDN18.2蛋白的氨基酸序列具有NCBI参考序列:NP_001002026.1。该序列也可以衍生自SEQ ID NO:135。

附图说明

[0270] 图1:通过ELISA评估如指定的所选嵌合和人源化抗CLDN18.2抗体与含有CLDN18.2的脂质颗粒或空脂质颗粒的结合。A. 嵌合抗体cC11-1、cC11-2、cC11-3、IMAB362和仅二抗; B. 人源化抗体hC11a至hC11j、嵌合cC11-1、IMAB362和仅二抗。所有新生成的抗体都结合脂质体CLDN18.2。

[0271] 图2:针对CLDN18.2表达水平对PA-TU-8988S细胞进行分选。A. 用IMAB362染色的PA-TU-8988S的FC谱。B. 通过FACS针对高表达CLDN18.2分选的PA-TU-8988S细胞的FC谱。

[0272] 图3:生成过表达huCLDN18.2的HEK293T细胞。用编码huCLDN18.2以稳定表达CLDN18.2或编码huCLDN18.1以稳定表达CLDN18.1的质粒转染不内源性表达CLDN18.2的HEK293T细胞。在用IMAB362和泛CLDN18.1抗体或仅抗人IgG二抗染色后,通过FC分析表达。A. 未转染的HEK293T细胞的FC谱。B. 稳定表达CLDN18.1的转染HEK293T细胞的FC谱。C. 稳定表达CLDN18.2的转染HEK293T细胞的FC谱。

[0273] 图4:嵌合cC11-1、cC11-2和cC11-3抗体与过表达CLDN18.1或CLDN18.2的前B细胞L11细胞的流式细胞术结合测定。嵌合抗体结合CLDN18.2而不结合CLDN18.1。IMAB362用作阳性结合对照。

[0274] 图5:人源化hC11a至hC11j抗体对过表达CLDN18.1或CLDN18.2的HEK293T细胞的流式细胞术结合测定。人源化抗体结合CLDN18.2而不结合CLDN18.1。IMAB362和cC11-1用作阳性结合对照。

[0275] 图6:过表达CLDN18.2的A549细胞的FACS表达谱。用编码CLDN18.2的质粒稳定转染不内源性表达CLDN18.2的A549细胞,并使用IMAB362通过FACS分析CLDN18.2的表达。

[0276] 图7:流式细胞术活细胞染色。该图表示由CLDN18.2抗体(cC11-1、hC11a、hC11b、hC11c、hC11f和IMAB362)结合的分离的单细胞的百分比。单细胞从注射的过表达CLDN18.2的A549细胞引起的表达CLDN18.2的小鼠肿瘤中分离(实心条)或从表达CLDN18.2的小鼠健康胃中分离(空心条)。

[0277] 图8:冷冻胃组织染色。表达CLDN18.2的小鼠健康胃组织的冷冻组织切片已用hC11a(A)、hC11b(B)、hC11c(C)、hC11f(D)或IMAB362(E)抗体染色。图片是代表性的IHC图像。

[0278] 图9:从注射的过表达CLDN18.2的A549细胞引起的冷冻肿瘤组织的染色。表达CLDN18.2的小鼠肿瘤的冷冻组织玻片已用hC11a(A)、hC11f(B)、IMAB362(C)或Abcam 34H14L15泛CLDN18抗体染色。图片是代表性的IHC图像。

[0279] 图10:脱酰胺化对IMAB362结合活性的影响。脱酰胺化后IMAB362对CLDN18.2的亲合力降低。

[0280] 图11:ADC的对HEK-293T-CLDN18.2细胞进行的体外细胞毒性测定,其中PNU与嵌合抗体cC11-1(A)、cC11-2(B)或cC11-3(C)的HC、或LC、或HC和LC缀合。将ADC的细胞毒活性与以相同方式与PNU缀合的基于IMAB362、或同种型对照组Ac10的ADC,或当显示时,与其中毒素MMAE经由MC-vc-PAB酶可切割的接头与抗体缀合的基于IMAB362的ADC的细胞毒活性进行比较。图例:当PNU与抗体的重链和轻链缀合时,该ADC标记为HC-LC-PNU,当PNU仅与重链缀合时,标记为HC-PNU,而当PNU仅与轻链缀合时,标记为LC-PNU。所有与PNU缀合的ADC均具有-LPQTGG-寡肽接头和乙二胺接头。当PNU与轻链缀合时,也存在柔性寡肽-GGGGS-。当出现在标记物中时,G2代表寡肽接头中的二个甘氨酸。

[0281] 图12:ADC的对HEK-293T-CLDN18.1细胞进行的体外细胞毒性测定,其中PNU与嵌合抗体cC11-1(A)、cC11-2(B)或cC11-3(C)的HC、或LC、或HC和LC缀合。将ADC的细胞毒活性与以相同方式与PNU缀合的IMAB362、或同种型对照组Ac10的细胞毒活性进行比较。图例:当PNU与抗体的重链和轻链缀合时,该ADC标记为HC-LC-PNU,当PNU仅与重链缀合时,标记为HC-PNU,而当PNU仅与轻链缀合时,标记为LC-PNU。所有与PNU缀合的ADC均具有-LPQTGG-寡肽接头和乙二胺接头。当PNU与轻链缀合时,也存在柔性寡肽-GGGGS-。当出现在标记物中时,G2代表寡肽接头中的二个甘氨酸。

[0282] 图13:ADC的对BxPC-3-CLDN18.2细胞进行的体外细胞毒性测定,其中PNU与嵌合抗体cC11-1(A)、cC11-2(B)或cC11-3(C)的HC、或LC、或HC和LC缀合。将ADC的细胞毒活性与以相同方式与PNU缀合的IMAB362、或同种型对照组Ac10的细胞毒活性进行比较。图例:当PNU与抗体的重链和轻链缀合时,该ADC标记为HC-LC-PNU,当PNU仅与重链缀合时,标记为HC-

PNU,而当PNU仅与轻链缀合时,标记为LC-PNU。所有与PNU缀合的ADC均具有-LPQTGG-寡肽接头和乙二胺接头。当PNU与轻链缀合时,也存在柔性寡肽-GGGGS-。当出现在标记物中时,G2代表寡肽接头中的二个甘氨酸。

[0283] 图14:ADC的对A549-CLDN18.2细胞进行的体外细胞毒性测定,其中PNU与嵌合抗体cC11-1(A)、cC11-2(B)或cC11-3(C)的HC、或LC、或HC和LC缀合。将ADC的细胞毒活性与以相同方式与PNU缀合的IMAB362、或同种型对照组Ac10、或与其中毒素MMAE经由MC-vc-PAB酶可切割的接头与抗体结合的基于IMAB362的ADC的细胞毒活性进行比较。图例:当PNU与抗体的重链和轻链缀合时,该ADC标记为HC-LC-PNU,当PNU仅与重链缀合时,标记为HC-PNU,而当PNU仅与轻链缀合时标记为LC-PNU。所有与PNU缀合的ADC均具有-LPQTGG-寡肽接头和乙二胺接头。当PNU与轻链缀合时,也存在柔性寡肽-GGGGS-。当出现在标记物中时,G2代表寡肽接头中的二个甘氨酸。

[0284] 图15:ADC的对A549-CLDN18.1细胞进行的体外细胞毒性测定,其中PNU与嵌合抗体cC11-1(A)、cC11-2(B)或cC11-3(C)的HC、或LC、或HC和LC缀合。将ADC的细胞毒活性与以相同方式与PNU缀合的IMAB362、或同种型对照组Ac10、或与其中毒素MMAE经由MC-vc-PAB酶可切割的接头与抗体结合的基于IMAB362的ADC的细胞毒活性相比较。图例:当PNU与抗体的重链和轻链缀合时,该ADC标记为HC-LC-PNU,当PNU仅与重链缀合时,标记为HC-PNU,而当PNU仅与轻链缀合时,标记为LC-PNU。所有与PNU缀合的ADC均具有-LPQTGG-寡肽接头和乙二胺接头。当PNU与轻链缀合时,也存在柔性寡肽-GGGGS-。当出现在标记物中时,G2代表寡肽接头中的二个甘氨酸。

[0285] 图16:ADC的对PATU-8988-S-High细胞进行的体外细胞毒性测定,其中PNU与嵌合抗体cC11-1(A)、cC11-2(B)或cC11-3(C)的HC、或LC、或HC和LC缀合。将ADC的细胞毒活性与以相同方式与PNU缀合的IMAB362、或同种型对照组Ac10的细胞毒活性相比较。图例:当PNU与抗体的重链和轻链缀合时,该ADC标记为HC-LC-PNU,当PNU仅与重链缀合时,标记为HC-PNU,而当PNU仅与轻链缀合时,标记为LC-PNU。所有与PNU缀合的ADC均具有-LPQTGG-寡肽接头和乙二胺接头。当PNU与轻链缀合时,也存在柔性寡肽-GGGGS-。当出现在标记物中时,G2代表寡肽接头中的二个甘氨酸。

[0286] 图17:ADC的对A549-CLDN18.2细胞进行的体外细胞毒性测定,其中PNU与人源化抗体hC11a至hC11c(A)、hC11d至hC11f(B)、hC11g至hC11i(C)和hC11j(D)的LC缀合。将ADC的细胞毒活性与其中PNU与嵌合型cC11-1抗体或IMAB362的LC缀合的ADC的细胞毒活性进行比较。图例:标记为LC-PNU的ADC具有仅经由[GGGGS]-[LPQTGG]-[乙二胺]接头与轻链缀合的PNU。当出现在标记物中时,G2代表该寡肽接头中的二个甘氨酸。

[0287] 图18:ADC的对HEK-293T-CLDN18.2细胞进行的体外细胞毒性测定,其中PNU与人源化抗体hC11a至hC11c(A)、hC11d至hC11f(B)、hC11g至hC11i(C)和hC11j(D)的LC缀合。将ADC的细胞毒活性与其中PNU与嵌合型cC11-1抗体或IMAB362的LC缀合的ADC的细胞毒活性进行比较。图例:标记为LC-PNU的ADC具有仅经由[GGGGS]-[LPQTGG]-[乙二胺]接头与轻链缀合的PNU。当出现在标记物中时,G2代表该寡肽接头中的二个甘氨酸。

[0288] 图19:ADC的对HEK-293T-CLDN18.1细胞进行的体外细胞毒性测定,其中PNU与人源化抗体hC11a至hC11c(A)、hC11d至hC11f(B)、hC11g至hC11i(C)和hC11j(D)的LC缀合。将ADC的细胞毒活性与其中PNU与嵌合型cC11-1抗体或IMAB362的LC缀合的ADC的细胞毒活性进行

比较。图例：标记为LC-PNU的ADC具有仅经由[GGGGS]-[LPQTGG]-[乙二胺]接头与轻链缀合的PNU。当出现在标记物中时，G2代表该寡肽接头中的二个甘氨酸。

[0289] 图20：ADC的对PATU-8988-S-High细胞进行的体外细胞毒性测定，其中PNU与人源化抗体hC11a至hC11c (A)、hC11d至hC11f (B)、hC11g至hC11i (C) 和hC11j (D) 的LC缀合。将ADC的细胞毒活性与其中PNU与嵌合型cC11-1抗体或IMAB362的LC缀合的ADC的细胞毒活性进行比较。图例：标记为LC-PNU的ADC具有仅经由[GGGGS]-[LPQTGG]-[乙二胺]接头与轻链缀合的PNU。当出现在标记物中时，G2代表该寡肽接头中的二个甘氨酸。

[0290] 图21：ADC hC11a-LC-G2-PNU (A)、hC11f-LC-G2-PNU (B) 和hC11a (LALA) -LC-G2-PNU (C) 在胃患者衍生肿瘤异种移植模型GXA 3037中的体内功效与ADC IMAB362-LC-G2-PNU进行比较。各ADC以0.2mg/kg/天、0.6mg/kg/天或2mg/kg/天进行测试。图例：所有ADC均具有仅经由[GGGGS]-[LPQTGG]-[乙二胺]接头与轻链缀合的PNU。

[0291] 图22：ADC hC11a-LC-G2-PNU在结肠癌患者衍生肿瘤异种移植模型CXF 742中的体内功效与同种型对照组ADC Ac10-LC-G2-PNU进行比较。各ADC以0.2mg/kg/天进行测试。图例：所有ADC均具有仅经由[GGGGS]-[LPQTGG]-[乙二胺]接头与轻链缀合的PNU。

[0292] 图23：ADC hC11a-LC-G2-PNU (A) 和hC11a (LALA) -LC-G2-PNU (B) 在胰腺癌患者衍生肿瘤异种移植模型PAXF 2175中的体内功效与ADC IMAB362-LC-G2-PNU进行比较。各ADC以0.2mg/kg/天或0.6mg/kg/天进行测试。图例：所有ADC均具有仅经由[GGGGS]-[LPQTGG]-[乙二胺]接头与轻链缀合的PNU。

[0293] 图24：ADC hC11a-LC-G2-PNU在肺癌患者衍生肿瘤异种移植模型LIXFC 2050中的体内功效与同种型对照组ADC Ac10-LC-G2-PNU进行比较。各ADC以2mg/kg/天进行测试。图例：所有ADC均具有仅经由[GGGGS]-[LPQTGG]-[乙二胺]接头与轻链缀合的PNU。

[0294] 图25：ADC的图形代表，其中PNU经由间隔物元件-GGGGS-、寡肽接头元件-LPQTGG-和不可切割的接头元件EDA (连接至PNU的C₁₃) 与抗体LC结合。图例：所有ADC均具有仅经由[GGGGS]-[LPQTGG]-[乙二胺]接头与轻链缀合的PNU。

实施例

[0295] 实施例1：嵌合和人源化抗体的生成

[0296] 生成单克隆抗体的技术已经是完善建立的。Handbook of Therapeutic Antibodies, 第二版 (2014) 提供了有关这些技术的充分信息，如通过免疫小鼠或大鼠产生单克隆抗体 (Moldenhauer 2014)、单克隆抗体的人源化 (Saldanha 2014)、用于分析抗体的生物信息学工具 (Martin和Allemon 2014) 或治疗性抗体的开发和制备 (Jacobi等人2014)。简而言之，通过用编码人CLDN18.2 cDNA (huCLDN18.2) (NCBI参考序列：NM_001002026.3) 的质粒对大鼠进行DNA免疫，生成针对CLDN18.2的单克隆抗体。通过流式细胞术 (FC分析) 和ELISA分析大鼠免疫血清对huCLDN18.2的特异性反应性。随后从免疫大鼠分离的淋巴细胞中生成杂交瘤克隆以获得嵌合抗体。三个克隆被鉴定为CLDN18.2特异性，从而产生了具有相似的CDR的名为cC11-1、cC11-2和cC11-3的嵌合抗体 (参见表3)。随后，将cC11-1、cC11-2和cC11-3人源化，产生了10个人源化克隆，分别命名为hC11a、hC11b0、hC11c、hC11d、hC11e、hC11f、hC11g、hC11h、hC11i和hC11j抗体 (参见表3)。这些抗体也被用来生成ADC。

[0297] 作为对照，使用W02013/174509中公布的重链 (SEQ ID NO:55) 和轻链 (SEQ ID NO:

56) 的序列合成IMAB362抗体,命名为单克隆抗体182-D1106-362,登录号DSM ACC2810,于2006年10月26日保藏在DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH Inhoffenstr.7B 38124 Braunschweig DE。

[0298] 表3:抗体核酸和氨基酸序列

名称	序列	SEQ ID NO
cH1-1		
HCDR1	DYAMH	SEQ ID NO: 1
HCDR2	WINTYTGKPTYADDFKG	SEQ ID NO: 2
HCDR3	AVFYGYTMDA	SEQ ID NO: 3
VH	QIQLVQSGPELKKPGESVKISCKASGYTFTDYAMHWVKQAPGK GLKWMGWINTYTGKPTYADDFKGRFVFSLEASASTANLQISNL KNEDTATYFCARAVFYGYTMDAWGQGTSVTVSS	SEQ ID NO: 27
HCDR1	gactacgcgatgcac	SEQ ID NO: 71
HCDR2	tggatcaacacgtacacggggaagccgacatacgcggacgact tcaagggg	SEQ ID NO: 72
HCDR3	gccgtcttctacggatatacgtatggacgcg	SEQ ID NO: 73
VH	cagatccagctcgtccagagcgggcccggagctgaagaagccgg gggagagcgtgaagatctcgtgcaagggcagcggatatacgtt cacggactacgcgatgcactgggtcaagcaagcgcgggggaaa gggctgaagtggatgggtggatcaacacgtacacggggaagc cgacatacgcggacgacttcaaggggcgattcgtgttctcgt ggagggcagcgcgagcagcggcgaacctgcaaactctgaacctg aagaacgaggacacggcgacgtacttctgcgcgcgggcccgtct tctacggatatacgtatggacgcgtgggggcagggtaccagcgt gacggtctcgcgc	SEQ ID NO: 74
LCDR1	RASEDIYSNLA	SEQ ID NO: 4
LCDR2	SVKRLQD	SEQ ID NO: 5
LCDR3	LQGSNFPLT	SEQ ID NO: 6
VL	DIQMTQSPASLSASLGETISIACRASEDIYSNLAWYQQKSGKS PQLLIFSVKRLQDGVPSRFSGSGSTQYSLKISGMQPEDEGDY FCLQGSNFPLTFGSGTKLEIK	SEQ ID NO: 28
LCDR1	cgggcgagcgcaggacatctactcgaacctggcg	SEQ ID NO: 75
LCDR2	tccgtcaagcggctgcaagac	SEQ ID NO: 76
LCDR3	ctgcaagggagcaacttcccgtgacg	SEQ ID NO: 77
VL	gacatccagatgacgcagagcccggcgtcgtgagcgcgagcc tgggggagacgatctcgatcgctgcccggcgcgagcaggacat ctactcgaacctggcgtggtatcaacagaagagcgggaagagc ccgcagctgctgatcttctccgtcaagcggctgcaagacggcg tcccgcagccgattctcggggagcgggagcgggacgcagctactc gctgaagatctcggggatgcagccggaggacgagggggactac ttctgcctgcaagggagcaacttcccgtgacgttcgggtcgg gtaccaaactcgagatcaaa	SEQ ID NO: 78
cH1-2		
HCDR1	DYAMH	SEQ ID NO: 1
HCDR2	WINAYTGKPTYADDFKG	SEQ ID NO: 7
HCDR3	AVYYGYTMDA	SEQ ID NO: 8
VH	QIQLVQSGPELKKPGESVKISCKTSGYTFDYAMHWVKQGPGK GMKWMGWINAYTGKPTYADDFKGRFVLSLEASASTANLQISNL KNEDTATYFCARAVYYGYTMDAWGQGTSVIVSS	SEQ ID NO: 29
HCDR1	gactacgcgatgcac	SEQ ID NO: 71
HCDR2	tggatcaacgcgtacacggggaagccgacatacgcggacgact tcaagggg	SEQ ID NO: 79
HCDR3	gccgtctactacggatatacgtatggac	SEQ ID NO: 80
VH	cagatccagctcgtccagagcgggcccggagctgaagaagccgg gggagagcgtgaagatctcgtgcaagacgagcggatatacgtt cacggactacgcgatgcactgggtcaagcaggggccagggaaa gggatgaagtggatgggtggatcaacgcgtacacggggaagc cgacctacgcggacgacttcaaggggcgattcgtgctgagcct	SEQ ID NO: 81

[0299]

[0300]

名称	序列	SEQ ID NO
	ggagggcgagcgccctcgacggcggaacctgcaaactctggaacctg aagaacgaggacacggcgacgtacttctgcgcgcgggccgtct actacggatatacgatggacgcgtgggggcaggtaccagcgt gatcgtctcgagc	
LCDR1	RTSEDIYSNFA	SEQ ID NO: 9
LCDR2	SVNRLQD	SEQ ID NO: 10
LCDR3	LQGSKFPLT	SEQ ID NO: 11
VL	DIQMTQSPASLSASLGETISIECRTSEDIYSNFAWFQQKSGKS PQLLIYSVNRLQDGVPSRFSGSGSGTQYSLKISGMQPEDEGDY FCLQGSKFPLTFGSGTKLEIK	SEQ ID NO: 30
LCDR1	cggacgagcgaggacatctactcgaacttcgcg	SEQ ID NO: 82
LCDR2	tcagtcaaccggctgcaagac	SEQ ID NO: 83
LCDR3	ctgcaagggagcaagttcccgctgacg	SEQ ID NO: 84
VL	gacatccagatgacgcagagcccgcgagcctgagcgcgagcc tgggggagacgatctcgatcgagtgccggacgagcgaggacat ctactcgaacttcgcgtggtccagcagaagagcggaagagc ccgcagctgctgatctactcagtcaaccggctgcaagacggcg tcccgagccgattctcggggagcgggagcgggacgcagtactc gctgaagatctcggggatgcagccggaggacgagggggactac ttctgcctgcaagggagcaagttcccgctgacgttcgggagcg gtaccaaactcgagatcaaa	SEQ ID NO: 85
cHII-3		
HCDR1	DYAMY	SEQ ID NO: 12
HCDR2	WINTYTGKPTYADDFKG	SEQ ID NO: 2
HCDR3	AVFYGYTMDA	SEQ ID NO: 3
VH	QIQLVQSGPELKKPGESVKISCKASGYTFTDYAMYWVKQVPGK GLRWMGWINTYTGKPTYADDFKGRFVFSLEASASTANLQISNL KNEDTATYFCARAVFYGYTMDAWGQGSVTVSS	SEQ ID NO: 31
HCDR1	gactacgcgatgtac	SEQ ID NO: 86
HCDR2	tggatcaacacgtacacggggaagccgacctacgcggacgact tcaagggg	SEQ ID NO: 87
HCDR3	gccgtcttctacggatatacgatggacgcg	SEQ ID NO: 73
VH	cagatccagctcgtccagagcgggcccggagctgaagaagccgg gggagagcgtgaagatctcgtgcaaggcgagcgatatacgtt cacggactacgcgatgtactgggtcaagcaagtgccggggaaa gggctgcgatggatgggtggatcaacacgtacacgggggaagc cgacctacgcggacgacttcaaggggcgattcgtgttctcgt ggaggcgagcgcgagcacggcgaaacctgcaaactctcgaacctg aagaacgaggacacggcgacgtacttctgcgcgcgggccgtct tctacggatatacgatggacgcgtgggggcaggtaccagcgt gacggtctcgagc	SEQ ID NO: 88
LCDR1	RTSEDIYSNLA	SEQ ID NO: 13
LCDR2	AIKRLQD	SEQ ID NO: 14
LCDR3	LQGSKFPLT	SEQ ID NO: 11
VL	DIQMTQSPASLSASLGETISIA CRTSEDIYSNLA WYQQKSGKS PQLLI FAIKRLQDGVPSRFSGSGSGTQYSLKISGMQPEDEGDY FCLQGSKFPLTFGSGTKLEIK	SEQ ID NO: 32
LCDR1	cggacgagcgaggacatctactcgaacctggcg	SEQ ID NO: 89
LCDR2	gcgatcaagcggtgcaagac	SEQ ID NO: 90
LCDR3	ctgcaagggagcaagttcccgctgacg	SEQ ID NO: 84
VL	gacatccagatgacgcagagcccgcgagcctgagcgcgagcc tgggggagacgatctcgatcgctgccggacgagcgaggacat ctactcgaacctggcggtgtatcaacagaagagcgggaagagc	SEQ ID NO: 91

[0301]

名称	序列	SEQ ID NO
	ccgcagctgctgatcttcgcgatcaagcggctgcaagacggcg tcccagccgattctcggggagcgggagcgggacgcagtactc gctgaagatctcggggatgcagccggaggacgaggggactac ttctgcctgcaagggagcaagttcccgctgacgttcgggtcgg gtaccaaactcgagatcaaa	
hCIIa		
HCDR1	DYAMH	SEQ ID NO: 1
HCDR2	WINTYTGKPTYAQKFQG	SEQ ID NO: 15
HCDR3	AVFYGYTMDA	SEQ ID NO: 3
VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYAMHWVRQAPGQ RLEWMGWINTYTGKPTYAQKFQGRVTITRDTSASTAYMELSSL RSEDTAVYYCARAVFYGYTMDAWGQGT LVTVSS	SEQ ID NO: 33
重链	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYAMHWVRQAPGQ RLEWMGWINTYTGKPTYAQKFQGRVTITRDTSASTAYMELSSL RSEDTAVYYCARAVFYGYTMDAWGQGT LVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTISWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVM HEALHNHYTQKSLSLSPGX X 是 R 或 K	SEQ ID NO: 46
HCDR1	gactacgcgatgcac	SEQ ID NO: 71
HCDR2	tggatcaatacacacacggggaagccgacttatgcgcaaaaat tccaagga	SEQ ID NO: 92
HCDR3	gcggctcttctacggatatacgatggatgcc	SEQ ID NO: 93
VH	caggtccaactagtcctaaagcggggcggaagtcaagaagcccg gagcatccgtcaaagtcagctgcaaggcgagcgatatacatt tacggactacgcgatgcactgggtcaggcaagcccctgggcaa aggctcgaatggatggatggatcaatacacacggggaagc cgacttatgcgcaaaaattccaaggaagagtcacaattacgcg ggatacatccgcattctaccgcctacatggagctaaagctcgctg cggagcgaggatacggcggtctactattgcgcccagcggtct tctacggatatacgatggatgcctgggggcagggtaccctggt cacggtctcgagc	SEQ ID NO: 94
LCDR1	RASEDIYSNLA	SEQ ID NO: 4
LCDR2	SVKRLQD	SEQ ID NO: 5
LCDR3	LQGSNFPLT	SEQ ID NO: 6
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASEDIYSNLAWYQQKPGKA PKLLIFSVKRLQDGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATY YCLQGSNFPLTFGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 38
轻链	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASEDIYSNLAWYQQKPGKA PKLLIFSVKRLQDGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATY YCLQGSNFPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCCLNNFYPRKAVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDST YLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	SEQ ID NO: 51
LCDR1	agggcctccgaagacatctactccaacctggca	SEQ ID NO: 95
LCDR2	agcgtcaaaagactacaagat	SEQ ID NO: 96
LCDR3	ttgcaaggaagcaatttcccttgact	SEQ ID NO: 97
VL	gacattcaaatgacgcaaaagcccatcatcgctgagcgcatcgg tcggggatagagtcaccataacatgcagggcctccgaagacat ctactccaacctggcatggtatcaacaaaaaccggggaaggct ccgaagctgctgatatttagcgtcaaaagactacaagatggag	SEQ ID NO: 98

[0302]

名称	序列	SEQ ID NO
	taccgagccgatttttcggaagcgggagcgggacggatttcac gctgaccatatcaagtttgcaaccggaggattttgcgacatac tattgcttgcaaggaagcaatttccccttgactttcgggcaag gtaccaaggtcgagatcaaa	
hC11b		
HCDR1	DYAMH	SEQ ID NO: 1
HCDR2	WINTYTGKPTYSQKFQG	SEQ ID NO: 16
HCDR3	AVFYGYTMDA	SEQ ID NO: 3
VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYAMHWVRQAPGQ RLEWMGWINTYTGKPTYSQKFQGRVTITRDTASTAYMELSSL RSEDTAVYYCARAVFYGYTMDAWGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 34
重链	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYAMHWVRQAPGQ RLEWMGWINTYTGKPTYSQKFQGRVTITRDTASTAYMELSSL RSEDTAVYYCARAVFYGYTMDAWGQGTLVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSV HEALHNHYTQKSLSLSPGX X是R或K	SEQ ID NO: 47
HCDR1	gattatgcaatgcac	SEQ ID NO: 99
HCDR2	tggattaacacctacacgggcaagcccacatactcccaaaaat tccaagga	SEQ ID NO: 100
HCDR3	gctgtattctatggatatacaatggatgcc	SEQ ID NO: 101
VH	caggtccaattagtccaaagcggggcggaagtcaagaagccgg ggcgagcgtcaaagtcctcatgcaaagcgagcgatacacatt tacgattatgcaatgcactgggtcaggcaagcaccgacaa aggctggaatggatgggatggattaacacctacacgggcaagc ccacatactcccaaaaattccaaggaagggtcacgataacgag agacacgagcgcgagcaccggaatggatgggatggattaacac ctacacgggcaagcccacatactcccaaaaattccaaggaagg gtcacgataacgagagacacgagcgcgagcaccgtaccctggt caccgtctcgagc	SEQ ID NO: 102
LCDR1	RASEDIYSNLA	SEQ ID NO: 4
LCDR2	SVKRLQD	SEQ ID NO: 5
LCDR3	LQGSNFPLT	SEQ ID NO: 6
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASEDIYSNLAWYQQKPGKA PKLLIFSVKRLQDGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATY YCLQGSNFPLTFGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 38
轻链	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASEDIYSNLAWYQQKPGKA PKLLIFSVKRLQDGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATY YCLQGSNFPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS YLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	SEQ ID NO: 51
LCDR1	agggcctccgaagacatctactccaacctggca	SEQ ID NO: 95
LCDR2	agcgtcaaaagactacaagat	SEQ ID NO: 96
LCDR3	ttgcaaggaagcaatttccccttgact	SEQ ID NO: 97
VL	gacattcaaatgacgcaaagcccatcatcgctgagcgcacg tcggggatagagtcaccataacatgcagggcctccgaagacat ctactccaacctggcatggtatcaacaaaaaccggggaaggct ccgaagctgctgatatttagcgtcaaaagactacaagatggag taccgagccgatttttcggaagcgggagcgggacggatttcac	SEQ ID NO: 98

[0303]

名称	序列	SEQ ID NO
	gctgaccatatcaagtttgcaaccggaggatgttgcgacatac tattgcttgcaaggaagcaatttccccttgactttcgggcaag gtaccaaggtcgagatcaaa	
hCIIc		
HCDR1	DYAMH	SEQ ID NO: 1
HCDR2	WINTYTGKPTYSQKFQG	SEQ ID NO: 16
HCDR3	AVFYGYTMDA	SEQ ID NO: 3
VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYAMHWVRQAPGQ RLEWMGWINTYTGKPTYSQKFQGRVTITRDTASTAYMELSSL RSEDTAVYYCARAVFYGYTMDAWGQGTLLVTVSS	SEQ ID NO: 34
重链	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYAMHWVRQAPGQ RLEWMGWINTYTGKPTYSQKFQGRVTITRDTASTAYMELSSL RSEDTAVYYCARAVFYGYTMDAWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTIVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCVM HEALHNHYTQKSLSLSPGX X是R或K	SEQ ID NO: 47
HCDR1	gattatgcaatgcac	SEQ ID NO: 99
HCDR2	tggattaacacctacacgggcaagcccacatactccccaaaaat tccaagga	SEQ ID NO: 100
HCDR3	gctgtattctatggatatacaatggatgcc	SEQ ID NO: 101
VH	caggtccaattagtcctaaagcggggcggaagtcaagaagccgg ggcgagcgtcaaagtctcatgcaaagcgagcgatacacatt tacggattatgcaatgcactgggtcaggcaagcaccgggacaa aggctggaatggatggatggattaacacctacacgggcaagc ccacatactccccaaaattccaaggaaggggtcacgataacgag agacacgagcgcgagcaccggaatggatggggtggattaacac ctacacgggcaagcccacatactccccaaaattccaaggaag gtcacgataacgagagacacgagcgcgagcaccgtaccctgg caccgtctcgagc	SEQ ID NO: 102
LCDR1	RTSEDIYSNLA	SEQ ID NO: 17
LCDR2	AIKRLQD	SEQ ID NO: 14
LCDR3	LQGSKFPLT	SEQ ID NO: 11
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRTSEDIYSNLAWYQQKPGKA PKLLIFAIKRLQDGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATY YCLQGSKFPLTFGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 39
轻链	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRTSEDIYSNLAWYQQKPGKA PKLLIFAIKRLQDGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATY YCLQGSKFPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	SEQ ID NO: 52
LCDR1	cgaacgagcgaggacataactcaaacttgca	SEQ ID NO: 103
LCDR2	gcgataaagaggctgcaagac	SEQ ID NO: 104
LCDR3	ttgcaaggctccaaatttcccctgaca	SEQ ID NO: 105
VL	gacatccaaatgactcaaagcccacatcatcgctatcggcacg tcggggatagagtcacgataacatgccgaacgagcgaggacat atactcaaacttgcatggtatcaacaaaagccgggggaaggcc ccgaagctactgatattcgcgataaagaggctgcaagacggag ttccatcacgattttcgggatctggctcggggaccgattttac gctgactatatcatcgctgcaaccggaagattttgcaacatac	SEQ ID NO: 106

[0304]

名称	序列	SEQ ID NO
	tactgcttgcaaggctccaaatttcccctgacattcggacaag gtaccaaggctcgagatcaaa	
hCIIId		
HCDR1	DYAMH	SEQ ID NO: 1
HCDR2	WINTYTGKPTYSQKFQG	SEQ ID NO: 16
HCDR3	AVFYGYTMDA	SEQ ID NO: 3
VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYAMHWVRQAPGQ RLEWMGWINTYTGKPTYSQKFQGRVTITRDTASTAYMELSSL RSEDTAVYYCARAVFYGYTMDAWGQGTLLVTVSS	SEQ ID NO: 34
重链	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYAMHWVRQAPGQ RLEWMGWINTYTGKPTYSQKFQGRVTITRDTASTAYMELSSL RSEDTAVYYCARAVFYGYTMDAWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGX X 是 R 或 K	SEQ ID NO: 47
HCDR1	gattatgcaatgcac	SEQ ID NO: 99
HCDR2	tggattaacacctacacgggcaagcccacatactccccaaaat tccaagga	SEQ ID NO: 100
HCDR3	gctgtattctatggatatacaatggatgcc	SEQ ID NO: 101
VH	caggtccaattagtcctaaagcggggcggaagtcaagaagccgg ggcgagcgtcaaagtctcatgcaaagcgagcggatacacatt tacggattatgcaatgcactgggtcaggcaagcaccgggacaa aggctggaatggatgggatggattaacacctacacgggcaagc ccacatactccccaaaattccaaggaagggtcacgataacgag agacacgagcgcgagcaccggaatggatgggatggattaacac ctacacgggcaagcccacatactccccaaaattccaaggaagg gtcacgataacgagagacacgagcgcgagcaccgtaccctggg caccgtctcgagc	SEQ ID NO: 102
LCDR1	RTSEDIYSNFA	SEQ ID NO: 18
LCDR2	SVNRLQD	SEQ ID NO: 19
LCDR3	LQGSKFPLT	SEQ ID NO: 11
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRTSEDIYSNFAWYQQKPGKA PKLLIYSVNRLQDGVPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATY YCLQGSKFPLTFGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 40
轻链	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRTSEDIYSNFAWYQQKPGKA PKLLIYSVNRLQDGVPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATY YCLQGSKFPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	SEQ ID NO: 53
LCDR1	cggacgagcaggatatttatcgaaactttgca	SEQ ID NO: 107
LCDR2	cagtcaatcggctacaagat	SEQ ID NO: 108
LCDR3	ctacaaggagcaaatccccgctgaca	SEQ ID NO: 84
VL	gacatccaaatgacgcaatcaccgagctcgctgagcgcacatctg tcggggaccgtgtcacaatcacatgccggacgagcaggatat ttattcgaaactttgcatggtatcaacaaaaaccgggcaaggct ccgaaacttttgattttattcagtcgaatcggctacaagatggcg tcccagccgatttagcgggagcggatcgggaaccgactttac gctgacgatatcatcgctacaaccggaggacttcgcgacttat	SEQ ID NO: 109

[0305]

名称	序列	SEQ ID NO
	tactgcctacaagggagcaaatccccgctgacattcggacaag gtaccaaggctcgagatcaaa	
hCIIe		
HCDR1	DYAMY	SEQ ID NO: 12
HCDR2	WINTYTGKPTYAQKFQG	SEQ ID NO: 15
HCDR3	AVFYGYTMDA	SEQ ID NO: 3
VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYAMYWVRQAPGQ RLEWMGWINTYTGKPTYAQKFQGRVTITRDTASTAYMELSSL RSEDTAVYYCARAVFYGYTMDAWGQGTLLTVSS	SEQ ID NO: 35
重链	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYAMYWVRQAPGQ RLEWMGWINTYTGKPTYAQKFQGRVTITRDTASTAYMELSSL RSEDTAVYYCARAVFYGYTMDAWGQGTLLTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGX X是R或K	SEQ ID NO: 48
HCDR1	gattacgcaatgtac	SEQ ID NO: 110
HCDR2	tggataaatatctatacgggaaagccaacatacgcccaaaaat tccaaggc	SEQ ID NO: 111
HCDR3	gccgtcttttatggatatacgatggacgca	SEQ ID NO: 112
VH	caggtccaactgggtccaatcgggggctgaagtcaaaaagccgg ggcgagcgtcaaagtcagctgcaaagcatcgggatacacatt tacggattacgcaatgtactgggtcaggcaagcaccggccaa cgactggaatggatgggctggataaatacctatacgggaaagc caacatacggcccaaaaattccaaggccgctcacaataacgcg ggacacgagcgcacgcagcgttatatggaactatcatcgctg cgatcggaagacacggcggtctattattgcgcacgcgcgctct tttatggatatacgatggacgcacatgggggcagggtaccctgg cacggtctcgagc	SEQ ID NO: 113
LCDR1	RASEDIYSNLA	SEQ ID NO: 4
LCDR2	SVKRLQD	SEQ ID NO: 5
LCDR3	LQGSNFPLT	SEQ ID NO: 6
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASEDIYSNLAAYQKPGKA PKLLIFSVKRLQDGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATY YCLQGSNFPLTFGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 38
轻链	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASEDIYSNLAAYQKPGKA PKLLIFSVKRLQDGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATY YCLQGSNFPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS YLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	SEQ ID NO: 51
LCDR1	agggcctccgaagacatctactccaacctggca	SEQ ID NO: 95
LCDR2	agcgtcaaaagactacaagat	SEQ ID NO: 96
LCDR3	ttgcaaggaagcaatttcccccttgact	SEQ ID NO: 97
VL	gacattcaaatgacgcaaagcccatcatcgctgagcgcacg tcggggatagagtcaccataacatgcagggcctccgaagacat ctactccaacctggcatggtatcaacaaaaaccggggaaggct ccgaagctgctgatatttagcgtcaaaagactacaagatggag taccgagccgattttcggaagcgggagcgggacggatttcac gctgaccatatcaagtttgcaaccggaggattttgcgacatac	SEQ ID NO: 98

[0306]

名称	序列	SEQ ID NO
	tattgcttgcaaggaagcaatttcccccttgactttcgggcaag gtaccaaggctcgagatcaaa	
hCII f		
HCDR1	DYAMH	SEQ ID NO: 1
HCDR2	WINAYTGKPTYAQKFQG	SEQ ID NO: 20
HCDR3	AVFYGYTMDA	SEQ ID NO: 3
VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYAMHWVRQAPGQ RLEWMGWINAYTGKPTYAQKFQGRVTITRDTSASTAYMELSSL RSEDTAVYYCARAVFYGYTMDAWGQGTLLTVSS	SEQ ID NO: 36
重链	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYAMHWVRQAPGQ RLEWMGWINAYTGKPTYAQKFQGRVTITRDTSASTAYMELSSL RSEDTAVYYCARAVFYGYTMDAWGQGTLLTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGX X是R或K	SEQ ID NO: 49
HCDR1	gactacgcaatgcac	SEQ ID NO: 114
HCDR2	tggattaatgcctacacggggaagccgacctacgcacaaaaat tccaagga	SEQ ID NO: 115
HCDR3	gccgtcttctatggatatacgaatggatgct	SEQ ID NO: 116
VH	caggtccaatttggtccaaagcggggcgaggtcaagaagccgg ggcgagcgtcaaaagtctcatgcaaggcaagcgatatacatt tacggactacgcaatgcactgggtccggcaagcccctgggcaa cggctggaatggatggatggattaatgcctacacggggaagc cgacctacgcacaaaaattccaaggacgagtcacgattacgcg ggatactagcgcgagcaccgcataatggagctaagctcgctg cgatctgaggataccgctgtatactactgcgcgagagccgtct tctatggatatacgaatggatgcttgggggcagggtaccctggg cacggtctcgagc	SEQ ID NO: 117
LCDR1	RASEDIYSNLA	SEQ ID NO: 4
LCDR2	SVKRLQD	SEQ ID NO: 5
LCDR3	LQGSNFPLT	SEQ ID NO: 6
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASEDIYSNLAHYQQKPGKA PKLLIYSVKRLQDGVPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATY YCLQGSNFPLTFGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 41
轻链	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASEDIYSNLAHYQQKPGKA PKLLIYSVKRLQDGVPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATY YCLQGSNFPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS YLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	SEQ ID NO: 54
LCDR1	cgagcttcggaggacatctatagcaacttggt	SEQ ID NO: 118
LCDR2	agcgtcaaaaggctccaagac	SEQ ID NO: 119
LCDR3	ctacaaggctctaacttcccattgaca	SEQ ID NO: 120
VL	gatatccaaatgacgcaatcaccatctagcctatcggcctctg tgggggaccgagtcaccatcacatgccgagcttcggaggacat ctatagcaacttggttggtatcaacaaaagccggggaaagca ccaaagctgctgatatatagcgtcaaaaggctccaagacggag tcccaagccgattctcgggctccggctccgggacggattttac gctgacaatttcgagcctgcaaccggaggactttgcaacctac	SEQ ID NO: 121

[0307]

名称	序列	SEQ ID NO
	tattgcctacaaggctctaacttcccattgacatttgggcaag gtaccaaggctcgagatcaaa	
hCIIg		
HCDR1	DYAMH	SEQ ID NO: 1
HCDR2	WINAYTGKPTYAQKFQG	SEQ ID NO: 20
HCDR3	AVFYGYTMDA	SEQ ID NO: 3
VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYAMHWVRQAPGQ RLEWMGWINAYTGKPTYAQKFQGRVTITRDTASTAYMELSSL RSEDTAVYYCARAVFYGYTMDAWGQGTLLVTVSS	SEQ ID NO: 36
重链	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYAMHWVRQAPGQ RLEWMGWINAYTGKPTYAQKFQGRVTITRDTASTAYMELSSL RSEDTAVYYCARAVFYGYTMDAWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGX X是R或K	SEQ ID NO: 49
HCDR1	gactacgcaatgcac	SEQ ID NO: 114
HCDR2	tggattaatgcctacacggggaagccgacctacgcacaaaaat tccaagga	SEQ ID NO: 115
HCDR3	gccgtcttctatggatatacatgcatgcatgct	SEQ ID NO: 116
VH	caggtccaatttggtccaaagcggggcgaggtcaagaagccgg ggcgagcgtcaaatgctcatgcaaggcaagcgatatacatt tacggactacgcaatgcactgggtccggcaagcccctgggcaa cggctggaatggatggatggattaatgcctacacggggaagc cgacctacgcacaaaaattccaaggacgagtcacgattacgcg ggatactagcgcgagcaccgcatatatggagctaagctcgctg cgatctgaggataccgctgtatactactgcgcgagagccgtct tctatggatatacatgcatgcttgggggcagggtaccctgggt cacgggtctcgagc	SEQ ID NO: 117
LCDR1	RTSEDIYSNFA	SEQ ID NO: 18
LCDR2	SVNRLQD	SEQ ID NO: 19
LCDR3	LQGSKFPLT	SEQ ID NO: 11
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRTSEDIYSNFAWYQQKPGKA PKLLIYSVNRLQDGVPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATY YCLQGSKFPLTFGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 40
轻链	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRTSEDIYSNFAWYQQKPGKA PKLLIYSVNRLQDGVPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATY YCLQGSKFPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	SEQ ID NO: 53
LCDR1	cggacgagcagaggatatttatcgaactttgca	SEQ ID NO: 107
LCDR2	cagtcaatcggctacaagat	SEQ ID NO: 108
LCDR3	ctacaaggagcaaatccccgctgaca	SEQ ID NO: 84
VL	gacatccaaatgacgcaatcaccgagctcgctgagcgcacatctg tcggggaccgtgtcacaatcacatgccggacgagcagaggatat ttattcgaactttgcatggtatcaacaaaaaccgggcaaggct ccgaaacttttgattttattcagtcaatcggctacaagatggcg tcccagccgatttagcgggagcggatcgggaaccgactttac gctgacgatatcatcgctacaaccggaggacttcgcgacttat	SEQ ID NO: 109

[0308]

名称	序列	SEQ ID NO
	tactgcctacaagggagcaaatccccgctgacattcggacaag gtaccaaggtcgagatcaaa	
hCIIh		
HCDR1	DYAMY	SEQ ID NO: 12
HCDR2	WINAYTGKPTYAQKFQG	SEQ ID NO: 20
HCDR3	AVYYGYTMDA	SEQ ID NO: 8
VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYAMYWVRQAPGQ RLEWMGWINAYTGKPTYAQKFQGRVTITRDTASTAYMELSSL RSEDTAVYYCARAVYYGYTMDAWGQGTLVTVSS	SEQ ID NO: 37
重链	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYAMYWVRQAPGQ RLEWMGWINAYTGKPTYAQKFQGRVTITRDTASTAYMELSSL RSEDTAVYYCARAVYYGYTMDAWGQGTLVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGX X 是 R 或 K	SEQ ID NO: 50
HCDR1	gactacgctatgtat	SEQ ID NO: 122
HCDR2	tggattaatgcctacaccgggaagccgacttatgcgcaaaaat ttcaagga	SEQ ID NO: 123
HCDR3	gcggtctactatggatatacatgacgacgca	SEQ ID NO: 124
VH	caggtccaactgggttcaatctggagcgggaagtcaagaagcccg gagcatccgtcaaagtctcgtgcaaggcatctggatacacatt caccgactacgctatgtattgggtccggcaagcccccgacaa cggctggaatggatgggatggattaatgcctacaccgggaagc cgacttatgcgcaaaaatttcaaggaagggtcacgattacgcg ggacacgagcgccctcaaccgcatacatggagctatcgagcctg cgaagcgaggacaccgcggtctactactgcgcgcgggcggtct actatggatatacatggacgcatgggggcagggtaccctgggt cacggtctcgagc	SEQ ID NO: 125
LCDR1	RASEDIYSNLA	SEQ ID NO: 4
LCDR2	SVKRLQD	SEQ ID NO: 5
LCDR3	LQGSNFPLT	SEQ ID NO: 6
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASEDIYSNLAHYQQKPGKA PKLLIYSVKRLQDGVPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATY YCLQGSNFPLTFGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 41
轻链	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASEDIYSNLAHYQQKPGKA PKLLIYSVKRLQDGVPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATY YCLQGSNFPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS YLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	SEQ ID NO: 54
LCDR1	cgagcttcggaggacatctatagcaacttggt	SEQ ID NO: 118
LCDR2	agcgtcaaaaggctccaagac	SEQ ID NO: 119
LCDR3	ctacaaggctctaacttcccattgaca	SEQ ID NO: 120
VL	gatatccaaatgacgcaatcaccatctagcctatcggcctctg tgggggaccgagtcaccatcacatgccgagcttcggaggacat ctatagcaacttggttggtatcaacaaaagccgggaaagca ccaaagctgctgatatatagcgtcaaaaggctccaagacggag tcccaagccgattctcgggctccggctccgggacggattttac gctgacaatttcgagcctgcaaccggaggactttgcaacctac	SEQ ID NO: 121

[0309]

名称	序列	SEQ ID NO
	tattgcctacaaggctctaacttcccattgacatttgggcaag gtaccaaggctcgagatcaaa	
hCIIi		
HCDR1	DYAMY	SEQ ID NO: 12
HCDR2	WINAYTGKPTYAQKFQG	SEQ ID NO: 20
HCDR3	AVYYGYTMDA	SEQ ID NO: 8
VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYAMYWVRQAPGQ RLEWMGWINAYTGKPTYAQKFQGRVTITRDTASTAYMELSSL RSEDTAVYYCARAVYYGYTMDAWGQGTLLTVSS	SEQ ID NO: 37
重链	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYAMYWVRQAPGQ RLEWMGWINAYTGKPTYAQKFQGRVTITRDTASTAYMELSSL RSEDTAVYYCARAVYYGYTMDAWGQGTLLTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGX X 是 R 或 K	SEQ ID NO: 50
HCDR1	gactacgctatgtat	SEQ ID NO: 122
HCDR2	tggattaatgcctacaccgggaagccgacttatgcgcaaaaat ttcaagga	SEQ ID NO: 123
HCDR3	gcggtctactatggatatacatgacgacgca	SEQ ID NO: 124
VH	caggtccaactgggttcaatctggagcggaagtcaagaagcccg gagcatccgtcaaagtctcgtgcaaggcatctggatacacatt caccgactacgctatgtattgggtccggcaagcccccgacaa cggctggaatggatgggatggattaatgcctacaccgggaagc cgacttatgcgcaaaaatttcaaggaagggtcacgattacgcg ggacacgagcgccctcaaccgcatacatggagctatcgagcctg cgaagcgaggacaccgcggtctactactgcgcgcgggcggtct actatggatatacatgacgcatgggggcagggtaccctgggt cacggtctcgagc	SEQ ID NO: 125
LCDR1	RASEDIYSNLA	SEQ ID NO: 4
LCDR2	SVKRLQD	SEQ ID NO: 5
LCDR3	LQGSNFPLT	SEQ ID NO: 6
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASEDIYSNLAHYQQKPGKA PKLLIFSVKRLQDGVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCLQGSNFPLTFGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 38
轻链	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASEDIYSNLAHYQQKPGKA PKLLIFSVKRLQDGVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCLQGSNFPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS YLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	SEQ ID NO: 51
LCDR1	agggcctccgaagacatctactccaacctggca	SEQ ID NO: 95
LCDR2	agcgtcaaaagactacaagat	SEQ ID NO: 96
LCDR3	ttgcaaggaagcaatttccccttgact	SEQ ID NO: 97
VL	gacattcaaatgacgcaaaagcccatcatcgctgagcgcatcgg tcggggatagagtcaccataacatgcagggcctccgaagacat ctactccaacctggcatggtatcaacaaaaaccggggaaggct ccgaagctgctgatatttagcgtcaaaagactacaagatggag taccgagccgattttcgggaagcgggagcgggacggatttcac gctgaccatatcaagtttgcaaccggaggattttgcgacatac	SEQ ID NO: 98

[0310]

名称	序列	SEQ ID NO
	tattgcttgcaaggaagcaatttcccccttgactttcgggcaag gtaccaaggctcgagatcaaa	
hCIIj		
HCDR1	DYAMY	SEQ ID NO: 12
HCDR2	WINAYTGKPTYAQKFQG	SEQ ID NO: 20
HCDR3	AVYYGYTMDA	SEQ ID NO: 8
VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYAMYWVRQAPGQ RLEWMGWINAYTGKPTYAQKFQGRVTITRDTASTAYMELSSL RSEDTAVYYCARAVYYGYTMDAWGQGTLLTVSS	SEQ ID NO: 37
重链	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYAMYWVRQAPGQ RLEWMGWINAYTGKPTYAQKFQGRVTITRDTASTAYMELSSL RSEDTAVYYCARAVYYGYTMDAWGQGTLLTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGX X是R或K	SEQ ID NO: 50
HCDR1	gactacgctatgtat	SEQ ID NO: 122
HCDR2	tggattaatgcctacaccgggaagccgacttatgcgcaaaaat ttcaagga	SEQ ID NO: 123
HCDR3	gcggtctactatggatatacatgacgacgca	SEQ ID NO: 124
VH	caggtccaactgggttcaatctggagcgggaagtcaagaagcccg gagcatccgtcaaagtctcgtgcaaggcatctggatacacatt caccgactacgctatgtattgggtccggcaagcccccgacaa cggctggaatggatgggatggattaatgcctacaccgggaagc cgacttatgcgcaaaaatttcaaggaagggtcacgattacgcg ggacacgagcgcctcaaccgcatacatggagctatcgagcctg cgaagcgaggacaccgcgtctactactgcgcgcgggcggtct actatggatatacatgacgcgatgggggcagggtaccctgggt cacggtctcgagc	SEQ ID NO: 125
LCDR1	RTSEDIYSNLA	SEQ ID NO: 17
LCDR2	AIKRLQD	SEQ ID NO: 14
LCDR3	LQGSKFPLT	SEQ ID NO: 11
VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRTSEDIYSNLAWYQQKPGKA PKLLIFAIKRLQDGVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCLQGSKFPLTFGQGTKVEIK	SEQ ID NO: 39
轻链	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRTSEDIYSNLAWYQQKPGKA PKLLIFAIKRLQDGVPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCLQGSKFPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDST YLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	SEQ ID NO: 52
LCDR1	cgaacgagcaggacataactcaaaccttgca	SEQ ID NO: 103
LCDR2	gcgataaagaggctgcaagac	SEQ ID NO: 104
LCDR3	ttgcaaggctccaaatttccccctgaca	SEQ ID NO: 105
VL	gacatccaaatgactcaaagcccatcatcgctatcggcacggt tcggggatagagtcacgataacatgccgaacgagcaggacat ataactcaaaccttgcatggtatcaacaaaagccggggaaggcc ccgaagctactgatattcgcgataaagaggctgcaagacggag ttccatcacgattttcgggatctggctcggggaccgattttac gctgactatatcatcgctgcaaccggaagattttgcaacatac	SEQ ID NO: 106
名称	序列	SEQ ID NO
	tactgcttgcaaggctccaaatttccccctgacattcggacaag gtaccaaggctcgagatcaaa	

[0311]

[0312] 进一步修饰实施例2至5中描述的抗体以在HC的C端含有LPQTGG标签(SEQ ID NO: 131)和/或在LC的C端含有GGGSLPQTGG标签(SEQ ID NO: 132)。在这种情况下,HC上的C端赖氨酸(K)被标签的Arg(R)取代。标签的添加没有改变抗体对CLDN18.2的亲合力和特异性。

[0313] 实施例2:ELISA测定和FC滴定以确认嵌合和人源化抗体变体对CLDN18.2的结合

[0314] 嵌合抗体和人源化抗体(hC1)对CLDN18.2的结合亲和力在ELISA测定中进行了测试,其中带有CLDN18.2的脂质颗粒作为抗原来源。CLDN18.2-脂质颗粒和空脂质颗粒(没有结合的抗原,作为阴性对照)用于以10U/ml的最终浓度包被96孔板。用PBS/0.05% Tween-20(PBS-T)清洗并在37℃下用PBS-T/3% BSA封闭至少1小时后,起始浓度为2μg/ml的测试抗体的1:3连续稀释物添加到包被的孔中并在37℃下温育至少1小时。通过结合HRP-山羊抗人二抗,以SIGMAFAST™ OPD作为过氧化物酶底物进行显影,通过加入2M H₂SO₄终止反应,然后在ELISA读板器上读取490nm处的OD,揭示了结合抗体的存在。代表性结合曲线显示于图1。本发明的所有测试抗体特异性结合含有CLDN18.2的脂质颗粒。有趣的是,与亲本嵌合cC11-1抗体相比,嵌合抗体的人源化并未导致亲和力降低,如可以预期,并且对于10种抗体中的6种,甚至增加了其亲和力。

[0315] 嵌合抗体和人源化抗体对CLDN18.2的结合也通过使用过表达CLDN18.2的PA-TU-8988S细胞(Creative Bioarray,目录号CSC-C0326)和HEK293T(ATCC,CRL-3216™)细胞的FC滴定来测试。FC滴定允许测量测试抗体的半数最大有效浓度(EC50)。通过FACS选择表达高水平CLDN18.2的PA-TU-8988S细胞。本文中,这些细胞被命名为PA-TU-8988S-High细胞。基于IMAB362的FACS染色,PA-TU-8988S细胞群表达不同水平的CLDN18.2,具有高水平 and 中等水平的表达(参见图2A)。为了具有更同质的细胞群,细胞通过FACS分选以仅选择具有较高CLDN18.2表达的细胞。简而言之,将悬浮在FACS缓冲液(PBS,2% FCS)中的PA-TU-8988S细胞与2μg/ml的IMAB362在冰上温育30分钟。在FACS缓冲液中清洗后,将细胞与PE标记的Fcγ特异性IgG山羊抗人二抗(eBioscience)在冰上温育30分钟。清洗后,将染色的细胞重悬于FACS缓冲液中,通过FACS Aria™仪器进行分析和分选,将中等表达细胞与高表达细胞分离(图2B)。在分选后,将收集的PA-TU-8988S-High细胞重悬于生长培养基中,扩增,并将冷冻等分保存于液氮中。如实施例3所述生成过表达CLDN18.2或CLDN18.1的HEK293T细胞,并通过流式细胞术分析CLDN18.2的表达(图3)。

[0316] 为了量化抗体与CLDN18.2的结合,将250x10³个细胞/孔的过表达CLDN18.2的HEK293T细胞或PA-TU-8988-High细胞接种到96-孔板中的FC缓冲液(PBS/2% FBS)中并通过离心沉降。IMAB362和待测的hC1抗体以20μg/ml稀释,然后按1:4连续稀释并在4℃下与分配的细胞温育30分钟。在用FC缓冲液清洗后,将PE偶联的抗人IgG二抗添加到细胞中,在4℃下再持续30分钟,然后用FC缓冲液进一步清洗。然后将细胞重悬于100μl FC缓冲液中,并用FACSCalibur™细胞分析仪(BD Biosciences,美国)进行测量。FC分析(参见图5和表4)表明,hC1抗体比IMAB362具有更高的EC50值,尽管其maxMFI值与IMAB362在相同的范围内。相似的maxMFI值可以指示IMAB362和hC1抗体的相似结合/解离速率。

[0317] 表4:所有hC1和IMAB362抗体上测量的对在过表达CLDN18.2的HEK293T细胞系和PA-TU-8988S-High细胞系的最大MFI和EC50(μg/ml)。

[0318]

抗体	HEK293T-CLDN18.2		PA-TU-8988S-High	
	Max MFI	EC50 (μg/ml)	Max MFI	EC50 (μg/ml)
IMAB362	1968	0.3878	1046	0.5082
hCl1a	1879	0.5976	1649	2.431
hCl1b	1859	0.5715	1724	1.984
hCl1c	1233	0.7531	1048	1.472
hCl1d	1642	0.5411	1530	1.933
hCl1e	1935	0.5583	1862	2.241
hCl1f	1721	0.7948	1602	2.144
hCl1g	1438	0.6779	1254	1.77
hCl1h	2076	0.4325	1949	1.75
hCl1i	2175	0.4437	2087	1.231
hCl1j	1848	0.4081	1705	1.157

[0319] 实施例3:稳定表达hCLDN18.1和hCLDN18.2的前B细胞L11细胞、BxPC-3和HEK293 T细胞的生成;嵌合抗体和人源化抗体的结合特异性的测试。

[0320] 前B细胞L11细胞系(Waldmeier等人2016)、BxPC-3(ATCC CRL-1687TM)细胞系以及HEK293T(ATCC CRL-3216TM)和A549(ATCC CCL-185TM)细胞系不内源性表达CLDN18.1或CLDN18.2。因此,为了测试抗体结合,将CLDN18.1或CLDN18.2在HEK293T和A549细胞系中重组过表达。通过用转座酶表达构建体(pcDNA3.1-hy-mPB),带有可转座的全长huCLDN18.1(pPB-Puro-huCLDN18.1)或huCLDN18.2(pPB-Puro-huCLDN18.2)以及嘌呤霉素抗性盒的构建体和携带EGFP的构建体作为转染对照(pEGFP-N3)(Waldmeier等人2016)电穿孔共转染细胞。电穿孔后,细胞在37℃的加湿培养箱中在生长培养基中恢复两天,对于L11细胞在7.5% CO₂气氛的情况下,对于HEK293T细胞和A549细胞在5% CO₂气氛的情况下。通过EGFP表达的FC分析来验证转染。然后将1μg/ml嘌呤霉素添加到培养物中来选择表达CLDN18.1或CLDN18.2的细胞,并进一步扩增以允许生成在含有10% DMSO的FCS中的冷冻原液。通过FC分析转染细胞中CLDN18.1和CLDN18.2的表达(参见图3)。简而言之,通过离心收集悬浮生长的经胰蛋白酶处理的HEK293T和A549细胞,以及L11细胞,重悬于PBS/2% FCS中,并使用IMAB362作为一抗在冰上以2μg/ml的浓度对CLDN18.2染色30分钟,然后在PBS/2% FCS中清洗,用抗人IgG(Fc γ 特异性)PE山羊抗体(eBioscience)作为二抗在冰上染色30分钟。进一步清洗后,使用FACSCaliburTM仪器分析重悬于冰冷FC缓冲液中的染色细胞(参见图4和图5)。未转染的亲本细胞不表达CLDN18.2,用作阴性对照。使用识别CLDN18.1和CLDN18.2的专有泛CLDN18抗体以类似方式分析CLDN18.1的表达(参见图3)。任何可用于流式细胞术测量的泛CLDN18抗体也适用,如OriGene Technologies提供的抗体抗密蛋白-18/CLDN18(C端)(目录号AP50944PU-N)、来自MyBioSource的CLDN18(C端)兔pAb(目录号MBS8555451)或来自ProSci的CLDN18抗体(目录号63-847)。

[0321] 因此,使用稳定表达huCLDN18.1和huCLDN18.2的L11和HEK293T细胞来测试嵌合抗体cCl1-1、cCl1-2、cCl1-3和人源化抗体对CLDN18.2而非CLDN18.1的结合特异性。使用2μg/ml的抗体将细胞在冰上染色30分钟,然后在PBS/2% FCS中清洗后,用抗人IgG(Fc γ 特异性)PE山羊抗体(eBioscience)作为二抗冰上染色30分钟。所有三种嵌合抗体(图4)和人源

化抗体(图5)均结合L11或HEK293T细胞表达的huCLDN18.2,而不结合huCLDN18.1。此外,人源化抗体与huCLDN18.2结合的亲和力与IMAB362相似,并且亲和力至少与cC11-1一样好(图5)。

[0322] 实施例4:通过对活体肿瘤组织和活体胃组织的流式细胞术测试人源化CLDN18.2抗体结合活性

[0323] A549(ATCC CCL-185TM)细胞系不内源性表达CLDN18.1或CLDN18.2。为了测试抗体与CLDN18.2的结合,在A549细胞中表达CLDN18.2。通过用转座酶表达构建体(pcDNA3.1-hy-mPB)(Klose等人2017),带有可转座的全长huCldn18.2(pPB-Puro-huCldn18.1)以及嘌呤霉素表达盒的构建体和携带EGFP的构建体作为转染对照(pEGFP-N3)(Waldmeier等人2016)电穿孔共转染A549细胞。电穿孔后,让细胞在37℃、5% CO₂气氛的加湿培养箱中的生长培养基中恢复两天。通过EGFP表达的FC分析来验证转染。然后将1μg/ml嘌呤霉素添加到培养物中来选择表达CLDN18.1或CLDN18.2的细胞,并进一步扩增以允许生成在含有10% DMSO的FCS中的冷冻原液。通过FC分析转染细胞中CLDN18.2的表达。简而言之,通过离心收集胰蛋白酶处理的A549细胞,重悬于PBS/2% FCS中并使用IMAB362作为一抗在冰上以2μg/ml的浓度对CLDN18.2染色30分钟,然后在PBS/2% FCS中清洗后,用2.5μg/ml抗人IgG(Fcγ特异性)PE山羊抗体(eBioscience)作为二抗在冰上染色30分钟。进一步清洗后,使用FACSCaliburTM仪器分析重悬于冰冷FC缓冲液中的染色细胞(参见图6)。未转染的亲本细胞不表达CLDN18.2,用作阴性对照。这些细胞于2019年12月6日保藏于DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH Inhoffenstr.7B 38124Braunschweig DE,可在登录号DSM ACC3360下获得。

[0324] 将在100μl 50% Matrigel中表达CLDN18.2的1x10⁶ A549细胞皮下植入两只Balb/c小鼠,并在数周内监测肿瘤生长,直至肿瘤达到150-450mm³之间的期望大小。收集健康的胃组织和肿瘤组织用于FC分析。将收集的组织切成小块并用Miltenyi肿瘤分离试剂盒(MACS Miltenyi Biotec,德国)消化。将组织块与解离缓冲液(根据制造商说明制备)在6孔板中37℃下在持续的轻柔震荡运动下温育30分钟。将样品重悬并通过70μm细胞过滤器(Corning,美国)过滤,然后用20ml FC缓冲液(PBS+2% FBS)清洗。将细胞悬液离心(在4℃下400g 5分钟)并弃去上清液。如果需要,将细胞悬液通过过滤器并反复离心,将沉淀物重悬于5ml红细胞裂解缓冲液(Biolegend,美国)中,在冰上温育4分钟。温育后,加入25ml PBS,再次离心悬浮液(4℃下400g 5分钟)。将沉淀物重悬于FC缓冲液中(基于沉淀0.5-3ml)。将相等数量的细胞转移到96孔板中并进一步处理用于FC分析。用PBS清洗板中的细胞并离心(在4℃下400g 2分钟)。将沉淀物重悬于50μl/孔的染色混合物中,该混合物由在PBS中稀释的所选抗体(4μg/ml的cC11-1、hC11a、hC11b、hC11c和hC11f;2μg/ml的IMAB364)和AF488标记的AE1/AE3泛细胞角蛋白抗体(Thermo Fisher Scientific,美国)组成,并在冰上温育25分钟。温育后,细胞在PBS中清洗两次并离心(在4℃下400g 2分钟)。将沉淀物重悬于50μl/孔的二次染色混合物(PBS+PE标记的抗人抗体)(Thermo Fisher Scientific,美国)中,并在冰上温育25分钟。温育后,细胞在PBS中再次清洗两次。将沉淀物重悬于100μl含有DAPI的PBS中。将板保持在冰上直至FC分析。对于FC分析,通过前向散射和DAPI染色将活细胞与死细胞分离。然后对活细胞进行门控以确定是否存在细胞角蛋白(AF888阳性)和结合的CLDN18.2抗体(PE阳性细胞)。FC分析结果可以参见图7和表5。结果是从两只小鼠获得

的数据的平均值。

[0325] 所有测试的抗体(cC11-1、hC11a、hC11b、hC11c、hC11f和IMAB364)结合相似百分比(约在20%和30%之间)的带有CLDN18.2的肿瘤细胞。然而,令人惊讶的是,只有IMAB362与带有CLDN18.2的健康胃细胞结合,而cC11-1、hC11a、hC11b、hC11c和hC11f的结合几乎无法检测到,结合不到1%的健康胃细胞。源于注射的表达CLDN18.2的A549细胞的肿瘤细胞与健康胃细胞中表达的CLDN18.2之间的结合能力差异也表示为阳性肿瘤细胞%除以阳性胃细胞%的比率(参见表5中的最后一列)。对于IMAB362,该比率低于5,平均而言接近1,而对于测试的cC11-1人源化克隆(hC11a、hC11b、hC11c和hC11f),该比率高于15,平均而言高于30。

[0326] 表5:FC结合数据和所选抗体对健康胃细胞和肿瘤细胞的结合比率。

[0327]

阳性肿瘤细胞的%			阳性健康胃细胞的%			肿瘤/胃比率		
----------	--	--	-----------	--	--	--------	--	--

[0328]

	小鼠 1	小鼠 2	平均	小鼠 1	小鼠 2	平均	小鼠 1 比率	小鼠 2 比率	平均比 率
cC11-1	37	15	26	0.4	0.3	0.35	92.5	50	74.3
hC11a	34	18	26	1.2	0.3	0.75	28.3	60	34.7
hC11b	43	17	30	1	0.13	0.565	43	130.7	53.1
hC11c	29	8	18.5	0.1	0.4	0.25	290	20	74
hC11f	32	14	23	0.04	0.1	0.07	800	140	328.6
IMAB362	33	11	22	13	37	25	2.53	0.29	0.88

[0329] 因此,与健康胃细胞相比,cC11-1和测试的cC11-1人源化克隆(hC11a、hC11b、hC11c和hC11f)显示出与肿瘤细胞的结合增加,因此是肿瘤特异性CLDN18.2抗体。相比之下,IMAB362无法区分带有CLDN18.2的肿瘤细胞和带有CLDN18.2的健康胃细胞。

[0330] 实施例5:通过在冷冻组织样品上的免疫组织化学(IHC)测试人源化CLDN18.2抗体

[0331] 从皮下植入1x10⁶个表达CLDN18.2的A549细胞的Balb/c小鼠获得的表达CLDN18.2的新鲜胃和肿瘤组织样品在合适的组织模具中的OCT中速冻。在-20℃下用低温恒温器切割5-15μm厚的组织切片,在室温(RT)下转移到显微镜载玻片上,随后保持冷冻直至IHC染色。染色前,将载玻片放回室温并在预冷的丙酮(-20℃)中固定10分钟。在室温下蒸发丙酮后,将载玻片在TBS中冲洗并处理以封闭非特异性染色位点:将载玻片在0.3% H₂O₂中室温温育15分钟,然后用TBS清洗并在过氧化物酶封闭溶液(Agilent,美国)中室温下温育60分钟。封闭后,对载玻片进行抗体染色处理:将载玻片与一抗(hC11a、hC11b、hC11c、hC11f、IMAB362和34H14L15泛CLDN18抗体(Abcam,美国))在室温下温育120分钟,在TBS中清洗,然后与HRP缀合的抗人抗体(或泛CLDN18抗体的抗兔抗体)在室温下温育30分钟。根据制造商的说明,通过用DAB+底物Chromogen系统(Agilent,美国)处理载玻片,揭示与组织切片上的CLDN18.2或泛CLDN18结合的抗体。在随后的TBS清洗后,载玻片在苏木精中复染,在dH₂O中冲洗15分钟,在连续的95%和100%乙醇清洗中脱水,然后在二甲苯中进一步清洁载玻片。最后,用盖玻片将载玻片安装在甘油封固剂(Agilent,美国)中。健康小鼠胃组织和小鼠肿瘤组织染色的代表性显微镜图像可以分别在图8和图9中找到。

[0332] 图8显示了健康胃组织的代表性染色。在与hC11a、hC11b、hC11c和hC11f(分别为图

A、B、C和D)共染色的组织中,仅可见细胞核的苏木精染色,而与IMAB362共染色的组织(图E)显示了膜CLDN18.2 DAB染色。因此,与表达CLDN18.2的健康胃组织结合的IMAB362相比,测试的cC11-1的人源化克隆(hCL1a、hCL1b、hCL1c和hCL1f)不结合表达CLDN18.2的健康胃组织。此外,图9显示了肿瘤组织的代表性染色,图A、B、C和D分别是用hCL1a、hCL1f、IMAB362和Abcam 34H14L15泛CLDN18抗体染色的肿瘤组织的代表性图像。所有用测试抗体染色的肿瘤都显示出强烈的膜CLDN18.2 DAB染色。与IMAB362或泛CLDN18抗体类似,测试的cC11-1的人源化克隆(hCL1a和hCL1f)结合表达CLDN18.2的小鼠肿瘤组织。因此,相较于表达CLDN18.2的健康胃组织,cC11-1的人源化克隆表现出与表达CLDN18.2的肿瘤组织的结合增加。

[0333] 实施例6:人源化抗体(hC1)变体和IMAB362的Asn脱酰胺化和Asp异构化倾向分析

[0334] Asn(N)残基的脱酰胺化和Asp(D)残基的异构化作用可能发生在生物制药制备、储存或临床应用(体内)过程中。脱酰胺化和异构化可能导致蛋白质结构、功能、活性、稳定性和免疫原性的潜在变化。因此,必须将其最小化和控制,特别是在监管环境中。可以在计算机上分析Asn脱酰胺化和Asp异构化基序的存在。最常见的Asn脱酰胺化基序是NG基序,而最常见的Asp异构化基序是DG基序。

[0335] 此类计算机分析表明,所有的hC1抗体在VL的第二个CDR中都具有潜在的DG Asp异构化基序,并且hC1抗体或IMAB362无一在其CDR中具有潜在的NG脱酰胺化基序。为了验证计算机的预测,对hC1抗体和IMAB362在高pH或低pH和热条件下进行应激,以加速制备过程和长期储存期间可能发生的修饰。简而言之,用Amicon离心过滤器将抗体样品缓冲液交换为20mM磷酸钠缓冲液pH 8.0用于Asn脱酰胺化应激测试,或20mM柠檬酸盐缓冲液、pH 5.5用于Asp异构化应激测试,并将样品稀释至终浓度为3.0mg/ml。将30μl样品在具有加热防冷凝盖的加热块中于40℃下温育1周(Asn-脱酰胺化)或2周(Asp-异构化)。应激处理和无应激处理的样品储存于-80℃。通过强阳离子交换(SCX)色谱分析样品的Asn脱酰胺化和Asp异构化。在SCX色谱图中,Asn的脱酰胺化导致主峰之前的峰面积(bM)增加,而在SCX色谱图中,Asp异构化导致主峰之后的峰面积(aM)增加(Du等人2012)。SCX色谱在MAbPac SCX-10柱(ThermoFisher Scientific,Basel,瑞士)上运行,缓冲液A为pH 4.0,缓冲液B为pH 11.0。流速为0.5ml/min,pH梯度为30-80%缓冲液B。将20μl缓冲液A中的10μg样品进样到柱中。通过280nm处的蛋白质吸光度进行样品检测。hC1抗体仅显示bM增加约27.9-32.2%(参见表6),这评定为不重要的。然而,IMAB362显示bM显著增加40.9%(参见表6),即使该抗体在可变域中没有NG基序。与本发明的抗CLDN18.2单克隆抗体相比,IMAB362在HC CDR3(氨基酸103-104)(SEQ ID NO:55)和LC CDR1(氨基酸31-32)(SEQ ID NO:56)位置具有两个NS基序。NS基序是脱酰胺化的第二最可能的基序。

[0336] 表6:mAB的脱酰胺化应激测试,强阳离子交换(SCX)色谱

[0337]

mAb	应激处理 是(+)/否(-)	bM 比例(%)	应激测试后 bM 增加比例 (%)
hC11a	-	20.9	27.9
	+	48.8	
hC11b	-	19.7	29.1
	+	48.8	
hC11c	-	19.4	31.2
	+	50.6	
hC11d	-	18.2	32.2
	+	50.4	
hC11e	-	21.4	28.1
	+	49.5	
hC11f	-	18.7	28.9
	+	47.6	
hC11g	-	18.8	28.6
	+	47.4	
hC11h	-	17.5	31.6
	+	49.1	
hC11i	-	20.5	30.0
	+	50.5	
hC11j	-	20.2	30.0
	+	50.2	
IMAB362	-	26.0	40.9
	+	66.9	

[0338] Asn-脱酰胺化应激测试对hC11a、hC11i和IMAB362与CLDN18.2的结合亲和力的影响在ELISA测定中进行了测试,其中带有CLDN18.2的脂质颗粒作为抗原来源。CLDN18.2-脂质颗粒和空-脂质颗粒(无抗原)用于在100mM碳酸钠,pH 9.6中以10U/ml的终浓度包被96孔板。用PBS/0.05% Tween-20(PBS-T)清洗并在37℃下用PBS-T/3% BSA封闭至少1小时后,添加起始浓度2μg/ml的hC1抗体的1:3连续稀释物并在37℃下温育至少1小时。通过结合HRP-山羊抗人二抗,以Sigma-Fast OPD作为过氧化物酶底物显色,通过添加2M H₂SO₄终止反应,并在ELISA读板器上以OD-490进行读数,揭示了结合抗体的存在。脱酰胺化应激测试后IMAB362 EC50值高出1.8倍(无应激处理参考:EC50为51.5ng/ml,应激处理:EC50为95.09ng/ml)(参见图10)。这可能与脱酰胺化应激测试后SCX中40.9%的bM增加有关(参见表6)。确认SCX Asn脱酰胺化结果,在对hC11a和hC11i进行脱酰胺化应激测试后,未观察到抗原结合的显著差异(参见表6)。因此,脱酰胺化应激测试表明,与IMAB362相比,hC1抗体更不易于脱酰胺化和潜在的降低的靶结合,并且可以预见在制备、储存和临床应用(体内)期间更稳定,从而产生更均匀和活性的抗体/产品。

[0339] 尽管所有hC1抗体在VL的第2个CDR和HC的CH2和CH3域中具有潜在的DG Asp异构化基序(VL-CDR2(位置62)、CH2(位置282)、CH3(位置403)),Asp异构化应激测试没有显示Asp异构化(参见表7),这与Du等人(Du等人2012)的预测相反。无应激处理的样品(IMAB362除外)的aM值已经明显较高。这可能是由于重链的赖氨酸剪切(clipping)变体。IMAB362是无应激处理样品中唯一没有高aM的抗体。IMAB362是唯一测试的不含C端Lys的抗CLDN18.2抗体,这意味着对于hC1抗体,C端Lys剪切是无应激处理和应激处理样品中aM增加的最可能原因。

[0340] 表7:mAb的Asp异构化应激测试,强阳离子交换(SCX)色谱

[0341]	mAb	应激处理 是(+)/否(-)	aM 比例(%)	应激测试后 aM 增加比例 (%)
	hCIIa	-	45.1	-6.5
		+	38.6	
	hCIIb	-	45.2	-5.7
		+	39.5	
	hCIIc	-	40.3	-2.3
		+	38.1	
[0342]	mAb	应激处理 是(+)/否(-)	aM 比例(%)	应激测试后 aM 增加比例 (%)
	hCIIId	-	41.3	-4.6
		+	36.7	
	hCIIe	-	44.4	-4.2
		+	40.2	
	hCIIIf	-	43.5	-1.8
		+	41.7	
	hCIIg	-	44.5	-6.4
		+	38.0	
	hCIIh	-	43.2	-4.7
		+	38.5	
	hCIIi	-	44.1	-4.6
		+	39.5	
	hCIIj	-	43.7	-7.7
		+	36.0	
	IMAB362	-	1.5	4.1
		+	5.6	

[0343] 实施例7:用分选酶介导的缀合将mAb与甘氨酸修饰的毒素缀合以形成ADC。

[0344] 分选酶A酶:如W02014140317A1中所公开在大肠杆菌中产生来自金黄色葡萄球菌的重组和亲和力纯化的分选酶A酶。

[0345] 甘氨酸修饰的毒素的生成:双甘氨酸修饰的EDA-蒽环类衍生物GG-EDA-PNU-159682(也参见图25)由美国圣地亚哥的Levena Biopharma制造。此处合成毒素PNU-159682以已经包含不可切割的接头EDA和寡肽接头GG。通过质谱法和HPLC证实甘氨酸修饰的毒素的身份和纯度。如通过HPLC色谱所测定,甘氨酸修饰的毒素显示出>95%纯度。

[0346] 分选酶介导的抗体缀合:使上述毒素与如表3的在重链和轻链或仅轻链LPQTG标签化抗CLDN18.2抗体,以及比较性抗体(IMAB362,CD30特异性抗体AC10)缀合。或者,使毒素仅与抗体的轻链缀合。通过将20 μ M的重链和轻链或仅轻链LPQTG标签化mAb与在缀合缓冲液(50mM HEPES pH 7.5、150mM NaCl、1mM CaCl₂、10%甘油)中的100 μ M的甘氨酸修饰的毒素和4 μ M的分选酶在25 $^{\circ}$ C温育3.5小时或在4 $^{\circ}$ C温育过夜,使抗体与毒素缀合。反应通过穿过rProtein AGraviTrap柱(GE Healthcare)来终止。使用36柱体积的清洗缓冲液(25mM HEPES pH 7.5、150mM NaCl、10% (v/v)甘油)来清洗柱。使用5柱体积的洗脱缓冲液(0.1M甘氨酸pH2.7、50mM NaCl、10% (v/v)甘油)来洗脱结合的缀合物,将0.5柱体积的级分收集到含有1M HEPES pH 8的管中以中和酸。将含有蛋白质的级分合并并使用Zeba Spin(Thermo Fisher)脱盐柱在组氨酸缓冲液(15mM组氨酸,pH 6.5,175mM蔗糖,0.02% Tween 20)中配

制。使用Pierce大容量内毒素去除树脂(Pierce High Capacity Endotoxin Removal Resin)(Thermo Fisher)去除内毒素,并通过0.22 μ m过滤器进行无菌过滤。通过UV-可见光谱术测量ADC的最终浓度。

[0347] 如W02016/166122(实施例1,第3节,第75至76页)中所公开生成ADC IMAB362-MC-vc-PAB-MMAE。

[0348] ADC分析:通过使用在0.1% TFA/3% CH₃CN/H₂O和0.1% TFA/CH₃CN之间的9分钟线性梯度(25至40%)随后4分钟线性梯度(40-75%),在PLRP-S, 300 Å, 2.1×150mm, 3 μ m柱(Agilent)上在60℃以0.7ml/min执行反相色谱术来评估DAR。首先,样品首先通过与10% v/v 0.5M DTT, pH 8.0在37℃温育15分钟以还原。所有生成的ADC具有DAR LC=2或DAR HC-LC=4。实施例8:基于抗CLDN18.2抗体的ADC对表达CLDN18.2的细胞的体外细胞毒性测定[数据来自NBET' 2483]

[0349] 在实施例8和随后的实施例9中,式[抗体]-HC-LC-PNU的ADC为其中该抗体在重链和轻链处与毒素PNU-159682缀合的ADC,且具有DAR=4;式[抗体]-HC-PNU或式[抗体]-LC-PNU的ADC分别在重链和轻链处与毒素PNU-159682缀合且具有DAR=2。所有这些ADC也具有-LPQTGG-寡肽接头和乙二胺不可切割的接头。式[抗体]-LC-PNU的ADC的结构可参见图25。

[0350] 使用A549细胞或HEK293T细胞或经工程化以过表达hCLDN18.2的BxPC-3(参见实施例3和4)或内源性表达hCLDN18.2的PA-TU-8988S-High细胞(参见实施例2)来研究抗CLDN18.2 ADC的细胞毒性并与IMAB362-HC-G2-PNU、IMAB362-LC-G2-PNU、IMAB362-HC-LC-G2-PNU或IMAB362-MC-vc-PAB-MMAE进行比较。使用经工程化以过表达hCLDN18.1的HEK293T和A549细胞(参见实施例3)来表明对CLDN18.2而非对CLDN18.1的特异性。

[0351] 简单地说,将1000个细胞/孔的A549细胞或HEK293T细胞、5000个细胞/孔的BxPC-3细胞或10000个细胞/孔的PA-TU-8988S-high细胞铺板在白色透明底部的96孔板(Greiner)(不包括含有水的边缘孔)中的75 μ l DMEM高葡萄糖、10% FCS、100IU/ml Pen/Step/两性霉素B(Fungizone)、2mM L-谷氨酰胺中,并使细胞在37℃下7.5% CO₂气氛的加湿培养箱中生长。温育一天后,将各ADC添加在各个孔中,其量为25 μ l的在完全生长培养基中的4倍连续稀释物以导致对于A549细胞,ADC浓度为5000至0.076ng/ml,对于HEK293-T细胞,ADC浓度为1000至0.015ng/ml,对于BxPC-3细胞,ADC浓度为20000至0.25ng/ml且对于PA-TU-8988S细胞,ADC浓度为20000至0.31ng/ml。再过4天后,将板从培养箱中取出并平衡至室温。约30分钟后,向每个孔添加50 μ l的CellTiter-Glo® 2.0 Luminescent溶液(Promega)。将板在450rpm摇动5分钟,然后在不摇动的情况下温育10分钟后,在Tecan Spark 10M读板器上测量发光,积分时间为每孔250ms。使用Graphpad Prism软件来拟合发光相对于ADC浓度(ng/ml)的曲线(参见图11至19)。

[0352] 体外细胞毒性测定表明无论是仅在HC处、仅在LC处或在HC和LC两者处缀合的cC11-1、cC11-2和cC11-3均显示出相比于以相当方式缀合的IMAB362和IMAB362-MC-vc-PAB-MMAE,对过表达CLDN18.2的HEK293T细胞(参见图11)、过表达CLDN18.2的BxPC-3细胞(参见图13)、过表达CLDN18.2的A549细胞(参见图14)或PA-TU-8988S-High细胞(参见图16)具有更好的细胞毒活性,而在过表达CLDN18.1的HEK293T细胞(参见图12)或过表达CLDN18.1的A549细胞(参见图15)中仅在非常高浓度的ADC上观察到细胞毒活性。对过表达CLDN18.1的细胞的任何细胞毒活性都归因于高至少1000倍的毒素浓度,且仅在DAR4缀合物

(在抗体重链和轻链处缀合的毒素)中观察到。同样地,基于不靶向CLDN18.2的Ac10抗体的对照ADC仅在非常高浓度的ADC下具有细胞毒活性(参见图14、15)。

[0353] 体外细胞毒性测定也表明基于抗体hC11a至hC11j(仅在LC具有缀合的毒素(产生DAR 2))的ADC对过表达CLDN18.2的A549细胞(参见图17)、过表达CLDN18.2的HEK293T细胞(参见图18)或PA-TU-8988S细胞(参见图20)均相比于同样具有在LC处缀合的毒素的基于IMAB362的ADC更优异的细胞毒活性。基于抗体hC11a至hC11j的ADC的细胞毒活性对过表达CLDN18.2的细胞具有选择性,它们对过表达CLDN18.1的HEK293T细胞不具有细胞毒活性(参见图19)。

[0354] 使用Prism软件的内置“log(抑制剂)vs.响应-可变斜率(四参数)” EC_{50} 测定函数测定的在其LC处缀合的人源化抗体的 EC_{50} 值,报告于表9中。

[0355] 表9:基于体外细胞毒性测定的测试的ADC的 EC_{50} (ng/ml)值

细胞系 ADC	A549-CLDN18.2		HEK293T- CLDN18.2	PATU8988S-high	
hCL1a-LC-G2-PNU	4.8	4.4	2.4	56.5	83.0
hCL1b-LC-G2-PNU	6.4	4.4	2.1	64.3	96.8
hCL1c-LC-G2-PNU	30.0	30.6	6.1	727	1165
hCL1d-LC-G2-PNU	11.6	11.3	2.7	234	293
[0356] hCL1e-LC-G2-PNU	4.3	4.0	2.7	42.7	59.1
hCL1f-LC-G2-PNU	14.0	11.1	3.8	234.2	331.1
hCL1g-LC-G2-PNU	70.7	57.3	6.9	1753	2213
hCL1h-LC-G2-PNU	3.3	2.9	1.8	37.9	37.2
hCL1i-LC-G2-PNU	3.8	2.4	1.8	35.1	34.8
hCL1j-LC-G2-PNU	5.3	4.0	1.6	64.2	91.8
IMAB362-LC-G2-PNU	70.25	61.41	15.23	3071	4264

[0357] 总体而言,本发明全部具有高体外细胞毒性潜力,具有比IMAB362-LC-G2-PNU更高的细胞毒活性。

[0358] 实施例9:ADC hC11a-LC-G2-PNU和hC11f-LC-G2-PNU在患者衍生肿瘤异种移植模型中的体内功效的分析

[0359] 下列研究在Charles River GmbH(德国弗莱堡)进行。

[0360] 表10:用于评估抗CLDN18.2 ADC hC11a-LC-G2-PNU和hC11f-LC-G2-PNU的患者衍生肿瘤异种移植模型

[0361]

模型	小鼠品系和性别	肿瘤建立
GXA 3037(胃腺癌)	雌性 NMR1 裸鼠, 在 5 至 7 周龄植入	单侧皮下肿瘤植入。 随机化的肿瘤体积为 50 至 250 mm ³ (优选为 80 至 200 mm ³)
CXF742(结肠腺癌)		
PAXF2175(胰腺导管癌)		
LIXFC 2050(肺腺癌)		

[0362] 根据以下研究方案,在患者衍生肿瘤异种移植(PDX)模型中研究抗CLDN18.2 ADC hC11a-LC-G2-PNU、hC11a(LALA)-LC-G2和hC11f-LC-G2-PNU:

[0363] 表11:用于评估PDX模型中抗CLN18.2 hC11a-LC-G2-PNU、hC11a(LALA)-LC-G2和hC11f-LC-G2-PNU ADC的方案。

[0364]

PDX 模型	组	小鼠的数量	每日总剂量	给药天数	途径
GXA 3037	对照媒介物	3	5 ml/kg of 盐水	1, 8, 15	静脉内
	hC11a-LC-G2-PNU	3	0.6 mg/kg	1, 8, 15	静脉内
	hC11a-LC-G2-PNU	3	2 mg/kg	1, 8, 15	静脉内
	hC11a(LALA)-LC-G2-PNU	3	0.2 mg/kg	1, 8, 15	静脉内
	hC11f-LC-G2-PNU	3	0.6 mg/kg	1, 8, 15	静脉内
	hC11f-LC-G2-PNU	3	2 mg/kg	1, 8, 15	静脉内
	IMAB362-LC-G2-PNU	3	0.2 mg/kg	1, 8, 15	静脉内
	IMAB362-LC-G2-PNU	3	0.6 mg/kg	1, 8, 15	静脉内
	IMAB362-LC-G2-PNU	3	2 mg/kg	1, 8, 15	静脉内
CXF 742	对照媒介物	3	5 ml/kg of 盐水	1, 8, 15	静脉内
	hC11a-LC-G2-PNU	3	2 mg/kg	1, 8, 15	静脉内
	AC10-LC-G2-PNU (同种型对照)	3	2 mg/kg	1, 8, 15	静脉内

[0365]

PDX 模型	组	小鼠的数量	每日总剂量	给药天数	途径
PAXF 2175	对照媒介物	3	5 ml/kg of 盐水	1, 8, 15	静脉内
	hCl1a-LC-G2-PNU	3	0.2 mg/kg	1, 8, 15	静脉内
	hCl1a-LC-G2-PNU	3	0.6 mg/kg	1, 8, 15	静脉内
	hCl1a(LALA)-LC-G2-PNU	3	0.2 mg/kg	1, 8, 15	静脉内
	IMAB362-LC-G2-PNU	3	0.2 mg/kg	1, 8, 15	静脉内
LIXFC 2050	对照媒介物	3	5 ml/kg of 盐水	1, 8, 15	静脉内
	hCl1a-LC-G2-PNU	3	2 mg/kg	1, 8, 15	静脉内
	AC10-LC-G2-PNU (同种型对照)	3	2 mg/kg	1, 8, 15	静脉内

[0366] 将PDX材料经由皮下单侧植入小鼠中。当肿瘤达到随机化标准时,将小鼠分配在各组中并如表11中指示的使用ADC或媒介物进行处理,共3次。通过卡尺测量来测定肿瘤体积并每周二次记录体重。当肿瘤负荷达到2000mm³或体重显著减轻(总共超过30%,或在二天内超过20%)时,对小鼠进行安乐死。

[0367] 图20至23显示出在不同PDX模型中的研究间的相对肿瘤体积演变。用具有CLDN18.2表达的患者衍生肿瘤材料建立的肿瘤异种移植物对使用本发明的ADC进行的处理有显著响应。当以较低的剂量(0.2mg/kg或0.6mg/kg)施用,使用本发明的ADC的响应(延迟的肿瘤生长或肿瘤缩小)相比以相同剂量施用的基于抗CLDN18.2抗体IMAB362的类似ADC更优,并且在以2mg/kg的较高剂量施用是同等好的。

[0368] 实施方案

[0369] 1.具有通式A-(L-T)_n的抗体-药物缀合物,其中

[0370] a.A为与CLDN18.2结合的抗体或其片段,其包含分别为SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22和SEQ ID NO:23的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25和SEQ ID NO:26的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列,

[0371] b.L为接头,且

[0372] c.T为毒素,

[0373] 其中所述毒素为蒽环类,

[0374] 其中n为介于≥1和≤10之间的整数;

[0375] 或其药学上可接受的盐或酯。

[0376] 2.实施方案1的抗体-药物缀合物,其中所述接头L包含至少一种不可切割的接头

元件。

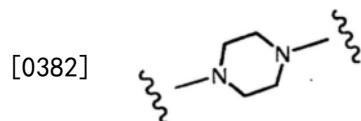
[0377] 3. 实施方案2的抗体-药物缀合物, 其中所述不可切割的接头元件选自:

[0378] i. 乙二胺(EDA),

[0379] j. N-甲酰基-N,N'-二甲基乙二胺,

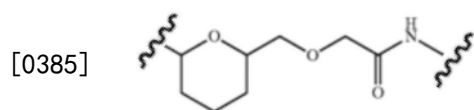
[0380] k. 二乙胺(DEA),

[0381] l. 下式的哌嗪衍生化合物:



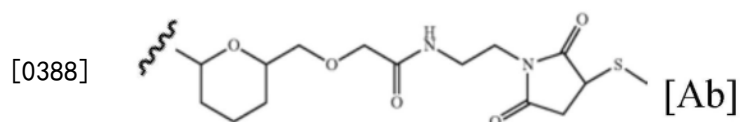
[0383] 其中波浪线表示与所述毒素和另一接头元件的附接,

[0384] m. 下式的化合物:



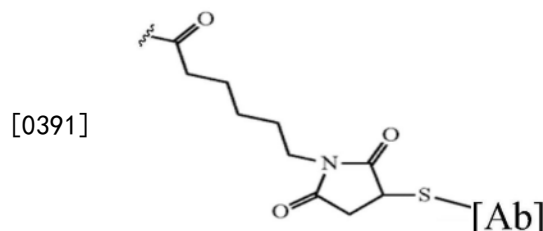
[0386] 其中波浪线表示与所述毒素和另一接头元件的附接,

[0387] n. 下式的化合物:



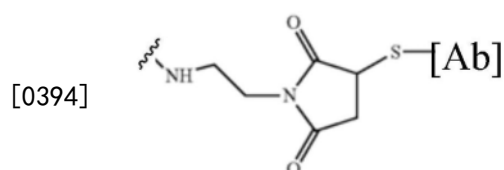
[0389] 其中波浪线表示与所述毒素的附接且[Ab]表示所述抗体或其片段,

[0390] o. 下式的马来酰亚胺基己酰基化合物:



[0392] 其中波浪线表示与另一接头元件的附接且[Ab]表示所述抗体或其片段,

[0393] p. 下式的化合物:



[0395] 其中波浪线表示与毒素的附接且[Ab]表示所述抗体或其片段,

[0396] 且其中所述不可切割的接头元件通过酰胺键或醚键与所述毒素缀合。

[0397] 4. 实施方案2或实施方案3的抗体-药物缀合物, 其中所述接头进一步包含寡肽接头元件和/或酶可切割的接头元件和/或间隔物元件。

[0398] 5. 实施方案4的抗体-药物缀合物, 其中一个寡肽接头元件包含选自以下的分选酶识别基序寡肽: -LPXTG_m-、-LPXAG_m-、-LPXSG_m-、-LAXTG_m-、-LPXTG_m-、-LPXTA_m-、-NPQTG_m-或-NPQTN_m-, 其中G_m为寡甘氨酸且m为介于≥1和≤21之间的整数, A_m为寡丙氨酸且m为介于≥1

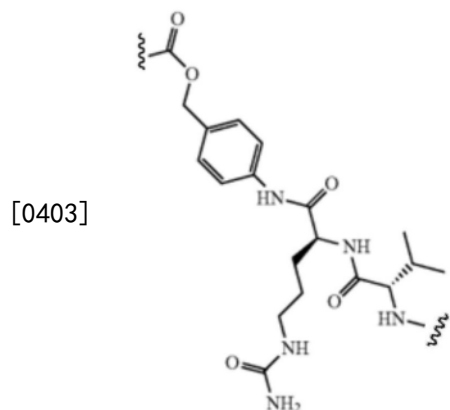
和 ≤ 21 之间的整数, N_m 为寡天冬酰胺且 m 为介于 ≥ 1 和 ≤ 21 之间的整数并且 X 为任何可能的氨基酸, 优选地, 所述分选酶识别基序寡肽为-LPQTGG-或-LPETGG-。

[0399] 6. 实施方案5的抗体-药物缀合物, 其中所述寡肽接头元件包含:

[0400] a. 序列SEQ ID NO:131, 或

[0401] b. 序列SEQ ID NO:132。

[0402] 7. 实施方案4至6中任一项的抗体-药物缀合物, 其中所述酶可切割的接头元件包含根据下式的化合物的val-cit-PAB接头:



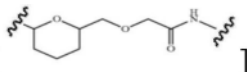
[0404] 其中波浪线表示与其他接头元件的附接。

[0405] 8. 实施方案4至7中任一项的抗体-药物缀合物, 其中所述间隔物元件包含肽类柔性寡肽, 优选地, 其中所述肽类柔性寡肽由G和S组成, 更优选地, 其中所述肽类柔性寡肽为(GGGGS)₀, 而 o 为1、2、3、4或5。

[0406] 9. 实施方案1至8中任一项的抗体-药物缀合物, 其中所述抗体-药物缀合物具有下列结构:

[0407] a. A-([寡肽接头元件-不可切割的接头元件]-T)_n且优选地, 其中所述接头选自:

[0408] i. [LPXTGG]-[乙二胺], 和

[0409] ii. [LPXTGG]-[];

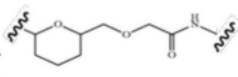
[0410] b. A-([寡肽接头元件-酶可切割的接头元件-不可切割的接头元件]-T)_n且优选地, 其中所述接头选自:

[0411] i. [LPXTGG]-[vc-PAB]-[N-甲酰基-N,N'-二甲基乙二胺], 和

[0412] ii. [LPXTGG]-[vc-PAB]-[哌嗪];

[0413] c. A-([间隔物元件-寡肽接头元件-不可切割的接头元件]-T)_n且优选地, 其中所述接头选自:

[0414] i. [GGGGS]-[LPXTGG]-[乙二胺], 和

[0415] ii. [GGGGS]-[LPXTGG]-[]; 或

[0416] d. A-([间隔物元件-寡肽接头元件-酶可切割的接头元件-不可切割的接头元件]-T)_n且优选地, 其中所述接头选自:

[0417] i. [GGGGS]-[LPXTGG]-[vc-PAB]-[N-甲酰基-N,N'-二甲基乙二胺], 和

[0418] ii. [GGGGS]-[LPXTGG]-[vc-PAB]-[哌嗪]。

[0419] 10. 实施方案9的抗体-药物缀合物, 其中所述不可切割的接头元件为乙二胺且其中所述寡肽接头元件为LPXTGG, 其中X为Q或E, 优选地, 其中X为Q。

[0420] 11. 实施方案1至10中任一项的抗体-药物缀合物, 其中

[0421] a. (L-T) 与所述抗体的两条轻链共价连接,

[0422] b. (L-T) 与所述抗体的两条重链共价连接, 或

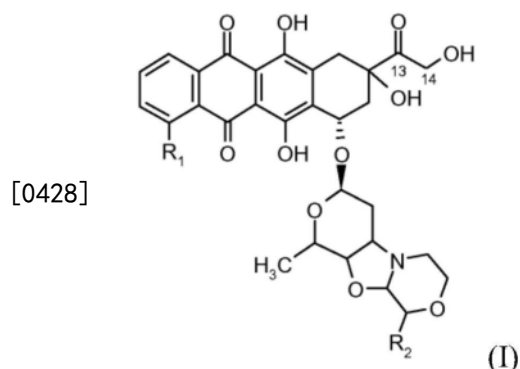
[0423] c. (L-T) 与所述抗体的两条轻链和两条重链共价连接。

[0424] 12. 实施方案1至11中任一项的抗体-药物缀合物, 其中 (L-T)

[0425] a. 与抗体轻链或抗体重链的C端连接, 或

[0426] b. 与抗体轻链或抗体重链的氨基酸侧链连接。

[0427] 13. 实施方案1至12中任一项的抗体-药物缀合物, 其中所述蒽环类衍生物具有下式(I), 且所述蒽环类衍生物通过C₁₃与所述不可切割的接头元件共价连接, 导致C₁₄和羟基的损失, 或所述蒽环类衍生物通过C₁₄上的羟基与所述不可切割的接头元件共价连接:



[0429] 且其中R₁为氢原子、羟基或甲氧基,

[0430] 且其中R₂为C₁-C₅烷氧基。

[0431] 14. 实施方案1至13中任一项的抗体-药物缀合物, 其中所述蒽环类衍生物为3'-去氨基-3'', 4'-脱水-[2'' (S)-甲氧基-3'' (R)-氧基-4''-吗啉基]阿霉素 (PNU-159682) 的衍生物。

[0432] 15. 实施方案1至14中任一项的抗体-药物缀合物, 其中所述抗体或其片段A包含:

[0433] a. 分别为SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:15和SEQ ID NO:3的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列, 以及分别为SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;

[0434] b. 分别为SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:16和SEQ ID NO:3的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列, 以及分别为SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;

[0435] c. 分别为SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:16和SEQ ID NO:3的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列, 以及分别为SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:14和SEQ ID NO:11的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;

[0436] d. 分别为SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:16和SEQ ID NO:3的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列, 以及分别为SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19和SEQ ID NO:11的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;

[0437] e. 分别为SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:15和SEQ ID NO:3的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列, 以及分别为SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;

[0438] f. 分别为SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:20和SEQ ID NO:3的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列, 以及分别为SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;

[0439] g. 分别为SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:20和SEQ ID NO:3的HCDR1、HCDR2和HCDR3序

- 列,以及分别为SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19和SEQ ID NO:11的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;
- [0440] h.分别为SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:20和SEQ ID NO:8的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;或
- [0441] i.分别为SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:20和SEQ ID NO:8的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:14和SEQ ID NO:11的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列。
- [0442] 16.实施方案1至14中任一项的抗体-药物缀合物,其中所述抗体或其片段A包含:
- [0443] a.分别为SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2和SEQ ID NO:3的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:6的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;
- [0444] b.分别为SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:8的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10和SEQ ID NO:11的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列;或
- [0445] c.分别为SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:2和SEQ ID NO:3的HCDR1、HCDR2和HCDR3序列,以及分别为SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14和SEQ ID NO:11的LCDR1、LCDR2和LCDR3序列。
- [0446] 17.实施方案1至15中任一项的抗体-药物缀合物,其中所述抗体或其片段A包含:
- [0447] a. SEQ ID NO:33的VH序列和SEQ ID NO:38的VL序列;
- [0448] b. SEQ ID NO:34的VH序列和SEQ ID NO:38的VL序列;
- [0449] c. SEQ ID NO:34的VH序列和SEQ ID NO:39的VL序列;
- [0450] d. SEQ ID NO:34的VH序列和SEQ ID NO:40的VL序列;
- [0451] e. SEQ ID NO:35的VH序列和SEQ ID NO:38的VL序列;
- [0452] f. SEQ ID NO:36的VH序列和SEQ ID NO:41的VL序列;
- [0453] g. SEQ ID NO:36的VH序列和SEQ ID NO:40的VL序列;
- [0454] h. SEQ ID NO:37的VH序列和SEQ ID NO:41的VL序列;
- [0455] i. SEQ ID NO:37的VH序列和SEQ ID NO:38的VL序列;或
- [0456] j. SEQ ID NO:37的VH序列和SEQ ID NO:39的VL序列。
- [0457] 18.实施方案1至14或16中任一项的抗体-药物缀合物,其中所述抗体或其片段A包含:
- [0458] a. SEQ ID NO:27的VH序列和SEQ ID NO:28的VL序列;
- [0459] b. SEQ ID NO:29的VH序列和SEQ ID NO:30的VL序列;或
- [0460] c. SEQ ID NO:31的VH序列和SEQ ID NO:32的VL序列。
- [0461] 19.实施方案1至15或17中任一项的抗体-药物缀合物,其中所述抗体或其片段A包含:
- [0462] a. SEQ ID NO:46的重链序列和SEQ ID NO:51的轻链序列;
- [0463] b. SEQ ID NO:47的重链序列和SEQ ID NO:51的轻链序列;
- [0464] c. SEQ ID NO:47的重链序列和SEQ ID NO:52的轻链序列;
- [0465] d. SEQ ID NO:47的重链序列和SEQ ID NO:53的轻链序列;
- [0466] e. SEQ ID NO:48的重链序列和SEQ ID NO:51的轻链序列;
- [0467] f. SEQ ID NO:47的重链序列和SEQ ID NO:54的轻链序列;
- [0468] g. SEQ ID NO:49的重链序列和SEQ ID NO:53的轻链序列;
- [0469] h. SEQ ID NO:50的重链序列和SEQ ID NO:54的轻链序列;
- [0470] i. SEQ ID NO:50的重链序列和SEQ ID NO:51的轻链序列;或

- [0471] j. SEQ ID NO:50的重链序列和SEQ ID NO:52的轻链序列
- [0472] 或其具有工程化Fc域的版本。
- [0473] 20. 产生实施方案1至19中任一项的抗体-药物缀合物的方法,其中所述方法包含以下步骤:
- [0474] g. 提供抗体或其片段A,所述抗体或其片段A具有寡肽接头元件,优选地,在其C端,任选地,在所述抗体轻链和/或重链处的间隔物元件之前,
- [0475] h. 提供具有一种或多种接头元件的一种或多种毒素T,和
- [0476] i. 将所述抗体与所述毒素缀合以产生抗体-药物缀合物。
- [0477] 21. 抗体-药物缀合物,其由以下组成:
- [0478] • 由根据SEQ ID NO:46的氨基酸序列的两条重链,和根据SEQ ID NO:51的氨基酸序列的两条轻链组成的抗体,其中所述抗体与CLDN18.2结合,
- [0479] • 位于所述轻链C端的接头[GGGGS]-[LPQTGG]-[乙二胺],和
- [0480] • 基于蒽环类的小分子毒素3'-去氨基-3'',4'-脱水-[2''(S)-甲氧基-3''(R)-氧基-4''-吗啉基]阿霉素(PNU-159682),其与所述接头的乙二胺在C₁₃处共价连接,导致C₁₄和羟基的损失。
- [0481] 22. 抗体-药物缀合物,其由以下组成:
- [0482] • 由根据SEQ ID NO:133的氨基酸序列的两条重链,和根据SEQ ID NO:51的氨基酸序列的两条轻链组成的抗体,其中所述抗体与CLDN18.2结合,
- [0483] • 位于所述轻链C端的接头[GGGGS]-[LPQTGG]-[乙二胺],和
- [0484] • 基于蒽环类的小分子毒素3'-去氨基-3'',4'-脱水-[2''(S)-甲氧基-3''(R)-氧基-4''-吗啉基]阿霉素(PNU-159682),其与所述接头的乙二胺在C₁₃处共价连接,导致C₁₄和羟基的损失。
- [0485] 23. 抗体-药物缀合物,其由以下组成:
- [0486] • 由根据SEQ ID NO:134的氨基酸序列的两条重链,和根据SEQ ID NO:51的氨基酸序列的两条轻链组成的抗体,其中所述抗体与CLDN18.2结合,
- [0487] • 位于所述轻链C端的接头[GGGGS]-[LPQXTGG]-[乙二胺],和
- [0488] • 基于蒽环类的小分子毒素3'-去氨基-3'',4'-脱水-[2''(S)-甲氧基-3''(R)-氧基-4''-吗啉基]阿霉素(PNU-159682),其与所述接头的乙二胺在C₁₃处共价连接,导致C₁₄和羟基的损失。
- [0489] 24. 药物组合物,其包含实施方案1至23中任一项的抗体-药物缀合物和赋形剂。
- [0490] 25. 实施方案1至23中任一项的抗体-药物缀合物,其用于治疗。
- [0491] 26. 实施方案1至23中任一项的抗体-药物缀合物,其用于治疗癌症。
- [0492] 27. 实施方案24的抗体-药物缀合物,其中所述癌症选自胰腺癌、胃癌、食管癌、卵巢癌和肺癌。
- [0493] 序列
- [0494] SEQ ID NO:1 DYAMH
- [0495] SEQ ID NO:2 WINTYTGKPTYADDFKG
- [0496] SEQ ID NO:3 AVFYGYTMDA
- [0497] SEQ ID NO:4 RASEDIYSNLA

- [0498] SEQ ID NO:5 SVKRLQD
- [0499] SEQ ID NO:6 LQGSNFPLT
- [0500] SEQ ID NO:7 WINAYTGKPTYADDFKG
- [0501] SEQ ID NO:8 AVYYGYTMDA
- [0502] SEQ ID NO:9 RTSEDIYSNFA
- [0503] SEQ ID NO:10 SVNRLQD
- [0504] SEQ ID NO:11 LQGSKFPLT
- [0505] SEQ ID NO:12 DYAMY
- [0506] SEQ ID NO:13 RTSEDIYSNLA
- [0507] SEQ ID NO:14 AIKRLQD
- [0508] SEQ ID NO:15 WINTYTGKPTYAQKFQG
- [0509] SEQ ID NO:16 WINTYTGKPTYSQKFQG
- [0510] SEQ ID NO:17 RTSEDIYSNLA
- [0511] SEQ ID NO:18 RTSEDIYSNFA
- [0512] SEQ ID NO:19 SVNRLQD
- [0513] SEQ ID NO:20 WINAYTGKPTYAQKFQG
- [0514] SEQ ID NO:21 DYAMX
- [0515] 第5位的X是H或Y
- [0516] SEQ ID NO:22 WINXYTGKPTYXXXFXG
- [0517] 第4位的X是T或A;
- [0518] 第12位的X是A或S;
- [0519] 第13位的X是D或Q;
- [0520] 第14位的X是D或K;
- [0521] 第16位的X是K或Q
- [0522] SEQ ID NO:23 AVXYGYTMDA
- [0523] 第3位的X是F或Y
- [0524] SEQ ID NO:24 RXSEDIYSNXA
- [0525] 第2位的X是A或T;
- [0526] 第10位的X是L或F
- [0527] SEQ ID NO:25 XXXRLQD
- [0528] 第1位的X是S或A;
- [0529] 第2位的X是V或I;
- [0530] 第3位的X是K或N
- [0531] SEQ ID NO:26 LQGSXFPLT
- [0532] 第5位的X是K或N
- [0533] SEQ ID NO:27 cC11-1 HC可变区
- [0534] QIQLVQSGPELKKPGESVKISCKASGYTFTDYAMHWVKQAPGKGLKWMGWINTYTGKPTYADDFKGRFV
FSLEASASTANLQISNLKNEDTATYFCARAVFYGYTMDAWGQGTSVTVSS
- [0535] SEQ ID NO:28 cC11-1 LC可变区

- [0536] DIQMTQSPASLSASLGETISIIACRASEDIYSNLAWYQQKSGKSPQLLIFS VKRLQDGVPSRFSGSGSGT
QYSLKISGMQPEDEGDYFCLQGSNFPLTFGSGTKLEIK
- [0537] SEQ ID NO:29 cC11-2 HC可变区
- [0538] QIQLVQSGPELKKPGESVKISCKTSGYTFTDYAMHWVKQGP GKGMKWMGWINAYTGKPTYADDFKGRFV
LSLEASASTANLQISNLKNEDTATYFCARAVYYGYTMDAWGQGTSVIVSS
- [0539] SEQ ID NO:30 cC11-2 LC可变区
- [0540] DIQMTQSPASLSASLGETISIECRTSEDIYSNFAWFQQKSGKSPQLLIYSVNR LQDGVPSRFSGSGSGT
QYSLKISGMQPEDEGDYFCLQGSKFPLTFGSGTKLEIK
- [0541] SEQ ID NO:31 cC11-3 HC可变区
- [0542] QIQLVQSGPELKKPGESVKISCKASGYTFTDYAMYVWKVPGKGLRWMGWINTYT GKPTYADDFKGRFV
FSLEASASTANLQISNLKNEDTATYFCARAVFYGYTMDAWGQGTSVTVSS
- [0543] SEQ ID NO:32 cC11-3 LC可变区
- [0544] DIQMTQSPASLSASLGETISIIACRTSEDIYSNLAWYQQKSGKSPQLLIFA I KRLQDGVPSRFSGSGSGT
QYSLKISGMQPEDEGDYFCLQGSKFPLTFGSGTKLEIK
- [0545] SEQ ID NO:33 hCL1a HC可变区
- [0546] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYAMHWVRQAPGQRLEWMGWINTYT GKPTYAQKFQGRVT
ITRDTASTAYMELSSLRSED TAVYYCARAVFYGYTMDAWGQGT LVTVSS
- [0547] SEQ ID NO:34 hCL1b、c和d HC可变区
- [0548] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYAMHWVRQAPGQRLEWMGWINTYT GKPTYAQKFQGRVT
ITRDTASTAYMELSSLRSED TAVYYCARAVFYGYTMDAWGQGT LVTVSS
- [0549] SEQ ID NO:35 hCL1e HC可变区
- [0550] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYAMYVVRQAPGQRLEWMGWINTYT GKPTYAQKFQGRVT
ITRDTASTAYMELSSLRSED TAVYYCARAVFYGYTMDAWGQGT LVTVSS
- [0551] SEQ ID NO:36 hCL1f和g HC可变区
- [0552] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYAMHWVRQAPGQRLEWMGWINAYTG KPTYAQKFQGRVT
ITRDTASTAYMELSSLRSED TAVYYCARAVFYGYTMDAWGQGT LVTVSS
- [0553] SEQ ID NO:37 hCL1h、i和j HC可变区
- [0554] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYAMYVVRQAPGQRLEWMGWINAYTG KPTYAQKFQGRVT
ITRDTASTAYMELSSLRSED TAVYYCARAVYYGYTMDAWGQGT LVTVSS
- [0555] SEQ ID NO:38 hCL1a、b、e和i LC可变区
- [0556] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASEDIYSNLAWYQQKPGKAPKLLIFS VKRLQDGVPSRFSGSGSGT
DFTLTISLQPEDFATYYCLQGSNFPLTFGQGTKVEIK
- [0557] SEQ ID NO:39 hCL1c和j LC可变区
- [0558] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRTSEDIYSNLAWYQQKPGKAPKLLIFA I KRLQDGVPSRFSGSGSGT
DFTLTISLQPEDFATYYCLQGSKFPLTFGQGTKVEIK
- [0559] SEQ ID NO:40 hCL1d和g LC可变区
- [0560] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRTSEDIYSNFAWYQQKPGKAPKLLIYSVNR LQDGVPSRFSGSGSGT
DFTLTISLQPEDFATYYCLQGSKFPLTFGQGTKVEIK
- [0561] SEQ ID NO:41 hCL1f和h LC可变区

[0562] DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASEDIYSNLAWYQQKPGKAPKLLIYSVKRLQDGVPSRFSGSGSGT
DFTLTISLQPEDFATYYCLQGSNFPLTFGQGTKVEIK

[0563] SEQ ID NO:42 hCL3a、b和c HC可变区

[0564] QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCAVSGYSVSSNYRHHWIRQPPGKGLEWIGYINIAGSTNYNPSLKSRVT
ISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARNPSITRAMDAWGQGLVTVSS

[0565] SEQ ID NO:43 hCL3a LC可变区

[0566] DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKSSQNIFKNLEWYQQKPGKAPKLLIYYTNNLQTVPSRFSGSGSGT
DFTLTISLQPEDFATYYCYQYNSGPFTFGQGTKVEIK

[0567] SEQ ID NO:44 hCL3b LC可变区

[0568] DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRSSQNIFKNLEWYQQKPGKAPKLLIYYTNNLQTVPSRFSGSGSGT
DFTLTISLQPEDFATYYCYQYNSGPFTFGQGTKVEIK

[0569] SEQ ID NO:45 hCL3c LC可变区

[0570] DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRSSQNIFKNLEWYQQKPGKAPKLLIYYTNNLQSGVPSRFSGSGSGT
DFTLTISLQPEDFATYYCYQYNSGPFTFGQGTKVEIK

[0571] SEQ ID NO:46 hCL1a HC全长

[0572] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYAMHWVRQAPGQRLEWMGWINTYTGKPTYAQKFQGRV
TITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARAVFYGYTMDAWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL
GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK
SCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK
GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGX
X为K或R

[0573] SEQ ID NO:47 hCL1b、c和d HC全长

[0574] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYAMHWVRQAPGQRLEWMGWINTYTGKPTYSQKFQGRV
TITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARAVFYGYTMDAWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL
GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK
SCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK
GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGX
X为K或R

[0575] SEQ ID NO:48 hCL1e HC全长

[0576] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYAMYWVRQAPGQRLEWMGWINTYTGKPTYAQKFQGRV
TITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARAVFYGYTMDAWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL
GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK
SCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK
GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGX
X为K或R

[0577] SEQ ID NO:49 hCL1f和g HC全长

[0578] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYAMHWVRQAPGQRLEWMGINAYTGKPTYAQKFQGRV
TITRDTSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARAVFYGYTMDAWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL
GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK
SCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK
GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGX
X为K或R

[0579] SEQ ID NO:50 hCL1h、i和j HC全长

[0580] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYAMYWVRQAPGQRLEWMGINAYTGKPTYAQKFQGRV
TITRDTSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARAVYYGYTMDAWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL
GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK
SCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK
GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGX
X为K或R

[0581] SEQ ID NO:51 hCL1a、b、e和i LC全长

[0582] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASEDIYSNLAIFYQQKPGKAPKLLIFSVKRLQDGVPSRFSGSGSGT
DFTLTISLQPEDFATYYCLQGSNPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV
QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0583] SEQ ID NO:52 hCL1c和j LC全长

[0584] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRTSEDIYSNLAIFYQQKPGKAPKLLIFAIRKRLQDGVPSRFSGSGSGT
DFTLTISLQPEDFATYYCLQGSKFPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV
QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0585] SEQ ID NO:53 hCL1d和g LC全长

[0586] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRTSEDIYSNFAIFYQQKPGKAPKLLIYSVNRLQDGVPSRFSGSGSGT
DFTLTISLQPEDFATYYCLQGSKFPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV
QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0587] SEQ ID NO:54 hCL1f和h LC全长

[0588] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASEDIYSNLAIFYQQKPGKAPKLLIYSVKRLQDGVPSRFSGSGSGT
DFTLTISLQPEDFATYYCLQGSNPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV
QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0589] SEQ ID NO:55 IMAB362 HC全长

[0590] QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYTFTSYWINWVKRPGQGLEWIGNIYPSDSYTNYNQKFKDKA
TLTVDKSSSTAYMQLSSPTSEDSAVYYCTRSWRGNSFDYWGGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG
CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS
CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG
FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGX
X为K或R

- [0591] SEQ ID NO:56 IMAB362 LC全长
- [0592] DIVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFT
GSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYCQNDYSYPFTFGSGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY
PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
- [0593] SEQ ID NO:57 DQWSTQDLYN
- [0594] SEQ ID NO:58 NNPVTAVFNYQ
- [0595] SEQ ID NO:59 STQDLYNNPVTAVF
- [0596] SEQ ID NO:60 TNFWMSTANMYTG
- [0597] SEQ ID NO:61 ALMIVGIVLGAIGLLV
- [0598] SEQ ID NO:62 RIGSMEDSAKANMTLTSGIMFIVS
- [0599] SEQ ID NO:63
- [0600] METDTLLLWVLLLWVPGSTGDAAQPARRARRTKLGTGLSTPVWWSADGRMDQWSTQDLYNNPVTAVF
NYQGLWRSCVRESSGFTECRGYFTLLGLPAMLQAVRAAIQHSGGRSRRARTKTHLRRGSE
- [0601] SEQ ID NO:64 MDQWSTQDLYNNPVT
- [0602] SEQ ID NO:65 LYNNPVTAVFNYQGL
- [0603] SEQ ID NO:66 VFNYQGLWRSCVRES
- [0604] SEQ ID NO:67 QGLWRSCVRESSGFT
- [0605] SEQ ID NO:68 RSCVRESSGFTECRG
- [0606] SEQ ID NO:69 TEDEVQSYPSKHDYV
- [0607] SEQ ID NO:70 EVQSYPSKHDYV
- [0608] SEQ ID NO:71 gactacgcgatgcac
- [0609] SEQ ID NO:72 tggatcaacacgtacacggggaagccgacatacgcggacgacttcaagggg
- [0610] SEQ ID NO:73 gccgtcttctacggatatacgatggacgcg
- [0611] SEQ ID NO:74
- [0612] cagatccagctcgtccagagcgggcccggagctgaagaagccgggggagagcgtgaagatctcgtgcaa
ggcgagcggatatacgttcacggactacgcgatgcactgggtcaagcaagcggcgaggaaagggctgaagtggatg
gggtggatcaacacgtacacggggaagccgacatacgcggacgacttcaagggcgattcgtgttctcgctggagg
cgagcgcgagcacggcgaaacctgcaaactcgaacctgaagaacgaggacacggcgacgtacttctgcgcgcgggc
cgtcttctacggatatacgatggacgcgtgggggcagggtaccagcgtgacggtctcgcgcg
- [0613] SEQ ID NO:75 cgggcgagcagggacatctactcgaacctggcg
- [0614] SEQ ID NO:76 tccgtcaagcggctgcaagac
- [0615] SEQ ID NO:77 ctgcaaggagcaacttcccgtgacg
- [0616] SEQ ID NO:78
- [0617] gacatccagatgacgcagagccccggcgctcgctgagcgcgagcctgggggagacgatctcgatcgctg
ccgggcgagcagggacatctactcgaacctggcggttatcaacagaagagcgggaagagccccgcagctgctgatc
ttctccgtcaagcggctgcaagacggcgctcccgagccgattctcggggagcgggagcgggacgcagtactcgctga
agatctcggggatgcagccggaggacgagggggactacttctgcctgcaaggagcaacttcccgtgacgttcgg
gtcgggtaccaaactcgagatcaaa
- [0618] SEQ ID NO:79 tggatcaacgcgtacacggggaagccgacctacgcggacgacttcaagggg

[0619] SEQ ID NO:80 gccgtctactacggatatacgatggac
[0620] SEQ ID NO:81
[0621] cagatccagctcgtccagagcgggcccggagctgaagaagccgggggagagcgtgaagatctcgtgcaa
gacgagcggatatacgttcacggactacgcgatgcactgggtcaagcaggggcccagggaagggatgaagtggatg
gggtggatcaacgcgtacacggggaagccgacctacgcggacgacttcaaggggcgattcgtgctgagcctggagg
cgagcgcctcgacggcgaacctgcaaattctgaacctgaagaacgaggacacggcgacgtacttctgcgcgcgggc
cgtctactacggatatacgatggacgcgtgggggcagggtaccagcgtgatcgtctcgagc
[0622] SEQ ID NO:82 cggacgagcggagacatctactcgaacttcgcg
[0623] SEQ ID NO:83 tcagtcaaccggctgcaagac
[0624] SEQ ID NO:84 ctgcaaggagcaagttccccgtgacg
[0625] SEQ ID NO:85
[0626] gacatccagatgacgcagagccccggcgagcctgagcgcgagcctgggggagacgatctcgatcgagt
ccggacgagcggagacatctactcgaacttcgcgtgggttcagcagaagagcgggaagagccccgcagctgctgatc
tactcagtcaaccggctgcaagacggcgtccccgagccgatttctcggggagcgggagcgggacgcagtactcgtga
agatctcggggatgcagccggaggacgagggggactacttctgcctgcaaggagcaagttccccgtgacgttcgg
gagcgggtaccaaactcgagatcaaa
[0627] SEQ ID NO:86 gactacgcgatgtac
[0628] SEQ ID NO:87 tggatcaacacgtacacggggaagccgacctacgcggacgacttcaagggg
[0629] SEQ ID NO:88
[0630] cagatccagctcgtccagagcgggcccggagctgaagaagccgggggagagcgtgaagatctcgtgcaa
ggcgagcggatatacgttcacggactacgcgatgtactgggtcaagcaagtgccggggaaagggtcgatggatg
gggtggatcaacacgtacacggggaagccgacctacgcggacgacttcaaggggcgattcgtgttctcgctggagg
cgagcgcgagcacggcgaacctgcaaattctgaacctgaagaacgaggacacggcgacgtacttctgcgcgcgggc
cgtcttctacggatatacgatggacgcgtgggggcagggtaccagcgtgacggctctcgagc
[0631] SEQ ID NO:89 cggacgagcggagacatctactcgaacctggcg
[0632] SEQ ID NO:90 gcgatcaagcggctgcaagac
[0633] SEQ ID NO:91
[0634] gacatccagatgacgcagagccccggcgagcctgagcgcgagcctgggggagacgatctcgatcgctg
ccggacgagcggagacatctactcgaacctggcgtgggtatcaacagaagagcgggaagagccccgcagctgctgatc
ttcgcatcaagcggctgcaagacggcgtccccgagccgatttctcggggagcgggagcgggacgcagtactcgtga
agatctcggggatgcagccggaggacgagggggactacttctgcctgcaaggagcaagttccccgtgacgttcgg
gtcgggtaccaaactcgagatcaaa
[0635] SEQ ID NO:92 tggatcaatacatcacggggaagccgacttatgcgcaaaaattccaagga
[0636] SEQ ID NO:93 gcggtcttctacggatatacgatggatgcc
[0637] SEQ ID NO:94
[0638] caggtccaactagtccaaagcggggcggaagtcaagaagccccggagcatccgtcaaagtcagctgcaa
ggcgagcggatatacatttacggactacgcgatgcactgggtcaggcaagccccctgggcaaaggctcgaatggatg
ggatggatcaatacatcacggggaagccgacttatgcgcaaaaattccaaggaagagtcacaattacgcgggata
catccgcacatctaccgcctacatggagctaagctcgtgcggagcggagatacggcgggtctactattgcgccccgagc

ggtcttctacggatatac gatggatgcctgggggcagggtaccctggtcacggctctcgagc

[0639] SEQ ID NO:95 agggcctccgaagacatctactccaacctggca

[0640] SEQ ID NO:96 agcgtcaaaagactacaagat

[0641] SEQ ID NO:97 ttgcaaggaagcaatttcccccttgact

[0642] SEQ ID NO:98

[0643] gacattcaa atgacgcaaagcccatcatcgctgagcgc atcggtcggggatagagtcaccataacatg
cagggcctccgaagacatctactccaacctggcatggtatcaacaaaaaccggggaaggctccgaagctgctgata
tttagcgtcaaaagactacaagatggagtagcgcgattttcgggaagcgggagcgggacggattttcacgctga
ccatatcaagttttgcaaccggaggattttgcgacatactattgcttgcaaggaagcaatttcccccttgactttcgg
gcaaggtaccaaggtcgagatcaaa

[0644] SEQ ID NO:99 gattatgcaatgcac

[0645] SEQ ID NO:100 tggattaacacctacacgggcaagccacatactccccaaaaattccaagga

[0646] SEQ ID NO:101 gctgtattctatggatatacaatggatgcc

[0647] SEQ ID NO:102

[0648] caggtccaattag tccaaagcggggcggaagtcaagaagccgggggagcgtcaaagtctcatgcaa
agcgagcggatacacatttacggattatgcaatgcactgggtcaggcaagcaccggacaaaaggctggaatggatg
ggatggattaacacctacacgggcaagccacatactccccaaaaattccaaggaagggtcacgataacgagagaca
cgagcgcgagcaccggaatggatgggatggattaacacctacacgggcaagccacatactccccaaaaattccaag
gaagggtcacgataacgagagacacgagcgcgagcaccgtaccctggtcaccgtctcgagc

[0649] SEQ ID NO:103 cgaacgagcggagcatatactcaaaccttgca

[0650] SEQ ID NO:104 gcgataaagaggctgcaagac

[0651] SEQ ID NO:105 ttgcaaggctccaaatttccccctgaca

[0652] SEQ ID NO:106

[0653] gacatccaa atgactcaaagcccatcatcgctatcggc atcggtcggggatagagtcacgataacatg
ccgaacgagcggagcatatactcaaaccttgcatggtatcaacaaaagccggggaaggccccgaagctactgata
ttcgcgataaagaggctgcaagacggagttccatcacgattttcgggatctggctcggggaccgattttacgctga
ctatatcatcgctgcaaccggaagattttgcaacatactactgcttgcaaggctccaaatttccccctgacattcgg
acaaggtaccaaggtcgagatcaaa

[0654] SEQ ID NO:107 cggacgagcggagatatttattcgaactttgca

[0655] SEQ ID NO:108 cagtcaatcggtctacaagat

[0656] SEQ ID NO:109

[0657] gacatccaa atgacgcaatcacggagctcgctgagcgc atctgtcggggaccgtgtcacaatcacatg
ccggacgagcggagatatttattcgaactttgcatggtatcaacaaaaaccgggcaaggctccgaaacttttgatt
tattcagtcaatcggtctacaagatggcgtccccgagccgatttagcgggagcggatcgggaaaccgactttacgctga
cgatatcatcgctacaaccggaggacttcgcgacttattactgcctacaaggagcaaatccccgtgacattcgg
acaaggtaccaaggtcgagatcaaa

[0658] SEQ ID NO:110 gattacgcaatgtac

[0659] SEQ ID NO:111 tggataaatacctatacgggaaagccaacatacgccccaaaaattccaaggc

[0660] SEQ ID NO:112 gccgtcttttatggatatac gatggacgca

- [0661] SEQ ID NO:113
- [0662] caggtccaactggtccaatcgggggctgaagtcaaaaagccggggcgagcgtcaaagtcagctgcaa
agcatcgggatacacatttacggattacgcaatgtactgggtcaggcaagcaccggccaacgactggaatggatg
ggctggataaatacctatacgggaaagccaacatacggccaaaaattccaaggccgctcacaataacgcgggaca
cgagcgcacgcagcgcttatatggaactatcatcgctgcgatcggaagacacggcgggtctattattgcgcacgcgc
cgtcttttatggatatacgatggacgatgggggcagggtaccctggtcacgggtctcgagc
- [0663] SEQ ID NO:114 gactacgcaatgcac
- [0664] SEQ ID NO:115 tggattaatgcctacacgggaagccgacctacgcacaaaaattccaagga
- [0665] SEQ ID NO:116 gccgtcttctatggatatacgatggatgct
- [0666] SEQ ID NO:117
- [0667] caggtccaattggtccaaagcggggcgagggtcaagaagccggggcgagcgtcaaagtctcatgcaa
ggcaagcggatatacatttacggactacgcaatgcactgggtccggcaagccctgggcaacggctggaatggatg
ggatggattaatgcctacacggggaagccgacctacgcacaaaaattccaaggacgagtcacgattacgcgggata
ctagcgcgagcaccgcataatggagctaagctcgctgcgatctgaggataccgctgtatactactgcgcgagagc
cgtcttctatggatatacgatggatgcttgggggcagggtaccctggtcacgggtctcgagc
- [0668] SEQ ID NO:118 cgagcttcggaggacatctatagcaacttggct
- [0669] SEQ ID NO:119 agcgtcaaaaggctccaagac
- [0670] SEQ ID NO:120 ctacaaggctctaacttcccattgaca
- [0671] SEQ ID NO:121
- [0672] gatatccaaatgacgcaatcaccatctagcctatcggcctctgtgggggaccgagtcaccatcacatg
ccgagcttcggaggacatctatagcaacttggcttggatcaacaaaagccggggaaagcaccaaagctgctgata
tatagcgtcaaaaggctccaagacggagtcccaagccgattctcgggctccggctccgggacggattttacgctga
caatttcgagcctgcaaccggaggactttgcaacctactattgcctacaaggctctaacttcccattgacatttgg
gcaaggtaccaaggtcgagatcaaa
- [0673] SEQ ID NO:122 gactacgctatgtat
- [0674] SEQ ID NO:123 tggattaatgcctacaccgggaagccgacttatgcgcaaaaatttcaagga
- [0675] SEQ ID NO:124 gcggtctactatggatatacgatggacgca
- [0676] SEQ ID NO:125
- [0677] caggtccaactggttcaatctggagcggaagtcaagaagcccgagcatccgtcaaagtctcgtgcaa
ggcatctggatacacattcaccgactacgctatgtattgggtccggcaagccccggacaacggctggaatggatg
ggatggattaatgcctacaccgggaagccgacttatgcgcaaaaatttcaaggaagggtcacgattacgcgggaca
cgagcgcctcaaccgcatacatggagctatcgagcctgcgaagcgaggacaccgcgggtctactactgcgcgcgggc
gggtctactatggatatacgatggacgatgggggcagggtaccctggtcacgggtctcgagc
- [0678] SEQ ID NO:126WINXYTGKPTYXQKFQG
- [0679] 第4位的X是T或A;
- [0680] 第12位的X是A或S
- [0681] [HC CDR2仅用于hC11x,而不适用于嵌合克隆cC11-1,2,3]
- [0682] SEQ ID NO:127
- [0683] RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL

SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC[恒定轻链-CL域]

[0684] SEQ ID NO:128

[0685] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC
VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD
KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGX X为K或R[恒定重链-CH1+Fc域]

[0686] SEQ ID NO:129

[0687] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC
VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD
KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGX X为K或R[恒定重链中的L234A/L235A突变-CH1+Fc
域]

[0688] SEQ ID NO:130

[0689] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC
VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTIS
KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD
KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGX X为K或R[恒定重链中的L236A/L236A/P329G突变-
CH1+Fc域]

[0690] SEQ ID NO:131 LPQTGG[分选酶标签]

[0691] SEQ ID NO:132 GGGGS-LPQTGG[分选酶标签]

[0692] SEQ ID NO:133 hCL1a HC全长LALA

[0693] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFDYAMHWVRQAPGQRLEWMGWINTYTGKPTYAQKFQGRV
TITRDTASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARAVFYGYTMDAWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL
GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK
SCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK
GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGX
X为K或R

[0694] SEQ ID NO:134 hCL1a HC全长LALAPG

[0695] QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFDYAMHWVRQAPGQRLEWMGWINTYTGKPTYAQKFQGRV
TITRDTASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARAVFYGYTMDAWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL
GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK
SCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK
GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGX
X为K或R

[0696] SEQ ID NO:135 CLDN18.2

[0697] MAVTACQGLGFVVSILIGIAGIIAATCMDQWSTQDLNNPVTAVFNYQGLWRSCVRESSGFTECRGYFTL
LGLPAMLQAVRALMIVGIVLGAIGLLVSIFALKCIRIGSMEDSAKANMTLTSGIMFIVSGLCAIAGVSVFANMLVTN
FWMSTANMYTGMGMVQTVQTRYTFGAALFVGWVAGGLTLIGGVMMCIACRGLAPEETNYKAVSYHASGHSVAYKPG
GFKASTGFGSNTKNKKIYDGGARTEDEVQSYPSKHDYV

[0698] SEQ ID NO:136 LPXTG_m[分选酶标签]

[0699] 第三位的X是20种天然氨基酸中的任何一种,m=1-21。

[0700] SEQ ID NO:137 LPXAG_m[分选酶标签]

[0701] 第三位的X是20种天然氨基酸中的任何一种,m=1-21。

[0702] SEQ ID NO:138 LPXSG_m[分选酶标签]

[0703] 第三位的X是20种天然氨基酸中的任何一种,m=1-21。

[0704] SEQ ID NO:139 LAXTG_m[分选酶标签]

[0705] 第三位的X是20种天然氨基酸中的任何一种,m=1-21。

[0706] SEQ ID NO:140 LPXTA_m[分选酶标签]

[0707] 第三位的X是20种天然氨基酸中的任何一种,m=1-21。

[0708] SEQ ID NO:141 NPQTG_m[分选酶标签]

[0709] SEQ ID NO:142 NPQTN_m[分选酶标签]

[0710] SEQ ID NO:143 LPETGG[分选酶标签]

[0711] SEQ ID NO:144 (GGGS)_o[寡肽],o=1-5

[0712] SEQ ID NO:145 LPXTGG[分选酶标签]

[0713] 第三位的X是20种天然氨基酸中的任何一种。

[0714] SEQ ID NO:146 GGGSLPXTGG[分选酶标签]

[0715] 第8位的X是20种天然氨基酸中的任何一种。

[0716] SEQ ID NO:147 GGGGG[寡肽]

[0717] SEQ ID NO:148 LPQTG[分选酶标签]

[0718] 参考文献

[0719] Abbott,W.M.,M.M.Damschroder,and D.C.Lowe.2014.'Current approaches to fine mapping of antigen-antibody interactions',Immunology,142:526-35.

[0720] Abdiche,Y.N.,D.S.Malashock,A.Pinkerton,and J.Pons.2009.'Exploring blocking assays using Octet,ProteOn,and Biacore biosensors',Anal Biochem,386: 172-80.

[0721] Aguiar,S.,J.Dias,A.M.Manuel,R.Russo,P.M.P.Gois,F.A.da Silva,and J.Goncalves.2018.'Chimeric Small Antibody Fragments as Strategy to Deliver Therapeutic Payloads',Adv Protein Chem Struct Biol,112:143-82.

[0722] Alegre,M.L.,A.M.Collins,V.L.Pulito,R.A.Brosius,W.C.Olson,R.A.Zivin, R.Knowles,J.R.Thistlethwaite,L.K.Jolliffe,and J.A.Bluestone.1992.'Effect of a single amino acid mutation on the activating and immunosuppressive properties of a "humanized" OKT3 monoclonal antibody',J Immunol,148:3461-8.

[0723] An,Z.,G.Forrest,R.Moore,M.Cukan,P.Haytko,L.Huang,S.Vitelli,J.Z.Zhao,

P.Lu, J.Hua, C.R.Gibson, B.R.Harvey, D.Montgomery, D.Zaller, F.Wang, and W.Strohl.2009.' IgG2m4, an engineered antibody isotype with reduced Fc function', *MAbs*, 1:572-9.

[0724] Bolt, S., E.Routledge, I.Lloyd, L.Chatenoud, H.Pope, S.D.Gorman, M.Clark, and H.Waldmann.1993.' The generation of a humanized, non-mitogenic CD3 monoclonal antibody which retains in vitro immunosuppressive properties', *Eur J Immunol*, 23:403-11.

[0725] Broggin, M.2008.' Nemorubicin', *Top Curr Chem*, 283:191-206.

[0726] Chang, Z.L., and Y.Y.Chen.2017.' CARs: Synthetic Immunoreceptors for Cancer Therapy and Beyond', *Trends Mol Med*, 23:430-50.

[0727] Chen, X., J.L.Zaro, and W.C.Shen.2013.' Fusion protein linkers: property, design and functionality', *Adv Drug Deliv Rev*, 65:1357-69.

[0728] Chu, S.Y., I.Vostiar, S.Karki, G.L.Moore, G.A.Lazar, E.Pong, P.F.Joyce, D.E.Szymkowski, and J.R.Desjarlais.2008.' Inhibition of B cell receptor-mediated activation of primary human B cells by coengagement of CD19 and FcγRIIb with Fc-engineered antibodies', *Mol Immunol*, 45:3926-33.

[0729] "Crosslinking Technical Handbook." In.2012.easy molecular bonding-crosslinking technology, edited by Thermo Scientific, 56.USA:Thermo Scientific.

[0730] Dall'Acqua, W.F., R.M.Woods, E.S.Ward, S.R.Palaszynski, N.K.Patel, Y.A.Brewah, H.Wu, P.A.Kiener, and S.Langermann.2002.' Increasing the affinity of a human IgG1 for the neonatal Fc receptor: biological consequences', *J Immunol*, 169:5171-80.

[0731] Diebolder, C.A., F.J.Beurskens, R.N.de Jong, R.I.Koning, K.Strumane, M.A.Lindorfer, M.Voorhorst, D.Ugurlar, S.Rosati, A.J.Heck, J.G.van de Winkel, I.A.Wilson, A.J.Koster, R.P.Taylor, E.O.Saphire, D.R.Burton, J.Schuurman, P.Gros, and P.W.Parren.2014.' Complement is activated by IgG hexamers assembled at the cell surface', *Science*, 343:1260-3.

[0732] Du, Y., A.Walsh, R.Ehrick, W.Xu, K.May, and H.Liu.2012.' Chromatographic analysis of the acidic and basic species of recombinant monoclonal antibodies', *MAbs*, 4:578-85.

[0733] Ellerman, D.2019.' Bispecific T-cell engagers: Towards understanding variables influencing the in vitro potency and tumor selectivity and their modulation to enhance their efficacy and safety', *Methods*, 154:102-17.

[0734] Gervais, D.2016.' Protein deamidation in biopharmaceutical manufacture: understanding, control and impact', *J Chem Technol Biotechnol*, 91:569-75.

[0735] Green, M.R., and J.Sambrook.2012.*Molecular Cloning: A Laboratory Manual (Fourth Edition)* (Cold Spring Harbor Laboratory Press).

[0736] Hansel, T.T., H.Kropshofer, T.Singer, J.A.Mitchell, and A.J.George.2010.' The safety and side effects of monoclonal antibodies', *Nat Rev Drug Discov*, 9:

325-38.

[0737] Hashimoto, Y., W. Zhou, K. Hamauchi, K. Shirakura, T. Doi, K. Yagi, T. Sawasaki, Y. Okada, M. Kondoh, and H. Takeda. 2018. 'Engineered membrane protein antigens successfully induce antibodies against extracellular regions of claudin-5', *Sci Rep*, 8:8383.

[0738] Hewitt, K. J., R. Agarwal, and P. J. Morin. 2006. 'The claudin gene family: expression in normal and neoplastic tissues', *BMC Cancer*, 6:186.

[0739] Holte, D., J. P. Lyssikatos, A. M. Valdiosera, Z. Swinney, V. Sisodiya, J. Sandoval, C. Lee, M. A. Auja, R. B. Tchelepi, O. M. Hamdy, C. Gu, B. Lin, H. Sarvaiya, M. A. Pysz, A. Laysang, S. Williams, D. Jun Lee, M. K. Holda, J. W. Purcell, and J. Gavriluk. 2020. 'Evaluation of PNU-159682 antibody drug conjugates (ADCs)', *Bioorg Med Chem Lett*, 30:127640.

[0740] Idusogie, E. E., P. Y. Wong, L. G. Presta, H. Gazzano-Santoro, K. Totpal, M. Ultsch, and M. G. Mulkerrin. 2001. 'Engineered antibodies with increased activity to recruit complement', *J Immunol*, 166:2571-5.

[0741] Jacobi, A., B. Enenkel, P. Garidel, C. Eckermann, M. Knappenberger, I. Presser, and H. Kaufmann. 2014. 'Process Development and Manufacturing of Therapeutic Antibodies.' in S. Duebel and J. M. Reichert (eds.), *Handbook of Therapeutic Antibodies*, Second Edition (Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.).

[0742] Jain, N., S. W. Smith, S. Ghone, and B. Tomczuk. 2015. 'Current ADC Linker Chemistry', *Pharm Res*, 32:3526-40.

[0743] Jiang, H., Z. Shi, P. Wang, C. Wang, L. Yang, G. Du, H. Zhang, B. Shi, J. Jia, Q. Li, H. Wang, and Z. Li. 2018. 'Claudin18.2-Specific Chimeric Antigen Receptor Engineered T Cells for the Treatment of Gastric Cancer', *J Natl Cancer Inst*.

[0744] June, C. H., and M. Sadelain. 2018. 'Chimeric Antigen Receptor Therapy', *N Engl J Med*, 379:64-73.

[0745] Klose, D., M. Woitok, J. Niesen, R. R. Beerli, U. Grawunder, R. Fischer, S. Barth, R. Fendel, and T. Nachreiner. 2017. 'Generation of an artificial human B cell line test system using Transpo-mAbTM technology to evaluate the therapeutic efficacy of novel antigen-specific fusion proteins', *PLoS One*, 12:e0180305.

[0746] Lazar, G. A., W. Dang, S. Karki, O. Vafa, J. S. Peng, L. Hyun, C. Chan, H. S. Chung, A. Eivazi, S. C. Yoder, J. Vielmetter, D. F. Carmichael, R. J. Hayes, and B. I. Dahiya. 2006. 'Engineered antibody Fc variants with enhanced effector function', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103:4005-10.

[0747] Leabman, M. K., Y. G. Meng, R. F. Kelley, L. E. DeForge, K. J. Cowan, and S. Iyer. 2013. 'Effects of altered FcγR binding on antibody pharmacokinetics in cynomolgus monkeys', *MAbs*, 5:896-903.

[0748] Lo, M., H. S. Kim, R. K. Tong, T. W. Bainbridge, J. M. Vernes, Y. Zhang, Y. L. Lin, S. Chung, M. S. Dennis, Y. J. Zuchero, R. J. Watts, J. A. Couch, Y. G. Meng, J. K. Atwal,

R.J.Brezski,C.Spiess,and J.A.Ernst.2017.'Effector-attenuating Substitutions That Maintain Antibody Stability and Reduce Toxicity in Mice',J Biol Chem, 292:3900-08.

[0749] Lu,X.,R.P.Nobrega,H.Lynaugh,T.Jain,K.Barlow,T.Boland,A.Sivasubramanian,M.Vasquez,and Y.Xu.2019.'Deamidation and isomerization liability analysis of 131 clinical-stage antibodies',MAbs,11:45-57.

[0750] Martin,A.C.R.,and J.Alleml.2014.'Bioinformatics Tools for Analysis of Antibodies.' in,Hanbook of Therapeutic Antibodies,Second Edition(Wiley-VCH Verlag GmbH&Co.KGaA.).

[0751] Mimoto,F.,T.Igawa,T.Kuramochi,H.Katada,S.Kadono,T.Kamikawa,M.Shida-Kawazoe,and K.Hattori.2013.'Novel asymmetrically engineered antibody Fc variant with superior FcgammaR binding affinity and specificity compared with afucosylated Fc variant',MAbs,5:229-36.

[0752] Moldenhauer,G.2014.'Selection Strategies for Monoclonal Antibodies.' in S.Duebel and J.M.Reichert(eds.),Handbook of Therapeutic Antibodies,Second Edition(Wiley-VCH Verlag GmbH&Co.KGaA.).

[0753] Moore,G.L.,H.Chen,S.Karki,and G.A.Lazar.2010.'Engineered Fc variant antibodies with enhanced ability to recruit complement and mediate effector functions',MAbs,2:181-9.

[0754] Natsume,A.,M.In,H.Takamura,T.Nakagawa,Y.Shimizu,K.Kitajima,M.Wakitani,S.Ohta,M.Satoh,K.Shitara,and R.Niwa.2008.'Engineered antibodies of IgG1/IgG3 mixed isotype with enhanced cytotoxic activities',Cancer Res,68: 3863-72.

[0755] Niimi,T.,K.Nagashima,J.M.Ward,P.Minoo,D.B.Zimonjic,N.C.Popescu,and S.Kimura.2001.'claudin-18,a novel downstream target gene for the T/EBP/NKX2.1homeodomain transcription factor,encodes lung-and stomach-specific isoforms through alternative splicing',Mol Cell Biol,21:7380-90.

[0756] Nuijens,T.,A.Toplak,M.Schmidt,A.Ricci,and W.Cabri.2019.'Natural Occurring and Engineered Enzymes for Peptide Ligation and Cyclization',Front Chem,7:829.

[0757] Ponziani,S.,G.Di Vittorio,G.Pitari,A.M.Cimini,M.Ardini,R.Gentile,S.Iacobelli,G.Sala,E.Capone,D.J.Flavell,R.Ippoliti,and F.Giansanti.2020.' Antibody-Drug Conjugates:The New Frontier of Chemotherapy',Int J Mol Sci,21.

[0758] Quintieri,L.,C.Geroni,M.Fantin,R.Battaglia,A.Rosato,W.Speed,P.Zanovello,and M.Floreani.2005.'Formation and antitumor activity of PNU-159682,a major metabolite of nemorubicin in human liver microsomes',Clin Cancer Res,11:1608-17.

[0759] Richards,J.O.,S.Karki,G.A.Lazar,H.Chen,W.Dang,and J.R.Desjarlais.2008.'Optimization of antibody binding to FcgammaRIIa enhances

macrophage phagocytosis of tumor cells', *Mol Cancer Ther*, 7:2517-27.

[0760] Rother, R.P., S.A. Rollins, C.F. Mojcik, R.A. Brodsky, and L. Bell. 2007. 'Discovery and development of the complement inhibitor eculizumab for the treatment of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria', *Nat Biotechnol*, 25:1256-64.

[0761] Sahin, U., M. Koslowski, K. Dhaene, D. Usener, G. Brandenburg, G. Seitz, C. Huber, and O. Tureci. 2008. 'Claudin-18 splice variant 2 is a pan-cancer target suitable for therapeutic antibody development', *Clin Cancer Res*, 14:7624-34.

[0762] Sahin, U., M. Schuler, H. Richly, S. Bauer, A. Krilova, T. Dechow, M. Jerling, M. Utsch, C. Rohde, K. Dhaene, C. Huber, and O. Tureci. 2018. 'A phase I dose-escalation study of IMAB362 (Zolbetuximab) in patients with advanced gastric and gastro-oesophageal junction cancer', *Eur J Cancer*, 100:17-26.

[0763] Saldanha, J.W. 2014. 'Humanization Strategies.' in S. Duebel and J.M. Reichert (eds.), *Handbook of Therapeutic Antibodies*, Second Edition (Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA).

[0764] Shang, L., B. Daubeuf, M. Triantafilou, R. Olden, F. Depis, A.C. Raby, S. Herren, A. Dos Santos, P. Malinge, I. Dunn-Siegrist, S. Benmkaddem, A. Geinoz, G. Magistrelli, F. Rousseau, V. Buatois, S. Salgado-Pires, W. Reith, R. Monteiro, J. Pugin, O. Leger, W. Ferlin, M. Kosco-Vilbois, K. Triantafilou, and G. Elson. 2014. 'Selective antibody intervention of Toll-like receptor 4 activation through Fc gamma receptor tethering', *J Biol Chem*, 289:15309-18.

[0765] Shields, R.L., A.K. Namenuk, K. Hong, Y.G. Meng, J. Rae, J. Briggs, D. Xie, J. Lai, A. Stadlen, B. Li, J.A. Fox, and L.G. Presta. 2001. 'High resolution mapping of the binding site on human IgG1 for Fc gamma RI, Fc gamma RII, Fc gamma RIII, and FcRn and design of IgG1 variants with improved binding to the Fc gamma R', *J Biol Chem*, 276:6591-604.

[0766] Stavenhagen, J.B., S. Gorlatov, N. Tuailon, C.T. Rankin, H. Li, S. Burke, L. Huang, S. Vijh, S. Johnson, E. Bonvini, and S. Koenig. 2007. 'Fc optimization of therapeutic antibodies enhances their ability to kill tumor cells in vitro and controls tumor expansion in vivo via low-affinity activating Fc gamma receptors', *Cancer Res*, 67:8882-90.

[0767] Stefan, N., R. Gebleux, L. Waldmeier, T. Hell, M. Escher, F.I. Wolter, U. Grawunder, and R.R. Beerli. 2017. 'Highly Potent, Anthracycline-based Antibody-Drug Conjugates Generated by Enzymatic, Site-specific Conjugation', *Mol Cancer Ther*, 16:879-92.

[0768] Tao, M.H., and S.L. Morrison. 1989. 'Studies of aglycosylated chimeric mouse-human IgG. Role of carbohydrate in the structure and effector functions mediated by the human IgG constant region', *J Immunol*, 143:2595-601.

[0769] Tureci, O., U. Sahin, H. Schulze-Bergkamen, Z. Zvirbulė, F. Lordick, D. Koeberle, P. Thuss-Patience, T. Ettrich, D. Arnold, F. Bassermann, S.E. Al-Batran,

K.Wiechen,K.Dhaene,D.Maurus,M.Gold,C.Huber,A.Krivoshik,A.Arozullah,J.W.Park, and M.Schuler.2019.'A multicentre,phase 2a study of zolbetuximab as a single agent in patients with recurrent or refractory advanced adenocarcinoma of the stomach or lower oesophagus:the MONO study',Ann Oncol.

[0770] Vafa,O.,G.L.Gilliland,R.J.Brezski,B.Strake,T.Wilkinson,E.R.Lacy, B.Scallon,A.Teplyakov,T.J.Malia,and W.R.Strohl.2014.'An engineered Fc variant of an IgG eliminates all immune effector functions via structural perturbations',Methods,65:114-26.

[0771] Waldmeier,L.,I.Hellmann,C.K.Gutknecht,F.I.Wolter,S.C.Cook,S.T.Reddy, U.Grawunder,and R.R.Beerli.2016.'Transpo-mAb display:Transposition-mediated B cell display and functional screening of full-length IgG antibody libraries', MAbs,8:726-40.

[0772] Walker,M.R.,J.Lund,K.M.Thompson,and R.Jefferis.1989.'Aglycosylation of human IgG1 and IgG3 monoclonal antibodies can eliminate recognition by human cellsexpressing Fc gamma RI and/or Fc gamma RII receptors',Biochem J, 259:347-53.

[0773] Wang,X.,M.Mathieu,and R.J.Brezski.2018.'IgG Fc engineering to modulate antibody effector functions',Protein Cell,9:63-73.

[0774] Xu,D.,M.L.Alegre,S.S.Varga,A.L.Rothermel,A.M.Collins,V.L.Pulito, L.S.Hanna,K.P.Dolan,P.W.Parren,J.A.Bluestone,L.K.Jolliffe,and R.A.Zivin.2000.'In vitro characterization of five humanized OKT3 effector function variant antibodies',Cell Immunol,200:16-26.

[0775] Yu,D.,and J.R.Turner.2008.'Stimulus-induced reorganization of tight junction structure:the role of membrane traffic',Biochim Biophys Acta,1778: 709-16.

[0776] Yu,S.F.,B.Zheng,M.Go,J.Lau,S.Spencer,H.Raab,R.Soriano,S.Jhunhunwala, R.Cohen,M.Caruso,P.Polakakis,J.Flygare,and A.G.Polson.2015.'A Novel Anti-CD22 Anthracycline-Based Antibody-Drug Conjugate(ADC)That Overcomes Resistance to Auristatin-Based ADCs',Clin Cancer Res,21:3298-306.

[0777] Zalevsky,J.,A.K.Chamberlain,H.M.Horton,S.Karki,I.W.Leung,T.J.Sproule, G.A.Lazar,D.C.Roopenian,and J.R.Desjarlais.2010.'Enhanced antibody half-life improves in vivo activity',Nat Biotechnol,28:157-9.

[0778] CN109762067

[0779] US10,435,471

[0780] WO2000/015659

[0781] WO2004/047863

[0782] WO2005/113587

[0783] WO2007/059997

[0784] WO2008/145338

[0785] W02010/009124
[0786] W02013/167259
[0787] W02013/174509
[0788] W02014/075788
[0789] W02014/127906
[0790] W02016/102679
[0791] W02016/166122
[0792] W02016/165762
[0793] W02018/006882
[0794] W02019/173420
[0795] W02019/175617
[0796] W02019/219089。

序列表

<110> 斯迪安生物技术公司

<120> 肿瘤特异性密蛋白18.2抗体-药物缀合物

<130> S12607W0 / ADC 密蛋白抗体

<150> EP20216800.1

<151> 2020-12-23

<160> 148

<170> PatentIn 版本 3.5

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> cC11-1, cC11-2, hC11a, hC11b, hC11c, hC11d, hC11f, hC11g HCDR1

<400> 1

Asp Tyr Ala Met His

1 5

<210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> cC11-1, cC11-3 HCDR2

<400> 2

Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Lys Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 3

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> cC11-1, cC11-3 , hC11a, hC11b, hC11c, hC11d, hC11e, hC11f, hC11g

HCDR3

<400> 3

Ala Val Phe Tyr Gly Tyr Thr Met Asp Ala

1 5 10

<210> 4

<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> cC11-1, hC11a, hC11b, hC11e, hC11f, hC11h, hC11i LCDR1
<400> 4
Arg Ala Ser Glu Asp Ile Tyr Ser Asn Leu Ala
1 5 10
<210> 5
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> cC11-1, hC11a, hC11b, hC11e, hC11f, hC11h, hC11i LCDR2
<400> 5
Ser Val Lys Arg Leu Gln Asp
1 5
<210> 6
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> cC11-1, hC11a, hC11b, hC11e, hC11f, hC11h, hC11i LCDR3
<400> 6
Leu Gln Gly Ser Asn Phe Pro Leu Thr
1 5
<210> 7
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> cC11-2 HCDR2
<400> 7
Trp Ile Asn Ala Tyr Thr Gly Lys Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe Lys
1 5 10 15
Gly
<210> 8
<211> 10
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> cC11-2, hC11h, hC11i, hC11j HCDR3

<400> 8

Ala Val Tyr Tyr Gly Tyr Thr Met Asp Ala

1 5 10

<210> 9

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> cC11-2 LCDR1

<400> 9

Arg Thr Ser Glu Asp Ile Tyr Ser Asn Phe Ala

1 5 10

<210> 10

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> cC11-2 LCDR2

<400> 10

Ser Val Asn Arg Leu Gln Asp

1 5

<210> 11

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> cC11-2, cC11-3, hC11c, hC11d, hC11g, hC11j LCDR3

<400> 11

Leu Gln Gly Ser Lys Phe Pro Leu Thr

1 5

<210> 12

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> cC11-3, hC11e, hC11h, hC11i, hC11j HCDR1

<400> 12

Asp Tyr Ala Met Tyr

1 5

<210> 13

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> cC11-3 LCDR1

<400> 13

Arg Thr Ser Glu Asp Ile Tyr Ser Asn Leu Ala

1 5 10

<210> 14

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> cC11-3, hC11c, hC11j LCDR2

<400> 14

Ala Ile Lys Arg Leu Gln Asp

1 5

<210> 15

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> hC11a, hC11e HCDR2

<400> 15

Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Lys Pro Thr Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 16

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> hC11b, hC11c, hC11d HCDR2

<400> 16

Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Lys Pro Thr Tyr Ser Gln Lys Phe Gln

1	5	10	15
Gly			
<210> 17			
<211> 11			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> hC11c, hC11j LCDR1			
<400> 17			
Arg Thr Ser Glu Asp Ile Tyr Ser Asn Leu Ala			
1	5	10	
<210> 18			
<211> 11			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> hC11d, hC11g LCDR1			
<400> 18			
Arg Thr Ser Glu Asp Ile Tyr Ser Asn Phe Ala			
1	5	10	
<210> 19			
<211> 7			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> hC11d, hC11g LCDR2			
<400> 19			
Ser Val Asn Arg Leu Gln Asp			
1	5		
<210> 20			
<211> 17			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> hC11f, hC11g, hC11h, hC11i, hC11j HCDR2			
<400> 20			
Trp Ile Asn Ala Tyr Thr Gly Lys Pro Thr Tyr Ala Gln Lys Phe Gln			
1	5	10	15
Gly			

<210> 21
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> HCDR1 共有序列
<220>
<221> 杂项特征
<222> (5) .. (5)
<223> H或Y
<400> 21
Asp Tyr Ala Met Xaa
1 5
<210> 22
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> HCDR2 共有序列
<220>
<221> 杂项特征
<222> (4) .. (4)
<223> T或A
<220>
<221> 杂项特征
<222> (12) .. (12)
<223> A或S
<220>
<221> 杂项特征
<222> (13) .. (13)
<223> D或Q
<220>
<221> 杂项特征
<222> (14) .. (14)
<223> D或K
<220>
<221> 杂项特征
<222> (16) .. (16)
<223> K或Q

<400> 22

Trp Ile Asn Xaa Tyr Thr Gly Lys Pro Thr Tyr Xaa Xaa Xaa Phe Xaa

1

5

10

15

Gly

<210> 23

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HCDR3 共有序列

<220>

<221> 杂项特征

<222> (3) .. (3)

<223> F或Y

<400> 23

Ala Val Xaa Tyr Gly Tyr Thr Met Asp Ala

1

5

10

<210> 24

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> LCDR1 共有序列

<220>

<221> 杂项特征

<222> (2) .. (2)

<223> A或T

<220>

<221> 杂项特征

<222> (10) .. (10)

<223> L或F

<400> 24

Arg Xaa Ser Glu Asp Ile Tyr Ser Asn Xaa Ala

1

5

10

<210> 25

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> LCDR2 共有序列

<220>

<221> 杂项特征

<222> (1) .. (1)

<223> S或A

<220>

<221> 杂项特征

<222> (2) .. (2)

<223> V或I

<220>

<221> 杂项特征

<222> (3) .. (3)

<223> K或N

<400> 25

Xaa Xaa Xaa Arg Leu Gln Asp

1 5

<210> 26

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> LCDR3 共有序列

<220>

<221> 杂项特征

<222> (5) .. (5)

<223> K或N

<400> 26

Leu Gln Gly Ser Xaa Phe Pro Leu Thr

1 5

<210> 27

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> cC11-1 HC 可变区

<400> 27

Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu

1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

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

<210> 28

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> cC11-1 LC 可变区

<400> 28

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

<210> 29

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> cC11-2 HC 可变区

<400> 29

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

<210> 30

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> cC11-2 LC 可变区

<400> 30

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

<210> 31

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> cC11-3 HC 可变区

<400> 31

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

<210> 32

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> cC11-3 LC 可变区

<400> 32

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

65	70	75	80
Glu Asp Glu Gly Asp Tyr Phe Cys Leu Gln Gly Ser Lys Phe Pro Leu			
	85	90	95
Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys			
100	105		

<210> 33

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> hC11a HC 可变区

<400> 33

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

<210> 34

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> hC11b, hC11c和hC11d HC 可变区

<400> 34

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

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

<210> 35

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> hC11e HC 可变区

<400> 35

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

<210> 36

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> hC11f和hC11g HC 可变区

<400> 36

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

<210> 37

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> hC11h, hC11i和hC11j HC 可变区

<400> 37

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

100	105	110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
115		
<210> 38		
<211> 107		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> hC11a, hC11b, hC11e和hC11i LC 可变区		
<400> 38		
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly		
1 5 10 15		
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asp Ile Tyr Ser Asn		
20 25 30		
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile		
35 40 45		
Phe Ser Val Lys Arg Leu Gln Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
50 55 60		
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro		
65 70 75 80		
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Gly Ser Asn Phe Pro Leu		
85 90 95		
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys		
100 105		
<210> 39		
<211> 107		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> hC11c和hC11j LC 可变区		
<400> 39		
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly		
1 5 10 15		
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Glu Asp Ile Tyr Ser Asn		
20 25 30		
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile		
35 40 45		
Phe Ala Ile Lys Arg Leu Gln Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
50 55 60		

<400> 42

〈223〉 hC13a LC 可变区

<400> 43

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

<210> 44

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> hC13b LC 可变区

<400> 44

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

<210> 45

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> hC13c LC 可变区

<400> 45

```

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

```

<210> 46

<211> 449

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> hC11a HC 全长

<220>

<221> 杂项特征

<222> (449) .. (449)

<223> X为Lys或Arg

<400> 46

```

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

```

				85					90					95			
Ala	Arg	Ala	Val	Phe	Tyr	Gly	Tyr	Thr	Met	Asp	Ala	Trp	Gly	Gln	Gly		
				100					105					110			
Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe		
				115					120					125			
Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu		
				130					135					140			
Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp		
145					150				155					160			
Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu		
				165					170					175			
Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser		
				180					185					190			
Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro		
				195					200					205			
Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys		
				210					215					220			
Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro		
225					230				235					240			
Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser		
				245					250					255			
Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp		
				260					265					270			
Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn		
				275					280					285			
Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val		
				290					295					300			
Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu		
305					310				315					320			
Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys		
				325					330					335			
Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr		
				340					345					350			
Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr		
				355					360					365			
Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu		
				370					375					380			
Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu		
385					390				395					400			

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445
 Xaa
 <210> 47
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> hC11b, hC11c和hC11d HC全长
 <220>
 <221> 杂项特征
 <222> (449) .. (449)
 <223> X为Lys或Arg
 <400> 47
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30
 Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Lys Pro Thr Tyr Ser Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Ala Val Phe Tyr Gly Tyr Thr Met Asp Ala Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125
 Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 130 135 140
 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 145 150 155 160
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

				165					170					175			
Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser		
				180					185					190			
Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro		
				195				200						205			
Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys		
				210				215						220			
Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro		
225							230				235				240		
Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser		
				245					250					255			
Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp		
				260					265					270			
Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn		
				275					280					285			
Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val		
				290				295						300			
Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu		
305							310				315				320		
Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys		
				325					330					335			
Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr		
				340					345					350			
Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr		
				355					360					365			
Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu		
				370					375					380			
Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu		
385							390				395				400		
Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys		
				405					410					415			
Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu		
				420					425					430			
Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly		
				435				440						445			

Xaa

<210> 48

<211> 449

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> hC11e HC全长

<220>

<221> 杂项特征

<222> (449) .. (449)

<223> X为Lys或Arg

<400> 48

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

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

Xaa

<210> 49

<211> 449

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> hC11f和hC11g HC全长

<220>

<221> 杂项特征

<222> (449) .. (449)

<223> X为Lys或Arg

<400> 49

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1

5

10

15

Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Asp	Tyr
20				25				30							
Ala	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Arg	Leu	Glu	Trp	Met
35				40				45							
Gly	Trp	Ile	Asn	Ala	Tyr	Thr	Gly	Lys	Pro	Thr	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe
50				55				60							
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Ala	Ser	Thr	Ala	Tyr
65				70				75				80			
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
85				90				95							
Ala	Arg	Ala	Val	Phe	Tyr	Gly	Tyr	Thr	Met	Asp	Ala	Trp	Gly	Gln	Gly
100				105				110							
Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
115				120				125							
Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu
130				135				140							
Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp
145				150				155				160			
Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu
165				170				175							
Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser
180				185				190							
Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro
195				200				205							
Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys
210				215				220							
Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro
225				230				235				240			
Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser
245				250				255							
Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp
260				265				270							
Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn
275				280				285							
Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val
290				295				300							
Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu
305				310				315				320			
Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys

				325					330					335		
Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	
			340					345					350			
Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	
			355				360					365				
Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	
	370					375				380						
Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	
385					390					395					400	
Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	
			405					410					415			
Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	
			420					425					430			
Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	
		435					440					445				

Xaa

$\langle 210 \rangle$ 50

449

⟨212⟩ PRT

〈213〉 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

〈223〉 hC11h, hC11i和hC11j HC全长

 $\langle 220 \rangle$

〈221〉 杂项特征

 $\langle 222 \rangle \quad (449) \dots (449)$

〈223〉 X为Lys或Arg

<400> 50

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

20 25 30

Ala Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Ala Tyr Thr Gly Lys Pro Thr Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Ala Val Tyr Tyr Gly Tyr Thr Met Asp Ala Trp Gly Gln Gly		
100	105	110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe		
115	120	125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu		
130	135	140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp		
145	150	155
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu		
165	170	175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser		
180	185	190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro		
195	200	205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys		
210	215	220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro		
225	230	235
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser		
245	250	255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp		
260	265	270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn		
275	280	285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val		
290	295	300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu		
305	310	315
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys		
325	330	335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr		
340	345	350
Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr		
355	360	365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu		
370	375	380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu		
385	390	395
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys		

	405		410		415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu					
	420		425		430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly					
	435		440		445
Xaa					
<210> 51					
<211> 214					
<212> PRT					
<213> 人工序列					
<220>					
<223> hC11a, hC11b, hC11e和hC11i LC全长					
<400> 51					
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly					
1 5 10 15					
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asp Ile Tyr Ser Asn					
20 25 30					
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile					
35 40 45					
Phe Ser Val Lys Arg Leu Gln Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly					
50 55 60					
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro					
65 70 75 80					
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Gly Ser Asn Phe Pro Leu					
85 90 95					
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala					
100 105 110					
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly					
115 120 125					
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala					
130 135 140					
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln					
145 150 155 160					
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser					
165 170 175					
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr					
180 185 190					
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser					
195 200 205					

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 52

<211> 214

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> hC11c和hC11j LC全长

<400> 52

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Glu Asp Ile Tyr Ser Asn

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Phe Ala Ile Lys Arg Leu Gln Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Gly Ser Lys Phe Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

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

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 53

<211> 214

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> hC11d和hC11g LC全长

<400> 53

```

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

```

<210> 54

<211> 214

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> hC11f和hC11h LC全长

<400> 54

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

<210> 55

<211> 448

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> IMAB362 HC全长

<220>

<221> 杂项特征

<222> (448) .. (448)

<223> X为Lys或Arg

<400> 55

Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Gln	Pro	Gly	Ala	Glu	Leu	Val	Arg	Pro	Gly	Ala
1				5					10					15	
Ser	Val	Lys	Leu	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Ser	Tyr
			20					25					30		
Trp	Ile	Asn	Trp	Val	Lys	Gln	Arg	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile
		35					40					45			
Gly	Asn	Ile	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ser	Tyr	Thr	Asn	Tyr	Asn	Gln	Lys	Phe
	50					55				60					
Lys	Asp	Lys	Ala	Thr	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Ser	Ser	Thr	Ala	Tyr
65					70				75					80	
Met	Gln	Leu	Ser	Ser	Pro	Thr	Ser	Glu	Asp	Ser	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
			85					90					95		
Thr	Arg	Ser	Trp	Arg	Gly	Asn	Ser	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr
		100						105					110		
Thr	Leu	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro
		115						120					125		
Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly
		130					135					140			
Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn
145					150					155				160	
Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln
			165					170					175		
Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser
		180						185					190		
Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser
		195					200					205			
Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr
		210				215					220				
His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser
225					230					235				240	
Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg
			245						250				255		
Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro
		260						265					270		
Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala
		275					280					285			
Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val
		290					295					300			

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr			
305	310	315	320
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr			
	325	330	335
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu			
	340	345	350
Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys			
	355	360	365
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser			
	370	375	380
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp			
385	390	395	400
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser			
	405	410	415
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala			
	420	425	430
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa			
	435	440	445

<210> 56

<211> 220

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> IMAB362 LC全长

<400> 56

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

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
 115 120 125
 Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
 130 135 140
 Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
 145 150 155 160
 Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
 165 170 175
 Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
 180 185 190
 Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
 195 200 205
 Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215 220

<210> 57

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CLDN18.2的N端细胞外,与糖基化无关

<400> 57

Asp Gln Trp Ser Thr Gln Asp Leu Tyr Asn
 1 5 10

<210> 58

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CLDN18.2的N端细胞外,主要是未糖基化的

<400> 58

Asn Asn Pro Val Thr Ala Val Phe Asn Tyr Gln
 1 5 10

<210> 59

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CLDN18.2的N端细胞外域,未糖基化的

<400> 59

Ser Thr Gln Asp Leu Tyr Asn Asn Pro Val Thr Ala Val Phe

1 5 10

<210> 60

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> CLDN18.1和CLDN18.2同等型两者共同的C端细胞外域中的泛CLDN18肽

<400> 60

Thr Asn Phe Trp Met Ser Thr Ala Asn Met Tyr Thr Gly

1 5 10

<210> 61

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> W02005/113587所公开的CLDN18.2的特定表位

<400> 61

Ala Leu Met Ile Val Gly Ile Val Leu Gly Ala Ile Gly Leu Leu Val

1 5 10 15

<210> 62

<211> 24

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> W02005/113587所公开的CLDN18.2的特定表位

<400> 62

Arg Ile Gly Ser Met Glu Asp Ser Ala Lys Ala Asn Met Thr Leu Thr

1 5 10 15

Ser Gly Ile Met Phe Ile Val Ser

20

<210> 63

<211> 129

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 具有N和C端延伸的CLDN18.2的第一细胞外域

<400> 63

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro

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

Glu

<210> 64

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> W02008/145338所公开的第一细胞外域内的重叠肽

<400> 64

Met Asp Gln Trp Ser Thr Gln Asp Leu Tyr Asn Asn Pro Val Thr

1	5	10	15
---	---	----	----

<210> 65

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> W02008/145338所公开的第一细胞外域内的重叠肽

<400> 65

Leu Tyr Asn Asn Pro Val Thr Ala Val Phe Asn Tyr Gln Gly Leu

1	5	10	15
---	---	----	----

<210> 66

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> W02008/145338所公开的第一细胞外域内的重叠肽

<400> 66

Val Phe Asn Tyr Gln Gly Leu Trp Arg Ser Cys Val Arg Glu Ser

1 5 10 15

<210> 67

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> W02008/145338所公开的第一细胞外域内的重叠肽

<400> 67

Gln Gly Leu Trp Arg Ser Cys Val Arg Glu Ser Ser Gly Phe Thr

1 5 10 15

<210> 68

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> W02008/145338所公开的第一细胞外域内的重叠肽

<400> 68

Arg Ser Cys Val Arg Glu Ser Ser Gly Phe Thr Glu Cys Arg Gly

1 5 10 15

<210> 69

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> W02013/167259所公开的CLDN18.2的C端表位

<400> 69

Thr Glu Asp Glu Val Gln Ser Tyr Pro Ser Lys His Asp Tyr Val

1 5 10 15

<210> 70

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> W02013/167259所公开的CLDN18.2的C端表位

<400> 70

Glu Val Gln Ser Tyr Pro Ser Lys His Asp Tyr Val

1	5	10
<210> 71		
<211> 15		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> cC11-1, cC11-2, hC11a HCDR1		
<400> 71		
gactacgcga tgcac 15		
<210> 72		
<211> 51		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> cC11-1 HCDR2		
<400> 72		
tggatcaaca cgtacacggg gaagccgaca tacgcggacg acttcaaggg g 51		
<210> 73		
<211> 30		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> cC11-1, cC11-3 HCDR3		
<400> 73		
gccgtcttct acggatatac gatggacgcg 30		
<210> 74		
<211> 357		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> cC11-1 VH		
<400> 74		
cagatccagc tcgtccagag cgggccggag ctgaagaagc cgggggagag cgtgaagatc 60		
tcgtgcaagg cgagcggata tacgttcacg gactacgcga tgcactgggt caagcaagcg 120		
ccgggggaaag ggctgaagtg gatgggggtg atcaacacgt acacggggaa gccgacatac 180		
gcggacgact tcaaggggcg attcgtgttc tcgctggagg cgagcgcgag cacggcgaac 240		
ctgcaaatct cgaacctgaa gaacgaggac acggcgacgt acttctgcgc gcgggccgtc 300		
ttctacggat atacgatgga cgcgtggggg cagggtacca gcgtgacggt ctcgagc 357		
<210> 75		

<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> cC11-1 LCDR1
<400> 75
cgggcgagcg aggacatcta ctcgaacctg gcg 33
<210> 76
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> cC11-1 LCDR2
<400> 76
tccgtcaagc ggctgcaaga c 21
<210> 77
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> cC11-1 LCDR3
<400> 77
ctgcaaggga gcaacttccc gctgacg 27
<210> 78
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> cC11-1 VL
<400> 78
gacatccaga tgacgcagag cccggcgtcg ctgagcgca gcctggggga gacgatctcg 60
atcgcgtgcc gggcgagcga ggacatctac tcgaacctgg cgtggtatca acagaagagc 120
gggaagagcc cgcagctgct gatctttctc gtcaagcggc tgcaagacgg cgtcccgagc 180
cgattctcgg ggagcgggag cgggacgcag tactcgtga agatctcggg gatgcagccg 240
gaggacgagg gggactactt ctgcctgcaa gggagcaact tcccgtgac gttcgggtcg 300
ggtaccaaac tcgagatcaa a 321
<210> 79
<211> 51
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> cC11-2 HCDR2

<400> 79

tggatcaacg cgtacacggg gaagccgacc tacgcggacg acttcaaggg g 51

<210> 80

<211> 27

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> cC11-2 HCDR3

<400> 80

gccgtctact acggatatac gatggac 27

<210> 81

<211> 357

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> cC11-2 VH

<400> 81

cagatccagc tcgtccagag cgggccggag ctgaagaagc cgggggagag cgtgaagatc 60
tcgtgcaaga cgagcggata tacgttcacg gactacgca tgcaactgggt caagcagggg 120
ccagggaag ggatgaagtg gatgggggtg atcaacgcgt acacggggaa gccgacctac 180
gcggacgact tcaaggggcg attcgtgctg agcctggagg cgagcgcctc gacggcgaac 240
ctgcaaatct cgaacctgaa gaacgaggac acggcgacgt acttctgcgc gcgggccgctc 300
tactacggat atacgatgga cgcgtggggg cagggtacca gcgtgatcgt ctcgagc 357

<210> 82

<211> 33

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> cC11-2 LCDR1

<400> 82

cggacgagcg aggacatcta ctcgaacttc gcg 33

<210> 83

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> cC11-2 LCDR2
<400> 83
tcagtcaacc ggctgcaaga c 21
<210> 84
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> cC11-2, cC11-3, hC11d, hC11g LCDR3
<400> 84
ctgcaaggga gcaagttccc gctgacg 27
<210> 85
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> cC11-1 VL
<400> 85
gacatccaga tgacgcagag cccggcgagc ctgagcgca gcctggggga gacgatctcg 60
atcgagtgcc ggacgagcga ggacatctac tcgaacttcg cgtggttcca gcagaagagc 120
gggaagagcc cgcagctgct gatctactca gtcaaccggc tgcaagacgg cgtccccgagc 180
cgattctcgg ggagcgggag cgggacgcag tactcgctga agatctcggg gatgcagccg 240
gaggacgagg gggactactt ctgcctgcaa gggagcaagt tcccgtgac gttcgggagc 300
ggtaccaaac tcgagatcaa a 321
<210> 86
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> cC11-3 HCDR1
<400> 86
gactacgcga tgtac 15
<210> 87
<211> 51
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> cC11-3 HCDR2
<400> 87

tggatcaaca cgtacacggg gaagccgacc tacgcggacg acttcaaggg g 51
<210> 88
<211> 357
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> cC11-3 VH
<400> 88
cagatccagc tcgtccagag cgggccggag ctgaagaagc cgggggagag cgtgaagatc 60
tcgtgcaagg cgagcggata tacgttcacg gactacgca tgtactgggt caagcaagtg 120
ccggggaaaag ggctgcgatg gatgggggtg atcaacacgt acacggggaa gccgacctac 180
gcggacgact tcaaggggcg attcgtgttc tcgctggagg cgagcgcgag cacggcgaac 240
ctgcaaatct cgaacctgaa gaacgaggac acggcgacgt acttctgcgc gcgggccgtc 300
ttctacggat atacgatgga cgcgtggggg cagggtacca gcgtgacggt ctcgagc 357
<210> 89
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> cC11-3 LCDR1
<400> 89
cggacgagcg aggacatcta ctggaacctg gcg 33
<210> 90
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> cC11-3 LCDR2
<400> 90
gcgatcaagc ggctgcaaga c 21
<210> 91
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> cC11-3 VL
<400> 91
gacatccaga tgacgcagag cccggcgagc ctgagcgcga gcctggggga gacgatctcg 60
atcgcgtgcc ggacgagcga ggacatctac tcgaacctgg cgtggtatca acagaagagc 120

gggaagagcc cgcagctgct gatcttcgcg atcaagcggc tgcaagacgg cgtcccgcgc 180
cgattctcgg ggagcgggag cgggacgcag tactcgcgtga agatctcggg gatgcagccg 240
gaggacgagg gggactactt ctgcctgcaa gggagcaagt tcccgcgtgac gttcgggtcg 300
ggtaccaaac tcgagatcaa a 321

<210> 92

<211> 51

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> hC11a HCDR2

<400> 92

tggatcaata catacacggg gaagccgact tatgcgcaaa aattccaagg a 51

<210> 93

<211> 30

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> hC11a HCDR3

<400> 93

gcggctcttct acggatatac gatggatgcc 30

<210> 94

<211> 357

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> cC11a VH

<400> 94

caggtccaac tagtccaaag cggggcggaa gtcaagaagc ccggagcatc cgtcaaagtc 60
agctgcaagg cgagcggata tacatttacg gactacgcga tgcactgggt caggcaagcc 120
cctgggcaaaa ggctcgaatg gatgggatgg atcaatacat acacggggaa gccgacttat 180
gcgcaaaaaat tccaaggaag agtcacaatt acgcgggata catccgcacg taccgcctac 240
atggagctaa gctcgcgtcg gagcgaggat acggcggtct actattgcgc ccgagcggtc 300
ttctacggat atacgatgga tgcctggggg cagggtaccc tggtcacggt ctcgagc 357

<210> 95

<211> 33

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> hC11a, hC11b, hC11e, hC11i LCDR1

<400> 95
agggcctccg aagacatcta ctccaacctg gca 33
<210> 96
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> hC11a, hC11b, hC11e, hC11i LCDR2
<400> 96
agcgtcaaaa gactacaaga t 21
<210> 97
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> hC11a, hC11b, hC11e, hC11i LCDR3
<400> 97
ttgcaaggaa gcaatttccc cttgact 27
<210> 98
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> cC11a, hC11b, hC11e, hC11i VL
<400> 98
gacattcaaa tgacgcaaag cccatcatcg ctgagcgcat cggtcgggga tagagtcacc 60
ataacatgca gggcctccga agacatctac tccaacctgg catggtatca acaaaaaccg 120
gggaaggctc cgaagctgct gatattttagc gtcaaaagac tacaagatgg agtaccgagc 180
cgatttttcgg gaagcgggag cgggacggat ttcacgetga ccatatcaag tttgcaaccg 240
gaggattttg cgacatacta ttgcttgcaa ggaagcaatt tccccttgac tttcgggcaa 300
ggtaccaagg tcgagatcaa a 321
<210> 99
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> hC11b, hC11c, hC11d HCDR1
<400> 99
gattatgcaa tgcac 15

<210> 100
<211> 51
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> hC11b, hC11c, hC11d HCDR2
<400> 100
tggattaaca cctacacggg caagcccaca tactcccaaa aattccaagg a 51
<210> 101
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> hC11b, hC11c, hC11d HCDR3
<400> 101
gctgtattct atggatatac aatggatgcc 30
<210> 102
<211> 357
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> hC11b, hC11c, hC11d VH
<400> 102
caggtccaat tagtccaaag cggggcgga gtcaagaagc cggggcgag cgtcaaagtc 60
tcatgcaaag cgagcggata cacatttacg gattatgcaa tgcactgggt caggcaagca 120
cccggacaaa ggctggaatg gatgggatgg attaacacct acacgggcaa gcccacatac 180
tccccaaaaat tccaaggaag ggtcacgata acgagagaca cgagcgcgag caccggaatg 240
gatgggatgg attaacacct acacgggcaa gcccacatac tccccaaaaat tccaaggaag 300
ggtcacgata acgagagaca cgagcgcgag caccgtaccc tggtcaccgt ctcgagc 357
<210> 103
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> hC11c, hC11j LCDR1
<400> 103
cgaacgagcg aggacatata ctcaaacctt gca 33
<210> 104
<211> 21

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> hC11c, hC11j LCDR2
<400> 104
gcgataaaga ggctgcaaga c 21
<210> 105
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> hC11c, hC11j LCDR3
<400> 105
ttgcaaggct ccaaatttcc cctgaca 27
<210> 106
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> hC11c, hC11j VL
<400> 106
gacatccaaa tgactcaaag cccatcatcg ctatcggcat cggtcgggga tagagtcacg 60
ataacatgcc gaacgagcga ggacatatac tcaaaccttg catggtatca acaaaagccg 120
gggaaggccc cgaagctact gatattcgcg ataaagaggc tgcaagacgg agttccatca 180
cgatttttcgg gatctggctc ggggaccgat ttacgctga ctatatcatc gctgcaaccg 240
gaagattttg caacatacta ctgcttgcaa ggctccaaat ttcccctgac attcggacaa 300
ggtaccaagg tcgagatcaa a 321
<210> 107
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> hC11d, hC11g LCDR1
<400> 107
cggacgagcg aggatattta ttcgaacttt gca 33
<210> 108
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> hC11d, hC11g LCDR2

<400> 108

cagtcaatcg gctacaagat 20

<210> 109

<211> 321

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> hC11d, hC11g VL

<400> 109

gacatccaaa tgacgcaatc accgagctcg ctgagcgcat ctgtcgggga ccgtgtcaca 60
atcacatgcc ggacgagcga ggatatttat tcgaactttg catggtatca acaaaaaccg 120
ggcaaggctc cgaaactttt gatttattca gtcaatcggc tacaagatgg cgtcccgagc 180
cgatttagcg ggagcggatc gggaaccgac tttagctga cgatatcatc gctacaaccg 240
gaggacttcg cgacttatta ctgcctacaa gggagcaaat tcccgtgac attcggacaa 300
ggtaccaagg tcgagatcaa a 321

<210> 110

<211> 15

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> hC11e HCDR1

<400> 110

gattacgcaa tgtac 15

<210> 111

<211> 51

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> hC11e HCDR2

<400> 111

tggataaata cctatacggg aaagccaaca tacgccc aaa aattccaagg c 51

<210> 112

<211> 30

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> hC11e HCDR3

<400> 112

gccgtctttt atggatatac gatggacgca 30

<210> 113

<211> 357

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> hC11e VH

<400> 113

cagggtccaac tgggtccaatc gggggctgaa gtcaaaaagc cgggggagcgag cgtcaaagtc 60
agctgcaaag catcgggata cacatttacg gattacgcaa tgtactgggt caggcaagca 120
cccggccaac gactggaatg gatgggctgg ataaatacct atacgggaaa gccaacatac 180
gccccaaaaat tccaaggccg cgtcacaata acgcgggaca cgagcgcacg gacggcttat 240
atggaactat catcgctgcg atcggaagac acggcggctct attattgcgc acgcgccgtc 300
ttttatggat atacgatgga cgcattggggg cagggtaccc tggtcacggt ctcgagc 357

<210> 114

<211> 15

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> hC11f, hC11g HCDR1

<400> 114

gactacgcaa tgcac 15

<210> 115

<211> 51

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> hC11f, hC11g HCDR2

<400> 115

tggattaatg cctacacggg gaagccgacc tacgcacaaa aattccaagg a 51

<210> 116

<211> 30

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> hC11f, hC11g HCDR3

<400> 116

gccgtcttct atggatatac gatggatgct 30

<210> 117
<211> 357
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> hC11f, hC11g VH
<400> 117
cagggtccaat tgggtccaaag cggggcgagg gtcaagaagc cgggggagcag cgtcaaagtc 60
tcattgcaagg caagcggata tacatttacg gactacgcaa tgcactgggt ccggcaagcc 120
cctgggcaac ggctggaatg gatgggatgg attaatgcct acacggggaa gccgacctac 180
gcacaaaaat tccaaggacg agtcacgatt acgcgggata ctagcgcgag caccgcatat 240
atggagctaa gctcgtgctg atctgaggat accgctgtat actactgcgc gagagccgtc 300
ttctatggat atacgatgga tgcttggggg cagggtaccc tggtcacggt ctcgagc 357
<210> 118
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> hC11f, hC11h LCDR1
<400> 118
cgagcttcgg aggacatcta tagcaacttg gct 33
<210> 119
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> hC11f, hC11h LCDR2
<400> 119
agcgtcaaaa ggctccaaga c 21
<210> 120
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> hC11f, hC11h LCDR3
<400> 120
ctacaaggct ctaactccc attgaca 27
<210> 121
<211> 321

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> hC11f, hC11h VL
<400> 121
gatatccaaa tgacgcaatc accatctagc ctatcggcct ctgtggggga ccgagtcacc 60
atcacatgcc gagcttcgga ggacatctat agcaacttgg cttggtatca acaaaagccg 120
gggaaagcac caaagctgct gatatatagc gtcaaaaggc tccaagacgg agtcccaagc 180
cgattctcgg gctccggctc cgggacggat tttacgtga caatttcgag cctgcaaccg 240
gaggactttg caacctacta ttgcctacaa ggctctaact tcccattgac atttgggcaa 300
ggtaccaagg tcgagatcaa a 321
<210> 122
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> hC11h, hC11i, hC11j HCDR1
<400> 122
gactacgcta tgtat 15
<210> 123
<211> 51
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> hC11h, hC11i, hC11j HCDR2
<400> 123
tggattaatg cctacaccgg gaagccgact tatgcgcaaa aatttcaagg a 51
<210> 124
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> hC11h, hC11i, hC11j HCDR3
<400> 124
gcggtctact atggatatac gatggacgca 30
<210> 125
<211> 357
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> hC11h, hC11i, hC11j VH

<400> 125

cagggtccaac tgggttcaatc tggagcggaa gtcaagaagc ccggagcatc cgtcaaagtc 60
tcgtgcaagg catctggata cacattcacc gactacgcta tgtattgggt ccggcaagcc 120
cccggacaac ggctggaatg gatgggatgg attaatgcct acaccgggaa gccgacttat 180
gcgcaaaaaat ttcaaggaag ggtcacgatt acgcgggaca cgagcgctc aaccgcatac 240
atggagctat cgagcctgcg aagcgaggac accgcggtct actactgcgc gcgggcggtc 300
tactatggat atacgatgga cgcattggggg cagggtaccc tggtcacggt ctcgagc 357

<210> 126

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HC CDR2仅用于hC11x,而不用用于嵌合克隆cC11-1,2,3

<220>

<221> 杂项特征

<222> (4) .. (4)

<223> T或A

<220>

<221> 杂项特征

<222> (12) .. (12)

<223> A或S

<400> 126

Trp	Ile	Asn	Xaa	Tyr	Thr	Gly	Lys	Pro	Thr	Tyr	Xaa	Gln	Lys	Phe	Gln
1				5					10					15	

Gly

<210> 127

<211> 107

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 恒定轻链 - CL域

<400> 127

Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu
1				5					10					15	

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

Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

35	40	45
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser		
50	55	60
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu		
65	70	75
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser		
85	90	95
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys		
100	105	

<210> 128

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 恒定重链 - CH1 + Fc域

<220>

<221> 杂项特征

<222> (330) .. (330)

<223> X为Lys或Arg

<400> 128

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

145				150				155				160			
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu
165				170				175							
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu
180				185				190							
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn
195				200				205							
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly
210				215				220							
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu
225				230				235				240			
Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr
245				250				255							
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn
260				265				270							
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe
275				280				285							
Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn
290				295				300							
Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr
305				310				315				320			
Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Xaa						
325				330											

<210> 129

 $\langle 211 \rangle$ 330

<212> PRT

〈213〉 人工序列

 $\langle 220 \rangle$

〈223〉 恒定重链中的L234A/L235A突变 - CH1 + Fc域

 $\langle 220 \rangle$

〈221〉 杂项特征

 $\langle 222 \rangle \quad (330) \dots (330)$

〈223〉 X为Lys或Arg

<400> 129

Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys
1				5				10						15	
Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr
			20					25					30		
Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser

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

<210> 130

<211> 330

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 恒定重链中的L236A/L236A/P329G突变 - CH1 + Fc域

<220>

<221> 杂项特征

<222> (330) .. (330)

<223> X为Lys或Arg

<400> 130

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

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr		
	245	250 255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn		
	260	265 270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe		
	275	280 285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn		
	290	295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr		
	305	310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa		
	325	330

<210> 131

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 分选酶标签

<400> 131

Leu Pro Gln Thr Gly Gly

1 5

<210> 132

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 分选酶标签

<400> 132

Gly Gly Gly Gly Ser Leu Pro Gln Thr Gly Gly

1 5 10

<210> 133

<211> 449

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> hCL1a HC全长LALA

<220>

<221> 杂项特征

<222> (449) .. (449)

<223> X为Lys或Arg

<400> 133

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

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

Xaa

<210> 134

<211> 449

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> hCL1a HC全长LALAPG

<220>

<221> 杂项特征

<222> (449) .. (449)

<223> X为Lys或Arg

<400> 134

Gln Val Gln Leu Val	Gln Ser Gly Ala Glu Val	Lys Lys Pro Gly Ala
1	5	10
Ser Val Lys Val Ser	Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr	Phe Thr Asp Tyr
20	25	30
Ala Met His Trp Val	Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg	Leu Glu Trp Met
35	40	45
Gly Trp Ile Asn Thr	Tyr Thr Gly Lys Pro Thr Tyr	Ala Gln Lys Phe
50	55	60

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

370	375	380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu		
385	390	395
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys		400
405	410	415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu		
420	425	430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly		
435	440	445
Xaa		
<210> 135		
<211> 261		
<212> PRT		
<213> 智人		
<400> 135		
Met Ala Val Thr Ala Cys Gln Gly Leu Gly Phe Val Val Ser Leu Ile		
1	5	10
Gly Ile Ala Gly Ile Ile Ala Ala Thr Cys Met Asp Gln Trp Ser Thr		
20	25	30
Gln Asp Leu Tyr Asn Asn Pro Val Thr Ala Val Phe Asn Tyr Gln Gly		
35	40	45
Leu Trp Arg Ser Cys Val Arg Glu Ser Ser Gly Phe Thr Glu Cys Arg		
50	55	60
Gly Tyr Phe Thr Leu Leu Gly Leu Pro Ala Met Leu Gln Ala Val Arg		
65	70	75
Ala Leu Met Ile Val Gly Ile Val Leu Gly Ala Ile Gly Leu Leu Val		
85	90	95
Ser Ile Phe Ala Leu Lys Cys Ile Arg Ile Gly Ser Met Glu Asp Ser		
100	105	110
Ala Lys Ala Asn Met Thr Leu Thr Ser Gly Ile Met Phe Ile Val Ser		
115	120	125
Gly Leu Cys Ala Ile Ala Gly Val Ser Val Phe Ala Asn Met Leu Val		
130	135	140
Thr Asn Phe Trp Met Ser Thr Ala Asn Met Tyr Thr Gly Met Gly Gly		
145	150	155
Met Val Gln Thr Val Gln Thr Arg Tyr Thr Phe Gly Ala Ala Leu Phe		
165	170	175
Val Gly Trp Val Ala Gly Gly Leu Thr Leu Ile Gly Gly Val Met Met		
180	185	190

Cys Ile Ala Cys Arg Gly Leu Ala Pro Glu Glu Thr Asn Tyr Lys Ala
195 200 205
Val Ser Tyr His Ala Ser Gly His Ser Val Ala Tyr Lys Pro Gly Gly
210 215 220
Phe Lys Ala Ser Thr Gly Phe Gly Ser Asn Thr Lys Asn Lys Lys Ile
225 230 235 240
Tyr Asp Gly Gly Ala Arg Thr Glu Asp Glu Val Gln Ser Tyr Pro Ser
245 250 255
Lys His Asp Tyr Val
260

<210> 136

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 分选酶标签

<220>

<221> 杂项特征

<222> (3) .. (3)

<223> X为20种天然氨基酸中的任何一种

<220>

<221> 重复

<222> (5) .. (5)

<223> 寡甘氨酸可能包含1-21个重复

<400> 136

Leu Pro Xaa Thr Gly

1 5

<210> 137

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 分选酶标签

<220>

<221> 杂项特征

<222> (3) .. (3)

<223> X为20种天然氨基酸中的任何一种

<220>

<221> 重复

<222> (5) .. (5)
<223> 寡甘氨酸可能包含1-21个重复
<400> 137
Leu Pro Xaa Ala Gly
1 5
<210> 138
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 分选酶标签
<220>
<221> 杂项特征
<222> (3) .. (3)
<223> X为20种天然氨基酸中的任何一种
<220>
<221> 重复
<222> (5) .. (5)
<223> 寡甘氨酸可能包含1-21个重复
<400> 138
Leu Pro Xaa Ser Gly
1 5
<210> 139
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 分选酶标签
<220>
<221> 杂项特征
<222> (3) .. (3)
<223> X为20种天然氨基酸中的任何一种
<220>
<221> 重复
<222> (5) .. (5)
<223> 寡甘氨酸可能包含1-21个重复
<400> 139
Leu Ala Xaa Thr Gly
1 5

<210> 140
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 分选酶标签
<220>
<221> 杂项特征
<222> (3) .. (3)
<223> X为20种天然氨基酸中的任何一种
<220>
<221> 重复
<222> (5) .. (5)
<223> 寡丙氨酸可能包含1-21个重复
<400> 140
Leu Pro Xaa Thr Ala
1 5
<210> 141
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 分选酶标签
<220>
<221> 重复
<222> (5) .. (5)
<223> 寡甘氨酸可能包含1-21个重复
<400> 141
Asn Pro Gln Thr Gly
1 5
<210> 142
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 分选酶标签
<220>
<221> 重复
<222> (5) .. (5)

<223> 寡天冬酰胺可能包含1-21个重复

<400> 142

Asn Pro Gln Thr Asn

1 5

<210> 143

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 分选酶标签

<400> 143

Leu Pro Glu Thr Gly Gly

1 5

<210> 144

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡肽

<220>

<221> 重复

<222> (1) .. (5)

<223> 寡肽可以包括1-5个重复

<400> 144

Gly Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 145

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 分选酶标签

<220>

<221> 杂项特征

<222> (3) .. (3)

<223> X为20种天然氨基酸中的任何一种

<400> 145

Leu Pro Xaa Thr Gly Gly

1 5

<210> 146
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 分选酶标签
<220>
<221> 杂项特征
<222> (8) .. (8)
<223> X为20种天然氨基酸中的任何一种
<400> 146
Gly Gly Gly Gly Ser Leu Pro Xaa Thr Gly Gly
1 5 10
<210> 147
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 寡肽
<400> 147
Gly Gly Gly Gly Gly
1 5
<210> 148
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 分选酶标签
<400> 148
Leu Pro Gln Thr Gly
1 5

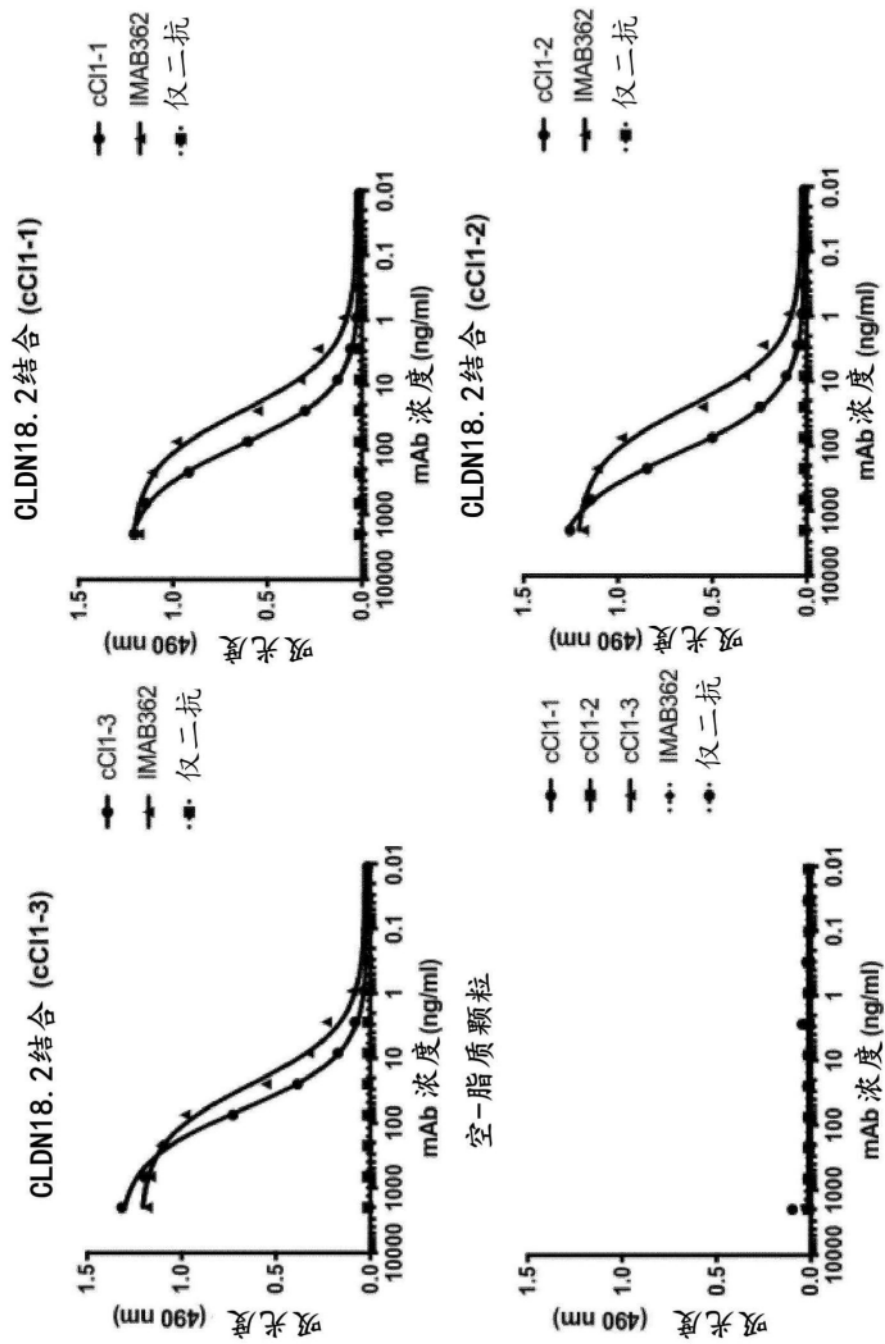


图1A

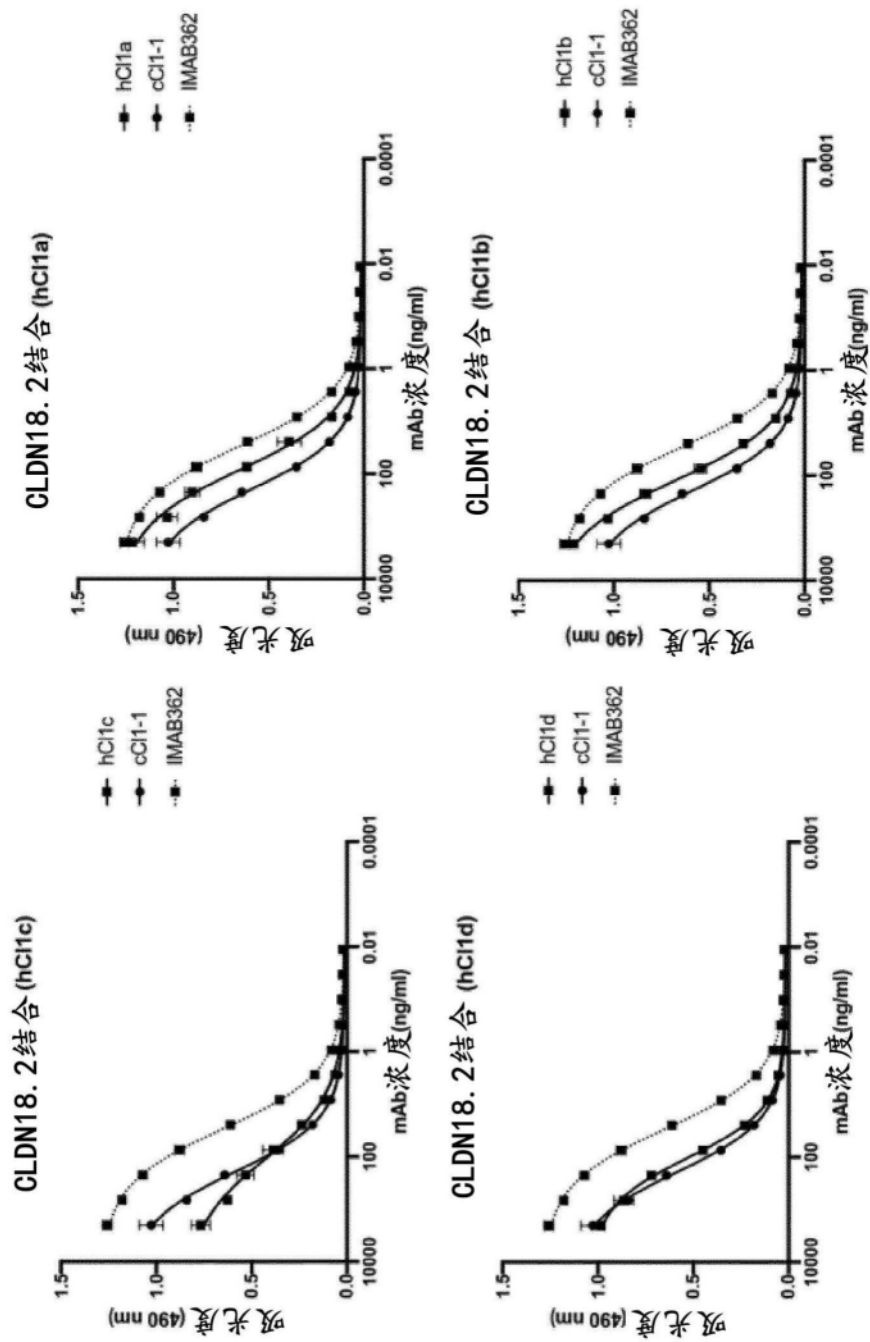


图1B

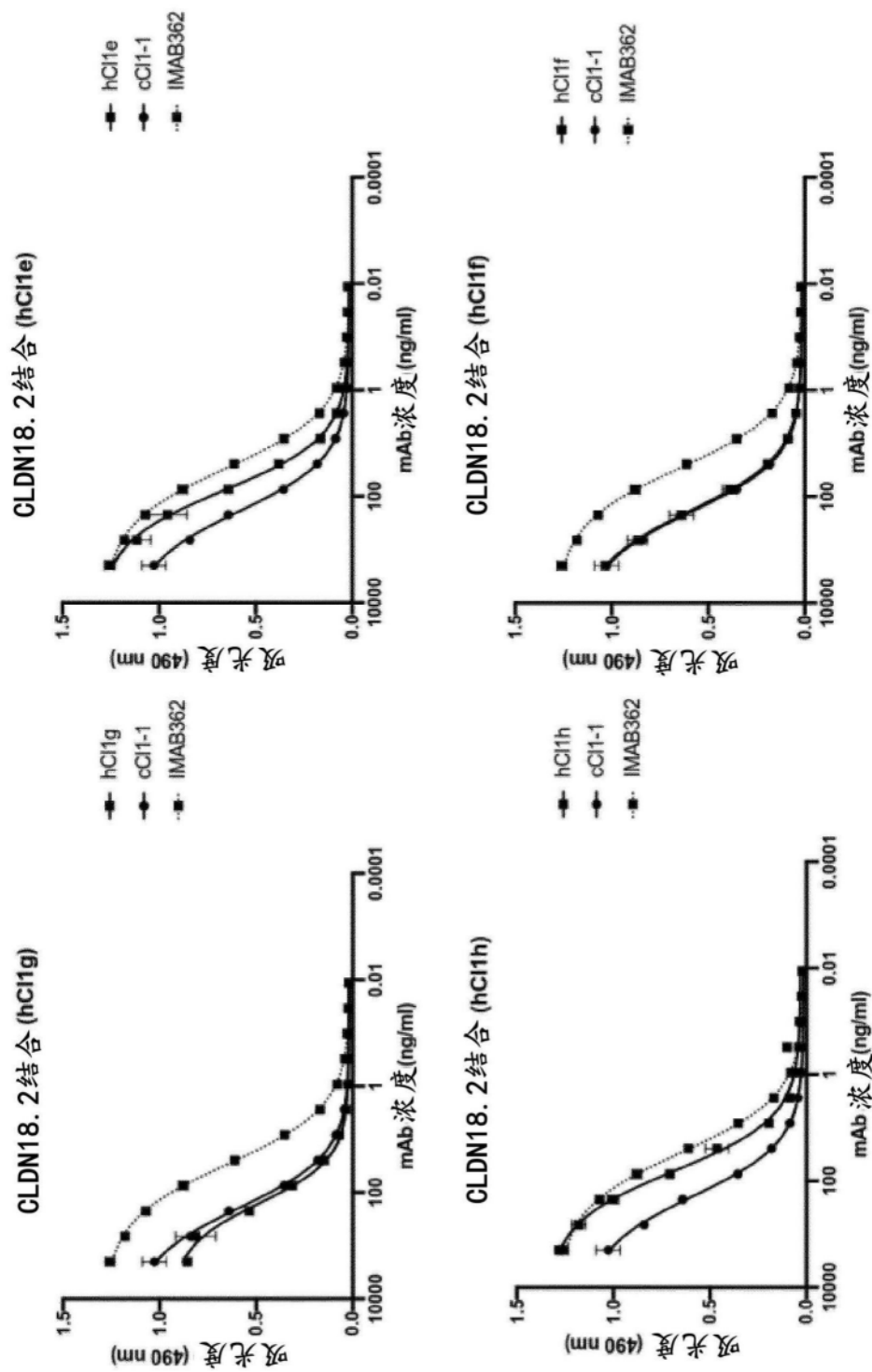


图1B(续)

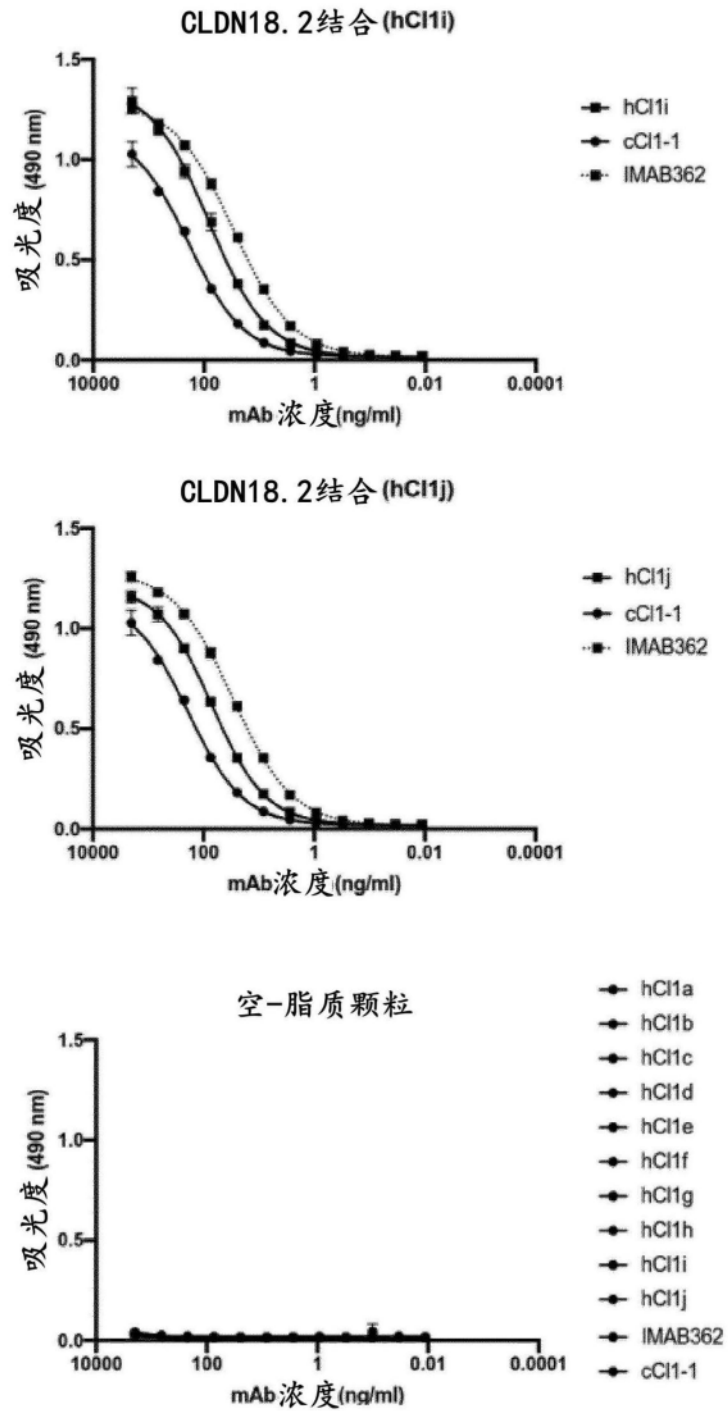


图1B

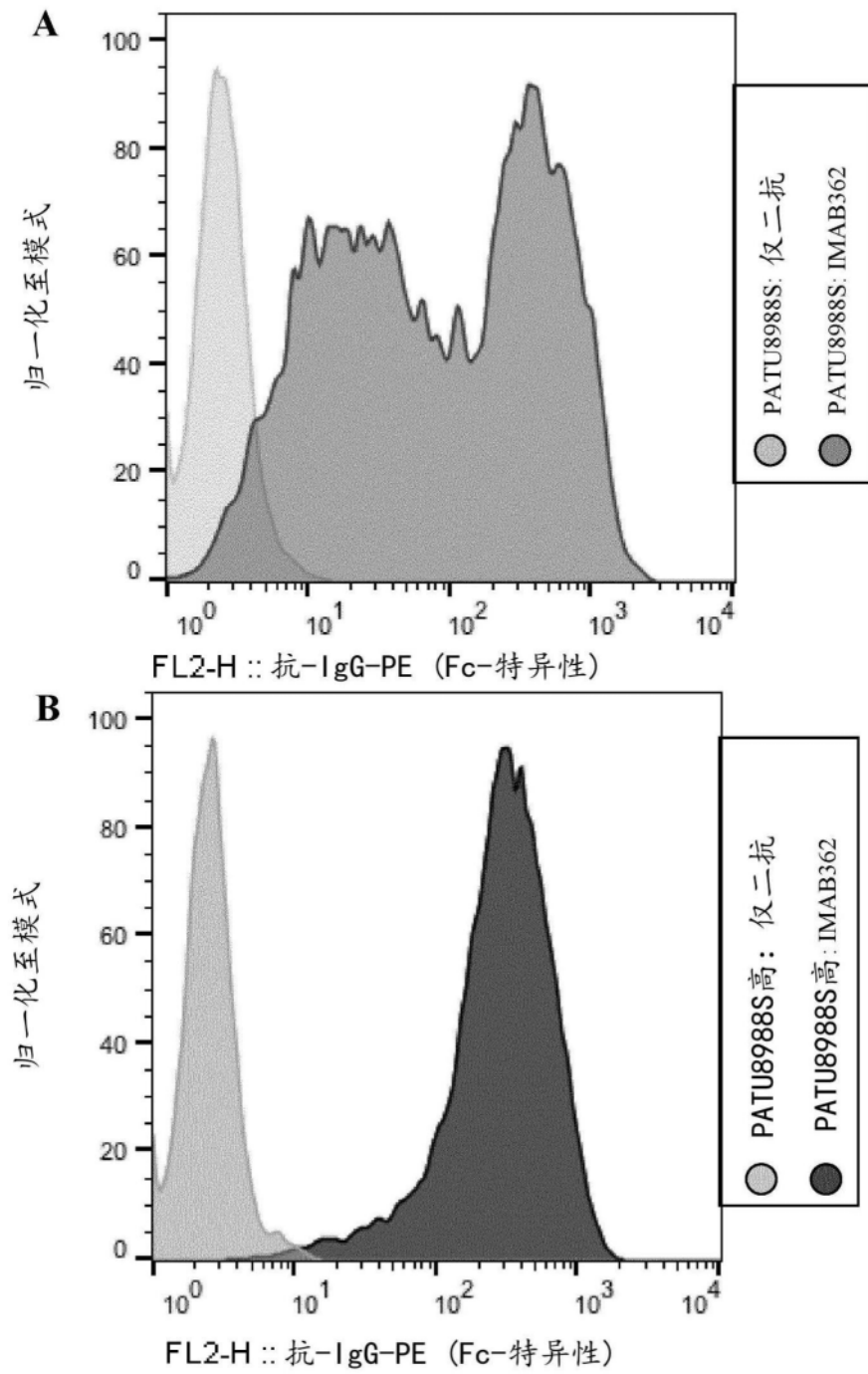


图2

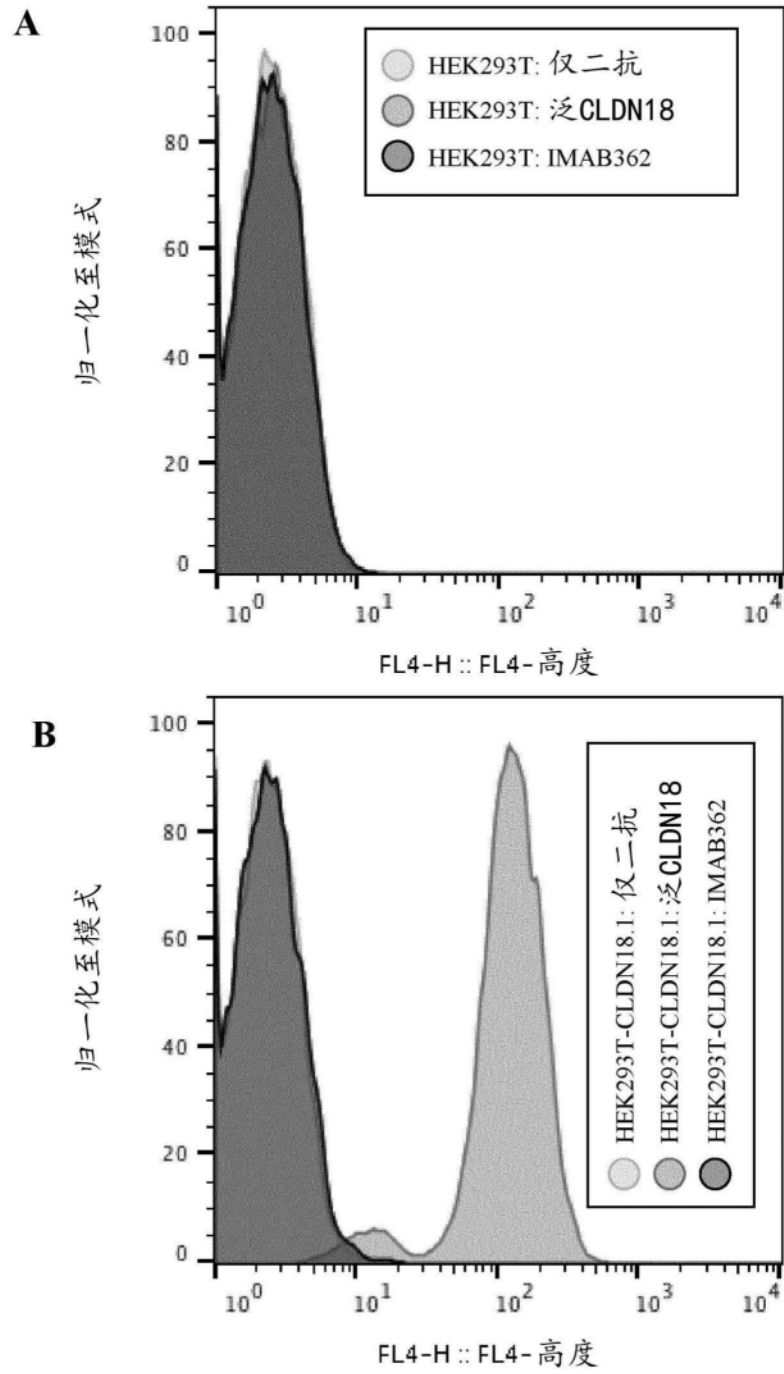


图3

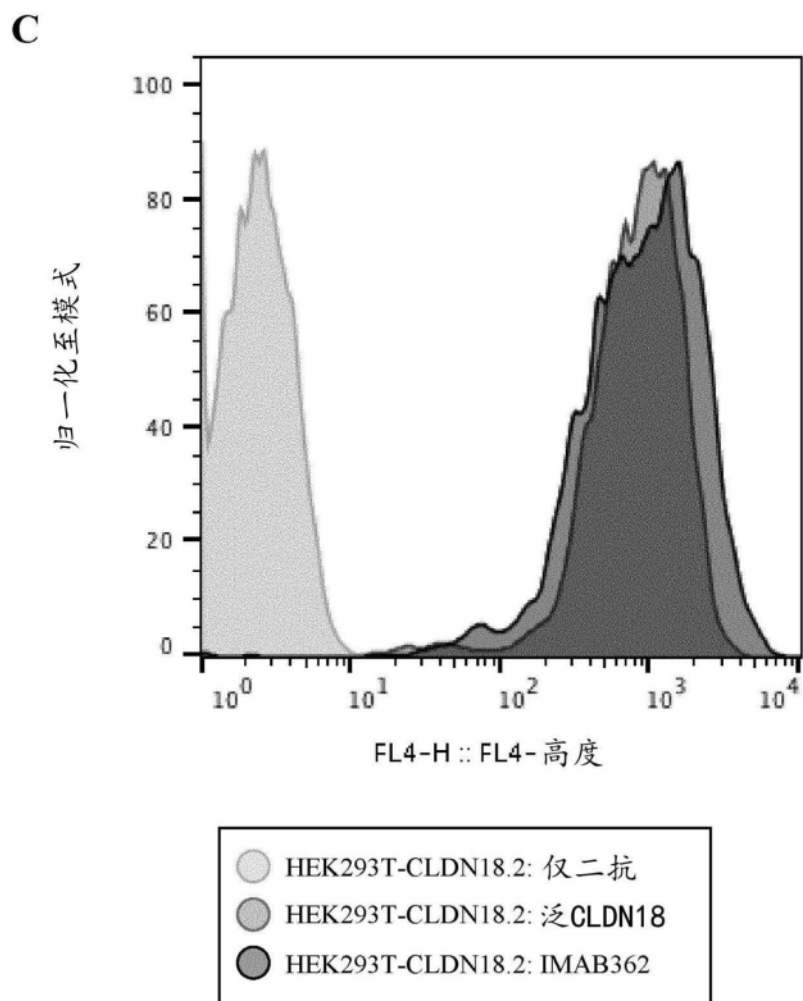


图3

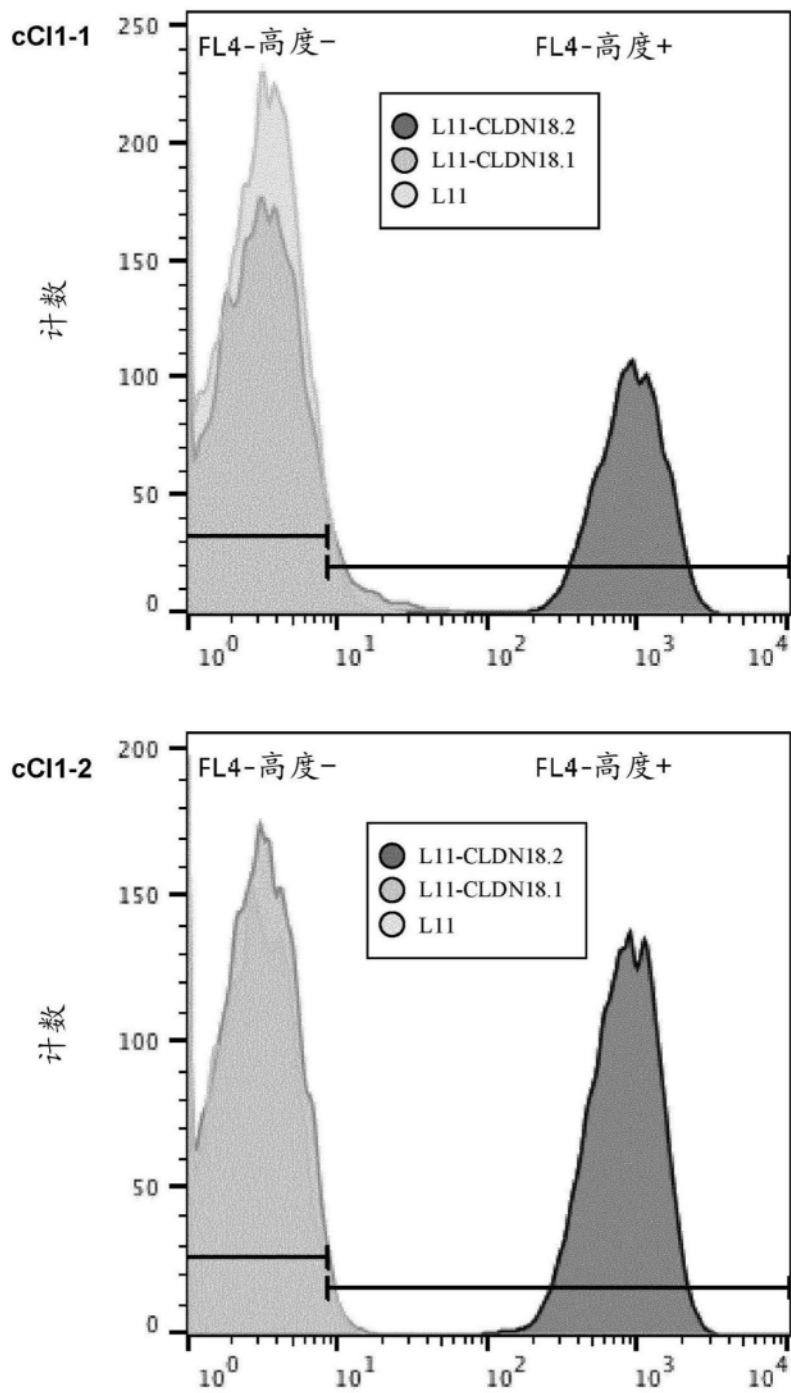


图4

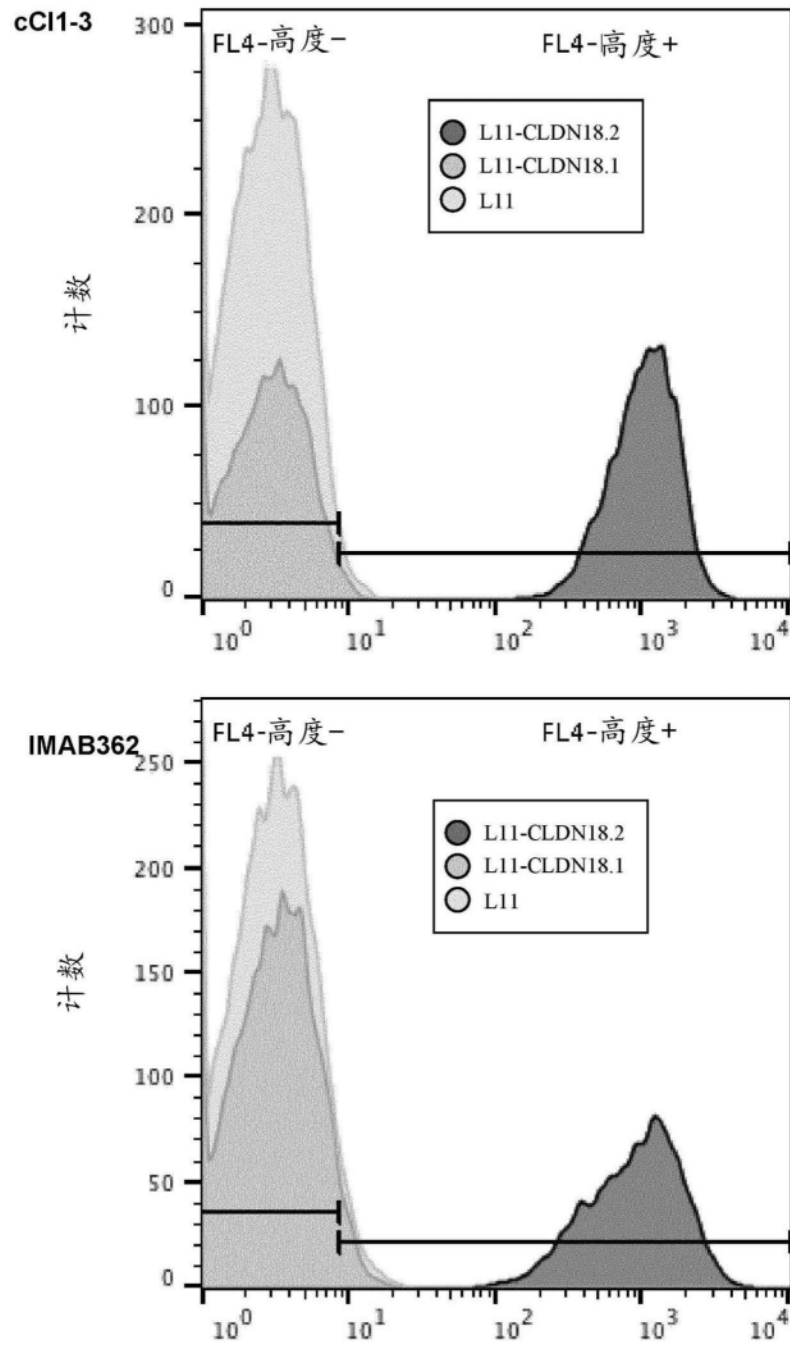


图4

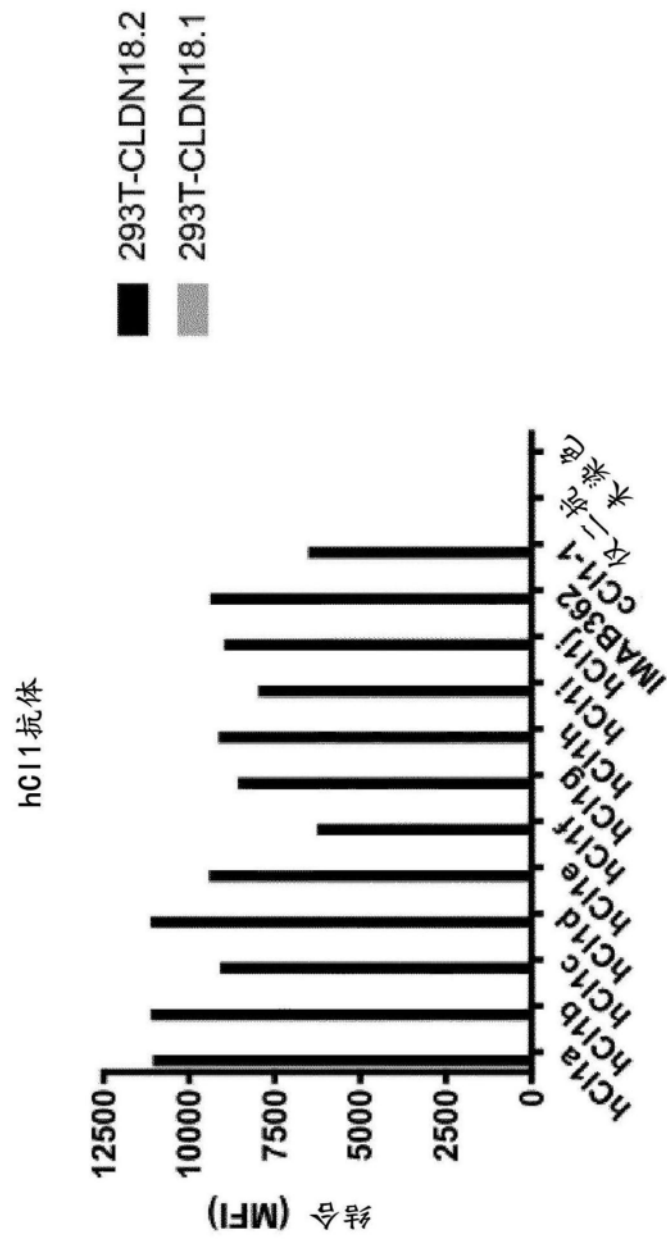


图5

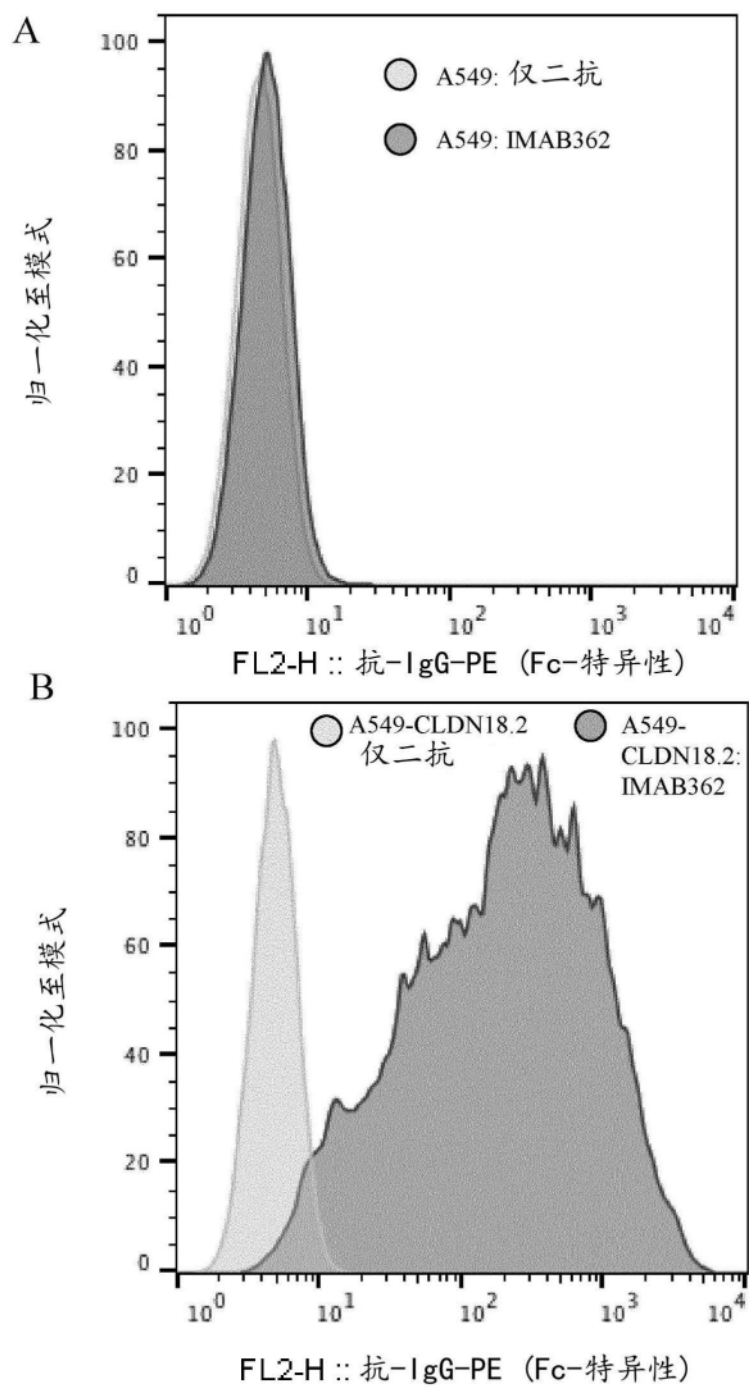


图6

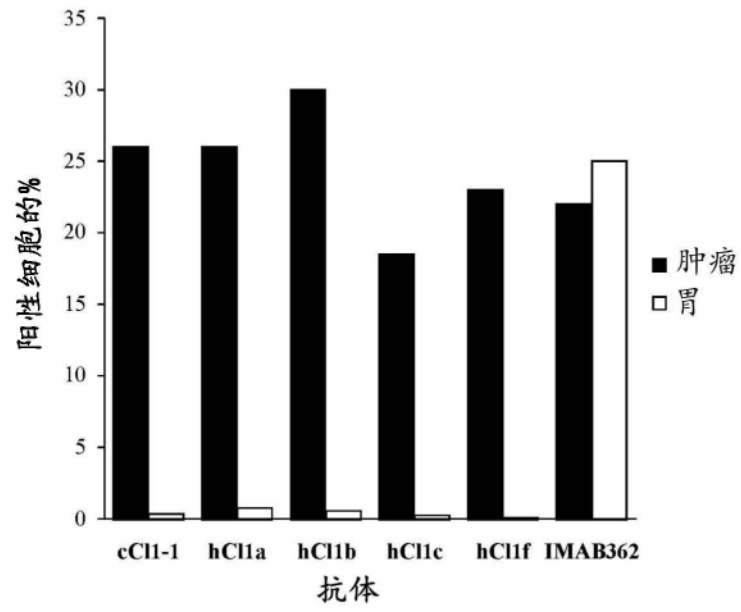


图7

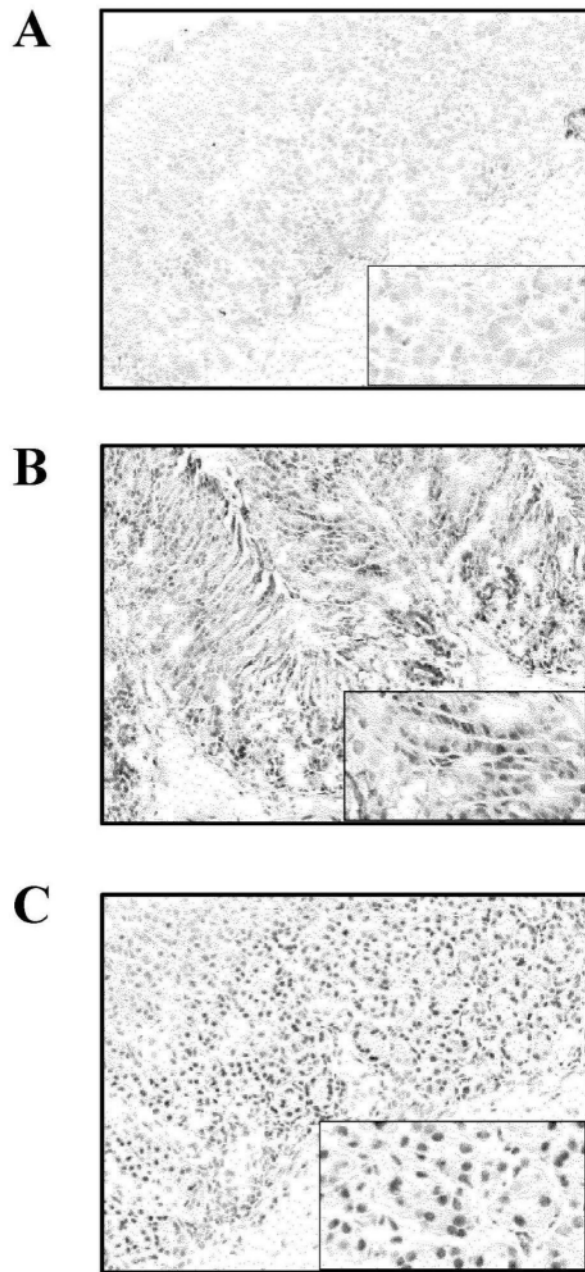


图8

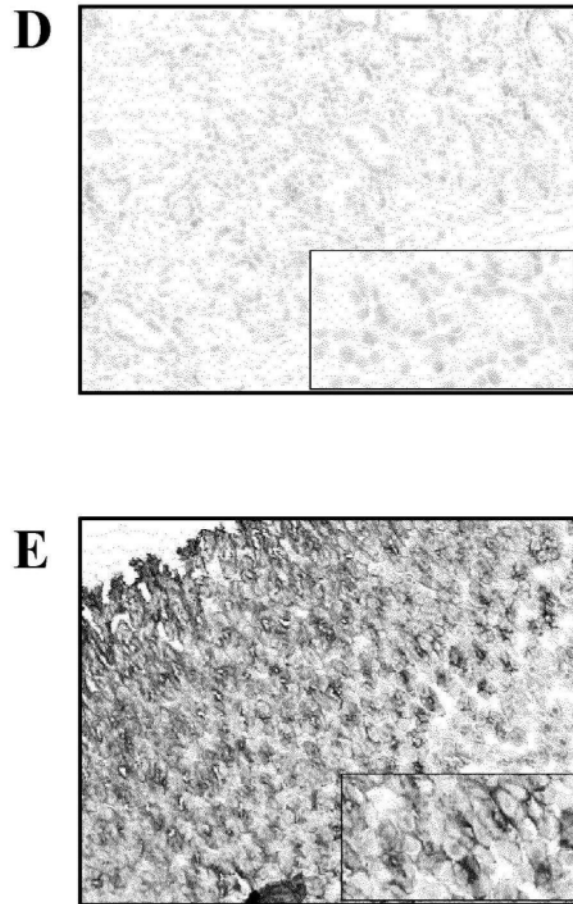


图8

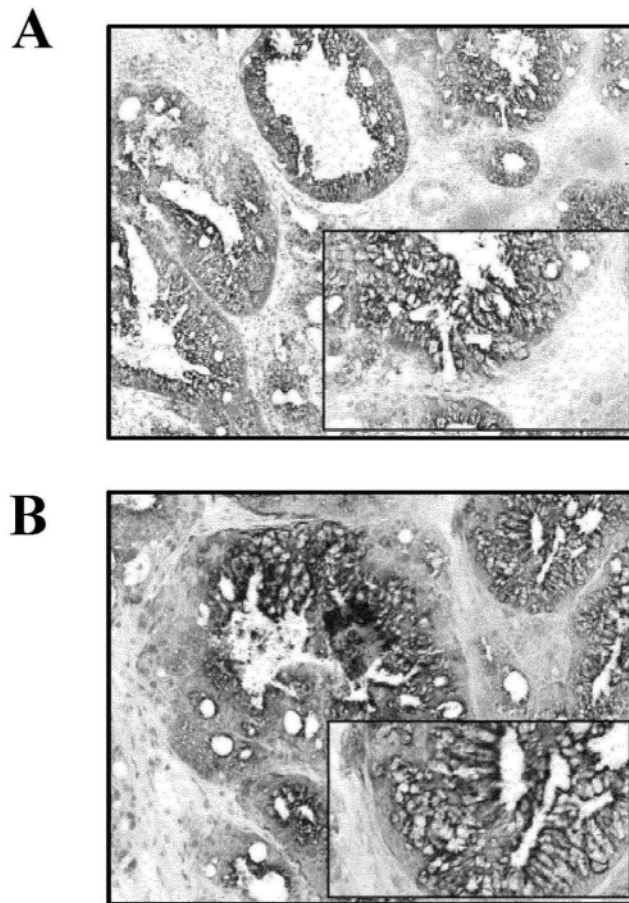


图9

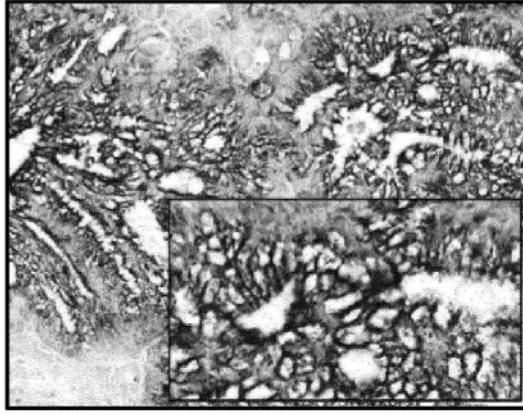
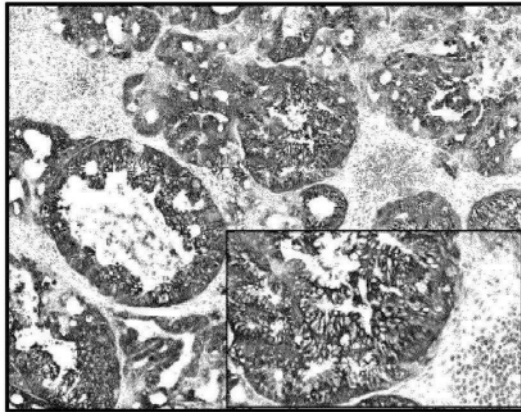
C**D**

图9

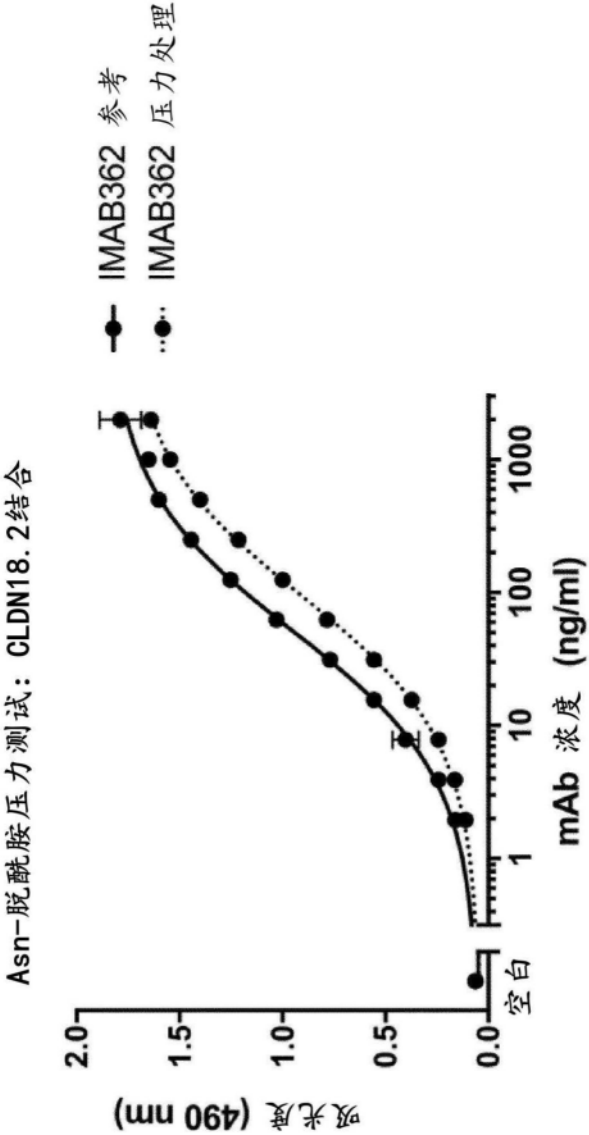


图10

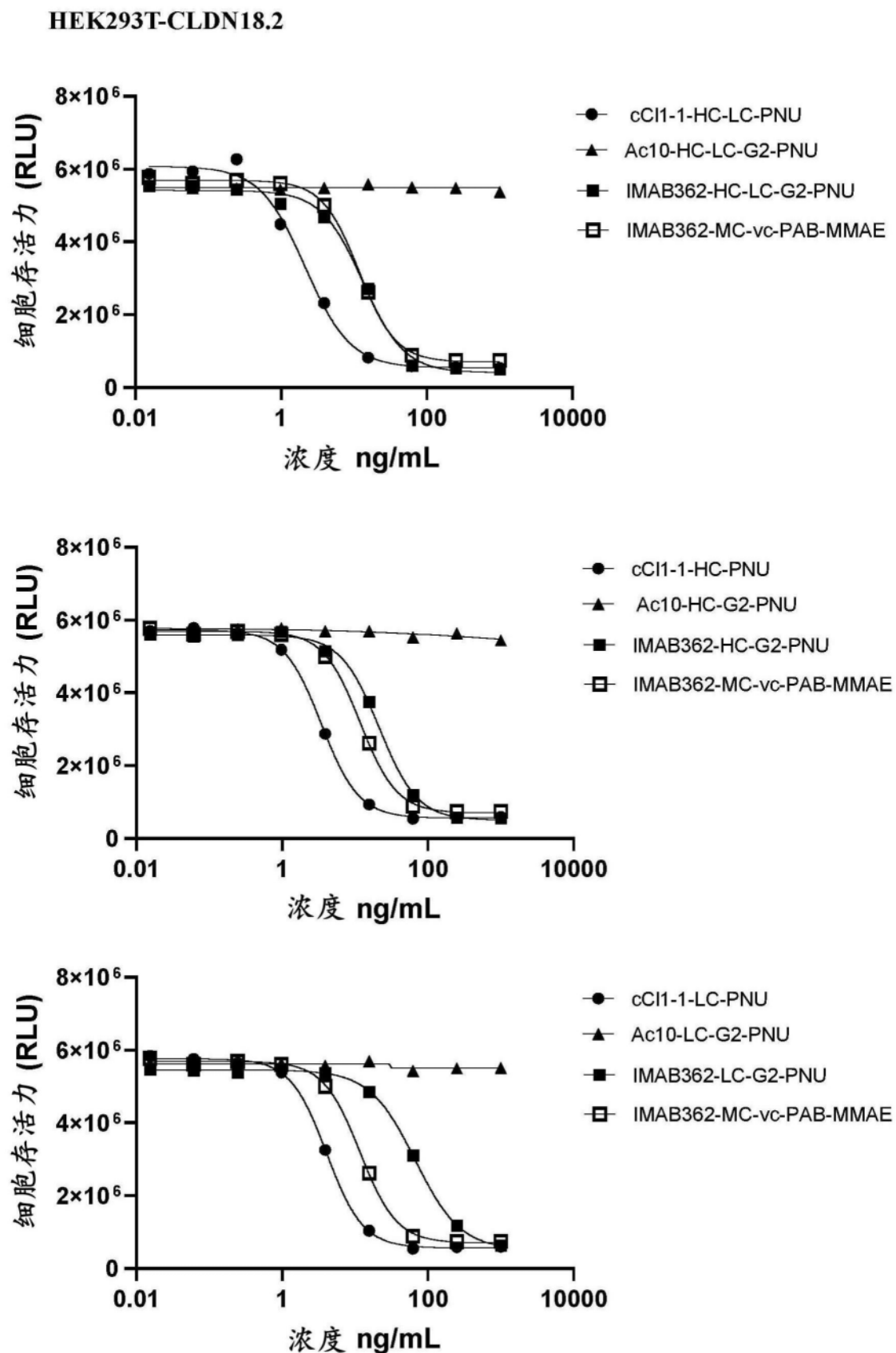


图11A

HEK293T-CLDN18.2

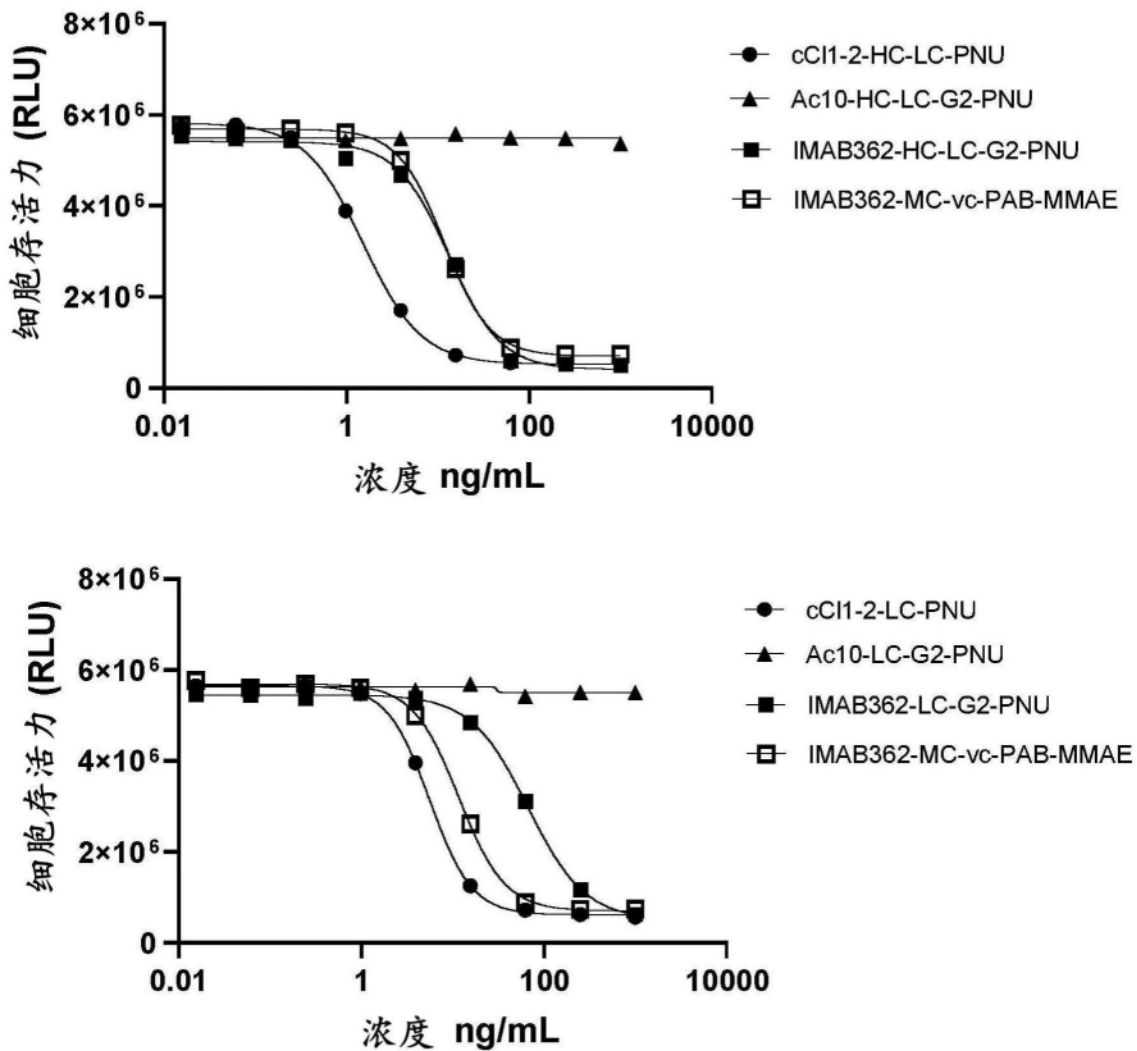


图11B

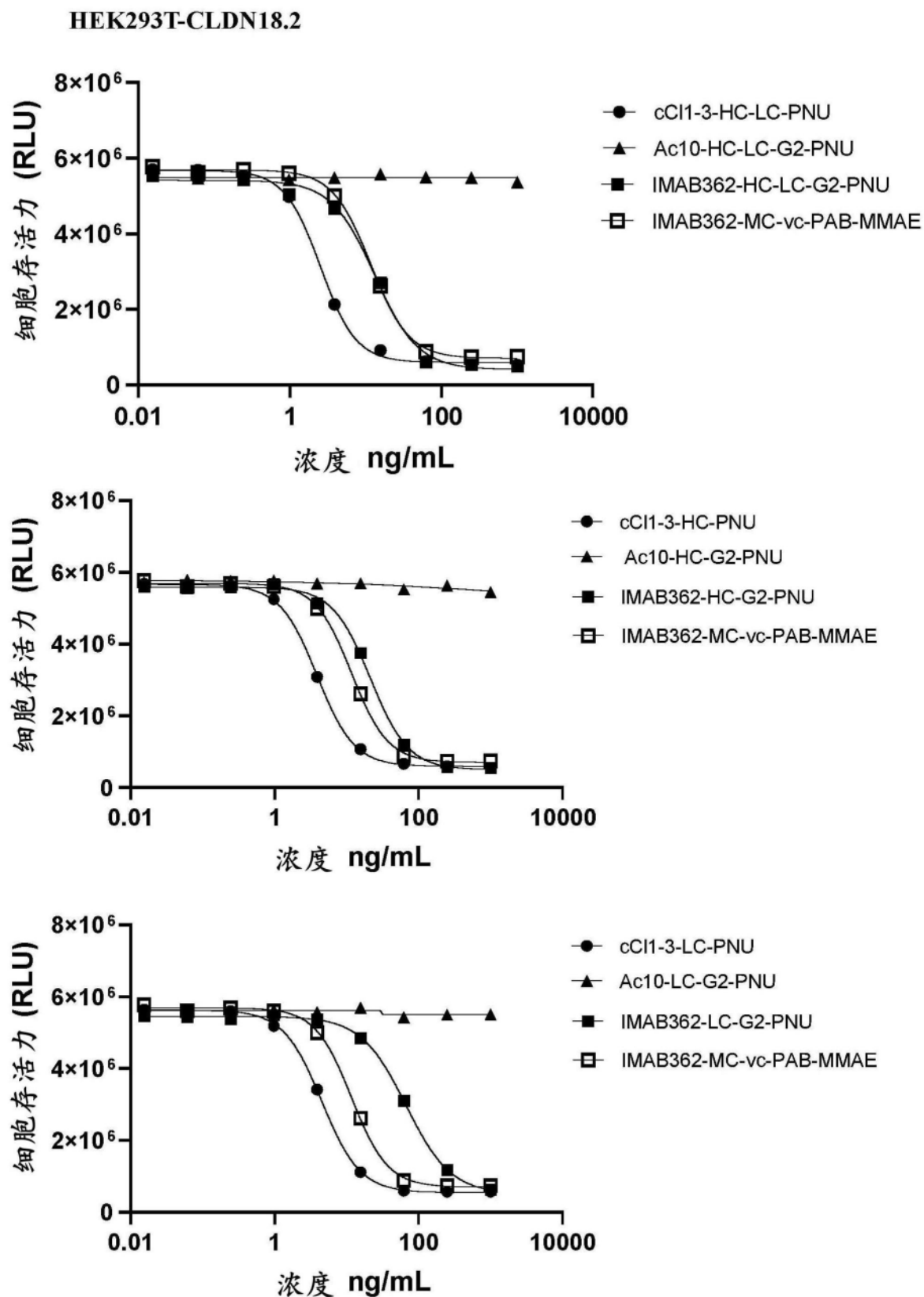


图11C

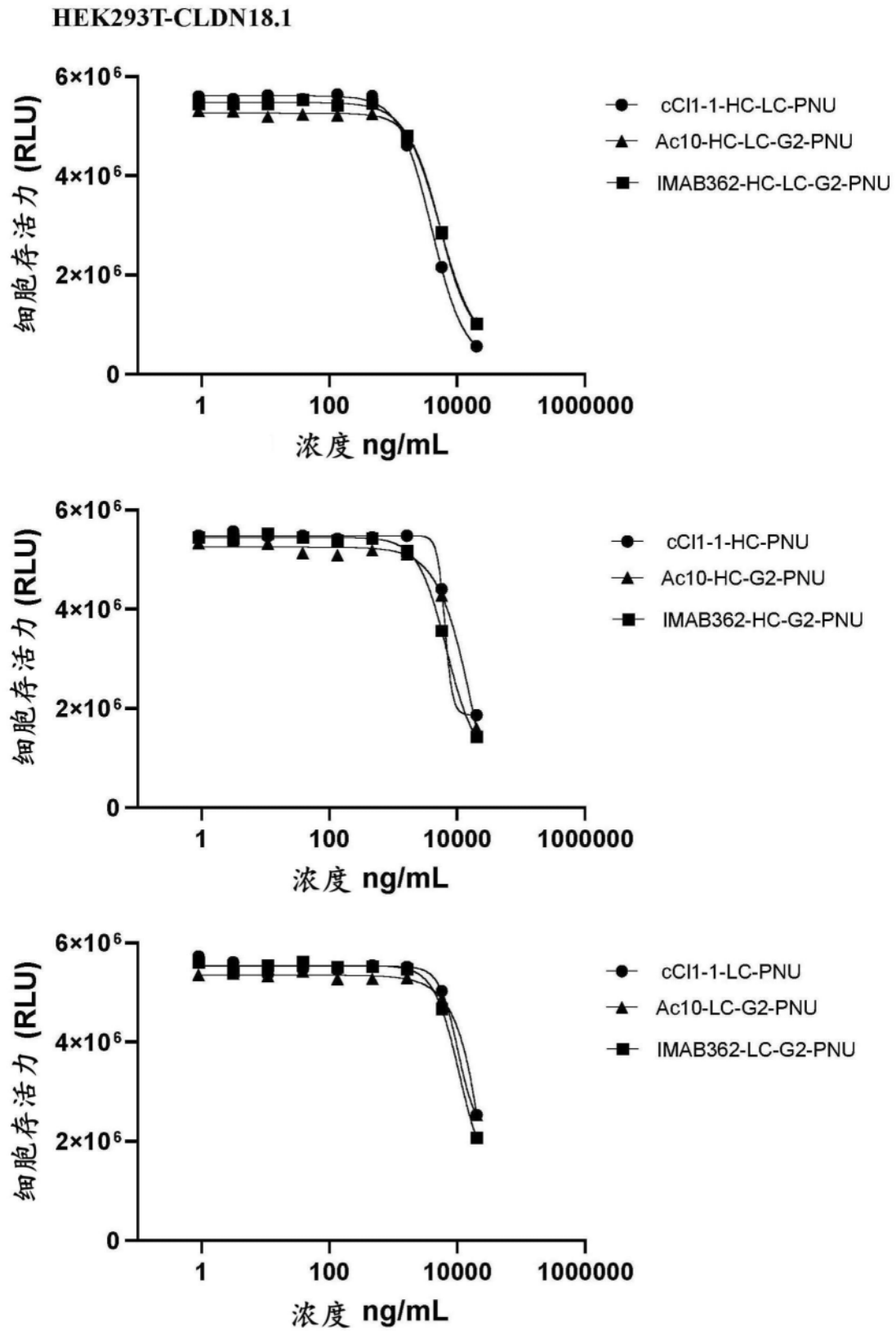


图12A

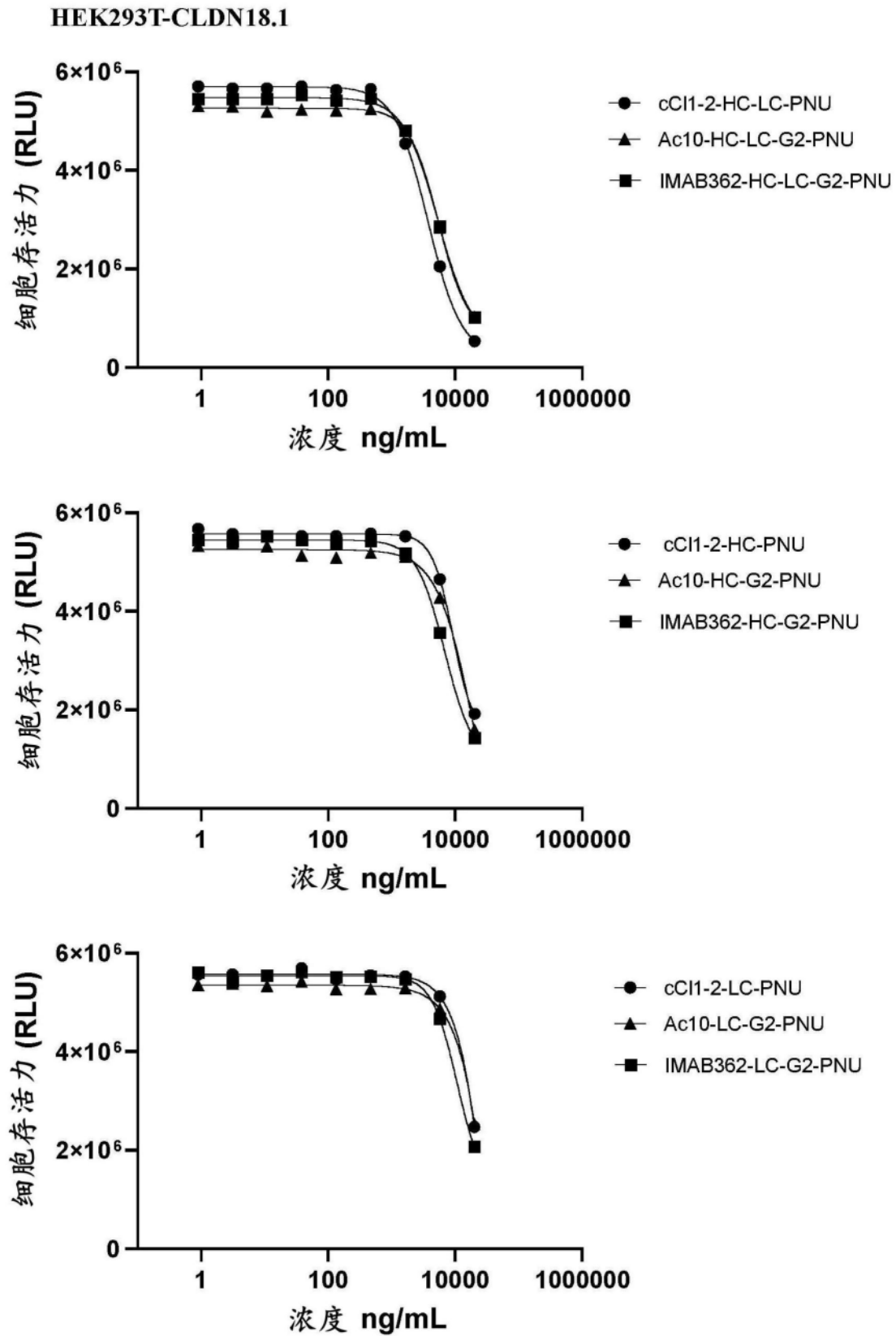


图12B

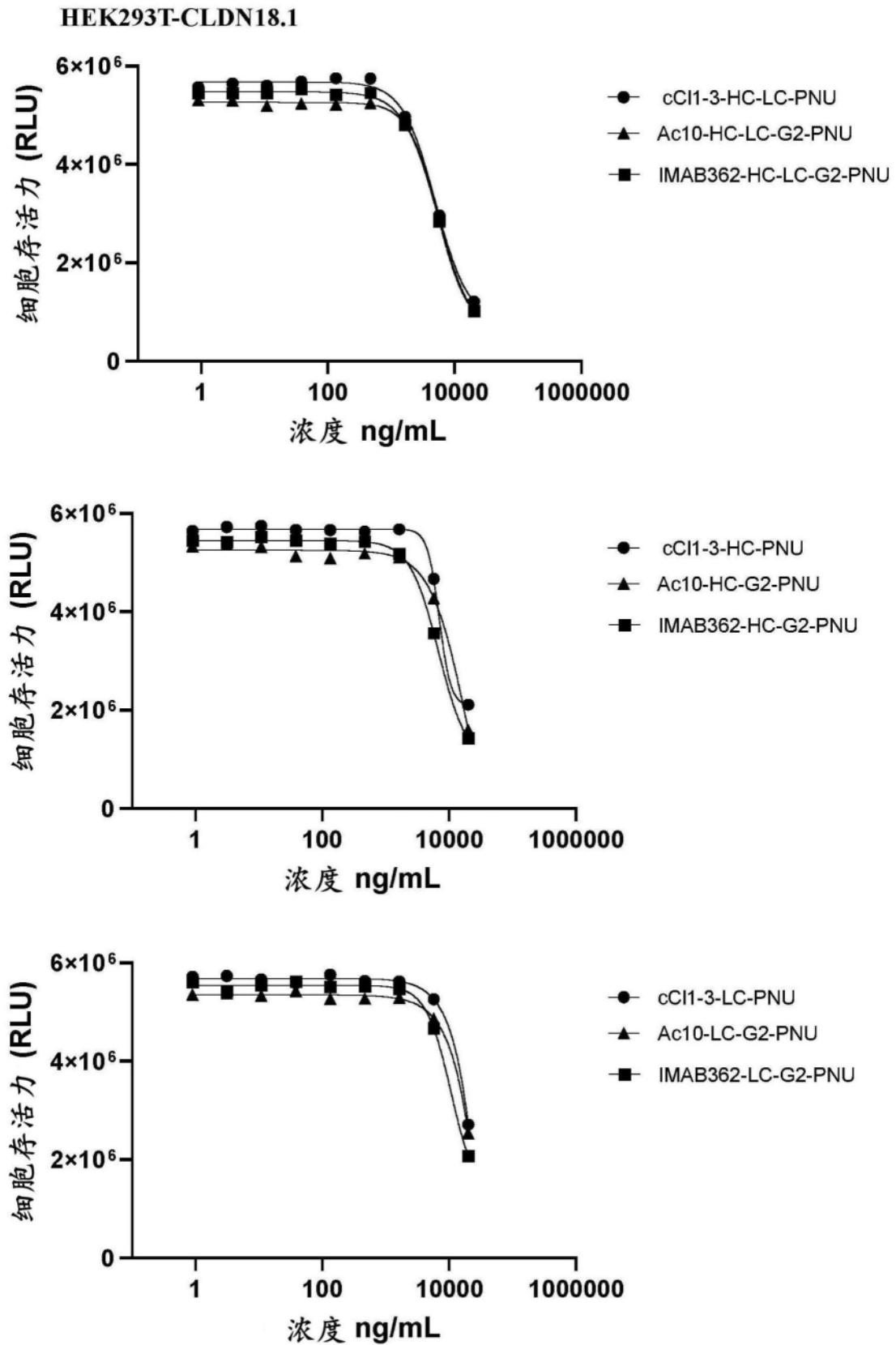


图12C

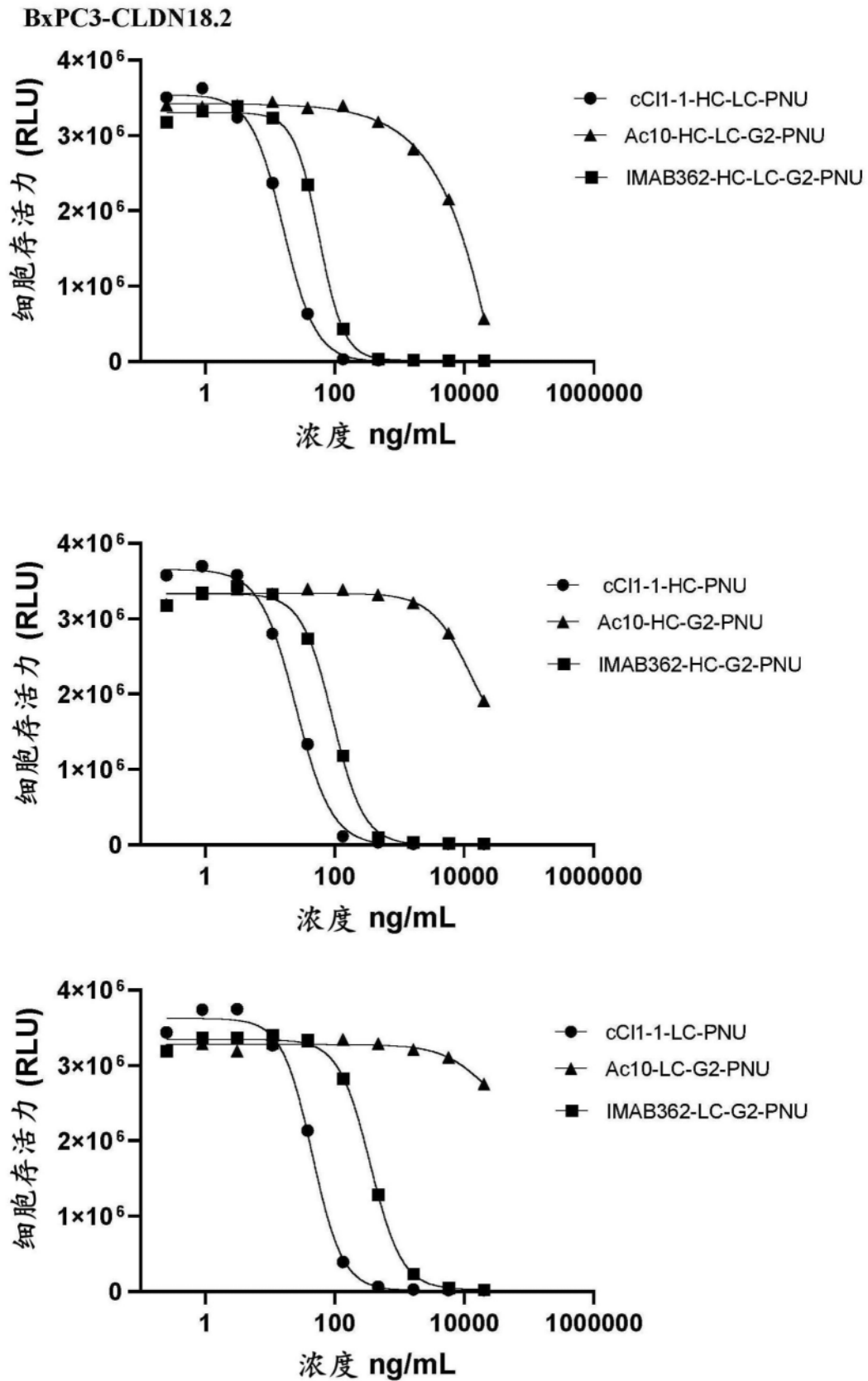


图13A

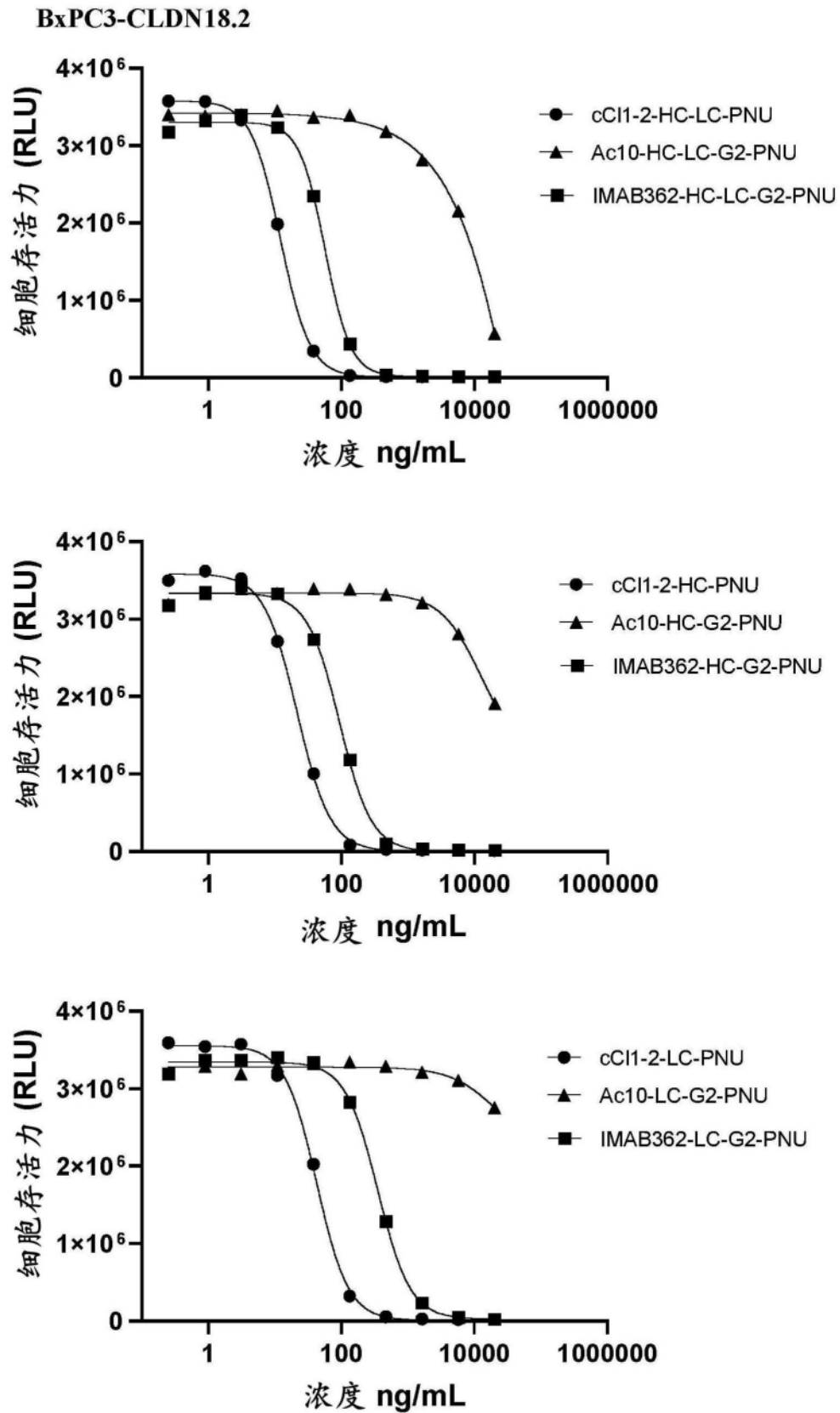


图13B

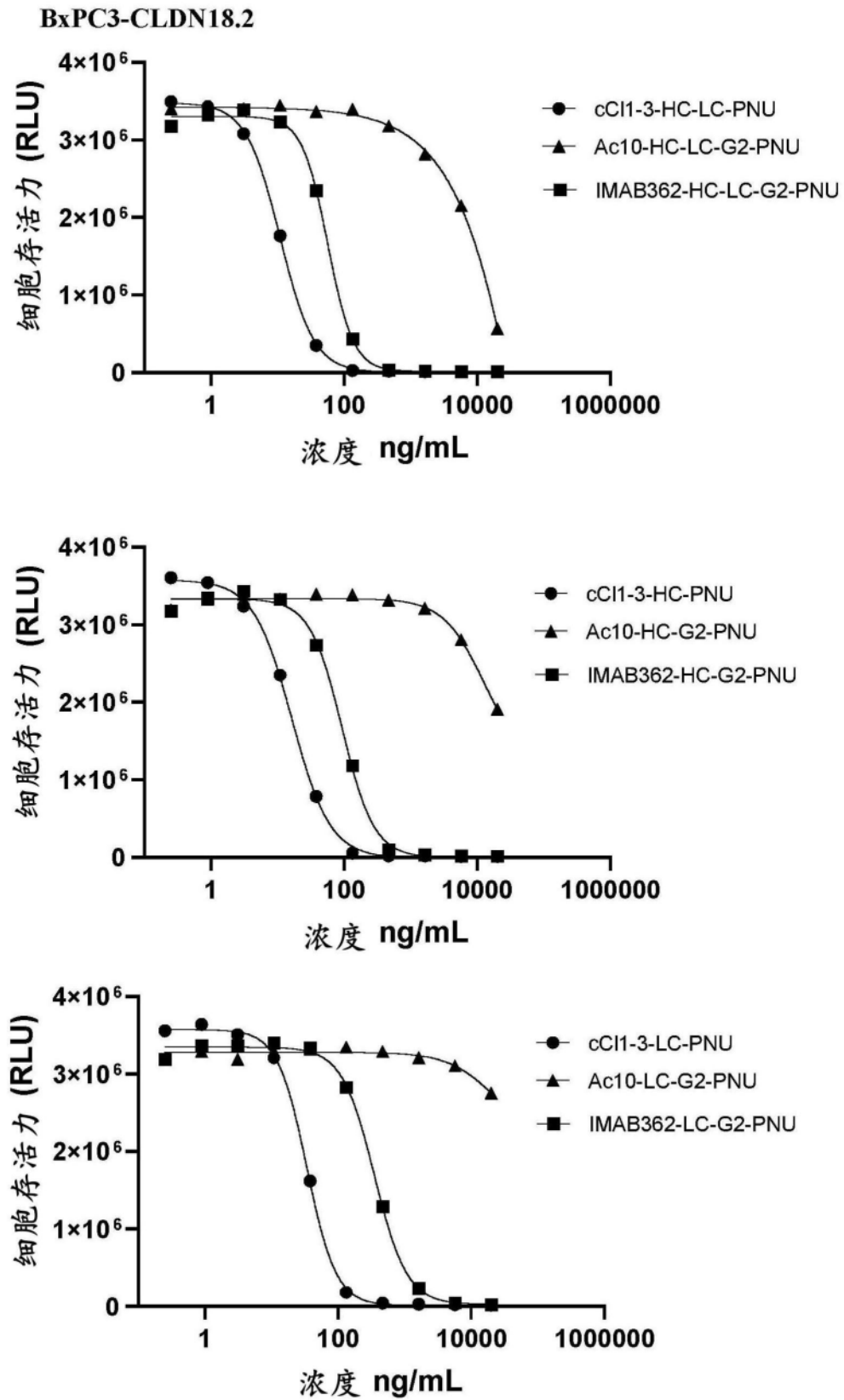


图13C

A549-CLDN18.2

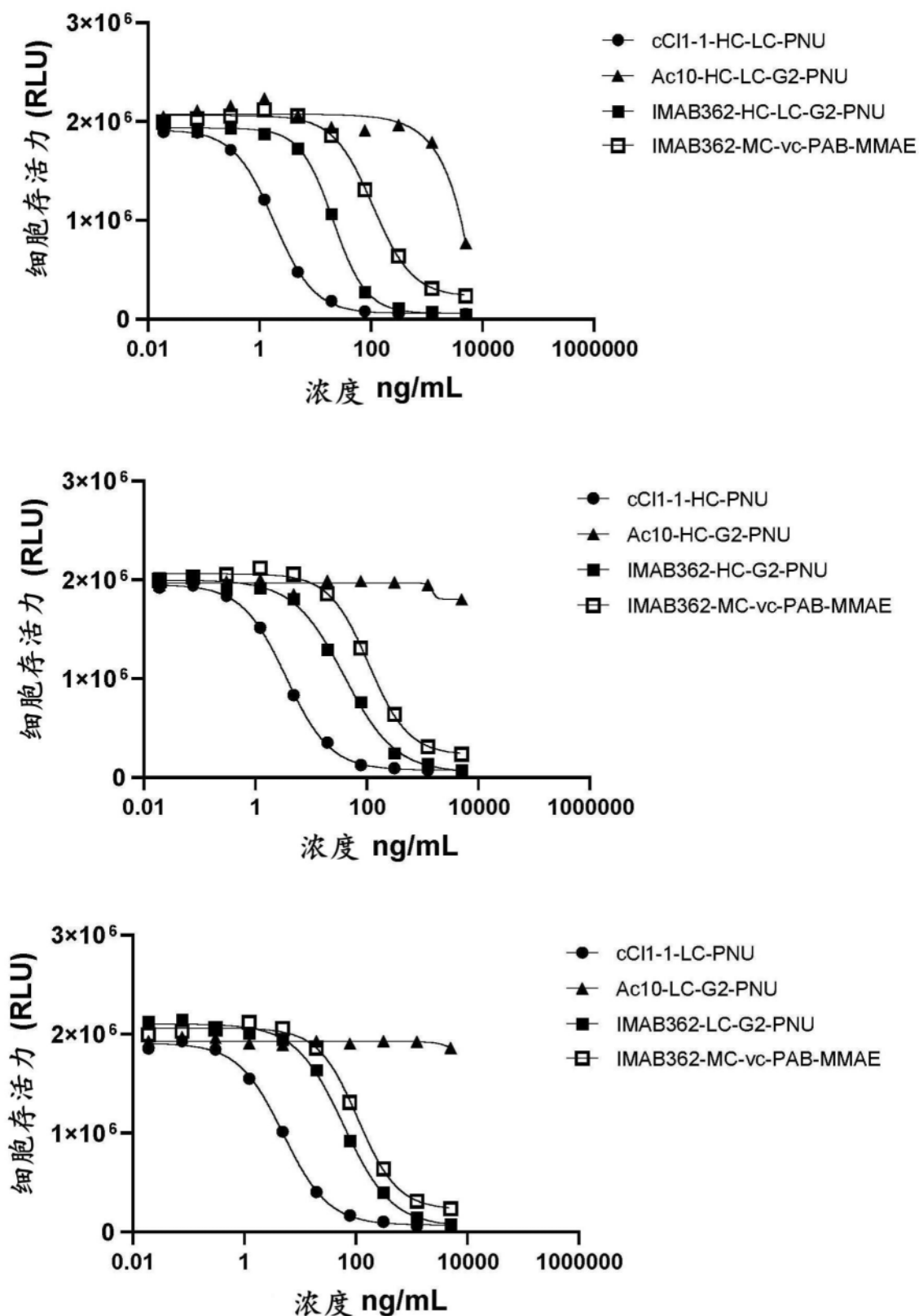


图14A

A549-CLDN18.2

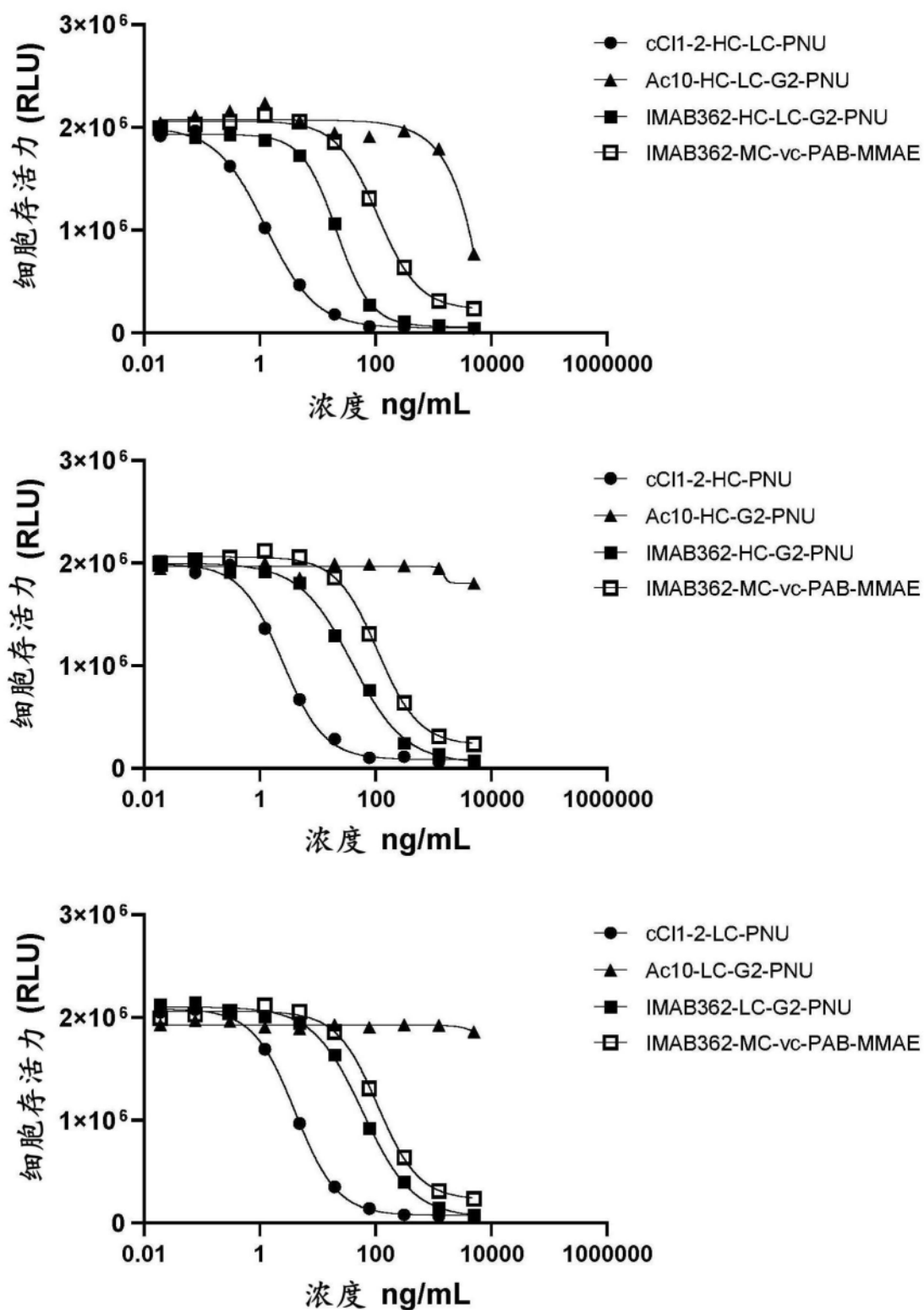


图14B

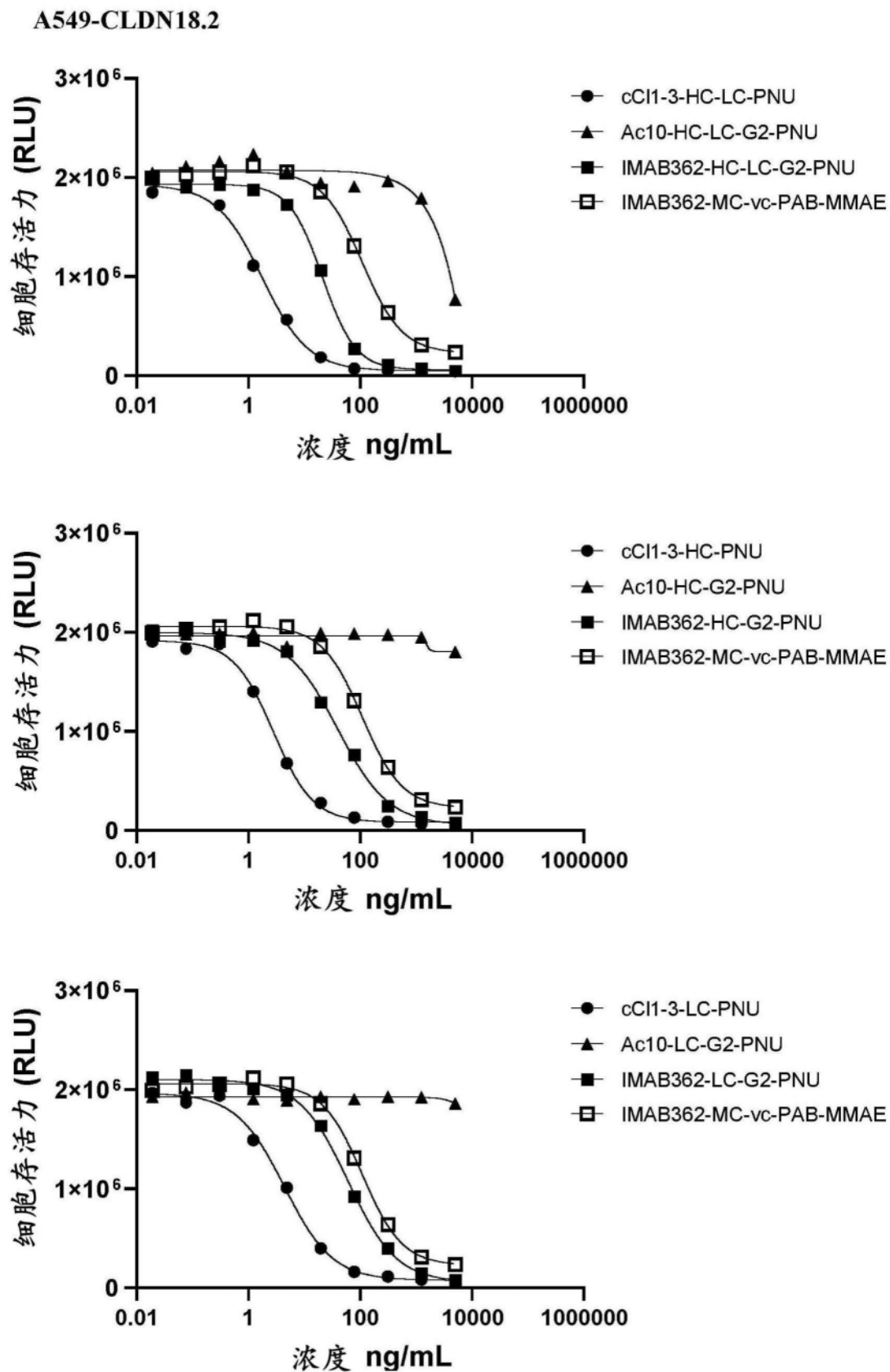


图14C

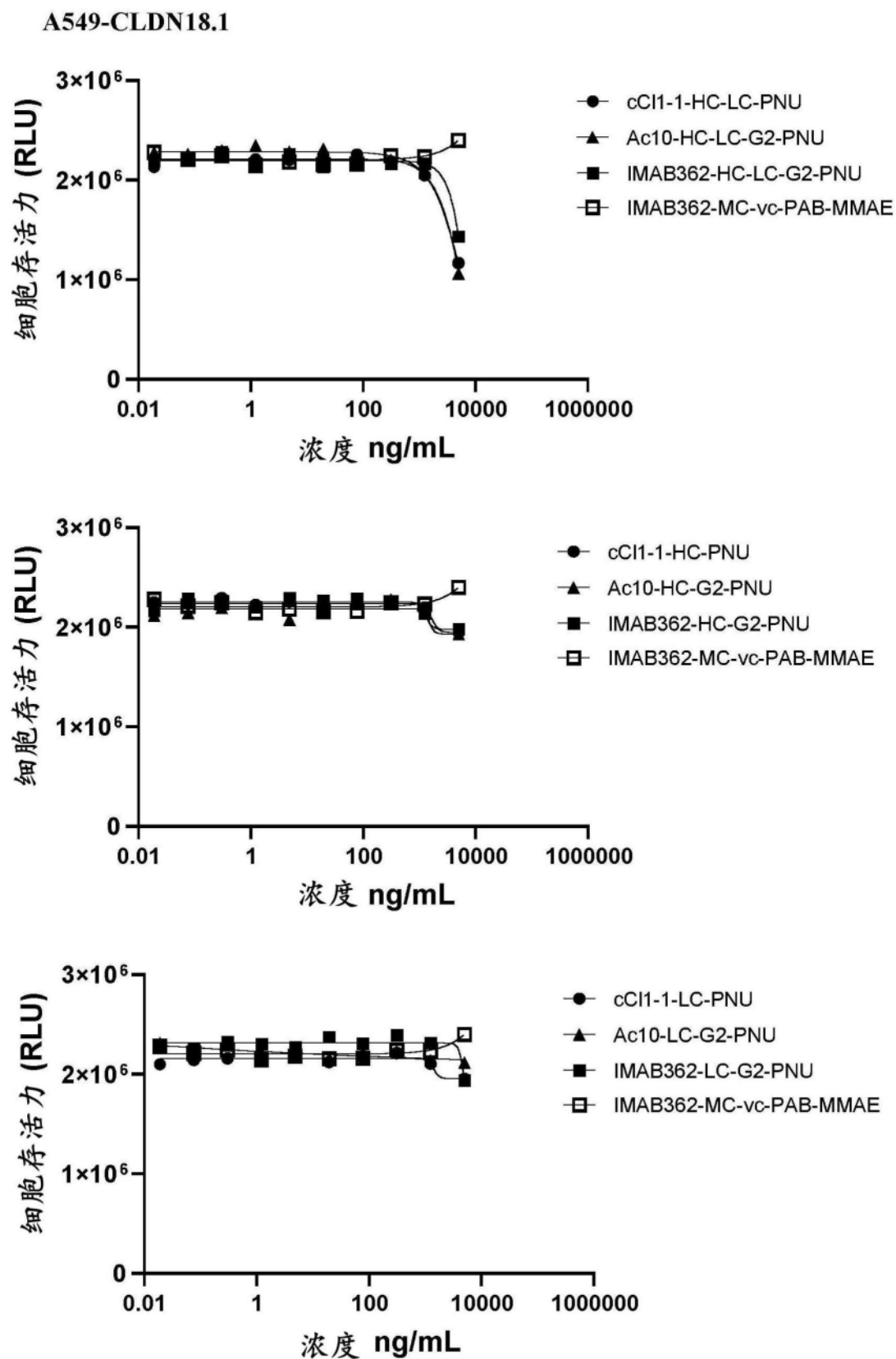


图15A

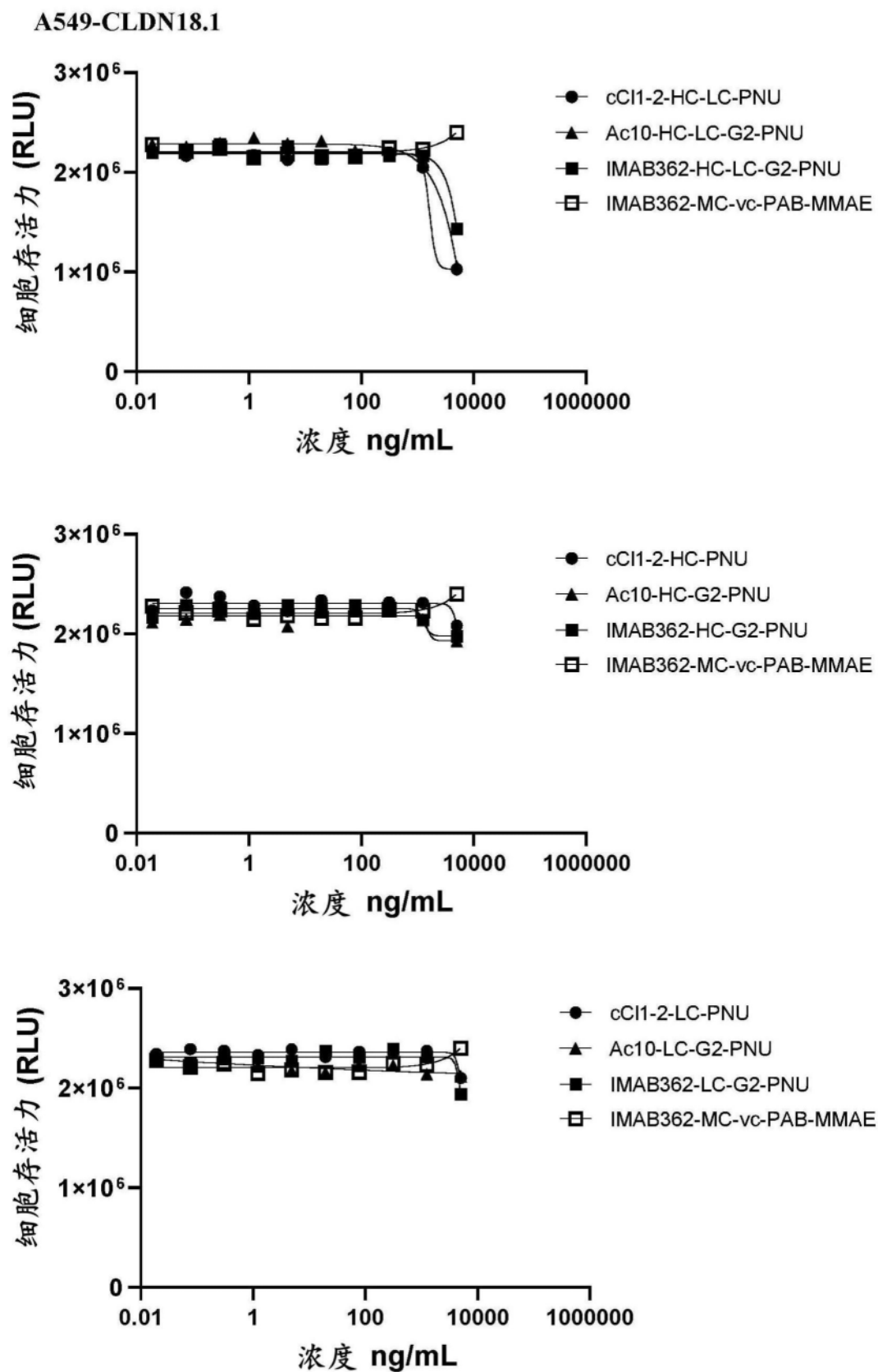


图15B

A549-CLDN18.1

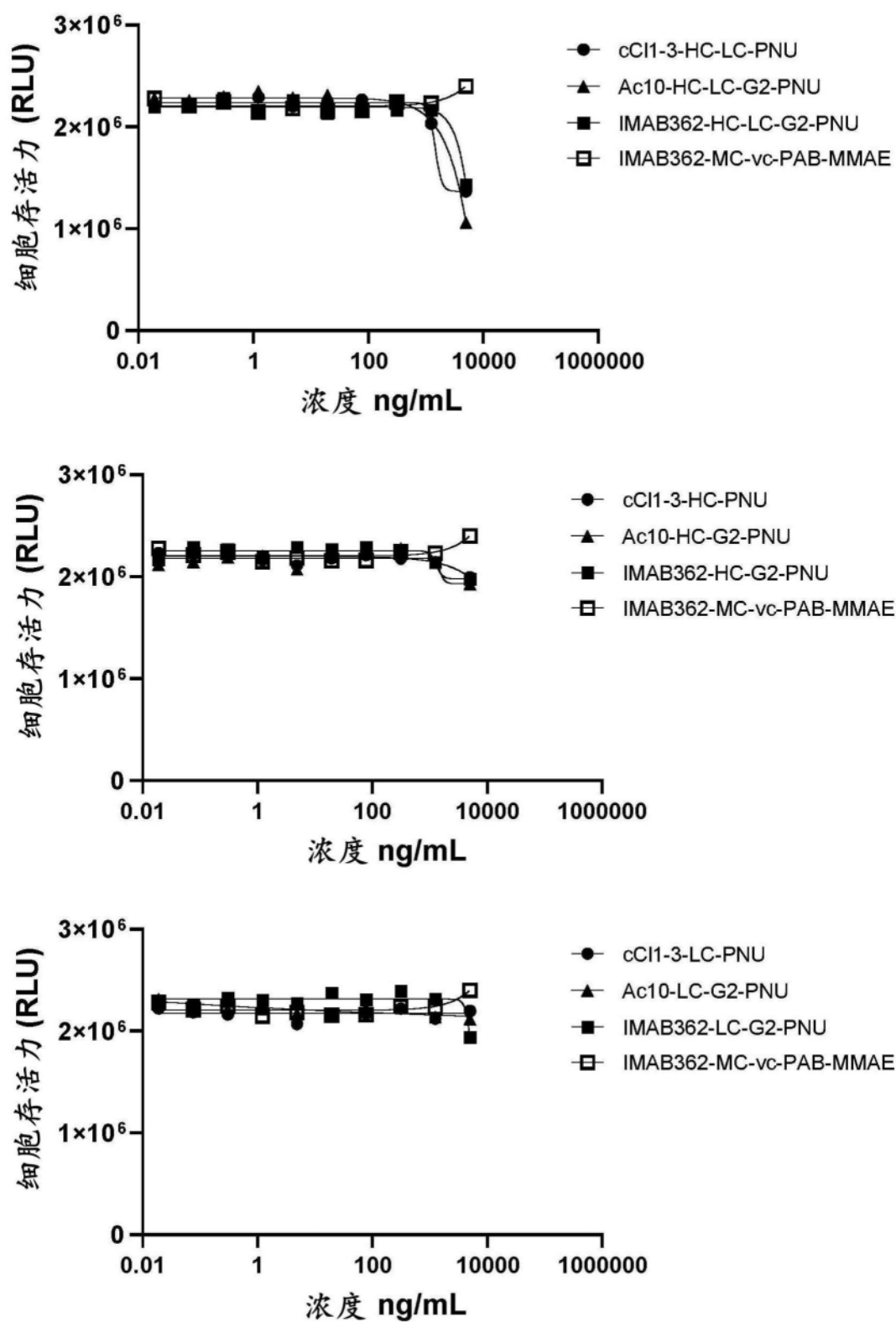


图15C

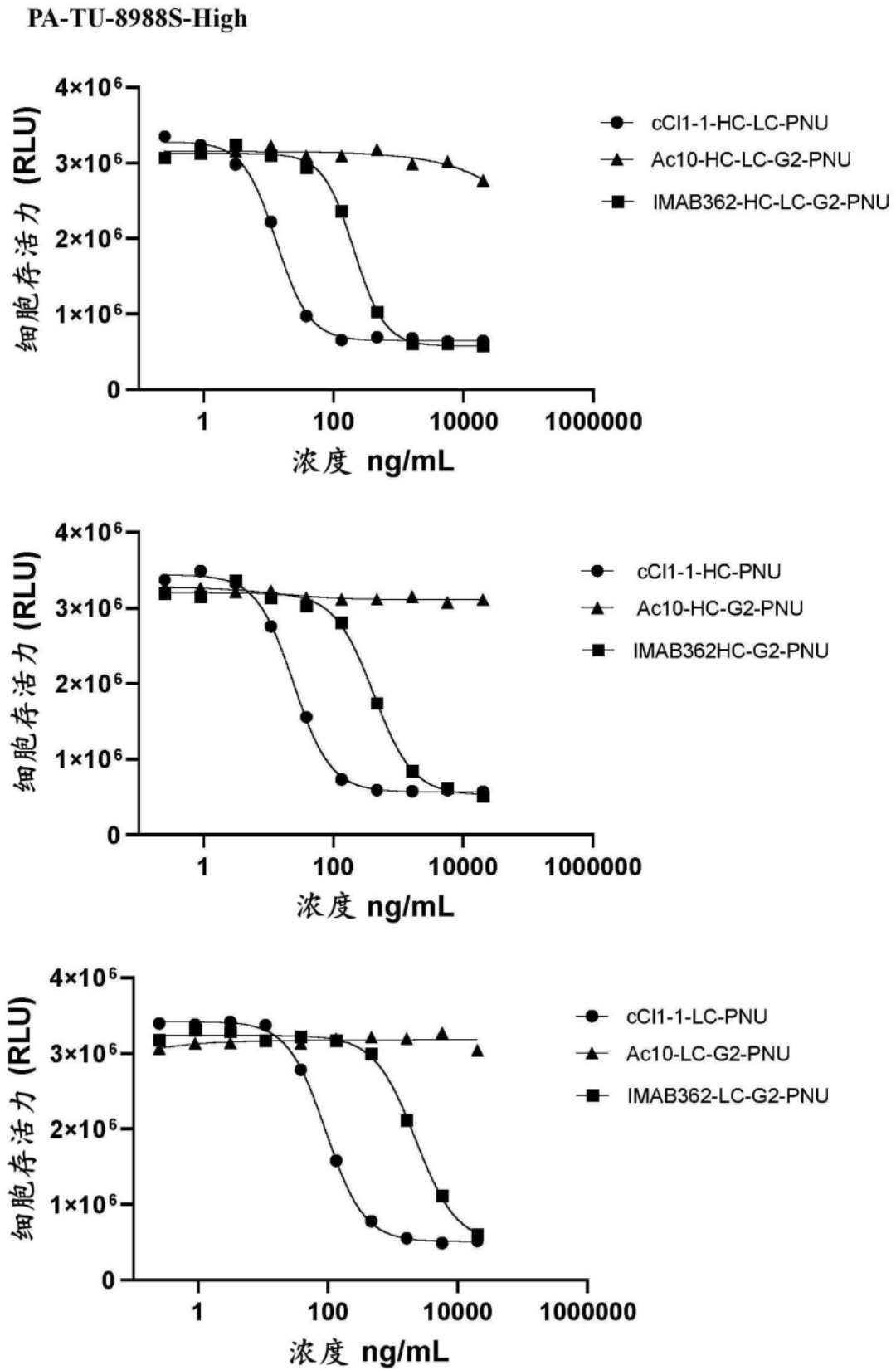


图16A

PA-TU-8988S-High

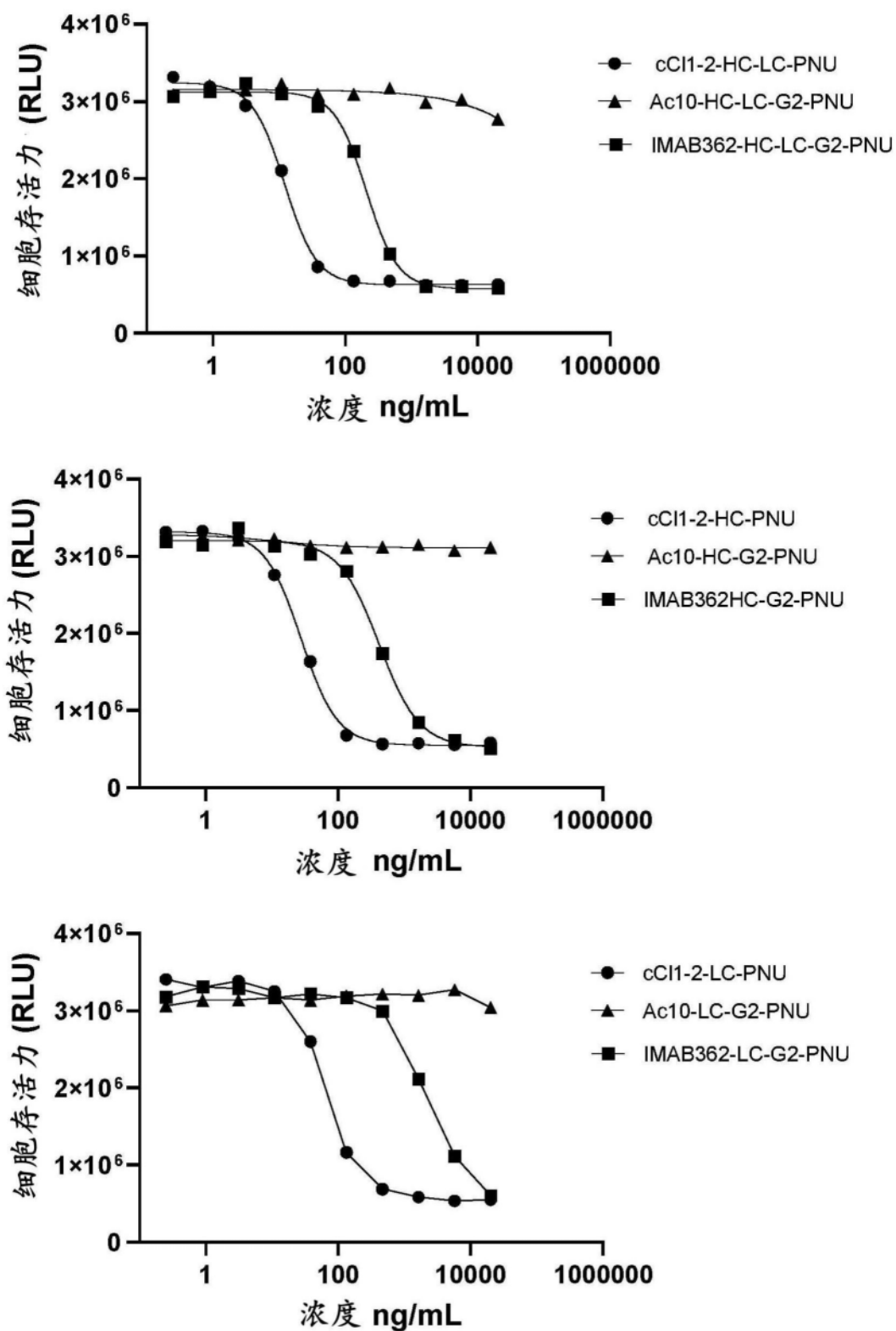


图16B

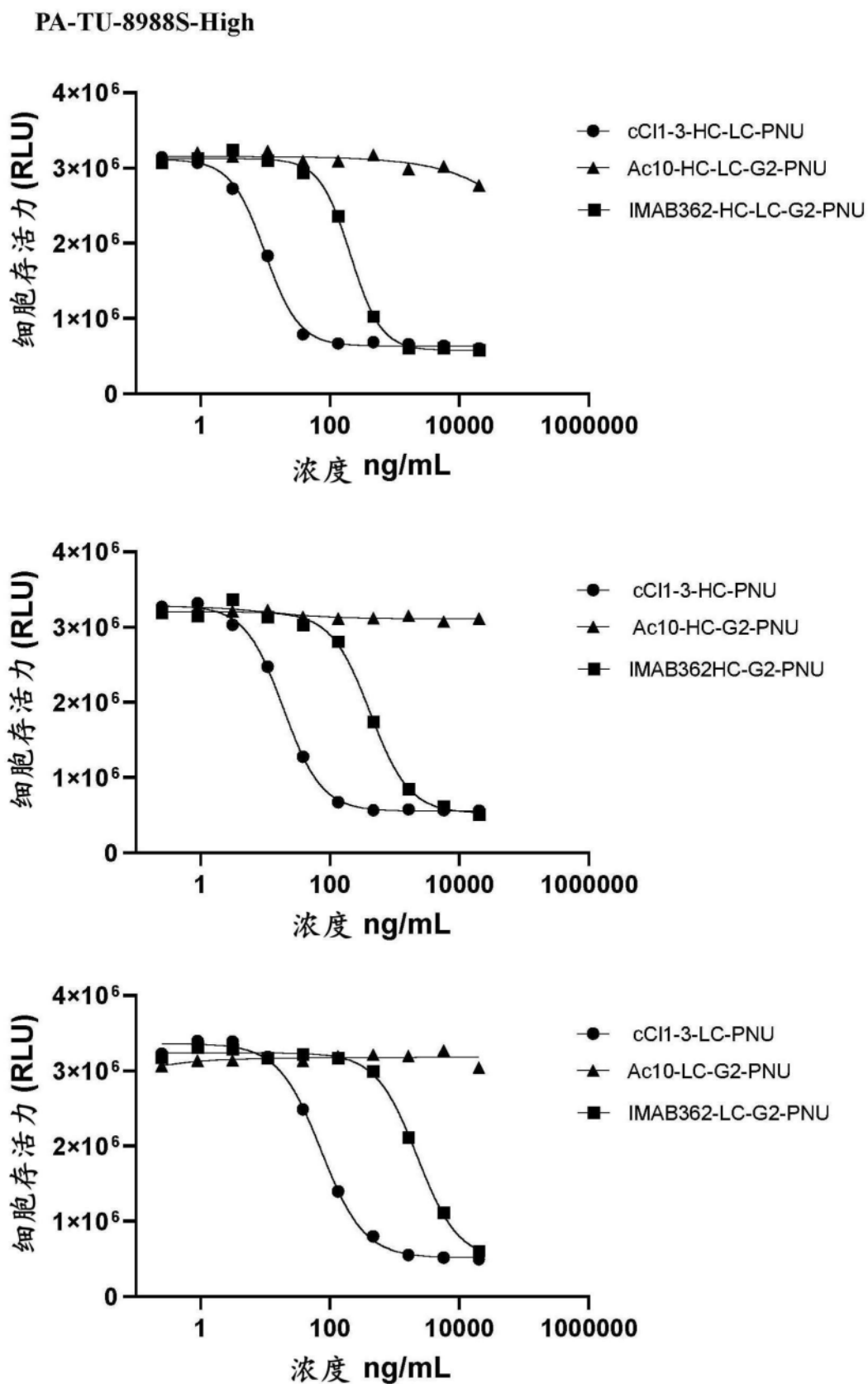


图16C

A549-CLDN18.2

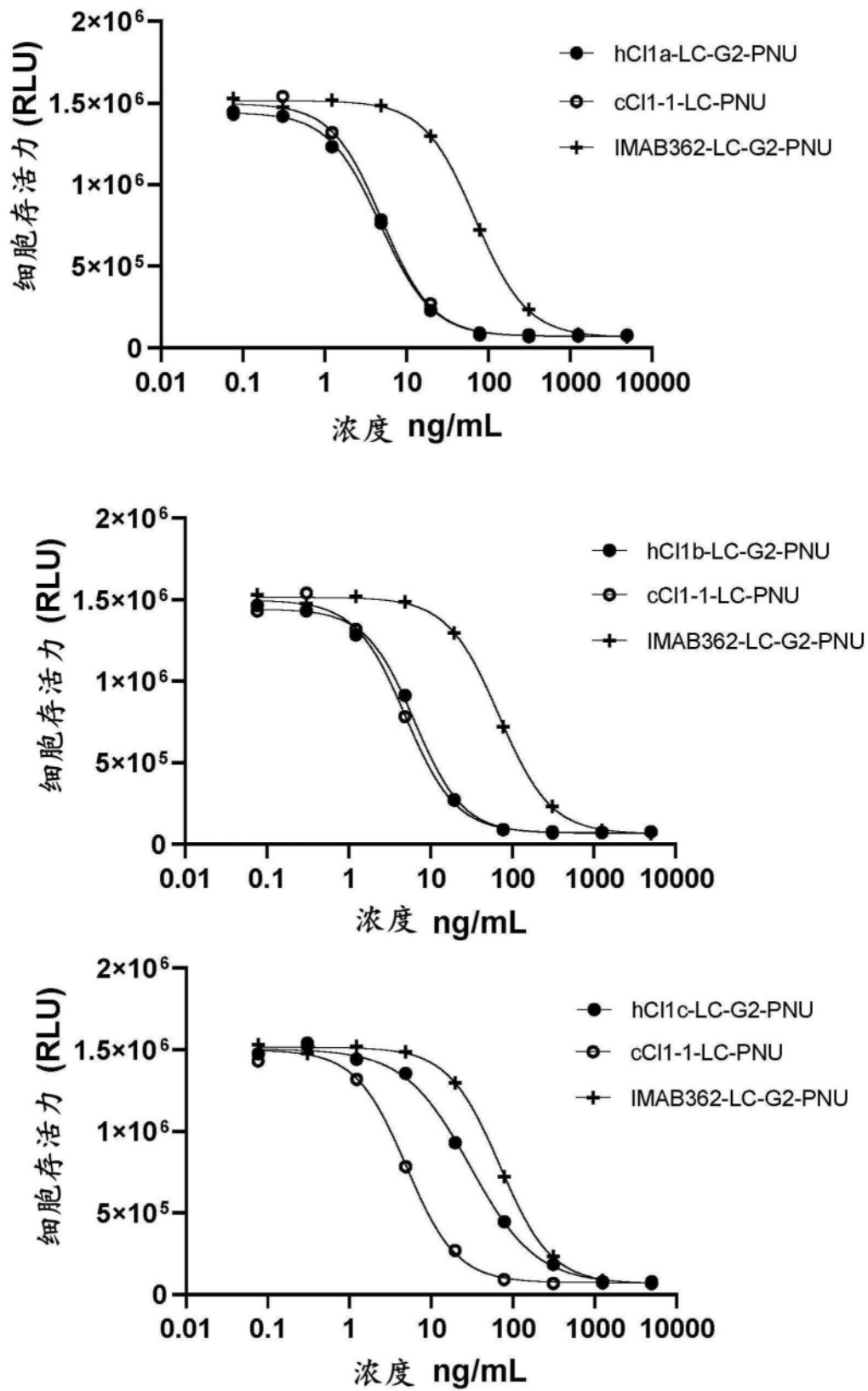


图17A

A549-CLDN18.2

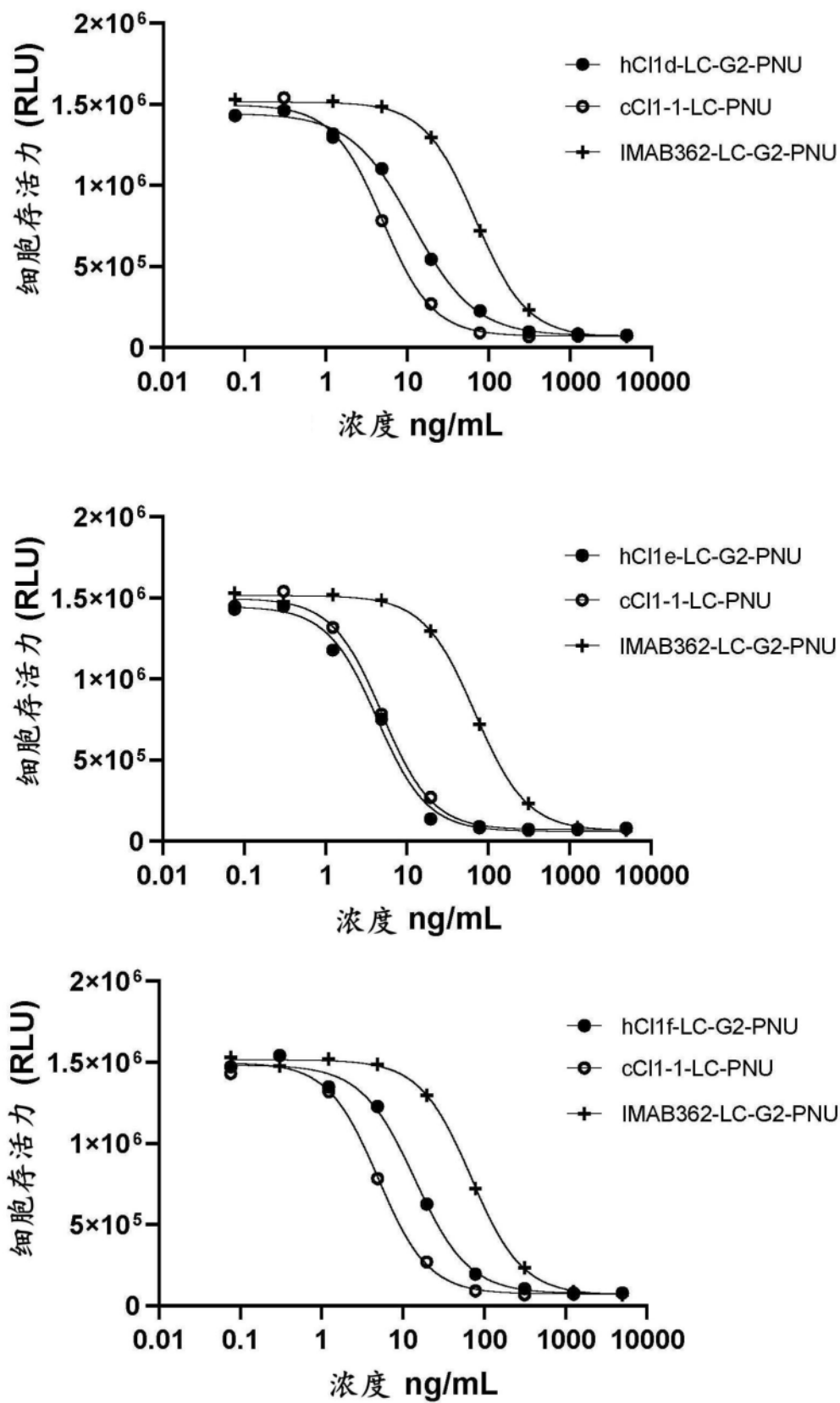


图17B

A549-CLDN18.2

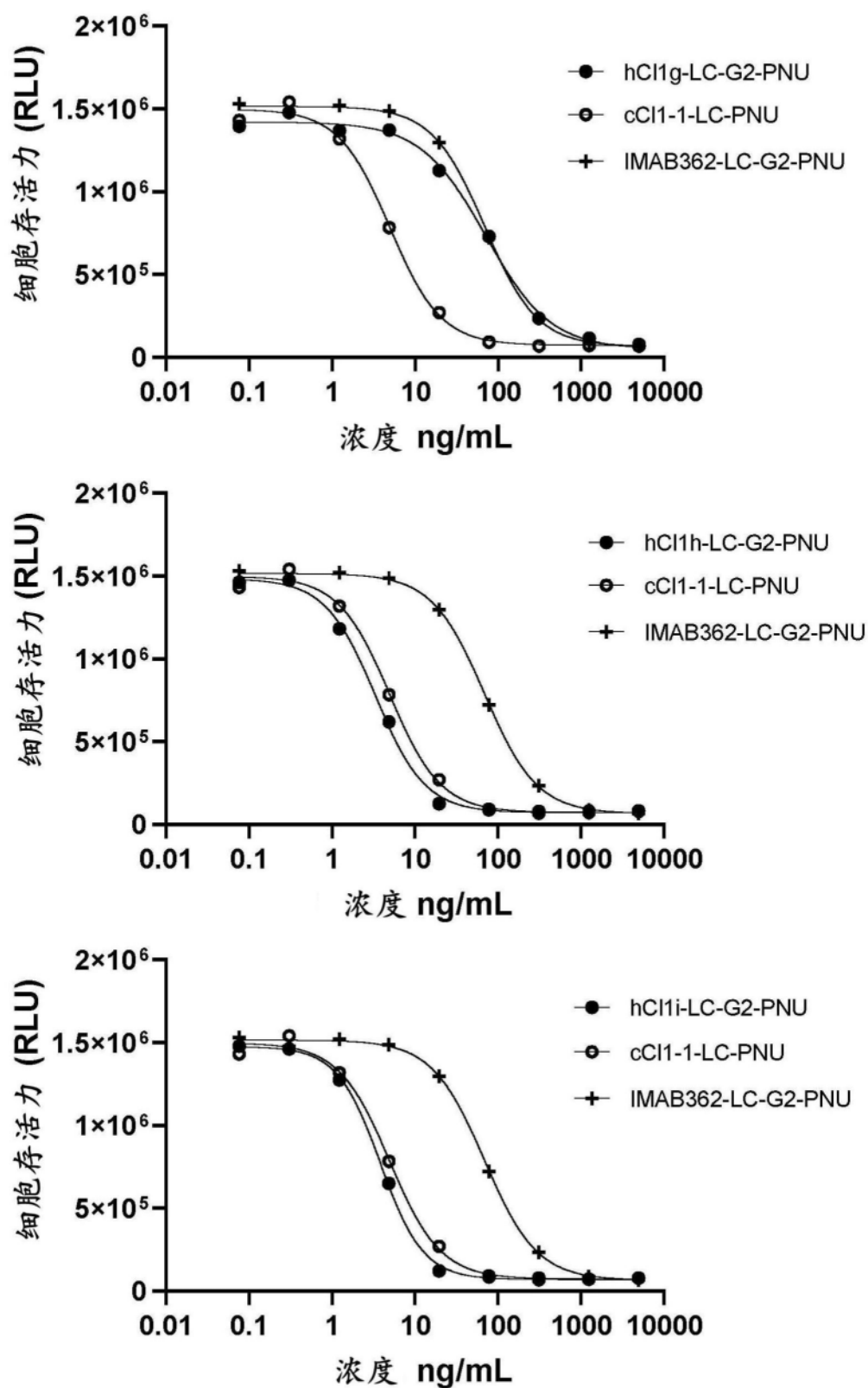


图17C

A549-CLDN18.2

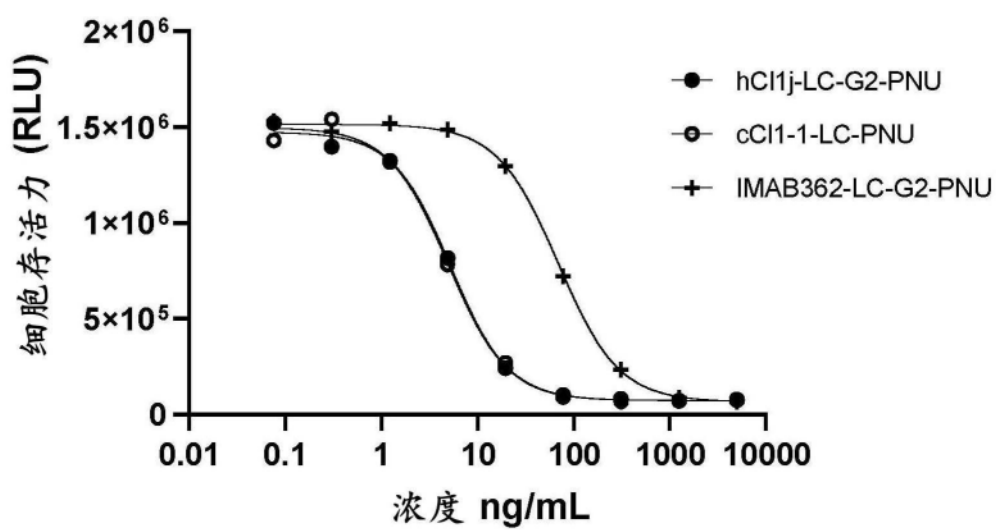


图17D

HEK293T-CLDN18.2

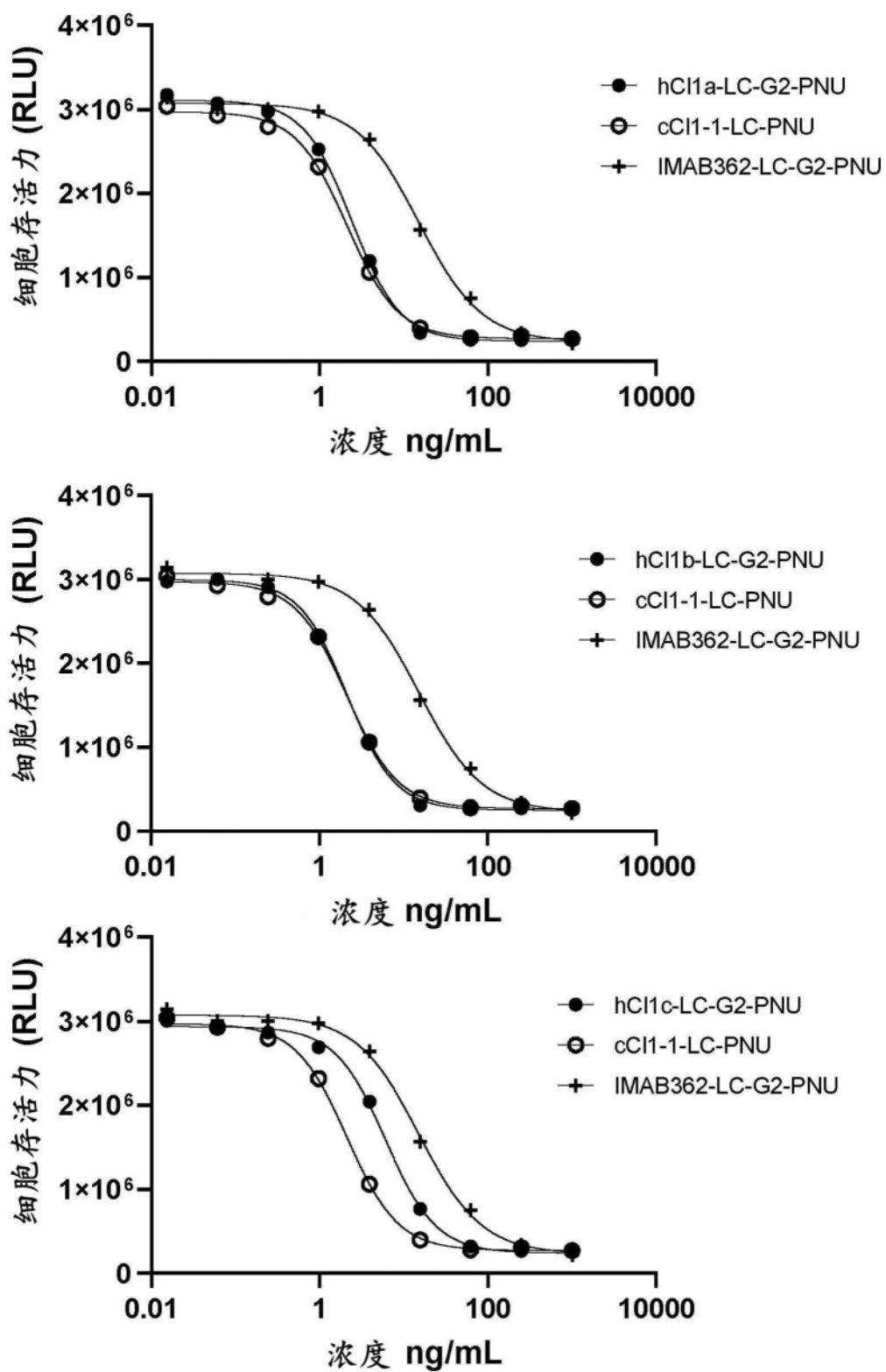


图18A

HEK293T-CLDN18.2

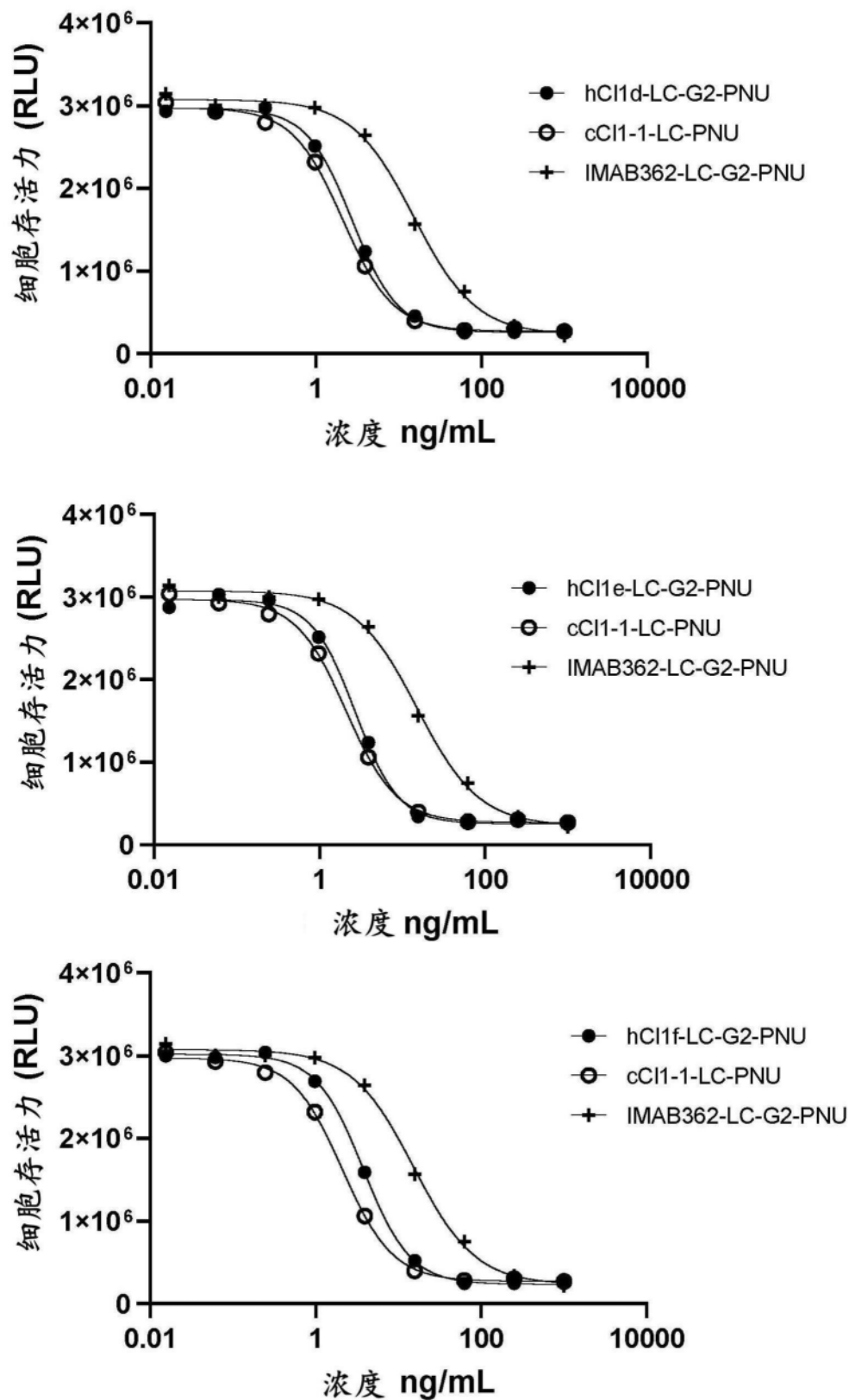


图18B

HEK293T-CLDN18.2

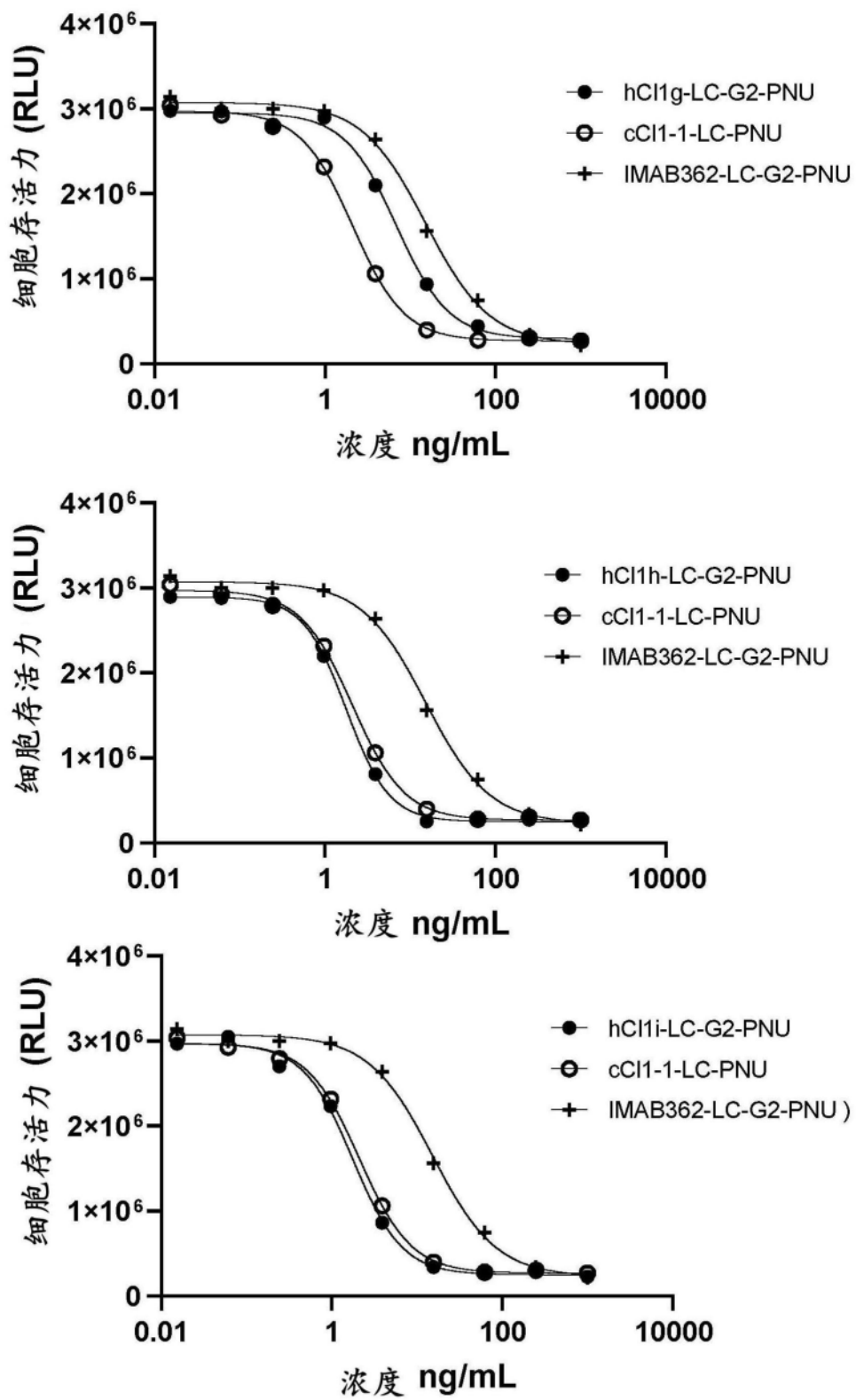


图18C

HEK293T-CLDN18.2

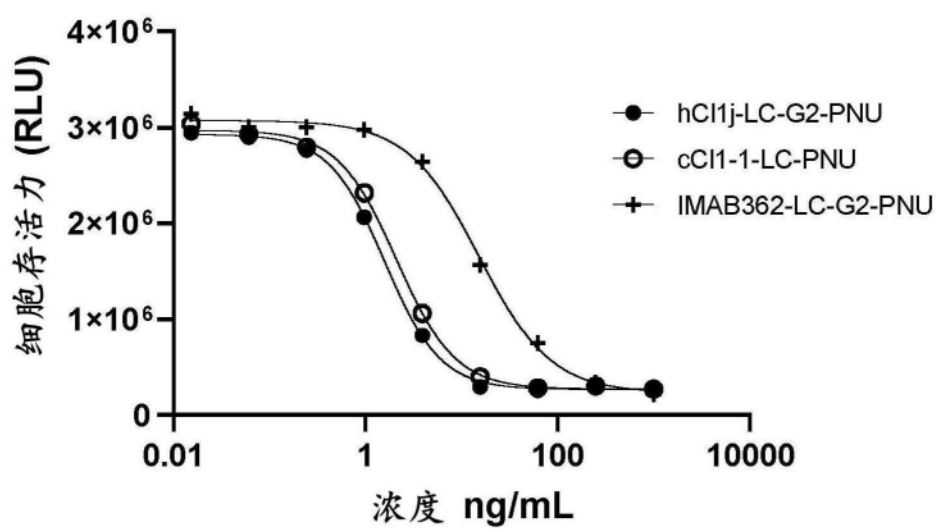


图18D

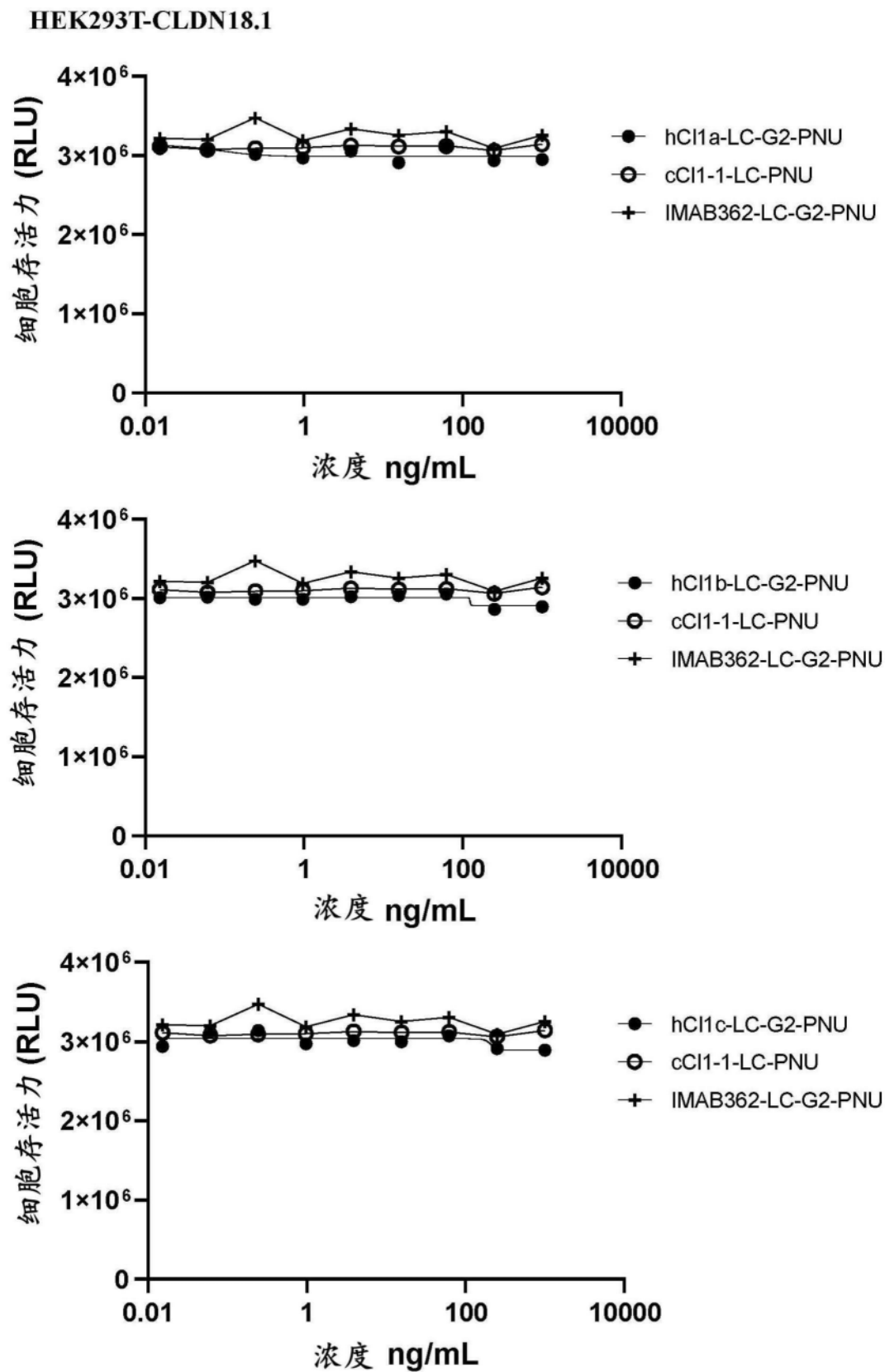


图19A

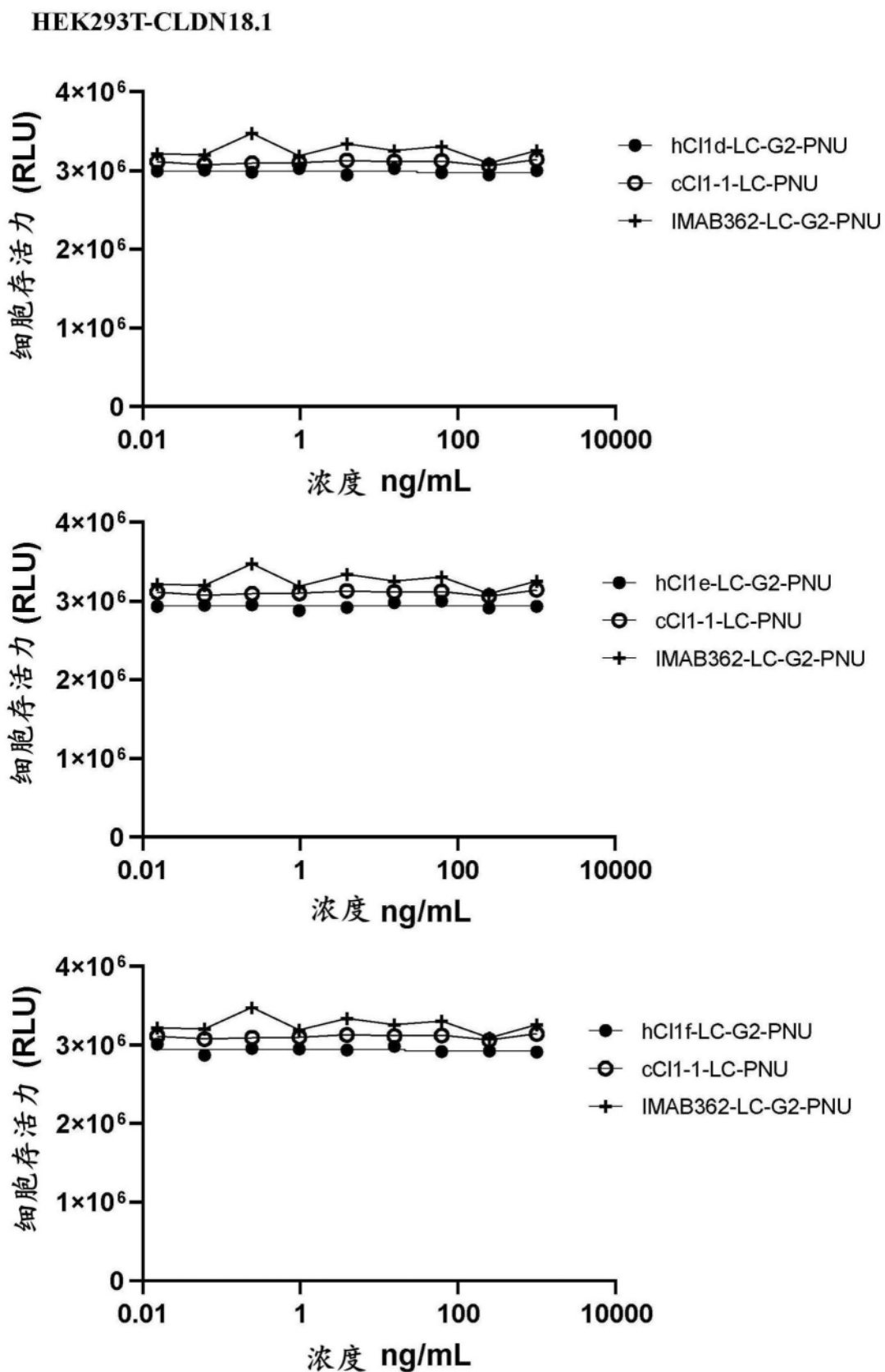


图19B

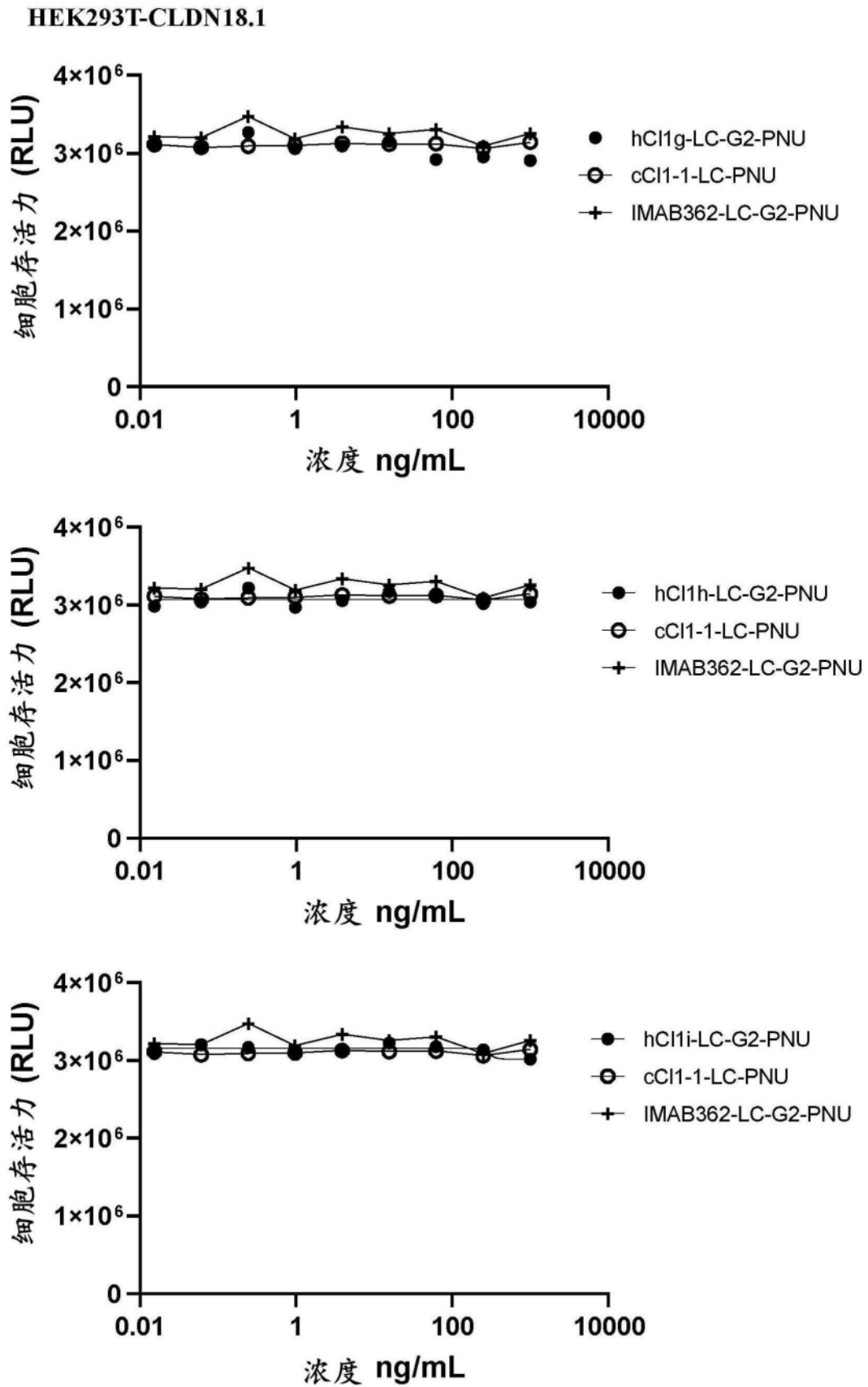


图19C

HEK293T-CLDN18.1

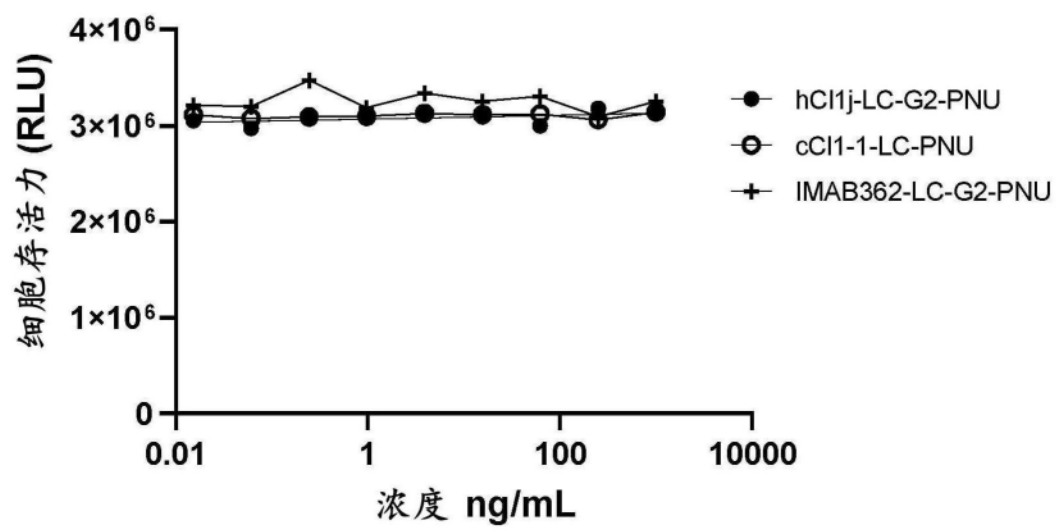


图19D

PA-TU-8988S-High

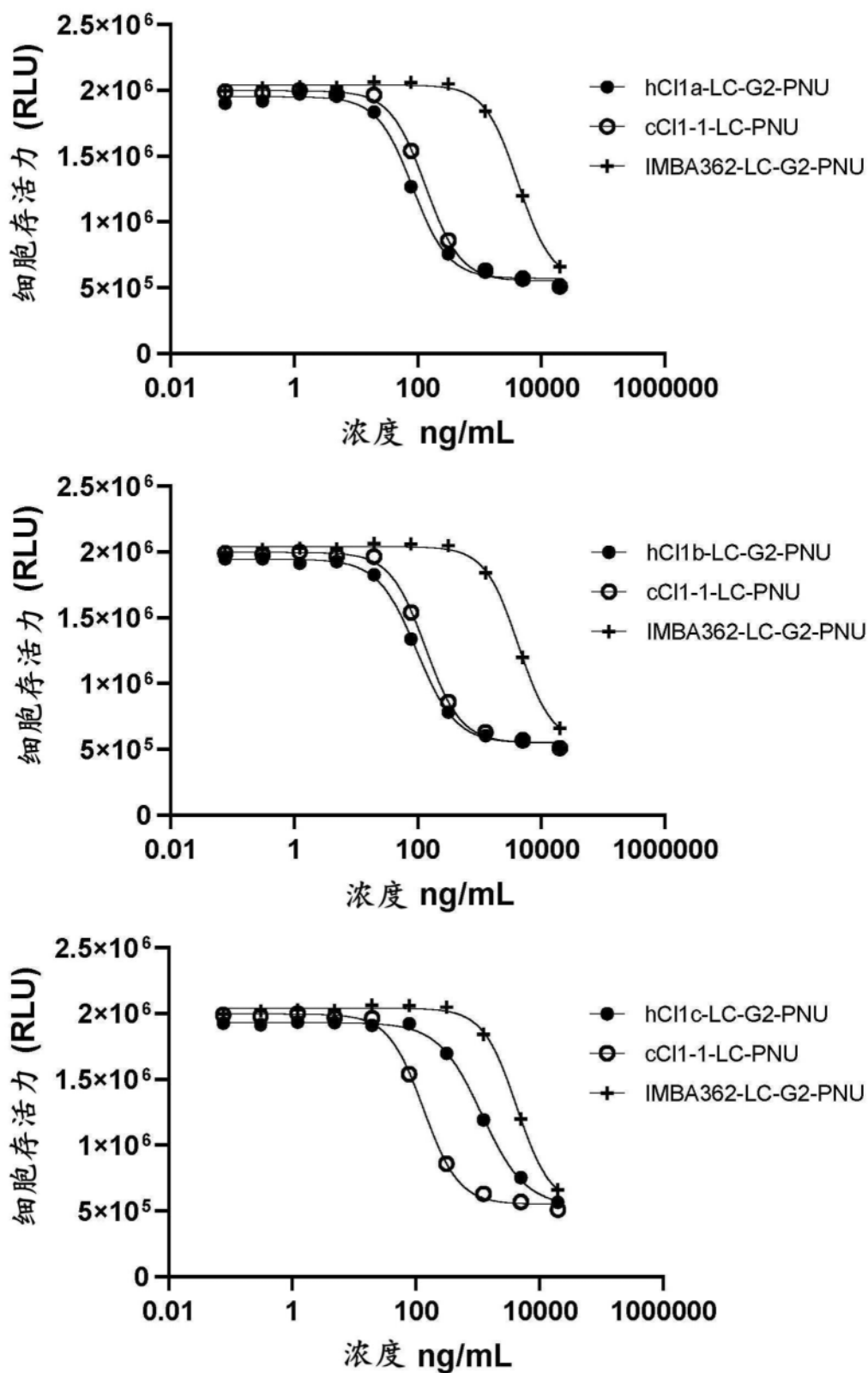


图20A

PA-TU-8988S-High

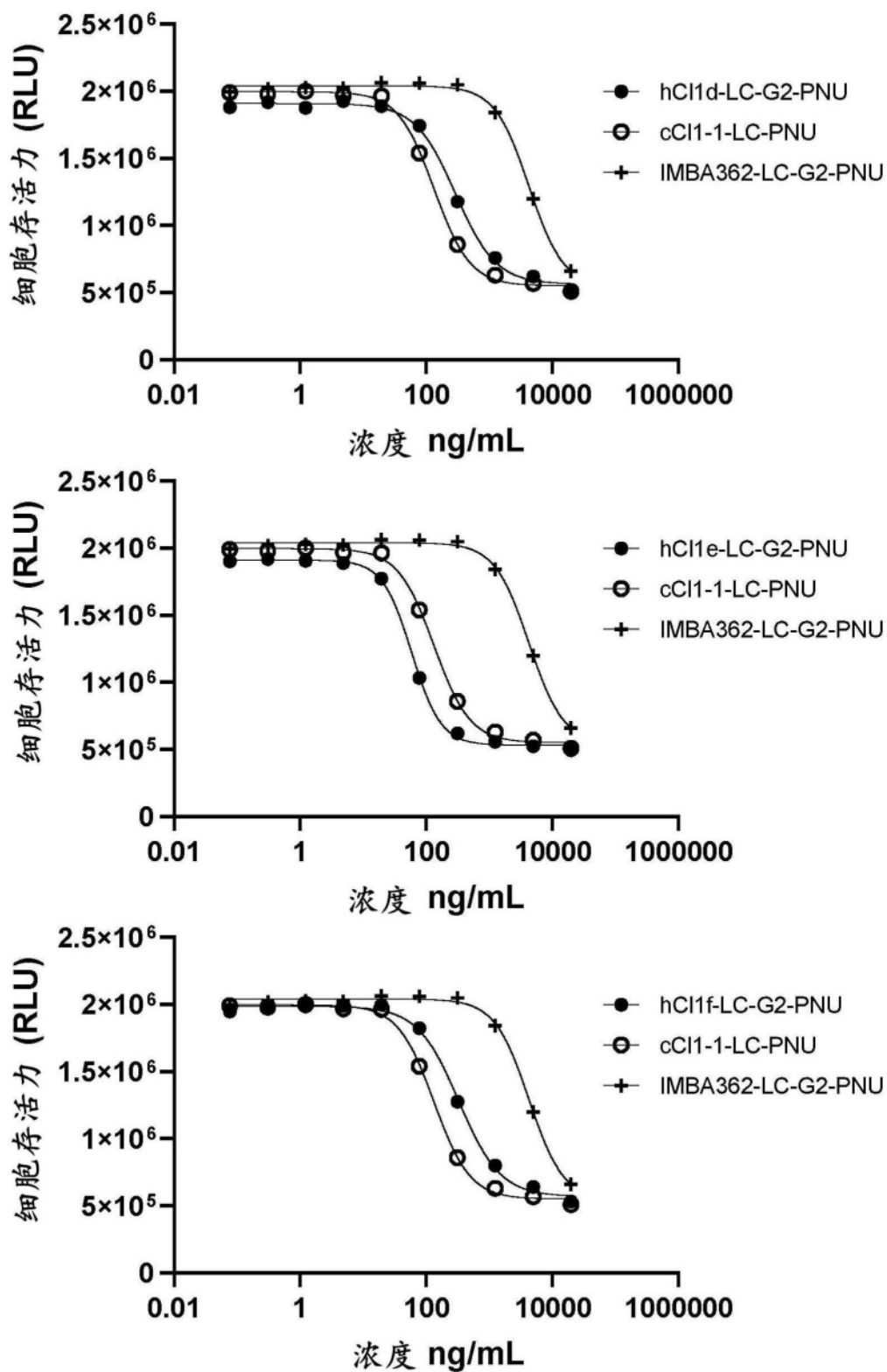


图20B

PA-TU-8988S-High

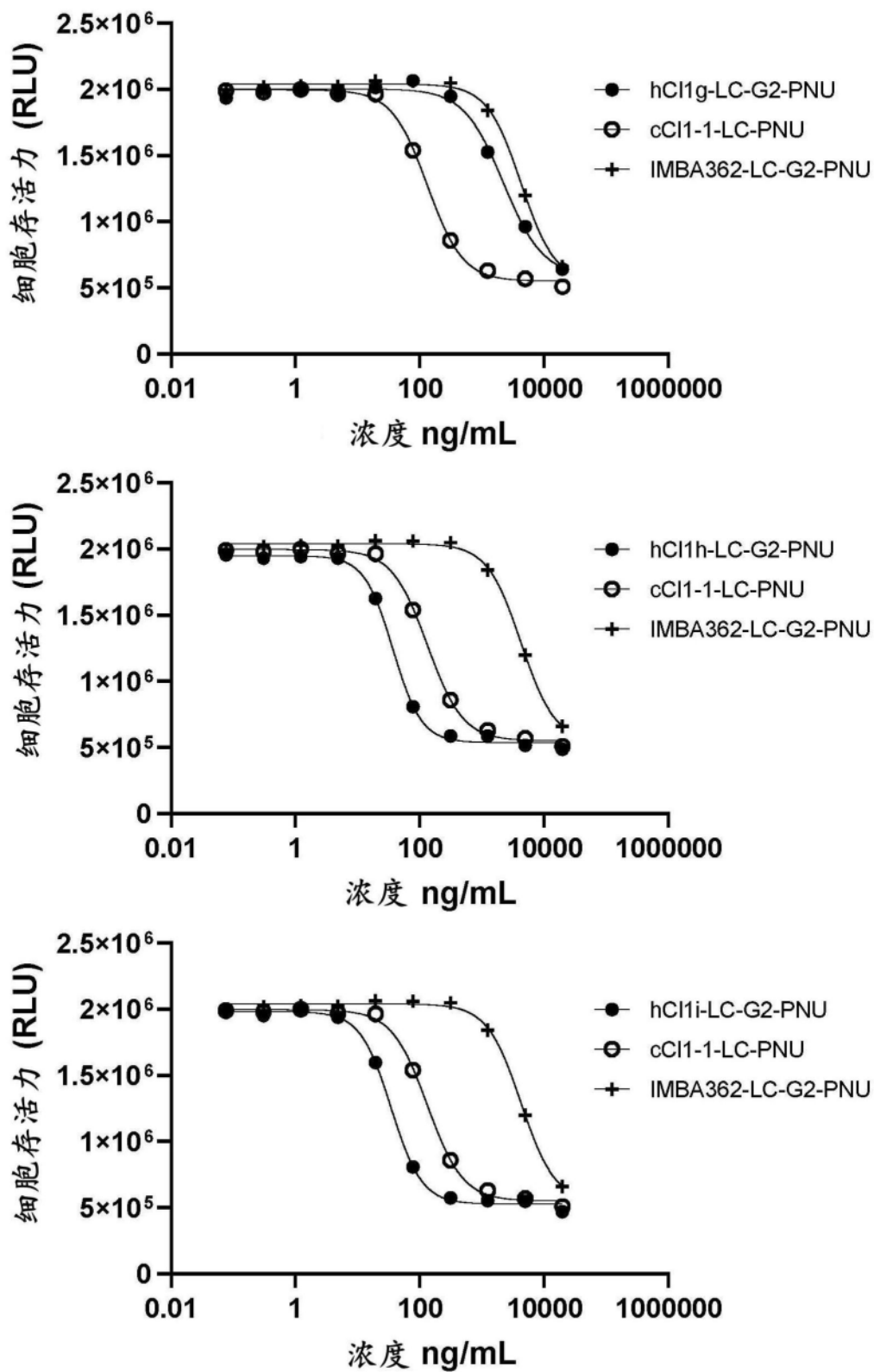


图20C

PA-TU-8988S-High

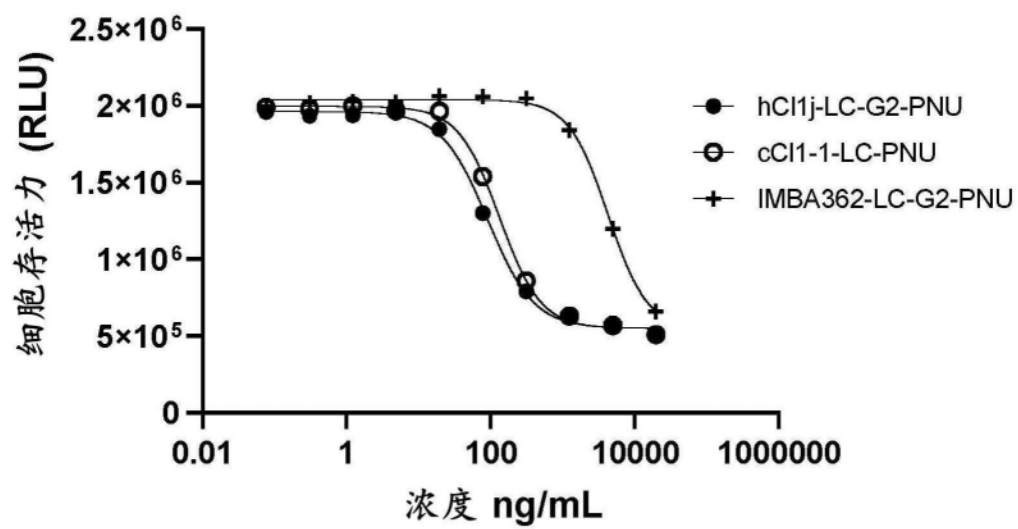


图20D

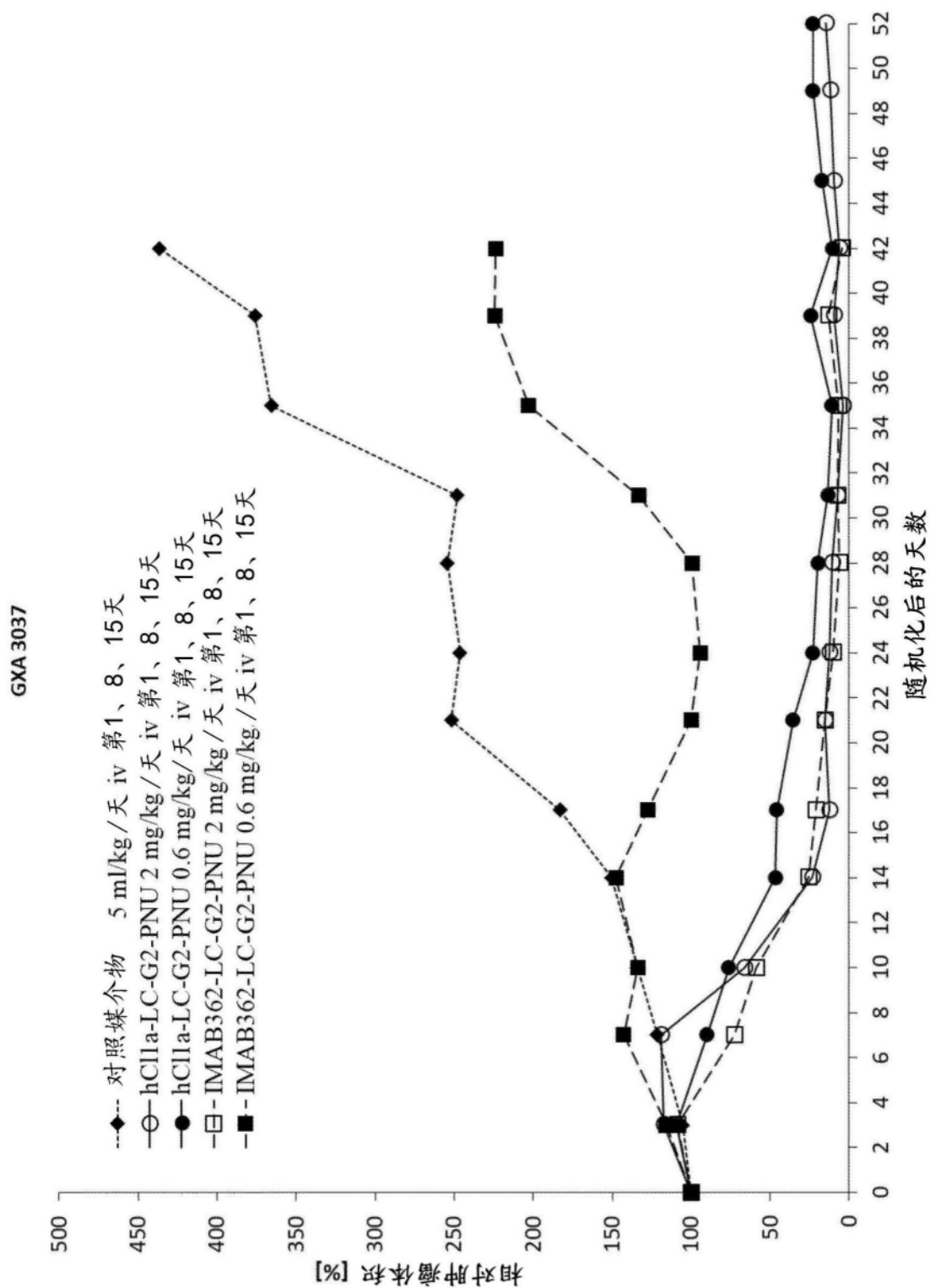


图21A

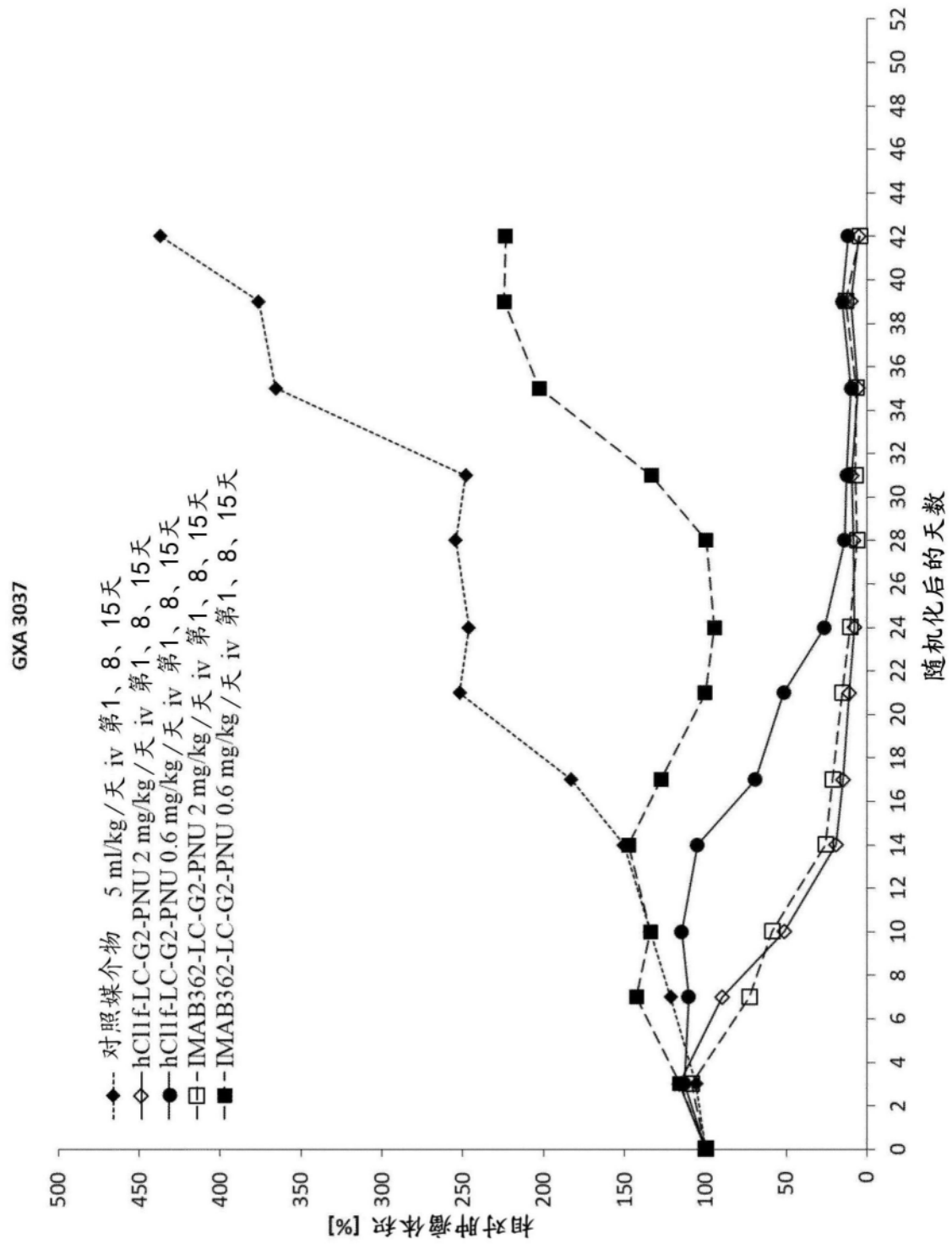


图21B

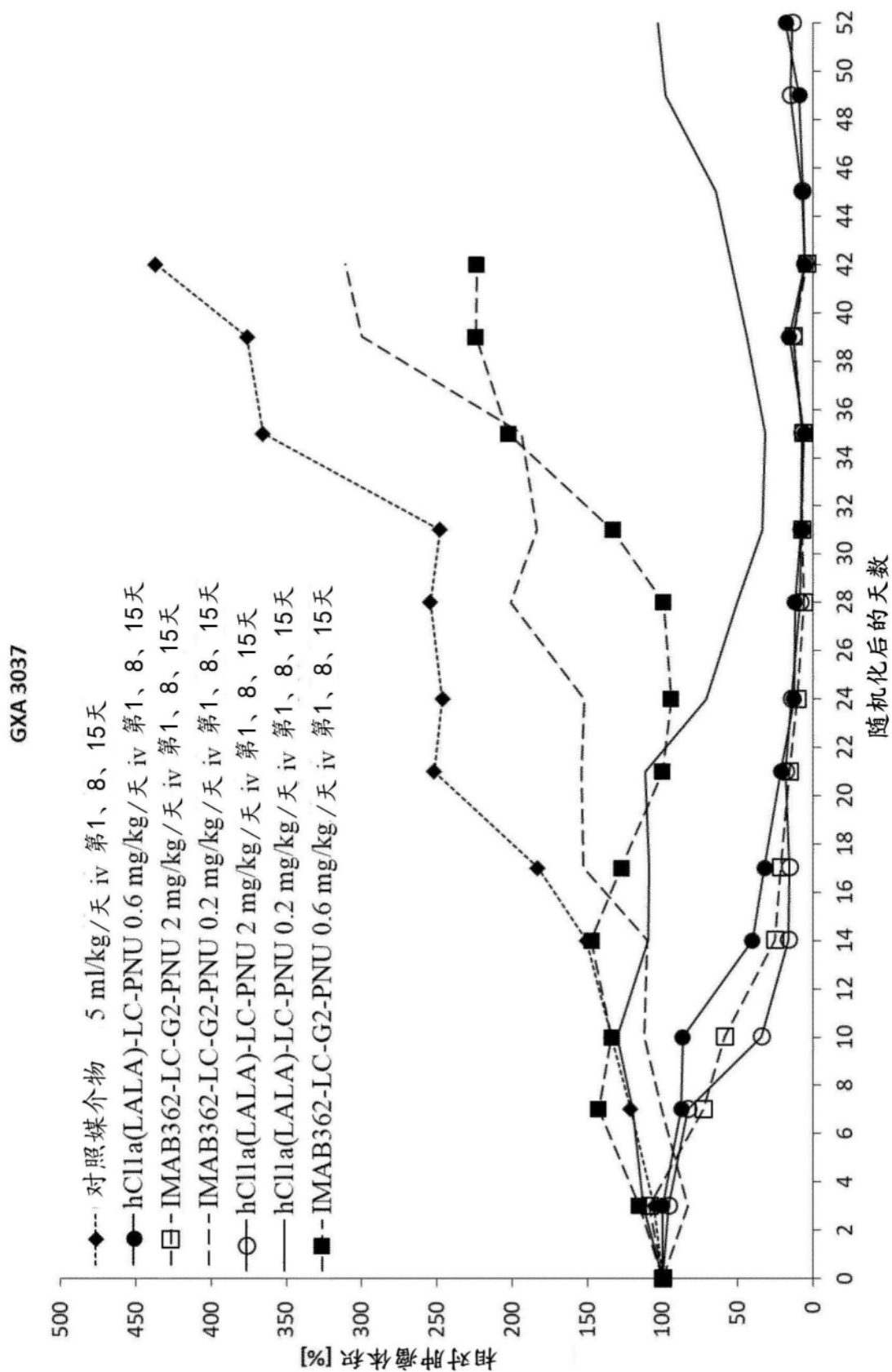


图21C

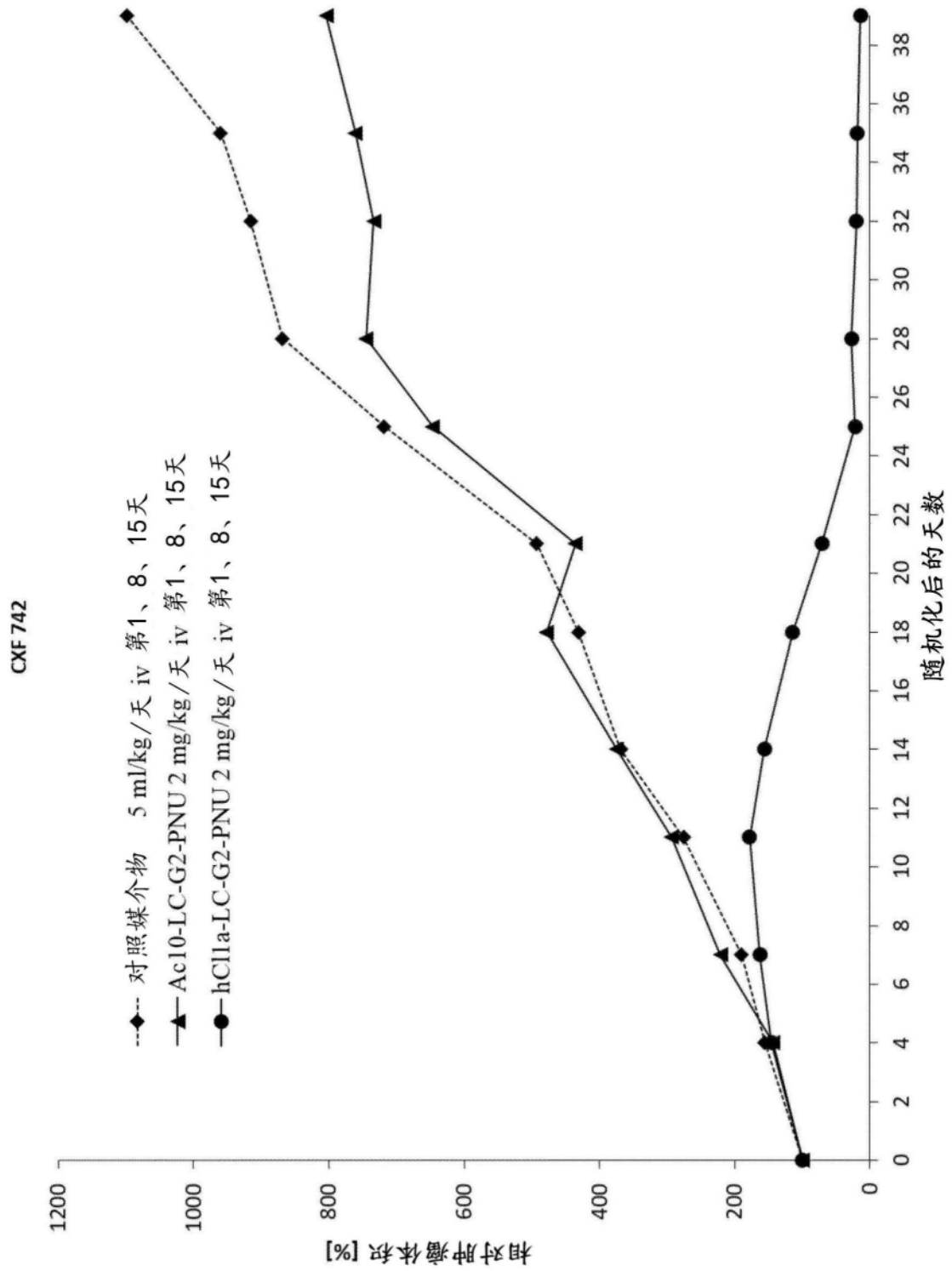


图22

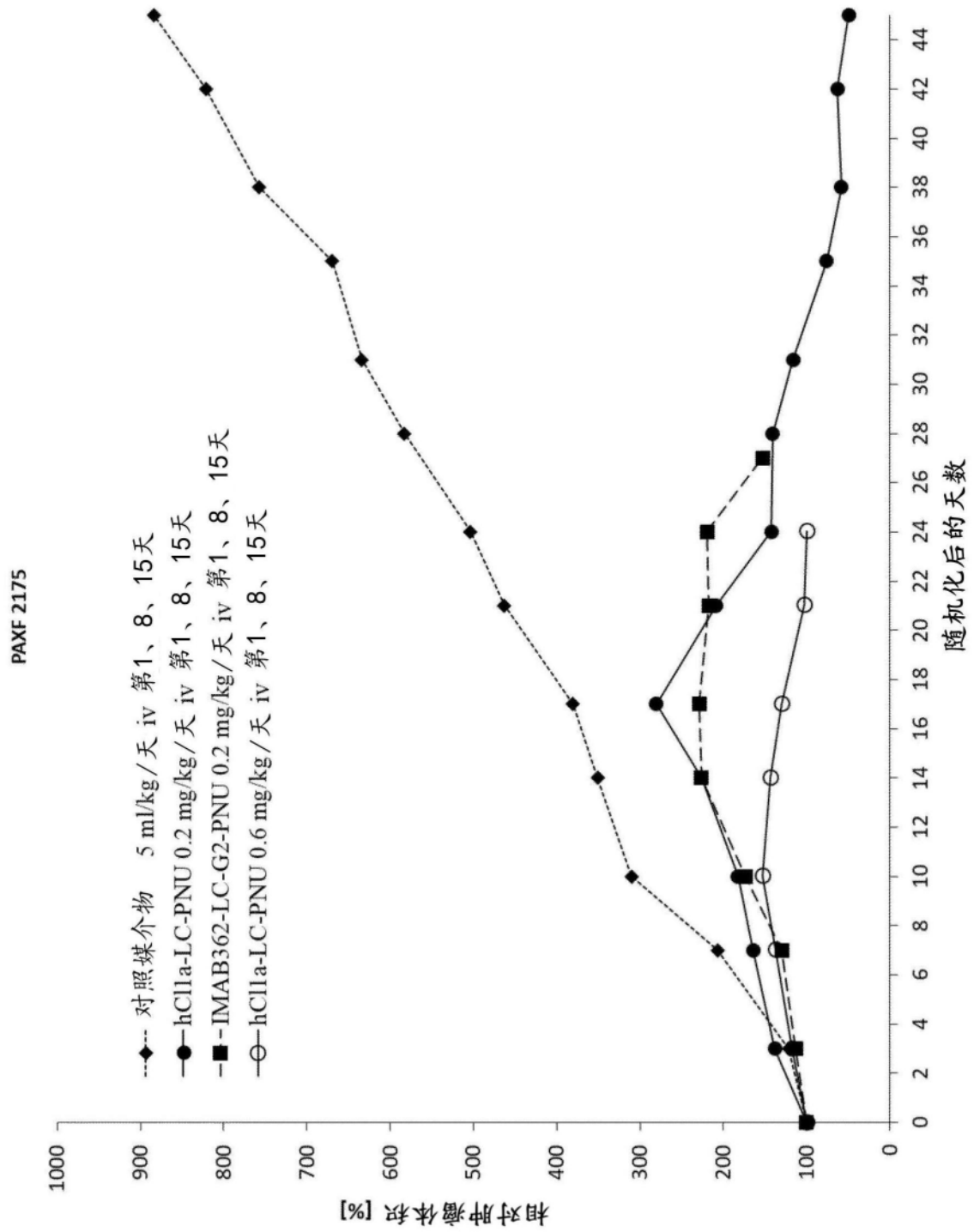


图23A

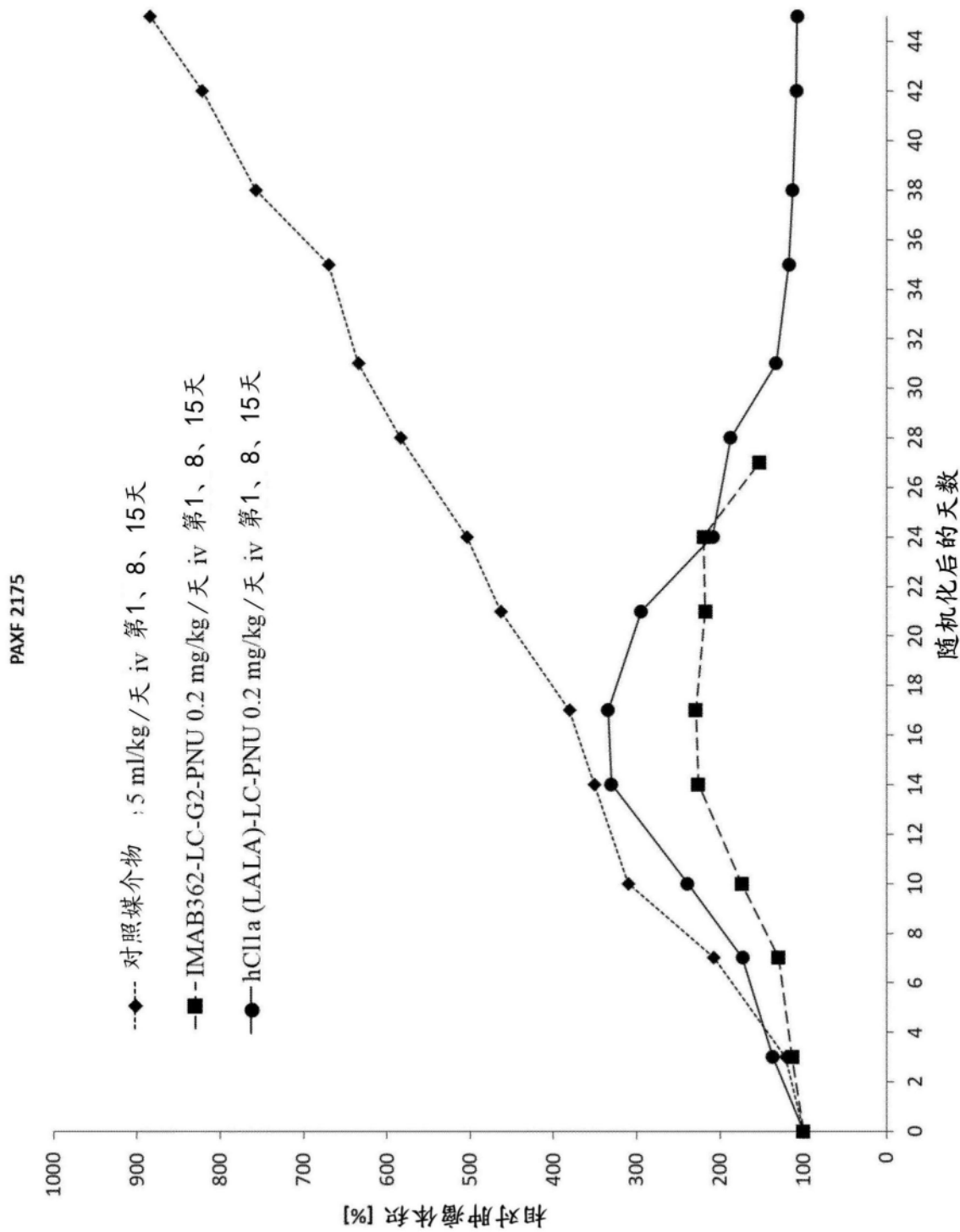


图23B

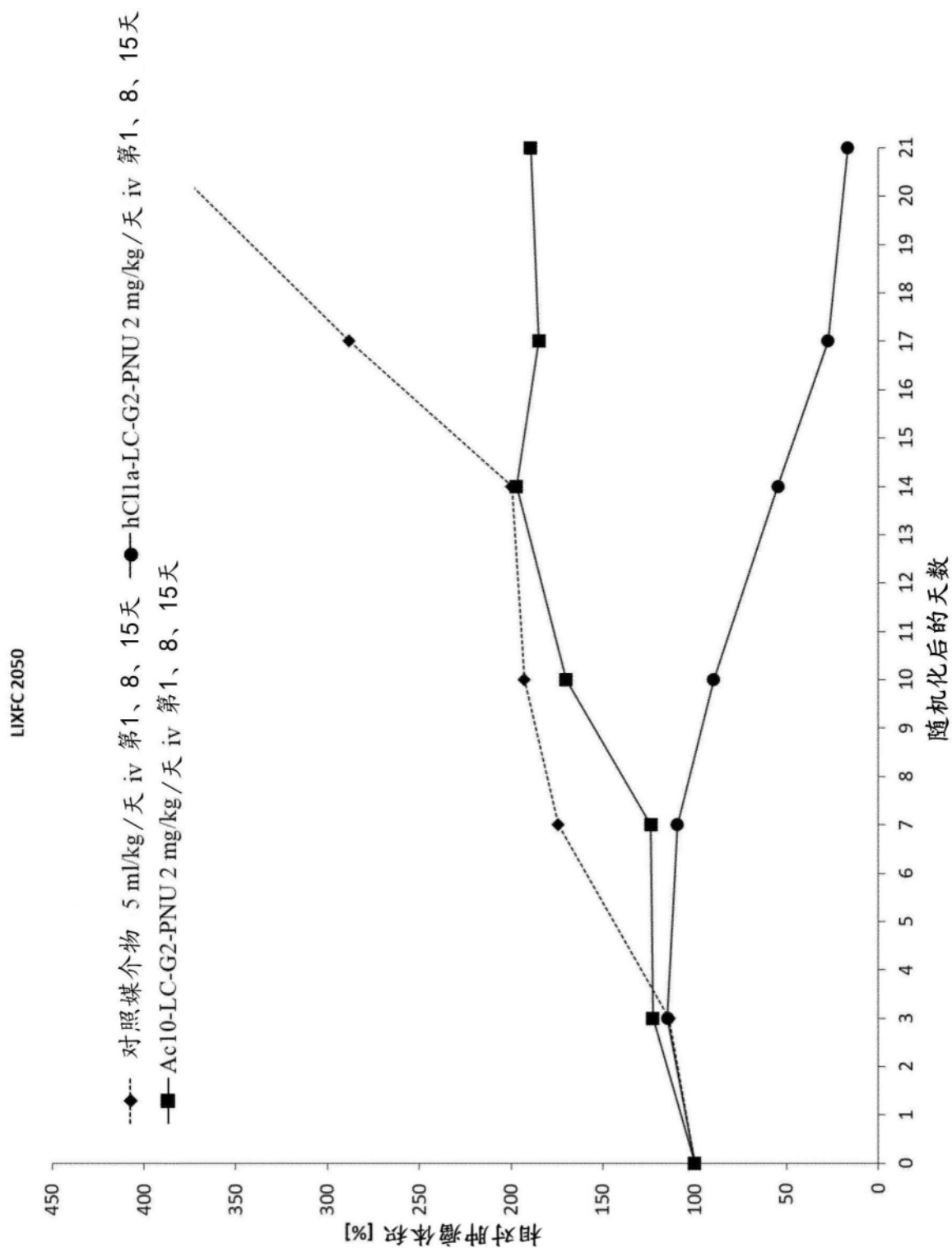


图24

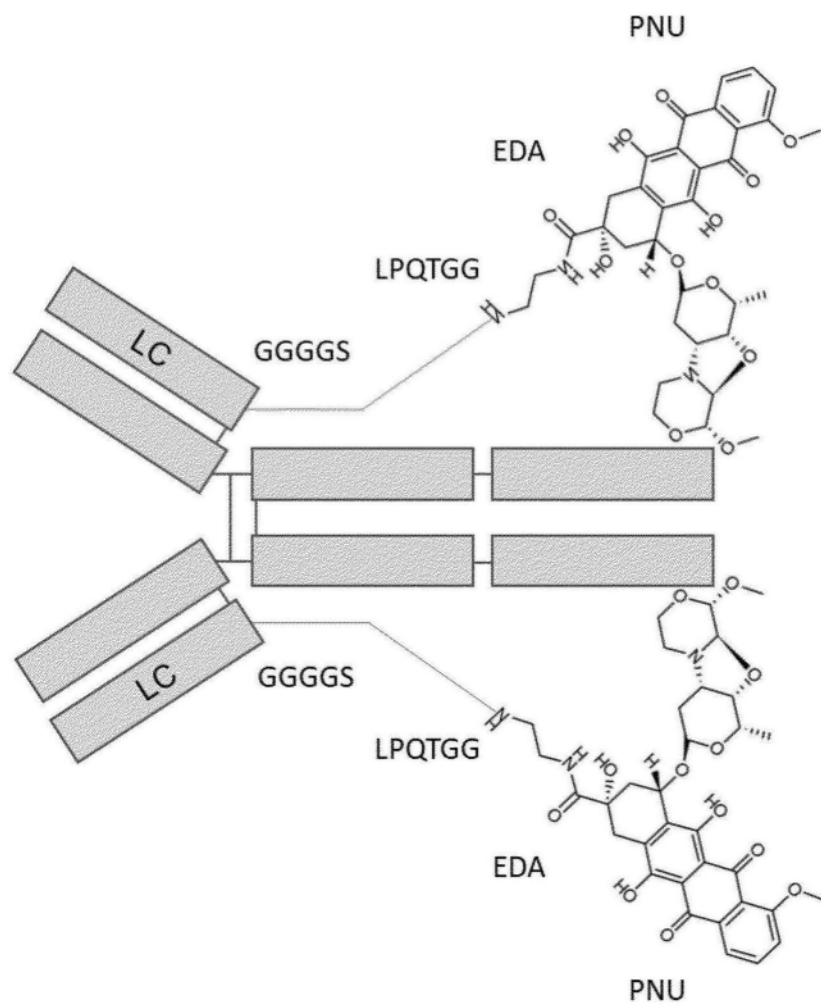


图25