



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 118974087 A

(43) 申请公布日 2024. 11. 15

(21) 申请号 202380026169.1

(22) 申请日 2023.03.07

(66) 本国优先权数据

PCT/CN2022/079943 2022.03.09 CN

PCT/CN2022/122679 2022.09.29 CN

PCT/CN2023/077693 2023.02.22 CN

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.09.06

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/CN2023/080090 2023.03.07

(87) PCT国际申请的公布数据

W02023/169419 EN 2023.09.14

(71) 申请人 德琪(杭州)生物有限公司

地址 200051 上海市长宁区中山西路1065

号SOHO中山广场B座1206-1209室

(72) 发明人 宇文辉 任怡静 李腾腾 陈朋

侯冰 单波 梅建明

(74) 专利代理机构 北京市君合律师事务所

11517

专利代理师 黄遵玲 顾云峰

(51) Int.Cl.

C07K 16/28 (2006.01)

C12N 5/20 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

G01N 33/577 (2006.01)

C12N 15/85 (2006.01)

权利要求书17页 说明书111页

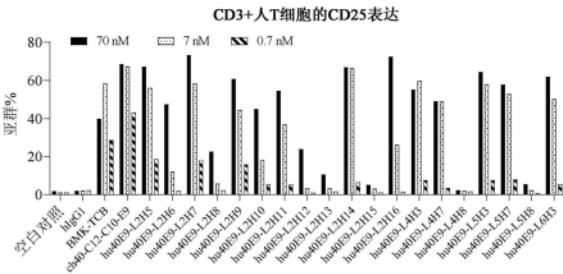
序列表(电子公布) 附图13页

(54) 发明名称

新颖的抗CD3抗体以及其用途

(57) 摘要

本公开提供了抗CD3抗体或其抗原结合片段、编码其的分离的多核苷酸、包括其的药物组合物及其用途。



1. 一种特异性地结合至CD3的抗体或其抗原结合片段,其包括:

一个或两个或三个重链互补决定区(HCDR1、HCDR2和/或HCDR3),所述重链互补决定区被包含在选自以下组成的组的重链可变(VH)区序列中的任一者中:SEQ ID NO:7、15、23、31、39、47、55、63、71、79、87、95、108、116、124、132、140、148、156、163、164、165、166、186、187、188、189、190、191、192、193、194、195、196、213、202、203、204、205、206、233、234、235、236、237、238、239、240、241、242、243、244和245;和/或

一个或两个或三个轻链互补决定区(LCDR1、LCDR2和/或LCDR3),所述轻链互补决定区被包含在选自以下组成的组的轻链可变(VL)区序列中的任一者中:SEQ ID NO:8、16、24、32、40、48、56、64、72、80、88、96、109、117、125、133、141、149、157、168、169、170、197、198、199、200、207、208、209、230、231和232。

2. 根据权利要求1所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述抗体或抗原结合片段包括至少一个重链或轻链互补决定区(CDR),其包括选自以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、9、10、11、12、13、14、17、18、19、20、21、22、25、26、27、28、29、30、33、34、35、36、37、38、41、42、43、44、45、46、49、50、51、52、53、54、57、58、59、60、61、62、65、66、67、68、69、70、73、74、75、76、77、78、81、82、83、84、85、86、89、90、91、92、93、94、102、103、104、105、106、107、110、111、112、113、114、115、118、119、120、121、122、123、126、127、128、129、130、131、134、135、136、137、138、139、142、143、144、145、146、147、150、151、152、153、154、155、171、172、173、174、175、176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、201、162、167、210、211、212、214、215、216、217、218、219、220、221、222、223、224、225、226、227、228和229。

3. 根据权利要求1或2所述的抗体或其抗原结合片段,其包括VH区,所述VH区包括HCDR1、HCDR2和HCDR3中的一个或两个或三个,所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包括选自以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:1、2、3、9、10、11、17、18、19、25、26、27、33、34、35、41、42、43、49、50、51、57、58、59、65、66、67、73、74、75、81、82、83、89、90、91、102、103、104、110、111、112、118、119、120、126、127、128、134、135、136、142、143、144、150、151、152、171、172、173、174、175、176、177、178、179、180、181、201、162、210、211、212、217、218、219、220、221、222、223、224、225、226、227、228和229。

4. 根据前述权利要求中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其包括VL区,所述VL区包括LCDR1、LCDR2和LCDR3中的一个或两个或三个,所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包括选自以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:4、5、6、12、13、14、20、21、22、28、29、30、36、37、38、44、45、46、52、53、54、60、61、62、68、69、70、76、77、78、84、85、86、92、93、94、105、106、107、113、114、115、121、122、123、129、130、131、137、138、139、145、146、147、153、154、155、182、183、184、185、167、214、215和216。

5. 根据前述权利要求中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其包括:

i. HCDR1,所述HCDR1包括选自以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:1、9、17、25、33、41、49、57、65、73、81、89、102、110、118、126、134、142、150、217、218和219;

ii. HCDR2,所述HCDR2包括选自以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:2、10、18、26、34、42、50、58、66、74、82、90、103、111、119、127、135、143、151、171、172、173、201、210、211、212、220和222;和

iii. HCDR3,所述HCDR3包括选自以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:3、11、19、27、

35、43、51、59、67、75、83、91、104、112、120、128、136、144、152、174、175、176、177、178、179、180、181、221、223、224、225、226、227、228、229和162。

6. 根据前述权利要求中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其包括:

i. LCDR1,所述LCDR1包括选自以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:4、12、20、28、36、44、52、60、68、76、84、92、105、113、121、129、137、145和153;

ii. LCDR2,所述LCDR2包括选自以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:5、13、21、29、37、45、53、61、69、77、85、93、106、114、122、130、138、146和154;和

iii. LCDR3,所述LCDR3包括选自以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:6、14、22、30、38、46、54、62、70、78、86、94、107、115、123、131、139、147、155、182、183、184、185、214、215、216和167。

7. 根据前述权利要求中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其包括:

i. HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:3所示的氨基酸序列;

ii. HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列;

iii. HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:17所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:18所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:19所示的氨基酸序列;

iv. HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列;

v. HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:33所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:34所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:35所示的氨基酸序列;

vi. HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:41所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:42所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:43所示的氨基酸序列;

vii. HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:49所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:51所示的氨基酸序列;

viii. HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:57所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:58所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:59所示的氨基酸序列;

ix. HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:66所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:67所示的氨基酸序列;

x. HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:73所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:74所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:75所示的氨基

酸序列;

xi.HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:81所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:82所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:83所示的氨基酸序列;

xii.HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:89所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:90所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:91所示的氨基酸序列;

xiii.HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:102所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:103所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:104所示的氨基酸序列;

xiv.HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:110所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:111所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:112所示的氨基酸序列;

xv.HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:118所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:119所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:120所示的氨基酸序列;

xvi.HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:126所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:127所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:128所示的氨基酸序列;

xvii.HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:134所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:135所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:136所示的氨基酸序列;

xviii.HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:142所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:143所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:144所示的氨基酸序列;

xix.HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:150所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:151所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:152所示的氨基酸序列;

xx.HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:219所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:201所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:162所示的氨基酸序列;

xxi.HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9、217或218所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10、171、172、173、220或222所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:11、174、175、176、177、178、179、180、181、221、223、224、225、226、227、228或229所示的氨基酸序列;

xxii.HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:150所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:212所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:152所示的氨基酸序列;

xxiii.HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:150所示的氨基酸序列,所

述HCDR2包括如SEQ ID NO:210所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:152所示的氨基酸序列;或者

xxiv.HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:150所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:211所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:152所示的氨基酸序列。

8.根据前述权利要求中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其包括:

i.LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:5所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:6所示的氨基酸序列;

ii.LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;

iii.LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:20所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:21所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:22所示的氨基酸序列;

iv.LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:28所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:29所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:30所示的氨基酸序列;

v.LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:36所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:37所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列;

vi.LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:44所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:46所示的氨基酸序列;

vii.LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:52所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:53所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列;

viii.LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:62所示的氨基酸序列;

ix.LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:68所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:69所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:70所示的氨基酸序列;

x.LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:76所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:77所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:78所示的氨基酸序列;

xi.LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:84所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:85所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:86所示的氨基酸序列;

xii.LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:92所示的氨基酸序列,所述

LCDR2包括如SEQ ID NO:93所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:94所示的氨基酸序列;

xiii.LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:105所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:106所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:107所示的氨基酸序列;

xiv.LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:113所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:114所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:115所示的氨基酸序列;

xv.LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:121所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:122所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:123所示的氨基酸序列;

xvi.LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:129所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:130所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:131所示的氨基酸序列;

xvii.LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:137所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:138所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:139所示的氨基酸序列;

xviii.LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:145所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:146所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:147所示的氨基酸序列;

xix.LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:153所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:154所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:155所示的氨基酸序列;

xx.LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包

括如SEQ ID NO:167所示的氨基酸序列;或者

xxi.LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14、182、183、184、185、214、215或216所示的氨基酸序列。

9.根据前述权利要求中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其包括:

i.HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:3所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:5所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:6所示的氨基酸序列;

ii.HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;

iii.HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:17所示

的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:18所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:19所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:20所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:21所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:22所示的氨基酸序列;

iv.HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:28所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:29所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:30所示的氨基酸序列;

v.HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:33所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:34所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:35所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:36所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:37所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列;

vi.HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:41所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:42所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:43所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:44所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:46所示的氨基酸序列;

vii.HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:49所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:51所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:52所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:53所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列;

viii.HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:57所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:58所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:59所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:62所示的氨基酸序列;

ix.HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:66所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:67所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:68所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:69所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:70所示的氨基酸序列;

x.HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:73所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:74所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:75所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:76所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:77所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:78所示的氨基酸序列;

xi.HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:81所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:82所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:83所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:84所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:85所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:86所示的氨基酸序列;

xii.HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:89所示

的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:90所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:91所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:92所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:93所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:94所示的氨基酸序列;

xiii.HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:102所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:103所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:104所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:105所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:106所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:107所示的氨基酸序列;

xiv.HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:110所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:111所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:112所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:113所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:114所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:115所示的氨基酸序列;

xv.HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:118所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:119所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:120所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:121所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:122所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:123所示的氨基酸序列;

xvi.HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:126所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:127所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:128所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:129所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:130所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:131所示的氨基酸序列;

xvii.HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:134所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:135所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:136所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:137所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:138所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:139所示的氨基酸序列;

xviii.HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:142所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:143所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:144所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:145所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:146所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:147所示的氨基酸序列;

xix.HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:150所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:151所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:152所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:153所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:154所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:155所示的氨基酸序列;

示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:179所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;

xxix.HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:180所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;

xxx.HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID N0:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID N0:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID N0:181所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID N0:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID N0:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID N0:14所示的氨基酸序列;

xxxi.HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:182所示的氨基酸序列;

xxxii.HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID N0:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID N0:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID N0:11所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID N0:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID N0:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID N0:183所示的氨基酸序列;

xxxiii.HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:184所示的氨基酸序列;

xxxiv.HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:185所示的氨基酸序列;

xxxxv.HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:220所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;

基酸序列;

xliv.HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:222所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:180所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:215所示的氨基酸序列;

x1v.HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID N0:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID N0:172所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID N0:223所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID N0:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID N0:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID N0:214所示的氨基酸序列;

xlvi.HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:172所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:223所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:215所示的氨基酸序列:

xlvii.HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:225所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;

xlvi. HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:226所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;

xlix.HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:227所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;

1.HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:228所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;

1i.HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:174所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2

包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;

lii.HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:229所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;

liii.HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:217所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;

liv.HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:218所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;

lv.HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:219所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:201所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:162所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:167所示的氨基酸序列;

lvi.HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:150所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:212所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:152所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:153所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:

154所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:155所示的氨基酸序列;

lvii.HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:150所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:210所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:152所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:153所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:154所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:155所示的氨基酸序列;或者

lviii.HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:150所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:211所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:152所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:153所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:154所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:155所示的氨基酸序列。

10.根据前述权利要求中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其包括VH区,所述VH区具有如SEQ ID NO:7、15、23、31、39、47、55、63、71、79、87、95、108、116、124、132、140、148、

156、163、164、165、166、186、187、188、189、190、191、192、193、194、195、196、213、202、203、204、205、206、233、234、235、236、237、238、239、240、241、242、243、244或245所示的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:7、15、23、31、39、47、55、63、71、79、87、95、108、116、124、132、140、148、156、163、164、165、166、186、187、188、189、190、191、192、193、194、195、196、213、202、203、204、205、206、233、234、235、236、237、238、239、240、241、242、243、244或245具有至少80%序列同一性的同源序列。

11. 根据前述权利要求中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其包括VL区,所述VL区具有如SEQ ID NO:8、16、24、32、40、48、56、64、72、80、88、96、109、117、125、133、141、149、157、168、169、170、197、198、199、200、207、208、209、230、231或232所示的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:8、16、24、32、40、48、56、64、72、80、88、96、109、117、125、133、141、149、157、168、169、170、197、198、199、200、207、208、209、230、231或232具有至少80%序列同一性的同源序列。

12. 根据前述权利要求中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其包括选自以下组成的组的VH/VL氨基酸序列对:SEQ ID NO:7/8、15/16、23/24、31/32、39/40、47/48、55/56、63/64、71/72、79/80、87/88、95/96、108/109、116/117、124/125、132/133、140/141、148/149、156/157、163/168、163/169、163/170、164/168、164/169、164/170、165/168、165/169、165/170、166/168、166/169、166/170、186/169、187/169、188/169、189/169、190/169、191/169、192/169、193/169、194/169、195/169、196/169、165/197、165/198、165/199、165/200、202/207、202/208、202/209、203/207、203/208、203/209、204/207、205/207、206/207、206/208、206/209、233/169、234/169、235/169、236/169、237/169、238/169、239/169、240/169、241/169、242/169、243/169、244/169、245/169、165/230、165/231、165/232、235/230、235/231、236/230和236/231。

13. 根据前述权利要求中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其进一步包括一个或多个氨基酸残基取代或修饰,但仍保留对CD3的特异性结合亲和力。

14. 根据权利要求13所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述取代或修饰中的至少一个位于所述VH区或VL区的一个或多个CDR序列中。

15. 根据权利要求13所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述取代或修饰中的至少一个位于所述VH区或VL区的一个或多个非CDR序列中。

16. 根据前述权利要求所述的抗体或抗原结合片段,其进一步包括一个或多个非天然氨基酸(NNAA)取代。

17. 根据权利要求16所述的抗体或抗原结合片段,其中所述NNAA能够被缀合。

18. 根据前述权利要求中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,其对CD3具有一种或多种性质,所述性质选自以下组成的组:

- i. 能够特异性地结合至人CD3(例如,如通过FACS测定所测量的);
- ii. 能够结合至人CD3和食蟹猴CD3两者(例如,如通过FACS测定所测量的);
- iii. 具有T细胞活化能力(例如,如通过Jurkat NFAT-荧光素酶活化测定所测量的);和
- iv. 具有PBMC活化能力(例如,如通过ELISA测定所测量的)。

19. 一种抗体或其抗原结合片段,其与根据前述权利要求中任一项所述的抗体或其抗原结合片段竞争结合CD3。

20. 根据前述权利要求中任一项所述的抗体或其抗原结合片段, 其为嵌合抗体、人源化抗体或人抗体或其抗原结合片段。

21. 根据前述权利要求中任一项所述的抗体或其抗原结合片段, 其为标记的抗体、二价抗体、抗独特型抗体或融合蛋白。

22. 根据前述权利要求中任一项所述的抗体或其抗原结合片段, 其为双功能抗体(diabody)、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fd、Fv片段、二硫键稳定的Fv片段(dsFv)、(dsFv)₂、双特异性dsFv(dsFv-dsFv')、二硫键稳定的双功能抗体(ds diabody)、单链抗体分子(scFv)、scFv二聚体(二价双功能抗体)、骆驼化单结构域抗体、纳米抗体、结构域抗体或二价结构域抗体。

23. 根据前述权利要求中任一项所述的抗体或其抗原结合片段, 其进一步包括Fc区, 任选地人免疫球蛋白(Ig)的Fc区, 或任选地人IgG的Fc区。

24. 根据权利要求23所述的抗体或其抗原结合片段, 其中所述Fc区源自人IgG1、IgG2、IgG3或IgG4。

25. 根据权利要求24所述的抗体或其抗原结合片段, 其中所述Fc区包括选自SEQ ID NO: 97-99组成的组的氨基酸序列。

26. 根据前述权利要求中任一项所述的抗体或其抗原结合片段, 其中所述轻链是 λ 轻链或 κ 轻链。

27. 根据前述权利要求中任一项所述的抗体或其抗原结合片段, 其为双特异性抗体或多特异性抗体或其抗原结合片段。

28. 根据权利要求27所述的抗体或其抗原结合片段, 其能够特异性地结合至除CD3之外的一种或多种额外的抗原, 或CD3上的第二表位。

29. 根据权利要求28所述的抗体或其抗原结合片段, 其中所述除CD3之外的一种或多种额外的抗原选自以下组成的组: CD16a、CD33、CD38、CD45、CD123、CD146、CD228、CLL-1、FLT3、FLT3L、TAF1、TgPRF、HVCN1、IL-6R、IL-11R、IL17A、IL-23R、IL-33、ILDR2、LAP、TSLP、TREM-1、ANGPT2、APOE、IFNAR、CypA、DOG-1、NKp30、CSF-1R、CCR2、LRR15、间皮素、Dickkopf2、DLL3、HER-2、C10orf54、TrkA、MEKK1、KRAS、ERK、XPO1、mTORC1/2、PAK4、NAMPT、ATR、EGFR、FGFR、VEGF、LILRB(例如, LILRB1、LILRB2、LILRB3、LILRB4、LILRB5)、c-MET、Her2、Her3、CTLA4、GITA、CD112R、CD2、CD7、CD16、CD19、CD20、CD24、CD27、CD30、CD34、CD37、CD39、CD70、CD73、CD83、CD28、CD80(B7-1)、CD86(B7-2)、CD40、CD40L(CD154)、CD47、SIRP α 、CD122、CD137、CD137L、OX40(CD134)、OX40L(CD252)、BCMA(例如, BCMA02)、PSMA、CLDN18(例如, CLDN18.2)、NKG2C、4-1BB、LIGHT、PVRIG、SLAMF7、HVEM、BAFFR、ICAM-1、2B4、LFA-1、GITR、ICOS(CD278)、ICOSLG(CD275)、LAG3(CD223)、A2AR、B7-H3(CD276)、B7-H4(VTCN1)、B7-H5、BTLA(CD272)、CD160、CTLA-4(CD152)、GPRC5D、IDO(例如, IDO1、IDO2)、ILT3、TDO、KIR、LAIR-1、NOX2、PD-1、PD-L1、PD-L2、TIM-3、VISTA、SIGLEC-7(CD328)、SIGLEC-9(CD329)、SIGLEC-15、TIGIT、PVR(CD155)、TLR3、CLEC9A、DEC-205、STING和TGF β 。

30. 根据前述权利要求中任一项所述的抗体或其抗原结合片段, 其与一个或多个缀合物部分连接。

31. 根据权利要求30所述的抗体或其抗原结合片段, 其中所述缀合物部分包括清除修饰剂、化疗剂、毒素、放射性同位素、镧系元素、可检测的标记物、DNA烷基化剂、拓扑异构酶抑制剂、微管蛋白结合剂、纯化部分或其他抗癌药物。

32. 根据权利要求30或31所述的抗体或其抗原结合片段,其中所述缀合物部分直接地或经由连接子共价连接。

33. 一种嵌合抗原受体,其包括根据权利要求1至29中任一项所述的抗体或抗原结合片段、跨膜区和胞内信号区。

34. 根据权利要求33所述的嵌合抗原受体,其中所述跨膜区包括CD3、CD4、CD8或CD28的跨膜区。

35. 根据权利要求33所述的嵌合抗原受体,其中所述胞内信号区选自以下组成的组: CD3、Fc γ RI、CD27、CD28、CD137、CD134、MyD88、CD40、CD278、TLR或其组合的胞内信号区序列。

36. 根据权利要求33至35中任一项所述的嵌合抗原受体,其中所述抗原结合片段为 scFv。

37. 根据权利要求33至36中任一项所述的嵌合抗原受体,其中所述嵌合抗原受体被移植到同种异体细胞、自体细胞或异种细胞。

38. 根据权利要求33至37中任一项所述的嵌合抗原受体,其中所述嵌合抗原受体被移植到免疫效应细胞。

39. 根据权利要求33至38中任一项所述的嵌合抗原受体,其中所述嵌合抗原受体被移植到T细胞、自然杀伤细胞、巨噬细胞或肿瘤浸润性淋巴细胞。

40. 一种药物组合物,其包括根据权利要求1至32中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,或根据权利要求33至39中任一项所述的嵌合抗原受体,以及一种或多种药学上可接受的载体。

41. 一种分离的多核苷酸,其编码根据权利要求1至29中任一项所述的抗体或其抗原结合片段,和/或根据权利要求33至39中任一项所述的嵌合抗原受体。

42. 一种载体,其包括根据权利要求41所述的分离的多核苷酸。

43. 一种宿主表达系统,其包括根据权利要求42所述的载体,或具有整合到其基因组中的根据权利要求41所述的多核苷酸。

44. 根据权利要求43所述的宿主表达系统,其为微生物、酵母或哺乳动物细胞,任选地,其中所述微生物选自大肠杆菌和枯草芽孢杆菌组成的组,任选地其中所述酵母为酵母属 (*Saccharomyces*),并且任选地其中所述哺乳动物细胞选自下组: COS、CHO-S、CHO-K1、HEK-293和3T3细胞。

45. 一种病毒,其包括根据权利要求42所述的载体。

46. 一种试剂盒,其包括根据权利要求1至29中任一项所述的抗体或其抗原结合片段和/或根据权利要求33至39中任一项所述的嵌合抗原受体和/或根据权利要求40所述的药物组合物,以及第二治疗剂。

47. 一种表达根据权利要求1至29中任一项所述的抗体或其抗原结合片段或根据权利要求33至39中任一项所述的嵌合抗原受体的方法,其包括在表达根据权利要求1至29中任一项所述的抗体或抗原结合片段或根据权利要求33至39中任一项所述的嵌合抗原受体的条件下培养根据权利要求43所述的宿主表达系统。

48. 一种在受试者中治疗、预防或减轻疾病、病症或病状的方法,其包括向所述受试者施用治疗有效量的根据权利要求1至32中任一项所述的抗体或其抗原结合片段和/或根据

权利要求33至39中任一项所述的嵌合抗原受体和/或根据权利要求40所述的药物组合物。

49. 根据权利要求48所述的方法,其中所述疾病、病症或病状为免疫性疾病、炎性疾病、癌症或神经系统疾病。

50. 根据权利要求49所述的方法,其中所述癌症为实体瘤或血液肿瘤。

51. 根据权利要求48至50中任一项所述的方法,其中所述疾病、病症或病状选自以下组成的组:肺癌(例如,非小细胞肺癌(NSCLC)、小细胞肺癌(SCLC)、肺腺癌或肺鳞状细胞癌)、腹膜癌、类癌、骨癌、胰腺癌、原始神经外胚层肿瘤、皮肤癌、胆囊癌、头部或颈部的癌症、鳞状细胞癌、子宫癌、卵巢癌、直肠癌、前列腺癌、膀胱癌(例如,尿路上皮癌)、肛门区癌症(例如,肛门鳞状细胞癌)、胃部癌症或胃癌(例如,胃肠癌)、食道癌、结肠癌、乳腺癌、子宫癌、肝癌(例如,肝母细胞瘤、肝细胞癌/肝癌或肝癌)、胆管癌、肉瘤、结肠直肠癌、输卵管癌、唾液腺癌、宫颈癌、子宫内膜癌或子宫癌、骨肉瘤、阴道癌、外阴癌、食道癌、小肠癌、内分泌系统癌、甲状腺癌、甲状旁腺癌、肾上腺癌、鼻咽癌、软组织肉瘤、真性红细胞增多症、尿道癌、阴茎癌、肾或输尿管癌(例如,肾的横纹肌样瘤)、皮肤T细胞淋巴瘤、髓母细胞瘤、肾母细胞瘤、骨髓增生异常综合征、慢性和非慢性骨髓增生性病症、脉络丛乳头状瘤、肾细胞癌、肾盂癌、中枢神经系统(CNS)肿瘤、软组织肉瘤(例如,横纹肌肉瘤、纤维肉瘤、卡波西肉瘤)、脊柱轴肿瘤、神经胶质瘤(例如,室管膜瘤、星形细胞瘤、间变性星形细胞瘤、少突胶质细胞瘤、眼癌(例如,视网膜母细胞瘤)、脑干神经胶质瘤或混合神经胶质瘤如少突星形细胞瘤)、脑肿瘤(例如,胶质母细胞瘤/多形性胶质母细胞瘤(GBM)、非胶质母细胞瘤脑肿瘤或脑膜瘤)、黑色素瘤(例如,皮肤或眼内黑色素瘤)、血小板增多症、间皮瘤、蕈样肉芽肿、塞扎里综合征、特发性骨髓纤维化、孤立性浆细胞瘤、前庭神经鞘瘤、尤因肉瘤、软骨肉瘤、MYH相关息肉病、垂体腺瘤、儿科癌症如儿科肉瘤(例如,神经母细胞瘤、横纹肌肉瘤和骨肉瘤)、血液癌症、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、白血病(例如,淋巴细胞/淋巴母细胞白血病)、慢性或急性白血病、肥大细胞白血病、淋巴细胞淋巴瘤、原发性CNS淋巴瘤、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、急性淋巴细胞白血病(ALL)、慢性髓细胞性白血病(CML)、急性髓细胞性白血病(AML)、慢性粒单核细胞性白血病(CMML)、慢性淋巴细胞性白血病、急性淋巴细胞性白血病、毛细胞白血病(HCL)、伯基特淋巴瘤(BL)、多发性骨髓瘤(例如,复发性或难治性多发性骨髓瘤)、T细胞淋巴瘤或B细胞淋巴瘤、套细胞淋巴瘤(MCL)(例如,复发性或难治性套细胞淋巴瘤)、恶性黑色素瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、由滤泡性淋巴瘤引起的DLBCL、高级别B细胞淋巴瘤、原发性纵隔大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤(FL)和原发性纵隔B细胞淋巴瘤。

52. 根据权利要求48至51中任一项所述的方法,其中所述受试者是人。

53. 根据权利要求48至52中任一项所述的方法,其中所述施用是通过肠胃外途径,包括皮下、腹膜内、静脉内、肌内或皮内注射;或非肠胃外途径,包括经皮、口服、鼻内、眼内、舌下、直肠或外用。

54. 根据权利要求48至53中任一项所述的方法,其中所述方法进一步包括向有此需要的所述受试者施用额外的治疗剂。

55. 根据权利要求54所述的方法,其中所述额外的治疗剂选自以下组成的组:活性剂、成像剂、细胞毒性剂、血管生成抑制剂、激酶抑制剂、共刺激分子激动剂、共抑制分子阻断剂、粘附分子阻断剂、抗细胞因子抗体或其功能片段、可检测的标记物或报告分子、抗微生物剂、基因编辑剂、 β 激动剂、病毒RNA抑制剂、聚合酶抑制剂、干扰素和微小RNA。

56. 根据权利要求54所述的方法, 其中所述额外的治疗剂在根据权利要求1至32中任一项所述的抗体或其抗原结合片段和/或根据权利要求33至39中任一项所述的嵌合抗原受体和/或根据权利要求40所述的药物组合物之前、之后或与其同时被施用于有此需要的所述受试者。

57. 一种在体内或体外活化表达CD3的T细胞的方法, 其包括使表达CD3的T细胞与根据权利要求1至32中任一项所述的抗体或其抗原结合片段和/或根据权利要求33至39中任一项所述的嵌合抗原受体和/或根据权利要求40所述的药物组合物接触。

58. 一种调节表达CD3的细胞中CD3活性的方法, 其包括将所述表达CD3的细胞暴露于根据权利要求1至32中任一项所述的抗体或其抗原结合片段和/或根据权利要求33至39中任一项所述的嵌合抗原受体和/或根据权利要求40所述的药物组合物。

59. 一种促进表达CD3的T细胞在体内或体外加工第二抗原的方法, 其包括使所述表达CD3的T细胞与根据权利要求27至32中任一项所述的双特异性抗体或多特异性抗体或其抗原结合片段接触, 其中所述双特异性抗体或多特异性抗体或其抗原结合片段能够结合至所述表达CD3的T细胞和第二抗原两者, 从而使两者邻近。

60. 一种检测样本中CD3的存在或量的方法, 其包括使所述样本与根据权利要求1至32中任一项所述的抗体或其抗原结合片段和/或根据权利要求33至39中任一项所述的嵌合抗原受体和/或根据权利要求40所述的药物组合物接触, 并且确定所述样本中CD3的存在或量。

61. 一种在受试者中诊断CD3相关疾病或病状的方法, 其包括: a) 使从所述受试者获得的样本与根据权利要求1至32中任一项所述的抗体或其抗原结合片段和/或根据权利要求33至39中任一项所述的嵌合抗原受体和/或根据权利要求40所述的药物组合物接触; b) 确定所述样本中CD3的存在或量; 以及c) 将所述受试者中CD3的存在或量与所述CD3相关疾病或病状的存在或状态相关联。

62. 根据权利要求1至32中任一项所述的抗体或其抗原结合片段和/或根据权利要求33至39中任一项所述的嵌合抗原受体和/或根据权利要求40所述的药物组合物在制备用于在受试者中治疗CD3相关疾病、病症或病状的药物中的用途。

63. 根据权利要求1至32中任一项所述的抗体或其抗原结合片段和/或根据权利要求33至39中任一项所述的嵌合抗原受体和/或根据权利要求40所述的药物组合物在制备用于诊断CD3相关疾病、病症或病状的诊断试剂中的用途。

64. 一种试剂盒, 其包括根据权利要求1至32中任一项所述的抗体或其抗原结合片段和/或根据权利要求33至39中任一项所述的嵌合抗原受体和/或根据权利要求40所述的药物组合物, 用于检测CD3, 任选地重组CD3、在细胞表面上表达的CD3, 或表达CD3的细胞。

新颖的抗CD3抗体以及其用途

发明领域

[0001] 本公开总体上涉及新颖的抗CD3抗体、其抗原结合片段以及其用途。

背景技术

[0002] CD3(分化簇3)T细胞共受体是一种蛋白质复合物并且由四条不同的链组成,即CD3 γ 链、CD3 δ 链和两条CD3 ϵ 链。这些链与被称为T细胞受体(TCR)的分子和 ζ 链缔合,以在T淋巴细胞中产生活化信号。TCR、 ζ 链和CD3分子一起形成TCR-CD3复合物,其中TCR作为亚基识别并结合至抗原,并且CD3作为亚基将抗原刺激转移和传递到信号传导通路,并最终调节T细胞活性。CD3蛋白实际上存在于所有T细胞中。

[0003] 特异性针对人CD3的小鼠单克隆抗体,如OKT3(Kung等人,(1979)《科学(Science)》,206:347-9),是用于治疗的第一代CD3抗体。尽管OKT3具有强的免疫抑制效力,但其临床应用受到与其免疫原性和促有丝分裂潜能相关的严重副作用的阻碍(Chatenoud(2003)《自然评论免疫学(Nature Reviews Immunology)》3:123-132)。OKT3诱导的抗球蛋白应答,会促进其自身的快速清除和中和(Chatenoud等人,(1982)《欧洲免疫学杂志(Eur.J.Immunol.)》,137:830-8)。此外,OKT3在体外诱导T细胞增殖和细胞因子产生,并且导致体内细胞因子的大规模释放(Hirsch等人,(1989)《免疫学杂志(J.Immunol)》,142:737-43)。细胞因子释放(也被称为“细胞因子风暴”)进而导致“流感样”综合征,其特征为发热、寒战、头痛、恶心、呕吐、腹泻、呼吸窘迫、脓毒性脑膜炎和低血压(Chatenoud(2003)《自然评论免疫学》,3:123-132)。此类严重的副作用限制了OKT3在移植中更广泛的应用以及将其应用扩展到其他临床领域如自身免疫。

[0004] CD3抗体的更近期的应用是以双特异性抗体的形式,一方面结合CD3,并且另一方面结合肿瘤细胞抗原。此类抗体与其两个靶标的同时结合将迫使靶细胞和T细胞之间暂时相互作用,导致任何细胞毒性T细胞的活化和随后靶细胞的裂解。

[0005] 仍然需要新颖的抗CD3抗体。

发明内容

[0006] 在整个本公开中,本文使用的冠词“一个”、“一种”和“所述”是指冠词的语法宾语中的一个或多个(即,至少一个)。举例来说,“一种抗体”意指一种抗体或多于一种抗体。

[0007] 一方面,本公开提供了一种特异性地结合至CD3的抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段包括:

[0008] 一个或两个或三个重链互补决定区(HCDR1、HCDR2和/或HCDR3),所述重链互补决定区被包含在选自以下组成的组的重链可变(VH)区序列中的任一者中:SEQ ID NO:7、15、23、31、39、47、55、63、71、79、87、95、108、116、124、132、140、148、156、163、164、165、166、186、187、188、189、190、191、192、193、194、195、196、213、202、203、204、205、206、233、234、235、236、237、238、239、240、241、242、243、244和245;和/或

[0009] 一个或两个或三个轻链互补决定区(LCDR1、LCDR2和/或LCDR3),所述轻链互补决定区被包含在选自以下组成的组的轻链可变(VL)区序列中的任一者中:SEQ ID NO:8、16、24、32、40、48、56、64、72、80、88、96、109、117、125、133、141、149、157、168、169、170、197、198、199、200、207、208、209、230、231和232。

[0010] 在一些实施方式中,本公开的抗体或其抗原结合片段包括至少一个重链或轻链互补决定区(CDR),其包括选自以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、9、10、11、12、13、14、17、18、19、20、21、22、25、26、27、28、29、30、33、34、35、36、37、38、41、42、43、44、45、46、49、50、51、52、53、54、57、58、59、60、61、62、65、66、67、68、69、70、73、74、75、76、77、78、81、82、83、84、85、86、89、90、91、92、93、94、102、103、104、105、106、107、110、111、112、113、114、115、118、119、120、121、122、123、126、127、128、129、130、131、134、135、136、137、138、139、142、143、144、145、146、147、150、151、152、153、154、155、171、172、173、174、175、176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、201、162、167、210、211、212、214、215、216、217、218、219、220、221、222、223、224、225、226、227、228和229。

[0011] 在一些实施方式中,本公开的抗体或其抗原结合片段包括VH区,所述VH区包括HCDR1、HCDR2和HCDR3中的一个或两个或三个,所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包括选自以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:1、2、3、9、10、11、17、18、19、25、26、27、33、34、35、41、42、43、49、50、51、57、58、59、65、66、67、73、74、75、81、82、83、89、90、91、102、103、104、110、111、112、118、119、120、126、127、128、134、135、136、142、143、144、150、151、152、171、172、173、174、175、176、177、178、179、180、181、201、162、210、211、212、217、218、219、220、221、222、223、224、225、226、227、228和229。

[0012] 在一些实施方式中,本公开的抗体或其抗原结合片段包括VL区,所述VL区包括LCDR1、LCDR2和LCDR3中的一个或两个或三个,所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包括选自以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:4、5、6、12、13、14、20、21、22、28、29、30、36、37、38、44、45、46、52、53、54、60、61、62、68、69、70、76、77、78、84、85、86、92、93、94、105、106、107、113、114、115、121、122、123、129、130、131、137、138、139、145、146、147、153、154、155、182、183、184、185、167、214、215和216。

[0013] 在一些实施方式中,本公开的抗体或其抗原结合片段包括:

[0014] (a)HCDR1,所述HCDR1包括选自以下组成的组的氨基酸序列:选自SEQ ID NO:1、9、17、25、33、41、49、57、65、73、81、89、102、110、118、126、134、142、150、217、218和219;

[0015] (b)HCDR2,所述HCDR2包括选自以下组成的组的氨基酸序列:选自SEQ ID NO:2、10、18、26、34、42、50、58、66、74、82、90、103、111、119、127、135、143、151、171、172、173、201、210、211、212、220和222;以及

[0016] (c)HCDR3,所述HCDR3包括选自以下组成的组的氨基酸序列:选自SEQ ID NO:3、11、19、27、35、43、51、59、67、75、83、91、104、112、120、128、136、144、152、174、175、176、177、178、179、180、181、221、223、224、225、226、227、228、229和162。

[0017] 在一些实施方式中,本公开的抗体或其抗原结合片段包括:

[0018] (a)LCDR1,所述LCDR1包括选自以下组成的组的氨基酸序列:选自SEQ ID NO:4、12、20、28、36、44、52、60、68、76、84、92、105、113、121、129、137、145和153;

[0019] (b)LCDR2,所述LCDR2包括选自以下组成的组的氨基酸序列:选自SEQ ID NO:5、

13、21、29、37、45、53、61、69、77、85、93、106、114、122、130、138、146和154；和

[0020] (c) LCDR3,所述LCDR3包括选自以下组成的组的氨基酸序列:选自SEQ ID NO:6、14、22、30、38、46、54、62、70、78、86、94、107、115、123、131、139、147、155、182、183、184、185、214、215、216和167。

[0021] 在一些实施方式中,本公开的抗体或其抗原结合片段包括:

[0022] (a) HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:3所示的氨基酸序列;

[0023] (b) HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列;

[0024] (c) HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:17所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:18所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:19所示的氨基酸序列;

[0025] (d) HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列;

[0026] (e) HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:33所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:34所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:35所示的氨基酸序列;

[0027] (f) HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:41所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:42所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:43所示的氨基酸序列;

[0028] (g) HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:49所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:51所示的氨基酸序列;

[0029] (h) HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:57所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:58所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:59所示的氨基酸序列;

[0030] (i) HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:66所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:67所示的氨基酸序列;

[0031] (j) HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:73所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:74所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:75所示的氨基酸序列;

[0032] (k) HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:81所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:82所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:83所示的氨基酸序列;

[0033] (l) HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:89所示的氨基酸序列,所

述HCDR2包括如SEQ ID NO:90所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:91所示的氨基酸序列;

[0034] (m)HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:102所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:103所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:104所示的氨基酸序列;

[0035] (n)HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:110所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:111所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:112所示的氨基酸序列;

[0036] (o)HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:118所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:119所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:120所示的氨基酸序列;

[0037] (p)HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:126所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:127所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:128所示的氨基酸序列;

[0038] (q)HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:134所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:135所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:136所示的氨基酸序列;

[0039] (r)HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:142所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:143所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:144所示的氨基酸序列;

[0040] (s)HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:150所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:151所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:152所示的氨基酸序列;

[0041] (t)HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:219所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:201所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:162所示的氨基酸序列;

[0042] (u)HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9、217或218所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10、171、172、173、220或222所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:11、174、175、176、177、178、179、180、181、221、223、224、225、226、227、228或229所示的氨基酸序列;

[0043] (v)HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:150所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:212所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:152所示的氨基酸序列;

[0044] (w)HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:150所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:210所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:152所示的氨基酸序列;或者

[0045] (x)HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:150所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:211所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:152所示的氨基酸序列。

[0046] 在一些实施方式中,本公开的抗体或其抗原结合片段包括:

[0047] (a) LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:5所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:6所示的氨基酸序列;

[0048] (b) LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;

[0049] (c) LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:20所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:21所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:22所示的氨基酸序列;

[0050] (d) LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:28所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:29所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:30所示的氨基酸序列;

[0051] (e) LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:36所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:37所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列;

[0052] (f) LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:44所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:46所示的氨基酸序列;

[0053] (g) LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:52所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:53所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列;

[0054] (h) LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:62所示的氨基酸序列;

[0055] (i) LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:68所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:69所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:70所示的氨基酸序列;

[0056] (j) LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:76所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:77所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:78所示的氨基酸序列;

[0057] (k) LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:84所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:85所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:86所示的氨基酸序列;

[0058] (l) LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:92所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:93所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:94所示的氨基酸序列;

[0059] (m) LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:105所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:106所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:107所示的

氨基酸序列；

[0060] (n) LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:113所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:114所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:115所示的氨基酸序列；

[0061] (o) LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:121所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:122所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:123所示的氨基酸序列；

[0062] (p) LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:129所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:130所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:131所示的氨基酸序列；

[0063] (q) LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:137所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:138所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:139所示的氨基酸序列；

[0064] (r) LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:145所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:146所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:147所示的氨基酸序列；

[0065] (s) LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:153所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:154所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:155所示的氨基酸序列；

[0066] (t) LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:167所示的氨基酸序列；或者

[0067] (u) LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14、182、183、184、185、214、215或216所示的氨基酸序列。

[0068] 在一些实施方式中,本公开的抗体或其抗原结合片段包括：

[0069] (a) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:3所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:5所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:6所示的氨基酸序列；

[0070] (b) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列；

[0071] (c) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:17所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:18所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:19所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:20所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:21所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:22所示的氨基

酸序列;

[0072] (d)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:28所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:29所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:30所示的氨基酸序列;

[0073] (e)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:33所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:34所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:35所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:36所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:37所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列;

[0074] (f)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:41所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:42所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:43所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:44所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:46所示的氨基酸序列;

[0075] (g)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:49所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:51所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:52所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:53所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列;

[0076] (h)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:57所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:58所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:59所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:62所示的氨基酸序列;

[0077] (i)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:66所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:67所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:68所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:69所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:70所示的氨基酸序列;

[0078] (j)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:73所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:74所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:75所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:76所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:77所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:78所示的氨基酸序列;

[0079] (k)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:81所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:82所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:83所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:84所示的氨基酸序列,所述

LCDR2包括如SEQ ID NO:85所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:86所示的氨基酸序列;

[0080] (1)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:89所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:90所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:91所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:92所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:93所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:94所示的氨基酸序列;

[0081] (m)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:102所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:103所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:104所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:105所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:106所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:107所示的氨基酸序列;

[0082] (n)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:110所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:111所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:112所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:113所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:114所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:115所示的氨基酸序列;

[0083] (o)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:118所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:119所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:120所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:121所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:122所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:123所示的氨基酸序列;

[0084] (p)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:126所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:127所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:128所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:129所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:130所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:131所示的氨基酸序列;

[0085] (q)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:134所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:135所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:136所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:137所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:138所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:139所示的氨基酸序列;

[0086] (r)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:142所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:143所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:144所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:145所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:146所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:147所示的氨基酸序列;

[0087] (s)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:150所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:151所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如

示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:178所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;

[0096] (bb)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID N0:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID N0:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID N0:179所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID N0:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID N0:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID N0:14所示的氨基酸序列;

[0097] (cc)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID N0:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID N0:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID N0:180所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID N0:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID N0:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID N0:14所示的氨基酸序列;

[0098] (dd) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:181所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;

[0099] (ee) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID N0:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID N0:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID N0:11所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID N0:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID N0:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID N0:182所示的氨基酸序列;

[0100] (ff) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:183所示的氨基酸序列;

[0101] (gg)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID N0:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID N0:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID N0:11所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID N0:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID N0:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID N0:184所示的氨基酸序列;或者

[0102] (hh) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID N0:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID N0:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID N0:11所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID N0:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID N0:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID N0:185所示的氨基酸序列;

[1013] (ii) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:220所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;

[0104] (jj) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:221所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;

[1015] (kk) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:222所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:180所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;

[0106] (11)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:172所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:223所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;

[0107] (mm)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:171所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:224所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;

[0108] (nn)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:214所示的氨基酸序列;

[0109] (oo) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:215所示的氨基酸序列;

[0110] (pp)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:216所示的氨

基酸序列；

[0111] (qq)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:222所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:180所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:214所示的氨基酸序列；

[0112] (rr)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:222所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:180所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:215所示的氨基酸序列；

[0113] (ss)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:172所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:223所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:214所示的氨基酸序列；

[0114] (tt)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:172所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:223所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:215所示的氨基酸序列；

[0115] (uu)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:225所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列；

[0116] (vv)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:226所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列；

[0117] (ww)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:227所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列；

[0118] (xx)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:228所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述

LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;

[0119] (yy)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:174所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;

[0120] (zz)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:229所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;

[0121] (aaa)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:217所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;

[0122] (bbb)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:218所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;

[0123] (ccc)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:219所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:201所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:162所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:167所示的氨基酸序列;

[0124] (ddd)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:150所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:212所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:152所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:153所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:154所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:155所示的氨基酸序列;

[0125] (eee)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:150所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:210所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:152所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:153所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:154所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:155所示的氨基酸序列;或者

[0126] (fff)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:150所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:211所示的氨基酸序列,所述HCDR3包

括如SEQ ID NO:152所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:153所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:154所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:155所示的氨基酸序列。

[0127] 在一些实施方式中,本公开的抗体或其抗原结合片段包括VH区,所述VH区具有如SEQ ID NO:7、15、23、31、39、47、55、63、71、79、87、95、108、116、124、132、140、148、156、163、164、165、166、186、187、188、189、190、191、192、193、194、195、196、213、202、203、204、205、206、233、234、235、236、237、238、239、240、241、242、243、244或245所示的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:7、15、23、31、39、47、55、63、71、79、87、95、108、116、124、132、140、148、156、163、164、165、166、186、187、188、189、190、191、192、193、194、195、196、213、202、203、204、205、206、233、234、235、236、237、238、239、240、241、242、243、244或245具有至少80%序列同一性的同源序列。

[0128] 在一些实施方式中,本公开的抗体或其抗原结合片段包括VL区,所述VL区具有如SEQ ID NO:8、16、24、32、40、48、56、64、72、80、88、96、109、117、125、133、141、149、157、168、169、170、197、198、199、200、207、208、209、230、231或232所示的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:8、16、24、32、40、48、56、64、72、80、88、96、109、117、125、133、141、149、157、168、169、170、197、198、199、200、207、208、209、230、231或232具有至少80%序列同一性的同源序列。

[0129] 在一些实施方式中,本公开的抗体或其抗原结合片段包括选自以下组成的组的VH/VL氨基酸序列对:SEQ ID NO:7/8、15/16、23/24、31/32、39/40、47/48、55/56、63/64、71/72、79/80、87/88、95/96、108/109、116/117、124/125、132/133、140/141、148/149、156/157、163/168、163/169、163/170、164/168、164/169、164/170、165/168、165/169、165/170、166/168、166/169、166/170、186/169、187/169、188/169、189/169、190/169、191/169、192/169、193/169、194/169、195/169、196/169、165/197、165/198、165/199、165/200、202/207、202/208、202/209、203/207、203/208、203/209、204/207、205/207、206/207、206/208、206/209、233/169、234/169、235/169、236/169、237/169、238/169、239/169、240/169、241/169、242/169、243/169、244/169、245/169、165/230、165/231、165/232、235/230、235/231、236/230和236/231。

[0130] 在一些实施方式中,本公开的抗体或其抗原结合片段进一步包括一个或多个氨基酸残基取代或修饰,但仍保留对CD3的特异性结合亲和力。在一些实施方式中,取代或修饰中的至少一个位于VH区或VL区的一个或多个CDR序列中。在一些实施方式中,取代或修饰中的至少一个位于VH区或VL区的一个或多个非CDR序列中。在一些实施方式中,本公开的抗体或其抗原结合片段进一步包括一个或多个非天然氨基酸(NNAA)取代。在一些实施方式中,NNAA能够被缀合。

[0131] 在一些实施方式中,本公开的抗体或其抗原结合片段具有一种或多种与CD3的结合性质,所述结合性质选自以下组成的组:

[0132] (a) 能够特异性地结合至人CD3,如通过FACS测定所测量的;

[0133] (b) 具有T细胞活化能力,如通过Jurkat NFAT-荧光素酶活化测定所测量的;和

[0134] (c) 具有PBMC活化能力,如通过ELISA测定所测量的。

[0135] 在另一方面,本公开提供了一种抗体或其抗原结合片段,其与如上所述的抗体或其抗原结合片段竞争结合CD3。

[0136] 在一些实施方式中,本公开的抗体或其抗原结合片段为嵌合抗体、人源化抗体或人抗体或其抗原结合片段。

[0137] 在一些实施方式中,本公开的抗体或其抗原结合片段为标记的抗体、二价抗体、独特型抗体或融合蛋白。

[0138] 在一些实施方式中,本公开的抗体或其抗原结合片段为双功能抗体(diabody)、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fd、Fv片段、二硫键稳定的Fv片段(dsFv)、(dsFv)₂、双特异性dsFv(dsFv-dsFv')、二硫键稳定的双功能抗体(ds diabody)、单链抗体分子(scFv)、scFv二聚体(二价双功能抗体)、骆驼化单结构域抗体、纳米抗体、结构域抗体或二价结构域抗体。

[0139] 在一些实施方式中,本公开的抗体或其抗原结合片段进一步包括Fc区。在一些实施方式中,Fc区是人免疫球蛋白(Ig)的Fc区。在一些实施方式中,Fc区是人IgG的Fc区。在一些实施方式中,Fc区源自人IgG1、IgG2、IgG3或IgG4。在一些实施方式中,Fc区源自人IgG1。在一些实施方式中,Fc区包括选自SEQ ID NO:97-99组成的组的氨基酸序列。

[0140] 在一些实施方式中,本公开的抗体或其抗原结合片段的轻链是 λ 轻链或 κ 轻链。

[0141] 在一些实施方式中,本公开的抗体或其抗原结合片段为双特异性抗体或多特异性抗体或其抗原结合片段。在一些实施方式中,本公开的抗体或其抗原结合片段能够特异性地结合至除CD3之外的一种或多种额外的抗原,或CD3上的第二表位。在一些实施方式中,除CD3之外的一种或多种额外的抗原选自以下组成的组:CD16a、CD33、CD38、CD45、CD123、CD146、CD228、CLL-1、FLT3、FLT3L、TAF1、TgPRF、HVCN1、IL-6R、IL-11R、IL17A、IL-23R、IL-33、ILDR2、LAP、TSLP、TREM-1、ANGPT2、APOE、IFNAR、CypA、DOG-1、Nkp30、CSF-1R、CCR2、LRR15、间皮素、Dickkopf2、DLL3、HER-2、C10orf54、TrkA、MEKK1、KRAS、ERK、XPO1、mTORC1/2、PAK4、NAMPT、ATR、EGFR、FGFR、VEGF、LILRB(例如,LILRB1、LILRB2、LILRB3、LILRB4、LILRB5)、c-MET、Her2、Her3、CTLA4、GITA、CD112R、CD2、CD7、CD16、CD19、CD20、CD24、CD27、CD30、CD34、CD37、CD39、CD70、CD73、CD83、CD28、CD80(B7-1)、CD86(B7-2)、CD40、CD40L(CD154)、CD47、SIRP α 、CD122、CD137、CD137L、OX40(CD134)、OX40L(CD252)、BCMA(例如,BCMA02)、PSMA、CLDN18(例如,CLDN18.2)、NKG2C、4-1BB、LIGHT、PVRIG、SLAMF7、HVEM、BAFFR、ICAM-1、2B4、LFA-1、GITR、ICOS(CD278)、ICOSLG(CD275)、LAG3(CD223)、A2AR、B7-H3(CD276)、B7-H4(VTCN1)、B7-H5、BTLA(CD272)、CD160、CTLA-4(CD152)、GPRC5D、IDO(例如,IDO1、IDO2)、TDO、KIR、LAIR-1、NOX2、PD-1、PD-L1、PD-L2、TIM-3、VISTA、SIGLEC-7(CD328)、SIGLEC-9(CD329)、SIGLEC-15、TIGIT、PVR(CD155)、TLR3、CLEC9A、DEC-205、STING和TGF β 。

[0142] 在一些实施方式中,本公开的抗体或其抗原结合片段连接到一个或多个缀合物部分。在一些实施方式中,缀合物部分包括清除调节剂、化疗剂、毒素、放射性同位素、镧系元素、可检测的标记物(例如,发光标记物、荧光标记物)、酶-底物标记物、DNA烷基化剂、拓扑异构酶抑制剂、微管蛋白结合剂、纯化部分或其他抗癌药物。在一些实施方式中,缀合物部分直接或经由连接子共价连接。

[0143] 在另一方面,本公开提供了一种药物组合物,其包括本公开的抗体或其抗原结合片段,以及一种或多种药学上可接受的载体。

[0144] 在另一方面,本公开提供了一种嵌合抗原受体,其包括本公开的抗体或其抗原结合片段、跨膜区和胞内信号区。在一些实施方式中,跨膜区包括CD3、CD4、CD8或CD28的跨膜区。在一些实施方式中,胞内信号区选自以下组成的组:CD3、Fc γ RI、CD27、CD28、CD137、

CD134、MyD88、CD40、CD278、TLR或其组合的胞内信号区序列。在一些实施方式中,嵌合抗原受体的抗原结合片段为scFv。

[0145] 在另一方面,本公开提供了一种分离的多核苷酸,其编码本公开的抗体或其抗原结合片段,和/或本公开的嵌合抗原受体。

[0146] 在另一方面,本公开提供了一种载体,其包括本公开的分离的多核苷酸。

[0147] 在另一方面,本公开提供了一种宿主表达系统,其包括本公开的载体,或具有整合到其基因组中的本公开的多核苷酸。在一些实施方式中,本公开的宿主表达系统为微生物、酵母或哺乳动物细胞。在一些实施方式中,微生物选自大肠杆菌和枯草芽孢杆菌组成的组。在一些实施方式中,酵母为酵母属(*Saccharomyces*)。在一些实施方式中,哺乳动物细胞选自下组: COS、CHO-S、CHO-K1、HEK-293和3T3细胞。

[0148] 在另一方面,本公开提供了一种病毒,其包括本公开的载体。

[0149] 在另一方面,本公开提供了一种试剂盒,其包括本公开的抗体或其抗原结合片段和/或本公开的药物组合物和/或本公开的嵌合抗原受体,以及第二治疗剂。

[0150] 在另一方面,本公开提供了一种表达本公开的抗体或其抗原结合片段或嵌合抗原受体的方法,其包括在表达本公开的抗体或其抗原结合片段或本公开的嵌合抗原受体的条件下培养本公开的宿主表达系统。

[0151] 在另一方面,本公开提供了一种在受试者中治疗、预防或减轻疾病、病症或病状的方法,其包括向所述受试者施用治疗有效量的本公开的抗体或其抗原结合片段和/或药物组合物和/或嵌合抗原受体。

[0152] 在另一方面,本公开提供了本公开的抗体或其抗原结合片段和/或药物组合物和/或嵌合抗原受体在制备用于在受试者中治疗CD3相关疾病、病症或病状的药物中的用途。

[0153] 在另一方面,本公开提供了本公开的抗体或其抗原结合片段和/或嵌合抗原受体和/或药物组合物在制备用于诊断CD3相关疾病、病症或病状的诊断试剂中的用途。

[0154] 在一些实施方式中,所述疾病、病症或病状为免疫性疾病、炎性疾病、癌症或神经系统疾病。在一些实施方式中,癌症为实体瘤或血液肿瘤。在一些实施方式中,所述疾病、病症或病状选自以下组成的组:肺癌(例如,非小细胞肺癌(NSCLC)、小细胞肺癌(SCLC)、肺腺癌或肺鳞状细胞癌)、腹膜癌、类癌、骨癌、胰腺癌、原始神经外胚层肿瘤、皮肤癌、胆囊癌、头部或颈部的癌症、鳞状细胞癌、子宫癌、卵巢癌、直肠癌、前列腺癌、膀胱癌(例如,尿路上皮癌)、肛门区癌症(例如,肛门鳞状细胞癌)、胃部癌症或胃癌(例如,胃肠癌)、食道癌、结肠癌、乳腺癌、子宫癌、肝癌(例如,肝母细胞瘤、肝细胞癌/肝癌(hepatoma)或肝癌(hepatic carcinoma))、胆管癌、肉瘤、结肠直肠癌、输卵管癌、唾液腺癌、宫颈癌、子宫内膜癌或子宫癌、骨肉瘤、阴道癌、外阴癌、食道癌、小肠癌、内分泌系统癌、甲状腺癌、甲状旁腺癌、肾上腺癌、鼻咽癌、软组织肉瘤、真性红细胞增多症(polycythemia vera)、尿道癌、阴茎癌、肾或输尿管癌(例如,肾的横纹肌样瘤)、皮肤T细胞淋巴瘤、髓母细胞瘤、肾母细胞瘤、骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndrome)、慢性和非慢性骨髓增生性病症、脉络丛乳头状瘤(choroid plexus papilloma)、肾细胞癌、肾盂癌、中枢神经系统(CNS)肿瘤、软组织肉瘤(例如,横纹肌肉瘤、纤维肉瘤、卡波西肉瘤)、脊柱轴肿瘤(spinal axis tumor)、神经胶质瘤(例如,室管膜瘤、星形细胞瘤、间变性星形细胞瘤、少突胶质细胞瘤、眼癌(例如,视网膜母细胞瘤)、脑干神经胶质瘤或混合神经胶质瘤如少突星形细胞瘤(oligoastrocytoma))、

脑肿瘤(例如,胶质母细胞瘤/多形性胶质母细胞瘤(GBM)、非胶质母细胞瘤脑肿瘤或脑膜瘤)、黑色素瘤(例如,皮肤或眼内黑色素瘤)、血小板增多症、间皮瘤、蕈样肉芽肿、塞扎里综合征、特发性骨髓纤维化、孤立性浆细胞瘤、前庭神经鞘瘤(vestibular schwannoma)、尤因肉瘤、软骨肉瘤、MYH相关息肉病、垂体腺瘤、儿科癌症如儿科肉瘤(例如,神经母细胞瘤、横纹肌肉瘤和骨肉瘤)、血液癌症、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、白血病(例如,淋巴细胞/淋巴母细胞白血病)、慢性或急性白血病、肥大细胞白血病、淋巴细胞淋巴瘤、原发性CNS淋巴瘤、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、急性淋巴细胞白血病(ALL)、慢性髓细胞性白血病(CML)、急性髓细胞性白血病(AML)、慢性粒单核细胞性白血病(CMML)、慢性淋巴细胞性白血病、急性淋巴细胞性白血病、毛细胞白血病(HCL)、伯基特淋巴瘤(BL)、多发性骨髓瘤(例如,复发性或难治性多发性骨髓瘤)、T细胞淋巴瘤或B细胞淋巴瘤、套细胞淋巴瘤(MCL)(例如,复发性或难治性套细胞淋巴瘤)、恶性黑色素瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、由滤泡性淋巴瘤引起的DLBCL、高级别B细胞淋巴瘤、原发性纵隔大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤(FL)和原发性纵隔B细胞淋巴瘤。

[0155] 在一些实施方式中,受试者是人。

[0156] 在一些实施方式中,施用是通过肠胃外途径,包括皮下、腹膜内、静脉内、肌内或皮内注射;或非肠胃外途径,包括经皮、口服、鼻内、眼内、舌下、直肠或外用。

[0157] 在一些实施方式中,在受试者中治疗、预防或减轻疾病、病症或病状的方法进一步包含向有此需要的受试者施用额外的治疗剂。在一些实施方式中,额外的治疗剂选自以下组成的组:活性剂、成像剂、细胞毒性剂、血管生成抑制剂、激酶抑制剂、共刺激分子激动剂、共抑制分子阻断剂、粘附分子阻断剂、抗细胞因子抗体或其功能片段、可检测的标记物或报告分子、抗微生物剂、基因编辑剂、 β 激动剂、病毒RNA抑制剂、聚合酶抑制剂、干扰素和微小RNA。在一些实施方式中,额外的治疗剂在本公开的抗体或其抗原结合片段和/或药物组合物和/或嵌合抗原受体之前、之后或与其同时被施用于有此需要的受试者。

[0158] 在另一方面,本公开提供了一种在体内或体外活化表达CD3的T细胞的方法,其包括使表达CD3的T细胞与本公开的抗体或其抗原结合片段和/或药物组合物和/或嵌合抗原受体接触。

[0159] 在另一方面,本公开提供了一种调节表达CD3的细胞中CD3活性的方法,其包括将表达CD3的细胞暴露于本公开的抗体或其抗原结合片段和/或药物组合物和/或嵌合抗原受体。

[0160] 在另一方面,本公开提供了一种促进表达CD3的T细胞在体内或体外加工第二抗原的方法,其包括使表达CD3的T细胞与本公开的双特异性抗体或其抗原结合片段接触,其中双特异性抗体或其抗原结合片段能够特异性地结合至表达CD3的T细胞和第二抗原两者,从而使两者邻近。

[0161] 在另一方面,本公开提供了一种检测样本中CD3的存在或量的方法,其包括使样本与本公开的抗体或其抗原结合片段和/或药物组合物和/或嵌合抗原受体接触,并且确定样本中CD3的存在或量。

[0162] 在另一方面,本公开提供了一种在受试者中诊断CD3相关疾病或病状的方法,其包括:a)使从受试者获得的样本与本公开的抗体或其抗原结合片段和/或嵌合抗原受体和/或药物组合物接触;b)确定样本中CD3的存在或量;以及c)将受试者中CD3的存在或量与CD3相

关疾病或病状的存在或状态相关联。

[0163] 在另一方面,本公开提供了一种试剂盒,其包括本公开的抗体或其抗原结合片段和/或嵌合抗原受体和/或药物组合物,用于检测CD3,任选地重组CD3、在细胞表面上表达的CD3或表达CD3的细胞。

附图说明

[0164] 图1示出了几种选择的抗体对Jurkat-NFAT-Luc细胞的活化能力。

[0165] 图2示出了几种选择的嵌合抗体和基准抗体OKT3对Jurkat细胞的结合亲和力的FACS分析结果。

[0166] 图3示出了几种选择的嵌合抗体和基准抗体BMK-B219和BMK-TCB对Jurkat细胞的结合亲和力的FACS分析结果。

[0167] 图4示出了几种选择的嵌合抗体对293T-cynoCD3mix细胞的结合亲和力。

[0168] 图5示出了几种选择的嵌合抗体和基准抗体OKT3对Jurkat-NFAT-Luc细胞的活化能力。

[0169] 图6示出了在PBMC活化测定中由几种选择的嵌合抗体和基准抗体OKT3诱导的IL-2释放。

[0170] 图7示出了在PBMC活化测定中由几种选择的嵌合抗体和基准抗体OKT3诱导的IFN γ 释放。

[0171] 图8示出了在PBMC活化测定中由几种选择的嵌合抗体和基准抗体BMK-B219和BMK-TCB诱导的CD3+人T细胞的CD25表达。

[0172] 图9A和图9B示出了几种产生的人源化的或亲和力成熟的40-C12-C10-E9抗体对Jurkat细胞的结合亲和力。

[0173] 图10A-F示出了几种人源化的或亲和力成熟的40-C12-C10-E9抗体和基准抗体BMK-TCB对Jurkat-NFAT-Luc细胞的活化能力。

[0174] 图11示出了几种人源化的或亲和力成熟的40-C12-C10-E9抗体和基准抗体BMK-TCB在PBMC活化测定中的活化效果。

[0175] 图12示出了几种产生的人源化的147E11E2抗体与Jurkat细胞的结合亲和力。

[0176] 图13示出了几种产生的人源化的147E11E2抗体与293T-cynoCD3mix细胞的结合亲和力。

[0177] 图14A-C示出了几种人源化的147E11E2抗体和基准抗体BMK-TCB对Jurkat-NFAT-Luc细胞的活化能力。

[0178] 图15示出了几种人源化的147E11E2抗体和基准抗体BMK-TCB在PBMC活化测定中的活化效果。

[0179] 图16A和图16B示出了几种产生的人源化的或亲和力成熟的40-C12-C10-E9抗体与Jurkat细胞的结合亲和力。

[0180] 图17A-E示出了几种人源化的或亲和力成熟的40-C12-C10-E9抗体对Jurkat-NFAT-Luc细胞的活化能力。

[0181] 图18示出了几种人源化的或亲和力成熟的40-C12-C10-E9抗体和基准抗体BMK-TCB在PBMC活化测定中的活化效果。

具体实施方式

[0182] 本公开的以下描述仅旨在说明本公开的各个实施方式。如此,所讨论的具体修改不应被解释为对本公开的范围的限制。对于本领域技术人员将显而易见的是,在不脱离本公开的范围的情况下,可以做出各种等同物、改变和修改,并且应当理解,此类等同实施方式将被包括在本文中。在本文中引用的所有文献,包括公开出版物、专利和专利申请以全文引用的方式并入本文中。

[0183] 定义

[0184] 本文中使用的术语“抗体”包括与特定抗原结合的任何免疫球蛋白、单克隆抗体、多克隆抗体、多价抗体、二价抗体、单价抗体、多特异性抗体或双特异性抗体。天然的完整抗体包括两条重(H)链和两条轻(L)链。哺乳动物重链分为 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 和 μ ,每条重链包括可变区(VH)以及第一恒定区、第二恒定区、第三恒定区以及任选地第四恒定区(分别为CH1、CH2、CH3、CH4);哺乳动物轻链分为 λ 或 κ ,而每条轻链包括可变区(VL)以及恒定区。抗体呈“Y”型,其中Y型结构的茎部包括通过二硫键结合在一起的两条重链的第二恒定区和第三恒定区。Y的每个臂包括与单个轻链的可变区和恒定区结合的单条重链的可变区和第一恒定区。轻链和重链的可变区负责抗原结合。每条链的可变区通常含有三个高变区,称为互补决定区(CDR)(轻链CDR包括LCDR1、LCDR2、LCDR3,重链CDR包括HCDR1、HCDR2、HCDR3)。三个CDR由被称为框架区(FR)(轻链FR包括LFR1、LFR2、LFR3和LFR4,重链FR包括HFR1、HFR2、HFR3和HFR4)的侧翼段间隔开,所述框架区比CDR更加高度保守并形成支架以支撑高度可变环。重链和轻链的恒定区与抗原结合无关,但表现出多种效应功能。抗体基于其重链恒定区的氨基酸序列可以分成几类。抗体的五个主要类别或同种型是IgA、IgD、IgE、IgG和IgM,它们的特征分别在于存在 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 和 μ 重链。几个主要的抗体类别被分为亚类,如IgG1(γ 1重链)、IgG2(γ 2重链)、IgG3(γ 3重链)、IgG4(γ 4重链)、IgA1(α 1重链)或IgA2(α 2重链)。

[0185] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体涵盖其任何抗原结合片段。如本文所使用的,术语“抗原结合片段”是指由包括一个或多个(例如,1个、2个、3个、4个、5个或6个)CDR的抗体的一部分形成的抗体片段,或与抗原结合但不包括完整天然抗体结构的任何其它抗体片段。抗原结合片段的实例包括但不限于双功能抗体(diabody)、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fd、Fv片段、二硫键稳定的Fv片段(dsFv)、(dsFv)₂、双特异性dsFv(dsFv-dsFv')、二硫键稳定的双功能抗体(ds diabody)、单链抗体分子(scFv)、scFv二聚体(二价双功能抗体)、双特异性抗体、多特异性抗体、骆驼单结构域抗体、纳米抗体、结构域抗体或二价结构域抗体。抗原结合片段能够与亲本抗体结合相同的抗原或表位。

[0186] 抗体的“Fab”是指由单条轻链(包括可变区和恒定区)和单条重链的可变区和第一恒定区经二硫键结合起来组成的抗体的一部分。

[0187] “Fab'”是指包括铰链区的一部分的Fab片段。

[0188] “F(ab')₂”是指Fab'的二聚体。

[0189] 抗体(例如,IgG、IgA或IgD同种型)的“Fc”是指由第一重链的第二恒定结构域和第三恒定结构域通过二硫键与第二重链的第二恒定结构域和第三恒定结构域结合组成的抗体的一部分。IgM和IgE同种型抗体的Fc进一步包括第四恒定结构域。抗体的Fc部分负责多种不同的效应功能,如抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)和补体依赖性细胞毒性(CDC),但在抗原结合中不起作用。

[0190] 抗体的“Fv”是指含有完整抗原结合位点的最小抗体片段。Fv片段由单条轻链的可变区与单条重链的可变区结合组成。

[0191] “单链Fv抗体”或“scFv”是指由轻链可变区和重链可变区组成的工程化的抗体,所述轻链可变区和重链可变区直接相互连接或通过连接子(例如,肽序列)相互连接(Huston JS等人《美国国家科学院院刊(Proc Natl Acad Sci USA)》,85:5879(1988))。

[0192] “单链Fv-Fc抗体”或“scFv-Fc”是指由连接到抗体的Fc区的scFv组成的工程化抗体。

[0193] “骆驼化单结构域抗体”、“重链抗体”或“HCab”是指含有两个VH结构域而不含有轻链的抗体(Riechmann L.和Muyldermans S.,《免疫学方法杂志(J Immunol Methods)》12月10日;231(1-2):25-38(1999);Muyldermans S.,《生物技术杂志(J Biotechnol.)》6月;74(4):277-302(2001);W094/04678;W094/25591;美国专利第6,005,079号)。重链抗体最初源自骆驼科(Camelidae)(骆驼、单峰驼和美洲驼)。虽然缺失轻链,但是骆驼化抗体有确证的抗原结合全部功能(Hamers-Casterman C.等人,《自然(Nature)》6月3日;363(6428):446-8(1993);Nguyen VK.等人,《免疫遗传学(Immunogenetics)》4月;54(1):39-47(2002);Nguyen VK.等人,《免疫学(Immunology)》5月;109(1):93-101(2003))。重链抗体的可变区(VHH结构域)表示由适应性免疫应答产生的最小已知抗原结合单位(Koch-Nolte F.等人,《美国实验生物学会联合会杂志(FASEB J.)》11月;21(13):3490-8电子版2007年6月15日(2007))。

[0194] “纳米抗体”是指由来自重链抗体的VHH结构域以及两个恒定结构域CH2和CH3组成的抗体片段。

[0195] “双功能抗体”、“diabody”或“dAb”包括具有两个抗原结合位点的小抗体片段,其中所述片段包括在同一条多肽链上连接的VH结构域和VL结构域(VH-VL或VL-VH)(参见例如Holliger P.等人,《美国国家科学院院刊》7月15日;90(14):6444-8(1993);EP404097;W093/11161)。通过使用太短以至于不允许在同一条链上的两个结构域之间配对的连接子,结构域被迫与另一条链的互补结构域配对,从而产生两个抗原结合位点。所述抗原结合位点可以靶向相同或不同的抗原(或表位)。在某些实施方式中,“双特异性ds双功能抗体”是靶向两种不同抗原(或表位)的双功能抗体。

[0196] “结构域抗体”是指仅含有重链可变区或轻链可变区的抗体片段。在某些情况下,两个或更多个VH结构域由肽连接子共价接合以产生二价或多价结构域抗体。二价结构域抗体的两个VH结构域可以靶向相同或不同的抗原(或表位)。

[0197] 如本文所使用的,术语“价”是指给定分子中存在指定数量的抗原结合位点。术语“单价”是指仅具有一个抗原结合位点的抗体或抗原结合片段;并且术语“多价”是指具有多个抗原结合位点的抗体或抗原结合片段。如此,术语“二价”、“四价”和“六价”分别表示抗原结合分子中存在两个抗原结合位点、四个抗原结合位点和六个抗原结合位点。在一些实施方式中,所述抗体或其抗原结合片段是二价的。

[0198] 如本文所使用的,“双特异性”抗体是指具有源自两个不同的单克隆抗体的片段并且能够与两个不同的表位结合的人工抗体。所述两个表位可以存在于同一个抗原上,或者其可以存在于两个不同的抗原上。

[0199] 如本文所使用的,“多特异性”抗体是指与至少两个不同的抗原或相同抗原的至少

两个不同的表位特异性结合的抗体。多特异性抗体可以与,例如,两个、三个、四个、五个或更多不同的抗原结合,或者可以与相同抗原的两个、三个、四个、五个或更多不同的表位结合。

[0200] 在某些实施方式中,“scFv二聚体”是二价双功能抗体(diabody)或双特异性scFv(BsFv),其包括二聚化的两个VH-VL(由肽连接子连接)部分,使得一个部分的VH与另一个部分的VL协作形成两个结合位点,所述两个结合位点可以靶向相同抗原(或表位)或不同抗原(或表位)。在其它实施方式中,“scFv二聚体”是双特异性双功能抗体,所述双特异性双功能抗体包括相互缔合的VH1-VL2(由肽连接子连接)和VL1-VH2(也由肽连接子连接),使得VH1和VL1协作,VH2和VL2协作,并且每个协作的配对具有不同的抗原特异性。

[0201] “dsFv”是指二硫键稳定的Fv片段,其单条轻链的可变区与单条重链的可变区之间的连接是二硫键。在一些实施方式中,“(dsFv)₂”或“(dsFv-dsFv’)”包括三条肽链:两个VH部分通过肽连接子(例如,长的柔性连接子)连接,并通过二硫键分别与两个VL部分结合。在一些实施方式中,dsFv-dsFv’具有双特异性,其中每对通过二硫键配对的重链和轻链具有不同的抗原特异性。

[0202] 如本文所使用的,术语“嵌合”是指具有源自一种物种的重链和/或轻链的一部分并且所述重链和/或轻链的其余部分源自另一不同物种的抗体或抗原结合片段。在说明性实例中,嵌合抗体可以包括源自人的恒定区和源自非人动物(例如小鼠)的可变区。在一些实施方式中,所述非人动物是哺乳动物,例如小鼠、大鼠、兔、山羊、绵羊、豚鼠或仓鼠。

[0203] 如本文所使用的,术语“人源化”是指包括源自非人动物的CDR、源自人的FR区以及源自人的恒定区(当适用时)的抗体或抗原结合片段。本公开所提供的人源化抗体的CDR可以含有相较于其亲本抗体的CDR的突变。

[0204] 如本文所使用的,术语“亲和力”是指免疫球蛋白分子(即,抗体)或其抗原结合片段与抗原之间非共价相互作用的强度。

[0205] 与靶标(例如,表位)“特异性结合”(specifically binds/specific binding)的抗体或其抗原结合片段是本领域中所熟知的术语,并且用于确定这种特异性结合的方法也是本领域中所熟知的。如果分子与特定细胞或物质比其与替代性细胞或物质更频繁地、更快速地、持续时间更长地和/或亲和力更大地反应或缔合,则所述分子被称为展现出“特异性结合”。如果抗体比其与其它物质亲和力更大地、亲合性更高地、更容易地和/或持续时间更长地结合,则所述抗体与靶标“特异性地结合”。例如,与CD3表位特异性地结合的抗体是结合此CD3表位比结合其它CD3表位或非CD3表位亲和力更大地、亲合性更高地、更容易地和/或持续时间更长的抗体。通过阅读此定义还应理解,例如,与第一靶标特异性结合的抗体(或部分或表位)可以与第二靶标特异性结合或可以不与第二靶标特异性结合。如此,“特异性结合”(specific binding/specifically bind)不一定需要(尽管其可以包括)排他性的结合。通常,但不是必然地,提及结合是指特异性结合。

[0206] 如本文所用,“竞争结合CD3”的能力是指第一抗体或抗原结合片段将CD3和第二抗CD3抗体之间的结合相互作用抑制至任何可检测程度的能力。在某些实施方式中,竞争结合CD3的抗体或抗原结合片段抑制CD3和第二抗CD3抗体之间的结合相互作用至少85%,或至少90%。在某些实施方式中,所述抑制可以大于95%或大于99%。

[0207] 如本文所使用的,术语“表位”是指抗体所结合的抗原上特定的一组原子或氨基

酸。如果两种抗体展现出针对抗原的竞争性结合,那么其可能结合抗原内相同或紧密相关的表位。表位可以是线性的或空间构象的(即,包括间隔开的氨基酸残基)。例如,如果抗体或抗原结合片段阻挡了参考抗体与抗原的结合至少85%、或至少90%或至少95%,那么所述抗体或抗原结合部分可以被视为与参考抗体结合相同或紧密相关的表位。

[0208] 如本文所使用的,术语“氨基酸”是指含有氨基(-NH₂)和羧基(-COOH)官能团以及每个氨基酸特有的侧链的有机化合物。氨基酸名称在本公开中也以标准的单字母或三字母代码表示,总结如下:

[0209]	名称	三字母代码	单字母代码
	丙氨酸	Ala	A
	精氨酸	Arg	R
	天冬酰胺	Asn	N
	天冬氨酸	Asp	D
	半胱氨酸	Cys	C
	谷氨酸	Glu	E
	谷氨酰胺	Gln	Q
	甘氨酸	Gly	G
[0210]	组氨酸	His	H
	异亮氨酸	Ile	I
	亮氨酸	Leu	L
	赖氨酸	Lys	K
	甲硫氨酸	Met	M
	苯丙氨酸	Phe	F
	脯氨酸	Pro	P
	丝氨酸	Ser	S
	苏氨酸	Thr	T
	色氨酸	Trp	W
	酪氨酸	Tyr	Y
	缬氨酸	Val	V

[0211] 关于氨基酸序列的“保守取代”是指将氨基酸残基用不同的具有相似理化特性的侧链的氨基酸残基替代。例如,可以在具有疏水侧链的氨基酸残基(例如Met、Ala、Val、Leu和Ile)之间、具有中性亲水侧链的氨基酸残基(例如Cys、Ser、Thr、Asn和Gln)之间、具有酸性侧链的氨基酸残基(例如Asp、Glu)之间、具有碱性侧链的氨基酸残基(例如His、Lys和Arg)之间或具有芳香族侧链的氨基酸残基(例如Trp、Tyr和Phe)之间进行保守取代。如本领域中已知,保守取代通常不会引起蛋白质构象结构的显著变化,并且因此可以保留蛋白质的生物活性。

[0212] 如本文所使用的,术语“同源”是指在最佳比对时与另一个序列具有至少60%(例如,至少65%、70%、75%、80%、85%、88%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或者99%)的序列同一性的核酸序列(或其互补链)或氨基酸序列。

[0213] 关于氨基酸序列(或核酸序列)的“序列同一性百分比(%)”被定义为在比对序列,并且必要时引入空位以实现最大数量的相同氨基酸(或核酸)后,在候选序列中与参考序列中的氨基酸(或核酸)残基相同的氨基酸(或核酸)残基的百分比。换句话说,氨基酸序列(或核酸序列)的序列同一性百分比(%)可以通过将相对于其比较的参考序列相同的氨基酸残

基(或碱基)的数目除以候选序列或参考序列(以较短者为准)中氨基酸残基(或碱基)的总数来计算。氨基酸残基的保守取代可以视为或不视为相同残基。可以例如使用公开可用的工具,如BLASTN、BLASTp(可在美国国家生物技术信息中心(U.S.National Center for Biotechnology Information,NCBI)的网站上获得,还参见Altschul S.F.等人,《分子生物学杂志(J.Mol.Biol.)》,215:403-410(1990);Stephen F.等人,《核酸研究(Nucleic Acids Res.)》,25:3389-3402(1997))、ClustalW2(可在欧洲生物信息学研究所(European Bioinformatics Institute)的网站上获得,还参见Higgins D.G.等人,《酶学方法(Methods In Enzymology)》,266:383-402(1996);Larkin M.A.等人,《生物信息学(Bioinformatics)》(英国牛津),23(21):2947-8(2007)以及ALIGN或Megalign(DNASTAR)软件来实现比对以确定氨基酸(或核酸)序列同一性百分比。本领域技术人员可以使用由所述工具提供的默认参数或可以根据比对的需要适当定制参数,例如通过选择合适的算法。

[0214] 如本文所使用的,“效应功能”是指由抗体的Fc区与其效应子(例如,C1复合物和Fc受体)结合引起的生物活性。示例性的效应功能包括:由抗体和C1复合物上的C1q相互作用所介导的补体依赖性细胞毒性(CDC);由抗体的Fc区与效应细胞上的Fc受体结合所介导的抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC);以及吞噬作用。可以使用各种测定,如Fc受体结合测定、C1q结合测定和细胞裂解测定来评估效应功能。

[0215] 如本文所使用的,“抗体依赖性细胞介导的细胞毒性”或“ADCC”是指细胞介导的反应,其中表达Fc受体(FcR)的效应细胞识别靶细胞上的结合抗体或抗原结合片段并且随后引起靶细胞的裂解。“ADCC活性”或“ADCC效应”是指结合在靶细胞上的抗体或抗原结合片段以引发如上所述的ADCC反应的能力。

[0216] 如本文所使用的,“补体依赖性细胞毒性”或“CDC”是指一种机制,通过所述机制,抗体可以通过活化有机体的补体系统来介导特异性靶细胞裂解。在CDC中,C1q结合抗体并且这种结合触发补体级联,作为经典通路补体活化的结果,这会导致在靶细胞表面处形成膜攻击复合物(MAC)(C5b到C9)。“CDC活性”或“CDC效应”是指结合在靶细胞上的抗体或抗原结合片段以引发如上所述的CDC反应的能力。

[0217] 如本文所使用的,“靶细胞”是指包括Fc区的抗体特异性结合的细胞。“效应细胞”是表达一种或多种Fc受体并执行效应功能的白细胞。介导ADCC的人白细胞的实例包括外周血单核细胞(PBMC)、自然杀伤(NK)细胞、单核细胞、细胞毒性T细胞和嗜中性粒细胞;其中PBMC和NK细胞是优选的。效应细胞可以从其天然来源中分离,例如从本领域中已知的血液或PBMC中分离。

[0218] “分离的”物质已经经人工由自然状态改变。如果自然界中出现某种“分离的”组合物或物质,那么其已经被改变或脱离其原始环境,或二者均有发生。例如,某一活体动物体内天然存在的多核苷酸或多肽不是“分离的”,但如果所述多核苷酸或多肽与其在天然状态下共存的物质充分分离并以基本上纯的状态存在,则可以认为是“分离的”。“分离的核酸序列”是指分离的核酸分子的序列。在某些实施方式中,“分离的抗体或其抗原结合片段”是指纯度为至少60%、70%、75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的抗体或其抗原结合片段,如通过电泳方法(如SDS-PAGE、等电聚焦、毛细管电泳)或色谱方法(如离子交换色谱法或反相HPLC)确定的。

[0219] 如本文所使用的,术语“载体”是指可以将编码蛋白质的多核苷酸可操作地插入其中以便引起所述蛋白质的表达的媒介。载体可以用于转化、转导或转染宿主细胞,使其携带的遗传元件在宿主细胞内得以表达。载体的实例包括质粒、噬菌粒、粘粒、人工染色体如酵母人工染色体(YAC)、细菌人工染色体(BAC)或P1来源的人工染色体(PAC)、如 λ 噬菌体或M13噬菌体等噬菌体以及动物病毒。用作载体的动物病毒的类别包括逆转录病毒(包括慢病毒)、腺病毒、腺相关病毒、疱疹病毒(例如,单纯疱疹病毒)、痘病毒、杆状病毒、乳头瘤病毒和乳多空病毒(例如,SV40)。载体可以含有多种用于控制表达的元件,包括启动子序列、转录起始序列、增强子序列、可选择元件和报告基因。另外,载体还可以含有复制起点。载体还可以包括协助其进入细胞的材料,包括但不限于病毒颗粒、脂质体或蛋白质包衣。载体可以是表达载体或克隆载体。本公开提供了载体(例如,表达载体),所述载体含有本文所提供的编码抗体或其抗原结合片段的核酸序列、至少一个可操作地连接到所述核酸序列的启动子(例如,SV40、CMV、EF-1 α)以及至少一个选择标志物。载体的实例包括但不限于逆转录病毒(包括慢病毒)、腺病毒、腺相关病毒、疱疹病毒(例如,单纯疱疹病毒)、痘病毒、杆状病毒、乳头瘤病毒、乳多空病毒(例如,SV40)、 λ 噬菌体和M13噬菌体、质粒pcDNA3.3、pMD18-T、pOptivec、pCMV、pEGFP、pIRES、pQD-Hyg-Gseu、pALTER、pBAD、pcDNA、pCal、pL、pET、pGEMEX、pGEX、pCI、pEGFT、pSV2、pFUSE、pVITRO、pVIVO、pMAL、pMONO、pSELECT、pUNO、pDUO、Psg5L、pBABE、pWPXL、pBI、p15TV-L、pPro18、pTD、pRS10、pLexA、pACT2.2、pCMV-SCRIPT.RTM.、pCDM8、pCDNA1.1/amp、pcDNA3.1、pRc/RSV、PCR 2.1、pEF-1、pFB、pSG5、pXT1、pCDEF3、pSVSPORT、pEF-Bos等。

[0220] 如本文所使用的,短语“宿主细胞”是指其中可以或已经引入有外源多核苷酸和/或载体的细胞。

[0221] 术语“受试者”包括人和非人动物。非人动物包括所有脊椎动物,例如哺乳动物和非哺乳动物,如非人灵长类动物、小鼠、大鼠、猫、兔、绵羊、狗、牛、鸡、两栖动物和爬行动物。除在指出时之外,术语“患者”、“受试者”或“个体”在本文中可互换使用。

[0222] 术语“抗肿瘤活性”意指肿瘤细胞增殖、活力或转移活性的降低。例如,与未使用疗法的对照相比,可以通过在治疗期间出现的异常细胞的生长率的减少或肿瘤大小稳定性或减少或由于治疗引起的更长的存活率来表示抗肿瘤活性。可以使用公认的体外或体内肿瘤模型来评估此类活性,所述模型包括但不限于异种移植模型、同种异体移植模型、小鼠乳腺肿瘤病毒(MMTV)模型和本领域已知的其它已知模型来研究抗肿瘤活性。

[0223] 如本文所使用的,疾病、病症或病状的“治疗(treating/treatment)”包括预防或缓解疾病、病症或病状、减缓疾病、病症或病状的发作或发展速率、降低罹患疾病、病症或病状的风险、预防或延缓与疾病、病症或病状相关的症状的发展、减少或结束与疾病、病症或病状相关的症状、使疾病、病症或病状完全或部分消退、治愈疾病、病症或病状或其一些组合。

[0224] 术语“诊断(diagnosis/diagnose/diagnosing)”是指对病理状态、疾病或病状的鉴定,如对CD3相关疾病的鉴定,或者是指对可能受益于特定治疗方案的患有CD3相关疾病的受试者的鉴定。在一些实施方式中,诊断含有CD3的异常量或活性的鉴定。在一些实施方式中,诊断是指对受试者中癌症的鉴定。

[0225] 如本文所使用的,术语“生物样品”或“样品”是指从所关注的受试者获得或源自所

关注的受试者的生物组合物,所述生物组合物含有例如基于物理、生化、化学和/或生理特性待表征和/或鉴定的细胞和/或其它分子实体。生物样品包括但不限于通过本领域技术人员已知的任何方法获得的受试者的细胞、组织、器官和/或生物体液。在一些实施方式中,所述生物样品是体液样品。在一些实施方式中,所述体液样品是全血、血浆、血清、粘液(包括鼻腔引流物和痰)、腹膜液、胸膜液、胸液、唾液、尿液、滑液、脑脊液(CSF)、胸腔穿刺液、腹腔积液、腹水或心包液。在一些实施方式中,所述生物样品是从所述受试者的胃、心脏、肝脏、脾、肺、肾、皮肤或血管获得的组织或细胞。

[0226] 如本文所使用的,“CD3”是指分化簇3蛋白,并且包括CD3的通过细胞自然表达或通过用CD3基因转染的细胞表达的任何变体、构象、同种型和物种同系物。例如,本文所描述的CD3可以指源自任何脊椎动物来源的分化簇3蛋白,所述脊椎动物来源包括如灵长类动物(例如,人、猴)和啮齿动物(例如,小鼠和大鼠)等哺乳动物。在哺乳动物中,CD3分子是六条链的多蛋白复合物,包含:CD3 γ 链、CD3 δ 链、两条CD3 ϵ 链和CD3 ζ 链的同型二聚体,其中CD3 ζ 链是CD3分子的胞内尾,并且CD3 γ 、CD3 δ 和CD3 ϵ 链都含有在T细胞的表面上表达的胞外结构域(ECD)。人CD3的示例性序列包含人CD3 ϵ 蛋白(NCBI Ref Seq No.NP_000724)、人CD3 δ 蛋白(NCBI Ref Seq No.NP_000723)和人CD3 γ 蛋白(NCBI Ref Seq No.NP_000064)。非人CD3的示例性序列包含食蟹猴(猴)CD3 ϵ 蛋白(NCBI Ref Seq No.NP_001270544)、食蟹猴(Macaca fascicularis)(猴)CD3 δ 蛋白(NCBI Ref Seq No.NP_001274617)、食蟹猴(猴)CD3 γ 蛋白(NCBI Ref Seq No.NP_001270839);小家鼠(Mus musculus)(小鼠)CD3 ϵ 蛋白(NCBI Ref Seq No.NP_031674)、小家鼠(小鼠)CD3 δ 蛋白(NCBI Ref Seq No.NP_038515)、小家鼠(小鼠)CD3 γ 蛋白(NCBI Ref Seq No.AAA37400);褐家鼠(Rattus norvegicus)(大鼠)CD3 ϵ 蛋白(NCBI Ref Seq No.NP_001101610)、褐家鼠(大鼠)CD3 δ 蛋白(NCBI Ref Seq No.NP_037301)、褐家鼠(大鼠)CD3 γ 蛋白(NCBI Ref Seq No.NP_001071114)。在某些实施方式中,本文所使用的CD3还可以是重组CD3,例如,包括重组CD3 ϵ 蛋白、重组CD3 δ 蛋白和重组CD3 γ 蛋白,所述重组CD3可以任选地以重组CD3复合物的形式表达。重组CD3复合物可以在细胞表面上表达,或者也可以以与细胞表面不结合的可溶形式表达。在某些实施方式中,CD3是人CD3。术语“CD3”、“CD-3”、“CD 3”、“分化簇3”在本公开中可以互换使用。

[0227] 术语“抗CD3抗体”是指特异性地结合至CD3(例如,人CD3)的抗体。术语“抗人CD3抗体”是指特异性地结合至人CD3的抗体。在一些实施方式中,本文所提供的抗CD3抗体特异性地结合至CD3 γ 蛋白。在一些实施方式中,本文所提供的抗CD3抗体特异性地结合至CD3 δ 蛋白。在一些实施方式中,本文所提供的抗CD3抗体特异性地结合至CD3 ϵ 蛋白。

[0228] 如本文所用,术语“CD3 γ ”旨在涵盖任何形式的CD3 γ ,例如,1)天然未加工的CD3 γ 分子,“全长”CD3 γ 链或天然存在的CD3 γ 变体,包含例如剪接变体或等位基因变体;2)在细胞中由加工产生的任何形式的CD3 γ ;或3)通过重组方法产生的CD3 γ 亚基的全长、片段(例如,截短形式、胞外/跨膜结构域)或修饰形式(例如,突变形式、糖基化/聚乙二醇化、His标签/免疫荧光融合形式)。

[0229] 如本文所用,术语“CD3 δ ”旨在涵盖任何形式的CD3 δ ,例如,1)天然未加工的CD3 δ 分子,“全长”CD3 δ 链或天然存在的CD3 δ 变体,包含例如剪接变体或等位基因变体;2)在细胞中由加工产生的任何形式的CD3 δ ;或3)通过重组方法产生的CD3 δ 亚基的全长、片段(例如,截短形式、胞外/跨膜结构域)或修饰形式(例如,突变形式、糖基化/聚乙二醇化、His标签/免

疫荧光融合形式)。

[0230] 如本文所用,术语“CD3 ϵ ”旨在涵盖任何形式的CD3 ϵ ,例如,1)天然未加工的CD3 ϵ 分子,“全长”CD3 ϵ 链或天然存在的CD3 ϵ 变体,包含例如剪接变体或等位基因变体;2)在细胞中由加工产生的任何形式的CD3 ϵ ;或3)通过重组方法产生的CD3 ϵ 亚基的全长、片段(例如,截短形式、胞外/跨膜结构域)或修饰形式(例如,突变形式、糖基化/聚乙二醇化、His标签/免疫荧光融合形式)。

[0231] 在一些实施方式中,本文所提供的抗CD3抗体特异性地结合至CD3 ϵ ,但不结合至CD3 γ (或CD3 δ)或较差地结合至CD3 γ (或CD3 δ),例如,对CD3 ϵ 的结合亲和力比对CD3 γ (或CD3 δ)的结合亲和力低至少10倍,或比对CD3 γ (或CD3 δ)的结合亲和力低至少50倍,或低至少100倍,或低至少200倍。在一些实施方式中,本文所提供的抗CD3抗体对CD3 γ (或CD3 δ)不具有可检测的结合亲和力。在一些实施方式中,结合亲和力通过FACS测定来确定。在一些实施方式中,结合亲和力通过由FACS测定检测的平均荧光强度(MFI)来确定。

[0232] 如本文所使用的,“与CD3相关(CD3 related/CD3-related)”的疾病、病症或病状是指由CD3的表达或活性的增加或降低所引起、加剧或以其它方式连接的任何疾病、病症或病状。在一些实施方式中,与CD3相关的疾病、病症或病状是与过量细胞增殖相关的病症,例如癌症。在某些实施方式中,所述疾病、病症或病状的特征在于表达或过表达CD3或与CD3相关的基因。

[0233] 术语“药学上可接受的”表示指定的载体、媒剂、稀释剂、赋形剂和/或盐通常与构成制剂的其他成分在化学上和/或物理上相容,并与接受者在生理上相容。

[0234] 如本文所用,术语“表达CD3的细胞”是指在细胞的表面上表达CD3的细胞。

[0235] 抗CD3抗体

[0236] 本公开提供了抗CD3抗体及其抗原结合片段。本文所提供的抗CD3抗体和抗原结合片段能够结合(例如,特异性地结合)至CD3(例如,人CD3)。

[0237] 本文所提供的抗体或其抗原结合片段的结合亲和力可以由 K_D 值表示,其代表当抗原与抗原结合分子之间的结合达到平衡时解离速率与缔合速率的比率(k_{off}/k_{on})。可以使用本领域已知的合适方法(包括例如流式细胞术测定)适当地测定抗原结合亲和力(例如, K_D)。在一些实施方式中,可以通过流式细胞术测定抗体或其抗原结合片段与不同浓度的抗原的结合,所确定的平均荧光强度(MFI)可以首先对抗体浓度进行绘图,然后使用Prism版本5(加利福尼亚州圣地亚哥GraphPad软件(GraphPad Software, San Diego, CA)),可以通过将特异性结合荧光强度(Y)和抗体浓度(X)的依赖性拟合到一个位点饱和方程(site saturation equation)中来计算 K_D 值: $Y = B_{max} * X / (K_D + X)$,其中 B_{max} 是指被测抗体与抗原的最大特异性结合。

[0238] 本文所提供的抗体或其抗原结合片段与CD3的结合也可以用“半最大有效浓度”(EC₅₀)值表示,其是指抗体的观察到其最大结合的50%的浓度。EC₅₀值可以通过本领域已知的结合测定来测量,例如直接或间接结合测定,如酶联免疫吸附测定(ELISA)、FACS测定和其它结合测定。在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段能够与人CD3特异性结合(例如,如通过FACS测定测量的)。在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段能够与人和食蟹猴CD3两者部分特异性结合(例如,如通过FACS测定测量的)。

[0239] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段具有T细胞活化能力。在

某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段具有比OKT3更高的T细胞活化能力。OKT3是美国FDA于1986年批准的第一个对人CD3抗原具有特异性的单克隆抗体药物。OKT3在现有技术中被描述为有效的T细胞分裂原 (Van Wauve,《免疫学杂志》,124(1980),2708-18)以及有效的T细胞杀伤剂 (Wong等人,《移植 (Transplantation)》50(1990),683-9)。在某些实施方式中,与BMK-B219或BMK-TCB相比,本文所提供的抗体或其抗原结合片段具有更高的或至少相当的T细胞活化能力。BMK-B219是由Johnson&Johnson开发的抗CD3抗体,并且其信息可以在例如W02019224717A2中找到。BMK-TCB是由Roche开发的抗CD3抗体,并且其信息可以在例如W02019154890A1中找到。

[0240] 抗CD3抗体的T细胞活化能力可以通过本领域熟知的方法测量,例如,可以通过Jurkat NFAT-荧光素酶活化测定来测量。在某些实施方式中,T细胞活化能力通过本公开的实施例2.3、实施例3.2和实施例4.4中描述的方法来测量。

[0241] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段具有PBMC活化能力。在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段具有比OKT3、BMK-B219和/或BMK-TCB更高的PBMC活化能力。抗CD3抗体的PBMC活化能力可以通过本领域熟知的方法来确定,例如,可以通过ELISA测定来确定,例如,测量IL-2和/或IFN γ 释放水平,测量CD3⁺T细胞上的CD25表达。在某些实施方式中,PBMC活化能力通过如本公开的实例3.6中所述的方法来测量。

[0242] 示例性抗CD3抗体

[0243] 在某些实施方式中,本公开提供了特异性地结合至CD3的抗体或其抗原结合片段,其包括:

[0244] 一个或两个或三个重链互补决定区 (HCDR1、HCDR2和/或HCDR3),所述重链互补决定区被包含在选自以下组成的组的重链可变 (VH) 区序列中的任一者中:SEQ ID NO:7、15、23、31、39、47、55、63、71、79、87、95、108、116、124、132、140、148、156、163、164、165、166、186、187、188、189、190、191、192、193、194、195、196、213、202、203、204、205、206、233、234、235、236、237、238、239、240、241、242、243、244和245;和/或

[0245] 一个或两个或三个轻链互补决定区 (LCDR1、LCDR2和/或LCDR3),所述轻链互补决定区被包含在选自以下组成的组的轻链可变 (VL) 区序列中的任一者中:SEQ ID NO:8、16、24、32、40、48、56、64、72、80、88、96、109、117、125、133、141、149、157、168、169、170、197、198、199、200、207、208、209、230、231和232。

[0246] 本领域技术人员可以通过本领域已知的方法定义或确定VH区或VL区的CDR边界,只要所述VH区或VL区的氨基酸序列是已知的。例如,抗体或其抗原结合片段的CDR边界可以通过Kabat、IMGT、Chothia或Al-Lazikani规则来定义或确定 (Al-Lazikani, B., Chothia, C., Lesk, A.M.,《分子生物学杂志》,273(4),927(1997);Chothia, C.等人,《分子生物学杂志》12月5日;186(3):651-63(1985);Chothia, C.和Lesk, A.M.,《分子生物学杂志》,196,901(1987);Chothia, C.等人,《自然》12月21-28日;342(6252):877-83(1989);Kabat E.A.等人,《具有免疫学意义的蛋白质序列 (Sequences of Proteins of immunological Interest)》,第5版公共卫生署 (Public Health Service),国立卫生研究院 (National Institutes of Health),马里兰州贝塞斯达 (Bethesda, Md.) (1991);Marie-Paule Lefranc等人,《发育与比较免疫学 (Developmental and Comparative Immunology)》,27:

55-77 (2003); Marie-Paule Lefranc等人,《免疫组研究(Immunome Research)》,1 (3), (2005); Marie-Paule Lefranc,《B细胞的分子生物学(Molecular Biology of B cells)》(第二版),第26章,481-514, (2015))。在一些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段的CDR边界是根据Kabat规则确定的。在一些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段的CDR边界是根据IMGT规则确定的。在一些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段的CDR边界是根据Chothia规则确定的。在一些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段的CDR边界是根据Al-Lazikani规则确定的。

[0247] 在某些实施方式中,本公开提供了与CD3特异性地结合的抗体或其抗原结合片段,所述抗体或其抗原结合片段包括抗CD3抗体25-G12-G6-C12、40-C12-C10-E9、8-B12-F9-B11、31-F8-F5-C5、16-F2-C11-D9、20-E11-E11-C2、7-D9-G10-H2、7-D8-G12-E4、2-F12-A6-G2、3-C6-C11-F12、4-F12-F1-A4、3-F3-G12-E2、124E3D6、126A11A4、127E2D3、133B4C7、140D2B10、147C6F3或147E11E2中的一个或多个(例如,1个、2个、3个、4个、5个或6个)CDR序列。

[0248] 如本文所使用的,抗体“25-G12-G6-C12”是指小鼠单克隆抗体,其包括具有SEQ ID NO:7的序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:8的序列的轻链可变区。

[0249] 如本文所使用的,抗体“40-C12-C10-E9”是指小鼠单克隆抗体,其包括具有SEQ ID NO:15的序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:16的序列的轻链可变区。

[0250] 如本文所使用的,抗体“8-B12-F9-B11”是指小鼠单克隆抗体,其包括具有SEQ ID NO:23的序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:24的序列的轻链可变区。

[0251] 如本文所使用的,抗体“31-F8-F5-C5”是指小鼠单克隆抗体,其包括具有SEQ ID NO:31的序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:32的序列的轻链可变区。

[0252] 如本文所使用的,抗体“16-F2-C11-D9”是指小鼠单克隆抗体,其包括具有SEQ ID NO:39的序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:40的序列的轻链可变区。

[0253] 如本文所使用的,抗体“20-E11-E11-C2”是指小鼠单克隆抗体,其包括具有SEQ ID NO:47的序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:48的序列的轻链可变区。

[0254] 如本文所使用的,抗体“7-D9-G10-H2”是指小鼠单克隆抗体,其包括具有SEQ ID NO:55的序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:56的序列的轻链可变区。

[0255] 如本文所使用的,抗体“7-D8-G12-E4”是指小鼠单克隆抗体,其包括具有SEQ ID NO:63的序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:64的序列的轻链可变区。

[0256] 如本文所用,抗体“2-F12-A6-G2”是指小鼠单克隆抗体,其包括具有SEQ ID NO:71的序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:72的序列的轻链可变区。

[0257] 如本文所用,抗体“3-C6-C11-F12”是指小鼠单克隆抗体,其包括具有SEQ ID NO:79的序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:80的序列的轻链可变区。

[0258] 如本文所用,抗体“4-F12-F1-A4”是指小鼠单克隆抗体,其包括具有SEQ ID NO:87的序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:88的序列的轻链可变区。

[0259] 如本文所用,抗体“3-F3-G12-E2”是指小鼠单克隆抗体,其包括具有SEQ ID NO:95的序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:96的序列的轻链可变区。

[0260] 如本文所用,抗体“124E3D6”是指小鼠单克隆抗体,其包括具有SEQ ID NO:108的序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:109的序列的轻链可变区。

[0261] 如本文所用,抗体“126A11A4”是指小鼠单克隆抗体,其包括具有SEQ ID NO:116的序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:117的序列的轻链可变区。

[0262] 如本文所用,抗体“127E2D3”是指小鼠单克隆抗体,其包括具有SEQ ID NO:124的序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:125的序列的轻链可变区。

[0263] 如本文所用,抗体“133B4C7”是指小鼠单克隆抗体,其包括具有SEQ ID NO:132的序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:133的序列的轻链可变区。

[0264] 如本文所用,抗体“140D2B10”是指小鼠单克隆抗体,其包括具有SEQ ID NO:140的序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:141的序列的轻链可变区。

[0265] 如本文所用,抗体“147C6F3”是指小鼠单克隆抗体,其包括具有SEQ ID NO:148的序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:149的序列的轻链可变区。

[0266] 如本文所用,抗体“147E11E2”是指小鼠单克隆抗体,其包括具有SEQ ID NO:156的序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:157的序列的轻链可变区。

[0267] 下表3中示出了如上所述的每个示例性抗体的重链可变区和轻链可变区的具体氨基酸序列。

[0268] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:7所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:8所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3) 。

[0269] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:15所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:16所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3) 。

[0270] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:23所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:24所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3) 。

[0271] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:31所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:32所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3) 。

[0272] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:39所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:40所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3) 。

[0273] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:47所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:48所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3) 。

[0274] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:55所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:56所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3) 。

[0275] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:63所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:64所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3) 。

[0276] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID

N0:71所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO: 72所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0277] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:79所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO: 80所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0278] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:87所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO: 88所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0279] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:95所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO: 96所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0280] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:108所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO: 109所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0281] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:116所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO: 117所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0282] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:124所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO: 125所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0283] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:132所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO: 133所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0284] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:140所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO: 141所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0285] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:148所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO: 149所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0286] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:156所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO: 157所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0287] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:163所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO: 168所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0288] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:163所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO: 169所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0289] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID

N0:163所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:170所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0290] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:164所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:168所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0291] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:164所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:169所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0292] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:164所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:170所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0293] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:165所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:168所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0294] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:165所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:169所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0295] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:165所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:170所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0296] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:166所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:168所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0297] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:166所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:169所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0298] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:166所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:170所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0299] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:186所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:169所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0300] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:187所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:169所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0301] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:188所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:169所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0302] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID

N0:189所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:169所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0303] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:190所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:169所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0304] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:191所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:169所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0305] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:192所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:169所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0306] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:193所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:169所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0307] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:194所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:169所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0308] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:195所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:169所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0309] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:196所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:169所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0310] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:165所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:197所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0311] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:165所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:198所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0312] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:165所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:199所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0313] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:165所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:200所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0314] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:202所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:207所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0315] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID

N0:202所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:208所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0316] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:202所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:209所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0317] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:203所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:207所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0318] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:203所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:208所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0319] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:203所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:209所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0320] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:204所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:207所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0321] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:205所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:207所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0322] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:206所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:207所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0323] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:206所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:208所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0324] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:206所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:209所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0325] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:233所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:169所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0326] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:234所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:169所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0327] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:235所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:169所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0328] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID

N0:236所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:169所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0329] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:237所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:169所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0330] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:238所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:169所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0331] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:239所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:169所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0332] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:240所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:169所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0333] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:241所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:169所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0334] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:242所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:169所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0335] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:243所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:169所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0336] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:244所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:169所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0337] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:245所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:169所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0338] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:165所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:230所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0339] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:165所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:231所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0340] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:165所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:232所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0341] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID

N0:235所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:230所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0342] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:235所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:231所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0343] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:236所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:230所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0344] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括包含在如SEQ ID NO:236所示的VH区序列内的三个重链CDR (HCDR1、HCDR2和HCDR3) 以及包含在如SEQ ID NO:231所示的VL区序列内的三个轻链CDR (LCDR1、LCDR2和LCDR3)。

[0345] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括至少一个(例如,1个、2个或3个)重链CDR或轻链CDR,所述CDR包含选自以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、9、10、11、12、13、14、17、18、19、20、21、22、25、26、27、28、29、30、33、34、35、36、37、38、41、42、43、44、45、46、49、50、51、52、53、54、57、58、59、60、61、62、65、66、67、68、69、70、73、74、75、76、77、78、81、82、83、84、85、86、89、90、91、92、93、94、102、103、104、105、106、107、110、111、112、113、114、115、118、119、120、121、122、123、126、127、128、129、130、131、134、135、136、137、138、139、142、143、144、145、146、147、150、151、152、153、154、155、171、172、173、174、175、176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、201、162、167、210、211、212、214、215、216、217、218、219、220、221、222、223、224、225、226、227、228和229。

[0346] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括VH区,所述VH区包括HCDR1、HCDR2和HCDR3中的一个或两个或三个,所述HCDR1、HCDR2和HCDR3包含选自以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:1、2、3、9、10、11、17、18、19、25、26、27、33、34、35、41、42、43、49、50、51、57、58、59、65、66、67、73、74、75、81、82、83、89、90、91、102、103、104、110、111、112、118、119、120、126、127、128、134、135、136、142、143、144、150、151、152、171、172、173、174、175、176、177、178、179、180、181、201、162、210、211、212、217、218、219、220、221、222、223、224、225、226、227、228和229。

[0347] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括VL区,所述VL区包括LCDR1、LCDR2和LCDR3中的一个或两个或三个,所述LCDR1、LCDR2和LCDR3包含选自以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:4、5、6、12、13、14、20、21、22、28、29、30、36、37、38、44、45、46、52、53、54、60、61、62、68、69、70、76、77、78、84、85、86、92、93、94、105、106、107、113、114、115、121、122、123、129、130、131、137、138、139、145、146、147、153、154、155、182、183、184、185、167、214、215和216。

[0348] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括选自以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:1、9、17、25、33、41、49、57、65、73、81、89、102、110、118、126、134、142、150、217、218和219;所述HCDR2包括选自以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:2、10、18、26、34、42、50、58、66、74、82、90、103、111、119、127、135、143、151、171、172、173、201、210、211、212、220和222;所述HCDR3包括选自以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:3、11、19、27、35、43、51、59、67、75、83、91、104、112、

120、128、136、144、152、174、175、176、177、178、179、180、181、221、223、224、225、226、227、228、229和162。

[0349] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括选自以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:4、12、20、28、36、44、52、60、68、76、84、92、105、113、121、129、137、145和153;所述LCDR2包括选自以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:5、13、21、29、37、45、53、61、69、77、85、93、106、114、122、130、138、146和154;所述LCDR3包括选自以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:6、14、22、30、38、46、54、62、70、78、86、94、107、115、123、131、139、147、155、182、183、184、185、214、215、216和167。

[0350] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括:

[0351] (a) HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:3所示的氨基酸序列;

[0352] (b) HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列;

[0353] (c) HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:17所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:18所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:19所示的氨基酸序列;

[0354] (d) HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列;

[0355] (e) HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:33所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:34所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:35所示的氨基酸序列;

[0356] (f) HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:41所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:42所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:43所示的氨基酸序列;

[0357] (g) HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:49所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:51所示的氨基酸序列;

[0358] (h) HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:57所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:58所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:59所示的氨基酸序列;

[0359] (i) HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:66所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:67所示的氨基酸序列;

[0360] (j) HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:73所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:74所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:75所示的氨基酸序列;

基酸序列；

[0361] (k) HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:81所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:82所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:83所示的氨基酸序列；

[0362] (l) HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:89所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:90所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:91所示的氨基酸序列；

[0363] (m) HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:102所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:103所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:104所示的氨基酸序列；

[0364] (n) HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:110所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:111所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:112所示的氨基酸序列；

[0365] (o) HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:118所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:119所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:120所示的氨基酸序列；

[0366] (p) HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:126所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:127所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:128所示的氨基酸序列；

[0367] (q) HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:134所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:135所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:136所示的氨基酸序列；

[0368] (r) HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:142所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:143所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:144所示的氨基酸序列；

[0369] (s) HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:150所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:151所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:152所示的氨基酸序列；

[0370] (t) HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:219所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:201所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:162所示的氨基酸序列；

[0371] (u) HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9、217或218所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10、171、172、173、220或222所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:11、174、175、176、177、178、179、180、181、221、223、224、225、226、227、228或229所示的氨基酸序列；

[0372] (v) HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:150所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:212所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:152所示的氨基酸序列；

[0373] (w) HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:150所示的氨基酸序列,所

述HCDR2包括如SEQ ID NO:210所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:152所示的氨基酸序列;或者

[0374] (x)HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:150所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:211所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:152所示的氨基酸序列。

[0375] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括:

[0376] (a)LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:5所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:6所示的氨基酸序列;

[0377] (b)LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;

[0378] (c)LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:20所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:21所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:22所示的氨基酸序列;

[0379] (d)LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:28所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:29所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:30所示的氨基酸序列;

[0380] (e)LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:36所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:37所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列;

[0381] (f)LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:44所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:46所示的氨基酸序列;

[0382] (g)LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:52所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:53所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列;

[0383] (h)LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:62所示的氨基酸序列;

[0384] (i)LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:68所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:69所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:70所示的氨基酸序列;

[0385] (j)LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:76所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:77所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:78所示的氨基酸序列;

[0386] (k)LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:84所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:85所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:86所示的氨基酸序列;

[0387] (l) LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:92所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:93所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:94所示的氨基酸序列;

[0388] (m) LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:105所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:106所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:107所示的氨基酸序列;

[0389] (n) LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:113所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:114所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:115所示的氨基酸序列;

[0390] (o) LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:121所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:122所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:123所示的氨基酸序列;

[0391] (p) LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:129所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:130所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:131所示的氨基酸序列;

[0392] (q) LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:137所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:138所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:139所示的氨基酸序列;

[0393] (r) LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:145所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:146所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:147所示的氨基酸序列;

[0394] (s) LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:153所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:154所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:155所示的氨基酸序列;

[0395] (t) LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:167所示的氨基酸序列;或者

[0396] (u) LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14、182、183、184、185、214、215或216所示的氨基酸序列。

[0397] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括:

[0398] (a) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:1所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:2所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:3所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:5所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:6所示的氨基酸序列;

[0399] (b) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基

酸序列;

[0400] (c)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:17所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:18所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:19所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:20所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:21所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:22所示的氨基酸序列;

[0401] (d)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:25所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:26所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:28所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:29所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:30所示的氨基酸序列;

[0402] (e)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:33所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:34所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:35所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:36所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:37所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:38所示的氨基酸序列;

[0403] (f)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:41所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:42所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:43所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:44所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:46所示的氨基酸序列;

[0404] (g)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:49所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:50所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:51所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:52所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:53所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:54所示的氨基酸序列;

[0405] (h)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:57所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:58所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:59所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:60所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:61所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:62所示的氨基酸序列;

[0406] (i)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:66所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:67所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:68所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:69所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:70所示的氨基酸序列;

[0407] (j)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:73所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:74所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:75所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:76所示的氨基酸序列,所述

LCDR2包括如SEQ ID NO:77所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:78所示的氨基酸序列;

[0408] (k)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:81所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:82所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:83所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:84所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:85所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:86所示的氨基酸序列;

[0409] (l)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:89所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:90所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:91所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:92所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:93所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:94所示的氨基酸序列;

[0410] (m)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:102所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:103所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:104所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:105所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:106所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:107所示的氨基酸序列;

[0411] (n)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:110所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:111所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:112所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:113所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:114所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:115所示的氨基酸序列;

[0412] (o)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:118所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:119所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:120所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:121所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:122所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:123所示的氨基酸序列;

[0413] (p)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:126所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:127所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:128所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:129所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:130所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:131所示的氨基酸序列;

[0414] (q)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:134所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:135所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:136所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:137所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:138所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:139所示的氨基酸序列;

[0415] (r)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:142所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:143所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如

SEQ ID NO:144所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:145所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:146所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:147所示的氨基酸序列;

[0416] (s)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:150所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:151所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:152所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:153所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:154所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:155所示的氨基酸序列;

[0417] (t)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:171所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;

[0418] (u)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:172所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;

[0419] (v)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:173所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;

[0420] (w)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:174所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;

[0421] (x)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:175所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;

[0422] (y)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:176所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;

[0423] (z)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所

示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:177所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;

[0424] (aa)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID N0:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID N0:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID N0:178所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID N0:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID N0:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID N0:14所示的氨基酸序列;

[0425] (bb) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID N0:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID N0:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID N0:179所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID N0:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID N0:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID N0:14所示的氨基酸序列;

[0426] (cc)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:180所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;

[0427] (dd) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID N0:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID N0:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID N0:181所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID N0:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID N0:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID N0:14所示的氨基酸序列;

[0428] (ee) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:182所示的氨基酸序列;

[0429] (ff) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:183所示的氨基酸序列;

[0430] (gg)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID N0:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID N0:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID N0:11所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID N0:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID N0:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID N0:184所示的氨基酸序列;

[0431] (hh)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID N0:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID N0:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID N0:11所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID N0:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID N0:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID N0:185所示的氨基酸序列;

[0432] (ii)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:220所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;

[0433] (jj)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID N0:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID N0:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID N0:221所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID N0:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID N0:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID N0:14所示的氨基酸序列;

[0434] (kk)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID N0:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID N0:222所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID N0:180所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID N0:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID N0:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID N0:14所示的氨基酸序列;

[0435] (11)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:172所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:223所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;

[0436] (mm)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:171所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:224所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;

[0437] (nn)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:214所示的氨基酸序列;

[0438] (oo)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:215所示的氨

基酸序列;

[0439] (pp)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:216所示的氨基酸序列;

[0440] (qq)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:222所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:180所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:214所示的氨基酸序列;

[0441] (rr)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:222所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:180所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:215所示的氨基酸序列;

[0442] (ss)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:172所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:223所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:214所示的氨基酸序列;

[0443] (tt)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:172所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:223所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:215所示的氨基酸序列;

[0444] (uu)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:225所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;

[0445] (vv)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:226所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;

[0446] (ww)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:227所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述

LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;

[0447] (xx)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:228所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;

[0448] (yy)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:174所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;

[0449] (zz)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:229所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;

[0450] (aaa)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:217所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;

[0451] (bbb)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:218所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14所示的氨基酸序列;

[0452] (ccc)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:219所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:201所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:162所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:167所示的氨基酸序列;

[0453] (ddd)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:150所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:212所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:152所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:153所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:154所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:155所示的氨基酸序列;

[0454] (eee)HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:150所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:210所示的氨基酸序列,所述HCDR3包

括如SEQ ID NO:152所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:153所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:154所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:155所示的氨基酸序列;或者

[0455] (fff) HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:150所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:211所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:152所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:153所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:154所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:155所示的氨基酸序列。

[0456] 下表1中示出了上述19种单克隆抗体中的每种单克隆抗体的重链(表示为“H”)可变区、轻链(表示为“L”)可变区、HCDR和LCDR的SEQ ID NO。除非另有说明,否则如本文描述的CDR边界均由Kabat规则定义或确定。下表2中示出了19种示例性单克隆抗体的每个CDR的氨基酸序列。下表3中示出了19种示例性单克隆抗体的每个VH和VL的氨基酸序列。

[0457] 表1. 19种示例性单克隆抗体的VH、VL、HCDR和LCDR的SEQ ID NO

[0458]

抗体	链	可变区 (SEQ ID NO)	CDR1 (SEQ ID NO)	CDR2 (SEQ ID NO)	CDR3 (SEQ ID NO)
25-G12-G6-C12	H	7	1	2	3
	L	8	4	5	6
40-C12-C10-E9	H	15	9	10	11

[0459]

抗体	链	可变区 (SEQ ID NO)	CDR1 (SEQ ID NO)	CDR2 (SEQ ID NO)	CDR3 (SEQ ID NO)
8-B12-F9-B11	L	16	12	13	14
	H	23	17	18	19
	L	24	20	21	22
31-F8-F5-C5	H	31	25	26	27
	L	32	28	29	30
16-F2-C11-D9	H	39	33	34	35
	L	40	36	37	38
20-E11-E11-C2	H	47	41	42	43
	L	48	44	45	46
7-D9-G10-H2	H	55	49	50	51
	L	56	52	53	54
7-D8-G12-E4	H	63	57	58	59
	L	64	60	61	62
2-F12-A6-G2	H	71	65	66	67
	L	72	68	69	70
3-C6-C11-F12	H	79	73	74	75
	L	80	76	77	78
4-F12-F1-A4	H	87	81	82	83
	L	88	84	85	86
3-F3-G12-E2	H	95	89	90	91
	L	96	92	93	94
124E3D6	H	108	102	103	104
	L	109	105	106	107
126A11A4	H	116	110	111	112
	L	117	113	114	115
127E2D3	H	124	118	119	120
	L	125	121	122	123
133B4C7	H	132	126	127	128
	L	133	129	130	131
140D2B10	H	140	134	135	136
	L	141	137	138	139
147C6F3	H	148	142	143	144
	L	149	145	146	147
147E11E2	H	156	150	151	152
	L	157	153	154	155

[0460] 表2.19种示例性单克隆抗体的每个CDR的氨基酸序列

[0461]

描述	SEQ ID NO	氨基酸序列
HCDR1	1	SYVIY
	9	SYVIH
	17	DYGMH
	25	RYPIH

[0462]

描述	SEQ ID NO	氨基酸序列
	33	DFNIH
	41	DYYMN
	49	GYFMN
	57	SYPMs
	65	SYGVS
	73	TYGMH
	81	SYTMS
	89	DYYMN
	102	SYWMH
	110	SYWMH
	118	SYWMH
	126	SYWMH
	134	SYWMH
	142	SYWMH
	150	SYWMH
HCDR2	2	YINPYKDVTKYSEKFND
	10	YINPYNDVIKYNEKFKG
	18	YISSASGKIYYADTVKG
	26	YINPRNDYTKYTQRFKD
	34	YINPNDGGSTYNQKFKG
	42	DINPIHGGISSNQKFS
	50	RFNPYNGDTFYNQNFKG
	58	TISSGGGNTYYPDSVKG
	66	VIWGDGNTNYNSDLKT
	74	YISNGGSTIYYADSVKG
	82	TISSGGGNTFYADSVKG
	90	EINPNNGGTTYRQTFKG
	103	NINPSNGDTNYNEKFKS
	111	NINPSNGDTNYNEKFKS
	119	NIYPGSSSINYNEKFKS
	127	NINPSNGDTNFNEKFKS
	135	NINPSNGESNYNEKFKS
	143	NLNPSNGEINYNEKFKH
	151	NINPSNGATNYNEKFKS
HCDR3	3	AIYHDYDGFY
	11	DSYYSYDGFAY
	19	VLRWSVNYVMDY
	27	SINDYDGFAY
	35	PFLDS
	43	RIYYGYDWYFDV
	51	GDY
	59	GLYWYFDV
	67	VSYWYFDV
	75	PTWGGEFAY
	83	SLYYYDGTYYVRKDYAMDY
	91	SGY
	104	DRSSQYYFDY

[0463]

描述	SEQ ID NO	氨基酸序列
	112	DRSSQYYFDY
	120	DRSSQYYFDY
	128	DRSSQYYFDY
	136	DRSSQYYFDY
	144	DRSSQYYFDY
	152	DRSSQYYFDY
LCDR1	4	SASSSVTYIN
	12	SASSVSYMH
	20	ESSQSVLYSSNQKNYLA
	28	SASSVSYMN
	36	KASQDINSYLR
	44	SASSVTSRYFF
	52	KSSQSLLDSDGKTYLN
	60	RSSQSIAHSNGDTYPE
	68	RASENIYSYLA
	76	RSSQSIAHSNGDTYPE
	84	RASENIFSNLA
	92	RSSQSIVHSNGNTYLE
	105	KSSQSLLSRTRKNYLA
	113	KSSQSLLSRTRKNYLA
	121	KSSQSLLSRTRKNYLA
	129	KSSQSLLSRTRKNYLA
	137	KSSQSLLSRTRKNYLA
	145	KSSQSLLSRTRKNYLA
	153	KSSQSLLSRSRKNYLA
LCDR2	5	DTSKLAS
	13	DTSKLAS
	21	WASTRES
	29	DTSKLAS
	37	GASSLVD
	45	STSNLAS
	53	LVSKLDS
	61	KVSNRIS
	69	NAKTLPE
	77	KVSNRIS
	85	AATNLAE
	93	KVSNRFS
	106	WASTRES
	114	WASTRES
	122	WASTRES
	130	WASTRES
	138	WASTRES
	146	WASTRES
	154	WASTRES
LCDR3	6	QQWSRNPLT
	14	QQWSSNPPT
	22	HQYLSSWT

[0464]

描述	SEQ ID NO	氨基酸序列
	30	QQWSSNPLT
	38	LQYDEVPLT
	46	QQYSTSPST
	54	WQGTHFPFT
	62	FQGSHPVYT
	70	QHGYGTPPT
	78	FQGSHPVYT
	86	QQFWGTPWT
	94	FQGSHPVPT
	107	KQSYNLRT
	115	KQSFILRT
	123	TQSYNLRT
	131	KQSYTLRT
	139	KQSYTLRT
	147	KQSYILRT
	155	TQSYTLRT

[0465] 表3.19种示例性单克隆抗体的每个VH和VL的氨基酸序列

[0466]

抗体	VH (SEQ ID NO)	VL (SEQ ID NO)
25-G12-G6-C12	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSC KASGYKFTSYVIYWVKQKPGQG LEWIGYINPYKDVTKYSEKFNDK ATLTSDKSSSTAYMEISLTSEDSA VYYCARAIYHDYDGFYWGQG TLVIVSA (SEQ ID NO: 7)	QIVLTQSPAISASPGEKVTMT CSASSSVTYINWYQQMSGTSPK RWIYDTSKLASGVPARFSGSGS GTSYSLTISSLEAEDAATYYCQQ WSRNPLTFGAGTKLELK (SEQ ID NO: 8)
40-C12-C10-E9	EVQLQLSGPELVKPGASVKMSC KASGYTFSSYVIHWVKQKPGQG LEWIGYINPYNDVIKYNEKFKGK ATLTSDKSSSTAYMELSSLTSEDS AVYYCARDSSYSDGFAYWGQG TLVTVSA (SEQ ID NO: 15)	QIVLTQSPAISASPGEKVTMT CSASSSVSYMHWYQQKSGTSP KRWIYDTSKLASGVPARFSGSG SGTSYSLTISSMEAEDAATYYC QQWSSNPPTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 16)
8-B12-F9-B11	EVQLVESGGGIVKPGGSRKLSCA ASGFTFSDYGMHWVRQAPEKGL EWIAYISSASGKIYYADTVKGRFT ISRDNAKNILFLQMTSLRSEDTA MYYCARVLRWSVNYVMDYWG QGTSVTVSS (SEQ ID NO: 23)	DIVMTQSPSSLAVSAGEKVTMN CESSQSVLYSSNQKNYLAWYQ QKPGQSPKLLIYWASTRESGVP DRFTGTGSGTDFTLTISVQAED LAVYYCHQYLSSWTFGGGTKL EIK (SEQ ID NO: 24)

[0467]

抗体	VH (SEQ ID NO)	VL (SEQ ID NO)
31-F8-F5-C5	EVQLQQSGAELARPGASVRMSC KASGYTFTRYPIHWVKQRPGQG LEWIGYINPRNDYTKYTQRFKDK ATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDS AVYYCAKSINDYDGFAYWGQGT LTVSA (SEQ ID NO: 31)	DIVLSQSPTILSASPGEKVTMTC SASSSVSYMNWYQQRSGTSPK RWIYDTSKLASGVPARFSGSGS GTSYSLTISSMEAEDAATYYCQ QWSSNPLTFGAGTKLELK (SEQ ID NO: 32)
16-F2-C11-D9	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSC KASGYTFTDFNIHWVKQSLGKSL EWIGYINPNDGGSTYNQKFKGK ATLTINKSSSSAYMELRSLTSEDS AVYYCAIPFLDSWGQGTSTVTVSS (SEQ ID NO: 39)	TLMMTQSPSSMYASLGERVTIT CKASQDINSYLRWYQQKPGKS PKTLIYGASSLVDGVPSRFSGRG SGQDYSLTISSEYEDMGIYYCL QYDEVPLTFGAGTKLELK (SEQ ID NO: 40)
20-E11-E11-C2	EVQLQQSGPEVVKPGASVKISCK ASGYTFTDYMNWVKQSHGKN LEWIGDINPIHGGISSNQKFSKKA TLTVDKSSNTAYLELRSLTSEDSA IYYCARRIYYGYDWYFDVWGTG TTVTVSS (SEQ ID NO: 47)	DIVLSQSPAISASPGERVTMTC SASSSVTSRYFFWYQQKPGSSP KLWIYSTSNLASGVVPRFSGSG SGTSYSLTINNMAAEDAATYYC QQYSTSPSTFGAGTKLELK (SEQ ID NO: 48)
7-D9-G10-H2	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCK ASGYSFTGYFMNWVKQSHGKSL EWIGRFNPYNGDTFYNQNFKGK ATLTVDKSSSTAHELMELRSLTSEDS AVYYCARGDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 55)	DIQMTQSPLTSLVITIGQPASIS KSSQSLDSDGKTYLNWLLQR PGQSPKRLIYLVSKLDSGVDPDRF TSGSGTDFTLKISRVEAEDLG VYYCWQGTHFPFTFGSGTKLEI K (SEQ ID NO: 56)
7-D8-G12-E4	EVKLVESGGGLVKGPGSLKLSCA ASGFTFSSYPMSWVRQTPAKRLE WVATISSGGGNTYYPDSVKGRFT ISRDNARNLTLYLQMSSLRSEDTA MYYCARGLYWYFDVWGAGTTV TVSS (SEQ ID NO: 63)	DIVLTQSPLSLPVSLGDQASIS RSSQSIASNGDYLEWYLQNP GQSPKLLIYKVSNRISGVDPDRF GSGSGTDFTLKISRVEAEDLGV YYCFQGSHVPYTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 64)
2-F12-A6-G2	EVQLVESRPGLVAPSQSLITCTV SGFSLTSYGVSWVRQPPGKGLE WLGVIWGDGNTNYSNLSLSTLSI SKDNSKSQVFLKLDLQTDDETAT YYCAKVSYYWYFDVWGTGTTVT VSS (SEQ ID NO: 71)	DIQLTQPPASLSASVGETVTITC RASENIYSYLAWYQQKQKQKSP QLLVYNAKTLPEGVPSRFSGSG SGTQFSLKINSIQPEDFGTYTC QHGYGTPPTFGTGKLELK (SEQ ID NO: 72)
3-C6-C11-F12	EVHVESGGGLVQPGGSRKLSCA GSGFTFSTYGMHWVRQAPEKGL EWVAYISNGGSTIYYADSVKGRF TISRDNPNDTLFLHMTSLGSEDT AMYYCARPTWGGFAYWGQGT LTVSA (SEQ ID NO: 79)	DIVLTQSPLSLPVSLGDQASIS RSSQSIASNGDYLEWYLQNP GQSPKLLIYKVSNRISGVDPDRF GSGSGTDFTLKISRVEAEDLGV YYCFQGSHVPYTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 80)

[0468]

抗体	VH (SEQ ID NO)	VL (SEQ ID NO)
4-F12-F1-A4	EVKLVESGGGLVKGPGGSLKLSCA ASGFTFSSYTMSWIRQTPAKRLE WVATISSGGGNTFYADSVKGRFTI SRDNARNTLNLQMSSLRSEDTA MYYCARSLYYYDGTYYVRKDYY AMDYWGQGSSVTVSS (SEQ ID NO: 87)	DIQMTQSPASLSVSVGETVTISC RASENIFSNLAWYQQKQKGSPQ LLVYAATNLAEGVPSRFSGRS GTQFSLKINSLQSEDFGSYYCQ QFWGTPWTFGGGTKLEVK (SEQ ID NO: 88)
3-F3-G12-E2	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCK ASGNTFTDYMNWVKQSHGKS LEWIGEINPNNGGTTYRQTFKGK ATLTVDKSSSTAYMELRSLTSEDS AVYYCVLSGYWGQGTGLTVSS (SEQ ID NO: 95)	DIVMTQSPLSLPVSLGDQVAISC RSSQSIVHSNGNTYLEWYLQKP GQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRF SGSGSGTDFTLKISRVEAEDLG VYYCFQGSHPVPTFGGGTKLEL K (SEQ ID NO: 96)
124E3D6	QVQLQQPGTELKPGASVKLSC KASGYTFTSYWMHWVKQRPGQ GLEWIGNINPSNGDTNYNEKFKS KATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSED SAVYYCARDRSSQYYFDYWGQG TTLTVSS (SEQ ID NO: 108)	DIVMSQSPSSLAVSAGEKVTMS CKSSQSLLNSRTRKKNYLAWYQ QKPGQSPKLLIYWASTRESGVP DRFTGSGSGTDFTLTISVQAED LAVYYCKQSYNLRFTFGGGTKL EIK (SEQ ID NO: 109)
126A11A4	QVQLQQPGTELKPGASVKLSC KASGYTFTSYWMHWVKQRPEQ GLEWIGNINPSNGDTNYNEKFKS KATLTVDKASNTAYMQLSSLTSE DSAVYYCGRDRSSQYYFDYWGQ GTTTLTVSS (SEQ ID NO: 116)	DIVMSQSPSSLAVSAGEKVTMS CKSSQSLLNSRTRKKNYLAWYQ QKPGQSPKLLIYWASTRESGVP DRFTGSGSGTDFTLTISVQAED LAVYFCKQSFILRTFGGGTKLEI K (SEQ ID NO: 117)
127E2D3	QVQLQQPGTELKPGASVKLSC KASGYTFTSYWMHWVKQRPE GLEWIGNIYPGSSSINYNEKFKSK ATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDS AVYYCARDRSSQYYFDYWGQGT TLTVSS (SEQ ID NO: 124)	DIVMSQSPSSLAVSAGEKVTMS CKSSQSLLNSRTRKKNYLAWYQ QKPGQSPKLLIYWASTRESGVP DRFTGSGSGTDFTLTISVQAED LAVYYCTQSYNLRFTFGGGTKLE IK (SEQ ID NO: 125)
133B4C7	QVQLQQPGTELKPGASVKLSC KASGYTFTSYWMHWVKQRPGQ GLEWIGNINPSNGDTNFNEKFKS KATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSED SAVYYCARDRSSQYYFDYWGQG TTLTVSS (SEQ ID NO: 132)	DIVMSQSPSSLAVSAGEKVTMS CNSSQSLLNSRTRKKNYLAWYQ QKPGQSPKLLIYWASTRESGVP DRFTGSGSGTDFTLTISVQAED LAVYYCKQSYTLRTFGGGTKLE IK (SEQ ID NO: 133)

抗体	VH (SEQ ID NO)	VL (SEQ ID NO)
140D2B10	QVQLQQPGTELVKPGASVKLSC KASGYTFTSYWMHWVKQRPGQ GLEWIGNINPSNGESNYNEKFKS KATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSED YAVYYCARDRSSQYYFDYWGGG TTLTVSS (SEQ ID NO: 140)	DIVMSQSPSSLAVSAGEKVTMS CKSSQSLLNSRTRKKNYLAWYQ QKPGQSPKLLIYWASTRESGVP DRFTGSGSGTDFTLTISVQAED LAVYYCKQSYTLRTFGGGTKLE IK (SEQ ID NO: 141)
147C6F3	QVQLQQPGTELVKPGASVKLSC KASGYTFDSYWMHWVKQRPGQ GLEWIGNLNPSNGEINYNEKFKH KATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSED SAVYYCSRDRSSQYYFDYWGGG TTLTVSS (SEQ ID NO: 148)	DIVMSQSPSSLAVSAGEKVTLS CKSSQSLLNSRTRKKNYLAWYQ QKSGQSPKLLMYWASTRESGV PDRFTGSGSGTDFTLTITNVQAE DLAVYYCKQSYILRTFGGGTKL EIK (SEQ ID NO: 149)
147E11E2	QVQLQQPGTELVKPGTSVKLSCK ASGYTFTSYWMHWVKQRPGQG LEWIGNINPSNGATNYNEKFKSK ATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDS AVYYCARDRSSQYYFDYWGGGT TLTVSS (SEQ ID NO: 156)	DIVMSQSPSSLAVSAGEKVTMS CKSSQSLLNSRSRKNYLAWYQ QKPGQSPKLLIYWASTRESGVP DRFTGSGSGTDFTLTISVQAED LAVYYCTQSYTLRTFGGGTKLE IK (SEQ ID NO: 157)

[0470] 考虑到19种示例性单克隆抗体中的每种单克隆抗体都可以与CD3结合,并且抗原结合特异性主要是由CDR1区、CDR2区和CDR3区提供的,19种示例性单克隆抗体中的每种单克隆抗体的HCDR1序列、HCDR2序列和HCDR3序列以及LCDR1序列、LCDR2序列和LCDR3序列可以被“混合和匹配”(即,来自不同抗体的CDR可以被混合和匹配,但每种抗体必须包含HCDR1、HCDR2和HCDR3以及LCDR1、LCDR2和LCDR3)以产生本公开的抗CD3抗体或其抗原结合片段。可以使用上述和实施方式中的结合测定来测试此类“混合和匹配”的抗体与CD3的结合。优选地,当VH CDR序列被混合和匹配时,来自特定VH序列的HCDR1序列、HCDR2序列和/或HCDR3序列被结构上类似的CDR序列替换。同样,当VL CDR序列被混合和匹配时,来自特定VL序列的LCDR1序列、LCDR2序列和/或LCDR3序列优选地被结构上类似的CDR序列替换。例如,抗体25-G12-G6-C12和40-C12-C10-E9的HCDR1共享一些结构相似性,并且因此易于混合和匹配。对本领域技术人员显而易见的是,可以通过用来自19种示例性单克隆抗体的本文所公开的CDR序列的结构上类似的序列取代一个或多个VH和/或VL CDR序列来产生新颖的VH和VL序列。

[0471] 已知CDR负责抗原结合。然而,已经发现并非所有的6个CDR都是不可缺少或不可改变的。换言之,可以替换或改变或修饰19种示例性单克隆抗体中的每种单克隆抗体的一个或多个CDR,但基本上保留对CD3的特异性结合亲和力。

[0472] 在某些实施方式中,本文所提供的抗CD3抗体和抗原结合片段包括抗CD3抗体25-G12-G6-C12、40-C12-C10-E9、8-B12-F9-B11、31-F8-F5-C5、16-F2-C11-D9、20-E11-E11-C2、7-D9-G10-H2、7-D8-G12-E4、2-F12-A6-G2、3-C6-C11-F12、4-F12-F1-A4、3-F3-G12-E2、124E3D6、126A11A4、127E2D3、133B4C7、140D2B10、147C6F3和147E11E2中的一种的重链CDR3序列。在某些实施方式中,本文所提供的抗CD3抗体和抗原结合片段包括选自以下组成的组的重链CDR3序列:SEQ ID NO:3、11、19、27、35、43、51、59、67、75、83、91、104、112、120、128、136、144和152。重链CDR3区位于抗原结合位点的中心,并且因此被认为与抗原接触最紧密,

并为抗体提供对抗原的亲合力的最多自由量。还认为,通过多种多样化机制,重链CDR3是迄今为止抗原结合位点在长度、氨基酸组成和构象方面最多样化的CDR (Tonegawa S.《自然(Nature)》302:575-81)。重链CDR3的多样性足以产生大多数抗体特异性(Xu JL、Davis MM.《免疫力(Immunity.)》13:37-45)以及理想的抗原结合亲和力(Schier R等人,《分子生物学杂志(J Mol Biol.)》263:551-67)。

[0473] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括VH区,所述VH区具有如SEQ ID NO:7、15、23、31、39、47、55、63、71、79、87、95、108、116、124、132、140、148、156、163、164、165、166、186、187、188、189、190、191、192、193、194、195、196、213、202、203、204、205、206、233、234、235、236、237、238、239、240、241、242、243、244或245所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO:7、15、23、31、39、47、55、63、71、79、87、95、108、116、124、132、140、148、156、163、164、165、166、186、187、188、189、190、191、192、193、194、195、196、213、202、203、204、205、206、233、234、235、236、237、238、239、240、241、242、243、244或245具有至少80% (例如,至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%) 序列同一性的同源序列。

[0474] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括VL区,所述VL区具有如SEQ ID NO:8、16、24、32、40、48、56、64、72、80、88、96、109、117、125、133、141、149、157、168、169、170、197、198、199、200、207、208、209、230、231或232所示的氨基酸序列或与SEQ ID NO:8、16、24、32、40、48、56、64、72、80、88、96、109、117、125、133、141、149、157、168、169、170、197、198、199、200、207、208、209、230、231或232具有至少80% (例如,至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%) 序列同一性的同源序列。

[0475] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段包括VH/VL氨基酸序列对,所述氨基酸序列对选自以下组成的组:SEQ ID NO:7/8、15/16、23/24、31/32、39/40、47/48、55/56、63/64、71/72、79/80、87/88、95/96、108/109、116/117、124/125、132/133、140/141、148/149、156/157、163/168、163/169、163/170、164/168、164/169、164/170、165/168、165/169、165/170、166/168、166/169、166/170、186/169、187/169、188/169、189/169、190/169、191/169、192/169、193/169、194/169、195/169、196/169、165/197、165/198、165/199、165/200、202/207、202/208、202/209、203/207、203/208、203/209、204/207、205/207、206/207、206/208、206/209、233/169、234/169、235/169、236/169、237/169、238/169、239/169、240/169、241/169、242/169、243/169、244/169、245/169、165/230、165/231、165/232、235/230、235/231、236/230和236/231。

[0476] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体及其抗原结合片段包括合适的框架区(FR)序列,只要所述抗体及其抗原结合片段可以特异性地结合到CD3即可。上表2中提供的CDR序列是从小鼠抗体获得的,但所述CDR序列可以使用如重组技术等本领域已知的合适方法移植到如小鼠、人、大鼠、兔等任何合适物种的任何合适FR序列中。

[0477] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体及其抗原结合片段是人源化的。期望的人源化抗体或其抗原结合片段在人类中具有降低的免疫原性。人源化抗体在其可变区是嵌合的,因为非人CDR序列被移植到人或基本上是人的FR序列。抗体或抗原结合片段的人源化基本上可以通过用非人(如鼠)CDR基因取代人免疫球蛋白基因中的对应人CDR基因来进行(参

见例如, Jones等人(1986)《自然(Nature)》321:522-525; Riechmann等人(1988)《自然(Nature)》332:323-327; Verhoeyen等人(1988)《科学(Science)》239:1534-1536)。

[0478] 可以使用本领域已知的方法选择合适的人重链和轻链可变结构域以实现此目的。在说明性实例中, 可以使用“最佳拟合”方法, 其中针对已知人可变结构域序列的数据库筛选或BLAST非人(例如, 啮齿动物)抗体可变结构域序列, 鉴定出最接近非人查询序列的人序列, 并用作用于移植非人CDR序列的人框架(参见例如Sims等人, (1993)《免疫学杂志(J. Immunol.)》151:2296; Chothia等人(1987)《分子生物学杂志》196:901)。可替代地, 来源于所有人抗体的共有序列的框架可以用于移植非人CDR(参见例如Carter等人(1992)《美国国家科学院院刊(Proc. Natl. Acad. Sci. USA)》, 89:4285; Presta等人(1993)《免疫学杂志(J. Immunol.)》, 151:2623)。

[0479] 在一些实施方式中, 本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段是人源化的。在某些实施方式中, 除了非人的CDR序列之外, 本文所提供的人源化抗体或其抗原结合片段由基本上全人序列构成。在一些实施方式中, 可变区FR和恒定区(如果存在)完全或基本上来自人免疫球蛋白序列。人FR序列和人恒定区序列可以源自不同的人免疫球蛋白基因, 例如, FR序列源自一种人抗体并且恒定区源自另一种人抗体。在一些实施方式中, 人源化抗体或其抗原结合片段包括人重链HFR1、HFR2、HFR3和HFR4和/或轻链LFR1、LFR2、LFR3和LFR4。

[0480] 在一些实施方式中, 源自人的FR区可以包括与其所源自的人免疫球蛋白相同的氨基酸序列。在一些实施方式中, 人FR的一个或多个氨基酸残基被来自亲本非人抗体的对应残基取代。在某些可能是期望的实施方式中, 以使人源化抗体或其片段非常接近非人亲本抗体的结构, 从而优化其结合特性(例如, 增加结合亲和力)。在某些实施方式中, 本文所提供的人源化抗体或其抗原结合片段在多个人FR序列中的每个人FR序列中包括不超过10、9、8、7、6、5、4、3、2或1个氨基酸残基取代, 或者在重链可变结构域或轻链可变结构域的所有FR序列中包括不超过10、9、8、7、6、5、4、3、2或1个氨基酸残基取代。在一些实施方式中, 氨基酸残基的此类变化可以仅存在于重链FR区、仅存在于轻链FR区、或存在于两条链中。在某些实施方式中, 使人FR序列的一个或多个氨基酸随机突变以增加结合亲和力。在某些实施方式中, 使人FR序列的一个或多个氨基酸被回突变为亲本非人抗体的对应氨基酸以增加结合亲和力。

[0481] 在一些实施方式中, 选自在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人轻链FR序列的相对于SEQ ID NO:168的位置45、46、48和70(分别对应于根据Kabat编号的位置46、47、49和71, 或分别对应于根据IMGT编号的位置52、53、55和87)组成的组的位置处的一个、两个、三个或四个氨基酸被回突变为亲代小鼠抗体的相应氨基酸。

[0482] 例如, 在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人轻链FR序列的相对于SEQ ID NO:168的位置45(对应于根据Kabat编号的位置46, 或对应于根据IMGT编号的位置52)处的一个氨基酸被回突变为亲代小鼠抗体的相应氨基酸。在一个实施方式中, 在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人轻链FR序列的相对于SEQ ID NO:168的位置45(对应于根据Kabat编号的位置46, 或对应于根据IMGT编号的位置52)处的亮氨酸被回突变为亲代小鼠抗体的相应氨基酸。在另一实施方式中, 在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人轻链FR序列的相对于SEQ ID NO:168的位置45(对应于根据Kabat编号的位置46, 或对应于根据IMGT编号的位置52)处的亮氨酸被突变为精氨酸(即L45R)。

[0483] 对于另一实例,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人轻链FR序列的相对于SEQ ID NO:168的位置46(对应于根据Kabat编号的位置47,或对应于根据IMGT编号的位置53)处的一个氨基酸被回突变为亲代小鼠抗体的相应氨基酸。在一个实施方式中,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人轻链FR序列的相对于SEQ ID NO:168的位置46(对应于根据Kabat编号的位置47,或对应于根据IMGT编号的位置53)处的亮氨酸被回突变为亲代小鼠抗体的相应氨基酸。在另一实施方式中,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人轻链FR序列的相对于SEQ ID NO:168的位置46(对应于根据Kabat编号的位置47,或对应于根据IMGT编号的位置53)处的亮氨酸被突变为色氨酸(即L46W)。

[0484] 对于又一实例,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人轻链FR序列的相对于SEQ ID NO:168的位置48(对应于根据Kabat编号的位置49,或根据IMGT编号的位置55)处的一个氨基酸被回突变为亲代小鼠抗体的相应氨基酸。在一个实施方式中,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人轻链FR序列的相对于SEQ ID NO:168的位置48(对应于根据Kabat编号的位置49,或根据IMGT编号的位置55)处的赖氨酸被回突变为亲代小鼠抗体的相应氨基酸。在另一实施方式中,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人轻链FR序列的相对于SEQ ID NO:168的位置48(对应于根据Kabat编号的位置49,或根据IMGT编号的位置55)处的赖氨酸被突变为酪氨酸(即,K48Y)。

[0485] 对于又一实例,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人轻链FR序列的相对于SEQ ID NO:168的位置70(对应于根据Kabat编号的位置71,或根据IMGT编号的位置87)处的一个氨基酸被回突变为亲代小鼠抗体的相应氨基酸。在一个实施方式中,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人轻链FR序列的相对于SEQ ID NO:168的位置70(对应于根据Kabat编号的位置71,或根据IMGT编号的位置87)处的苯丙氨酸被回突变为亲代小鼠抗体的相应氨基酸。在另一实施方式中,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人轻链FR序列的相对于SEQ ID NO:168的位置70(对应于根据Kabat编号的位置71,或根据IMGT编号的位置87)处的苯丙氨酸被突变为酪氨酸(即F70Y)。

[0486] 对于又一实例,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人轻链FR序列的相对于SEQ ID NO:168的位置45(对应于根据Kabat编号的位置46,或根据IMGT编号的位置52)处的一个氨基酸和在相对于SEQ ID NO:168的位置48(对应于根据Kabat编号的位置49,或根据IMGT编号的位置55)处的一个氨基酸被回突变为亲代小鼠抗体的相应氨基酸。在一个实施方式中,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人轻链FR序列的相对于SEQ ID NO:168的位置45(对应于根据Kabat编号的位置46,或根据IMGT编号的位置52)处的亮氨酸和在相对于SEQ ID NO:168的位置48(对应于根据Kabat编号的位置49,或根据IMGT编号的位置55)处的赖氨酸被回突变为亲代小鼠抗体的相应氨基酸。在另一实施方式中,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人轻链FR序列的相对于SEQ ID NO:168的位置45(对应于根据Kabat编号的位置46,或根据IMGT编号的位置52)处的亮氨酸和相对于SEQ ID NO:168的位置48(对应于根据Kabat编号的位置49,或根据IMGT编号的位置55)处的赖氨酸分别被回突变为精氨酸和酪氨酸(即L45R+K48Y)。

[0487] 对于又一实例,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人轻链FR序列的相对于SEQ ID NO:168的位置45、46、48和70(分别对应于根据Kabat编号的位置46、

47、49和71,或分别对应于根据IMGT编号的位置52、53、55和87)处的每个氨基酸被回突变为亲代小鼠抗体的相应氨基酸。在一个实施方式中,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人轻链FR序列的分别相对于SEQ ID NO:168的位置45、46、48和70(分别对应于根据Kabat编号的位置46、47、49和71,或分别对应于根据IMGT编号的位置52、53、55和87)处的亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸和苯丙氨酸被回突变为亲代小鼠抗体的相应氨基酸。在另一实施方式中,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人轻链FR序列的分别相对于SEQ ID NO:168的位置45、46、48和70(分别对应于根据Kabat编号的位置46、47、49和71,或分别对应于根据IMGT编号的位置52、53、55和87)处的亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸和苯丙氨酸分别被突变为精氨酸、色氨酸、酪氨酸和酪氨酸(即L45R+L46W+K48Y+F70Y)。

[0488] 在一些实施方式中,选自在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人重链FR序列的相对于SEQ ID NO:163的位置27、48、68、70和72(分别对应于根据Kabat编号的位置27、48、67、69和71,或分别对应于根据IMGT编号的位置28、53、76、78和80)组成的组的位置处的一个、两个、三个、四个或五个氨基酸被回突变为亲代小鼠抗体的相应氨基酸。

[0489] 例如,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人重链FR序列的相对于SEQ ID NO:163的位置27(对应于根据Kabat编号的位置27,或对应于根据IMGT编号的位置28)处的一个氨基酸被回突变为亲代小鼠抗体的相应氨基酸。在一个实施方式中,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人重链FR序列的相对于SEQ ID NO:163的位置27(对应于根据Kabat编号的位置27,或对应于根据IMGT编号的位置28)处的甘氨酸被回突变为亲代小鼠抗体的相应氨基酸。在另一实施方式中,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人重链FR序列的相对于SEQ ID NO:163的位置27(对应于根据Kabat编号的位置27,或对应于根据IMGT编号的位置28)处的甘氨酸被回突变为酪氨酸(即G27Y)。

[0490] 对于另一实例,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人重链FR序列的相对于SEQ ID NO:163的位置48(对应于根据Kabat编号的位置48,或对应于根据IMGT编号的位置53)处的一个氨基酸被回突变为亲代小鼠抗体的相应氨基酸。在一个实施方式中,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人重链FR序列的相对于SEQ ID NO:163的位置48(对应于根据Kabat编号的位置48,或对应于根据IMGT编号的位置53)处的甲硫氨酸被回突变为亲代小鼠抗体的相应氨基酸。在另一实施方式中,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人重链FR序列的相对于SEQ ID NO:163的位置48(对应于根据Kabat编号的位置48,或对应于根据IMGT编号的位置53)处的甲硫氨酸被回突变为异亮氨酸(即M48I)。

[0491] 对于另一实例,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人重链FR序列的相对于SEQ ID NO:163的位置68(对应于根据Kabat编号的位置67,或对应于根据IMGT编号的位置76)处的一个氨基酸被回突变为亲代小鼠抗体的相应氨基酸。在一个实施方式中,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人重链FR序列的相对于SEQ ID NO:163的位置68(对应于根据Kabat编号的位置67,或对应于根据IMGT编号的位置76)处的缬氨酸被回突变为亲代小鼠抗体的相应氨基酸。在另一实施方式中,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人重链FR序列的相对于SEQ ID NO:163的位置68(对应于根据Kabat编号的位置67,或对应于根据IMGT编号的位置76)处的缬氨酸被回突变为丙氨酸(即V68A)。

[0492] 对于另一实例,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人重链FR序列的相对于SEQ ID NO:163的位置70(对应于根据Kabat编号的位置69,或对应于根据IMGT编号的位置78)处的一个氨基酸被回突变为亲代小鼠抗体的相应氨基酸。在一个实施方式中,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人重链FR序列的相对于SEQ ID NO:163的位置70(对应于根据Kabat编号的位置69,或对应于根据IMGT编号的位置78)处的异亮氨酸被回突变为亲代小鼠抗体的相应氨基酸。在另一实施方式中,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人重链FR序列的相对于SEQ ID NO:163的位置70(对应于根据Kabat编号的位置69,或对应于根据IMGT编号的位置78)处的异亮氨酸被回突变为亮氨酸(即I70L)。

[0493] 对于另一实例,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人重链FR序列的相对于SEQ ID NO:163的位置72(对应于根据Kabat编号的位置71,或对应于根据IMGT编号的位置80)处的一个氨基酸被回突变为亲代小鼠抗体的相应氨基酸。在一个实施方式中,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人重链FR序列的相对于SEQ ID NO:163的位置72(对应于根据Kabat编号的位置71,或对应于根据IMGT编号的位置80)处的丙氨酸被回突变为亲代小鼠抗体的相应氨基酸。在另一实施方式中,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人重链FR序列的相对于SEQ ID NO:163的位置72(对应于根据Kabat编号的位置71,或对应于根据IMGT编号的位置80)处的丙氨酸被回突变为丝氨酸(即,A72S)。

[0494] 对于又一实例,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人重链FR序列的相对于SEQ ID NO:163的位置27、70和72(分别对应于根据Kabat编号的位置27、69和71,或分别对应于根据IMGT编号的位置28、78和80)处的每个氨基酸被回突变为亲代小鼠抗体的相应氨基酸。在一个实施方式中,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人重链FR序列的分别相对于SEQ ID NO:163的位置27、70和72(分别对应于根据Kabat编号的位置27、69和71,或分别对应于根据IMGT编号的位置28、78和80)处的甘氨酸、异亮氨酸和丙氨酸分别被突变为酪氨酸、亮氨酸和丝氨酸(即G27Y+I70L+A72S)。

[0495] 对于又一实例,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人重链FR序列的相对于SEQ ID NO:163的位置27、48、68、70和72(分别对应于根据Kabat编号的位置27、48、67、69和71,或分别对应于根据IMGT编号的位置28、53、76、78和80)处的每个氨基酸被回突变为亲代小鼠抗体的相应氨基酸。在一个实施方式中,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人重链FR序列的分别相对于SEQ ID NO:163的位置27、48、68、70和72(分别对应于根据Kabat编号的位置27、48、67、69和71,或分别对应于根据IMGT编号的位置28、53、76、78和80)处的甘氨酸、甲硫氨酸、缬氨酸、异亮氨酸和丙氨酸分别被突变为酪氨酸、异亮氨酸、丙氨酸、亮氨酸和丝氨酸(即G27Y+M48I+V68A+I70L+A72S)。

[0496] 在一些实施方式中,选自在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人重链FR序列的相对于SEQ ID NO:213的位置27、30、48、68、70和72(分别对应于根据Kabat编号的位置27、30、48、67、69和71,或分别对应于根据IMGT编号的位置28、35、53、76、78和80)组成的组的位置处的一个、两个、三个、四个、五个或六个氨基酸被回突变为亲代小鼠抗体的相应氨基酸。

[0497] 例如,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人重链FR序列的相

对于SEQ ID NO:213的位置27(对应于根据Kabat编号的位置27,或对应于根据IMGT编号的位置28)处的一个氨基酸被回突变为亲代小鼠抗体的相应氨基酸。在一个实施方式中,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人重链FR序列的相对于SEQ ID NO:213的位置27(对应于根据Kabat编号的位置27,或对应于根据IMGT编号的位置28)处的甘氨酸被回突变为亲代小鼠抗体的相应氨基酸。在另一实施方式中,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人重链FR序列的相对于SEQ ID NO:213的位置27(对应于根据Kabat编号的位置27,或对应于根据IMGT编号的位置28)处的甘氨酸被回突变为酪氨酸(即G27Y)。

[0498] 对于另一实例,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人重链FR序列的相对于SEQ ID NO:213的位置30(对应于根据Kabat编号的位置30,或对应于根据IMGT编号的位置35)处的一个氨基酸被回突变为亲代小鼠抗体的相应氨基酸。在一个实施方式中,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人重链FR序列的相对于SEQ ID NO:213的位置30(对应于根据Kabat编号的位置30,或对应于根据IMGT编号的位置35)处的丝氨酸被回突变为亲代小鼠抗体的相应氨基酸。在另一实施方式中,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人重链FR序列的相对于SEQ ID NO:213的位置30(对应于根据Kabat编号的位置30,或对应于根据IMGT编号的位置35)处的丝氨酸被回突变为苏氨酸(即S30T)。

[0499] 对于另一实例,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人重链FR序列的相对于SEQ ID NO:213的位置48(对应于根据Kabat编号的位置48,或对应于根据IMGT编号的位置53)处的一个氨基酸被回突变为亲代小鼠抗体的相应氨基酸。在一个实施方式中,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人重链FR序列的相对于SEQ ID NO:213的位置48(对应于根据Kabat编号的位置48,或对应于根据IMGT编号的位置53)处的甲硫氨酸被回突变为亲代小鼠抗体的相应氨基酸。在另一实施方式中,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人重链FR序列的相对于SEQ ID NO:213的位置48(对应于根据Kabat编号的位置48,或对应于根据IMGT编号的位置53)处的甲硫氨酸被回突变为异亮氨酸(即M48I)。

[0500] 对于另一实例,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人重链FR序列的相对于SEQ ID NO:213的位置68(对应于根据Kabat编号的位置67,或对应于根据IMGT编号的位置76)处的一个氨基酸被回突变为亲代小鼠抗体的相应氨基酸。在一个实施方式中,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人重链FR序列的相对于SEQ ID NO:213的位置68(对应于根据Kabat编号的位置67,或对应于根据IMGT编号的位置76)处的缬氨酸被回突变为亲代小鼠抗体的相应氨基酸。在另一实施方式中,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人重链FR序列的相对于SEQ ID NO:213的位置68(对应于根据Kabat编号的位置67,或对应于根据IMGT编号的位置76)处的缬氨酸被回突变为丙氨酸(即V68A)。

[0501] 对于另一实例,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人重链FR序列的相对于SEQ ID NO:213的位置70(对应于根据Kabat编号的位置69,或对应于根据IMGT编号的位置78)处的一个氨基酸被回突变为亲代小鼠抗体的相应氨基酸。在一个实施方式中,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人重链FR序列的相对于SEQ ID NO:213的位置70(对应于根据Kabat编号的位置69,或对应于根据IMGT编号的位置78)处的异亮氨酸被回突变为亲代小鼠抗体的相应氨基酸。在另一实施方式中,在本文所提供的

人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人重链FR序列的相对于SEQ ID NO:213的位置70(对应于根据Kabat编号的位置69,或对应于根据IMGT编号的位置78)处的异亮氨酸被回突变为亮氨酸(即I70L)。

[0502] 对于另一实例,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人重链FR序列的相对于SEQ ID NO:213的位置72(对应于根据Kabat编号的位置71,或对应于根据IMGT编号的位置80)处的一个氨基酸被回突变为亲代小鼠抗体的相应氨基酸。在一个实施方式中,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人重链FR序列的相对于SEQ ID NO:213的位置72(对应于根据Kabat编号的位置71,或对应于根据IMGT编号的位置80)处的丙氨酸被回突变为亲代小鼠抗体的相应氨基酸。在另一实施方式中,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人重链FR序列的相对于SEQ ID NO:213的位置72(对应于根据Kabat编号的位置71,或对应于根据IMGT编号的位置80)处的丙氨酸被回突变为缬氨酸(即,A72V)。

[0503] 对于又一实例,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人重链FR序列的相对于SEQ ID NO:213的位置27和30(分别对应于根据Kabat编号的位置27和30,或分别对应于根据IMGT编号的位置28和35)处的每个氨基酸被回突变为亲代小鼠抗体的相应氨基酸。在一个实施方式中,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人重链FR序列的分别相对于SEQ ID NO:213的位置27和30(分别对应于根据Kabat编号的位置27和30,或分别对应于根据IMGT编号的位置28和35)处的甘氨酸和丝氨酸被回突变为亲代小鼠抗体的相应氨基酸。在另一实施方式中,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人重链FR序列的分别相对于SEQ ID NO:213的位置27和30(分别对应于根据Kabat编号的位置27和30,或分别对应于根据IMGT编号的位置28和35)处的甘氨酸和丝氨酸分别被突变为酪氨酸和苏氨酸(即G27Y+S30T)。

[0504] 对于又一实例,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人重链FR序列的相对于SEQ ID NO:213的位置27、30、70和72(分别对应于根据Kabat编号的位置27、30、69和71,或分别对应于根据IMGT编号的位置28、35、78和80)处的每个氨基酸被回突变为亲代小鼠抗体的相应氨基酸。在一个实施方式中,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人重链FR序列的分别相对于SEQ ID NO:213的位置27、30、70和72(分别对应于根据Kabat编号的位置27、30、69和71,或分别对应于根据IMGT编号的位置28、35、78和80)处的甘氨酸、丝氨酸、异亮氨酸和丙氨酸被回突变为亲代小鼠抗体的相应氨基酸。在另一实施方式中,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人重链FR序列的分别相对于SEQ ID NO:213的位置27、30、70和72(分别对应于根据Kabat编号的位置27、30、69和71,或分别对应于根据IMGT编号的位置28、35、78和80)处的甘氨酸、丝氨酸、异亮氨酸和丙氨酸分别被突变为酪氨酸、苏氨酸、亮氨酸和缬氨酸(即G27Y+S30T+I70L+A72V)。

[0505] 对于又一实例,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人重链FR序列的相对于SEQ ID NO:213的位置27、30、48、68、70和72(分别对应于根据Kabat编号的位置27、30、48、67、69和71,或分别对应于根据IMGT编号的位置28、35、53、76、78和80)处的每个氨基酸被回突变为亲代小鼠抗体的相应氨基酸。在一个实施方式中,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人重链FR序列的相对于SEQ ID NO:213的位置27、30、48、68、70和72(分别对应于根据Kabat编号的位置27、30、48、67、69和71,或分别对应于根据

IMGT编号的位置28、35、53、76、78和80)处的甘氨酸、丝氨酸、甲硫氨酸、缬氨酸、异亮氨酸和丙氨酸被回突变为亲代小鼠抗体的相应氨基酸。在另一实施方式中,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人重链FR序列的相对于SEQ ID NO:213的位置27、30、48、68、70和72(分别对应于根据Kabat编号的位置27、30、48、67、69和71,或分别对应于根据IMGT编号的位置28、35、53、76、78和80)处的甘氨酸、丝氨酸、甲硫氨酸、缬氨酸、异亮氨酸和丙氨酸分别被突变为酪氨酸、苏氨酸、异亮氨酸、丙氨酸、亮氨酸和缬氨酸(即G27Y+S30T+M48I+V68A+I70L+A72V)。

[0506] 在一些实施方式中,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人轻链FR序列的相对于SEQ ID NO:207的位置49(对应于根据Kabat编号的位置43,或对应于根据IMGT编号的位置49)处的一个氨基酸被回突变为亲代小鼠抗体的相应氨基酸。在一个实施方式中,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人轻链FR序列的相对于SEQ ID NO:207的位置49(对应于根据Kabat编号的位置43,或对应于根据IMGT编号的位置49)处的脯氨酸被回突变为亲代小鼠抗体的相应氨基酸。在另一实施方式中,在本文所提供的人源化抗CD3抗体或其抗原结合片段的人轻链FR序列的相对于SEQ ID NO:207的位置49(对应于根据Kabat编号的位置43,或对应于根据IMGT编号的位置49)处的脯氨酸被回突变为丝氨酸(即P49S)。

[0507] 在一些实施方式中,本公开提供了一种克隆40-C12-C10-E9的人源化抗体或其抗原结合片段(在本公开中也被称为“人源化40-C12-C10-E9”)。在一些实施方式中,本公开提供了12种人源化40-C12-C10-E9,它们分别被命名为hu40E9-L1H1、hu40E9-L1H2、hu40E9-L1H3、hu40E9-L1H4、hu40E9-L2H1、hu40E9-L2H2、hu40E9-L2H3、hu40E9-L2H4、hu40E9-L3H1、hu40E9-L3H2、hu40E9-L3H3和hu40E9-L3H4。每种人源化40-C12-C10-E9的重链和轻链可变区的SEQ ID NO在下表20中示出(通过Kabat的惯例鉴定的CDR序列被加下划线)。12种人源化40-C12-C10-E9克隆中的每一个都包括HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,它们分别包括如SEQ ID NO:9、10、11、12、13和14所示的氨基酸序列。

[0508] 在一些实施方式中,本公开提供了一种克隆147E11E2的人源化抗体或其抗原结合片段(在本公开中也被称为“人源化147E11E2”)。在一些实施方式中,本公开提供了11种人源化147E11E2,它们分别被命名为hu147E2-L1H2、hu147E2-L1H3、hu147E2-L1H3a、hu147E2-L1H3b、hu147E2-L1H4、hu147E2-L2H2、hu147E2-L2H3、hu147E2-L2H4、hu147E2-L3H2、hu147E2-L3H3和hu147E2-L3H4。每种人源化147E11E2的重链和轻链可变区的SEQ ID NO在下表20中示出(通过Kabat的惯例鉴定的CDR序列被加下划线)。11种人源化147E11E2克隆中的每一个都包括HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,它们分别包括如SEQ ID NO:150、212、152、153、154和155所示的氨基酸序列。

[0509] 在一些实施方式中,易于脱酰胺的一些基序(例如,N55G56基序)可以在人源化抗体或其抗原结合片段的一个或多个CDR(例如,HCDR2)内被鉴定。为了去除此类脱酰胺位点,可以向基序中引入不同的突变,但仍保留与CD3的特异性结合。在一些实施方式中,在hu147E2-H3的氨基酸序列(即SEQ ID NO:203)中鉴定了脱酰胺位点,所述hu147E2-H3具有与克隆147E11E2的重链相同的CDR。在一些实施方式中,候选抗体的一个或多个CDR内的一个或多个氨基酸被突变以去除脱酰胺位点。在一些实施方式中,突变发生在候选抗体的HCDR2内(例如,相对于SEQ ID NO:213的位置55)。因此,本公开提供了抗CD3抗体或其抗原

结合片段,其具有与克隆147E11E2相同的CDR,除了HCDR2的氨基酸序列不同外。例如,本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段包括HCDR2,所述HCDR2包含如SEQ ID NO:212所示的氨基酸序列。在一些实施方式中,本公开提供了人源化抗体hu147E2-L1H3a,其包括HCDR2,所述HCDR2包含如SEQ ID NO:210所示的氨基酸序列,与亲代HCDR2(即SEQ ID NO:151)相比,所述HCDR2携带单个突变(即N55Q),以去除脱酰胺位点NG基序。在一些实施方式中,本公开提供了人源化抗体hu147E2-L1H3b,其包括HCDR2,所述HCDR2包含如SEQ ID NO:211所示的氨基酸序列,与亲代HCDR2(即SEQ ID NO:151)相比,所述HCDR2携带单个突变(即N55S),以去除脱酰胺位点NG基序。

[0510] 在一些实施方式中,本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段包括HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包含如SEQ ID NO:150所示的氨基酸序列,所述HCDR2包含如SEQ ID NO:212所示的氨基酸序列,所述HCDR3包含如SEQ ID NO:152所示的氨基酸序列。在一些实施方式中,本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段包含HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,它们分别包含如SEQ ID NO:150、212、152、153、154和155所示的氨基酸序列。在一些实施方式中,本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段包含HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,它们分别包含如SEQ ID NO:150、210、152、153、154和155所示的氨基酸序列。在一些实施方式中,本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段包含HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,它们分别包含如SEQ ID NO:150、211、152、153、154和155所示的氨基酸序列。SEQ ID NO:210、211和212的氨基酸序列在下表22中示出。

[0511] 在一些实施方式中,本文所提供的人源化抗体或其抗原结合片段包括VH区,该VH区具有如SEQ ID NO:163、164、165、166、213、202、203、204、205、206所示的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:163、164、165、166、213、202、203、204、205或206具有至少80%(例如,至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%)序列同一性的同源序列。在一些实施方式中,本文所提供的人源化抗体或其抗原结合片段包括VL区,该VL区具有如SEQ ID NO:168、169、170、207、208、209所示的氨基酸序列,或与SEQ ID NO:168、169、170、207、208或209具有至少80%(例如,至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%)序列同一性的同源序列。

[0512] 本公开还提供了克隆40-C12-C10-E9的示例性人源化抗体,包括:

[0513] 1) “hu40E9-L1H1”,其包括hu40E9-H1的重链可变区(SEQ ID NO:163)和hu40E9-L1的轻链可变区(SEQ ID NO:168);

[0514] 2) “hu40E9-L1H2”,其包括hu40E9-H2的重链可变区(SEQ ID NO:164)和hu40E9-L1的轻链可变区(SEQ ID NO:168);

[0515] 3) “hu40E9-L1H3”,其包括hu40E9-H3的重链可变区(SEQ ID NO:165)和hu40E9-L1的轻链可变区(SEQ ID NO:168);

[0516] 4) “hu40E9-L1H4”,其包括hu40E9-H4的重链可变区(SEQ ID NO:166)和hu40E9-L1的轻链可变区(SEQ ID NO:168);

[0517] 5) “hu40E9-L2H1”,其包括hu40E9-H1的重链可变区(SEQ ID NO:163)和hu40E9-L2的轻链可变区(SEQ ID NO:169);

[0518] 6) “hu40E9-L2H2”,其包括hu40E9-H2的重链可变区(SEQ ID NO:164)和hu40E9-L2

的轻链可变区 (SEQ ID NO:169) ;

[0519] 7) “hu40E9-L2H3”, 其包括hu40E9-H3的重链可变区 (SEQ ID NO:165) 和hu40E9-L2的轻链可变区 (SEQ ID NO:169) ;

[0520] 8) “hu40E9-L2H4”, 其包括hu40E9-H4的重链可变区 (SEQ ID NO:166) 和hu40E9-L2的轻链可变区 (SEQ ID NO:169) ;

[0521] 9) “hu40E9-L3H1”, 其包括hu40E9-H1的重链可变区 (SEQ ID NO:163) 和hu40E9-L3的轻链可变区 (SEQ ID NO:170) ;

[0522] 10) “hu40E9-L3H2”, 其包括hu40E9-H2的重链可变区 (SEQ ID NO:164) 和hu40E9-L3的轻链可变区 (SEQ ID NO:170) ;

[0523] 11) “hu40E9-L3H3”, 其包括hu40E9-H3的重链可变区 (SEQ ID NO:165) 和hu40E9-L3的轻链可变区 (SEQ ID NO:170) ;或者

[0524] 12) “hu40E9-L3H4”, 其包括hu40E9-H4的重链可变区 (SEQ ID NO:166) 和hu40E9-L3的轻链可变区 (SEQ ID NO:170) 。

[0525] 本公开还提供了克隆147E211E2的示例性人源化抗体, 包括:

[0526] 1) “hu14E2-L1H2”, 其包括hu14E2-H2的重链可变区 (SEQ ID NO:202) 和hu14E2-L1的轻链可变区 (SEQ ID NO:207) ;

[0527] 2) “hu14E2-L1H3”, 其包括hu14E2-H3的重链可变区 (SEQ ID NO:203) 和hu14E2-L1的轻链可变区 (SEQ ID NO:207) ;

[0528] 3) “hu14E2-L1H3a”, 其包括hu14E2-H3a的重链可变区 (SEQ ID NO:204) 和hu14E2-L1的轻链可变区 (SEQ ID NO:207) ;

[0529] 4) “hu14E2-L1H3b”, 其包括hu14E2-H3b的重链可变区 (SEQ ID NO:205) 和hu14E2-L1的轻链可变区 (SEQ ID NO:207) ;

[0530] 5) “hu14E2-L1H4”, 其包括hu14E2-H4的重链可变区 (SEQ ID NO:206) 和hu14E2-L1的轻链可变区 (SEQ ID NO:207) ;

[0531] 6) “hu14E2-L2H2”, 其包括hu14E2-H2的重链可变区 (SEQ ID NO:202) 和hu14E2-L2的轻链可变区 (SEQ ID NO:208) ;

[0532] 7) “hu14E2-L2H3”, 其包括hu14E2-H3的重链可变区 (SEQ ID NO:203) 和hu14E2-L2的轻链可变区 (SEQ ID NO:208) ;

[0533] 8) “hu14E2-L2H4”, 其包括hu14E2-H4的重链可变区 (SEQ ID NO:206) 和hu14E2-L2的轻链可变区 (SEQ ID NO:208) ;

[0534] 9) “hu14E2-L3H2”, 其包括hu14E2-H2的重链可变区 (SEQ ID NO:202) 和hu14E2-L3的轻链可变区 (SEQ ID NO:209) ;

[0535] 10) “hu14E2-L3H3”, 其包括hu14E2-H3的重链可变区 (SEQ ID NO:203) 和hu14E2-L3的轻链可变区 (SEQ ID NO:209) ;或者

[0536] 11) “hu14E2-L3H4”, 其包括hu14E2-H4的重链可变区 (SEQ ID NO:206) 和hu14E2-L3的轻链可变区 (SEQ ID NO:209) 。

[0537] 表20. 人源化40-C12-C10-E9和147E11E2的每个VH和VL的氨基酸序列

[0538]

描述	SEQ ID NO	氨基酸序列
hu40E9-H1	163	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYVIHWVRQA PGQGLEWMGYINPYNDVIKYNEKFKGRVTITADKSTSTAY MELSSLRSED ~~TAVYYC~~ CARDSYYSYDGFAYWGQGLTVTVSS
hu40E9-H2	164	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSYVIHWVRQA PGQGLEWMGYINPYNDVIKYNEKFKGRVTITADKSTSTAY MELSSLRSED ~~TAVYYC~~ CARDSYYSYDGFAYWGQGLTVTVSS
hu40E9-H3	165	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSYVIHWVRQA PGQGLEWMGYINPYNDVIKYNEKFKGRVTLTSDKSTSTAY MELSSLRSED ~~TAVYYC~~ CARDSYYSYDGFAYWGQGLTVTVSS
hu40E9-H4	166	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSYVIHWVRQA PGQGLEWIGYINPYNDVIKYNEKFKGRATLTSDKSTSTAYM ELSSLRSED ~~TAVYYC~~ CARDSYYSYDGFAYWGQGLTVTVSS

[0539]

hu40E9-L1	168	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCSASSSVSYMHWYQKPDQ SPKLLIKDTSKLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAA TYYCQQWSSNPPTFGGGTKVEIK
hu40E9-L2	169	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCSASSSVSYMHWYQKPDQ SPKRLIYDTSKLASGVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAA TYYCQQWSSNPPTFGGGTKVEIK
hu40E9-L3	170	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCSASSSVSYMHWYQKPDQ SPKRWIYDTSKLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTINSLEAEDA ATYYCQQWSSNPPTFGGGTKVEIK
hu147E2-H1	213	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYWMHWVRQ APGQGLEWMGNINPSNGATNYNEKFKSRVTITADKSTSTA YMELSSLRSED ~~TAVYYC~~ CARDRSSQYYFDYWGQGTTTVTVSS
hu147E2-H2	202	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSYWMHWVR QAPGQGLEWMGNINPSNGATNYNEKFKSRVTITADKSTST AYMELSSLRSED ~~TAVYYC~~ CARDRSSQYYFDYWGQGTTTVTV SS
hu147E2-H3	203	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSYWMHWVR QAPGQGLEWMGNINPSNGATNYNEKFKSRVTLTVDKSTST AYMELSSLRSED ~~TAVYYC~~ CARDRSSQYYFDYWGQGTTTVTV SS
hu147E2-H3a	204	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSYWMHWVR QAPGQGLEWMGNINPSQGATNYNEKFKSRVTLTVDKSTST AYMELSSLRSED ~~TAVYYC~~ CARDRSSQYYFDYWGQGTTTVTV SS
hu147E2-H3b	205	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSYWMHWVR QAPGQGLEWMGNINPSSGATNYNEKFKSRVTLTVDKSTST AYMELSSLRSED ~~TAVYYC~~ CARDRSSQYYFDYWGQGTTTVTV SS
hu147E2-H4	206	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSYWMHWVR QAPGQGLEWIGNINPSNGATNYNEKFKSRATLTVDKSTSTA YMELSSLRSED ~~TAVYYC~~ CARDRSSQYYFDYWGQGTTTVTVSS
hu147E2-L1	207	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNLSRNRKKNYLAW YQQKPGQPPLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISS LQAEDVAVYYCTQSYTLRTFGGGTKVEIK
hu147E2-L2	208	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNLSRNRKKNYLAW YQQKPGQSPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISS LQAEDVAVYYCTQSYTLRTFGGGTKVEIK
hu147E2-L3	209	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKSSQSLNLSRNRKKNYLAW YQQKPGKAPKLLIYWASTRESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFATYYCTQSYTLRTFGGGTKVEIK

[0540] 本公开还提供了特异性地结合至CD3的人源化和亲和力改进的抗体或其抗原结合片段。在一些实施方式中,亲和力成熟是基于hu40E9-H3和hu40E9-L2的序列进行的,其具有与克隆40-C12-C10-E9相同的CDR。在一些实施方式中,候选抗体的一个或多个CDR内的一个或多个氨基酸被突变以提高亲和力,例如,突变发生在候选抗体的HCDR1(例如,相对于SEQ ID NO:165的位置31-33)、HCDR2(例如,相对于SEQ ID NO:165的位置54-56)、HCDR3(例如,相对于SEQ ID NO:165的位置99-106)或LCDR3(例如,相对于SEQ ID NO:169的位置91-93)内。因此,本公开提供了抗CD3抗体或其抗原结合片段,其具有与克隆40-C12-C10-E9相同的CDR,除了HCDR1、HCDR2、HCDR3和/或LCDR3的氨基酸序列不同外。

[0541] 在一些实施方式中,本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段包括有包括如SEQ ID NO:219所示的氨基酸序列的HCDR1。在一些实施方式中,本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段包括有包括如SEQ ID NO:9、217或218所示的氨基酸序列的HCDR1。

[0542] 在一些实施方式中,本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段包括有包括如SEQ ID NO:201所示的氨基酸序列的HCDR2。在一些实施方式中,本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段包括有包括如SEQ ID NO:10、171、172、173、220或222所示的氨基酸序列的HCDR2。

[0543] 在一些实施方式中,本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段包括有包括如SEQ ID NO:162所示的氨基酸序列的HCDR3。在一些实施方式中,本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段包括有包括如SEQ ID NO:11、174、175、176、177、178、179、180、181、221、223、224、225、226、227、228或229所示的氨基酸序列的HCDR3。

[0544] 在一些实施方式中,本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段包括有包括如SEQ ID NO:167所示的氨基酸序列的LCDR3。在一些实施方式中,本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段包括有包括如SEQ ID NO:14、182、183、184、185、214、215或216所示的氨基酸序列的LCDR3。

[0545] 在一些实施方式中,本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段包括HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:219所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:201所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:162所示的氨基酸序列。在一些实施方式中,本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段包括LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:167所示的氨基酸序列。在一些实施方式中,本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段包括HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,它们分别包括如SEQ ID NO:219、201、162、12、13和167所示的氨基酸序列。

[0546] 在一些实施方式中,本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段包括HCDR1、HCDR2和HCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9、217或218所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10、171、172、173、220或222所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:11、174、175、176、177、178、179、180、181、221、223、224、225、226、227、228或229所示的氨基酸序列。在一些实施方式中,本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段包括LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14、182、183、184、185、214、215或216所示的氨基酸序列。在一些实施方式中,本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段包括

HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2和LCDR3,所述HCDR1包括如SEQ ID NO:9、217或218所示的氨基酸序列,所述HCDR2包括如SEQ ID NO:10、171、172、173、220或222所示的氨基酸序列,所述HCDR3包括如SEQ ID NO:11、174、175、176、177、178、179、180、181、221、223、224、225、226、227、228或229所示的氨基酸序列,所述LCDR1包括如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列,所述LCDR2包括如SEQ ID NO:13所示的氨基酸序列,所述LCDR3包括如SEQ ID NO:14、182、183、184、185、214、215或216所示的氨基酸序列。

[0547] SEQ ID NO:171-185、201、162、167和214-229的氨基酸序列在下表22中示出。如下表22所示,与hu40E9-H3(即SEQ ID NO:165)中包含的其相应HCDR相比,每个hu40E9 HCDR包含一个或多个突变,并且突变后的氨基酸被加下划线;类似地,与hu40E9-L2(即SEQ ID NO:169)中包含的LCDR3相比,每个hu40E9 LCDR3包含一个或多个突变,并且突变后的氨基酸也被加下划线;类似地,与hu40E9-H3(即SEQ ID NO:165)中包含的HCDR2相比,每个hu147E2 HCDR2包含一个突变,并且突变后的氨基酸也被加下划线。

[0548] 在一些实施方式中,本公开提供了特异性地结合至CD3的抗体或其抗原结合片段,其包括一个或两个或三个HCDR,该HCDR被包含在选自以下组成的组的VH区序列中的任一者中:SEQ ID NO:186、187、188、189、190、191、192、193、194、195、196、233、234、235、236、237、238、239、240、241、242、243、244和245;和/或一个或两个或三个LCDR,该LCDR被包含在选自以下组成的组的VL区序列中的任一者中:SEQ ID NO:197、198、199、200、230、231和232。在一些实施方式中,本公开还提供了抗CD3抗体或其抗原结合片段,其包括HCDR1、HCDR2和HCDR3,它们被包含在选自SEQ ID NO:186、187、188、189、190、191、192、193、194、195、196、233、234、235、236、237、238、239、240、241、242、243、244和245组成的组的VH区序列的任一者中;以及LCDR1、LCDR2和LCDR3,它们被包含在选自SEQ ID NO:197、198、199、200、230、231和232组成的组的VL区序列的任一者中。

[0549] 在一些实施方式中,本公开提供了特异性地结合至CD3的抗体或其抗原结合片段,其包括选自由SEQ ID NO:213、202、203、204、205和206组成的组的VH区序列的任一者中包含的一个或两个或三个HCDR;和/或选自由SEQ ID NO:207、208和209组成的组的VL区序列的任一者中包含的一个或两个或三个LCDR。在一些实施方式中,本公开还提供了抗CD3抗体或其抗原结合片段,其包括选自由SEQ ID NO:213、202、203、204、205和206组成的组的VH区序列的任一者中包含的HCDR1、HCDR2和HCDR3;以及选自由SEQ ID NO:207、208和209组成的组的VL区序列的任一者中包含的LCDR1、LCDR2和LCDR3。

[0550] SEQ ID NO:186-200和230-245的氨基酸序列在下表21中示出。如下表21所示,与hu40E9-H3的氨基酸序列(即SEQ ID NO:165)相比,每个VH区包含一个、两个或三个突变,并且突变后的氨基酸被加下划线;类似地,与hu40E9-L2的氨基酸序列(即SEQ ID NO:169)相比,每个VL区包含一个或两个突变,并且突变后的氨基酸也被加下划线。

[0551] 表21. 示例性VH和VL区的氨基酸序列

[0552]

描述	SEQ ID NO	氨基酸序列
hu40E9-H3-N55S.H	186	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSY VIHWVRQAPGQGLEWMGYINPYSDVIKYNEK FKGRVTLTSDKSTSTAYMELSSLRSED ~~T~~ AVYYC ARDSYYSYDGFAYWGQGLTVTVSS
hu40E9-H3-D99E.H	187	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSY VIHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNDVIKYNEK FKGRVTLTSDKSTSTAYMELSSLRSED ~~T~~ AVYYC ARESYYSYDGFAYWGQGLTVTVSS
hu40E9-H3-Y101F.H	188	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSY VIHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNDVIKYNEK FKGRVTLTSDKSTSTAYMELSSLRSED ~~T~~ AVYYC ARDSFYYSYDGFAYWGQGLTVTVSS

[0553]

hu40E9-H3-D105E.H	189	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSY VIHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNDVIKYNEK FKGRVTLTSDKSTSTAYMELSSLRSED ~~T~~ AVYYC ARDSYYSYEGFAYWGQGLTVTVSS
hu40E9-H3-G106A.H	190	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSY VIHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNDVIKYNEK FKGRVTLTSDKSTSTAYMELSSLRSED ~~T~~ AVYYC ARDSYYSYDAFAYWGQGLTVTVSS
hu40E9-H3-Y54G.H	191	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSY VIHWVRQAPGQGLEWMGYINPGNDVIKYNEK FKGRVTLTSDKSTSTAYMELSSLRSED ~~T~~ AVYYC ARDSYYSYDGFAYWGQGLTVTVSS
hu40E9-H3-D56G.H	192	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSY VIHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNGVIKYNEK FKGRVTLTSDKSTSTAYMELSSLRSED ~~T~~ AVYYC ARDSYYSYDGFAYWGQGLTVTVSS
hu40E9-H3-D99R.H	193	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSY VIHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNDVIKYNEK FKGRVTLTSDKSTSTAYMELSSLRSED ~~T~~ AVYYC ARRSYYSYDGFAYWGQGLTVTVSS
hu40E9-H3-S100R.H	194	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSY VIHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNDVIKYNEK FKGRVTLTSDKSTSTAYMELSSLRSED ~~T~~ AVYYC ARDRYYSYDGFAYWGQGLTVTVSS
hu40E9-H3-Y102S.H	195	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSY VIHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNDVIKYNEK FKGRVTLTSDKSTSTAYMELSSLRSED ~~T~~ AVYYC ARDSYSSYDGFAYWGQGLTVTVSS
hu40E9-H3-D105R.H	196	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSY VIHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNDVIKYNEK FKGRVTLTSDKSTSTAYMELSSLRSED ~~T~~ AVYYC ARDSYYSYRGFAYWGQGLTVTVSS
hu40E9-H5	233	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSY VIHWVRQAPGQGLEWMGYINPGSGVIKYNEK FKGRVTLTSDKSTSTAYMELSSLRSED ~~T~~ AVYYC ARDSYYSYDGFAYWGQGLTVTVSS
hu40E9-H6	234	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSY VIHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNDVIKYNEK FKGRVTLTSDKSTSTAYMELSSLRSED ~~T~~ AVYYC ARESFSSYDGFAYWGQGLTVTVSS
hu40E9-H7	235	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSY VIHWVRQAPGQGLEWMGYINPGNGVIKYNEK FKGRVTLTSDKSTSTAYMELSSLRSED ~~T~~ AVYYC ARDSYSSYDGFAYWGQGLTVTVSS

[0554]

hu40E9-H8	236	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSY VIHWVRQAPGQGLEWMGYINP <u>G</u> NDVIKYNEK FKGRVTLTSDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARE <u>S</u> Y <u>S</u> SYDGFAYWGQGTLLTVSS
hu40E9-H9	237	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSY VIHWVRQAPGQGLEWMGYINPY <u>S</u> DVIKYNEK FKGRVTLTSDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARE <u>S</u> FY <u>S</u> SYDGFAYWGQGTLLTVSS
hu40E9-H10	238	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSY VIHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNDVIKYNEK FKGRVTLTSDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARDSYYSY <u>E</u> A <u>F</u> AYWGQGTLLTVSS
hu40E9-H11	239	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSY VIHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNDVIKYNEK FKGRVTLTSDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARDSYYSY <u>R</u> A <u>F</u> AYWGQGTLLTVSS
hu40E9-H12	240	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSY VIHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNDVIKYNEK FKGRVTLTSDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC AR <u>D</u> <u>D</u> YYSYDGFAYWGQGTLLTVSS
hu40E9-H13	241	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSY VIHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNDVIKYNEK FKGRVTLTSDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC AR <u>D</u> G <u>Y</u> YSYDGFAYWGQGTLLTVSS
hu40E9-H14	242	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSY VIHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNDVIKYNEK FKGRVTLTSDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARE <u>S</u> YYSYDGFAYWGQGTLLTVSS
hu40E9-H15	243	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSY VIHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNDVIKYNEK FKGRVTLTSDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC AR <u>G</u> SYYSYDGFAYWGQGTLLTVSS
hu40E9-H16	244	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTF <u>S</u> DY VIHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNDVIKYNEK FKGRVTLTSDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARDSYYSYDGFAYWGQGTLLTVSS
hu40E9-H17	245	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSY <u>Y</u> IHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNDVIKYNEK FKGRVTLTSDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARDSYYSYDGFAYWGQGTLLTVSS
hu40E9-L2-N93S.L	197	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCSASSVSVMH WYQQKPDQSPKRLIYDTSKLASGVPSRFSGSGS GTDFTLTINSLEAEDAATYYCQQWSS <u>S</u> PPTFGG GTKVEIK

[0555]

hu40E9-L2-S91R.L	198	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCSASSSVSYMH WYQQKPDQSPKRLIYDTSKLASGVPSRFSGSGS GTDFTLTINSLEAEDAATYYCQQWRSNPPTFGG GTKVEIK
hu40E9-L2-N93R.L	199	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCSASSSVSYMH WYQQKPDQSPKRLIYDTSKLASGVPSRFSGSGS GTDFTLTINSLEAEDAATYYCQQWSSRPPTFGG GTKVEIK
hu40E9-L2-N93W.L	200	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCSASSSVSYMH WYQQKPDQSPKRLIYDTSKLASGVPSRFSGSGS GTDFTLTINSLEAEDAATYYCQQWSSWPPTFG GGTKVEIK
hu40E9-L4	230	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCSASSSVSYMH WYQQKPDQSPKRLIYDTSKLASGVPSRFSGSGS GTDFTLTINSLEAEDAATYYCQQWRSRPPTFGG GTKVEIK
hu40E9-L5	231	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCSASSSVSYMH WYQQKPDQSPKRLIYDTSKLASGVPSRFSGSGS GTDFTLTINSLEAEDAATYYCQQWRSSPPTFGG GTKVEIK
hu40E9-L6	232	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCSASSSVSYMH WYQQKPDQSPKRLIYDTSKLASGVPSRFSGSGS GTDFTLTINSLEAEDAATYYCQQWRSWPPTFG GGTKVEIK

[0556] 表22. 示例性CDR的氨基酸序列

[0557]

描述	SEQ ID NO	氨基酸序列
hu40E9-H16 (HCDR1)	217	<u>D</u> YVIH
hu40E9-H17 (HCDR1)	218	S <u>Y</u> YIH
hu40E9 HCDR1 的通式	219	X ₁₃ YX ₁₄ IH (其中 X ₁₃ =S 或 D; X ₁₄ =V 或 Y)
hu40E9-H3-N55S.H (HCDR2)	171	YINPY <u>S</u> DVIKYNEKFKG
hu40E9-H3-Y54G.H (HCDR2)	172	YINPG <u>N</u> DVIKYNEKFKG
hu40E9-H3-D56G.H (HCDR2)	173	YINPYNG <u>V</u> IKYNEKFKG
hu40E9-H5 (HCDR2)	220	YINPG <u>S</u> GVIKYNEKFKG
hu40E9-H7 (HCDR2)	222	YINPGNG <u>V</u> IKYNEKFKG
hu40E9 HCDR2 的通式	201	YINPX ₁ X ₂ X ₃ VIKYNEKFKG (其中 X ₁ =Y 或 G; X ₂ =N 或 S; 并且 X ₃ =D 或 G)

[0558]

hu40E9-H3-D99E.H (HCDR3)	174	<u>E</u> SYYSYDGFAY
hu40E9-H3-Y101F.H (HCDR3)	175	DS <u>F</u> YSYDGFAY
hu40E9-H3-D105E.H (HCDR3)	176	DSYYSY <u>E</u> GFAY
hu40E9-H3-G106A.H (HCDR3)	177	DSYYSYD <u>A</u> FAY
hu40E9-H3-D99R.H (HCDR3)	178	<u>R</u> SYYSYDGFAY
hu40E9-H3-S100R.H (HCDR3)	179	DR <u>Y</u> YSYDGFAY
hu40E9-H3-Y102S.H (HCDR3)	180	DSY <u>S</u> SYDGFAY
hu40E9-H3-D105R.H (HCDR3)	181	DSYYSY <u>R</u> GFAY
hu40E9-H6 (HCDR3)	221	<u>E</u> S <u>F</u> SSYDGFAY
hu40E9-H8 (HCDR3)	223	<u>E</u> SY <u>S</u> SYDGFAY
hu40E9-H9 (HCDR3)	224	<u>E</u> S <u>F</u> YSYDGFAY
hu40E9-H10 (HCDR3)	225	DSYYSY <u>E</u> <u>A</u> FAY
hu40E9-H11 (HCDR3)	226	DSYYSY <u>R</u> <u>A</u> FAY
hu40E9-H12 (HCDR3)	227	DD <u>Y</u> YSYDGFAY
hu40E9-H13 (HCDR3)	228	DG <u>Y</u> YSYDGFAY
hu40E9-H15 (HCDR3)	229	<u>G</u> SYYSYDGFAY
hu40E9 HCDR3 的通式	162	X ₄ X ₅ X ₆ X ₇ SYX ₈ X ₉ FAY (其中 X ₄ = D 或 E 或 R 或 G; X ₅ = S 或 R 或 D 或 G; X ₆ = Y 或 F; X ₇ = Y 或 S; X ₈ = D 或 E 或 R; X ₉ = G 或 A)
hu40E9-L2-N93S.L (LCDR3)	182	QQWSS <u>S</u> PPT
hu40E9-L2-S91R.L (LCDR3)	183	QQWR <u>S</u> NPPT
hu40E9-L2-N93R.L (LCDR3)	184	QQWSS <u>R</u> PPT
hu40E9-L2-N93W.L (LCDR3)	185	QQWSS <u>W</u> PPT
hu40E9-L4 (LCDR3)	214	QQWR <u>S</u> <u>R</u> PPT
hu40E9-L5 (LCDR3)	215	QQWR <u>S</u> <u>S</u> PPT
hu40E9-L6 (LCDR3)	216	QQWR <u>S</u> <u>W</u> PPT

[0559]	hu40E9 LCDR3 的通式	167	QQWX ₁₀ SX ₁₁ PPT (其中 X ₁₀ = S 或 R; X ₁₁ = N 或 S 或 R 或 W)
	hu147E2-H3a-N55Q (HCDR2)	210	NINPSQGATNYNEKFKS
	hu147E2-H3a-N55S (HCDR2)	211	NINPSSGATNYNEKFKS
	hu147E2 HCDR2 的通式	212	NINPSX ₁₂ GATNYNEKFKS (X ₁₂ =Q、S 或 N)

[0560] 本公开进一步提供了克隆40-C12-C10-E9的示例性人源化和亲和力改进的抗体, 包括:

[0561] 1) “hu40E9-L2H3-N55S.H”, 其包括hu40E9-H3-N55S.H的重链可变区 (SEQ ID NO: 186) 和hu40E9-L2的轻链可变区 (SEQ ID NO: 169);

[0562] 2) “hu40E9-L2H3-D99E.H”, 其包括hu40E9-H3-D99E.H的重链可变区 (SEQ ID NO: 187) 和hu40E9-L2的轻链可变区 (SEQ ID NO: 169);

[0563] 3) “hu40E9-L2H3-Y101F.H”, 其包括hu40E9-H3-Y101F.H的重链可变区 (SEQ ID NO: 188) 和hu40E9-L2的轻链可变区 (SEQ ID NO: 169);

[0564] 4) “hu40E9-L2H3-D105E.H”, 其包括hu40E9-H3-D105E.H的重链可变区 (SEQ ID NO: 189) 和hu40E9-L2的轻链可变区 (SEQ ID NO: 169);

[0565] 5) “hu40E9-L2H3-G106A.H”, 其包括hu40E9-H3-G106A.H的重链可变区 (SEQ ID NO: 190) 和hu40E9-L2的轻链可变区 (SEQ ID NO: 169);

[0566] 6) “hu40E9-L2H3-Y54G.H”, 其包括hu40E9-H3-Y54G.H的重链可变区 (SEQ ID NO: 191) 和hu40E9-L2的轻链可变区 (SEQ ID NO: 169);

[0567] 7) “hu40E9-L2H3-D56G.H”, 其包括hu40E9-H3-D56G.H的重链可变区 (SEQ ID NO: 192) 和hu40E9-L2的轻链可变区 (SEQ ID NO: 169);

[0568] 8) “hu40E9-L2H3-D99R.H”, 其包括hu40E9-H3-D99R.H的重链可变区 (SEQ ID NO: 193) 和hu40E9-L2的轻链可变区 (SEQ ID NO: 169);

[0569] 9) “hu40E9-L2H3-S100R.H”, 其包括hu40E9-H3-S100R.H的重链可变区 (SEQ ID NO: 194) 和hu40E9-L2的轻链可变区 (SEQ ID NO: 169);

[0570] 10) “hu40E9-L2H3-Y102S.H”, 其包括hu40E9-H3-Y102S.H的重链可变区 (SEQ ID NO: 195) 和hu40E9-L2的轻链可变区 (SEQ ID NO: 169);

[0571] 11) “hu40E9-L2H3-D105R.H”, 其包括hu40E9-H3-D105R.H的重链可变区 (SEQ ID NO: 196) 和hu40E9-L2的轻链可变区 (SEQ ID NO: 169);

[0572] 12) “hu40E9-L2H3-N93S.L”, 其包括hu40E9-H3的重链可变区 (SEQ ID NO: 165) 和hu40E9-L2-N93S.L的轻链可变区 (SEQ ID NO: 197);

[0573] 13) “hu40E9-L2H3-S91R.L”, 其包括hu40E9-H3的重链可变区 (SEQ ID NO: 165) 和hu40E9-L2-S91R.L的轻链可变区 (SEQ ID NO: 198);

[0574] 14) “hu40E9-L2H3-N93R.L”, 其包括hu40E9-H3的重链可变区 (SEQ ID NO: 165) 和hu40E9-L2-N93R.L的轻链可变区 (SEQ ID NO: 199);

[0575] 15) “hu40E9-L2H3-N93W.L”, 其包括hu40E9-H3的重链可变区 (SEQ ID NO: 165) 和

hu40E9-L2-N93W.L的轻链可变区 (SEQ ID NO:200) ;

[0576] 16) “hu40E9-L2H5”,其包括hu40E9-H5的重链可变区 (SEQ ID NO:233) 和hu40E9-L2的轻链可变区 (SEQ ID NO:169) ;

[0577] 17) “hu40E9-L2H6”,其包括hu40E9-H6的重链可变区 (SEQ ID NO:234) 和hu40E9-L2的轻链可变区 (SEQ ID NO:169) ;

[0578] 18) “hu40E9-L2H7”,其包括hu40E9-H7的重链可变区 (SEQ ID NO:235) 和hu40E9-L2的轻链可变区 (SEQ ID NO:169) ;

[0579] 19) “hu40E9-L2H8”,其包括hu40E9-H8的重链可变区 (SEQ ID NO:236) 和hu40E9-L2的轻链可变区 (SEQ ID NO:169) ;

[0580] 20) “hu40E9-L2H9”,其包括hu40E9-H9的重链可变区 (SEQ ID NO:237) 和hu40E9-L2的轻链可变区 (SEQ ID NO:169) ;

[0581] 21) “hu40E9-L2H10”,其包括hu40E9-H10的重链可变区 (SEQ ID NO:238) 和hu40E9-L2的轻链可变区 (SEQ ID NO:169) ;

[0582] 22) “hu40E9-L2H11”,其包括hu40E9-H11的重链可变区 (SEQ ID NO:239) 和hu40E9-L2的轻链可变区 (SEQ ID NO:169) ;

[0583] 23) “hu40E9-L2H12”,其包括hu40E9-H12的重链可变区 (SEQ ID NO:240) 和hu40E9-L2的轻链可变区 (SEQ ID NO:169) ;

[0584] 24) “hu40E9-L2H13”,其包括hu40E9-H13的重链可变区 (SEQ ID NO:241) 和hu40E9-L2的轻链可变区 (SEQ ID NO:169) ;

[0585] 25) “hu40E9-L2H14”,其包括hu40E9-H14的重链可变区 (SEQ ID NO:242) 和hu40E9-L2的轻链可变区 (SEQ ID NO:169) ;

[0586] 26) “hu40E9-L2H15”,其包括hu40E9-H15的重链可变区 (SEQ ID NO:243) 和hu40E9-L2的轻链可变区 (SEQ ID NO:169) ;

[0587] 27) “hu40E9-L2H16”,其包括hu40E9-H16的重链可变区 (SEQ ID NO:244) 和hu40E9-L2的轻链可变区 (SEQ ID NO:169) ;

[0588] 28) “hu40E9-L2H17”,其包括hu40E9-H17的重链可变区 (SEQ ID NO:245) 和hu40E9-L2的轻链可变区 (SEQ ID NO:169) ;

[0589] 29) “hu40E9-L4H3”,其包括hu40E9-H3的重链可变区 (SEQ ID NO:165) 和hu40E9-L4的轻链可变区 (SEQ ID NO:230) ;

[0590] 30) “hu40E9-L5H3”,其包括hu40E9-H3的重链可变区 (SEQ ID NO:165) 和hu40E9-L5的轻链可变区 (SEQ ID NO:231) ;

[0591] 31) “hu40E9-L6H3”,其包括hu40E9-H3的重链可变区 (SEQ ID NO:165) 和hu40E9-L6的轻链可变区 (SEQ ID NO:232) ;

[0592] 32) “hu40E9-L4H7”,其包括hu40E9-H7的重链可变区 (SEQ ID NO:235) 和hu40E9-L4的轻链可变区 (SEQ ID NO:230) ;

[0593] 33) “hu40E9-L4H8”,其包括hu40E9-H8的重链可变区 (SEQ ID NO:236) 和hu40E9-L4的轻链可变区 (SEQ ID NO:230) ;

[0594] 34) “hu40E9-L5H7”,其包括hu40E9-H7的重链可变区 (SEQ ID NO:235) 和hu40E9-L5的轻链可变区 (SEQ ID NO:231) ;或者

[0595] 35) “hu40E9-L5H8”, 其包括hu40E9-H8的重链可变区(SEQ ID NO:236)和hu40E9-L5的轻链可变区(SEQ ID NO:231)。

[0596] 在一些实施方式中, 本文所提供的抗CD3抗体和抗原结合片段包括重链可变结构域的全部或一部分和/或轻链可变结构域的全部或一部分。在一个实施方式中, 本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段是由本文所提供的重链可变结构域的全部或一部分组成的单结构域抗体。可在本领域中获得有关此类单结构域抗体的更多信息(参见例如美国专利6,248,516号)。

[0597] 在某些实施方式中, 本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段进一步包括Fc区。在某些实施方式中, 本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段进一步包括人免疫球蛋白(Ig)的Fc区。在某些实施方式中, 本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段进一步包括恒定区, 所述恒定区任选地进一步包括重链和/或轻链恒定区。在某些实施方式中, 重链恒定区包括CH1、铰链和/或CH2-CH3区(或任选的CH2-CH3-CH4区)。在某些实施方式中, 本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段包括人IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、IgA2或IgM的重链恒定区。在某些实施方式中, 本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段包括λ(lambda)轻链或κ(kappa)轻链。本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段的恒定区可以与野生型恒定区序列相同或在一个或多个突变中不同。

[0598] 在某些实施方式中, 重链恒定区包括Fc区。已知Fc区介导效应功能, 如抗体的抗体依赖性细胞毒性(ADCC)和补体依赖性细胞毒性(CDC)。不同Ig同种型的Fc区具有不同的诱导效应功能的能力。例如, IgG1和IgG3的Fc区已被公认为比IgG2和IgG4的Fc区更有效地诱导ADCC和CDC两者。在某些实施方式中, 本文所提供的抗CD3抗体及其抗原结合片段包括IgG1或IgG3同种型的Fc区, 所述Fc区可以诱导ADCC或CDC; 或可替代地, IgG4或IgG2同种型的恒定区, 所述恒定区具有降低或缺失的效应功能。在一些实施方式中, 所述Fc区源自人IgG1。在一些实施方式中, 所述Fc区源自具有增强的效应功能的人IgG1。在一些实施方式中, 所述Fc区包括如SEQ ID NO:97所示的氨基酸序列。

[0599] ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS

[0600] GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGG

[0601] PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY

[0602] NSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR

[0603] EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:97)

[0604] 在某些实施方式中, 本文所提供的抗体或其抗原结合片段对人CD3具有特异性结合亲和力, 这足以提供诊断和/或治疗用途。

[0605] 本文所提供的抗体或其抗原结合片段可以是单克隆抗体、多克隆抗体、人源化抗体、人抗体、嵌合抗体、重组抗体、双特异性抗体、多特异性抗体、标记抗体、二价抗体、抗独特型抗体或融合蛋白。重组抗体是使用重组方法在体外而不是在动物体内制备的抗体。

[0606] 在某些实施方式中, 本公开提供了抗CD3抗体或其抗原结合片段, 所述抗CD3抗体或其抗原结合片段与本文所提供的抗体或其抗原结合片段竞争结合CD3。在某些实施方式中, 本公开提供了抗CD3抗体或其抗原结合片段, 所述抗CD3抗体或其抗原结合片段与抗体25-G12-G6-C12、40-C12-C10-E9、8-B12-F9-B11、31-F8-F5-C5、16-F2-C11-D9、20-E11-E11-

C2、7-D9-G10-H2、7-D8-G12-E4、2-F12-A6-G2、3-C6-C11-F12、4-F12-F1-A4、3-F3-G12-E2、124E3D6、126A11A4、127E2D3、133B4C7、140D2B10、147C6F3、147E11E2、hu40E9-L1H1、hu40E9-L1H2、hu40E9-L1H3、hu40E9-L1H4、hu40E9-L2H1、hu40E9-L2H2、hu40E9-L2H3、hu40E9-L2H4、hu40E9-L3H1、hu40E9-L3H2、hu40E9-L3H3、hu40E9-L3H4、hu40E9-L2H3-N55S.H、hu40E9-L2H3-D99E.H、hu40E9-L2H3-Y101F.H、hu40E9-L2H3-D105E.H、hu40E9-L2H3-G106A.H、hu40E9-L2H3-Y54G.H、hu40E9-L2H3-D56G.H、hu40E9-L2H3-D99R.H、hu40E9-L2H3-S100R.H、hu40E9-L2H3-Y102S.H、hu40E9-L2H3-D105R.H、hu40E9-L2H3-N93S.L、hu40E9-L2H3-S91R.L、hu40E9-L2H3-N93R.L、hu40E9-L2H3-N93W.L、hu40E9-L2H5、hu40E9-L2H6、hu40E9-L2H7、hu40E9-L2H8、hu40E9-L2H9、hu40E9-L2H10、hu40E9-L2H11、hu40E9-L2H12、hu40E9-L2H13、hu40E9-L2H14、hu40E9-L2H15、hu40E9-L2H16、hu40E9-L2H17、hu40E9-L4H3、hu40E9-L5H3、hu40E9-L6H3、hu40E9-L4H7、hu40E9-L4H8、hu40E9-L5H7、hu40E9-L5H8、hu147E2-L1H2、hu147E2-L1H3、hu147E2-L1H3a、hu147E2-L1H3b、hu147E2-L1H4、hu147E2-L2H2、hu147E2-L2H3、hu147E2-L2H4、hu147E2-L3H2、hu147E2-L3H3和hu147E2-L3H4中的任何一个竞争结合人CD3。在一些实施方式中,本公开提供了抗CD3抗体或其抗原结合片段,所述抗CD3抗体或其抗原结合片段与本文所提供的抗体或抗原结合片段竞争相同表位。

[0607] 如本文所使用的,“阻断结合”或“竞争结合”的能力是指抗体或抗原结合片段抑制两个分子(例如,人CD3与抗CD3抗体)之间结合的相互作用到任何可检测的程度的能力。在某些实施方式中,阻断两个分子之间结合的抗体或其抗原结合片段并将两个分子之间结合的相互作用抑制至少85%或至少90%。在某些实施方式中,所述抑制可以大于85%或大于90%。

[0608] 本领域技术人员将认识到,通过确定人单克隆抗体是否阻止本公开的抗体与CD3结合,可以在不进行不当实验的情况下确定人单克隆抗体是否与本公开的抗体(例如,小鼠单克隆抗体25-G12-G6-C12、40-C12-C10-E9、8-B12-F9-B11、31-F8-F5-C5、16-F2-C11-D9、20-E11-E11-C2、7-D9-G10-H2、7-D8-G12-E4、2-F12-A6-G2、3-C6-C11-F12、4-F12-F1-A4、3-F3-G12-E2、124E3D6、126A11A4、127E2D3、133B4C7、140D2B10、147C6F3、147E11E2、hu40E9-L1H1、hu40E9-L1H2、hu40E9-L1H3、hu40E9-L1H4、hu40E9-L2H1、hu40E9-L2H2、hu40E9-L2H3、hu40E9-L2H4、hu40E9-L3H1、hu40E9-L3H2、hu40E9-L3H3、hu40E9-L3H4、hu40E9-L2H3-N55S.H、hu40E9-L2H3-D99E.H、hu40E9-L2H3-Y101F.H、hu40E9-L2H3-D105E.H、hu40E9-L2H3-G106A.H、hu40E9-L2H3-Y54G.H、hu40E9-L2H3-D56G.H、hu40E9-L2H3-D99R.H、hu40E9-L2H3-S100R.H、hu40E9-L2H3-Y102S.H、hu40E9-L2H3-D105R.H、hu40E9-L2H3-N93S.L、hu40E9-L2H3-S91R.L、hu40E9-L2H3-N93R.L、hu40E9-L2H3-N93W.L、hu40E9-L2H5、hu40E9-L2H6、hu40E9-L2H7、hu40E9-L2H8、hu40E9-L2H9、hu40E9-L2H10、hu40E9-L2H11、hu40E9-L2H12、hu40E9-L2H13、hu40E9-L2H14、hu40E9-L2H15、hu40E9-L2H16、hu40E9-L2H17、hu40E9-L4H3、hu40E9-L5H3、hu40E9-L6H3、hu40E9-L4H7、hu40E9-L4H8、hu40E9-L5H7、hu40E9-L5H8、hu147E2-L1H2、hu147E2-L1H3、hu147E2-L1H3a、hu147E2-L1H3b、hu147E2-L1H4、hu147E2-L2H2、hu147E2-L2H3、hu147E2-L2H4、hu147E2-L3H2、hu147E2-L3H3和hu147E2-L3H4)相同的表位。如果测试抗体与本公开的抗体竞争,如由本公开的抗体与CD3抗原多肽的结合减少所示,则两种抗体结合至相同或紧密相关的表位。或者如果测试抗体

与CD3抗原多肽的结合被本公开的抗体抑制,则两种抗体结合至相同或紧密相关的表位。

[0609] 在某些实施方式中,本公开提供了抗CD3抗体或其抗原结合片段,其与OKT3、BMK-B219和/或BMK-TCB相比,对CD3(例如,人CD3或食蟹猴CD3)具有更高或相当的结合亲和力。

[0610] 在某些实施方式中,与本文所提供的抗体或其抗原结合片段竞争结合CD3的抗CD3抗体或抗原结合片段不是OKT3、BMK-B219或BMK-TCB。

[0611] 如本文所用,“OKT3”是指包括具有SEQ ID NO:100的氨基酸序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:101的氨基酸序列的轻链可变区的抗体或其抗原结合片段。CDR序列分别在SEQ ID NO:100和SEQ ID NO:101中加下划线。

[0612] QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTRYTMHWVKQRPQGQGLEWIGYINPSRGY

[0613] TNYNQKFKDKATLTTDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTL TVSS (SEQ ID NO:100)

[0614] QIVLTQSPAIMASASPGEKVTMTCSASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDTSKLGSGVPA HFRGSGSGTSYSLTISGMEAEDAATYYCQQWSSNPFTFGSGTKLEINRAD (SEQ ID NO:101)

[0615] 如本文所用,“BMK-B219”是指包括具有SEQ ID NO:158的氨基酸序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:159的氨基酸序列的轻链可变区的抗体或其抗原结合片段。CDR序列分别在SEQ ID NO:158和SEQ ID NO:159中加下划线。

[0616] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNY

[0617] ATYYAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARHGNFGNSYVSWFAYWG QGTLVTVSS (SEQ ID NO:158)

[0618] QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPG TPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:159)

[0619] 如本文所用,“BMK-TCB”是指包括具有SEQ ID NO:160的氨基酸序列的重链可变区和具有SEQ ID NO:161的氨基酸序列的轻链可变区的抗体或其抗原结合片段。CDR序列分别在SEQ ID NO:160和SEQ ID NO:161中加下划线。

[0620] EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVSRIIRSKYNNY

[0621] ATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWG QGTLVTVSS (SEQ ID NO:160)

[0622] QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQEKPGQAFRGLIGGTNKRAPG TPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:161)

[0623] 抗体变体

[0624] 本文所提供的抗体及其抗原结合片段还涵盖本文所提供的抗体序列的各种变体。

[0625] 在某些实施方式中,所述抗体变体包括一个或多个氨基酸残基取代或修饰,但仍保留对CD3的特异性结合亲和力。在某些实施方式中,所述取代或修饰中的至少一个位于所述VH区或所述VL区的一个或多个CDR序列中。在某些实施方式中,所述取代或修饰中的至少一个位于所述VH区或所述VL区的一个或多个非CDR序列中。在某些实施方式中,本公开的抗体或其抗原结合片段进一步包括一个或多个非天然氨基酸(NNAA)取代。在某些实施方式中,所述NNAA能够被缀合的。

[0626] 例如,所述抗体变体包括在上表2中提供的CDR序列中的一个或多个、上表3中提供的重链可变区或轻链可变区的非CDR序列中的一个或多个和/或恒定区(例如,Fc区)中的一

个或多个氨基酸残基取代或修饰。此类变体保留了其亲本抗体对CD3的结合特异性,但具有一种或多种由修饰或取代赋予的期望性质。例如,抗体变体可以具有改善的抗原结合亲和力、改善的糖基化模式、降低的糖基化风险、减少的脱氨基作用、增强的效应子功能、改善的FcRn受体结合、增加的药代动力学半衰期、pH敏感性和/或与缀合的相容性(例如,一个或多个引入的半胱氨酸残基)等。

[0627] 可以使用本领域已知的方法,例如“丙氨酸扫描诱变”,筛选亲本抗体序列以鉴定合适的或优选的待修饰或取代的残基(参见例如Cunningham和Wells (1989)《科学(Science)》,244:1081-1085)。简要地说,可以鉴定靶标残基(例如带电的残基,如Arg、Asp、His、Lys和Glu)并被中性或带负电的氨基酸(例如丙氨酸或聚丙氨酸)替换,并且产生经修饰的抗体,并且针对所关注性质对其进行筛选。如果在特定的氨基酸位置处的取代表现出所关注功能性改变,则所述位置可以被鉴定为潜在的用于修饰或取代的残基。可以通过用另一种残基(例如,半胱氨酸残基、带正电荷的残基等)取代来进一步评估所述潜在的残基。

[0628] 亲和力变体

[0629] 抗体的亲和力变体可以含有上表2中提供的一个或多个CDR序列、一个或多个FR序列或上表3中提供的重链可变区或轻链可变区序列中的修饰或取代。本领域技术人员可以基于上表2中的CDR序列和上表3中的可变区序列容易地鉴定FR序列,因为本领域公知在可变区中,CDR区侧接两个FR区。亲和力变体保留了亲本抗体对CD3的特异性结合亲和力,或者甚至比亲本抗体具有更高的CD3特异性结合亲和力。在某些实施方式中,CDR序列、FR序列或可变区序列中的至少一个(或全部)取代包括保守取代。

[0630] 本领域技术人员将理解,在上表2中提供的CDR序列以及上表3中提供的可变区序列中,一个或多个氨基酸残基可以被取代,但所得抗体或抗原结合片段仍保留对CD3的结合亲和力或结合能力,或者甚至具有改进的结合亲和力或结合能力。可以使用本领域已知的各种方法来实现此目的。例如,可以生成抗体变体(如Fab或scFv变体)的文库,并用噬菌体展示技术表达,随后针对与人CD3结合的亲和力对其进行筛选。再例如,计算机软件可以用于虚拟模拟抗体与人CD3的结合,并鉴定抗体上的形成结合界面的氨基酸残基。在取代中可以避开此类残基以防止结合亲和力降低,或者可以作为取代的靶标以获得更强的结合。

[0631] 在某些实施方式中,本文所提供的人源化抗体或其抗原结合片段包括CDR序列中的一个或多个CDR序列和/或FR序列中的一个或多个FR序列中的一个或多个氨基酸残基取代。在某些实施方式中,亲和力变体包括CDR序列和/或FR序列中总共不超过20个、15个、10个、9个、8个、7个、6个、5个、4个、3个、2个或1个取代。

[0632] 在某些实施方式中,本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段包括1个、2个或3个CDR序列,所述序列与上表2中所列出的所述序列具有至少80%(例如,至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性,但仍以相对于其亲本抗体而言相似或甚至更高的水平保留了对CD3的特异性结合亲和力。

[0633] 在某些实施方式中,本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段包括一个或多个可变区序列,所述一个或多个可变区序列与上表3中所列出的所述序列具有至少80%(例如,至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)序列同一性,但仍以相对于其亲本抗体而言相似或甚至更高的水平保留了对CD3的特异性结合亲和力。在一些实施方式中,在上表3中列出的可变区序列中总共取代、插入或

缺失了1到10个氨基酸。在一些实施方式中,所述取代、插入或缺失发生在CDR之外的区中(例如,在FR中)。

[0634] 糖基化变体

[0635] 本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段还涵盖糖基化变体,可以获得所述糖基化变体以增加或减少所述抗体或其抗原结合片段的糖基化程度。

[0636] 本文所提供的抗体或其抗原结合片段可以包括引入或去除糖基化位点的一个或多个修饰。糖基化位点是具有侧链的氨基酸残基,碳水化合物部分(例如,寡糖结构)可以连接到所述侧链。抗体的糖基化通常是N连接的或O连接的。N连接是指碳水化合物部分连接到天冬酰胺残基(例如,如天冬酰胺-X-丝氨酸和天冬酰胺-X-苏氨酸等三肽序列中的天冬酰胺残基)的侧链,其中X是除了脯氨酸之外的任何氨基酸。O连接的糖基化是指将N-乙酰半乳糖胺、半乳糖或木糖之一与羟基氨基酸连接,最常见的是与丝氨酸或苏氨酸连接。可以很方便地去除天然糖基化位点,例如通过改变氨基酸序列,使得存在于所述序列中的上述三肽序列(对于N连接的糖基化位点)或者丝氨酸或苏氨酸残基(对于O连接的糖基化位点)中的一个被取代。可以通过引入此类三肽序列或者丝氨酸或苏氨酸残基以相似的方式产生新的糖基化位点。

[0637] 半胱氨酸工程化的变体

[0638] 本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段还涵盖半胱氨酸工程化的变体,所述变体包括一个或多个引入的游离半胱氨酸氨基酸残基。

[0639] 游离半胱氨酸残基是不为二硫键的一部分的半胱氨酸残基。半胱氨酸工程化的变体可用于通过例如马来酰亚胺或卤乙酰基在经工程化的半胱氨酸的位点处与例如细胞毒性化合物和/或成像化合物、标记或放射性同位素等缀合。用于工程化抗体或其抗原结合片段以引入游离半胱氨酸残基的方法是本领域已知的,参见例如,W02006/034488。

[0640] Fc变体

[0641] 本文所提供的抗CD3抗体和抗原结合片段还涵盖Fc变体,所述Fc变体包括在其Fc区和/或铰链区处的一个或多个氨基酸残基修饰或取代。

[0642] 在某些实施方式中,本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段包括改善与新生儿Fc受体(FcRn)的pH依赖性结合的一个或多个氨基酸取代。此类变体可以具有延长的药代动力学半衰期,因为它在酸性pH下与FcRn结合,使其得以免于在溶酶体中降解,并且随后被转移并释放到细胞外。工程化抗体或其抗原结合片段以提高与FcRn的结合亲和力的方法是本领域众所周知的,参见例如Vaughn, D. 等人,《结构(Structure)》,6(1):63-73,1998; Kontermann, R. 等人,《抗体工程(Antibody Engineering)》,第1卷,第27章:将Fc区工程化以改善PK(Engineering of the Fc region for improved PK),由施普林格(Springer)出版,2010年;Yeung, Y. 等人,《癌症研究(Cancer Research)》,70:3269-3277(2010);以及Hinton, P. 等人,《免疫学杂志》,176:346-356(2006)。

[0643] 在某些实施方式中,本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段包括一个或多个改变ADCC的氨基酸取代。在Fc区的CH2结构域处的某些氨基酸残基可以被取代以提供增强的ADCC活性。可替代地或另外地,可以改变抗体上的碳水化合物结构以增强ADCC活性。通过抗体工程化改变ADCC活性的方法在本领域已有描述,参见例如Shields RL. 等人,《生物化学杂志(J Biol Chem.)》2001 276(9):6591-604; Idusogie EE. 等人,《免疫学杂志》

2000.164(8):4178-84;Steurer W.等人,《免疫学杂志(J.Immunology)》1995,155(3):1165-74;Idusogie EE.等人,《免疫学杂志(J.Immunology)》2001,166(4):2571-5;Lazar GA.等人,《美国国家科学院院刊(PNAS)》,2006,103(11):4005-4010;Ryan MC.等人,《分子癌症疗法(Mol.Cancer Ther.)》,2007,6:3009-3018;Richards JO等人,《分子癌症疗法(Mol.Cancer Ther.)》2008,7(8):2517-27;Shields R.L.等人,《生物化学杂志(J.Biol.Chem)》,2002,277:26733-26740;Shinkawa T.等人,《生物化学杂志(J.Biol.Chem)》,2003,278:3466-3473。

[0644] 在某些实施方式中,本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段包括改变CDC的一个或多个氨基酸取代,例如通过改善或减少C1q结合和/或CDC(参见例如W099/51642;Duncan和Winter《自然(Science)》322:738-40(1988);美国专利第5,648,260号;美国专利第5,624,821号);以及关于Fc区变体的其它实例的W094/29351。可以将选自Fc区的第329、331和322位氨基酸残基的一个或多个氨基酸替换为不同的氨基酸残基,以改变C1q结合和/或增强CDC(参见Idusogie等人的美国专利第6,194,551号)。也可以引入一个或多个氨基酸取代,以改变抗体固定补体的能力(参见Bodmer等人的PCT公开WO 94/29351)。

[0645] 在某些实施方式中,本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段包括人免疫球蛋白(例如,IgG1)中位于第234和/或235位(根据EP编号)的一个或多个氨基酸取代。在某些实施方式中,本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段包括人免疫球蛋白(例如,IgG1)中位于第234和235位(根据EP编号)的两个氨基酸取代。在某些实施方式中,本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段包括L234A和L235A(根据EU编号)氨基酸取代。

[0646] 在某些实施方式中,本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段在人免疫球蛋白(例如IgG4)中在位置228(根据EU编号)处包括一个或多个氨基酸取代。在某些实施方式中,本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段包括S228P(根据EU编号)氨基酸取代。

[0647] 在某些实施方式中,本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段包括Fc区的界面中的一个或多个氨基酸取代以便于推动和/或促进异二聚体化。这些修饰包括将突起引入到第一Fc多肽中并且将空腔引入到第二Fc多肽中,其中突起可以定位于空腔中,以便促进第一Fc多肽与第二Fc多肽的相互作用以形成异二聚体或复合物。产生具有这些修饰的抗体的方法是本领域已知的,例如,如美国专利第5,731,168号中所述。

[0648] 在某些实施方式中,本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段包括第一Fc多肽的在第366位(根据EP编号)的氨基酸取代,并且包括第二Fc多肽的在第366、368和407位(根据EP编号)中的一个、两个或三个位置处的一个、两个或三个氨基酸取代。在某些实施方式中,本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段包括第一Fc多肽的T366W(根据EP编号)取代,并且包括第二Fc多肽的T366S+L368A+Y407V(根据EP编号)取代。

[0649] 在某些实施方式中,本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段还包括第一Fc多肽的一个或多个氨基酸取代,并且包括第二Fc多肽的一个或多个氨基酸取代,从而在两个Fc多肽之间引入非天然二硫键。例如,本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段包括第一Fc多肽的在第354位(根据EU编号)的氨基酸取代,并且包括第二Fc多肽的在第349位(根据EU编号)的氨基酸取代。在某些实施方式中,本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段包括第一Fc多肽的S354C(根据EP编号)取代,并且包括第二Fc多肽的Y349C(根据EP编号)取代。

[0650] 在某些实施方式中,本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段包括第一Fc多肽和第二Fc多肽,所述第一Fc多肽包括如SEQ ID NO:98所示的氨基酸序列,所述第二Fc多肽包括如SEQ ID NO:99所示的氨基酸序列。

[0651] KHTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

[0652] GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK

[0653] AKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFL
YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:98)

[0654] KHTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

[0655] GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK

[0656] AKGQPREPQVCTLPSSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFL
VSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:99)

[0657] 抗原结合片段

[0658] 本文还提供了抗CD3抗原结合片段。各种类型的抗原结合片段是本领域已知的并且可以基于本文所提供的抗CD3抗体开发,所述抗体包括例如其CDR在上表2中示出并且可变量序列在表3中示出的示例性抗体及其不同变体(如亲和力变体、糖基化变体、Fc变体、半胱氨酸工程化的变体等)。

[0659] 在某些实施方式中,本文所提供的抗CD3抗原结合片段是双功能抗体(diabody)、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fd、Fv片段、二硫键稳定的Fv片段(dsFv)、(dsFv)₂、双特异性dsFv(dsFv-dsFv')、二硫键稳定的双功能抗体(ds diabody)、单链抗体分子(scFv)、scFv二聚体(二价双功能抗体)、多特异性抗体、骆驼化单结构域抗体、纳米抗体、结构域抗体或二价结构域抗体。

[0660] 可以使用多种技术产生此类抗原结合片段。示例性方法包括完整抗体的酶消化(参见例如Morimoto等人,《生物化学与生物物理方法杂志(Journal of Biochemical and Biophysical Methods)》24:107-117(1992);以及Brennan等人,《科学》,229:81(1985))、通过如大肠杆菌等宿主细胞进行的重组表达(例如,对于Fab、Fv和ScFv抗体片段)、如上文讨论的从噬菌体展示文库筛选(例如,对于ScFv)以及两个Fab'-SH片段的化学偶联以形成F(ab')₂片段(Carter等人,《生物/技术(Bio/Technology)》10:163-167(1992))。用于产生抗体片段的其它技术对本领域技术人员来说是显而易见的。

[0661] 在某些实施方式中,抗原结合片段是scFv。以下中描述了scFv的产生:例如W0 93/16185;美国专利第5,571,894号;以及第5,587,458号。ScFv可以在氨基端或羧基端与效应蛋白融合以提供融合蛋白(参见例如《抗体工程》,Borrebaeck编辑)。

[0662] 在某些实施方式中,本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段是二价的、四价的、六价的或多价的。任何超过二价的分子被认为是多价的,涵盖例如三价、四价、六价等。

[0663] 如果两个结合位点都与同一抗原或同一表位特异性结合,则二价分子可以是单特异性的。在某些实施方式中,这提供了比单价对应物更强的与抗原或表位的结合。类似地,多价分子也可以是单特异性的。在某些实施方式中,在二价或多价抗原结合部分中,结合位点的第一价和结合位点的第二价在结构上相同(即,具有相同的序列)或在结构上不同(即,具有不同的序列,但具有相同的特异性)。

[0664] 如果两个结合位点对不同的抗原或表位具有特异性,则二价也可以是双特异性

的。这也适用于多价分子。例如,当两个结合位点对第一抗原(或表位)是单特异性的并且第三结合位点对第二抗原(或表位)是特异性的时,三价分子可以是双特异性的。

[0665] 双特异性或多特异性抗体

[0666] 在某些实施方式中,本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段是双特异性的或者多特异性的。在某些实施方式中,本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段进一步与具有与所述抗CD3抗体不同的结合特异性的第二功能部分或其抗原结合片段连接。在一些实施方式中,本文所提供的双特异性抗体或多特异性抗体及其抗原结合片段对CD3具有第一特异性,并且具有第二特异性。在一些实施方式中,第二特异性是针对CD3但针对不同的表位的。在一些实施方式中,第二特异性针对不同于CD3的第二抗原,并且其在表达CD3的T细胞附近的存在对于第二抗原被免疫系统识别是所期望的。例如,使表达CD3的T细胞非常接近肿瘤抗原或病原体抗原,从而促进免疫系统对此类抗原的识别或消除。

[0667] 在某些实施方式中,第二特异性是针对肿瘤相关抗原或其表位的。术语“肿瘤相关抗原”是指一种抗原,其出现在或可以呈递在肿瘤细胞表面上,也可以位于肿瘤细胞上或肿瘤细胞内。在一些实施方式中,肿瘤相关抗原只能由肿瘤细胞呈递,而不能由正常细胞(即,非肿瘤细胞)呈递。在一些其它实施方式中,肿瘤相关抗原可以排他性地表达于肿瘤细胞上或可以表示相较于非肿瘤细胞的肿瘤特异性突变。在一些其它实施方式中,肿瘤相关抗原可以在肿瘤细胞和非肿瘤细胞两者中找到,但当相较于非肿瘤细胞时在肿瘤细胞上过表达,或由于相较于非肿瘤组织的肿瘤组织的较不紧凑结构而可用于肿瘤细胞中的抗体结合。在一些实施方式中,肿瘤相关抗原位于肿瘤的脉管系统上。

[0668] 在某些实施方式中,本文所提供的双特异性抗体或多特异性抗体或其抗原结合片段能够与除CD3以外的一种或多种(例如,1种、2种、3种、4种、5种或更多种)另外的抗原特异性结合,或与CD3上的第二表位特异性结合。在某些实施方式中,除CD3以外的一种或多种另外的抗原选自以下组成的组:CD16a、CD33、CD38、CD45、CD123、CD146、CD228、CLL-1、FLT3、FLT3L、TAF1、TgPRF、HVCN1、IL-6R、IL-11R、IL17A、IL-23R、IL-33、ILDR2、LAP、TSLP、TREM-1、ANGPT2、APOE、IFNAR、CypA、DOG-1、NKP30、CSF-1R、CCR2、LRR15、间皮素、Dickkopf2、DLL3、HER-2、C10orf54、TrkA、MEKK1、KRAS、ERK、XPO1、mTORC1/2、PAK4、NAMPT、ATR、EGFR、FGFR、VEGF、LILRB(例如,LILRB1、LILRB2、LILRB3、LILRB4、LILRB5)、c-MET、Her2、Her3、CTLA4、GITA、CD112R、CD2、CD7、CD16、CD19、CD20、CD24、CD27、CD30、CD34、CD37、CD39、CD70、CD73、CD83、CD28、CD80(B7-1)、CD86(B7-2)、CD40、CD40L(CD154)、CD47、SIRP α 、CD122、CD137、CD137L、OX40(CD134)、OX40L(CD252)、BCMA(例如,BCMA02)、PSMA、CLDN18(例如,CLDN18.2)、NKG2C、4-1BB、LIGHT、PVRIG、SLAMF7、HVEM、BAFFR、ICAM-1、2B4、LFA-1、GITR、ICOS(CD278)、ICOSLG(CD275)、LAG3(CD223)、A2AR、B7-H3(CD276)、B7-H4(VTCN1)、B7-H5、BTLA(CD272)、CD160、CTLA-4(CD152)、GPCR5D、IDO(例如,IDO1、IDO2)、TDO、KIR、LAIR-1、NOX2、PD-1、PD-L1、PD-L2、TIM-3、VISTA、SIGLEC-7(CD328)、SIGLEC-9(CD329)、SIGLEC-15、TIGIT、PVR(CD155)、TLR3、CLEC9A、DEC-205、STING和TGF β 。

[0669] 在某些实施方式中,本文所提供的双特异性抗体或其抗原结合片段能够特异性地与CD3和CD19结合。在某些实施方式中,本文所提供的双特异性抗体或其抗原结合片段能够特异性地结合至CD3和CLDN18(例如,CLDN18.2)。在某些实施方式中,本文所提供的双特异性抗体或其抗原结合片段能够特异性地结合至CD3和PD-L1。在某些实施方式中,本文所提

供的双特异性抗体或其抗原结合片段能够特异性地结合至CD3和BCMA。在某些实施方式中,本文所提供的双特异性抗体或其抗原结合片段能够特异性地结合至CD3和GPCR5D。

[0670] 缀合物

[0671] 在一些实施方式中,本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段进一步包括一个或多个缀合物部分。缀合物部分可以与抗体或其抗原结合片段连接。结合部分是可以与抗体或其抗原结合片段连接的部分。可设想到,多种缀合物部分可以与本文所提供的抗体或其抗原结合片段结合(参见例如“缀合物疫苗 (Conjugate Vaccines)”,《对微生物学和免疫学的贡献 (Contributions to Microbiology and Immunology)》,J.M.Cruse和R.E.Lewis, Jr. (编辑),纽约Carger出版社 (Carger Press, New York), (1989))。这些缀合物部分可以通过共价结合(例如,二硫键)、亲和力结合、嵌入、配位结合、络合、缔合、共混或添加等方法与抗体或其抗原结合片段连接。在一些实施方式中,抗体或其抗原结合片段可以通过连接子或交联剂与一种或多种缀合物连接。连接子或交联剂包括反应性化学基团,所述反应性化学基团可以与本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段反应。反应性化学基团可以是N-琥珀酰亚胺基酯和N-磺基琥珀酰亚胺基酯。另外,所述连接子包括反应性化学基团,所述反应性化学基团是可以与药物反应以形成二硫键的二硫代吡啶基。连接子分子包括例如N-琥珀酰亚胺基4-(马来酰亚胺基甲基)环己烷甲酸酯(SMCC)、N-琥珀酰亚胺基3-(2-吡啶基二硫代)丙酸酯(SPDP)(参见例如Carlsson等人,《生物化学杂志》,173:723-737 (1978))、N-琥珀酰亚胺基4-(2-吡啶基二硫代)丁酸酯(SPDB)(参见例如美国专利第4,563,304号)、N-琥珀酰亚胺基4-(2-吡啶基二硫代)2-磺基丁酸酯(磺基-SPDB)(参见美国公开第20090274713号)、N-琥珀酰亚胺基4-(2-吡啶基二硫代)戊酸酯(SPP)(参见例如CAS注册号341498-08-6)、2-亚氨基硫烷或乙酰琥珀酸酐。例如,抗体或细胞结合剂可以用交联试剂修饰,并且因此所得含有游离或受保护的硫醇基团的抗体或细胞结合剂然后与含有二硫化物或硫醇的美登醇(maytansinoid)反应以产生缀合物。缀合物可以通过色谱纯化,包括但不限于HPLC、尺寸排阻、吸附、离子交换和亲和力捕获、透析或正切流过滤。

[0672] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段可以被工程化以含有表位结合部分之外的可以用于与一个或多个缀合物部分结合的特异性位点。例如,此类位点可以包括一个或多个反应性氨基酸残基,例如半胱氨酸或组氨酸残基,以促进与缀合物部分的共价连接。

[0673] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段可以间接地或通过另一缀合物部分与缀合物部分连接。例如,本文所提供的抗体或其抗原结合片段可以与生物素缀合,然后与和亲和素缀合的第二缀合物间接缀合。在一些实施方式中,缀合物部分包括清除修饰剂(例如,延长半衰期的聚合物,如PEG)、化学治疗剂、毒素、放射性同位素、镧系元素、可检测标记(例如,发光标记、荧光标记、酶底物标记)、DNA烷基化剂、拓扑异构酶抑制剂、微管蛋白结合剂、纯化部分或其它抗癌药物(例如,toll样受体7 (TLR-7)、TLR-8和/或TLR-9的激动剂、siRNA、抗体或其抗原结合片段、肽(如短肽)等)。

[0674] “毒素”可以是对细胞有害或可以损伤或杀死细胞的任何药剂。毒素的实例包括但不限于紫杉醇、紫杉烷类、CC-1065和CC-1065类似物、杜卡霉素(duocarmycin)和杜卡霉素类似物、如卡奇霉素(calicheamicin)等烯二炔类、多拉司他汀(dolastatin)和多拉司他汀类似物(包括澳瑞他汀(auristatin))、托美霉素衍生物(tomaymycin derivative)、来普霉

素衍生物(leptomycin derivative)、顺铂(cisplatin)、卡铂(carboplatin)、柔红霉素、阿霉素、长春新碱(vincristine)、长春碱(vinblastine)、马法兰(melphalan)、丝裂霉素C、苯丁酸氮芥和吗啉代阿霉素、细胞松弛素B、短杆菌肽D、溴化乙锭、吐根碱、丝裂霉素、依托泊苷(etoposide)、替尼泊苷(tenoposide)、MMAE、MMAF、DM1、DM4、长春花碱(vinblastine)、秋水仙碱(colchicine)、阿霉素、柔红霉素、二羧基炭疽菌素二酮(dihydroxy anthracin dione)、米托蒽醌(mitoxantrone)、光神霉素(mithramycin)、放线菌素D(actinomycin D)、1-去氢鞣酮、糖皮质激素、普鲁卡因(procaine)、丁卡因(tetracaine)、利多卡因(lidocaine)、普萘洛尔(propranolol)、嘌呤霉素(puromycin)和其类似物、抗代谢物(例如,甲氨蝶呤、6-巯基嘌呤、6-巯鸟嘌呤、阿糖胞苷、5-氟尿嘧啶、达卡巴嗪(dacarbazine)、烷化剂(例如,氮芥、塞替派苯丁酸氮芥(thioepa chlorambucil)、美法仑(melphalan)、卡莫司汀(carmustine) (BSNU) 和洛莫司汀(lomustine) (CCNU)、环磷酰胺、白消安(busulfan)、二溴甘露醇、链脲霉素(streptozotocin)、丝裂霉素C和二氯二胺铂(II) (DDP 顺铂)、蒽环霉素(anthracycline) (例如,柔红霉素(以前的道诺霉素(daunomycin)和阿霉素)、抗生素(例如,更生霉素(dactinomycin) (以前的放线菌素)、博来霉素(bleomycin)、光神霉素和氨茴霉素(anthracycline) (AMC))、抗有丝分裂剂(例如,长春新碱和长春碱)、拓扑异构酶抑制剂和微管蛋白结合剂。

[0675] 可检测标记的实例可以包括荧光标记(例如,荧光素、罗丹明、丹酰、藻赤素或德克萨斯红)、酶底物标记(例如,辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶、荧光素酶、葡萄糖淀粉酶、溶菌酶、糖类氧化酶或 β -D-半乳糖苷酶)、放射性同位素(例如, ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{35}S 、 ^3H 、 ^{111}In 、 ^{112}In 、 ^{14}C 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{86}Y 、 ^{88}Y 、 ^{90}Y 、 ^{177}Lu 、 ^{211}At 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{153}Sm 、 ^{212}Bi 和 ^{32}P 、其它镧系元素)、发光标记、发色团部分、地高辛、生物素/亲和素、DNA分子或金以供检测。

[0676] 在某些实施方式中,缀合物部分可以是帮助增加抗体的半衰期的清除修饰剂。说明性实例包括水溶性聚合物,如PEG、羧甲基纤维素、葡聚糖、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮、乙二醇/丙二醇的共聚物等。聚合物可以具有任何分子量,并且可以是支化的或未支化的。与抗体连接的聚合物的数量可能会有所不同,并且如果连接多于一种聚合物,则它们可以是相同或不同的分子。

[0677] 在某些实施方式中,缀合物部分可以是纯化部分,如磁珠。

[0678] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段用作缀合物的基底。

[0679] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段与单个肽缀合。信号肽(有时称为信号序列、前导序列或前导肽)可以用于促进本文所提供的抗体或其抗原结合片段的分泌和分离。信号肽通常表征为疏水氨基酸的核心,所述疏水氨基酸通常在一个或多个切割事件中在分泌期间从成熟蛋白质上切割下来。此类信号肽含有加工位点,当成熟蛋白质穿过分泌途径时,所述加工位点允许从成熟蛋白质上切割信号序列。因此,本发明涉及所描述的具有信号序列的多肽以及信号序列已经被蛋白水解切割的多肽(即,切割产物)。在一个实施方式中,编码信号序列的核酸序列可以在表达载体中与所关注的蛋白质,如通常不分泌或以其它方式难以分离的蛋白质可操作地连接。信号序列引导蛋白质的分泌,如从表达载体转化到其中的真核宿主,并且信号序列随后或同时被切割。然后可以通过本领域公认的方法容易地从细胞外培养基中纯化蛋白质。可替代地,信号序列可以使用促进纯化的序列与所关注的蛋白质连接,如使用GST结构域。

[0680] 嵌合抗原受体

[0681] 在某些实施方式中,本公开提供了一种嵌合抗原受体,所述嵌合抗原受体包括本文所提供的抗体或其抗原结合片段、跨膜区以及细胞内信号区。

[0682] 如本文所使用的,术语“嵌合抗原受体”或“CAR”是指将抗原特异性移植到细胞(例如,T细胞,如原初T细胞、中枢记忆T细胞、效应记忆T细胞、调节T细胞,天然杀伤细胞或其任何组合)的工程化受体。CAR也被称为人造细胞受体、嵌合细胞受体或嵌合免疫受体。在一些实施方式中,CAR包括抗原特异性靶向区(例如,如本文所提供的抗CD3抗体的抗原结合片段)、细胞外区、跨膜区、一个或多个共刺激区以及细胞内信号区。

[0683] 在一些实施方式中,所述抗原特异性靶向区是scFv。在一些实施方式中,所述跨膜区包括CD3、CD4、CD8或CD28的跨膜区。在一些实施方式中,共刺激区包括CD28、ICOS、CD27、4-1BB、OX40和CD40L的共刺激结构域。在一些实施方式中,所述细胞内信号区选自以下组成的组:CD3、Fc γ RI、CD27、CD28、CD137、CD134、MyD88、CD40、CD278、TLR或其组合的细胞内信号区序列。

[0684] CAR可以被移植到各种细胞,例如,同种异体细胞、自体细胞或异种细胞。

[0685] 本文中使用的术语“同种异体细胞”是指源自相同物种的不同个体的任何细胞。

[0686] 本文中使用的术语“自体细胞”是指源自同一个体的任何细胞,这些细胞随后被重新引入该个体。

[0687] 本文中使用的术语“异种细胞”是指源自不同物种的不同个体的任何细胞。

[0688] 在某些实施方式中,CAR被移植到免疫效应细胞,例如,T细胞、自然杀伤细胞、巨噬细胞、肿瘤浸润淋巴细胞等。

[0689] 多核苷酸和重组方法

[0690] 本公开提供了分离的多核苷酸,所述分离的多核苷酸编码本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段和/或编码本文所提供的嵌合抗原受体。如本文所使用的,术语“核酸”或“多核苷酸”是指呈单链或双链形式的脱氧核糖核酸(DNA)或核糖核酸(RNA)和其聚合物。除非另外指出,否则特定多核苷酸序列还隐含地涵盖其保守修饰的变体(例如,简并密码子取代)、等位基因、直系同源物、SNP和互补序列以及明确指出的序列。具体地说,简并密码子取代可以通过生成序列来实现,在所述序列中,一个或多个所选的(或全部)密码子的第三位被混合碱基和/或脱氧肌苷残基取代(参见Batzner等人,《核酸研究》19:5081(1991); Ohtsuka等人,《生物化学杂志》,260:2605-2608(1985);以及Rossolini等人,《分子与细胞探测(Mol.Cell.Probes)》,8:91-98(1994))。

[0691] 编码抗体或其抗原结合片段的DNA或本文所提供的嵌合抗原受体使用常规程序(例如通过使用能够与编码抗体的重链和轻链的基因特异性结合的寡核苷酸探针)容易地分离和测序。编码DNA也可以通过合成方法获得。

[0692] 可以使用本领域已知的重组技术将编码本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段和/或本文所提供的嵌合抗原受体的分离的多核苷酸插入到载体中以供进一步克隆(DNA的扩增)或表达。许多载体可用。载体组成通常包括但不限于以下中的一种或多种:信号序列、复制起点、一种或多种标志物基因、增强子元件、启动子(例如,SV40、CMV、EF-1 α)和转录终止序列。

[0693] 本公开提供了包括本文所提供的分离的多核苷酸的载体。在某些实施方式中,本

文所提供的多核苷酸编码抗体或其抗原结合片段和/或嵌合抗原受体、与核酸序列可操作地连接的至少一种启动子(例如,SV40、CMV、EF-1 α)以及至少一种选择标志物。载体的实例包括但不限于逆转录病毒(包括慢病毒)、腺病毒、腺相关病毒、疱疹病毒(例如,单纯疱疹病毒)、痘病毒、杆状病毒、乳头瘤病毒、乳多空病毒(例如,SV40)、 λ 噬菌体和M13噬菌体、质粒 pcDNA3.3、pMD18-T、pOptivec、pCMV、pEGFP、pIRES、pQD-Hyg-GSeu、pALTER、pBAD、pcDNA、pCa1、pL、pET、pGEMEX、pGEX、pCI、pEGFT、pSV2、pFUSE、pVITRO、pVIVO、pMAL、pMON0、pSELECT、pUN0、pDU0、Psg5L、pBABE、pWPXL、pBI、p15TV-L、pPro18、pTD、pRS10、pLexA、pACT2.2、pCMV-SCRIPT.RTM.、pCDM8、pCDNA1.1/amp、pcDNA3.1、pRc/RSV、PCR 2.1、pEF-1、pFB、pSG5、pXT1、pCDEF3、pSVSPORT、pEF-Bos等。

[0694] 包括编码本文所提供的抗体或其抗原结合片段和/或嵌合抗原受体的多核苷酸序列的载体可以被引入到宿主表达系统(例如,宿主细胞)进行克隆或基因表达。在某些实施方式中,本文所提供的宿主表达系统是微生物、酵母或哺乳动物细胞。在某些实施方式中,所述微生物选自大肠杆菌和枯草芽孢杆菌组成的组。在某些实施方式中,所述酵母是酵母菌属。在某些实施方式中,所述哺乳动物细胞选自下组: COS、CHO-S、CHO-K1、HEK-293和3T3细胞。

[0695] 用于克隆或表达本文载体中的DNA的合适宿主细胞是上述原核细胞、酵母细胞或高等真核细胞。用于此目的的合适的原核生物包括真细菌,如革兰氏阴性或革兰氏阳性生物体,例如肠杆菌科(Enterobacteriaceae),如埃希氏杆菌属(*Escherichia*) (例如,大肠杆菌)、肠杆菌属(*Enterobacter*)、欧文氏菌属(*Erwinia*)、克雷伯氏菌属(*Klebsiella*)、变形杆菌属(*Proteus*)、沙门氏菌属(*Salmonella*) (例如,鼠伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhimurium*))、沙雷氏菌属(*Serratia*) (例如,粘质沙雷氏菌(*Serratia marcescens*)) and 志贺氏菌属(*Shigella*)以及芽孢杆菌属(*Bacilli*),如枯草芽孢杆菌和地衣芽孢杆菌(*B.licheniformis*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*),如铜绿假单胞菌(*P.aeruginosa*)以及链霉菌属(*Streptomyces*)。

[0696] 除了原核生物之外,真核微生物(如丝状真菌或酵母)也是编码抗CD3抗体的载体的合适克隆或表达宿主。酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)或普通面包酵母是低等真核宿主微生物中最常用的。然而,许多其它属、种和菌株都比较常用且在本文中适用,如粟酒裂殖酵母(*Schizosaccharomyces pombe*);克鲁维酵母属宿主(*Kluyveromyces host*),例如乳酸克鲁维酵母(*K.lactis*)、脆壁克鲁维酵母(*K.fragilis*) (ATCC 12,424)、保加利亚克鲁维酵母(*K.bulgaricus*) (ATCC 16,045)、魏氏克鲁维酵母(*K.wickerhamii*) (ATCC 24,178)、克鲁维酵母(*K.waltii*) (ATCC 56,500)、果蝇克鲁维酵母(*K.drosophilarum*) (ATCC 36,906)、耐热克鲁维酵母(*K.thermotolerans*)和马克斯克鲁维酵母(*K.marxianus*);耶氏酵母属(*Yarrowia*) (EP 402,226);巴斯德毕赤酵母(*Pichia pastoris*) (EP 183,070);假丝酵母(*Candida*);里氏木霉(*Trichoderma reesia*) (EP 244,234);粗糙脉孢菌(*Neurospora crassa*);许旺酵母(*Schwanniomyces*),如西方许旺酵母(*Schwanniomyces occidentalis*);以及丝状真菌(filamentous fungi),例如脉孢菌(*Neurospora*)、青霉菌(*Penicillium*)、弯颈霉(*Tolypocladium*)和曲霉菌宿主(*Aspergillus host*) (如钩巢曲霉(*A.nidulans*)和黑曲霉(*A.niger*))。

[0697] 用于表达本文所提供的糖基化抗体或其抗原结合片段的合适宿主细胞源自多细

胞生物体。无脊椎细胞的实例包括植物和昆虫细胞。已鉴定多种杆状病毒株和变体以及对应的许可性昆虫宿主细胞,所述许可性昆虫宿主细胞来自于如以下等宿主:草地夜蛾(*Spodoptera frugiperda*) (毛虫)、埃及斑蚊(*Aedes aegypti*) (蚊子)、白纹伊蚊(*Aedes albopictus*) (蚊子)、黑腹果蝇(*Drosophila melanogaster*) (果蝇)和家蚕(*Bombyx mori*)。多种用于转染的病毒株为公众可得,例如苜蓿银纹夜蛾(*Autographa californica*) NPV的L-1变体以及家蚕NPV的Bm-5株变体,并且此类病毒都可以根据本发明用作本文的病毒,特别是用于转染草地夜蛾细胞。棉花、玉米、马铃薯、大豆、矮牵牛、番茄和烟草的植物细胞培养物也可以用作宿主。

[0698] 然而,最感兴趣的是脊椎动物细胞,并且脊椎动物细胞在培养物(组织培养物)中的繁殖已成为常规程序。有用的哺乳动物宿主细胞系的实例是由SV40(COS-7, ATCC CRL 1651)转化的猴肾CV1系;人胚胎肾系(被亚克隆以在悬浮培养物中生长的293或293细胞, Graham等人,《普通病毒学期刊(J.Gen.Virol.)》36/59(1977));幼仓鼠肾细胞(BHK, ATCC CCL 10);中国仓鼠卵巢细胞/-DHFR(CHO, Urlaub等人,《美国国家科学院院刊》77:4216(1980));小鼠赛尔托利细胞(TM4, Mather,《生殖生物学(Biol.Reprod.)》23:243-251(1980));猴肾细胞(CV1 ATCC CCL 70);非洲绿猴肾细胞(VERO-76, ATCC CRL-1587);人宫颈癌细胞(HELA, ATCC CCL 2);犬肾细胞(MDCK, ATCC CCL 34);布法罗大鼠(buffalo rat)肝细胞(BRL 3A, ATCC CRL 1442);人肺细胞(W138, ATCC CCL 75);人肝细胞(Hep G2, HB 8065);小鼠乳腺肿瘤(MMT 060562, ATCC CCL51);TRI细胞(Mather等人,《纽约科学院年鉴(Annals N.Y.Acad.Sci.)》383:44-68(1982));MRC 5细胞;FS4细胞;小鼠前胃癌细胞(MFC)、SNU620细胞和人肝癌系(Hep G2)。在一些实施方式中,宿主细胞是哺乳动物培养的细胞系,如CHO、BHK、NS0、293、MFC、SNU620和其衍生物。

[0699] 用上述用于抗CD3抗体产生的表达或克隆载体转化宿主细胞,并将所述宿主细胞在常规营养培养基中培养,所述常规营养培养基被改性成适于诱导启动子、选择转化子或扩增编码期望的序列的基因。在另一个实施方式中,抗体可以通过本领域已知的同源重组产生。在某些实施方式中,宿主细胞能够产生本文所提供的抗体或其抗原结合片段。

[0700] 本公开还提供了一种表达本文所提供的抗体或其抗原结合片段和/或嵌合抗原受体的方法,所述方法包括在表达抗体或其抗原结合片段和/或嵌合抗原受体的条件下培养本文所提供的宿主表达系统。用于产生本文所提供的抗体或其抗原结合片段和/或嵌合抗原受体的宿主表达系统可以在多种培养基中培养。可商购获得的培养基如Ham's F10(西格马(Sigma))、最低必需培养基(Minimal Essential Medium, MEM)(西格马)、RPMI-1640(西格马)和杜氏改良伊氏培养基(Dulbecco's Modified Eagle's Medium, DMEM)(西格马)适用于培养宿主细胞。另外,在以下中描述的任何培养基都可以用作宿主细胞的培养基:Ham等人,《酶学方法(Meth.Enz.)》58:44(1979);Barnes等人,《分析生物化学(Anal.Biochem.)》102:255(1980);美国专利第4,767,704号;第4,657,866号;第4,927,762号;第4,560,655号或第5,122,469号;WO 90/03430;WO 87/00195;或美国再版专利30,985。任何这些培养基都可以根据需要补充激素和/或其它生长因子(如胰岛素、转铁蛋白或表皮生长因子)、盐(如氯化钠、钙、镁和磷酸盐)、缓冲液(如HEPES)、核苷酸(如腺苷和胸苷)、抗生素(如GENTAMYCINTM药物)、微量元素(定义为最终浓度通常在微摩尔范围内的无机化合物)和葡萄糖或等效能量源。也可以以本领域技术人员已知的适当浓度包括任何其它必要

的补充物。如温度、pH等培养条件是先前与被选定用于表达的宿主细胞一起使用的那些条件,并且对于本领域技术人员而言将是显而易见的。

[0701] 当使用重组技术时,抗体可以在细胞内、周质间隙中产生,或者直接分泌到培养基中。如果在细胞内产生抗体,那么作为第一步骤,可以例如通过离心或超滤来去除宿主细胞或溶解的片段的微粒状碎片。Carter等人,《生物/技术》10:163-167(1992)描述了一种用于分离分泌到大肠杆菌的周质间隙的抗体的程序。简而言之,将细胞糊在醋酸钠(pH 3.5)、EDTA和苯甲基磺酰氟(PMSF)的存在下解冻约30分钟。细胞碎片可以通过离心去除。当抗体被分泌到培养基中时,通常首先使用可商购获得的蛋白质浓缩过滤器(例如Amicon或Millipore Pellicon超滤单元)对来自此类表达系统的上清液进行浓缩。如PMSF等蛋白酶抑制剂可以包括在上述步骤中的任何步骤中以抑制蛋白水解,并且可以包括抗生素以防止外来污染物的生长。

[0702] 由宿主表达系统制备的抗CD3抗体或其抗原结合片段和/或嵌合抗原受体可以使用例如羟基磷灰石色谱法、凝胶电泳、透析、DEAE-纤维素离子交换色谱法、硫酸铵沉淀、盐析和亲和色谱法来纯化,其中亲和色谱法是优选的纯化技术。

[0703] 在某些实施方式中,固定在固相上的蛋白A用于本文所提供的抗体及其抗原结合片段和/或嵌合抗原受体的免疫亲和纯化。蛋白A是否合适作为亲和配体取决于抗体中存在的任何免疫球蛋白Fc域的种类和同种型。蛋白A可以用于纯化基于人 $\gamma 1$ 、 $\gamma 2$ 或 $\gamma 4$ 重链的抗体(Lindmark等人,《免疫学方法杂志》62:1-13(1983))。蛋白G被推荐用于所有小鼠同种型和人 $\gamma 3$ (Guss等人,《欧洲分子生物学学会杂志(EMBO J.)》5:1567-1575(1986))。亲和配体附着的基质最常为琼脂糖,但其它基质也是可用的。与可以用琼脂糖实现的流速和处理时间相比,机械稳定的基质如可控孔度玻璃或聚(苯乙烯二乙烯)苯可实现更快的流速和更短的处理时间。在抗体包括CH3结构域的情况下,Bakerbond ABXTM树脂(新泽西州菲利普斯堡马林克罗特贝克有限公司(J.T.Baker,Phillipsburg,N.J.)可用于纯化。根据待回收的抗体,用于蛋白质纯化的其它技术也是可用的,如在离子交换柱上进行分级、乙醇沉淀、反相HPLC、在二氧化硅上进行色谱法、在肝素SEPHAROSE™上进行色谱法、在阴离子或阳离子交换树脂(如聚天冬氨酸柱)上进行色谱法、色谱聚焦、SDS-PAGE、以及硫酸铵沉淀。

[0704] 在任何初步纯化步骤之后,可以使用pH介于约2.5-4.5之间的洗脱缓冲液使包含所关注抗体和污染物的混合物经受低pH疏水相互作用色谱法,优选地在低盐浓度(例如,约0-0.25M盐)下进行。

[0705] 药物组合物

[0706] 本公开进一步提供了药物组合物,其包括本文所提供的抗CD3抗体或其抗原结合片段和/或嵌合抗原受体,以及一种或多种药学上可接受的载体。

[0707] 用于本文公开的药物组合物的药学上可接受的载体可以包括例如药学上可接受的液体、凝胶或固体载体、水性媒剂、非水性媒剂、抗微生物剂、等渗剂、缓冲剂、抗氧化剂、麻醉剂、悬浮剂/分配剂、多价螯合剂或螯合剂、稀释剂、佐剂、赋形剂或无毒辅助物质、本领域已知的其它组分或其各种组合。

[0708] 合适的组分可以包括例如抗氧化剂、填料、粘结剂、崩解剂、缓冲剂、防腐剂、润滑剂、调味剂、增稠剂、着色剂、乳化剂或稳定剂,如糖和环糊精。合适的抗氧化剂可以包括例如甲硫氨酸、抗坏血酸、EDTA、硫代硫酸钠、铂、过氧化氢酶、柠檬酸、半胱氨酸、硫代甘油、硫

基乙酸、硫代山梨糖醇、丁基化羟基茴香醚(butylated hydroxanisole)、丁基化羟基甲苯和/或没食子酸丙酯。如本文所公开的,在包括本文所提供的抗体或其抗原结合片段和缀合物的组合物中包括一种或多种如甲硫氨酸等抗氧化剂降低了抗体或其抗原结合片段的氧化。这种氧化降低可防止或减少结合亲和力的丧失,从而提高抗体稳定性并最大化保质期。因此,在某些实施方式中,提供了包括如本文公开的一种或多种抗体或其抗原结合片段和一种或多种如甲硫氨酸等抗氧化剂的药物组合物。进一步提供了用于通过将抗体或抗原结合片段与一种或多种如甲硫氨酸等抗氧化剂混合来防止本文所提供的抗体或抗原结合片段的氧化、延长保质期和/或提高功效的方法。

[0709] 为了进一步说明,药学上可接受的载体可以包括例如:水性媒剂,如氯化钠注射液、林格氏注射液(Ringer's injection)、等渗右旋糖注射液、无菌水注射液或右旋糖和乳酸林格氏注射液;非水性媒剂,如植物来源的固定油、棉籽油、玉米油、芝麻油或花生油;细菌抑制或真菌抑制浓度下的抗微生物剂;等渗剂,如氯化钠或右旋糖;缓冲剂,如磷酸盐或柠檬酸盐缓冲剂;抗氧化剂,如硫酸氢钠;局部麻醉剂,如盐酸普鲁卡因;悬浮和分散剂,如羧甲基纤维素钠、羟丙基甲基纤维素或聚乙烯吡咯烷酮;乳化剂,如聚山梨醇酯80(TWEEN-80);多价螯合剂或螯合剂,如EDTA(乙二胺四乙酸)或EGTA(乙二醇四乙酸);乙醇;聚乙二醇;丙二醇;氢氧化钠;盐酸;柠檬酸或乳酸。可以将用作载体的抗微生物剂添加到多剂量容器中的药物组合物中,所述抗微生物剂包括苯酚或甲酚、汞剂、苯甲醇、氯丁醇、对羟基苯甲酸甲酯和丙酯、硫柳汞、苯扎氯铵和苄索氯铵。合适的赋形剂可以包括例如水、盐水、右旋糖、甘油或乙醇。合适的无毒辅助物质可以包括例如润湿剂或乳化剂、pH缓冲剂、稳定剂、溶解度增强剂或如乙酸钠、脱水山梨糖醇单月桂酸酯、三乙醇胺油酸酯或环糊精等药剂。

[0710] 药物组合物可以是液体溶液、悬浮液、乳液、丸剂、胶囊、片剂、缓释调配物或粉末。口服调配物可以包括标准载体,如医药级的甘露醇、乳糖、淀粉、硬脂酸镁、聚乙烯吡咯烷酮、糖精钠、纤维素、碳酸镁等。

[0711] 在某些实施方式中,将药物组合物调配成可注射药物组合物。可注射组合物可以以任何常规形式制备,所述常规形式例如液体溶液、悬浮液、乳液或适用于产生液体溶液、悬浮液或乳液的固体形式。注射制剂可以包括准备注射的无菌和/或无热原溶液、准备在使用前与溶剂组合的无菌干燥可溶性产品(如冻干粉末,包括皮下注射片剂)、准备注射的无菌悬浮液、准备在使用前与媒剂组合的无菌干燥的不溶性产品以及无菌和/或无热原乳液。溶液可以是水性的或非水性的。

[0712] 在某些实施方式中,单位剂量肠胃外制剂被包装在安瓿、小瓶或带有针头的注射器中。正如本领域已知和实践的一样,所有用于肠胃外施用的制剂都应该是无菌且无热原的。

[0713] 在某些实施方式中,通过将如本文公开的抗体或其抗原结合片段溶解在合适的溶剂中来制备无菌冻干粉末。所述溶剂可以含有赋形剂,所述赋形剂可改善粉末或由粉末制备的重构溶液的稳定性或其它药理学组分。可以使用的赋形剂包括但不限于水、右旋糖、山梨糖醇、果糖、玉米糖浆、木糖醇、甘油、葡萄糖、蔗糖或其它合适的药剂。溶剂可以含有缓冲剂,如柠檬酸盐、磷酸钠或磷酸钾、或本领域技术人员已知的其它此类缓冲剂,在一个实施方式中,所述缓冲剂为约中性pH。随后对溶液进行无菌过滤,然后在本领域技术人员已知的标准条件下冻干,从而提供期望的调配物。在一个实施方式中,将所得溶液分配到小瓶中以冻干。每个小瓶可以含有单剂量或多剂量的抗CD3抗体或其抗原结合片段或其组合物。用略

微高于每次剂量所需或多次剂量所需的量(例如约10%)过填充小瓶是可接受的,以便促进取样精确和给药精确。可以在适当的条件下(如在约4℃到室温下)储存冻干粉末。

[0714] 用注射用水将冻干粉末重构,从而提供用于肠胃外施用的调配物。在一个实施方式中,为了重构,将无菌和/或无热原水或其它合适的液体载体添加到冻干粉末中。精确的量取决于给予的所选疗法并且可以根据经验确定。

[0715] 试剂盒

[0716] 在某些实施方式中,本公开提供了一种试剂盒,所述试剂盒包括本文所提供的抗体或其抗原结合片段和/或本文所提供的药物组合物和/或本文所提供的嵌合抗原受体。在某些实施方式中,本公开提供了一种试剂盒,所述试剂盒包括本文所提供的抗体或其抗原结合片段和/或本文所提供的药物组合物和/或本文所提供的嵌合抗原受体以及第二治疗剂。在某些实施方式中,第二治疗剂选自以下组成的组:检测剂、化学治疗剂、抗癌药物、放射疗法、免疫治疗剂、抗血管生成剂、靶向疗法、细胞疗法、基因疗法、激素疗法、抗病毒剂、抗生素、镇痛剂、抗氧化剂、金属螯合剂和细胞因子。

[0717] 如将对本领域的技术人员显而易见的是,如果需要,此类药物试剂盒可以进一步包括各种常规试剂盒组件中的一个或多个,例如具有一种或多种药学上可接受的载体的容器、另外的容器等。试剂盒中还可以包括指示待施用的组分的量的说明书(作为插入物或作为标签)、施用指南和/或用于混合组分的指南。

[0718] 使用方法

[0719] 本公开还提供了在受试者中治疗、预防或减轻疾病、病症或病状的方法,其包括向该受试者施用治疗有效量的本文所提供的抗体或其抗原结合片段和/或本文所提供的药物组合物和/或本文所提供的嵌合抗原受体。在某些实施方式中,疾病、病症或病状是CD3相关疾病、病症或病状。在某些实施方式中,受试者是人类。

[0720] 在一些实施方式中,CD3相关的疾病、病症或病状的特征在于表达或过表达CD3。

[0721] 在某些实施方式中,疾病、病症或病症是免疫性疾病、炎性疾病、癌症或神经系统疾病。在某些实施方式中,所述癌症是CD3表达性癌症。如本文所使用的,“CD3表达性癌症”是指特征在于表达癌细胞(即肿瘤浸润免疫细胞)中的CD3蛋白或表达癌细胞(即肿瘤浸润免疫细胞)中的CD3的癌症,其表达水平显著高于正常细胞的预期水平。可以使用各种方法来确定受试者的测试生物样品中CD3的存在和/或量。例如,测试生物样品可以暴露于抗CD3抗体或其抗原结合片段,其结合并检测所表达的CD3蛋白。可替代地,也可以使用如qPCR、逆转录酶PCR、微阵列、SAGE、FISH等方法在核酸表达水平上检测CD3。在一些实施方式中,测试样品源自癌细胞或组织、或肿瘤浸润免疫细胞。参考样品可以是健康或非患病个体获得的对照样品,或者是从测试样品所获自的同一个体获得的健康或非患病样品。例如,参考样品可以是与测试样品(例如,肿瘤)相邻或在测试样品附近的非患病样品。在某些实施方式中,所述癌症是实体瘤或血液肿瘤。

[0722] 在某些实施方式中,疾病、病症或病状选自以下组成的组:肺癌(例如,非小细胞肺癌(NSCLC)、小细胞肺癌(SCLC)(肺腺癌或肺鳞状细胞癌)、腹膜癌、类癌、骨癌、胰腺癌、原发性神经外胚层瘤、皮肤癌、胆囊癌、头颈癌、鳞状细胞癌、子宫癌、卵巢癌、直肠癌、前列腺癌、膀胱癌(例如,尿路上皮癌)、肛区癌(例如,肛门鳞状细胞癌)、胃癌(gastric或stomach cancer)(例如,胃肠癌)、食道癌、结肠癌、乳腺癌、子宫癌、肝癌(例如,肝母细胞癌、肝细胞

性肝癌/肝细胞瘤或肝癌)、胆管癌、肉瘤、结直肠癌、输卵管癌、唾液腺癌、子宫颈癌、子宫内膜癌或子宫癌、骨肉瘤、阴道癌、阴户癌、食管癌、小肠癌、内分泌系统癌、甲状腺癌、甲状旁腺癌、肾上腺癌、鼻咽癌、软组织肉瘤、真性红细胞增多、尿道癌、阴茎癌、肾脏或尿道癌(例如,肾脏横纹肌样瘤)、皮肤T细胞淋巴瘤、成神经管细胞瘤、肾胚细胞瘤、骨髓增生异常综合征、慢性和非慢性骨髓增殖性病症、脉络丛乳头状瘤、肾细胞癌、肾盂癌、中枢神经系统(CNS)赘生物、软组织肉瘤(例如,横纹肌肉瘤、纤维肉瘤、卡波济氏肉瘤)、脊髓轴肿瘤、胶质瘤(例如,室管膜瘤、星形细胞瘤、间变型星形细胞瘤、少突神经胶质瘤)、眼癌(例如,视网膜母细胞瘤)、脑干胶质瘤或如少突星形细胞瘤等混合胶质瘤、脑瘤(例如,成胶质细胞瘤/多形性成胶质细胞瘤(GBM)、非成胶质细胞瘤脑瘤或脑膜瘤)、黑色素瘤(例如,皮肤或眼内黑色素瘤)、血小板增多、间皮瘤、蕈样肉芽肿、塞扎里综合征、原发性骨髓纤维化、孤立性浆细胞瘤、前庭神经鞘瘤、尤因氏肉瘤、软骨肉瘤、MYH相关息肉病、垂体腺瘤、小儿癌症,如小儿肉瘤(例如,神经母细胞瘤、横纹肌肉瘤和骨肉瘤),血液学癌症、霍奇金氏淋巴瘤、非霍奇金氏淋巴瘤、白血病(例如,淋巴细胞/成淋巴细胞白血病)、慢性或急性白血病、肥大细胞白血病、淋巴细胞淋巴瘤、原发性CNS淋巴瘤、慢性淋巴细胞白血病(CLL)、急性淋巴细胞白血病(ALL)、慢性髓系白血病(CML)、急性髓系白血病(AML)、慢性骨髓单核细胞性白血病(CMML)、慢性淋巴细胞白血病、急性淋巴细胞白血病、毛细胞白血病(HCL)、伯基特氏淋巴瘤(BL)、多发性骨髓瘤(例如,复发性或难治性多发性骨髓瘤)、T细胞或B细胞淋巴瘤、套细胞淋巴瘤(MCL)(例如,复发性或难治性套细胞淋巴瘤)、恶性黑色素瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)、由滤泡性淋巴瘤引起的DLBCL、高级B细胞淋巴瘤、原发性纵隔大B细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤(FL)和原发性纵隔B细胞淋巴瘤。

[0723] 在一些实施方式中,受试者已被鉴定为具有表达CD3的癌细胞或肿瘤浸润免疫细胞,任选地在显著高于通常在非癌细胞上发现的水平下。

[0724] 在另一方面中,提供了治疗、预防或减轻受试者的将受益于CD3活性的调节的疾病、病症或病状的方法,其包括向该受试者施用治疗有效量的本文所提供的抗体或其抗原结合片段和/或本文所提供的药物组合物和/或本文所提供的嵌合抗原受体。在某些实施方式中,该疾病、病症或病状是上文定义的CD3相关疾病、病症或病状。

[0725] 本文所提供的抗体或抗原结合片段的治疗有效量将取决于本领域已知的各种因素,例如,体重、年龄、既往病史、目前的药物治疗、受试者的健康状况和交叉反应的潜力、过敏、敏感性和不良副作用以及施用途径和疾病发展的程度。本领域技术人员(例如,医师或兽医)可以根据这些和其它情况或要求的指示按比例减少或增加剂量。

[0726] 在某些实施方式中,本文所提供的抗体或抗原结合片段和/或嵌合受体可以以约0.01mg/kg到约100mg/kg的治疗有效剂量施用。在某些实施方式中,施用剂量可以在治疗过程中改变。例如,在某些实施方式中,初始施用剂量可以高于随后的施用剂量。在某些实施方式中,施用剂量可以在治疗过程中根据受试者的反应而变化。

[0727] 可以调整剂量方案以提供最佳的期望应答(例如,治疗应答)。例如,可以施用单一剂量,或者可以随时间的推移施用多个分开的剂量。

[0728] 本文所提供的抗体或其抗原结合片段和/或嵌合抗原受体可以通过本领域已知的任何途径施用,例如,通过包括皮下注射、腹膜内注射、静脉内注射、肌肉内注射或皮内注射的肠胃外途径施用;或通过非胃肠外途径,包括透皮、口服、鼻内、眼内、舌下、直肠或外用。

[0729] 在一些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段和/或嵌合抗原受体可以单独施用或与治疗有效量的第二治疗剂组合施用。例如,本文公开的抗体或其抗原结合片段和/或嵌合抗原受体可以与第二治疗剂组合施用,所述第二治疗剂是例如检测剂、化疗剂、抗癌药物、放疗剂、免疫疗法药剂、靶向疗法药剂、细胞疗法药剂、基因疗法药剂、激素疗法药剂、抗病毒剂、抗生素、镇痛药、抗氧化剂、金属螯合剂、细胞因子、活性剂、成像剂、细胞毒性剂、血管生成抑制剂、激酶抑制剂、共刺激分子激动剂、共抑制分子阻滞剂、粘附分子阻断剂、抗细胞因子抗体或其功能片段、可检测标记或报告基因、抗菌剂、基因编辑剂、 β 激动剂、病毒RNA抑制剂、聚合酶抑制剂、干扰素或微小RNA。

[0730] 如本文所使用的,术语“免疫疗法”是指刺激免疫系统对抗如癌症等疾病或以一般方式增强免疫系统的疗法类型。免疫疗法的实例包括但不限于检查点调节剂、过继性细胞转移、细胞因子、溶瘤病毒和治疗性疫苗。

[0731] “靶向疗法”是作用于与癌症相关的特定分子的疗法类型,所述特定分子如存在于癌细胞中但不存在于正常细胞中或在癌细胞中更丰富的特定蛋白质,或有助于癌症生长和存活的癌症微环境中的靶分子。靶向疗法将治疗剂靶向肿瘤,从而使正常组织免受治疗剂的影响。

[0732] 在这些实施方式中的某些实施方式中,本文所提供的抗体或其抗原结合片段和/或本文所提供的药物组合物和/或本文所提供的嵌合抗原受体与一种或多种另外的药剂组合施用,可以与一种或多种另外的治疗剂同时施用,并且在这些实施方式中的某些实施方式中,抗体或其抗原结合片段和/或本文所提供的药物组合物和/或本文所提供的嵌合抗原受体以及另外的药剂可以作为相同药物组合物的一部分施用。然而,抗体或其抗原结合片段和/或本文所提供的药物组合物和/或本文所提供的嵌合抗原受体与另一种药剂“组合”施用不必与所述药剂同时施用或以与所述药剂相同的组合物施用。在另一种药剂之前或之后施用的抗体或其抗原结合片段、药物组合物或嵌合抗原受体被认为是与所述药剂“组合”施用,如本文所使用的短语,即使抗体或抗原结合片段、药物组合物或嵌合抗原受体和第二治疗剂通过不同途径施用也是如此。在可能的情况下,与本文公开的抗体或其抗原结合片段、药物组合物或嵌合抗原受体组合施用的另外的药剂根据另外的治疗剂的产品信息表中列出的时间表或根据医生桌上参考手册2003(《医生桌上参考手册(Physicians' Desk Reference)》,第57版;医疗经济学公司(Medical Economics Company);ISBN:1563634457第57版(2002年11月))或本领域众所周知的方案施用。

[0733] 本公开进一步提供了在体内或体外活化表达CD3的T细胞的方法,其包括使表达CD3的T细胞与本文所提供的抗体或其抗原结合片段和/或本文所提供的药物组合物和/或本文所提供的嵌合抗原受体接触。

[0734] 本公开进一步提供了调节表达CD3的细胞中CD3活性的方法,其包括将表达CD3的细胞暴露于本文所提供的抗体或其抗原结合片段和/或本文所提供的药物组合物和/或本文所提供的嵌合抗原受体。

[0735] 本公开进一步提供了促进表达CD3的T细胞在体内或体外加工第二抗原的方法,其包括使表达CD3的T细胞与本文所提供的双特异性抗体或其抗原结合片段接触,其中双特异性抗体或其抗原结合片段能够特异性地结合至表达CD3的T细胞和第二抗原,从而使两者邻近。

[0736] 在另一方面,本公开提供了一种检测样本中CD3的存在或量的方法,其包括使样本与本文所提供的抗体或其抗原结合片段和/或本文所提供的药物组合物和/或本文所提供

的嵌合抗原受体接触,并且确定样本中CD3的存在或量。

[0737] 在另一方面,本公开提供了一种在受试者中诊断CD3相关疾病、病症或病状的方法,其包括:a)从受试者获得样本,b)使从受试者获得的样本与本文所提供的抗体或其抗原结合片段和/或本文所提供的药物组合物和/或本文所提供的嵌合抗原受体接触;c)确定样本中CD3的存在或量;以及d)将受试者中CD3的存在或量与CD3相关疾病、病症或病状的存在或状态相关联。

[0738] 另一方面,本公开提供了本文所提供的试剂盒,所述试剂盒包括本文所提供的抗体或其抗原结合片段和/或本文所提供的药物组合物和/或本文所提供的嵌合抗原受体,任选地与可检测部分缀合,所述试剂盒可用于检测CD3,任选地重组CD3,在细胞表面上表达的CD3,或表达CD3的细胞。试剂盒可以进一步包括使用说明。

[0739] 另一方面,本公开还提供了一种本文所提供的抗体或其抗原结合片段和/或本文所提供的药物组合物和/或本文所提供的嵌合抗原受体在制备用于在受试者中治疗、预防或减轻CD3相关疾病、病症或病状的药物中的用途,在制备用于诊断CD3相关疾病、病症或病状的诊断试剂中的用途。

[0740] 提供以下实施例以更好地说明所要求保护的发明并且不应将所述实施例解释为限制本发明的范围。下文描述的所有具体组合物、材料和方法全部或部分地落入本发明的范围内。这些具体组合物、材料和方法不旨在限制本发明,而仅用于说明落入本发明范围内的具体实施例。本领域技术人员可以在不运用发明能力和不脱离本发明范围的情况下开发出等效的组合物、材料和方法。将理解,可以在本文描述的程序中做出许多变化,同时仍然保持在本发明的界限内。本发明的发明人的意图是此类变化都包括在本发明的范围内。

[0741] 实施例

[0742] 实施例1.抗体产生

[0743] 1.1免疫

[0744] 为了产生抗CD3的抗体,在每个组中,SJL、Balb/c和CD1小鼠被用细胞(即,人CD3过表达细胞(Jurkat-hCD3mix或293T-hCD3mix)、人CD3+T细胞、活化的人CD3+T细胞、食蟹猴CD3+T细胞)、CD3蛋白(即,人CD3 $\delta\epsilon$ 复合物和人CD3 $\gamma\epsilon$ 复合物、食蟹猴CD3 $\delta\epsilon$ 复合物和食蟹猴CD3 $\gamma\epsilon$ 复合物蛋白)或基因(PTT 5-人CD3 $\delta\epsilon$ 质粒,PTT 5-食蟹猴CD3 $\delta\epsilon$ 质粒)进行免疫。被免疫Balb/c和CD1小鼠如表4所示。被免疫SJL小鼠如表5所示。初次免疫随后进行若干次增强免疫,直到动物产生适合于杂交瘤开发的令人满意的抗血清效价。CPG被用作佐剂。下表6、7、8、9、10和11中示出了每组动物的免疫方案。

[0745] 表4.Balb/c和CD1小鼠的分组

组	免疫原	途径	动物/品种	组大小	剂量
1	Jurkat-hCD3mix	腹腔注射	Balb/c & CD1	5/5	5×10^6 /小鼠
2	人 CD3 ⁺ T 细胞	腹腔注射	Balb/c & CD1	5/5	5×10^6 /小鼠
3	活化的人 CD3 ⁺ T 细胞	腹腔注射	Balb/c & CD1	5/5	5×10^6 /小鼠
4	人 CD3 $\delta\epsilon$ 复合物 人 CD3 $\gamma\epsilon$ 复合物	皮下注射	Balb/c & CD1	5/5	25 μg 25 μg

[0747] 表5.SJL小鼠的分组

组	免疫原	途径	动物/ 品种	组大小	剂量
[0748] 5	pTT5-食蟹猴 CD3 $\delta\epsilon$ 质粒	基因枪	SLJ	3/3	4 μg
	pTT5-人 CD3 $\delta\epsilon$ 质粒	基因枪			4 μg
	pTT5-人 CD3 $\delta\epsilon$ 质粒 +pTT5-食蟹猴 CD3 $\delta\epsilon$ 质粒 & 人 CD3 $\delta\epsilon$ 复合物+人 CD3 $\gamma\epsilon$ 复合物+食蟹猴 CD3 $\delta\epsilon$ 复合物+食蟹猴 CD3 $\gamma\epsilon$ 复合物	基因枪 皮下注射			2 μg +2 μg 12.5 μg +12.5 μg +12.5 μg
	pTT5-人 CD3 $\delta\epsilon$ 质粒 +pTT5-食蟹猴 CD3 $\delta\epsilon$ 质粒	基因枪			2 μg +2 μg
	pTT5-人 CD3 $\delta\epsilon$ 质粒 +pTT5-食蟹猴 CD3 $\delta\epsilon$ 质粒 & 人 CD3 $\delta\epsilon$ 复合物+人 CD3 $\gamma\epsilon$ 复合物+食蟹猴 CD3 $\delta\epsilon$ 复合物+食蟹猴 CD3 $\gamma\epsilon$ 复合物 & Jurkat 细胞+食蟹猴 CD3 ⁺ T 细胞	基因枪 皮下注射 腹腔注射			2 μg +2 μg 12.5 μg +12.5 μg +12.5 μg 5 $\times 10^6$ 每个小鼠 +5 $\times 10^6$ 每个小鼠
[0749] 6	pTT5-食蟹猴 CD3 $\delta\epsilon$ 质粒	基因枪	SLJ	2/2	4 μg
	pTT5-人 CD3 $\delta\epsilon$ 质粒	基因枪			4 μg
	pTT5-人 CD3 $\delta\epsilon$ 质粒 +pTT5-食蟹猴 CD3 $\delta\epsilon$ 质粒 & 人 CD3 $\delta\epsilon$ 复合物+人 CD3 $\gamma\epsilon$ 复合物+食蟹猴 CD3 $\delta\epsilon$ 复合物+食蟹猴 CD3 $\gamma\epsilon$ 复合物	基因枪 皮下注射			2 μg +2 μg 12.5 μg +12.5 μg +12.5 μg
	pTT5-人 CD3 $\delta\epsilon$ 质粒 +pTT5-食蟹猴 CD3 $\delta\epsilon$ 质粒	基因枪			2 μg +2 μg
	pTT5-人 CD3 $\delta\epsilon$ 质粒 +pTT5-食蟹猴 CD3 $\delta\epsilon$ 质粒 & 293T-hCD3mix 细胞+食蟹猴 CD3 ⁺ T 细胞	基因枪 腹腔注射			2 μg +2 μg 5 $\times 10^6$ 每个小鼠 +5 $\times 10^6$ 每个小鼠

[0750] 表6.组1的免疫方案

[0751]

第 0 天	预采血 (15-30 μ L 血清/小鼠) 原代: 5×10^6 个细胞/小鼠, 腹腔注射
第 21 天	增强 1: 5×10^6 个细胞/小鼠, 腹腔注射
第 35 天	测试采血 (15-30 μ L 血清/小鼠) (TB1)
第 42 天	增强 2: 5×10^6 个细胞/小鼠, 腹腔注射
第 56 天	测试采血 (15-30 μ L 血清/小鼠) (TB2)
第 77 天	增强 3: 5×10^6 个细胞/小鼠, 腹腔注射
第 91 天	测试采血 (15-30 μ L 血清/小鼠) (TB3)
	数据分析和阶段结论

[0752]

第 118 天	融合前 (最终) 增强, 对于每只小鼠: 25 μ g CD3 $\delta\epsilon$ 复合物, 皮下注射, 25 μ g CD3 $\gamma\epsilon$ 复合物, 皮下注射, 5×10^6 个 Jurkat-hCD3mix, 腹腔注射, 5×10^6 个活化的 CD3 ⁺ T 细胞, 腹腔注射
未被选择用于细胞融合的动物被保持在笼子中, 并且可能被给予额外的增强免疫。	

[0753] 表7.组2的免疫方案

[0754]

第 0 天	预采血 (15-30 μ L 血清/小鼠) 原代: 5×10^6 个细胞/小鼠, 腹腔注射
第 21 天	增强 1: 5×10^6 个细胞/小鼠, 腹腔注射
第 35 天	测试采血 (15-30 μ L 血清/小鼠) (TB1)
第 42 天	增强 2: 5×10^6 个细胞/小鼠, 腹腔注射
第 56 天	测试采血 (15-30 μ L 血清/小鼠) (TB2)
第 77 天	增强 3: 5×10^6 个细胞/小鼠, 腹腔注射
第 91 天	测试采血 (15-30 μ L 血清/小鼠) (TB3)
	数据分析和阶段结论
第 118 天	融合前 (最终) 增强, 对于每只小鼠: 25 μ g CD3 $\delta\epsilon$ 复合物, 皮下注射, 25 μ g CD3 $\gamma\epsilon$ 复合物, 皮下注射, 5×10^6 个 Jurkat-hCD3mix, 腹腔注射, 5×10^6 个活化的 CD3 ⁺ T 细胞, 腹腔注射
未被选择用于细胞融合的动物被保持在笼子中, 并且可能被给予额外的增强免疫。	

[0755] 表8.组3的免疫方案

[0756]

第 0 天	预采血 (15-30 μ L 血清/小鼠) 原代: 5×10^6 个细胞/小鼠, 腹腔注射
第 21 天	增强 1: 5×10^6 个细胞/小鼠, 腹腔注射
第 35 天	测试采血 (15-30 μ L 血清/小鼠) (TB1)
第 42 天	增强 2: 5×10^6 个细胞/小鼠, 腹腔注射
第 56 天	测试采血 (15-30 μ L 血清/小鼠) (TB2)
第 77 天	增强 3: 5×10^6 个细胞/小鼠, 腹腔注射
第 91 天	测试采血 (15-30 μ L 血清/小鼠) (TB3)
	数据分析和阶段结论
第 118 天	融合前 (最终) 增强, 对于每只小鼠: 25 μ g CD3 $\delta\epsilon$ 复合物, 皮下注射, 25 μ g CD3 $\gamma\epsilon$ 复合物, 皮下注射, 5×10^6 个 Jurkat-hCD3mix, 腹腔注射, 5×10^6 个活化的 CD3 ⁺ T 细胞, 腹腔注射
未被选择用于细胞融合的动物被保持在笼子中, 并且可能被给予额外的增强免疫。	

[0757] 表9.组4的免疫方案

[0758]

第 0 天	预采血 (15-30 μ L 血清/小鼠) 原代: 25 μ g CD3 $\delta\epsilon$ 复合物, 皮下注射, 25 μ g CD3 $\gamma\epsilon$ 复合物, 皮下注射
-------	---

[0759]

第 21 天	增强 1: 25 μg CD3 $\delta\epsilon$ 复合物, 皮下注射, 25 μg CD3 $\gamma\epsilon$ 复合物, 每个小鼠皮下注射
第 35 天	测试采血 (15-30 μL 血清/小鼠) (TB1)
第 42 天	增强 2: 25 μg CD3 $\delta\epsilon$ 复合物, 皮下注射, 25 μg CD3 $\gamma\epsilon$ 复合物, 每个小鼠皮下注射
第 56 天	测试采血 (15-30 μL 血清/小鼠) (TB2)
第 77 天	增强 3: 25 μg CD3 $\delta\epsilon$ 复合物, 皮下注射, 25 μg CD3 $\gamma\epsilon$ 复合物, 每个小鼠皮下注射
第 91 天	测试采血 (15-30 μL 血清/小鼠) (TB3)
	数据分析和阶段结论
第 118 天	融合前 (最终) 增强, 对于每只小鼠: 25 μg CD3 $\delta\epsilon$ 复合物, 皮下注射, 25 μg CD3 $\gamma\epsilon$ 复合物, 皮下注射, 5×10^6 个 Jurkat-hCD3mix, 腹腔注射, 5×10^6 个活化的 CD3 ⁺ T 细胞, 腹腔注射
未被选择用于细胞融合的动物被保持在笼子中, 并且可能被给予额外的增强免疫。	

[0760] 表10.组5的免疫方案

[0761]

第 0 天	预采血 (15-30 μL 血清/小鼠) 原代: pTT5-食蟹猴 CD3 $\delta\epsilon$ 质粒 4 μg , 基因枪。
第 14 天	增强 1: pTT5-人 CD3 $\delta\epsilon$ 质粒, 4 μg , 基因枪。
第 21 天	测试采血 (15-30 μL 血清/小鼠) (TB1)
第 28 天	增强 2: pTT5-食蟹猴 CD3 $\delta\epsilon$ 质粒 4 μg , 基因枪。
第 35 天	测试采血 (15-30 μL 血清/小鼠) (TB2)
第 42 天	增强 3: pTT5-人 CD3 $\delta\epsilon$ 质粒 2 μg +pTT5-食蟹猴 CD3 $\delta\epsilon$ 质粒 2 μg , 基因枪; 人 CD3 $\delta\epsilon$ 复合物 12.5 μg +人 CD3 $\gamma\epsilon$ 复合物 12.5 μg +食蟹猴 CD3 $\delta\epsilon$ 复合物 12.5 μg +食蟹猴 CD3 $\gamma\epsilon$ 复合物 12.5 μg , 皮下注射。
第 49 天	测试采血 (15-30 μL 血清/小鼠) (TB3)
第 56 天	增强 4: pTT5-人 CD3 $\delta\epsilon$ 质粒 2 μg +pTT5-食蟹猴 CD3 $\delta\epsilon$ 质粒 2 μg , 基因枪。
第 78 天	增强 5: pTT5-人 CD3 $\delta\epsilon$ 质粒 2 μg +pTT5-食蟹猴 CD3 $\delta\epsilon$ 质粒 2 μg , 基因枪; 人 CD3 $\delta\epsilon$ 复合物 12.5 μg +人 CD3 $\gamma\epsilon$ 复合物 12.5 μg +食蟹猴 CD3 $\delta\epsilon$ 复合物 12.5 μg +食蟹猴 CD3 $\gamma\epsilon$ 复合物 12.5 μg , 皮下注射。
第 85 天	测试采血 (15-30 μL 血清/小鼠) (TB5)
	数据分析和阶段结论
第 92 天	融合前 (最终) 增强: pTT5-人 CD3 $\delta\epsilon$ 质粒 2 μg +pTT5-食蟹猴 CD3 $\delta\epsilon$ 质粒 2 μg , 基因枪; 人 CD3 $\delta\epsilon$ 复合物 12.5 μg +人 CD3 $\gamma\epsilon$ 复合物 12.5 μg +食蟹猴 CD3 $\delta\epsilon$ 复合物 12.5 μg +食蟹猴 CD3 $\gamma\epsilon$ 复合物 12.5 μg , 皮下注射; 5×10^6 个 Jurkat 细胞 + 5×10^6 个食蟹猴 CD3 ⁺ T 细胞, 腹腔注射。
● 未被选择用于细胞融合的动物被保持在笼子中, 并且可能被给予额外的增强免疫。	

[0762] 表11.组6的免疫方案

[0763]	第 0 天	预采血 (15-30 μ L 血清/小鼠) 原代: pTT5-食蟹猴 CD3 $\delta\epsilon$ 质粒 4 μ g, 基因枪。
	第 14 天	增强 1: pTT5-人 CD3 $\delta\epsilon$ 质粒, 4 μ g, 基因枪。
	第 21 天	测试采血 (15-30 μ L 血清/小鼠) (TB1)
	第 28 天	增强 2: pTT5-食蟹猴 CD3 $\delta\epsilon$ 质粒 4 μ g, 基因枪。
	第 35 天	测试采血 (15-30 μ L 血清/小鼠) (TB2)
	第 42 天	增强 3: pTT5-人 CD3 $\delta\epsilon$ 质粒 2 μ g+pTT5-食蟹猴 CD3 $\delta\epsilon$ 质粒 2 μ g, 基因枪; 人 CD3 $\delta\epsilon$ 复合物 12.5 μ g+人 CD3 $\gamma\epsilon$ 复合物 12.5 μ g+食蟹猴 CD3 $\delta\epsilon$ 复合物 12.5 μ g+食蟹猴 CD3 $\gamma\epsilon$ 复合物 12.5 μ g, 皮下注射。
	第 49 天	测试采血 (15-30 μ L 血清/小鼠) (TB3)
	第 56 天	增强 4: pTT5-人 CD3 $\delta\epsilon$ 质粒 2 μ g+pTT5-食蟹猴 CD3 $\delta\epsilon$ 质粒 2 μ g, 基因枪。
	第 78 天	增强 5: pTT5-人 CD3 $\delta\epsilon$ 质粒 2 μ g+pTT5-食蟹猴 CD3 $\delta\epsilon$ 质粒 2 μ g, 基因枪; 5×10^6 个 293T-hCD3mix 细胞+ 5×10^6 个食蟹猴 CD3 ⁺ T 细胞, 腹腔注射。
	第 85 天	测试采血 (15-30 μ L 血清/小鼠) (TB5)
		数据分析和阶段结论
	第 92 天	融合前 (最终) 增强: pTT5-人 CD3 $\delta\epsilon$ 质粒 2 μ g+pTT5-食蟹猴 CD3 $\delta\epsilon$ 质粒 2 μ g, 基因枪; 人 CD3 $\delta\epsilon$ 复合物 12.5 μ g+人 CD3 $\gamma\epsilon$ 复合物 12.5 μ g+食蟹猴 CD3 $\delta\epsilon$ 复合物 12.5 μ g+食蟹猴 CD3 $\gamma\epsilon$ 复合物 12.5 μ g, 皮下注射; 5×10^6 个 Jurkat 细胞 + 5×10^6 个食蟹猴 CD3 ⁺ T 细胞, 腹腔注射。
		● 未被选择用于细胞融合的动物被保持在笼子中, 并且可能被给予额外的增强免疫。

[0764] 1.2 杂交瘤产生和筛选

[0765] 1.2.1. 细胞融合和筛选

[0766] 通过测试采血的FACS和/或ELISA以确定对免疫响应最好的小鼠进行脾细胞融合。FACS测定在稳定地过表达人CD3的293F、HEK 293T或Jurkat细胞系上进行。使用优化的电融合方案,将来自脾脏和淋巴结的淋巴细胞与小鼠骨髓瘤细胞系 (SP2/0) 融合。进行了多次融合,以确保项目的成功。

[0767] 将融合细胞接种 (每孔 2×10^4 到 10^5 个细胞) 到一堆96孔板中。监测板中细胞的生长情况并每周进料一次。具有细胞生长的孔在10-14天内被用FACS和/或其他可行的测定如ELISA (具有生物素标记的人CD3 $\delta\epsilon$ 复合物) 的初级筛选测定来筛选。对每种靶向抗原进行多次融合并进行筛选。将显示与HEK293T-hCD3mix、Jurkat-hCD3mix或稳定地过表达人CD3的CHO-K1 (CHO-K1-hCD3mix) 细胞的阳性结合和来自初步筛选的阳性ELISA信号 (如与人CD3 $\delta\epsilon$ 复合物和人CD3 $\gamma\epsilon$ 复合物的ELISA信号) 的阳性亲代克隆扩增到24孔板中用于二次筛选。选择感兴趣的杂交瘤 (如显示与Jurkat和293F-cynoCD3mix细胞的基于阳性细胞的结合的杂交瘤) 以进行亚克隆。

[0768] 1.2.2. 杂交瘤亚克隆、筛选和冷冻保存

[0769] 然后通过多轮有限稀释或单细胞分选对具有期望反应性和来自上述筛选条件的同种型的亲本杂交瘤进行亚克隆,直到获得单克隆为止。

[0770] 通过蛋白质、基于细胞的ELISA或基于细胞的结合测定 (如对CHO-K1-hCD3mix细胞的基于细胞的结合测定、对人CD3 $\delta\epsilon$ 复合物和人CD3 $\gamma\epsilon$ 复合物蛋白质的ELISA测定) 来筛选亚克隆板,并且将具有良好结合能力的亚克隆扩增至24孔,用于通过对HEK293T和HEK293T-

hCD3mix细胞或Jurkat和293F-cynoCD3mix细胞的基于细胞的结合测定进行确认测试。

[0771] 对所期望的亚克隆细胞系进行测序,并且使其进一步扩增到培养瓶中以进行冷冻保存。最初以 $0.5-13.0 \times 10^6$ 个细胞/小瓶冷冻保存每个细胞系4-6个小瓶。如果需要,为选定的最有价值的细胞系建立了主细胞库和工作细胞库。

[0772] 作为结果,发现了19种具有独特序列的抗体。在19种抗体中,12种抗体显示出与稳定地过表达人CD3蛋白的HEK293T细胞(293T-hCD3mix)的阳性结合,但不与亲代HEK293T细胞结合(如下表12所示),表明这些抗体是人CD3识别抗体;其他7种抗体显示出与Jurkat和293F-cynoCD3mix细胞的阳性结合,但不与Jurkat-KO或亲代293F细胞结合(如下表13所示),表明这些抗体是人和食蟹猴CD3的识别抗体。

[0773] 表12. 与HEK293T和293T-hCD3mix结合的抗体的FACS MFI

[0774]	抗体	FACS MFI (HEK293T)	FACS MFI (HEK293T-hCD3mix)
	25-G12-G6-C12	200	38920
	16-F2-C11-D9	2070	80290
	20-E11-E11-C2	2140	55240
	7-D9-G10-H2	4330	50980
	31-F8-F5-C5	500	77328
	7-D8-G12-E4	1616	65240
	40-C12-C10-E9	290	13120
	2-F12-A6-G2	880	53840
	3-C6-C11-F12	1760	21750
	8-B12-F9-B11	160	67080
	4-F12-F1-A4	500	16760
	3-F3-G12-E2	14080	92740

[0775] 表13. 与Jurkat、Jurkat-KO、293F-cynoCD3mix和293F细胞结合的抗体的MFI

[0776]	抗体	FACS_MFI (Jurkat)	FACS_MFI (Jurkat-KO)	FACS_MFI (293F- cynoCD3mix)	FACS_MFI (293F)
	124E3D6	126	97	400	98
	126A11A4	1621	101	2215	101
	127E2D3	930	109	1925	102
	133B4C7	681	105	1785	100
	140D2B10	872	100	2038	98
	147C6F3	1857	101	2231	98
	147E11E2	2453	104	2526	102

[0777] 实施例2. 抗体表征

[0778] 2.1 抗体

[0779] 对杂交瘤抗体克隆25-G12-G6-C12、40-C12-C10-E9、8-B12-F9-B11、31-F8-F5-C5、16-F2-C11-D9、20-E11-E11-C2、7-D9-G10-H2、7-D8-G12-E4、2-F12-A6-G2、3-C6-C11-F12、4-F12-F1-A4、3-F3-G12-E2、124E3D6、126A11A4、127E2D3、133B4C7、140D2B10、147C6F3和147E11E2进行表征。

[0780] 2.2 杂交瘤测序

[0781] 按照RNAiso Plus(TAKARA目录号9109)的技术手册从杂交瘤细胞中分离出总RNA。然后按照PrimeScript II第1链cDNA合成试剂盒(TAKARA目录号6210A)的技术手册,使用同种型特异性反义引物或通用引物将总RNA逆转录为cDNA。根据TaKaRa Taq™(目录号R001A)

扩增VH和VL的抗体片段。将经扩增的抗体片段单独克隆到标准克隆载体中。进行菌落PCR以筛选具有正确大小的插入物的克隆。对每个片段的不少于五个具有正确大小的插入物的菌落进行测序。对不同克隆的序列进行比对,并提供这些克隆的共有序列。

[0782] 上表3中提供了杂交瘤抗体的可变区序列。

[0783] 2.3抗体25-G12-G6-C12、40-C12-C10-E9、8-B12-F9-B11、31-F8-F5-C5、16-F2-C11-D9、20-E11-E11-C2、7-D9-G10-H2、7-D8-G12-E4、2-F12-A6-G2、3-C6-C11-F12、4-F12-F1-A4和3-F3-G12-E2的表征

[0784] 这些抗体的T细胞活化能力通过Jurkat NFAT-荧光素酶活化测定来确定。OKT3被用作阳性对照。用于活化分析的方案描述如下:

[0785] ●小鼠抗体在37℃下涂覆在96孔板中持续1小时,50μg/mL和100μl/孔;

[0786] ●在每个孔中接种Jurkat-NFAT-荧光素酶细胞,持续24小时,2×10⁴个细胞/孔;

[0787] ●向每个孔中加入20μL Bright-Glo,用微孔板读取器读取荧光素酶值。

[0788] 结果在下表14中示出。如表14所示,这些小鼠抗体的活化能力高于阳性对照OKT3。

[0789] 表14. 用小鼠抗体活化Jurkat-NFAT-荧光素酶

板 1			
编号	名称	RLU	
1	OKT3	5626	5711
2	同种型对照	564	582
3	16-F2-C11-D9	941	789
4	20-E11-E11-C2	748	710
5	7-D9-G10-H2	772	712
6	40-C12-C10-E9	1101	1057
7	2-F12-A6-G2	786	688
8	4-F12-F1-A4	1504	1557
板 2			
编号	名称	RLU	
1	OKT3	2594	2520
2	同种型对照	386	380
3	25-G12-G6-C12	1503	1211
4	31-F8-F5-C5	606	722
5	7-D8-G12-E4	395	378
6	3-C6-C11-F12	509	513
板 3			
编号	名称	RLU	
1	OKT3	1131	1045
2	同种型对照	237	231
3	8-B12-F9-B11	1039	1144

[0791] 实施例3. 嵌合抗体的产生和表征

[0792] 3.1. 嵌合抗体的产生

[0793] 选择16种杂交瘤抗体((25-G12-G6-C12、4-F12-F1-A4、7-D8-G12-E4、20-E11-E11-C2、7-D9-G10-H2、40-C12-C10-E9、31-F8-F5-C5、8-B12-F9-B11、3-F3-G12-E2、133B4C7、124E3D6、147E11E2、126A11A4、147C6F3、127E2D3和140D2B10)的序列以生成和产生人IgG1嵌合抗体。合成编码16种杂交瘤抗体的可变区的DNA,并亚克隆到预先包含人IgG恒定基因的表达载体中。将载体转染到哺乳动物细胞中用于重组蛋白表达,并使用蛋白A亲和色谱柱

纯化表达的抗体。所得的嵌合抗体在本文中被称为ch25-G12-G6-C12、ch4-F12-F1-A4、ch7-D8-G12-E4、ch20-E11-E11-C2、ch7-D9-G10-H2、ch40-C12-C10-E9、ch31-F8-F5-C5、ch8-B12-F9-B11、ch3-F3-G12-E2、ch133B4C7、ch124E3D6、ch147E11E2、ch126A11A4、ch147C6F3、ch127E2D3、ch140D2B10,其中前缀“ch”表示“嵌合的”,并且后面的表示杂交瘤抗体克隆。例如, ch25-G12-G6-C12表明它是来自杂交瘤抗体25-G12-G6-C12的嵌合抗体。

[0794] 3.2. ch124E3D6、ch126A11A4、ch127E2D3、ch133B4C7、ch140D2B10、ch147C6F3和ch147E11E2的T细胞活化能力测定

[0795] 嵌合抗体ch124E3D6、ch126A11A4、ch127E2D3、ch133B4C7、ch140D2B10、ch147C6F3和ch147E11E2的T细胞活化能力通过Jurkat NFAT-荧光素酶活化测定来确定。BMK-B219(由JNJ开发的抗CD3抗体)和BMK-TCB(由Roche开发的抗CD3抗体)被用作阳性对照,并且hIgG1同种型被用作阴性对照。用于活化分析的实验步骤描述如下:

[0796] ●将连续稀释的测试抗体在37℃下涂覆在96孔板上持续2小时,100μl/孔;

[0797] ●在每个孔中接种Jurkat-NFAT-荧光素酶细胞,并温育24小时, 2×10^4 个细胞/孔;

[0798] ●去除上清液,并用25μL/孔的裂解试剂(Promega, RLB-E3971)裂解细胞;

[0799] ●样本在-80℃下冷冻保存30分钟,然后在生化培养箱中在37℃下加热15分钟;

[0800] ●然后将96孔板以500xg离心10分钟,并且将每个孔的20μL上清液转移到新的白色不透明96孔板中;

[0801] ●将100μL/孔的荧光素酶测定底物(Promega, E4530)加入到96孔板中;

[0802] ●微孔板读取器用于确定反映荧光素酶活性的水平的相对发光单位(RLU)。

[0803] 结果在下图1和表15中示出。如图1和表15所示,所选抗体的活化能力高于两种基准抗体或与两种基准抗体类似。

[0804] 表15. 用嵌合抗体活化Jurkat-NFAT-荧光素酶

[0805]	排序	抗体	EC ₅₀ (nM)	最大信号
	1	ch133B4C7	27.97	290
	2	ch124E3D6	32.38	482.3
	3	ch147E11E2	32.99	420.8
	4	ch126A11A4	33.56	681.7
	5	ch147C6F3	57.36	427.8
[0806]	6	BMK-TCB	59.35	752.6
	7	ch127E2D3	61.68	336.6
	8	BMK-B219	68.37	811.3

[0807] 3.3. 对Jurkat细胞的基于细胞的结合亲和力

[0808] 通过FACS分析来确定产生的嵌合抗体和基准抗体(OKT3, BMK-B219或BMK-TCB)对人类患者来源的淋巴细胞癌细胞系Jurkat的结合亲和力,并且hIgG1同种型被用作阴性对照。用于FACS分析的方案描述如下:

[0809] (a) 收获Jurkat细胞并用FACS缓冲液重悬;

[0810] (b) 对细胞进行计数,并将浓度调整至 4×10^6 个细胞/ml。将50μl/孔的细胞悬浮液加入到96孔板中;

[0811] (c) 将50μl/孔2x连续稀释的测试抗体添加到板中。板在4℃下温育1小时;

- [0812] (d) 将板以300g离心3分钟,并弃去上清液;
- [0813] (e) 在200 μ l FASC缓冲液中洗涤细胞两次,并重复步骤(d);
- [0814] (f) 将100 μ l/孔的抗人IgG-PE的山羊pAb或抗小鼠IgG-PE的山羊pAb的二级抗体加入到板中。将板在4℃温育30分钟;
- [0815] (g) 将板以300g离心3分钟,并弃去上清液;
- [0816] (h) 在200 μ l FASC缓冲液中洗涤细胞两次,并重复步骤(g);
- [0817] (i) 用150 μ l FASC缓冲液重悬细胞,并在FACS上测试。
- [0818] 如下图2和表16所示,嵌合抗体ch31-F8-F5-C5、ch25-G12-G6-C12、ch40-C12-C10-E9和ch8-B12-F9-B11以及基准抗体OKT3对Jurkat细胞具有阳性结合亲和力。如下图3和表17所示,嵌合抗体ch147E11E2、ch126A11A4和ch147C6F3对Jurkat细胞的结合亲和力高于两种基准抗体BMK-B219和BMK-TCB或与两种基准抗体BMK-B219和BMK-TCB类似。
- [0819] 表16. 选定的嵌合抗体对Jurkat细胞的结合亲和力

	排序	抗体	EC ₅₀ (nM)	最大 FACS 信号
[0820]	1	OKT3	0.22	3124
	2	ch31-F8-F5-C5	0.74	2540
[0821]	3	ch25-G12-G6-C12	0.84	2790
	4	ch40-C12-C10-E9	1.01	2545
	5	ch8-B12-F9-B11	17.99	2721

- [0822] 表17. 选定的嵌合抗体对Jurkat细胞的结合亲和力

	排序	抗体	EC ₅₀ (nM)	最大信号
[0823]	1	ch147E11E2	0.4192	2777
	2	ch126A11A4	0.5668	1764
	3	BMK-B219	1.47	3001
	4	ch147C6F3	1.774	2282
	5	BMK-TCB	1.912	3145

- [0824] 3.4. 对293T-cynoCD3mix细胞的基于细胞的结合亲和力

[0825] 通过FACS分析来确定选定的嵌合抗体和基准抗体对稳定地过表达食蟹猴CD3 (293T-cynoCD3mix) 细胞的HEK 293T的结合亲和力。BMK-B219和BMK-TCB被用作阳性对照,并且hIgG1同种型被用作阴性对照。用于FACS分析的方案描述如下:

- [0826] (a) 收获293T-cynoCD3mix细胞并用FACS缓冲液重悬;
- [0827] (b) 对细胞进行计数,并将浓度调整至4×10⁶个细胞/ml。将50 μ l/孔的细胞悬浮液加入到96孔板中;
- [0828] (c) 将50 μ l/孔2x连续稀释的测试抗体添加到板中,并在4℃下温育1小时;
- [0829] (d) 将板以300g离心3分钟,并弃去上清液;
- [0830] (e) 在200 μ l FASC缓冲液中洗涤细胞两次,并重复步骤(d);
- [0831] (f) 将100 μ l/孔的抗人IgG-PE的二级抗体山羊pAb (Abcam, ab98596) 加入到板中,并在4℃温育30分钟;
- [0832] (g) 将板以300g离心3分钟,并弃去上清液;
- [0833] (h) 在200 μ l FASC缓冲液中洗涤细胞两次,并重复步骤(g);

[0834] (i) 用150 μ l FACS缓冲液重悬细胞,并在FACS上测试。

[0835] 如下图4和表18所示,所选的嵌合抗体对293T-cynoCD3mix细胞的结合亲和力高于两种基准抗体对293T-cynoCD3mix细胞的结合亲和力。

[0836] 表18.对293T-cynoCD3mix细胞的结合亲和力

排序	抗体	EC ₅₀ (nM)	最大信号
1	ch147E11E2	2.19	53876
2	ch127E2D3	2.33	46947
3	ch124E3D6	2.64	45795
4	ch140D2B10	2.81	52929
5	ch133B4C7	2.81	45246
6	ch126A11A4	2.91	57049
7	ch147C6F3	4.15	55201
8	BMK-B219	4.34	60013
9	BMK-TCB	4.72	60397

[0838] 3.5.Jurkat-NFAT-荧光素酶活化测定

[0839] 如下使用人类患者来源的淋巴细胞癌细胞系Jurkat对几种选定的嵌合抗体和基准抗体(OKT3)进行Jurkat-NFAT-荧光素酶活化测定。

[0840] (a) 用50 μ l/孔的连续稀释的测试抗体在37℃下涂覆板持续2小时;

[0841] (b) 收获Jurkat-NFAT-Luc细胞并用1640培养基(10%胎牛血清,1%P/S)重悬;

[0842] (c) 对细胞进行计数,并将浓度调整至 2×10^5 个细胞/ml。将100 μ l/孔的细胞悬浮液接种到96孔细胞培养板中。加入100 μ l培养基作为阴性对照;

[0843] (d) 将细胞板放回37℃、5%CO₂的培养箱中持续24小时;

[0844] (e) 以500g离心10分钟,并弃去上清液;

[0845] (f) 在PBS中洗涤细胞一次,并重复步骤(e);

[0846] (g) 加入30 μ l/孔的1x裂解缓冲液,将板置于-80℃冰箱中持续30分钟,然后移动至37℃培养箱中持续15分钟;

[0847] (h) 以500g离心10分钟,并将20 μ l上清液转移至另一96孔板(Coning 3903)。加入100 μ l/孔荧光素酶测定底物并轻轻混合均匀;

[0848] (i) 在微孔板读取器上读取板用于发光信号(RLU)。

[0849] 如下图5和表19所示,所选的嵌合抗体的活化能力高于基准抗体OKT3或与基准抗体OKT3类似。

[0850] 表19.嵌合抗体对Jurkat-NFAT-Luc细胞的活化能力

排序	抗体	EC ₅₀ (nM)	最大FACS信号
1	ch25-G12-G6-C12	1.674	249.8
2	ch31-F8-F5-C5	3.83	253.2
3	OKT3	10.12	363.7
4	ch8-B12-F9-B11	11.27	457.2
5	ch40-C12-C10-E9	24.17	810.2

[0852] 3.6.PBMC活化测定

[0853] 3.6.1实验1

[0854] 基于原代人外周血单核细胞 (PBMC) 的测定用于确定几种所选的嵌合抗体对T细胞的活化能力。如下进行所选的嵌合抗体和基准抗体 (OKT3) 与PBMC的PBMC活化测定。

[0855] (a) 用50 μ l/孔的连续稀释的测试抗体在37 $^{\circ}$ C下涂覆板持续2小时;

[0856] (b) 丢弃抗体溶液,并用200 μ l的PBS洗涤板的孔一次;

[0857] (c) 分离PBMC并用1640培养基 (10%FBS, 1%P/S) 重悬;

[0858] (d) 对细胞进行计数,并将浓度调整至 1×10^6 个细胞/ml。将200 μ l/孔的细胞悬浮液接种到96孔细胞培养板中。加入200 μ l培养基作为阴性对照;

[0859] (e) 将细胞板放回37 $^{\circ}$ C、5%CO₂的培养箱中持续120小时;

[0860] (f) 以400g离心5分钟,并收集上清液,以通过ELISA测定检测IL-2和IFN γ 细胞因子释放。

[0861] 如下进行ELISA测定。

[0862] (a) 向每个孔中加入100 μ l稀释的捕获抗体。在4 $^{\circ}$ C下温育过夜;

[0863] (b) 抽吸并清洗3次;

[0864] (c) 封闭板:向每个孔中加入200 μ l测定稀释剂。在室温下温育1小时;

[0865] (d) 抽吸并清洗3次;

[0866] (e) 向每个孔中加入100 μ l标准品或样本。在室温下温育2小时;

[0867] (f) 抽吸并清洗5次;

[0868] (g) 向每个孔中加入100 μ l工作检测剂 (检测抗体+SAv-HRP)。在室温下温育1小时;

[0869] (h) 抽吸并清洗7次 (浸泡30秒至1分钟);

[0870] (i) 向每个孔中加入100 μ l底物溶液。在黑暗中对在室温下温育30分钟;

[0871] (j) 向每个孔中加入50 μ l终止溶液;

[0872] (k) 在30分钟内在450nm处读取吸光度。

[0873] 在图6和图7中分别示出了IL-2和IFN γ 释放的结果。如图6所示,所选的嵌合抗体ch25-G12-G6-C12、ch40-C12-C10-E9、ch31-F8-F5-C5和ch8-B12-F9-B11以及基准抗体OKT3显著地诱导IL-2的释放。如图7所示,所选的嵌合抗体ch25-G12-G6-C12、ch40-C12-C10-E9、ch31-F8-F5-C5、ch8-B12-F9-B11以及基准抗体OKT3显著地增加了IFN γ 的释放,并且所择的嵌合抗体的PBMC活化能力高于基准抗体OKT3或至少与基准抗体OKT3类似。

[0874] 3.6.2.实验2

[0875] 基于原代人外周血单核细胞 (PBMC) 的测定用于确定几种其他所选的嵌合抗体对T细胞的活化能力。众所周知,当T细胞被活化时,表面蛋白CD25的表达被上调。BMK-B219和BMK-TCB被用作阳性对照,并且hIgG1同种型被用作阴性对照。用于活化分析的方案描述如下:

[0876] (a) 100 μ l/孔的10 μ g/ml测试抗体在37 $^{\circ}$ C下涂覆在96孔板中持续2小时;

[0877] (b) 在每个孔中接种 2×10^5 个细胞/孔的新鲜的人PBMC,并温育3天;

[0878] (a) 收集细胞并转移到新的96孔板中。将板以400g离心3分钟,并弃去上清液;

[0879] (c) 将细胞重悬在100 μ l FACS缓冲液中,该缓冲液含有抗人CD25 Alexa Fluor 488-缀合抗体 (R&D, FAB9926G) 和抗人CD3 Brilliant Violet 421-缀合抗体 (Biolegend, 317344);

[0880] (d) 将板在4 $^{\circ}$ C下温育30分钟;

[0881] (e) 将板以400g离心3分钟,并弃去上清液;

[0882] (f) 在200 μ l FASC缓冲液中洗涤细胞两次,并重复步骤(d);

[0883] (g) 用150 μ l FASC缓冲液重悬细胞,并在FACS上测试。

[0884] 如图8所示,阳性对照BMK-B219和BMK-TCB诱导人T细胞上CD25的上调,如由CD3⁺T细胞中CD25⁺细胞的亚群比率所指示的。在嵌合抗体中,几种(即ch124E3D6、ch126A11A4、ch140D2B10、ch147C6F3和ch147E11E2)诱导CD25表达的程度弱于阳性对照。嵌合抗体ch127E2D3和ch133B4C7没有显著地诱导CD25上调。

[0885] 实施例4.40-C12-C10-E9的人源化抗体:产生、亲和力成熟和抗体表征

[0886] 4.1人源化抗体的产生

[0887] 选择嵌合抗体ch40-C12-C10-E9作为用于人源化的克隆。将抗体序列与人类种系序列进行比对,以鉴定最适合的模型。基于与原始小鼠抗体序列的同源性,选择最匹配的人种系序列作为人源化的模板。通常,通过比较IMGT(<https://www.imgt.org>)人抗体重链和轻链可变株基因数据库来进行抗体的人源化,选择与鼠源抗体具有高同源性的重链和轻链可变株基因作为模板,并将鼠源抗体的CDR移植到相应的人类模板中。形成顺序为FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4的可变区序列。根据需要,骨架序列中的关键氨基酸被还原并被突变为对应于鼠抗体的氨基酸,以确保原始亲和力。

[0888] 通过混合和匹配人源化轻链可变区的3个变体(即,hu40E9-L1、hu40E9-L2和hu40E9-L3)和人源化重链可变区的4个变体(即,hu40E9-H1、hu40E9-H2、hu40E9-H3和hu40E9-H4),获得了针对ch40-C12-C10-E9的总共12种人源化抗体。同样,12种人源化抗体被命名为hu40E9-L1H1、hu40E9-L2H1等等,如下表25所示。对这些产生的人源化抗体评估了免疫原性风险和热点,并且未鉴定出免疫原性风险或热点。

[0889] 表25. 针对ch40-C12-C10-E9的示例性人源化抗体的重链和轻链可变区

VH 区 \ VL 区	hu40E9-L1 (SEQ ID NO: 168)	hu40E9-L2 (SEQ ID NO: 169)	hu40E9-L3 (SEQ ID NO: 170)
	hu40E9-H1 (SEQ ID NO: 163)	hu40E9-L2H1 (SEQ ID NO: 169/163)	hu40E9-L3H1 (SEQ ID NO: 170/163)
[0890]	hu40E9-H2 (SEQ ID NO: 164)	hu40E9-L2H2 (SEQ ID NO: 169/164)	hu40E9-L3H2 (SEQ ID NO: 170/164)
	hu40E9-H3 (SEQ ID NO: 165)	hu40E9-L2H3 (SEQ ID NO: 169/165)	hu40E9-L3H3 (SEQ ID NO: 170/165)
	hu40E9-H4 (SEQ ID NO: 166)	hu40E9-L2H4 (SEQ ID NO: 169/166)	hu40E9-L3H4 (SEQ ID NO: 170/166)

[0891] 4.2亲和力成熟

[0892] 然后选择实施例4.1中获得的hu40E9-L2变体(即,SEQ ID NO:169)和hu40E9-H3变体(即,SEQ ID NO:165)以进行亲和力成熟。特别地,选择了SEQ ID NO:165的CDR1中的位置31-33(相对于SEQ ID NO:165)、SEQ ID NO:165的CDR2中的位置54、55和56(相对于SEQ ID NO:165)、SEQ ID NO:165的CDR3中的位置99-106(相对于SEQ ID NO:165)以及SEQ ID NO:169的CDR3中的位置91、92和93(相对于SEQ ID NO:169)以用于亲和力工程改造。在考虑了几个因素后,获得了总共20个突变,即如SEQ ID NO:165中所述的重链可变区中的S31D、

V33Y、N55S、D99E、Y101F、D105E、G106A、Y54G、D56G、D99R、D99G、S100R、S100D、S100G、Y102S或D105R;或如SEQ ID NO:169所示的轻链可变区中的N93S、S91R、N93R或N93W。

[0893] 因此,对于ch40-C12-C10-E9,通过混合并匹配人源化ch40-C12-C10-E9重链可变区的24个变体(即,hu40E9-H3-N55S.H、hu40E9-H3-D99E.H、hu40E9-H3-Y101F.H、hu40E9-H3-D105E.H、hu40E9-H3-G106A.H、hu40E9-H3-Y54G.H、hu40E9-H3-D56G.H、hu40E9-H3-D99R.H、hu40E9-H3-S100R.H、hu40E9-H3-Y102S.H、hu40E9-H3-D105R.H、hu40E9-H5、hu40E9-H6、hu40E9-H7、hu40E9-H8、hu40E9-H9、hu40E9-H10、hu40E9-H11、hu40E9-H12、hu40E9-H13、hu40E9-H14、hu40E9-H15、hu40E9-H16和hu40E9-H17)和人源化ch40-C12-C10-E9轻链可变区的7个变体(即hu40E9-L2-N93S.L、hu40E9-L2-S91R.L、hu40E9-L2-N93R.L和hu40E9-L2-N93W.L、hu40E9-L4、hu40E9-L5和hu40E9-L6)获得了总共34个人源化和亲和力成熟的抗体克隆。这34个人源化抗体克隆被命名为hu40E9-L2H3-N55S.H、hu40E9-L2H3-N93S.L、hu40E9-L2H5等等,如下表26、表27和表32-34所示,其中前缀“hu”表示“人源化的”,并且例如后缀“L2H3-N55S.H”表示具有hu40E9-L2变体可变区和hu40E9-H3-N55S.H变体可变区的ch40-C12-C10-E9的人源化抗体克隆的序列号。对于另一实施例,人源化抗体hu40E9-L2H3-N93S.L表示具有hu40E9-L2-N93S.L变体可变区和hu40E9-H3变体可变区的ch40-C12-C10-E9的人源化抗体克隆的序列号。对于又一实施例,人源化抗体hu40E9-L2H5表示具有hu40E9-L2变体可变区和hu40E9-H5变体可变区的ch40-C12-C10-E9的人源化抗体克隆的序列号。

[0894] 表26. 针对ch40-C12-C10-E9的示例性人源化抗体的重链和轻链可变区

[0895]	VL 区 VH 区	hu40E9-L2 (SEQ ID NO: 169)
	hu40E9-H3-N55S.H (SEQ ID NO: 186)	hu40E9-L2H3-N55S.H (SEQ ID NO: 169/186)
	hu40E9-H3-D99E.H (SEQ ID NO: 187)	hu40E9-L2H3-D99E.H (SEQ ID NO: 169/187)
	hu40E9-H3-Y101F.H (SEQ ID NO: 188)	hu40E9-L2H3-Y101F.H (SEQ ID NO: 169/188)
	hu40E9-H3-D105E.H (SEQ ID NO: 189)	hu40E9-L2H3-D105E.H (SEQ ID NO: 169/189)
	hu40E9-H3-G106A.H (SEQ ID NO: 190)	hu40E9-L2H3-G106A.H (SEQ ID NO: 169/190)
[0896]	hu40E9-H3-Y54G.H (SEQ ID NO: 191)	hu40E9-L2H3-Y54G.H (SEQ ID NO: 169/191)
	hu40E9-H3-D56G.H (SEQ ID NO: 192)	hu40E9-L2H3-D56G.H (SEQ ID NO: 169/192)
	hu40E9-H3-D99R.H (SEQ ID NO: 193)	hu40E9-L2H3-D99R.H (SEQ ID NO: 169/193)
	hu40E9-H3-S100R.H (SEQ ID NO: 194)	hu40E9-L2H3-S100R.H (SEQ ID NO: 169/194)
	hu40E9-H3-Y102S.H (SEQ ID NO: 195)	hu40E9-L2H3-Y102S.H (SEQ ID NO: 169/195)
	hu40E9-H3-D105R.H (SEQ ID NO: 196)	hu40E9-L2H3-D105R.H (SEQ ID NO: 169/196)

[0897] 表27. 针对ch40-C12-C10-E9的示例性人源化抗体的重链和轻链可变区

VL 区	VH 区	hu40E9-H3 (SEQ ID NO: 165)
[0898]	hu40E9-L2-N93S.L (SEQ ID NO: 197)	hu40E9-L2H3-N93S.L (SEQ ID NO: 197/165)
	hu40E9-L2-S91R.L (SEQ ID NO: 198)	hu40E9-L2H3-S91R.L (SEQ ID NO: 198/165)
	hu40E9-L2-N93R.L (SEQ ID NO: 199)	hu40E9-L2H3-N93R.L (SEQ ID NO: 199/165)
	hu40E9-L2-N93W.L (SEQ ID NO: 200)	hu40E9-L2H3-N93W.L (SEQ ID NO: 200/165)

[0899] 表32. 针对ch40-C12-C10-E9的示例性人源化抗体的重链和轻链可变区

VH 区	VL 区	hu40E9-L2 (SEQ ID NO: 169)
[0900]	hu40E9-H5 (SEQ ID NO: 233)	hu40E9-L2H5 (SEQ ID NO: 169/233)
	hu40E9-H6 (SEQ ID NO: 234)	hu40E9-L2H6 (SEQ ID NO: 169/234)
	hu40E9-H7 (SEQ ID NO: 235)	hu40E9-L2H7 (SEQ ID NO: 169/235)
	hu40E9-H8 (SEQ ID NO: 236)	hu40E9-L2H8 (SEQ ID NO: 169/236)
[0901]	hu40E9-H9 (SEQ ID NO: 237)	hu40E9-L2H9 (SEQ ID NO: 169/237)
	hu40E9-H10 (SEQ ID NO: 238)	hu40E9-L2H10 (SEQ ID NO: 169/238)
	hu40E9-H11 (SEQ ID NO: 239)	hu40E9-L2H11 (SEQ ID NO: 169/239)
	hu40E9-H12 (SEQ ID NO: 240)	hu40E9-L2H12 (SEQ ID NO: 169/240)
	hu40E9-H13 (SEQ ID NO: 241)	hu40E9-L2H13 (SEQ ID NO: 169/241)
	hu40E9-H14 (SEQ ID NO: 242)	hu40E9-L2H14 (SEQ ID NO: 169/242)
	hu40E9-H15 (SEQ ID NO: 243)	hu40E9-L2H15 (SEQ ID NO: 169/243)
	hu40E9-H16 (SEQ ID NO: 244)	hu40E9-L2H16 (SEQ ID NO: 169/244)

[0902] 表33. 针对ch40-C12-C10-E9的示例性人源化抗体的重链和轻链可变区

VL 区	VH 区	hu40E9-H3 (SEQ ID NO: 165)
[0903]	hu40E9-L4 (SEQ ID NO: 230)	hu40E9-L4H3 (SEQ ID NO: 230/165)
	hu40E9-L5 (SEQ ID NO: 231)	hu40E9-L5H3 (SEQ ID NO: 231/165)
	hu40E9-L6 (SEQ ID NO: 232)	hu40E9-L6H3 (SEQ ID NO: 232/165)

[0904] 表34. 针对ch40-C12-C10-E9的示例性人源化抗体的重链和轻链可变区

VL 区	VH 区	hu40E9-H7 (SEQ ID NO: 235)	hu40E9-H8 (SEQ ID NO: 236)
[0905]	hu40E9-L4 (SEQ ID NO: 230)	hu40E9-L4H7 (SEQ ID NO: 230/235)	hu40E9-L4H8 (SEQ ID NO: 230/236)
	hu40E9-L5 (SEQ ID NO: 231)	hu40E9-L5H7 (SEQ ID NO: 231/235)	hu40E9-L5H8 (SEQ ID NO: 231/236)

[0906] 4.3对Jurkat细胞的基于细胞的结合亲和力

[0907] 通过FACS分析来确定产生的人源化40-C12-C10-E9抗体和基于40E9-L2H3的亲和力成熟抗体对人类患者来源的淋巴细胞癌细胞系Jurkat的结合亲和力。基准抗体BMK-TCB被用作阳性对照,并且hIgG1同种型被用作阴性对照。用于FACS分析的方案在实施例3.3中描述,除了步骤(c)中使用的测试抗体不同外。

[0908] 如下图9A、图9B和表23所示,产生的人源化的和/或亲和力成熟的40-C12-C10-E9

抗体对Jurkat细胞的结合亲和力高于基准抗体BMK-TCB或与基准抗体BMK-TCB类似。如下图16A、图16B和表35所示,所选的人源化的和/或亲和力成熟的40-C12-C10-E9抗体能够结合至Jurkat细胞。

[0909] 表23. 所选的人源化抗体对Jurkat细胞的结合亲和力

[0910]

排序	抗体	EC ₅₀ (nM)	最大FACS信号
1	hu40E9-L2H3-D99E.H	0.31	957
2	hu40E9-L2H3-S91R.L	0.32	1358
3	hu40E9-L2H3-D56G.H	0.32	1452
4	ch40-C12-C10-E9	0.45	1621
5	hu40E9-L2H3-Y102S.H	0.47	1165
6	hu40E9-L3H4	0.49	1365
7	hu40E9-L2H3-N93W.L	0.51	1210
8	hu40E9-L2H3-Y54G.H	0.51	1186
9	hu40E9-L2H3-N55S.H	0.51	1165
10	hu40E9-L3H2	0.52	1412
11	hu40E9-L2H3-D105R.H	0.56	1479
12	hu40E9-L2H3-N93S.L	0.60	1355
13	hu40E9-L2H3-N93R.L	0.63	1417
14	hu40E9-L2H3-Y101F.H	0.64	1187
15	hu40E9-L2H3	0.65	1578
16	hu40E9-L2H1	0.73	892
17	hu40E9-L3H1	0.75	1250
18	hu40E9-L2H2	0.81	1573
19	hu40E9-L2H4	0.86	1571
20	hu40E9-L2H3-D105E.H	1.16	1409
21	BMK-TCB	1.60	1739
22	hu40E9-L2H3-G106A.H	2.39	771

[0911] 表35. 所选的人源化抗体与Jurkat细胞的结合亲和力。

排序	抗体	EC ₅₀ (nM)	最大 FACS 信号
1	hu40E9-L2H5	0.36	1915
2	ch40-C12-C10-E9	0.41	2937
3	hu40E9-L2H14	0.43	2019
4	hu40E9-L5H7	0.48	1851
5	hu40E9-L2H9	0.56	1764
6	hu40E9-L2H7	0.66	2377
7	hu40E9-L5H3	0.66	2489
8	hu40E9-L6H3	0.80	1993
9	hu40E9-L2H16	1.27	2006
10	BMK-TCB	1.30	2574
11	hu40E9-L4H7	1.52	1903
12	hu40E9-L4H3	1.59	2491
13	hu40E9-L2H10	2.55	1682
14	hu40E9-L2H6	4.17	1255
15	hu40E9-L2H11	5.00	2001
16	hu40E9-L5H8	25.44	531
17	hu40E9-L4H8	26.92	255
18	hu40E9-L2H8	27.99	1237
19	hu40E9-L2H15	51.69	796
20	hu40E9-L2H12	72.92	850
21	hu40E9-L2H13	83.69	2051

[0914] 4.4 Jurkat-NFAT-荧光素酶活化测定

[0915] 这些抗体的T细胞活化能力通过Jurkat NFAT-荧光素酶活化测定来确定。基准抗体BMK-TCB被用作阳性对照,并且hIgG1同种型被用作阴性对照。用于活化分析的方案描述如下。

[0916] a) 将连续稀释的测试抗体在37℃下涂覆在96孔板上持续2小时,100μl/孔。

[0917] b) 在每个孔中接种Jurkat-NFAT-荧光素酶细胞,并温育24小时,2×10⁴个细胞/孔。

[0918] c) 去除上清液,并用25μL/孔的裂解试剂(Promega,RLB-E3971)裂解细胞。

[0919] d) 样本在-80℃下冷冻保存30分钟,然后在生化培养箱中在37℃下加热15分钟。

[0920] e) 然后将96孔板以500xg离心10分钟,并且将每个孔的20μL上清液转移到新的白色不透明96孔板中。

[0921] f) 将100μL/孔的荧光素酶测定底物(Promega,E4530)加入到96孔板中。

[0922] g) 微孔板读取器用于确定反映荧光素酶活性的水平的相对发光单位(RLU)。

[0923] 根据同一板上的活化的EC₅₀和最大信号的值以ch40-C12-C10-E9为标准进行归一化,并且基准抗体BMK-TCB的值被显示为平均值。如下图10A-F和表24所示,所选的人源化和/或亲和力成熟的抗体的活化能力高于基准抗体BMK-TCB或与基准抗体BMK-TCB类似。如下图17A-E和表36所示,所选的人源化和/或亲和力成熟的抗体对Jurkat-NFAT-荧光素酶细胞具有活化能力,这意味着它们具有T细胞活化能力。

[0924] 表24. 人源化抗体对Jurkat-NFAT-荧光素酶细胞的活化能力

[0925]

排序	抗体	EC ₅₀ _倍数变化	最大 FACS 信号_倍数变化
1	hu40E9-L3H2	0.57	0.73
2	hu40E9-L3H4	0.61	0.64
3	hu40E9-L2H3-D56G.H	0.65	0.82
4	hu40E9-L2H3-N93W.L	0.72	0.88
5	hu40E9-L2H3-N93S.L	0.74	0.87
6	hu40E9-L2H3-S91R.L	0.79	0.95
7	hu40E9-L2H4	0.80	0.89
8	hu40E9-L2H3-N93R.L	0.81	1.07

[0926]

9	hu40E9-L2H3-Y102S.H	0.87	0.96
10	ch40-C12-C10-E9	1.00	1.00
11	hu40E9-L2H3-Y54G.H	1.06	0.94
12	hu40E9-L2H3-D99E.H	1.19	0.91
13	hu40E9-L2H3-Y101F.H	1.23	0.94
14	hu40E9-L3H1	1.33	0.97
15	hu40E9-L2H3-N55S.H	1.35	1.03
16	hu40E9-L2H3-D105R.H	1.95	0.81
17	hu40E9-L2H2	2.14	1.28
18	hu40E9-L2H3	2.43	1.18
19	hu40E9-L2H3-D105E.H	3.77	0.74
20	hu40E9-L2H3-G106A.H	4.95	0.99
21	hu40E9-L2H1	5.73	1.37
22	BMK-TCB	8.17	0.48

[0927]

表36. 人源化抗体对Jurkat-NFAT-荧光素酶细胞的活化能力

[0928]

抗体	EC ₅₀ _倍数变化	最大信号_倍数变化
ch40-C12-C10-E9	1.00	1.00
hu40E9-L2H7	1.18	0.77
hu40E9-L2H5	1.29	0.79
hu40E9-L4H3	1.82	1.08
hu40E9-L4H7	1.95	1.12
hu40E9-L2H9	2.49	0.87
hu40E9-L2H11	2.97	0.85
hu40E9-L2H13	3.08	0.51
hu40E9-L5H7	3.41	1.15
hu40E9-L2H14	3.86	0.96
hu40E9-L6H3	4.34	0.95
hu40E9-L2H6	4.57	0.74
hu40E9-L2H16	6.18	1.35
hu40E9-L2H10	12.57	1.01
hu40E9-L2H8	18.35	0.69
hu40E9-L2H12	21.28	0.73
hu40E9-L5H3	23.19	1.47
hu40E9-L2H15	98.56	0.75

hu40E9-L4H8	-	0.32
hu40E9-L5H8	-	0.30

[0929] 4.5 人类PBMC活化测定

[0930] 基于原代人外周血单核细胞(PBMC)的测定用于确定人源化抗体对T细胞的活化能力。众所周知,当T细胞被活化时,表面蛋白CD25的表达被上调。基准抗体BMK-TCB被用作阳性对照,并且hIgG1同种型被用作阴性对照。用于活化分析的实验步骤在实施例3.6.2中描述,除了步骤(a)中使用的浓度和测试抗体不同外。

[0931] 如下图11和图18所示,如由CD3⁺T细胞中CD25⁺细胞的亚群比率所指示的,阳性对照BMK-TCB会诱导人T细胞上CD25的上调。人源化和/或亲和力成熟的抗体的活化效果高于基准抗体BMK-TCB或与基准抗体BMK-TCB类似。

[0932] 实施例5.147E11E2的人源化抗体:产生、亲和力成熟和抗体表征

[0933] 5.1 人源化抗体的产生

[0934] 选择嵌合抗体ch147E11E2作为用于人源化的克隆。将抗体序列与人类种系序列进行比对,以鉴定最适合的模型。基于与原始小鼠抗体序列的同源性,选择最匹配的人种系序列作为人源化的模板。通常,通过比较IMGT(<https://www.imgt.org>)人抗体重链和轻链可变株基因数据库来进行抗体的人源化,选择与鼠源抗体具有高同源性的重链和轻链可变株基因作为模板,并将鼠源抗体的CDR移植到相应的人类模板中。形成顺序为FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4的可变区序列。根据需要,骨架序列中的关键氨基酸被还原并被突变为对应于鼠抗体的氨基酸,以确保原始亲和力。

[0935] 对这些产生的人源化抗体评估了免疫原性风险和热点,并且未鉴定出免疫原性风险。在147E11E2克隆的人源化抗体(例如hu147E2-L1H3)的HCDR2中鉴定出一个易于脱酰胺的热点(N55G56基序)。为了去除脱酰胺位点,将不同的突变引入到N55中,并且发现N55可以突变为多种残基,但仍保留与CD3的特异性结合。例如,发现当N55(相对于SEQ ID NO:213的位置)被Q或S取代时,抗体结合亲和力得以保留,并且对其与CD3的结合没有负面影响。其他突变,如G56的突变,也被认为是有效的,只要脱酰胺位点被去除,但仍保留与CD3的特异性结合。

[0936] 通过混合和匹配人源化轻链可变区的3个变体(即,hu147E2-L1、hu147E2-L2和hu147E2-L3)和人源化重链可变区的5个变体(即,hu147E2-H2、hu147E2-H3、hu147E2-H3a、hu147E2-H3b和hu147E2-H4),由ch147E11E2获得了总共11种人源化抗体。同样,11种人源化抗体被命名为hu147E2-L1H2、hu147E2-L2H2等等,如下表28所示。

[0937] 表28. 针对ch147E11E2的示例性人源化抗体的重链和轻链可变区

[0938]

	VL 区	hu147E2-L1 (SEQ ID NO: 207)	hu147E2-L2 (SEQ ID NO: 208)	hu147E2-L3 (SEQ ID NO: 209)
VH 区				

[0939]

hu147E2-H2 (SEQ ID NO: 202)	hu147E2-L1H2 (SEQ ID NO: 207/202)	hu147E2-L2H2 (SEQ ID NO: 208/202)	hu147E2-L3H2 (SEQ ID NO: 209/202)
hu147E2-H3 (SEQ ID NO: 203)	hu147E2-L1H3 (SEQ ID NO: 207/203)	hu147E2-L2H3 (SEQ ID NO: 208/203)	hu147E2-L3H3 (SEQ ID NO: 209/203)
hu147E2-H3a (SEQ ID NO: 204)	hu147E2-L1H3a (SEQ ID NO: 207/204)	N/A	N/A
hu147E2-H3b (SEQ ID NO: 205)	hu147E2-L1H3b (SEQ ID NO: 207/205)	N/A	N/A
hu147E2-H4 (SEQ ID NO: 206)	hu147E2-L1H4 (SEQ ID NO: 207/206)	hu147E2-L2H4 (SEQ ID NO: 208/206)	hu147E2-L3H4 (SEQ ID NO: 209/206)

[0940] 5.2对Jurkat细胞的基于细胞的结合亲和力

[0941] 通过FACS分析来确定所选的人源化147E11E2抗体对人类患者来源的淋巴细胞癌细胞系Jurkat的结合亲和力。基准抗体BMK-TCB被用作阳性对照,并且hIgG1同种型被用作阴性对照。用于FACS分析的方案在实施例3.3中描述,除了步骤(c)中使用的测试抗体不同外。

[0942] 如下图12和表29所示,所选的人源化147E11E2抗体对Jurkat细胞的结合亲和力高于基准抗体BMK-TCB。

[0943] 表29. 所选的人源化抗体对Jurkat细胞的结合亲和力

[0944]

排序	抗体	EC ₅₀ (nM)	最大FACS信号
1	ch147E11E2	0.6494	2775
2	hu147E2-L3H3	0.6589	2675
3	hu147E2-L3H4	0.6715	2675
4	hu147E2-L3H2	0.8911	2726
5	BMK-TCB	1.347	2366

[0945] 5.3对293T-cynoCD3mix细胞的基于细胞的结合亲和力

[0946] 通过FACS分析来确定所选的人源化抗体和基准抗体对稳定地过表达食蟹猴CD3 (293T-cynoCD3mix) 细胞的HEK 293T的结合亲和力。BMK-TCB被用作阳性对照,并且hIgG1同种型被用作阴性对照。用于FACS分析的方案在实施例3.4中描述,除了步骤(c)中使用的测试抗体不同外。

[0947] 如下图13和表30所示,所产生的人源化147E11E2抗体对293T-cynoCD3mix细胞的结合亲和力高于基准抗体BMK-TCB。

[0948] 表30. 所选的人源化抗体对293T-cynoCD3mix的结合亲和力

[0949]

排序	抗体	EC50 (nM)	最大信号
1	ch147E11E2	1.23	17837
2	hu147E2-L3H4	1.29	16062
3	hu147E2-L1H4	1.31	18693
4	hu147E2-L1H3	1.51	19199

5	hu147E2-L3H3	1.63	18962
6	hu147E2-L2H2	1.64	20532
7	hu147E2-L1H3a	1.66	20682
8	hu147E2-L1H3b	1.68	21141
9	hu147E2-L3H2	1.77	19191
10	hu147E2-L2H3	1.86	21012
11	hu147E2-L1H2	2.01	19743
12	hu147E2-L2H4	2.02	21234
13	BMK-TCB	2.16	12509

[0950] 5.4 Jurkat-NFAT-荧光素酶活化测定

[0951] 这些抗体的T细胞活化能力通过Jurkat NFAT-荧光素酶活化测定来确定。基准抗体BMK-TCB被用作阳性对照,并且hIgG1同种型被用作阴性对照。用于活化分析的方案在实施例4.4中描述,除了步骤(a)中使用的测试抗体不同外。

[0952] 根据同一板上的活化的EC₅₀和最大信号的值以ch147E11E2为标准进行归一化,并且基准抗体BMK-TCB的值被显示为平均值。如下图14A-C和表31所示,所选的人源化抗体的活化能力高于基准抗体BMK-TCB。

[0953] 表31. 人源化抗体对Jurkat-NFAT-荧光素酶细胞的活化能力

排序	抗体	EC ₅₀ _倍数变化	最大 FACS 信号_倍数变化
1	ch147E11E2	1.00	1.00
2	hu147E2-L1H4	1.21	0.92
3	hu147E2-L2H4	1.24	0.99
4	hu147E2-L3H3	1.36	0.68
5	hu147E2-L2H2	1.40	0.90
6	hu147E2-L2H3	1.65	0.78
7	hu147E2-L3H2	1.66	0.76
8	hu147E2-L1H3b	1.73	0.87
9	hu147E2-L1H3	1.98	1.00
10	hu147E2-L3H4	2.12	0.60
11	BMK-TCB	2.24	0.50

[0955] 5.5 人类PBMC活化测定

[0956] 基于原代人外周血单核细胞(PBMC)的测定用于确定人源化抗体对T细胞的活化能力。众所周知,当T细胞被活化时,表面蛋白CD25的表达被上调。hIgG1同种型被用作阴性对照。用于活化分析的方案在实施例3.6.2中描述,除了步骤(a)中使用的浓度和测试抗体不同外。

[0957] 如下图15所示,如由CD3⁺T细胞中CD25⁺细胞的亚群比率所指示的,人源化抗体诱导人T细胞上CD25的上调。

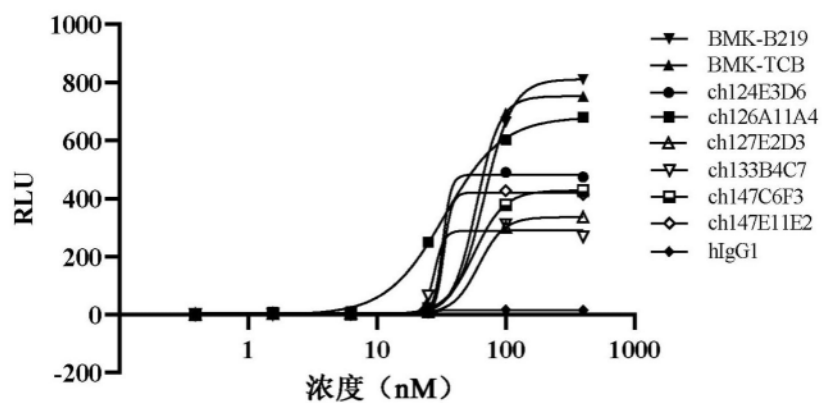
嵌合抗体对Jurkat-NFAT-Luc细胞的
活化能力

图1

嵌合抗体对Jurkat细胞的结合亲和力

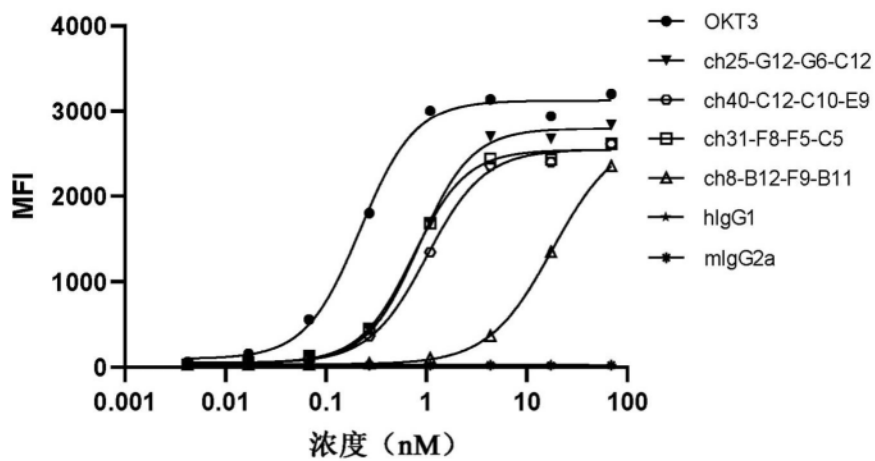


图2

嵌合抗体对Jurkat细胞的结合亲和力

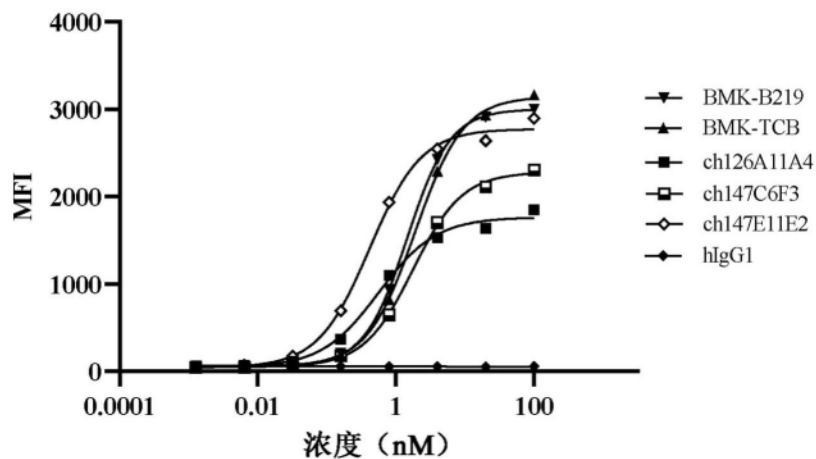


图3

嵌合抗体对293T-cynoCD3mix细胞的结合亲和力

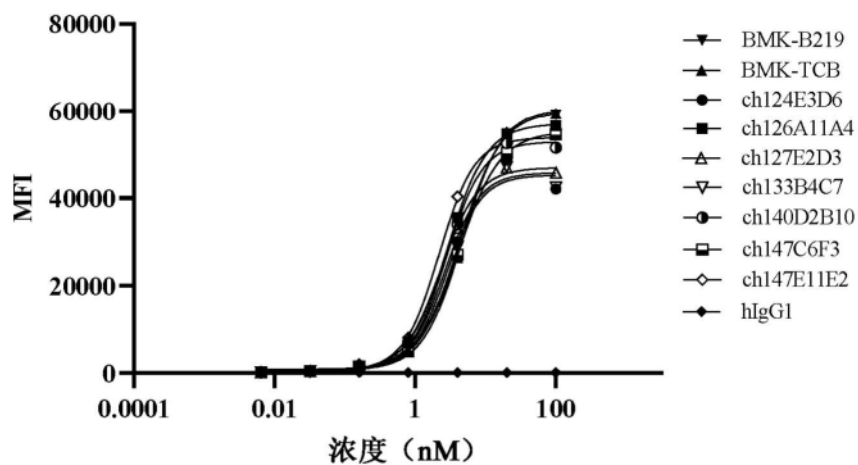


图4

嵌合抗体对Jurkat-NFAT-Luc细胞的活化能力

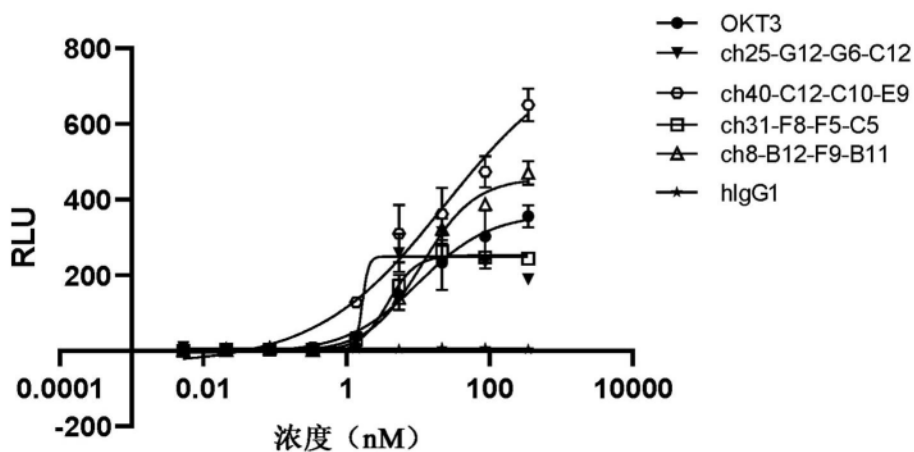


图5

IL-2

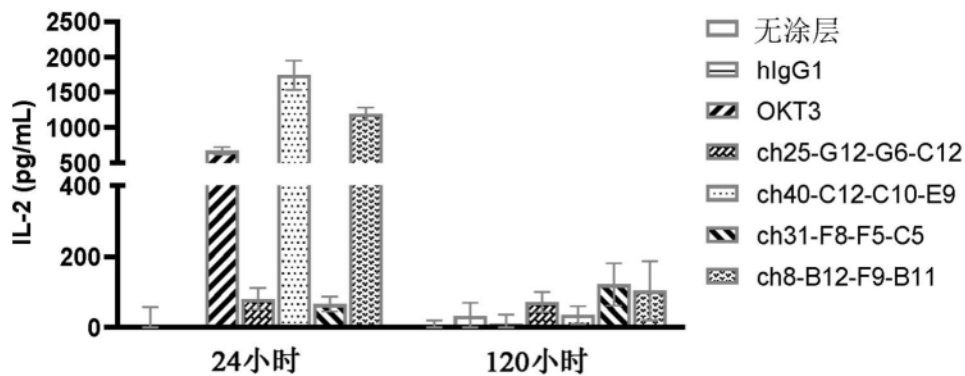


图6

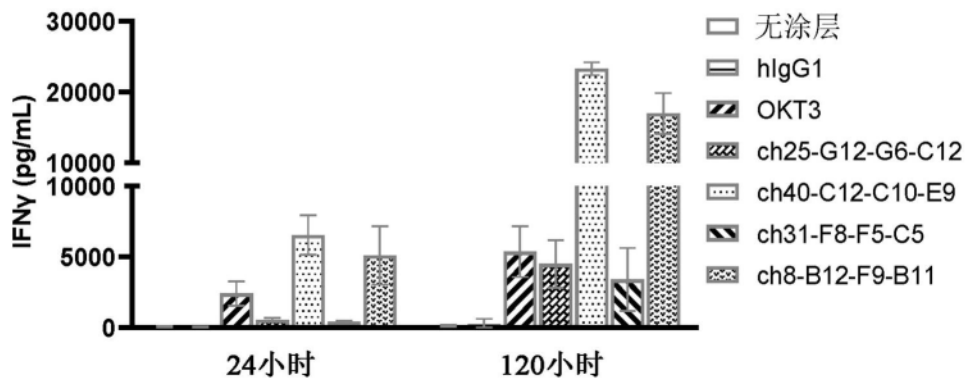
IFN γ 

图7

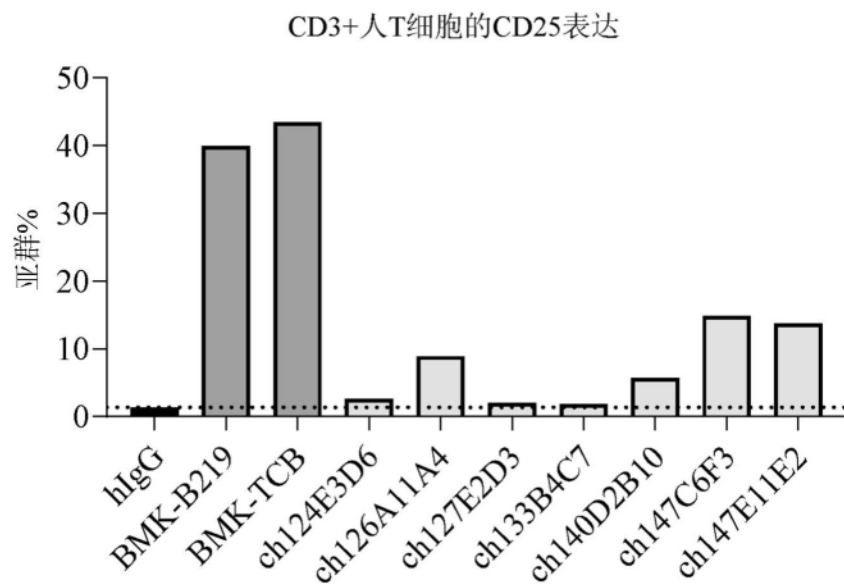


图8

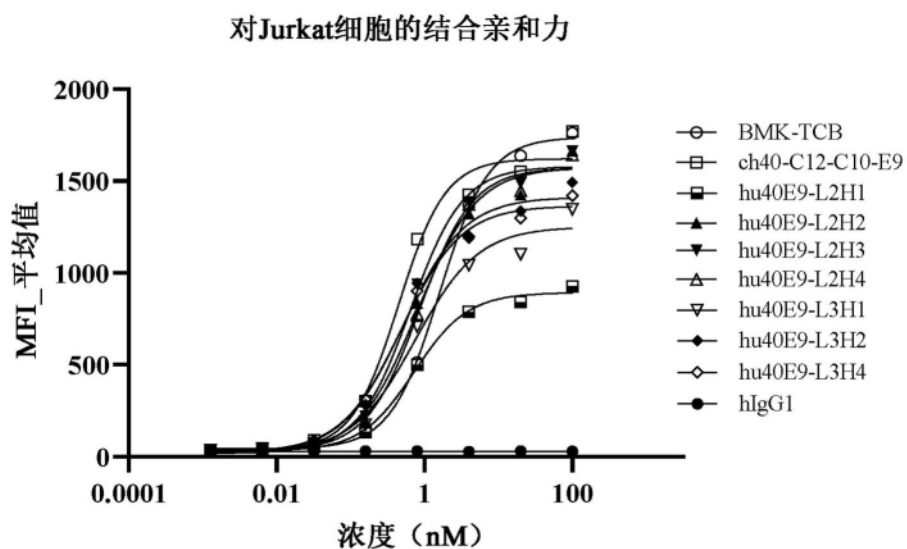


图9A

对Jurkat细胞的结合亲和力

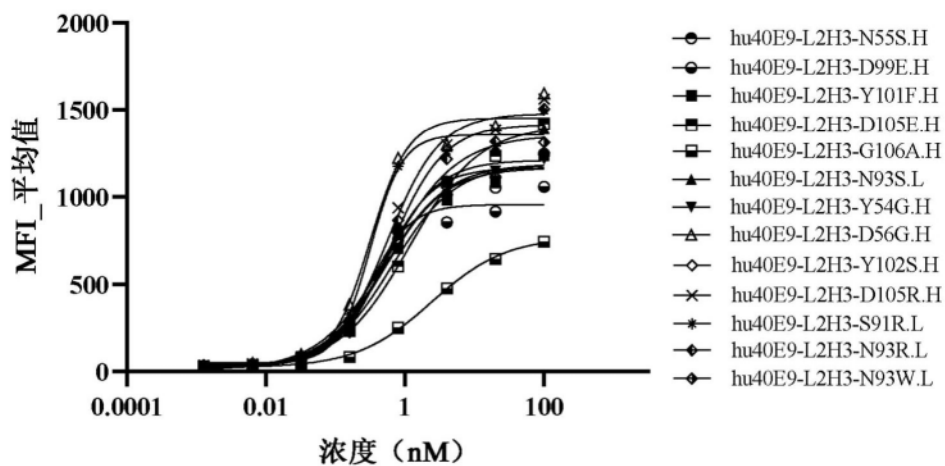
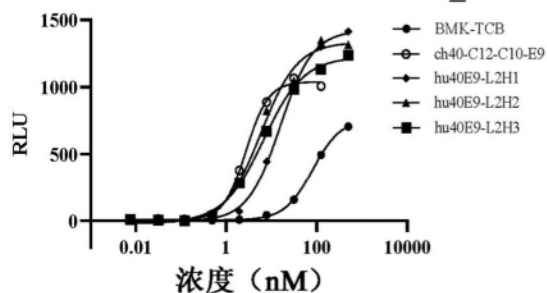


图9B

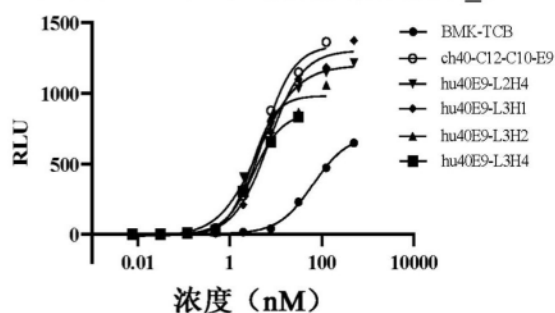
A.

对Jurkat-NFAT-Luc细胞的活化能力_板1



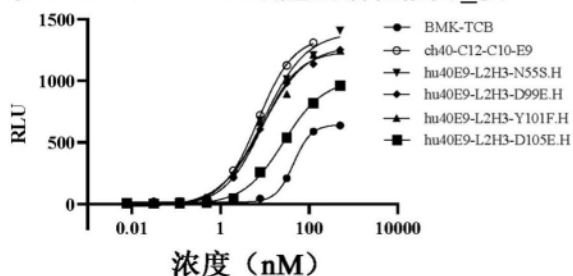
B.

对Jurkat-NFAT-Luc细胞的活化能力_板2



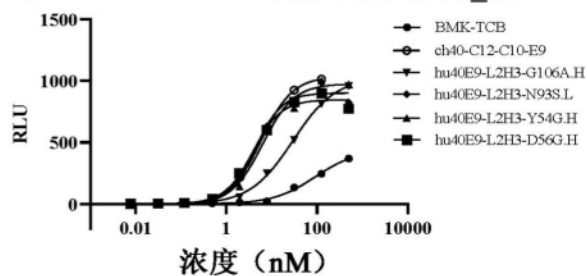
C.

对Jurkat-NFAT-Luc细胞的活化能力_板3



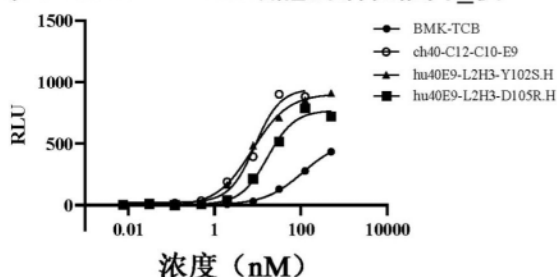
D.

对Jurkat-NFAT-Luc细胞的活化能力_板4



E.

对Jurkat-NFAT-Luc细胞的活化能力_板5



F.

对Jurkat-NFAT-Luc细胞的活化能力_板6

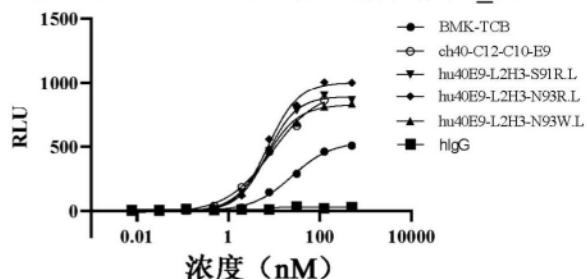


图10

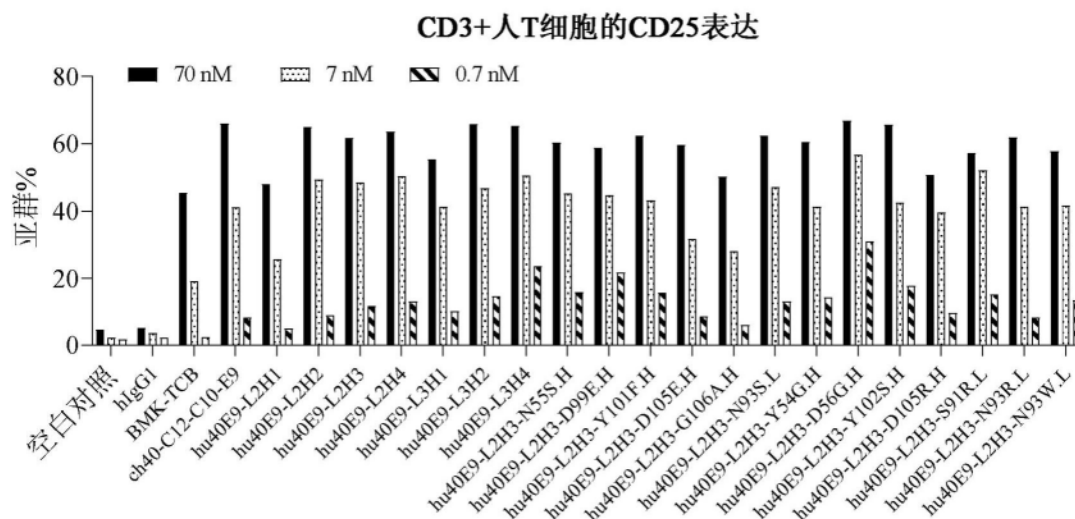


图11

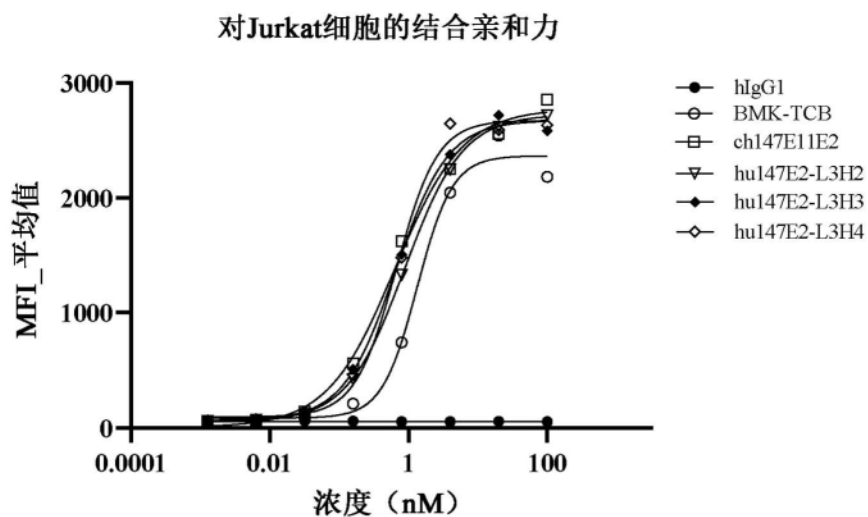


图12

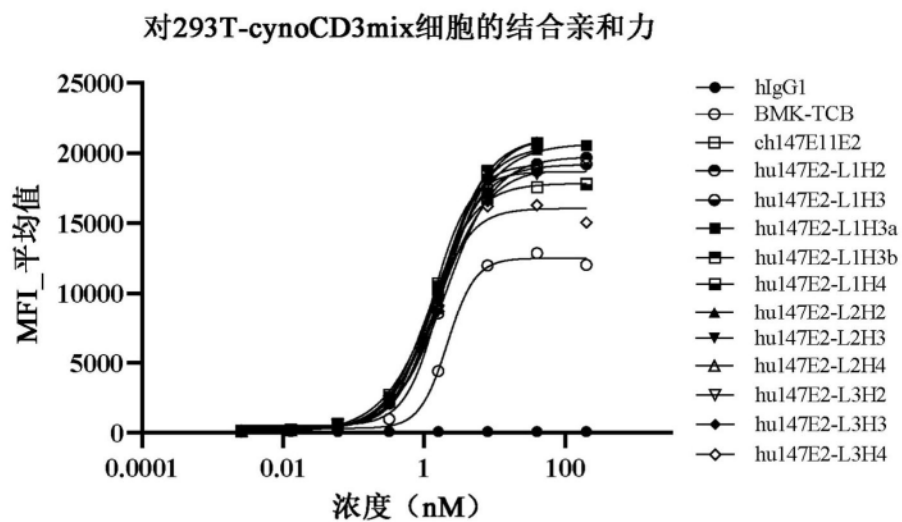
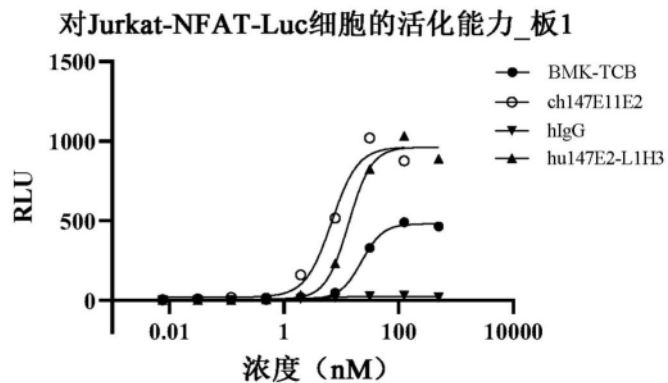
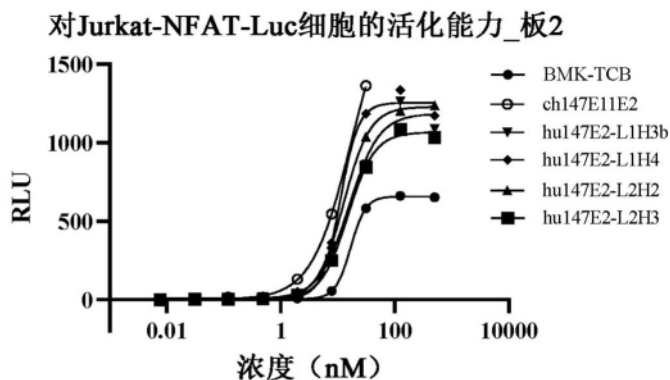


图13

A.



B.



C.

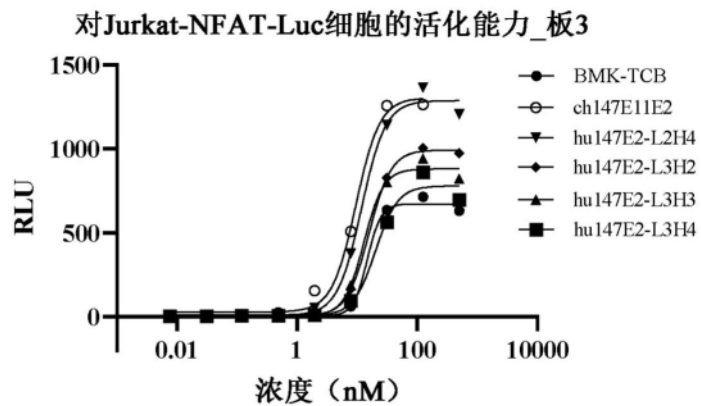


图14

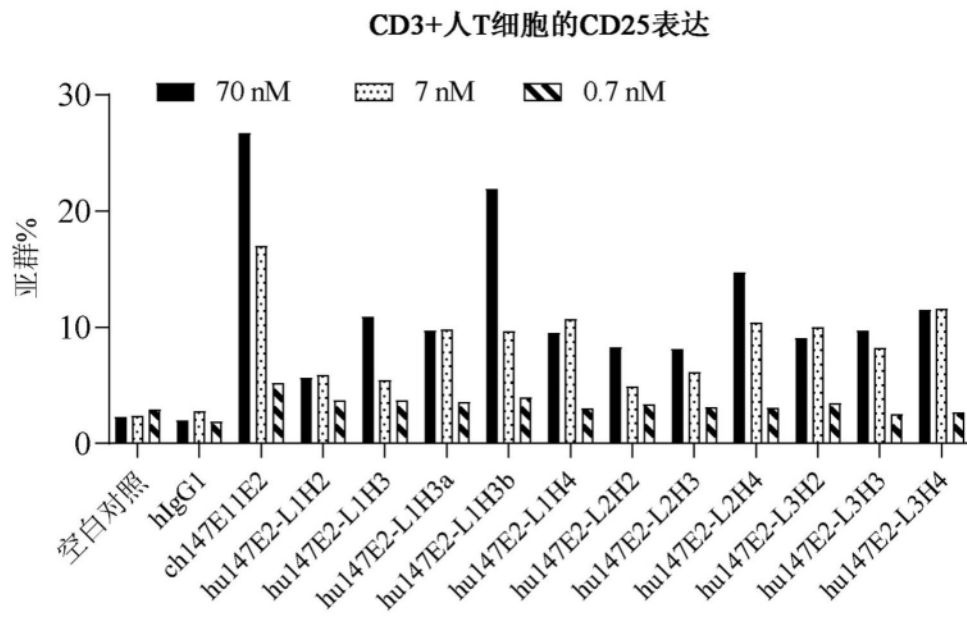
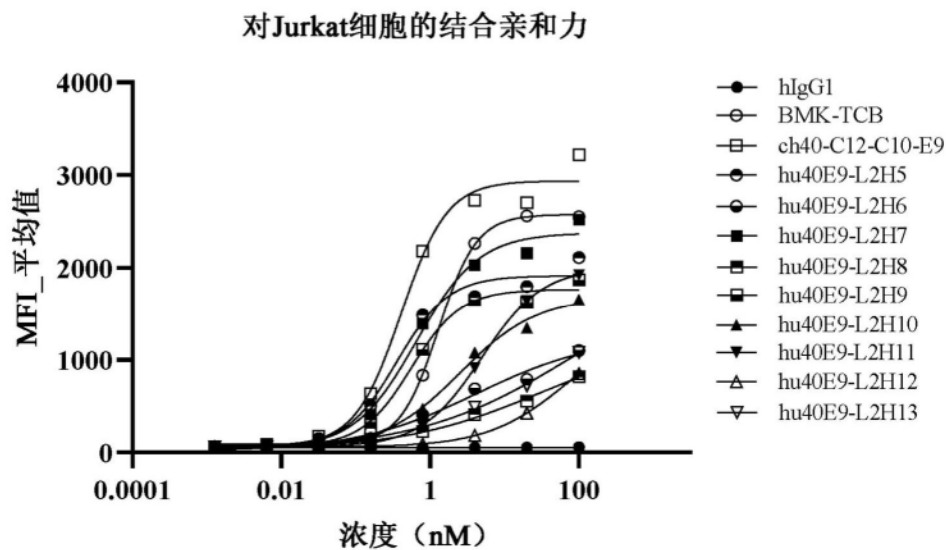


图15

A.



B.

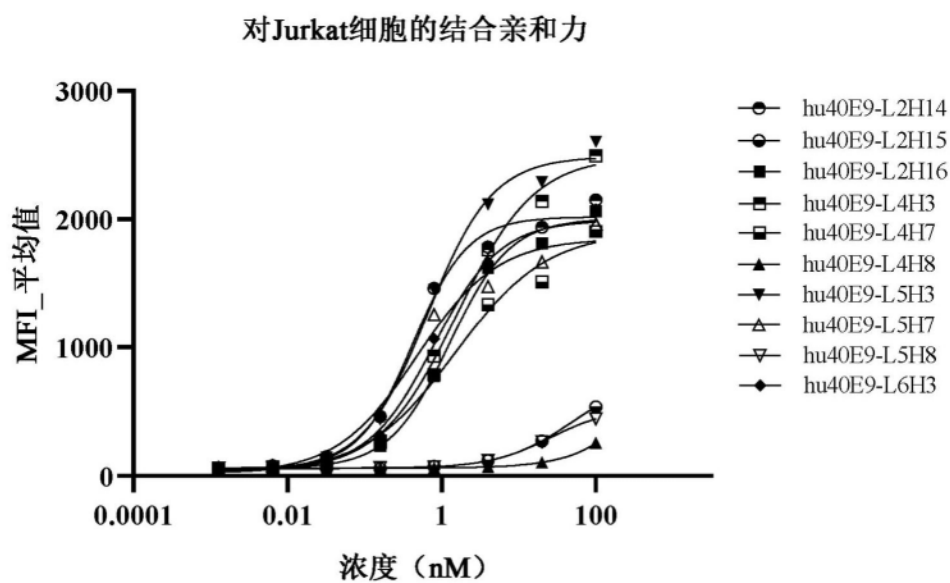
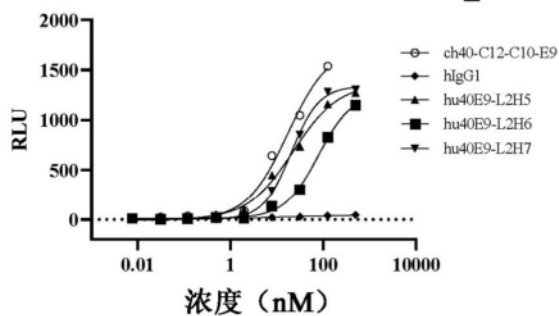


图16

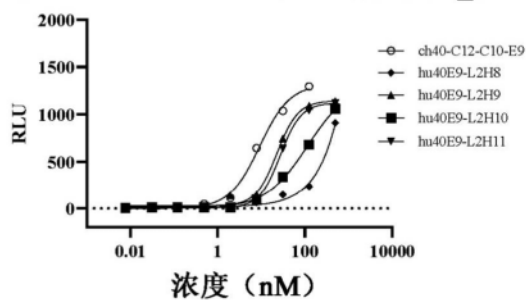
A.

对Jurkat-NFAT-Luc细胞的活化能力_板1



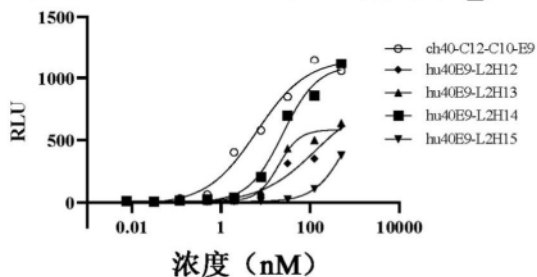
B.

对Jurkat-NFAT-Luc细胞的活化能力_板2



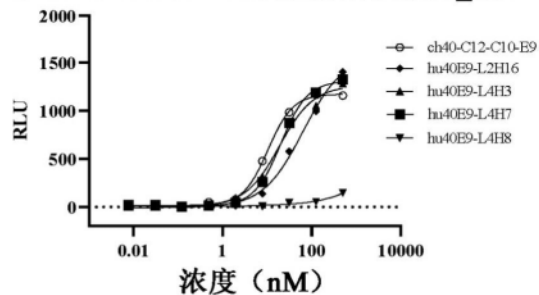
C.

对Jurkat-NFAT-Luc细胞的活化能力_板3



D.

对Jurkat-NFAT-Luc细胞的活化能力_板4



E.

对Jurkat-NFAT-Luc细胞的活化能力_板5

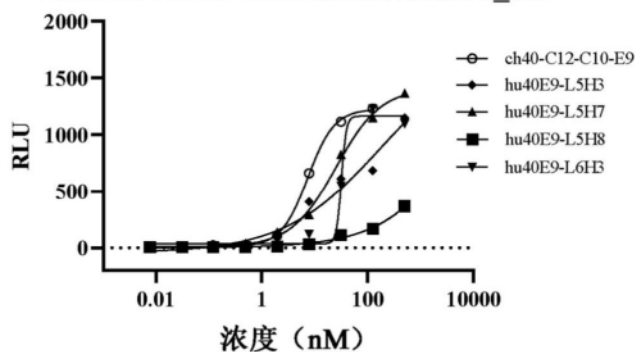


图17

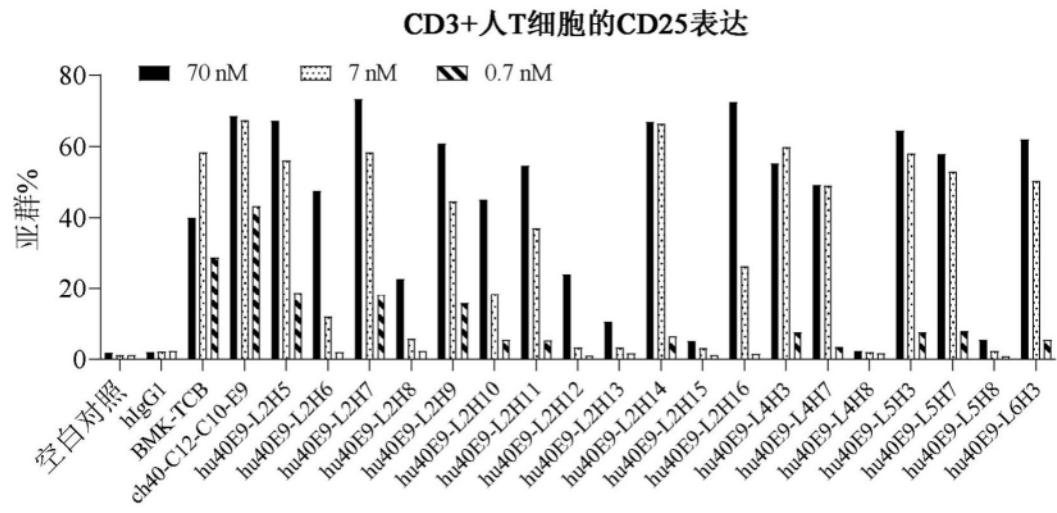


图18