I888654

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本 **(11)證書號數：TW I888654 B**

(45)公告日： 中華民國 114 (2025) 年 07 月 01 日

(21)申請案號：110136528 (22)申請日： 中華民國 110 (2021) 年 09 月 30 日

(51)Int. Cl.： *A61K47/68 (2017.01)* *A61K31/4745 (2006.01)*
A61K9/19 (2006.01) *A61K47/12 (2006.01)*
A61K47/18 (2006.01) *A61K47/26 (2006.01)*
A61K47/36 (2006.01) *A61P35/00 (2006.01)*

(30)優先權：2020/09/30 中國大陸 202011061863.1
2021/09/13 中國大陸 202111069020.0

(71)申請人：大陸商江蘇恆瑞醫藥股份有限公司 (中國大陸) JIANGSU HENGRUI MEDICINE CO., LTD. (CN)
中國大陸
大陸商上海恆瑞醫藥有限公司 (中國大陸) SHANGHAI HENGRUI PHARMACEUTICAL CO., LTD. (CN)
中國大陸

(72)發明人：王志萬 WANG, ZHIWAN (CN) ；吳婷婷 WU, TINGTING (CN) ；劉洵 LIU, XUN (CN)

(74)代理人：洪武雄；陳昭誠

(56)參考文獻：
WO 2020/114480A1

審查人員：吳卓翰

申請專利範圍項數：20 項 圖式數：5 共 133 頁

(54)名稱

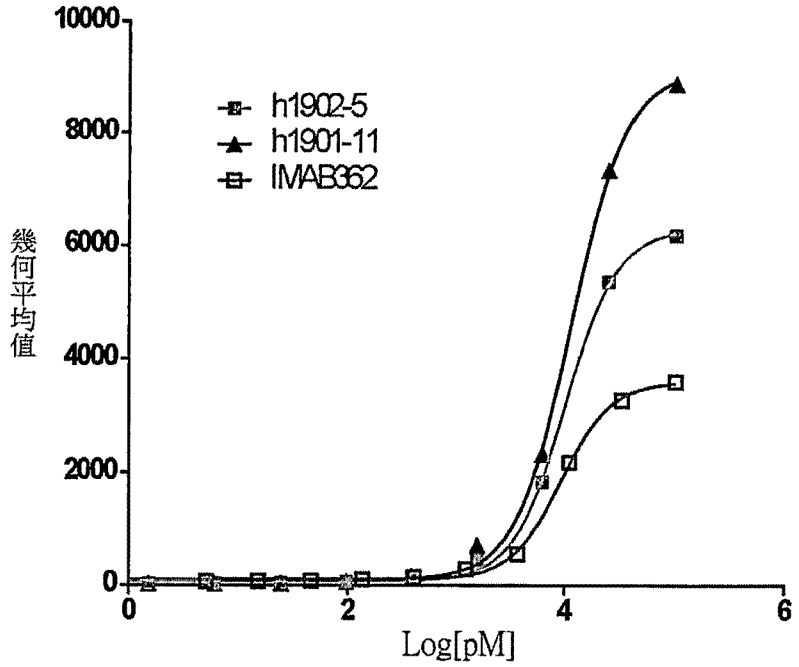
一種含抗體藥物偶聯物的醫藥組成物及其用途

(57)摘要

本披露關於一種含抗體藥物偶聯物的醫藥組成物及其用途。具體而言，本披露關於一種醫藥組成物，其包含抗密蛋白抗體藥物偶聯物。

The present disclosure relates to a pharmaceutical composition comprising an antibody drug conjugate and use thereof. Specifically, the present disclosure relates to a pharmaceutical composition comprising an anti-Claudin antibody drug conjugate.

指定代表圖：


10000
8000
6000
4000
2000
0
幾何平均值
h1902-5
h1901-11
IMAB362
0
2
4
6
Log[pM]

【圖1】

【發明摘要】

【中文發明名稱】 一種含抗體藥物偶聯物的醫藥組成物及其用途

【英文發明名稱】 PHARMACEUTICAL COMPOSITION COMPRISING ANTIBODY DRUG CONJUGATE AND USE THEREOF

【中文】

本披露關於一種含抗體藥物偶聯物的醫藥組成物及其用途。具體而言，本披露關於一種醫藥組成物，其包含抗密蛋白抗體藥物偶聯物。

【英文】

The present disclosure relates to a pharmaceutical composition comprising an antibody drug conjugate and use thereof. Specifically, the present disclosure relates to a pharmaceutical composition comprising an anti-Claudin antibody drug conjugate.

【指定代表圖】 圖1

【代表圖之符號簡單說明】無

【特徵化學式】 無

【發明說明書】

【中文發明名稱】 一種含抗體藥物偶聯物的醫藥組成物及其用途

【英文發明名稱】 PHARMACEUTICAL COMPOSITION COMPRISING ANTIBODY DRUG CONJUGATE AND USE THEREOF

【0001】本申請要求 2020 年 09 月 30 日提交的中國專利申請(202011061863.1)和 2021 年 09 月 13 日提交的中國專利申請(CN202111069020.0)的優先權。

【技術領域】

【0002】本披露屬於藥物製劑領域，具體關於一種包含抗體藥物偶聯物的醫藥組成物，以及其作為抗癌藥物的用途。

【先前技術】

【0003】這裡的陳述僅提供與本披露有關的背景信息，而不必然地構成現有技術。

【0004】密蛋白 18(Claudin-18，CLDN18)是一種在人類中由 Claudin18 基因編碼的蛋白質，屬於細胞緊密連接蛋白家族，可以控制層細胞之間的分子流動。Claudin 蛋白結構中包括四個跨膜區域、兩個細胞外環(其 N 末端和 C 末端在胞漿內)。

【0005】Claudin-18 具有兩個剪接變體，分別為 Claudin 18.1 和 Claudin 18.2，兩者序列之間僅在第一個細胞外環有八個胺基酸的差異。Claudin 18.1 和 Claudin 18.2 的表達分佈有所不同，Claudin 18.1 在正常肺的細胞中選擇性表達，

Claudin 18.2 在正常細胞中表達高度受限，但在多種腫瘤(胃癌、肺癌和胰腺癌等)中頻繁異位激活和過表達。Claudin18.2 被認為是胃癌和其他癌症類型的潛在治療靶點，此靶點的發現也為胃癌的治療提供了一種新的選擇。

【0006】 抗體藥物偶聯物(antibody drug conjugate，ADC)將單株抗體或者抗體片段藉由穩定的化學接頭化合物與具有生物活性的細胞毒素相連，充分利用了抗體對正常細胞和腫瘤細胞表面抗原結合的特異性和細胞毒性物質的高效性，同時又避免了前者療效偏低和後者毒副作用過大等缺陷。這也就意味著，與以往傳統的化療藥物相比，抗體藥物偶聯物能更精準地結合腫瘤細胞並降低將對正常細胞的影響。

【0007】 目前已有靶向 Claudin18.2 的抗體及 ADC 藥物的專利報導，如 WO2016166122 和 WO2016165762。

【0008】 由於 ADC 具有比抗體更複雜的異質結構，因此，對用於治療目的 ADC 製劑提出了更大的挑戰。

【發明內容】

【0009】 本披露涉及含抗 Claudin18.2 抗體藥物偶聯物的藥物製劑及其用途。該製劑具有穩定性好，凍乾形態好等優勢。

【0010】 本披露提供一種醫藥組成物，其包含抗 Claudin18.2 抗體藥物偶聯物和緩沖劑，其中該抗 Claudin18.2 抗體藥物偶聯物中的抗 Claudin18.2 抗體包含重鏈可變區和輕鏈可變區，其中，

i)該重鏈可變區與如 SEQ ID NO：5 所示的重鏈可變區具有相同胺基酸序列的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3，該輕鏈可變區包含與如 SEQ ID NO：6 所示的輕鏈可變區具有相同胺基酸序列的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或

ii)該重鏈可變區與如 SEQ ID NO：3 所示的重鏈可變區具有相同胺基酸序列的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3，該輕鏈可變區與如 SEQ ID NO：4 所示的輕鏈可變區具有相同胺基酸序列的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；

該緩衝劑是組胺酸鹽緩衝劑。

【0011】 在一些實施方案中，如上任一項所述的醫藥組成物，其中該緩衝劑為組胺酸-醋酸鹽緩衝劑。

【0012】 在一些實施方案中，如上任一項所述的醫藥組成物，其中該抗 Claudin18.2 抗體包含重鏈可變區和輕鏈可變區，其中，

iii)該重鏈可變區包含分別如 SEQ ID NO：15、SEQ ID NO：16 和 SEQ ID NO：17 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3，該輕鏈可變區包含分別如 SEQ ID NO：18、SEQ ID NO：19 和 SEQ ID NO：20 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或

iv)該重鏈可變區包含分別如 SEQ ID NO：9、SEQ ID NO：10 和 SEQ ID NO：11 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3，該輕鏈可變區包含分別如 SEQ ID NO：12、SEQ ID NO：13 和 SEQ ID NO：14 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。

【0013】 在一些實施方案中，如上任一項所述的醫藥組成物，其中該抗 Claudin18.2 抗體是鼠源抗體、嵌合抗體或人源化抗體。

【0014】 在一些實施方案中，如上任一項所述的藥醫藥組成物，其中該抗Claudin18.2 抗體包含重鏈可變區和輕鏈可變區，其中，包含重鏈可變區和輕鏈可變區，其中，

(1)該重鏈可變區胺基酸序列如 SEQ ID NO:3 所示或與其有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性，和該輕鏈可變區胺基酸序列如 SEQ ID NO：4 所示或與其有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性；

(2)該重鏈可變區胺基酸序列如 SEQ ID NO：24 所示或與其有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性，和該輕鏈可變區胺基酸序列如 SEQ ID NO：21 所示或與其有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性；

(3)該重鏈可變區胺基酸序列如 SEQ ID NO:5 所示或與其有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性，和該輕鏈可變區胺基酸序列如 SEQ ID NO：6 所示或與其有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性；或

(4)該重鏈可變區胺基酸序列如 SEQ ID NO：31 所示或與其有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性，和該輕鏈可變區胺基酸序列如 SEQ ID NO：28 所示或與其有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性。

【0015】 在一些實施方案中，如上任一項所述的醫藥組成物，其中該抗Claudin18.2 抗體為人源化抗體，該人源化抗體包含來源自人抗體的框架區或其

框架區變體，該框架區變體為在人抗體的輕鏈框架區和/或重鏈框架區上分別具有至多 10 個胺基酸的回復突變。

【0016】 在一些實施方案中，如上任一項所述的醫藥組成物，其中該框架區變體包含選自以下(a)或(b)所述的突變：

(a)該輕鏈可變區中包含任選自 22S、85I 和 87H 中的一個或更多個胺基酸回復突變，和/或該重鏈可變區中包含任選自 48I、82T 和 69M 中的一個或更多個胺基酸回復突變；或

(b)該輕鏈可變區中包含選自任選自 4L 或 22S 中的一個或更多個胺基酸回復突變，和/或該重鏈可變區中包含任選自 38K、40R、48I、66K、67A、69L、71L 和 73K 中的一個或更多個胺基酸回復突變。

【0017】 在一些實施方案中，如上任一項所述的醫藥組成物，其中該框架區變體包含選自以下所述的突變：

(a-1)該輕鏈可變區中包含 22S、85I 和 87H 的胺基酸回復突變，和該重鏈可變區中包含 48I 和 82T 的胺基酸回復突變；或

(b-1)該輕鏈可變區中包含 4L 的胺基酸回復突變；

其中，該重鏈可變區的 82T 中的 82 為 Kabat 規則的第 82A 位。

【0018】 在一些實施方案中，如上任一項所述的醫藥組成物，其中抗 Claudin18.2 抗體包含如下任一所示的重鏈可變區和輕鏈可變區：

(vii)該重鏈可變區如 SEQ ID NO：3 所示和該輕鏈可變區如 SEQ ID NO：4 所示；

(viii)該重鏈可變區如 SEQ ID NO：24、25、26 或 27 所示和該輕鏈可變區如 SEQ ID NO：21、22 或 23 所示；

(ix)該重鏈可變區如 SEQ ID NO：5 所示和該輕鏈可變區如 SEQ ID NO：6 所示；或

(x)該重鏈可變區如 SEQ ID NO：31、32、33 或 34 所示和該輕鏈可變區如 SEQ ID NO：28、29 或 30 所示；

在一些實施方案中，如上任一項所述的醫藥組成物，其中抗 Claudin18.2 抗體包含如下任一所示的重鏈可變區和輕鏈可變區：

(xi)該重鏈可變區如 SEQ ID NO：31 所示和該輕鏈可變區如 SEQ ID NO：29 所示；或

(xii)該重鏈可變區如 SEQ ID NO：26 所示和該輕鏈可變區如 SEQ ID NO：23 所示。

【0019】 在一些實施方案中，如上任一項所述的藥醫藥組成物，其中抗 Claudin18.2 抗體包含抗體重鏈恆定區和輕鏈恆定區。

【0020】 在一些實施方案中，該重鏈恆定區選自人 IgG1、IgG2、IgG3 和 IgG4 恆定區及其常規變體，該輕鏈恆定區選自人抗體 κ 和 λ 鏈恆定區及其常規變體。在一些實施方案中，該抗體包含如 SEQ ID NO：7 所示的重鏈恆定區和如 SEQ ID NO：8 所示的輕鏈恆定區；

【0021】 在一些實施方案中，該抗體包含：與具有 SEQ ID NO：35 或 42 所示胺基酸序列的重鏈具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%同一性的重鏈，和與具有 SEQ ID NO：36 或 39 所示胺基酸序列的輕鏈有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%同一性的輕鏈；或與具有 SEQ ID NO：37 或 49 所示胺基酸序列的重鏈具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%

同一性的重鏈，和與具有 SEQ ID NO：38 或 46 所示胺基酸序列的輕鏈有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%同一性的輕鏈。

【0022】在一些實施方案中，如上任一項所述的醫藥組成物，其中抗 Claudin18.2 抗體包含如下任一所示的重鏈和輕鏈：

(c)序列如 SEQ ID NO：35 所示的重鏈和序列如 SEQ ID NO：36 所示的輕鏈；

(d)序列如 SEQ ID NO：42、43、44 或 45 所示的重鏈和序列如 SEQ ID NO：39、40 或 41 所示的輕鏈；

(e)序列如 SEQ ID NO：37 所示的重鏈和序列如 SEQ ID NO：38 所示的輕鏈；或

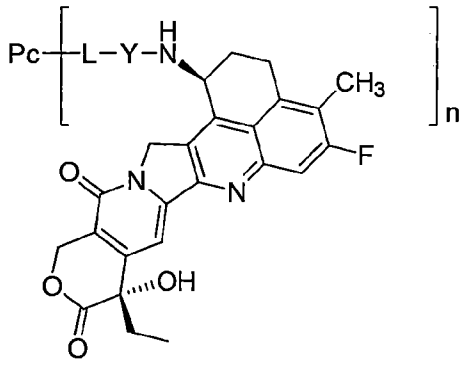
(f)序列如 SEQ ID NO：49、50、51 或 52 所示的重鏈和序列如 SEQ ID NO：46、47 或 48 所示的輕鏈。

【0023】在一些實施方案中，如上任一項所述的醫藥組成物，其中抗 Claudin18.2 抗體包含如下任一所示的重鏈和輕鏈：

SEQ ID NO：44 所示的重鏈，和 SEQ ID NO：41 所示的輕鏈；或

SEQ ID NO：49 所示的重鏈，和 SEQ ID NO：47 所示的輕鏈。

【0024】在一些實施方案中，如上任一項所述的醫藥組成物，其中該抗 Claudin18.2 抗體藥物偶聯物具有如通式(Pc-L-Y-D)所示的結構：



(Pc-L-Y-D)　　；

其中，

Y 選自-O-$(CR^aR^b)_m$-CR^1R^2-C(O)-、-O-CR^1R^2-$(CR^aR^b)_m$-、-O-CR^1R^2-、-NH-$(CR^aR^b)_m$-CR^1R^2-C(O)-和-S-$(CR^aR^b)_m$-CR^1R^2-C(O)-；

R^a和 R^b相同或不同，且各自獨立地選自氫原子、氘原子、鹵素、烷基、鹵烷基、氘代烷基、烷氧基、羥基、胺基、氰基、硝基、羥烷基、環烷基和雜環基；

或者，R^a和 R^b與其相連接的碳原子一起形成環烷基或雜環基；

R^1選自鹵素、鹵烷基、氘代烷基、環烷基、環烷基烷基、烷氧基烷基、雜環基、芳基和雜芳基；

R^2選自氫原子、鹵素、鹵烷基、氘代烷基、環烷基、環烷基烷基、烷氧基烷基、雜環基、芳基和雜芳基；

或者，R^1和 R^2與其相連接的碳原子一起形成環烷基或雜環基；

或者，R^a和 R^2與其相連接的碳原子一起形成環烷基或雜環基；

m 為 0 至 4 的整數；

n 為 1 至 10，n 是小數或整數；

L 為接頭單元；

Pc 為抗 Claudin18.2 抗體；

在一些實施方案中，如上任一項所述的醫藥組成物，其中 n 是小數或整數，可以是 2 至 8、3 至 7、3.5 至 4.5、2、3、3.5、4、4.5、5、6、7、8、9。

【0025】 在一些實施方案中，如上任一項所述的醫藥組成物，其中該抗 Claudin18.2 抗體藥物偶聯物具有如通式(Pc-L-Y-D)所示的結構，

其中，

Y 為-O-(CR^aR^b)$_m$-CR^1R^2-C(O)-；

R^a和 R^b相同或不同，且各自獨立地選自氫原子、氘原子、鹵素或 C_{1-6}烷基；

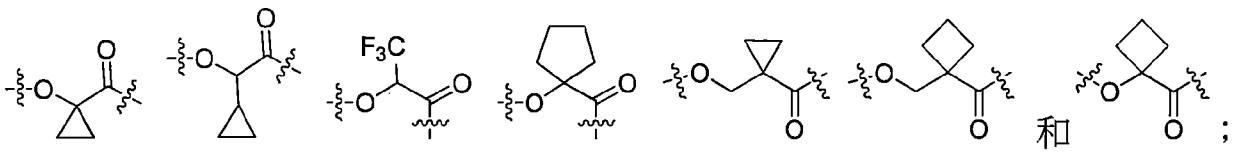
R^1為鹵 C_{1-6}烷基或 C_{3-6}環烷基；

R^2選自氫原子、鹵 C_{1-6}烷基或 C_{3-6}環烷基；

或者，R^1和 R^2與其相連接的碳原子一起形成 C_{3-6}環烷基；

m 為 0 或 1。

【0026】 在一些實施方案中，如上任一項所述的醫藥組成物，其中該抗 Claudin18.2 抗體藥物偶聯物具有如通式(Pc-L-Y-D)所示的結構，其中 Y 選自：



其中 Y 的 O 端與接頭單元 L 相連。

【0027】 在一些實施方案中，如上任一項所述的醫藥組成物，其中接頭單元-L-為-L^1-L^2-L^3-L^4-，

L^1選自-(琥珀醯亞胺-3-基-*N*)-W-C(O)-、-CH_2-C(O)-NR^3-W-C(O)-或-C(O)-W-C(O)-，其中 W 選自 C_{1-8}烷基、C_{1-8}烷基-環烷基或 1 至 8 個鏈原子的直鏈雜烷基，該雜烷基包含 1 至 3 個選自 N、O 或 S 的雜原子，其中該 C_{1-8}烷基、C_{1-8}烷基-環烷基或 1 至 8 個鏈原子的直鏈雜烷基各自獨立地任選進一步被選自鹵素、

羥基、氰基、胺基、C_{1-6}烷基、氯C_{1-6}烷基、氘代C_{1-6}烷基、C_{1-6}烷氧基和C_{3-6}環烷基的一個或多個取代基所取代；

L^2 選自 $-NR^4(CH_2CH_2O)p^1CH_2CH_2C(O)-$ 、 $-NR^4(CH_2CH_2O)p^1CH_2C(O)-$ 、 $-S(CH_2)p^1C(O)-$ 或化學鍵，其中 p^1 為 1 至 20 的整數；

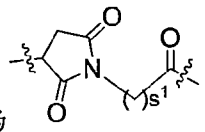
L^3 為由 2 至 7 個胺基酸構成的肽殘基，其中該胺基酸殘基選自苯丙胺酸、甘胺酸、纈胺酸、賴胺酸、瓜胺酸、絲胺酸、谷胺酸和天冬胺酸中的胺基酸形成的胺基酸殘基，並任選進一步被選自鹵素、羥基、氰基、胺基、C_{1-6}烷基、氯C_{1-6}烷基、氘代C_{1-6}烷基、C_{1-6}烷氧基和C_{3-6}環烷基中的一個或多個取代基所取代；

L^4 選自$-NR^5(CR^6R^7)_t-$、$-C(O)NR^5-$、$-C(O)NR^5(CH_2)_t-$ 或化學鍵，其中 t 為 1 至 6 的整數；

R^3、R^4 和 R^5 相同或不同，且各自獨立地選自氫原子、C_{1-6}烷基、鹵 C_{1-6}烷基、氘代C_{1-6}烷基和C_{1-6}羥烷基；

R^6 和 R^7 相同或不同，且各自獨立地選自氫原子、鹵素、C_{1-6}烷基、鹵 C_{1-6}烷基、氘代C_{1-6}烷基和C_{1-6}羥烷基。

【0028】 在一些實施方案中，如上任一項所述的醫藥組成物，其中接頭單元-L-為$-L^1-L^2-L^3-L^4-$，

L^1 為  ，s^1 為 2 至 8 的整數；

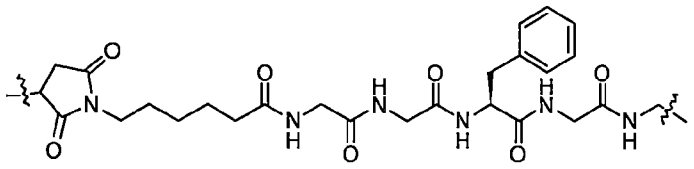
L^2 為化學鍵；

L^3 為四肽殘基；較佳為 GGFG 的四肽殘基(SEQ ID No：55)；

L^4 為$-NR^5(CR^6R^7)t-$，R^5、R^6 或 R^7 相同或不同，且各自獨立地為氫原子或C_{1-6}烷基，t 為 1 或 2；

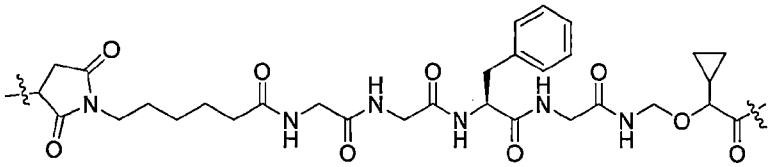
其中該 L^1 端與 Pc 相連，L^4 端與 Y 相連。

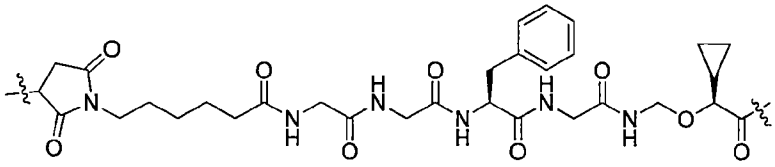
【0029】 在一些實施方案中，如上任一項所述的醫藥組成物，其中-L-為：



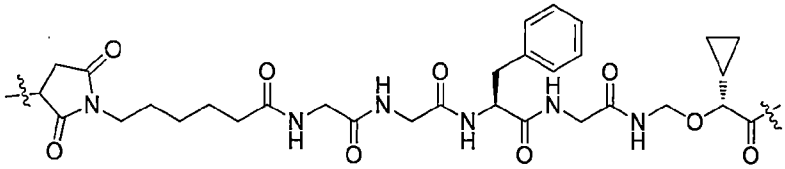
。

【0030】 在一些實施方案中，如上任一項所述的醫藥組成物，其中 L-Y-任選自：



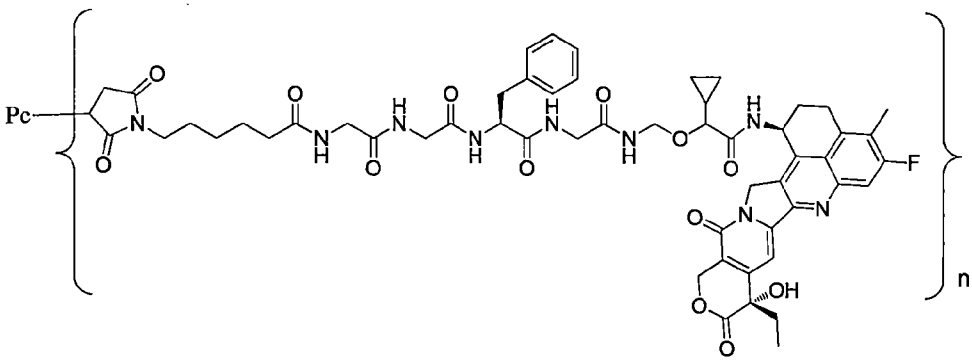


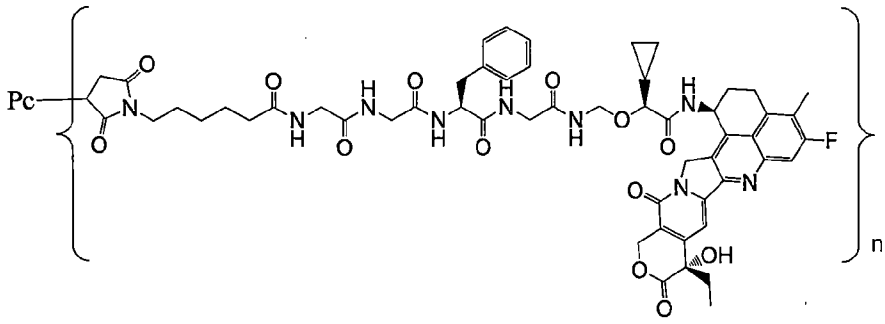
和



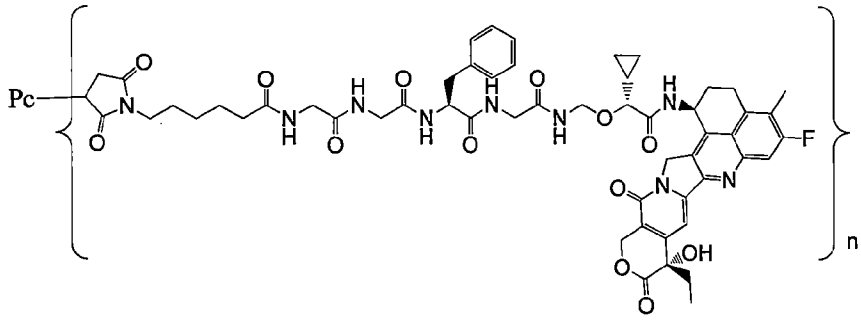
。

【0031】 在一些實施方案中，如上任一項所述的醫藥組成物，其中該抗 Claudin18.2 抗體藥物偶聯物選自如下任一所示的結構：



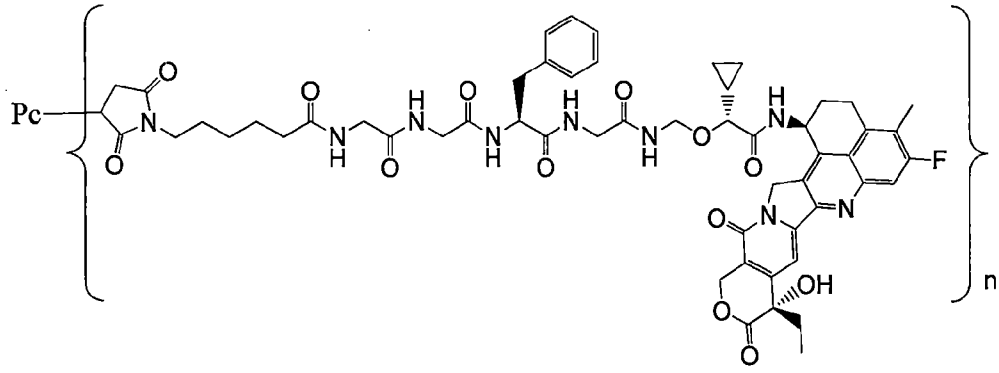


和



其中 Pc 和 n 如通式(Pc-L-Y-D)中所定義。

【0032】 在一些實施方案中，如上任一項所述的醫藥組成物，其中該抗 Claudin18.2 抗體藥物偶聯物具有如下式所示的結構：



;

其中，

n 為 2 至 8，n 是小數或整數；

Pc 為抗 Claudin18.2 抗體。

【0033】 在一些實施方案中，如上任一項所述的醫藥組成物，其中該醫藥組成物還包含表面活性劑。在一些實施方案中，該表面活性劑選自聚山梨酯(如聚山梨酯 20、聚山梨酯 80)、聚羥亞烴、Triton、十二烷基磺酸鈉、月桂基磺酸

鈉、辛基糖甙鈉、月桂基-磺基甜菜鹼、肉豆蔻基-磺基甜菜鹼、亞油基-磺基甜菜鹼、硬脂基-磺基甜菜鹼、月桂基-肌胺酸、肉豆蔻基-肌胺酸、亞油基-肌胺酸、硬脂基-肌胺酸、亞油基-甜菜鹼、肉豆蔻基-甜菜鹼、鯨蠟基-甜菜鹼、月桂醯胺基丙基-甜菜鹼、柯卡醯胺基丙基-甜菜鹼、亞油醯胺基丙基-甜菜鹼、肉豆蔻醯胺基丙基-甜菜鹼、棕櫚醯胺基丙基-甜菜鹼、異硬脂醯胺基丙基-甜菜鹼、肉豆蔻醯胺基丙基-二甲基胺、棕櫚醯胺基丙基-二甲基胺、異硬脂醯胺基丙基-二甲基胺、甲基可可醯基鈉、甲基油基牛磺酸鈉、聚乙二醇、聚丙二醇、乙烯與丙烯二醇的共聚物等。

【0034】 在一些實施方案中，該表面活性劑為聚山梨酯。在一些實施方案中，該表面活性劑為聚山梨酯 80 或聚山梨酯 20。在一些實施方案中，該表面活性劑為聚山梨酯 80。

【0035】 在一些實施方案中，如上任一項所述的醫藥組成物，其中該表面活性劑濃度為 0.05 mg/mL 至 0.5 mg/mL 或 0.1 mg/mL 至 0.2 mg/mL。在一些實施方案中，該表面活性劑濃度為 0.05 mg/mL、0.1 mg/mL、0.15mg/mL、0.18mg/mL、0.19 mg/mL、0.2 mg/mL、0.21 mg/mL、0.22 mg/mL、0.3 mg/mL、0.4 mg/mL、0.5 mg/mL。在一些實施方案中，該表面活性劑濃度為 0.2 mg/mL。

【0036】 在一些實施方案中，如上任一項所述的醫藥組成物，其中該組成物還包含糖。在一些實施方案中，該糖選自常規組成物 $(CH_2O)_n$ 及其衍生物，包括單糖、二糖、三糖、多糖、糖醇、還原性糖、非還原性糖等等。該糖可選自葡萄糖、蔗糖、海藻糖、乳糖、果糖、麥芽糖、右旋糖苷、甘油、赤藻糖醇、丙三醇、阿拉伯糖醇、木糖醇、山梨糖醇、甘露醇、蜜李二糖、松三糖、蜜三糖、甘露三糖、水蘇糖、麥芽糖、乳果糖、麥芽酮糖、山梨醇、麥芽糖醇、乳糖醇、異

-麥芽酮糖等。在一些實施方案中，該糖選自蔗糖、甘露醇和海藻糖。在一些實施方案中，該糖為蔗糖。

【0037】 在一些實施方案中，如上任一項所述的醫藥組成物，其中該糖濃度為 20 mg/mL 至 100 mg/mL 或 40 mg/mL 至 80 mg/mL。在一些實施方案中，該糖濃度為 20 mg/mL、30 mg/mL、40 mg/mL、50 mg/mL、60 mg/mL、70 mg/mL、80 mg/mL、90 mg/mL 或 100 mg/mL。在一些實施方案中，該糖濃度為 40 mg/mL。

【0038】 在一些實施方案中，如上任一項所述的醫藥組成物，其中該抗體藥物偶聯物濃度為以蛋白(即抗體)濃度計 1 mg/mL 至 100 mg/mL 或以蛋白濃度計 10 mg/mL 至 30 mg/mL。在一些實施方案中，該抗體藥物偶聯物濃度為以蛋白濃度計 5 mg/mL、10 mg/mL、20 mg/mL、30 mg/mL、40 mg/mL、50 mg/mL、60 mg/mL、70 mg/mL、80 mg/mL、90 mg/mL 或 100 mg/mL。在一些實施方案中，該抗體藥物偶聯物濃度為以蛋白濃度計 20 mg/mL。

【0039】 在一些實施方案中，如上任一項所述的醫藥組成物，其中該緩衝劑的濃度為 5 mM 至 50 mM 或 10 mM 至 30 mM。在一些實施方案中，該緩衝劑的濃度為 5 mM、10 mM、15 mM、20mM、25 mM、30 mM、35 mM、40 mM、45 mM 或 50 mM。在一些實施方案中，該緩衝劑的濃度為 30 mM。

【0040】 在一些實施方案中，如上任一項所述的醫藥組成物，其中該醫藥組成物的 pH 為 5.0-6.5 或 5.0-5.5。在一些實施方案中，該醫藥組成物的 pH 為 5.0、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6.0、6.1、6.2、6.3、6.4 或 6.5。在一些實施方案中，該醫藥組成物的 pH 為 5.0-5.4。在一些實施方案中，該醫藥組成物的 pH 為 5.0-5.3。

【0041】在一些實施方案中，如上任一項所述的醫藥組成物，其包含如下組分：

(a) 以蛋白濃度計 10 mg/mL 至 30 mg/mL 的該抗 Claudin18.2 抗體藥物偶聯物，(b) 0.1 mg/mL 至 0.2 mg/mL 的聚山梨酯，(c) 40 mg/mL 至 80 mg/mL 的糖，和 (d) 10 mM 至 30 mM 的組胺酸鹽緩衝劑；該醫藥組成物的 pH 為約 5.0-5.5。

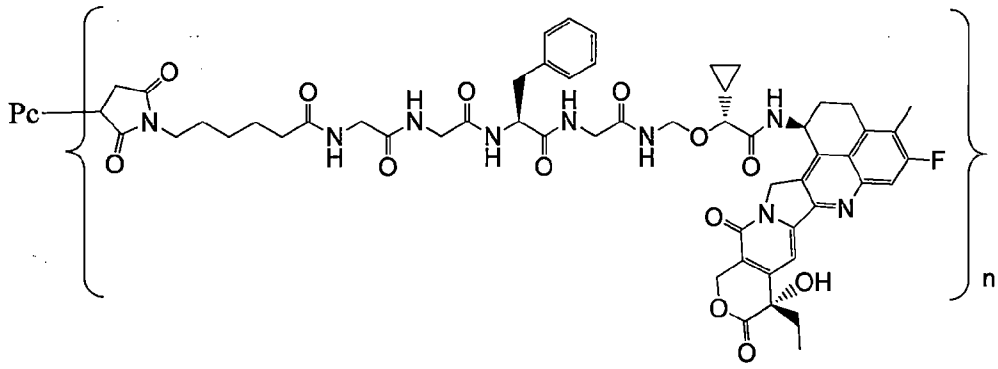
【0042】在一些實施方案中，如上任一項所述的醫藥組成物，其包含如下組分：

(a) 以蛋白濃度計 10 mg/mL 至 30 mg/mL 的該抗 Claudin18.2 抗體藥物偶聯物，(b) 0.1 mg/mL 至 0.2 mg/mL 的聚山梨酯 80，(c) 40 mg/mL 至 80 mg/mL 的蔗糖，和 (d) 10 mM 至 30 mM 的組胺酸鹽緩衝劑；該醫藥組成物的 pH 為約 5.0-5.5。

【0043】在一些實施方案中，如上任一項所述的醫藥組成物，其包含如下組分：

(a) 以蛋白濃度計 20 mg/mL 的該抗 Claudin18.2 抗體藥物偶聯物，(b) 0.2 mg/mL 的聚山梨酯 80，(c) 40 mg/mL 的蔗糖，和 (d) 30 mM 組胺酸-醋酸鹽緩衝劑，該醫藥組成物的 pH 為 5.0-5.3。

【0044】在一些實施方案中，如上任一項所述的醫藥組成物，該抗 Claudin18.2 抗體藥物偶聯物具有如下式所示的結構：



；

其中，

n 為 2 至 8，n 是小數或整數；

Pc 為抗 Claudin18.2 抗體，其包含 SEQ ID NO：49 所示的重鏈，和 SEQ ID NO：47 所示的輕鏈；該醫藥組成物含有以蛋白濃度計 20 mg/mL 的該抗體藥物偶聯物；

該醫藥組成物還包含以下組分：

0.2 mg/mL 的聚山梨酯 80、40 mg/mL 的蔗糖和 30 mM 組胺酸-醋酸鹽緩衝劑，該醫藥組成物的 pH 為 5.0-5.3。

【0045】 在一些實施方案中，如上任一項所述的醫藥組成物，該醫藥組成物是液體製劑。在一些實施方案中，該液體製劑的溶劑是水。

【0046】 本披露還提供一種含抗體藥物偶聯物的凍乾製劑，其特徵在於該製劑複溶後可形成如上任一項所述的醫藥組成物。

【0047】 本披露還提供一種的凍乾製劑，其為如上任一項所述的醫藥組成物的凍乾形式。

【0048】 本披露還提供一種製備含抗體藥物偶聯物的凍乾製劑的方法，其中包括將如上任一項所述的醫藥組成物進行冷凍乾燥的步驟。

【0049】 本披露還提供一種含抗體藥物偶聯物的凍乾製劑，該製劑藉由將如上任一項所述的醫藥組成物經冷凍乾燥獲得。

【0050】 在一些實施方案中，如上任一項所述冷凍乾燥依次包括預凍、一次乾燥和二次乾燥的步驟。

【0051】 在一些實施方案中，凍乾程序如下所示：預凍，溫度為 5℃；預凍，溫度為-45℃；一次乾燥，溫度為-20℃，真空度為 20Pa；二次乾燥的的溫度為 25℃，真空度為 1Pa。在一些實施方案中，凍乾程序如下所示：預凍，溫度為 5℃，時間 10 min；預凍，溫度為-45℃，時間 50 min；一次乾燥，溫度為-20℃，真空度為 20Pa，時間 120 min；二次乾燥的的溫度為 25℃，真空度為 1Pa，時間 60 min。

【0052】 在一些實施方案中，凍乾製劑於 2-8℃穩定至少 3 個月，至少 6 個月，至少 12 個月，至少 18 個月或至少 24 個月。在一些實施方案中，該凍乾製劑於 40℃穩定至少 7 天，至少 14 天或至少 28 天。

【0053】 本披露還提供一種的凍乾製劑，其為如上任一項所述的凍乾製劑的複溶形式。

【0054】 本披露還提供一種含抗體藥物偶聯物的複溶溶液，其特徵在於該複溶溶液是藉由將如上任一項所述的凍乾製劑經複溶製備獲得。

【0055】 在一些實施方案中，如上所述的複溶溶液包含如下組分：

(a) 以蛋白濃度計 10 mg/mL 至 30 mg/mL 的該抗 Claudin18.2 抗體藥物偶聯物，(b) 0.1 mg/mL 至 0.2 mg/mL 的聚山梨酯，(c) 40 mg/mL 至 80 mg/mL 的糖，和 (d) 10 mM 至 30 mM 的組胺酸鹽緩衝劑；該複溶溶液的 pH 為約 5.0-5.5。

【0056】 在一些實施方案中，如上所述的複溶溶液包含如下組分：

(a) 以蛋白濃度計 10 mg/mL 至 30 mg/mL 的該抗 Claudin18.2 抗體藥物偶聯物，(b) 0.1 mg/mL 至 0.2 mg/mL 的聚山梨酯 80，(c) 40 mg/mL 至 80 mg/mL 的蔗糖，和 (d) 10 mM 至 30 mM 的組胺酸鹽緩衝劑；該複溶溶液的 pH 為約 5.0-5.5。

【0057】 在一些實施方案中，如上所述的複溶溶液包含如下組分：

(a) 以蛋白濃度計 20 mg/mL 的該抗 Claudin18.2 抗體藥物偶聯物，(b) 0.2 mg/mL 的聚山梨酯 80，(c) 40 mg/mL 的蔗糖，和 (d) 30 mM 組胺酸-醋酸鹽緩衝劑，該複溶溶液的 pH 為 5.0-5.3。

【0058】 本披露還提供一種製品，其包括容器，該容器中裝有如上任一項所述的醫藥組成物、如上任一項所述的凍乾製劑或如上任一項所述的複溶溶液。

【0059】 本披露還提供一種治療腫瘤或癌症的方法，包括向受試者施用有效量的如上任一項所述的醫藥組成物、如上任一項的凍乾製劑、如上任一項的複溶溶液、或如上任一項所述的製品。

【0060】 在一些實施方案中，本披露還提供如上任一項所述的醫藥組成物、如上任一項的凍乾製劑、如上任一項的複溶溶液或如上任一項所述的製品在製備治療腫瘤或癌症的藥物中的用途。

【0061】 在一些實施方案中，本披露還提供用作藥物的如上任一項所述的醫藥組成物、如上任一項的凍乾製劑、如上任一項的複溶溶液或如上任一項所述的製品。

【0062】 在一些實施方案中，該腫瘤或癌症較佳為頭和頸鱗狀細胞癌、頭和頸癌、腦癌、神經膠質瘤、多形性成膠質細胞瘤、神經母細胞瘤、中樞神經系統癌、神經內分泌腫瘤、咽喉癌、鼻咽癌、食管癌、甲狀腺癌、惡性胸膜間皮瘤、肺癌、乳腺癌、肝癌、肝細胞瘤、肝細胞癌、肝膽癌、胰腺癌、胃癌、胃腸道癌、

腸癌、結腸癌、結腸直腸癌、腎癌、透明細胞腎細胞癌、卵巢癌、子宮內膜癌、子宮頸癌、膀胱癌、前列腺癌、睾丸癌、皮膚癌、黑色素瘤、白血病、淋巴瘤、骨癌、軟骨肉瘤、骨髓瘤、多發性骨髓瘤、骨髓異常增生綜合症、庫肯勃氏瘤、骨髓增生性腫瘤、鱗狀細胞癌、尤因氏肉瘤、全身性輕鏈澱粉樣變性和梅克爾細胞癌。

【0063】 在一些實施方案中，該淋巴瘤選自：何傑金淋巴瘤、非何傑金淋巴瘤、瀰漫性大 B-細胞淋巴瘤、濾泡性淋巴瘤、原發性縱隔大 B-細胞淋巴瘤、套細胞淋巴瘤、小淋巴細胞性淋巴瘤、富含 T-細胞/組織細胞的大 B-細胞淋巴瘤和淋巴漿細胞性淋巴瘤。

【0064】 在一些實施方案中，該肺癌選自：非小細胞肺癌和小細胞肺癌。

【0065】 在一些實施方案中，該白血病選自：慢性髓細胞樣白血病、急性髓細胞樣白血病、淋巴細胞白血病、成淋巴細胞性白血病、急性成淋巴細胞性白血病、慢性淋巴細胞性白血病和髓樣細胞白血病。

【圖式簡單說明】

【0066】

圖 1：人源化抗體在細胞水平與人 Claudin18.2 的結合 FACS 檢測結果。

圖 2：人源化抗體的 NUGC4 細胞內吞實驗。

圖 3A 至圖 3C：抗體在不同 Claudin18.2 表達程度的 NUGC4 細胞中 ADCC 效應檢測。圖 3A 為抗體在野生型 NUGC4 細胞(Claudin18.2 低表達)中的 ADCC 效應檢測；圖 3B 為抗體在 Claudin18.2 中等表達 NUGC4 細胞中的 ADCC 效應檢測；圖 3C 為抗體在 Claudin18.2 高表達 NUGC4 細胞中的 ADCC 效應檢測。

圖 4：本披露 ADC-1 的抑瘤實驗結果。

圖 5：本披露 ADC-2 的抑瘤實驗結果。

【實施方式】

【0067】 術語

為了更容易理解本披露，以下具體定義了某些技術和科學術語。除非在本文中另有明確定義，本文使用的所有其它技術和科學術語都具有本披露所屬技術領域具有通常知識者通常理解的含義。

【0068】 “抗體藥物偶聯物(antibody drug conjugate，ADC)”是把抗體或者抗體片段藉由穩定的化學接頭化合物與具有生物活性的細胞毒素或具有細胞殺傷活性的小分子藥物相連，充分利用了抗體對腫瘤細胞特異或高表達抗原結合的特異性和細胞毒素的高效性，避免對正常細胞的毒副作用。與以往傳統的化療藥物相比，抗體藥物偶聯物能精準地結合腫瘤細胞並降低將對正常細胞的影響。

【0069】 “緩衝劑”指藉由其酸-鹼共軛組分的作用而耐受 pH 變化的緩衝劑。將 pH 控制在適當範圍中的緩衝劑的例子包括醋酸鹽、琥珀酸鹽、葡萄糖酸鹽、組胺酸鹽、草酸鹽、乳酸鹽、磷酸鹽、枸櫞酸鹽、酒石酸鹽、延胡索酸鹽、甘胺醯甘胺酸和其它有機酸緩衝劑。

【0070】 “組胺酸鹽緩衝劑”是包含組胺酸根離子的緩衝劑。組胺酸鹽緩衝劑的實例包括組胺酸-鹽酸鹽，組胺酸-醋酸鹽，組胺酸-磷酸鹽，組胺酸-硫酸鹽等緩衝劑；較佳組胺酸-醋酸鹽緩衝劑。組胺酸-醋酸鹽緩衝劑是組胺酸與醋酸配製而成，組胺酸鹽酸鹽緩衝劑是組胺酸與鹽酸配製而成。

【0071】“枸櫞酸鹽緩衝劑”是包括枸櫞酸根離子的緩衝劑。枸櫞酸鹽緩衝劑的實例包括枸櫞酸-枸櫞酸鈉、枸櫞酸-枸櫞酸鉀、枸櫞酸-枸櫞酸鈣、枸櫞酸-枸櫞酸鎂等。較佳的枸櫞酸鹽緩衝劑是枸櫞酸-枸櫞酸鈉。

【0072】“琥珀酸鹽緩衝劑”是包括琥珀酸根離子的緩衝劑。琥珀酸鹽緩衝劑的實例包括琥珀酸-琥珀酸鈉、琥珀酸-琥珀酸鉀、琥珀酸-琥珀酸鈣鹽等。較佳的琥珀酸鹽緩衝劑是琥珀酸-琥珀酸鈉。示例性的，該琥珀酸-琥珀酸鈉可由琥鉑酸與氫氧化鈉配製而成，或由琥鉑酸與琥珀酸鈉配製而成。

【0073】“磷酸鹽緩衝劑”是包括磷酸根離子的緩衝劑。磷酸鹽緩衝劑的實例包括磷酸氫二鈉-磷酸二氫鈉、磷酸氫二鈉-磷酸二氫鉀、磷酸氫二鈉-枸櫞酸等。較佳的磷酸鹽緩衝劑是磷酸氫二鈉-磷酸二氫鈉。

【0074】“醋酸鹽緩衝劑”是包括醋酸根離子的緩衝劑。醋酸鹽緩衝劑的實例包括醋酸-醋酸鈉、醋酸組胺酸鹽、醋酸-醋酸鉀、醋酸醋酸鈣、醋酸-醋酸鎂等。較佳的醋酸鹽緩衝劑是醋酸-醋酸鈉。

【0075】“醫藥組成物”表示含有一種或多種本文所述抗體藥物偶聯物或其生理學上/可藥用的鹽或前體藥物與其他化學組分的混合物，該其他組分例如生理學/可藥用的載體和賦形劑。醫藥組成物的目的是保持活性成分的穩定性，促進對生物體的給藥，利於活性成分的吸收進而發揮生物活性。

【0076】本披露中，“醫藥組成物”和“製劑”並不互相排斥。

【0077】本披露中所述醫藥組成物的溶液形式，若無特殊說明，其中的溶劑均為水。

【0078】“凍乾製劑”表示液體或溶液形式的醫藥組成物或液體或溶液製劑經真空冷凍乾燥步驟之後獲得的製劑或醫藥組成物。

【0079】 儘管本披露提供了含量範圍或含量值，但所屬技術領域具有通常知識者理解，該含量範圍或含量值涵蓋了所測定具體值的可接受誤差範圍。

【0080】 本披露所述的醫藥組成物能夠達到一種穩定的效果：其中的抗體藥物偶聯物在貯藏後基本上保留其物理穩定性和/或化學穩定性和/或生物學活性的醫藥組成物，較佳地，醫藥組成物在貯藏後基本上保留其物理和化學穩定性以及其生物學活性。貯藏期一般基於醫藥組成物的預定保存期來選擇。目前有多種測量蛋白質穩定性的分析技術，可測量在選定溫度貯藏選定時間段後的穩定性。

【0081】 穩定的製劑是在下述情況下沒有觀察到顯著變化的製劑：在冷藏溫度(2-8℃)保存至少 3 個月、較佳 6 個月、更佳 1 年，且甚至更佳地多達 2 年。另外，穩定的液體製劑包括這樣的液體製劑：其在包括 25℃的溫度保存包括 1 個月、3 個月、6 個月在內的時段後表現出期望的特徵。穩定性的典型的例子：藉由 SEC-HPLC 測得，通常不超過約 10%、較佳不超過約 5%的抗體單體發生聚集或降解。藉由視覺分析，製劑是淡黃色近無色澄明液體或者無色，或澄清至稍微乳白色。該製劑的濃度、pH 和重量克分子滲透壓濃度具有不超過±10%變化。通常觀察到不超過約 10%、較佳不超過約 5%的減少。通常形成不超過約 10%、較佳不超過約 5%的聚集。

【0082】 如果在目檢顏色和/或澄清度後，或者藉由 UV 光散射、尺寸排阻色譜法(SEC)和動態光散射(DLS)測得，抗體藥物偶聯物沒有顯示出顯著的聚集增加、沉澱和/或變性，那麼該抗體藥物偶聯物在藥物製劑中“保留它的物理穩定性”。蛋白構象的變化可以藉由螢光光譜法(其確定蛋白三級結構)和藉由 FTIR 光譜法(其確定蛋白二級結構)來評價。

【0083】 如果抗體藥物偶聯物沒有顯示出顯著的化學改變，那麼該抗體在藥物製劑中“保留它的化學穩定性”。藉由檢測和定量化學上改變的形式的蛋白，可以評估化學穩定性。經常改變蛋白化學結構的降解過程包括水解或截短(藉由諸如尺寸排阻色譜法和 CE-SDS 等方法來評價)、氧化(藉由諸如與質譜法或 MALDI/TOF/MS 結合的肽譜法等方法來評價)、脫醯胺作用(藉由諸如離子交換色譜法、毛細管等電聚焦、肽譜法、異天冬胺酸測量等方法來評價)和異構化(藉由測量異天冬胺酸含量、肽譜法等來評價)。

【0084】 如果抗體藥物偶聯物在給定時間的生物活性是在製備藥物製劑時表現出的生物活性的預定範圍內，那麼該抗體藥物偶聯物在藥物製劑中“保留它的生物活性”。

【0085】 本披露所用胺基酸三字母代碼和單字母代碼如 J. biol. chem, 243, p3558 (1968)中所述。

【0086】 本披露的術語“抗體”以最廣義使用，其涵蓋各種抗體結構，包括但不限於單株抗體，多株抗體，多特異性抗體(例如雙特異性抗體)，全長抗體或其抗原結合片段(也稱“抗原結合部分”)，只要它們展現出期望的抗原結合活性。全長抗體是包含由二硫鍵互相連接的至少兩條重鏈和兩條輕鏈的免疫球蛋白(Ig)。免疫球蛋白重鏈恆定區的胺基酸組成和排列順序不同，故其抗原性也不同。據此，可將免疫球蛋白分為五類，或稱為免疫球蛋白的同種型，即 IgM、IgD、IgG、IgA 和 IgE，其相應的重鏈分別為 μ 鏈、δ 鏈、γ 鏈、α 鏈、和 ε 鏈。同一類 Ig 根據其鉸鏈區胺基酸組成和重鏈二硫鍵的數目和位置的差別，又可分為不同的亞類，如 IgG 可分為 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4。輕鏈藉由恆定區的不同分為 κ 鏈或 λ 鏈。五類 Ig 中每類 Ig 都可以有 κ 鏈或 λ 鏈。

【0087】 全長抗體重鏈和輕鏈靠近 N 端的約 110 個胺基酸的序列變化很大，為可變區(縮寫為 Fv 區)；靠近 C 端的其餘胺基酸序列相對穩定，為恆定區。每條重鏈由重鏈可變區(縮寫為 VH)和重鏈恆定區(縮寫為 CH)組成。重鏈恆定區包含 CH1、CH2 和 CH3 三個結構域。每條輕鏈由輕鏈可變區(縮寫為 VL)和輕鏈恆定區(縮寫為 CL)組成。重鏈可變區和輕鏈可變區包括高變區(也稱為互補性決定區，縮寫為 CDR 或 HVR)和序列相對保守的骨架區(也稱框架區，縮寫為 FR)。每個 VL 和 VH 由從胺基末端排到羧基末端按以下順序排列的 3 個 CDR 4 個 FR 組成：FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4。輕鏈的 3 個 CDR 區指 LCDR1、LCDR2、和 LCDR3；重鏈的 3 個 CDR 區指 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3。

【0088】 本披露中所述人抗體重鏈恆定區和人抗體輕鏈恆定區的“常規變體”是指現有技術已公開的來源於人的不改變抗體可變區結構和功能的重鏈恆定區或輕鏈恆定區的變體，示例性變體包括對重鏈恆定區進行定點改造和胺基酸替換的 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 重鏈恆定區變體，具體替換如現有技術已知的 YTE 突變、L234A 和/或 L235A 突變、S228P 突變、265A(例如 D265A)和/或 297A(例如 N297A)，和/或獲得 knob-into-hole 結構的突變(使得抗體重鏈具有 knob-Fc 和 hole-Fc 組合)，這些突變已被證實使得抗體具有新的性能，但不改變抗體可變區的功能。

【0089】 術語“抗原結合片段”或“功能片段”或“抗原結合部分”是指保持特異性結合抗原的能力的完整抗體的一個或更多個片段。已顯示可利用全長抗體的片段來進行抗體的抗原結合功能。示例性的，涵蓋在術語“抗原結合片段”的結合片段的實例包括：(i) Fab 片段，一種由 VL、VH、CL 和 CH1 結構域組成的單價片段；(ii) $F(ab')_2$ 片段，一種包含藉由鉸鏈區上的二硫橋連接的兩個 Fab 片段

的二價片段，(iii)由 VH 和 CH1 結構域組成的 Fd 片段；(iv)由抗體的單臂的 VH 和 VL 結構域組成的 Fv 片段；(v) dsFv，由 VH 和 VL 經鏈間二硫鍵形成的穩定的抗原結合片段；(vi)包含 scFv、dsFv、Fab 等片段的雙抗體、雙特異性抗體和多特異性抗體。此外，雖然 Fv 片段的兩個結構域 VL 和 VH 由分開的基因編碼，但可使用重組方法將這兩個結構域藉由能夠使它們形成為單條蛋白質鏈的人工肽接頭來接合，其中 VL 和 VH 配對形成單價分子，稱為單鏈 Fv(scFv)(參見，例如，Bird 等人(1988) Science242 : 423-426 ；和 Huston 等人(1988) Proc. Natl. Acad. Sci USA85: 5879-5883))。此類單鏈抗體也包括在術語抗體的“”抗原結合片段”中。使用所屬技術領域具有通常知識者已知的常規技術獲得此類抗體片段，並且以與對於完整抗體的方式相同的方式就功用性篩選片段。可藉由重組 DNA 技術或藉由酶促或化學斷裂完整免疫球蛋白來產生抗原結合部分。

【0090】 術語“胺基酸差異”或“胺基酸突變”是指相較於原蛋白質或多肽，變體蛋白質或多肽存在胺基酸的改變或突變，包括在原蛋白質或多肽的基礎上發生 1 個、2 個、3 個或更多個胺基酸的插入、缺失或替換。

【0091】 術語“抗體框架”或“FR 區”，是指可變結構域 VL 或 VH 的一部分，其用作該可變結構域的抗原結合環(CDR)的支架。從本質上講，其是不具有 CDR 的可變結構域。

【0092】 術語“互補決定區”、“CDR”或“高變區”是指抗體的可變結構域內主要促成抗原結合的 6 個高變區之一。通常，每個重鏈可變區中存在三個 CDR (HCDR1、HCDR2、HCDR3)，每個輕鏈可變區中存在三個 CDR(LCDR1、LCDR2、LCDR3)。可以使用各種公知方案中的任何一種來確定 CDR 的胺基酸序列邊界，包括“Kabat”編號規則(參見 Kabat 等(1991) ，“Sequences of Proteins of

Immunological Interest"，第 5 版，Public Health Service，National Institutes of Health，Bethesda，MD)、"Chothia"編號規則(參見 Al-Lazikani 等人，(1997) JMB 273：927-948)和 ImMunoGenTics(IMGT)編號規則(Lefranc M.P.，Immunologist，7，132-136(1999)；Lefranc，M.P.等，Dev. Comp. Immunol.，27，55-77(2003)等。例如，對於經典格式，遵循 Kabat 規則，該重鏈可變域(VH)中的 CDR 胺基酸殘基編號為 31-35(HCDR1)、50-65(HCDR2)和 95-102(HCDR3)；輕鏈可變域(VL)中的 CDR 胺基酸殘基編號為 24-34(LCDR1)、50-56(LCDR2)和 89-97(LCDR3)。遵循 Chothia 規則，VH 中的 CDR 胺基酸編號為 26-32(HCDR1)、52-56(HCDR2)和 95-102(HCDR3)；並且 VL 中的胺基酸殘基編號為 26-32(LCDR1)、50-52(LCDR2)和 91-96(LCDR3)。藉由組合 Kabat 和 Chothia 兩者的 CDR 定義，CDR 由人 VH 中的胺基酸殘基 26-35(HCDR1)、50-65(HCDR2)和 95-102(HCDR3)和人 VL 中的胺基酸殘基 24-34(LCDR1)、50-56(LCDR2)和 89-97(LCDR3)構成。遵循 IMGT 規則，VH 中的 CDR 胺基酸殘基編號大致為 26-35(CDR1)、51-57(CDR2)和 93-102(CDR3)，VL 中的 CDR 胺基酸殘基編號大致為 27-32(CDR1)、50-52(CDR2)和 89-97(CDR3)。遵循 IMGT 規則，抗體的 CDR 區可以使用程序 IMGT/DomainGap Align 確定。遵循 AbM 規則，VH 中的 CDR 胺基酸編號為 26-32(HCDR1)、50-58(HCDR2)和 95-102(HCDR3)；並且 VL 中的胺基酸殘基編號為 24-34(LCDR1)、50-56(LCDR2)和 89-97(LCDR3)。本披露的抗體的重鏈可變區和輕鏈可變區及其 CDR 符合 Kabat 編號規則。

【0093】 胺基酸序列"同一性"是指：胺基酸序列比對時(必要時允許引入間隙以達成最大的序列同一性百分比)，第一序列中與第二序列中的相同胺基酸殘基的百分比；其中保守性取代不視為序列同一性的一部分。為測定胺基酸序列同

一性百分比，比對可以藉由屬於本領域技術的範圍內的多種方式來實現，例如使用公開可得到的計算機軟體，諸如 BLAST、BLAST-2、ALIGN、ALIGN-2 或 Megalign(DNASTAR)軟體。所屬技術領域具有通常知識者可確定適用於測量比對的參數，包括在所比較的序列全長上達成最大比對所需的任何算法。

【0094】 本披露工程化的抗體或抗原結合片段可用常規方法製備和純化。比如，編碼重鏈和輕鏈的 cDNA 序列，可以選殖並重組至 GS 表達載體。重組的免疫球蛋白表達載體可以穩定地轉染 CHO 細胞。作為一種更推薦的現有技術，哺乳動物類表達系統會導致抗體的糖基化，特別是在 Fc 區的高度保守 N 端位點。藉由表達與抗原結合的抗體得到穩定的純株。陽性的純株在生物反應器的無血清培養基中擴大培養以生產抗體。分泌了抗體的培養液可以用常規技術純化。比如，用含調整過的緩衝液的 A 或 G Sepharose FF 管柱進行純化。洗去非特異性結合的組分。再用 pH 梯度法沖提結合的抗體，用 SDS-PAGE 檢測抗體片段，收集。抗體可用常規方法進行過濾濃縮。可溶的混合物和多聚體，也可以用常規方法去除，比如分子篩、離子交換。得到的產物需立即冷凍，如-70°C，或者凍乾。

【0095】 “保守修飾”或“保守置換或取代”是指具有類似特徵(例如電荷、側鏈大小、疏水性/親水性、主鏈構象和剛性等)的其它胺基酸置換蛋白中的胺基酸，使得可頻繁進行改變而不改變蛋白的生物學活性。所屬技術領域具有通常知識者知曉，一般而言，多肽的非必需區域中的單個胺基酸置換基本上不改變生物學活性(參見例如 Watson 等(1987)Molecular Biology of the Gene，The Benjamin/Cummings Pub.Co.，第 224 頁，(第 4 版))。另外，結構或功能類似的胺基酸的置換不大可能破環生物學活性。示例性保守取代如下：

【0096】 表 a. 胺基酸的保守取代

原始殘基	保守取代
Ala(A)	Gly；Ser
Arg(R)	Lys；His
Asn(N)	Gln；His；Asp
Asp(D)	Glu；Asn
Cys(C)	Ser；Ala；Val
Gln(Q)	Asn；Glu
Glu(E)	Asp；Gln
Gly(G)	Ala
His(H)	Asn；Gln
Ile(I)	Leu；Val
Leu(L)	Ile；Val
Lys(K)	Arg；His
Met(M)	Leu；Ile；Tyr
Phe(F)	Tyr；Met；Leu
Pro(P)	Ala
Ser(S)	Thr
Thr(T)	Ser
Trp(W)	Tyr；Phe
Tyr(Y)	Trp；Phe
Val(V)	Ile；Leu

【0097】 術語“裸抗體”，是指未與異源模塊(例如細胞毒性模塊)或放射性標記物綴合的抗體。本披露中，抗體藥物偶聯物的含量以蛋白濃度計，即以偶聯物中蛋白(抗體部分)的重量/體積計。

【0098】 術語“接頭單元”或“接頭”是指一端與抗體或其抗原結合片段連接而另一端與藥物相連的化學結構片段或鍵，也可以連接其他接頭後再與藥物相連。本披露的較佳方案表示為 L 和 L^1 至 L^4，其中 L^1 端與抗體相連， L^4 端與結構單元 Y 相連後與化合物或毒素相連。接頭，包括延伸物、間隔物和胺基酸單元，可以藉由本領域已知方法合成，諸如 US2005-0238649A1 中所記載的。接頭可以是便於在細胞中釋放藥物的“可切割接頭”。例如，可使用酸不穩定接頭(例如腙)、蛋白酶敏感(例如肽酶敏感)接頭、光不穩定接頭、二甲基接頭、或含二硫化物接頭(Chari 等，Cancer Research 52: 127-131(1992)；美國專利 No.5,208,020)。

【0099】 術語“烷基”指飽和脂肪族烴基團，其為包含 1 至 20 個碳原子的直鏈或支鏈基團，較佳含有 1 至 12 個碳原子的烷基，更佳含有 1 至 10 個碳原子的烷基，最佳含有 1 至 6 個碳原子的烷基。非限制性實例包括甲基、乙基、正丙基、異丙基、正丁基、異丁基、第三丁基、第二丁基、正戊基、1,1-二甲基丙基、1,2-二甲基丙基、2,2-二甲基丙基、1-乙基丙基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、正己基、1-乙基-2-甲基丙基、1,1,2-三甲基丙基、1,1-二甲基丁基、1,2-二甲基丁基、2,2-二甲基丁基、1,3-二甲基丁基、2-乙基丁基、2-甲基戊基、3-甲基戊基、4-甲基戊基、2,3-二甲基丁基、正庚基、2-甲基己基、3-甲基己基、4-甲基己基、5-甲基己基、2,3-二甲基戊基、2,4-二甲基戊基、2,2-二甲基戊基、3,3-二甲基戊基、2-乙基戊基、3-乙基戊基、正辛基、2,3-二甲基己基、2,4-二甲基己基、2,5-二甲基己基、2,2-二甲基己基、3,3-二甲基己基、4,4-二甲基己基、2-乙基己基、3-乙

基己基、4-乙基己基、2-甲基-2-乙基戊基、2-甲基-3-乙基戊基、正壬基、2-甲基-2-乙基己基、2-甲基-3-乙基己基、2,2-二乙基戊基、正癸基、3,3-二乙基己基、2,2-二乙基己基，及其各種支鏈異構體等。更佳的是含有1至6個碳原子的低級烷基，非限制性的實施例包括甲基、乙基、正丙基、異丙基、正丁基、異丁基、第三丁基、第二丁基、正戊基、1,1-二甲基丙基、1,2-二甲基丙基、2,2-二甲基丙基、1-乙基丙基、2-甲基丁基、3-甲基丁基、正己基、1-乙基-2-甲基丙基、1,1,2-三甲基丙基、1,1-二甲基丁基、1,2-二甲基丁基、2,2-二甲基丁基、1,3-二甲基丁基、2-乙基丁基、2-甲基戊基、3-甲基戊基、4-甲基戊基、2,3-二甲基丁基等。烷基可以是取代的或非取代的，當被取代時，取代基可以在任何可使用的連接點上被取代，該取代基較佳為一個或多個以下基團，其獨立地選自烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷硫基、烷基胺基、鹵素、巰基、羥基、硝基、氰基、環烷基、雜環烷基、芳基、雜芳基、環烷氧基、雜環烷氧基、環烷硫基、雜環烷硫基、側氧基。

【0100】 術語“雜烷基”指含有一個或多個選自N、O或S的雜原子的烷基，其中烷基如上所定義。

【0101】 術語“亞(伸)烷基”指飽和的直鏈或支鏈脂肪族烴基，其具有兩個從母體烷的相同碳原子或兩個不同的碳原子上除去兩個氫原子所衍生的殘基。伸烷基為包含1至20個碳原子的直鏈或支鏈基團，較佳含有1至12個碳原子，更佳含有1至6個碳原子的亞(伸)烷基。亞(伸)烷基的非限制性實例包括但不限於亞甲基(-CH_2-)、1,1-亞乙基(-$CH(CH_3)$-)、1,2-伸乙基(-CH_2CH_2-)、1,1-亞丙基(-$CH(CH_2CH_3)$-)、1,2-伸丙基(-$CH_2CH(CH_3)$-)、1,3-伸丙基(-$CH_2CH_2CH_2$-)、1,4-伸丁基(-$CH_2CH_2CH_2CH_2$-)和1,5-伸丁基(-$CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2$-)等。伸烷基可以是取代的或非取代的。當被取代時，取代基可以在任何可使用的連接點上被取代，該取

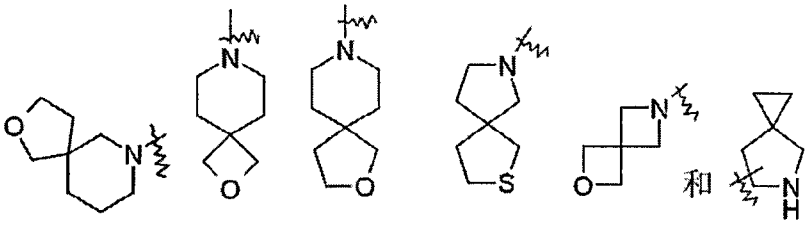
代基較佳獨立地任選選自烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷硫基、烷基胺基、鹵素、甲矽烷基、羥基、硝基、氰基、環烷基、雜環基、芳基、雜芳基、環烷氧基、雜環烷氧基、環烷硫基、雜環烷硫基和側氧基中的一個或多個取代基所取代。

【0102】 術語"烷氧基"指-O-(烷基)和-O-(非取代的環烷基)，其中烷基或環烷基的定義如上所述。烷氧基的非限制性實例包括：甲氧基、乙氧基、丙氧基、丁氧基、環丙氧基、環丁氧基、環戊氧基、環己氧基。烷氧基可以是任選取代的或非取代的，當被取代時，取代基較佳為一個或多個以下基團，其獨立地選自烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷硫基、烷基胺基、鹵素、甲矽烷基、羥基、硝基、氰基、環烷基、雜環烷基、芳基、雜芳基、環烷氧基、雜環烷氧基、環烷硫基、雜環烷硫基。

【0103】 術語"環烷基"指飽和或部分不飽和單環或多環環狀烴取代基。環烷基環包含 3 至 20 個碳原子，較佳包含 3 至 12 個碳原子，更佳包含 3 至 10 個碳原子，最佳包含 3 至 7 個碳原子。單環環烷基的非限制性實例包括環丙基、環丁基、環戊基、環戊烯基、環己基、環己烯基、環己二烯基、環庚基、環庚三烯基、環辛基等；多環環烷基包括螺環、稠環和橋環的環烷基。

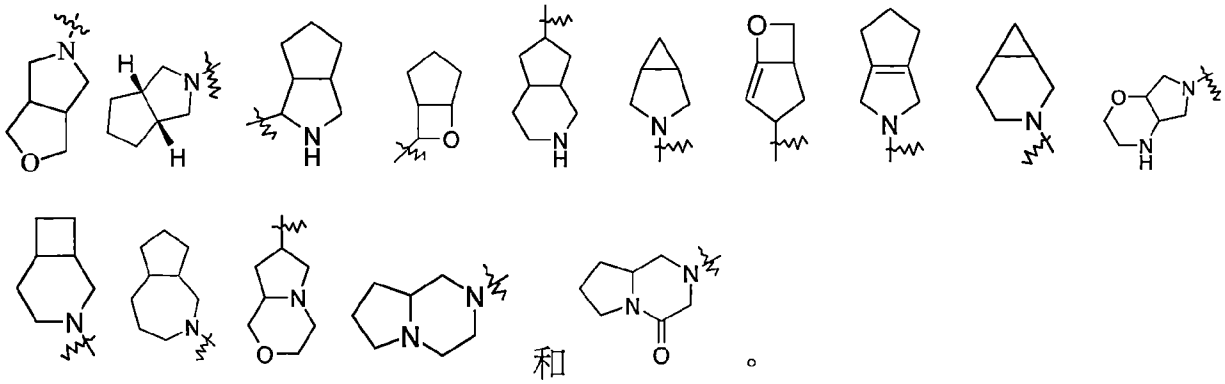
【0104】 術語"雜環基"指飽和或部分不飽和單環或多環環狀烴取代基，其包含 3 至 20 個環原子，其中一個或多個環原子為選自氮、氧或 $S(O)_m$(其中 m 是整數 0 至 2)的雜原子，但不包括-O-O-、-O-S-或-S-S-的環部分，其餘環原子為碳。雜環基較佳包含 3 至 12 個環原子，其中 1 至 4 個是雜原子；更佳環烷基環包含 3 至 10 個環原子。單環雜環基的非限制性實例包括吡咯烷基、哌啶基、哌嗪基、嗎啉基、硫代嗎啉基、高哌嗪基等。多環雜環基包括螺環、稠環和橋環的雜環基。

【0105】 術語“螺雜環基”指單環之間共用一個原子(稱螺原子)的 5 至 20 元多環雜環基團，其中一個或多個環原子為選自氮、氧或 $S(O)_m$(其中 m 是整數 0 至 2)的雜原子，其餘環原子為碳。其可以含有一個或多個雙鍵，但沒有一個環具有完全共軛的 π 電子系統。較佳為 6 至 14 員，更佳為 7 至 10 員。根據環與環之間共用螺原子的數目將螺雜環基分為單螺雜環基、雙螺雜環基或多螺雜環基，較佳為單螺雜環基和雙螺雜環基。更佳為 4 員/4 員、4 員/5 員、4 員/6 員、5 員/5 員或 5 員/6 員單螺雜環基。螺雜環基的非限制性實例包括：



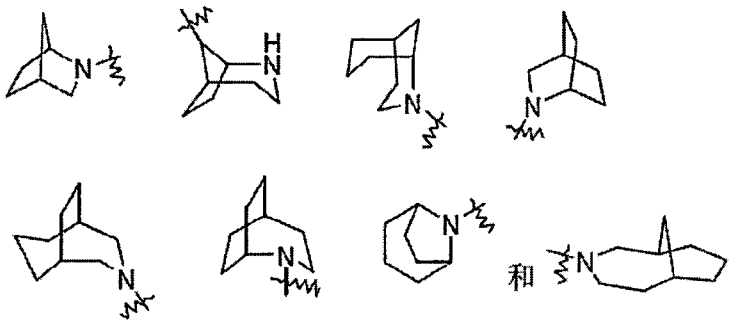
。

【0106】 術語“稠雜環基”指 5 至 20 員多環雜環系統，其中的每個環與系統中的其他環共享一對毗鄰的原子。在稠雜環基中，一個或多個環可以含有一個或多個雙鍵，但沒有一個環具有完全共軛的 π 電子系統，其中一個或多個環原子為選自氮、氧或 $S(O)_m$(其中 m 是整數 0 至 2)的雜原子，其餘環原子為碳。稠雜環基較佳為 6 至 14 員，更佳為 7 至 10 員。根據組成環的數目，稠雜環基可以分為雙環、三環、四環或多環；較佳為雙環或三環；更佳為 5 員/5 員、或 5 員/6 員雙環稠雜環基。稠雜環基的非限制性實例包括：



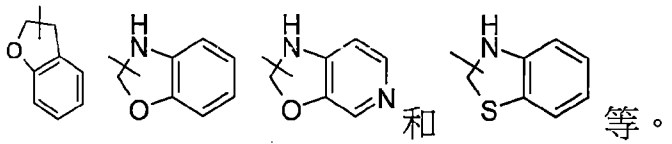
。

【0107】 術語“橋雜環基”指 5 至 14 員的多環雜環基團，其中任意兩個環共用兩個不直接連接的原子。橋雜環基可以含有一個或多個雙鍵，但沒有一個環具有完全共軛的 π 電子系統，其中一個或多個環原子為選自氮、氧或 $S(O)_m$(其中 m 是整數 0 至 2)的雜原子，其餘環原子為碳。橋雜環基較佳為 6 至 14 員，更佳為 7 至 10 員。根據組成環的數目，橋雜環基可以分為雙環、三環、四環或多環；較佳為雙環、三環或四環；更佳為雙環或三環。橋雜環基的非限制性實例包括：



。

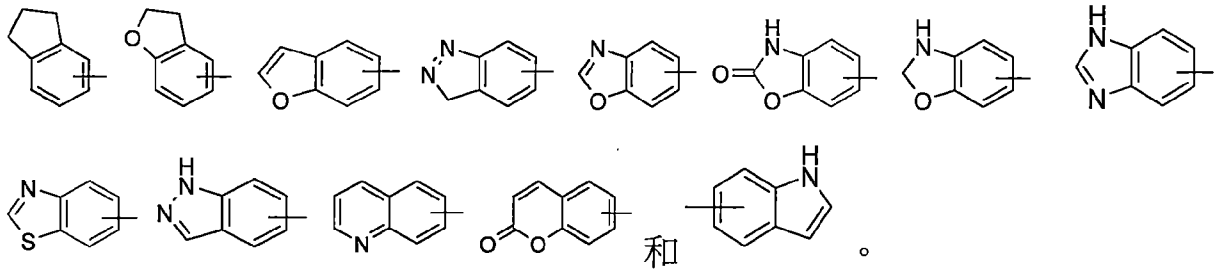
【0108】 該雜環基環可以稠合於芳基、雜芳基或環烷基環上，其中與母體結構連接在一起的環為雜環基，其非限制性實例包括：



【0109】 雜環基可以是任選取代的或非取代的。當被取代時，取代基較佳為一個或多個以下基團，其獨立地選自烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷硫基、烷基胺基、鹵素、巰基、羥基、硝基、氰基、環烷基、雜環烷基、芳基、雜芳基、環烷氧基、雜環烷氧基、環烷硫基、雜環烷硫基、側氧基。

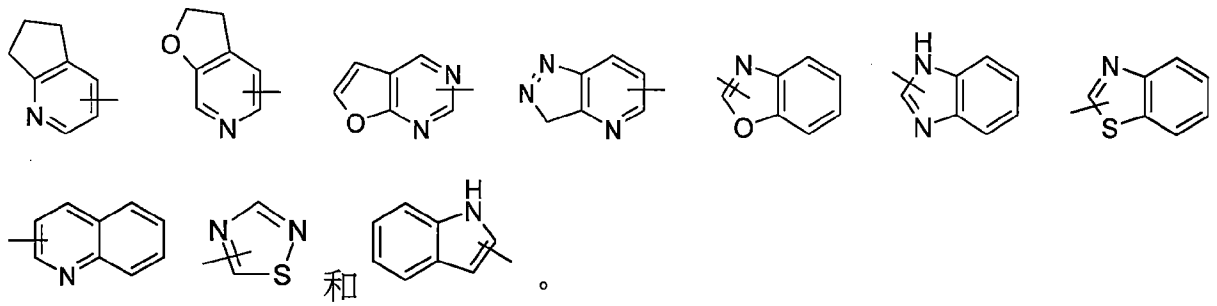
【0110】 術語“芳基”指具有共軛的 π 電子體系的 6 至 14 員全碳單環或稠合多環(也就是共享毗鄰碳原子對的環)基團。芳基較佳為 6 至 10 員，例如苯基

和萘基，較佳苯基。該芳基環可以稠合於雜芳基、雜環基或環烷基環上，其中與母體結構連接在一起的環為芳基環，其非限制性實例包括：



【0111】芳基可以是取代的或非取代的。當被取代時，取代基較佳為一個或多個以下基團，其獨立地選自烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷硫基、烷基胺基、鹵素、巰基、羥基、硝基、氰基、環烷基、雜環烷基、芳基、雜芳基、環烷氧基、雜環烷氧基、環烷硫基、雜環烷硫基。

【0112】術語"雜芳基"指包含 1 至 4 個雜原子、5 至 14 個環原子的雜芳族體系，其中雜原子選自氧、硫和氮。雜芳基較佳為 5 至 10 員，更佳為 5 員或 6 員，例如呋喃基、噻吩基、吡啶基、吡咯基、N-烷基吡咯基、嘧啶基、吡嗪基、咪唑基、四唑基等。該雜芳基環可以稠合於芳基、雜環基或環烷基環上，其中與母體結構連接在一起的環為雜芳基環，其非限制性實例包括：



【0113】雜芳基可以是任選取代的或非取代的。當被取代時，取代基較佳為一個或多個以下基團，其獨立地選自烷基、烯基、炔基、烷氧基、烷硫基、烷

基胺基、鹵素、巯基、羥基、硝基、氰基、環烷基、雜環烷基、芳基、雜芳基、環烷氧基、雜環烷氧基、環烷硫基、雜環烷硫基。

【0114】術語"胺基保護基"是這樣一種基團:當分子其它部位進行反應時,為了使胺基保持不變,用易於脫去的基團對胺基進行保護。非限制性的實施例包含 9-芴甲氧羰基、第三丁氧羰基、乙醯基、苄基、烯丙基和對甲氧苄基等。這些基團可任選地被選自鹵素、烷氧基或硝基中的 1-3 個取代基所取代。該胺基保護基較佳為 9-芴甲氧羰基。

【0115】術語"環烷基烷基"指烷基上的氫被一個或多個環烷基取代,較佳被一個環烷基取代,其中烷基如上所定義,其中環烷基如上所定義。

【0116】術語"鹵烷基"指烷基上的氫被一個或多個鹵素取代,其中烷基如上所定義。

【0117】術語"氘代烷基"指烷基上的氫被一個或多個氘原子取代,其中烷基如上所定義。

【0118】術語"羥基"指-OH 基團。

【0119】術語"鹵素"指氟、氯、溴或碘。

【0120】術語"胺基"指-NH_2。

【0121】術語"硝基"指-NO_2。

【0122】"任選"或"任選地"意味著隨後所描述地事件或環境可以但不必發生,該說明包括該事件或環境發生或不發生的場合。例如,"任選包含 1-3 個抗體重鏈可變區"意味著特定序列的抗體重鏈可變區可以但不必須存在。

【0123】"取代的"指基團中的一個或多個氫原子,較佳為最多 5 個,更佳為 1 至 3 個氫原子彼此獨立地被相應數目的取代基取代。不言而喻,取代基僅處

在它們的可能的化學位置，所屬技術領域具有通常知識者能夠在不付出過多努力的情況下確定(藉由實驗或理論)可能或不可能的取代。例如，具有游離氫的胺基或羥基與具有不飽和(如烯屬)鍵的碳原子結合時可能是不穩定的。

【0124】 術語"載藥量"是指 ADC 分子中每個抗體或其抗原結合片段上加載的細胞毒性藥物平均數量，也可以表示為藥物量和抗體量的比值，藥物載量的範圍可以是每個抗體或其抗原結合片段(Pc)連接 0-12 個，較佳 1-10 個，更佳 2-8 個，最佳 3.5-4.5 個細胞毒性藥物(D)。在本披露的實施方式中，載藥量表示為 n，示例性的 n 可以為 1，2，3，4，5，6，7，8，9，或 10 中的一個或多個經計算所得的均值。可用常規方法如 UV/可見光光譜法、質譜、ELISA 試驗和 HPLC 特徵鑑定偶聯反應後每個 ADC 分子的藥物平均數量。

【0125】 本披露的一個實施方式中，細胞毒性藥物藉由接頭單元偶聯在抗體或其抗原結合片段的 N 端胺基、賴胺酸殘基的ε-胺基和/或巯基上。一般地，偶聯反應中能與抗體偶聯的藥物分子數將小於理論上的最大值。

【0126】 可以用以下非限制性方法控制細胞毒性藥物的載量，包括：

(1) 控制連接試劑和單抗的莫耳比，

(2) 控制反應時間和溫度，

(3) 選擇不同的反應試劑。

【0127】 常規的醫藥組成物的製備見中國藥典。

【0128】 術語"載體"用於本披露的醫藥組成物，是指能改變藥物進入人體的方式和在體內的分佈、控制藥物的釋放速度並將藥物輸送到靶向器官的體系。藥物載體釋放和靶向系統能夠減少藥物降解及損失，降低副作用，提高生物利用度。如可作為載體的高分子表面活性劑由於其獨特的兩親性結構，可以進行自組

裝，形成各種形式的聚集體，較佳的實例如膠束、微乳液、凝膠、液晶、囊泡等。這些聚集體具有包載藥物分子的能力，同時又對膜有良好的滲透性，可以作為優良的藥物載體。

【0129】“施用”、“給予”和“處理”當應用於動物、人、實驗受試者、細胞、組織、器官或生物流體時，是指外源性藥物、治療劑、診斷劑或組成物與動物、人、受試者、細胞、組織、器官或生物流體的接觸。“施用”、“給予”和“處理”可以指例如治療、藥物代謝動力學、診斷、研究和實驗方法。細胞的處理包括試劑與細胞的接觸，以及試劑與流體的接觸，其中該流體與細胞接觸。“施用”、“給予”和“處理”還意指藉由試劑、診斷、結合組成物或藉由另一種細胞體外和離體處理例如細胞。“處理”當應用於人、獸醫學或研究受試者時，是指治療處理、預防或預防性措施，研究和診斷應用。

【0130】“治療”意指給予患者內用或外用治療劑，例如包含本披露的任一種結合化合物的組成物，該患者具有一種或多種疾病症狀，而已知該治療劑對這些症狀具有治療作用。通常，在受治療患者或群體中以有效緩解一種或多種疾病症狀的量給予治療劑，以誘導這類症狀退化或抑制這類症狀發展到任何臨床可測量的程度。有效緩解任何具體疾病症狀的治療劑的量(也稱作“治療有效量”)可根據多種因素變化，例如患者的疾病狀態、年齡和體重，以及藥物在患者產生需要療效的能力。藉由醫生或其它專業衛生保健人士通常用於評價該症狀的嚴重性或進展狀況的任何臨床檢測方法，可評價疾病症狀是否已被減輕。儘管本披露的實施方案(例如治療方法或製品)在緩解每個目標疾病症狀方面可能無效，但是根據本領域已知的任何統計學檢驗方法如 Student t 檢驗、卡方檢驗、依據 Mann

和 Whitney 的 U 檢驗、Kruskal-Wallis 檢驗(H 檢驗)、Jonckheere-Terpstra 檢驗和 Wilcoxon 檢驗確定，其在統計學顯著數目的患者中應當減輕目標疾病症狀。

【0131】"有效量"包含足以改善或預防醫學疾病的症狀或病症的量。有效量還意指足以允許或促進診斷的量。用於特定患者或獸醫學受試者的有效量可依據以下因素而變化：例如，待治療的病症、患者的總體健康情況、給藥的方法途徑和劑量以及副作用嚴重性。有效量可以是避免顯著副作用或毒性作用的最大劑量或給藥方案。

【0132】"置換"是指溶解抗體或 ADC 的溶劑體系的置換，例如，使用穩定製劑的緩衝體系經物理操作方式將含抗體或 ADC 的高鹽或高滲溶劑體系置換，從而使抗體蛋白存在於穩定製劑中。所稱物理操作方式包括但不限於超濾、透析或離心後複溶。

[實施例]

【0133】以下結合實施例進一步描述本披露，但這些實施例並非是對本披露範圍的限制。本披露實施例中未註明具體條件的實驗方法，通常按照常規條件，如參照冷泉港實驗室出版的《抗體技術實驗手冊》，《分子選殖手冊》；或按照原料或商品製造廠商所建議的條件。未註明具體來源的試劑，為市場購買的常規試劑。

【0134】**一、抗體藥物偶聯物**

抗 Claudin18.2 抗體的製備

實施例 1-1：構建高表達 Claudin18.2 的細胞株

用 Lipofectamine 3000 轉染試劑，將 pCDH-hClaudin18.2 慢病毒表達載體質粒與 pVSV-G 或 pCMV-dR8.91 慢病毒系統包裝載體轉染至病毒包裝細胞 293T

中；收集含有病毒的培養基上清，過濾並進行超高速離心；使用濃縮後的病毒感染人胃印戒細胞癌細胞株 NUGC4，經 puromycin 篩選兩至三週，再進行 FACS 單細胞分選。

【0135】 根據腫瘤 IHC 評分來區分 Claudin18.2 表達程度。與腫瘤 IHC 評分為 3 分的腫瘤 Claudin18.2 表達水平相當的細胞為高表達細胞，與腫瘤 IHC 評分為 2 分的腫瘤 Claudin18.2 表平水平相當的細胞為中等表達細胞。

【0136】 根據藉由 FACS 檢測慢病毒感染的 NUGC4 細胞表面的 Claudin18.2 表達，挑選出 Claudin18.2 表達量高的 NUGC4/hClaudin18.2 單株細胞株。同時藉由 FACS 檢測野生型 NUGC4 細胞表面的 Claudin18.2 表達，挑選出 Claudin18.2 表達量中等的 NUGC4 純株細胞株，野生型 NUGC4 為 Claudin18.2 低表達量細胞。

【0137】 將挑選出的單純株細胞株擴大培養，凍存備庫以便後續實驗。

【0138】 Claudin18.2 序列 Genbank: NP_001002026(SEQ ID NO：1)：

MAVTACQGLGFVVSLIGIAGIIAATCMDQWSTQDLYNNPVTAVFNYQGLWRS
CVRESSGFTECRGYFTLLGLPAMLQAVRALMIVGIVLGAIGLLVSIFALKCIRIG
SMEDSAKANMTLTSGIMFIVSGLCAIAGVSVFANMLVTNFWMSTANMYTGM
GGMVQTVQTRYTFGAALFVGWVAGGLTLIGGVMMCIACRGLAPEETNYKA
VSYHASGHSVAYKPGGFKASTGFGSNTKNKKIYDGGARTEDEVQSYPSKHD
YV。

【0139】 Claudin18.2 DNA 序列(SEQ ID NO：2)：

AGAATTGCGC TGTCCACTTG TCGTGTGGCT CTGTGTCGAC ACTGTGCGCC ACCATGGCCG
TGACTGCCTG TCAGGGCTTG GGGTTCGTGG TTTCACTGAT TGGGATTGCG GGCATCATTG

CTGCCACCTG CATGGACCAG TGGAGCACCC AAGACTTGTA CAACAACCCC GTAACAGCTG

TTTTCAACTA CCAGGGGCTG TGGCGCTCCT GTGTCCGAGA GAGCTCTGGC TTCACCGAGT

GCCGGGGCTA CTTCACCCTG CTGGGGCTGC CAGCCATGCT GCAGGCAGTG CGAGCCCTGA

TGATCGTAGG CATCGTCCTG GGTGCCATTG GCCTCCTGGT ATCCATCTTT GCCCTGAAAT

GCATCCGCATTGGCAGCATG GAGGACTCTG CCAAAGCCAA CATGACACTG ACCTCCGGGA

TCATGTTCAT TGTCTCAGGT CTTTGTGCAA TTGCTGGAGT GTCTGTGTTT GCCAACATGC

TGGTGACTAA CTTCTGGATG TCCACAGCTA ACATGTACAC CGGCATGGGT GGGATGGTGC

AGACTGTTCA GACCAGGTAC ACATTTGGTG CGGCTCTGTT CGTGGGCTGG GTCGCTGGAG

GCCTCACACT AATTGGGGGT GTGATGATGT GCATCGCCTG CCGGGGCCTG GCACCAGAAG

AAACCAACTA CAAAGCCGTT TCTTATCATG CCTCAGGCCA CAGTGTTGCC TACAAGCCTG

GAGGCTTCAAGGCCAGCACT GGCTTTGGGT CCAACACCAA AAACAAGAAG ATATACGATG

GAGGTGCCCG CACAGAGGAC GAGGTACAAT CTTATCCTTC CAAGCACGAC TATGTGTAAT

GCTCTAAGACCTCTCAGCACGGGCGGAAGA AACTCCCGGA GAGCTCACCC AAAAAACAAG

GAGATCCCAT CTAGATTTCT TCTTGCTTTT GACTCACAGC TGGAAGTTAG AAAAGCCTCG

ATTTCATCTT TGGAGAGGCC AAATGGTCTT AGCCTCAGTC TCTGTCTCTA AATATTCCAC

CATAAAACAG CTGAGTTATT TATGAATTAG AGGCTATAGC TCACATTTTC AATCCTCTAT

TTCTTTTTTT AAATATAACT TTCTACTCTG ATGAGAGAAT GTGGTTTTAA TCTCTCTCTC

ACATTTTGAT GATTTAGACA GACTCCCCCT CTTCCTCCTA GTCAATAAAC CCATTGATGA

TCTATTTCCC AGCTTATCCC CAAGAAAACT TTTGAAAGGA AAGAGTAGAC CCAAAGATGT

TATTTTCTGC TGTTTGAATT TTGTCTCCCC ACCCCCAACT TGGCTAGTAA TAAACACTTA

CTGAAGAAGA AGCAATAAGA GAAAGATATT TGTAATCTCT CCAGCCCATG ATCTCGGTTT

TCTTACACTG TGATCTTAAA AGTTACCAAA CCAAAGTCAT TTTCAGTTTG AGGCAACCAA

ACCTTTCTAC TGCTGTTGAC ATCTTCTTAT TACAGCAACA CCATTCTAGG AGTTTCCTGA

GCTCTCCACT GGAGTCCTCT TTCTGTCGCG GGTCAGAAAT TGTCCCTAGA TGAATGAGAA

AATTATTTTT TTTAATTTAA GTCCTAAATA TAGTTAAAAT AAATAATGTT TTAGTAAAAT

GATACACTAT CTCTGTGAAA TAGCCTCACC CCTACATGTG GATAGAAGGA AATGAAAAAA

TAATTGCTTT GACATTGTCT ATATGGTACT TTGTAAAGTC ATGCTTAAGT ACAAATTCCA

TGAAAAGCTC ACTGATCCTA ATTCTTTCCC TTTGAGGTCT CTATGGCTCT GATTGTACAT

GATAGTAAGT GTAAGCCATG TAAAAAGTAA ATAATGTCTG GGCACAGTGG CTCACGCCTG

TAATCCTAGC ACTTTGGGAG GCTGAGGAGG AAGGATCACT TGAGCCCAGA AGTTCGAGAC

TAGCCTGGGC AACATGGAGA AGCCCTGTCT CTACAAAATA CAGAGAGAAA AAATCAGCCA

GTCATGGTGG CCTACACCTG TAGTCCCAGC ATTCCGGGAG GCTGAGGTGG GAGGATCACT

TGAGCCCAGG GAGGTTGGGG CTGCAGTGAG CCATGATCAC ACCACTGCAC TCCAGCCAGG

TGACATAGCG AGATCCTGTC TAAAAAAATA AAAAATAAAT AATGGAACAC AGCAAGTCCT

AGGAAGTAGG TTAAAACTAA TTCTTTAAAA AAAAAAAAAA GTTGAGCCTG AATTAAATGT

AATGTTTCCA AGTGACAGGT ATCCACATTT GCATGGTTAC AAGCCACTGC CAGTTAGCAG

TAGCACTTTC CTGGCACTGT GGTCGGTTTT GTTTTGTTTT GCTTTGTTTA GAGACGGGGT

CTCACTTTCC AGGCTGGCCT CAAACTCCTG CACTCAAGCA ATTCTTCTAC CCTGGCCTCC

CAAGTAGCTG GAATTACAGG TGTGCGCCAT CACAACTAGC TGGTGGTCAG TTTTGTTACT

CTGAGAGCTG TTCACTTCTC TGAATTCACC TAGAGTGGTT GGACCATCAG ATGTTTGGGC

AAAACTGAAA GCTCTTTGCA ACCACACACC TTCCCTGAGC TTACATCACT GCCCTTTTGA

GCAGAAAGTC TAAATTCCTT CCAAGACAGT AGAATTCCAT CCCAGTACCA AAGCCAGATA

GGCCCCCTAGGAAACTGAGG TAAGAGCAGT CTCTAAAAAC TACCCACAGC AGCATTGGTG

CAGGGGAACT TGGCCATTAG GTTATTATTT GAGAGGAAAG TCCTCACATC AATAGTACAT

ATGAAAGTGACCTCCAAGGG GATTGGTGAA TACTCATAAG GATCTTCAGG CTGAACAGAC

TATGTCTGGG GAAAGAACGG ATTATGCCCC ATTAAATAAC AAGTTGTGTT CAAGAGTCAG

AGCAGTGAGCTCAGAGGCCC TTCTCACTGA GACAGCAACA TTTAAACCAA ACCAGAGGAA

GTATTTGTGG AACTCACTGC CTCAGTTTGG GTAAAGGATG AGCAGACAAG TCAACTAAAG

AAAAAAGAAAAGCAAGGAGGAGGGTTGAGC AATCTAGAGC ATGGAGTTTG TTAAGTGCTC TCTGGATTTG AGTTGAAGAG CATCCATTTG AGTTGAAGGC CACAGGGCAC AATGAGCTCT CCCTTCTACC ACCAGAAAGT CCCTGGTCAG GTCTCAGGTA GTGCGGTGTG GCTCAGCTGG GTTTTTAATT AGCGCATTCT CTATCCAACA TTTAATTGTT TGAAAGCCTC CATATAGTTA GATTGTGCTT TGTAATTTTG TTGTTGTTGC TCTATCTTAT TGTATATGCA TTGAGTATTA ACCTGAATGT TTTGTTACTT AAATATTAAA AACACTGTTA TCCTACAGTT。

【0140】 實施例 1-2：抗人 claudin18.2 單株抗體產生

1 免疫

藉由免疫小鼠產生抗人 Claudin18.2 單株抗體。

【0141】 實驗用 SJL 白小鼠，雌性，6-8 週齡(北京維通利華實驗動物技術有限公司 Charles River Laboratory Animal Technology Co., Ltd.，Beijing；動物生產許可證號：SCXK(京)2012-0001)。飼養環境：SPF 級。小鼠購進後，實驗室環境飼養 1 週，12/12 小時光/暗週期調節，溫度 20-25 °C；濕度 40-60%。將已適應環境的小鼠按以下方案免疫。免疫抗原為 huClaudin18.2-HEK293 細胞(轉染人 Claudin18.2 質粒的 HEK-293 穩轉細胞株)。

【0142】 免疫方案：首次免疫細胞前，用 TiterMax® Gold Adjuvant(Sigma Cat No. T2684)0.1ml/隻注射小鼠腹膜內(IP)；半小時後每隻小鼠腹膜內(IP)注射 0.1ml 生理鹽水稀釋至 1×10^8/ml 濃度的細胞液。細胞吹散均勻後進行接種，時間為第 0、14、28、42、56 天。於第 21，35，49，63 天取血，用 ELISA 方法確定小鼠血清中的抗體滴度。在第 4-5 次免疫以後，選擇血清中抗體滴度高並且滴度趨於平臺的小鼠進行脾細胞融合。在進行脾細胞融合前 3 天加強免疫，腹膜內(IP)注射 1×10^7 細胞。

【0143】 2 脾細胞融合

採用 PEG 介導的融合步驟將脾淋巴細胞與骨髓瘤細胞 Sp2/0 細胞(ATCC® CRL-8287™)進行融合得到融合瘤細胞。融合瘤細胞以 0.5-1×10^6/ml 的密度用完全培養基(含 20% FBS、1×HAT、1×OPI 的 IMDM 培養基)重新懸浮，100μl/孔種於 96 孔板中，37°C，5%CO_2 孵育 3-4 天後，補充 HAT 完全培養基 100μl/孔，繼續培養 3-4 天至形成純株。去除上清，加入 200μl/孔的 HT 完全培養基(含 20%FBS、1×HT 和 1×OPI 的 IMDM 培養基)，37°C，5%CO_2 培養 3 天後進行 ELISA 檢測。

【0144】 3 融合瘤細胞篩選

根據融合瘤細胞生長密度，用結合 ELISA 方法檢測培養上清。選擇與 huClaudin18.2-HEK293 細胞結合能力強，同時與 HEK293 細胞沒有結合的細胞，及時進行擴增凍存；經過二到三次亞選殖直至獲得單細胞純株。

【0145】 每次亞選殖細胞均需進行細胞結合實驗。藉由以上實驗篩選得到融合瘤純株，用無血清細胞培養法進一步製備抗體，按純化實例純化抗體，供在檢測例中使用。

【0146】 實施例 1-3：鼠源抗體的人源化

挑選出體外活性高的單純株融合瘤細胞株 mAb1901，mAb1902；選殖其中的單株抗體序列，再進行人源化、重組表達和活性評價。

【0147】 從融合瘤中選殖序列的過程如下。收集對數生長期融合瘤細胞，用 Trizol(Invitrogen，15596-018)提取 RNA(按照試劑盒說明書步驟)並進行反轉錄(PrimeScript™ Reverse Transcriptase，Takara，cat # 2680A)。將反轉錄得到的 cDNA 採用 mouse Ig-Primer Set(Novagen，TB326 Rev.B 0503)進行 PCR 擴增，送測序公司測序。得到的 DNA 序列對應的胺基酸序列 SEQ ID NO：3-6 所示：

mAb1901 鼠源重鏈可變區(SEQ ID NO：3)

EVQLMESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSDYGIHWVRQAPEMGLEWIAYIS
RGSSTIYYADTVKGRFTMSRDNAKNTLFLQMTSLRSEDTAMYYCARGGYDT
RNAMDYWGQGTSVTVSS；

【0148】 mAb1901 鼠源輕鏈可變區(SEQ ID NO：4)

DIVMTQSPSSLSVSAGEKVTMSCKSSQSLLNSGNQKNYLAWYQQKPGQPPKL
LIYGASTRASGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAIYHCQNDLYYPLTFGA
GTKLELK；

【0149】 mAb1902 鼠源重鏈可變區(SEQ ID NO：5)

EVQLQESGAELVKPGASVKLSCKASGYIFTSYWMHWVKQRPGQGLEWIGMI
HPNSGSTNYNEKFKGKATLTLDKSSSTAYMQLSSLPSEDSAVYYCARLKTGNS
FDYWGQGTTLTVSS；

【0150】 mAb1902 鼠源輕鏈可變區(SEQ ID NO：6)

DIVLTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKL
LIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAIYYCQNAYTYPFTFGS
GTKLEIK；

【0151】 上述鼠源重鏈可變區和輕鏈可變區分別與下述人 IgG1 抗體的重鏈恆定區和人源 κ 輕鏈恆定區連接形成嵌合抗體 ch1901 和 ch1902。

【0152】 各抗體的恆定區選自以下序列：

人 IgG1 抗體的重鏈恆定區：(SEQ ID NO：7)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT

HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV
EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE
ALHNHYTQKSLSLSPGK；

【0153】 人源κ輕鏈恆定區：(SEQ ID NO：8)

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG
EC。

【0154】 如本領域許多文獻公示的方法，對鼠源單株抗體進行人源化。簡言之，使用人恆定結構域替代親本(鼠源抗體)恆定結構域，根據鼠源抗體和人抗體的同源性選擇人種系抗體序列，進行 CDR 移植。本發明選擇活性好的候選分子進行人源化，結果如下。

【0155】 1、鼠源抗體的 CDR 區

表 1 中 VH/VL CDR 的胺基酸殘基由 Kabat 編號系統確定並注釋。

【0156】 鼠源抗體的 CDR 序列如表 1 所述：

表 1. 鼠源抗體的 CDR 序列

抗體	mAb1901
HCDR1	DYGIH(SEQ ID NO：9)
HCDR2	YISRGSSTIYYADTVKG(SEQ ID NO：10)
HCDR3	GGYDTRNAMDY(SEQ ID NO：11)
LCDR1	KSSQSLLNSGNQKNYLA(SEQ ID NO：12)
LCDR2	GASTRAS(SEQ ID NO：13)
LCDR3	QNDLYYPLT(SEQ ID NO：14)
抗體	mAb1902
HCDR1	SYWMH(SEQ ID NO：15)
HCDR2	MIHPNSGSTNYNEKFKG(SEQ ID NO：16)
HCDR3	LKTGNSFDY(SEQ ID NO：17)
LCDR1	KSSQSLLNSGNQKNYLT(SEQ ID NO：18)
LCDR2	WASTRES(SEQ ID NO：19)
LCDR3	QNAYTYPFT(SEQ ID NO：20)

【0157】 2、選擇人種系 FR 區序列

在所獲得的鼠源抗體 VH/VLCDR 典型結構的基礎上，將重、輕鏈可變區序列與抗體 Germline 數據庫比較，獲得同源性高的人種系模板。其中人類種系輕鏈框架區來自人 κ 輕鏈基因。2.1 mAb1901 的人源化改造和回復突變設計

【0158】 選擇適當的人抗體種系，對 mAb1901 鼠源抗體進行人源化改造，將鼠源抗體 mAb1901 的 CDR 區移植到選擇的人源化模板上，替換人源化可變

區，再與 IgG 恆定區重組，形成完整抗體。同時，對人源化抗體的 V 區中 FR 區進行回復突變，示例性回復突變方式及組合如下：

【0159】 表 2. mAb1901 人源化抗體及回復突變*

mAb1901 人源化抗體輕鏈可變區		mAb1901 人源化抗體重鏈可變區	
VL1	無	VH1	無
VL2	N22S	VH2	N82T
VL3	N22S、V85I、Y87H	VH3	V48I、N82T
		VH4	I69M、N82T

*表格中所有胺基酸位置編號為 Kabat 編號規則的編號，重鏈可變區的 N82T 中，82 為 Kabat 規則的第 82A 位。

【0160】 表 3. mAb1901 人源化抗體輕鏈可變區和重鏈可變區序列

可變區名稱 (SEQ ID NO：)	序列
VL1 (SEQ ID NO：21)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLLNSGNQKNYLAW YQQKPGQPPKLLIYGASTRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTISS LQAEDVAVYYCQNDLYYPLTFGQGTKLEIK
VL2 (SEQ ID NO：22)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATI**S**CKSSQSLLNSGNQKNYLAW YQQKPGQPPKLLIYGASTRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTISS LQAEDVAVYYCQNDLYYPLTFGQGTKLEIK
VL3 (SEQ ID NO：23)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATI**S**CKSSQSLLNSGNQKNYLAW YQQKPGQPPKLLIYGASTRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTISS LQAEDVA**I**Y**H**CQNDLYYPLTFGQGTKLEIK
VH1 (SEQ ID NO：24)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGIHWVRQAP GKGLEWVAYISRGSSTIYYADTVKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARGGYDTRNAMDYWGQGTTVTVSS
VH2 (SEQ ID NO：25)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGIHWVRQAP GKGLEWVAYISRGSSTIYYADTVKGRFTISRDNAKNSLYLQ M**T**SLRAEDTAVYYCARGGYDTRNAMDYWGQGTTVTVSS
VH3 (SEQ ID NO：26)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGIHWVRQAP GKGLEW**I**AYISRGSSTIYYADTVKGRFTISRDNAKNSLYLQ M**T**SLRAEDTAVYYCARGGYDTRNAMDYWGQGTTVTVSS
VH4 (SEQ ID NO：27)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGIHWVRQAP GKGLEWVAYISRGSSTIYYADTVKGRFT**M**SRDNAKNSLYLQ M**T**SLRAEDTAVYYCARGGYDTRNAMDYWGQGTTVTVSS

【0161】 上表中對應重鏈可變區與 SEQ ID NO：7 所示的人 IgG1 重鏈恆定區連接形成全長抗體的重鏈，輕鏈可變區與 SEQ ID NO：8 所示的人 κ 輕鏈恆定區連接形成全長抗體的輕鏈。在其他實施方案中，重鏈可變區和輕鏈可變區也可與其他重鏈恆定區和輕鏈恆定區分別連接形成全長抗體。

【0162】 2.2 mAb1902 的人源化改造和回復突變設計

選擇適當的人抗體種系，對 mAb1902 鼠源抗體進行人源化改造，將鼠源抗體 mAb1902 的 CDR 區移植到選擇的人源化模板上，替換人源化可變區，再與 IgG 恆定區重組，形成完整抗體。同時，對人源化抗體的 V 區中 FR 區進行回復突變，示例性回復突變方式及組合如下：

【0163】 表 4. mAb1902 人源化抗體及其回復突變設計*

mAb1902 人源化抗體輕鏈可變區		mAb1902 人源化抗體重鏈可變區	
VL11	無	VH11	無
VL12	M4L	VH12	I69L、R71L、T73K
VL13	M4L、N22S	VH13	M48I、R66K、V67A、I69L、R71L、T73K
		VH14	R38K、A40R、M48I、R66K、V67A、I69L、R71L、T73K

*表格中所有胺基酸位置編號為 Kabat 編號規則的編號。

【0164】表 5. mAb1902 人源化抗體輕鏈可變區和重鏈可變區序列

可變區名稱 (SEQ ID NO：)	序列
VL11 (SEQ ID NO：28)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLLNSGNQKNYLTW YQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISS LQAEDVAVYYCQNAYTYPFTFGQGTKLEIK
VL12 (SEQ ID NO：29)	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLLNSGNQKNYLTWY QQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSL QAEDVAVYYCQNAYTYPFTFGQGTKLEIK
VL13 (SEQ ID NO：30)	DIVLTQSPDSLAVSLGERATISCKSSQSLLNSGNQKNYLTWY QQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSL QAEDVAVYYCQNAYTYPFTFGQGTKLEIK
VH11 (SEQ ID NO：31)	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQ APGQRLEWMGMIHPNSGSTNYNEKFKGRVTITRDTSASTAY MELSSLRSEDTAVYYCARLKTGNSFDYWGQGTTVTVSS
VH12 (SEQ ID NO：32)	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQ APGQRLEWMGMIHPNSGSTNYNEKFKGRVTLTLDKSASTA YMELSSLRSEDTAVYYCARLKTGNSFDYWGQGTTVTVSS
VH13 (SEQ ID NO：33)	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQ APGQRLEWIGMIHPNSGSTNYNEKFKGKATLTLDKSASTAY MELSSLRSEDTAVYYCARLKTGNSFDYWGQGTTVTVSS
VH14 (SEQ ID NO：34)	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVKQ RPGQRLEWIGMIHPNSGSTNYNEKFKGKATLTLDKSASTAY MELSSLRSEDTAVYYCARLKTGNSFDYWGQGTTVTVSS

【0165】 上表中對應重鏈可變區與 SEQ ID NO：7 所示的人 IgG1 重鏈恆定區連接形成全長抗體的重鏈，輕鏈可變區與 SEQ ID NO：8 所示的人 κ 輕鏈恆定區連接形成全長抗體的輕鏈。

【0166】 嵌合抗體 ch1901

ch1901 重鏈：(SEQ ID NO：35)

EVQLMESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSDYGIHWVRQAPEMGLEWIAYIS
RGSSTIYYADTVKGRFTMSRDNAKNTLFLQMTSLRSEDTAMYYCARGGYDT
RNAMDYWGQGTSVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK
PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL
HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN
QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK；

【0167】 ch1901 輕鏈：(SEQ ID NO：36)

DIVMTQSPSSLSVSAGEKVTMSCKSSQSLLNSGNQKNYLAWYQQKPGQPPKL
LIYGASTRASGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAIYHCQNDLYYPLTFGA
GTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN
ALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP
VTKSFNRGEC；

【0168】 嵌合抗體 ch1902

ch1902 重鏈：(SEQ ID NO：37)

EVQLQESGAELVKPGASVKLSCKASGYIFTSYWMHWVKQRPGQGLEWIGMI
HPNSGSTNYNEKFKGKATLTLDKSSSTAYMQLSSLPSEDSAVYYCARLKTGNS
FDYWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV
SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT
KVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV
VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL
TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ
QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK；

【0169】 ch1902 輕鏈：(SEQ ID NO：38)

DIVLTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKL
LIYWASTRESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAIYYCQNAYTYPFTFGS
GTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA
LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT
KSFNRGEC。

【0170】 表 6. mAb1901 人源化抗體

輕重鏈	H1	H2	H3	H4
L1	h1901-1	h1901-2	h1901-3	h1901-4
L2	h1901-5	h1901-6	h1901-7	h1901-8
L3	h1901-9	h1901-10	h1901-11	h1901-12

【0171】 全長抗體輕重鏈序列如下所示：

表 7. mAb1901 人源化抗體輕鏈和重鏈序列

可變區名稱(SEQ ID NO：)	序列
L1 (SEQ ID NO：39)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLLNSGNQKNYLAWYQQK PGQPPKLLIYGASTRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVY YCQNDLYYPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
L2 (SEQ ID NO：40)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATISCKSSQSLLNSGNQKNYLAWYQQK PGQPPKLLIYGASTRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVY YCQNDLYYPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
L3 (SEQ ID NO：41)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATISCKSSQSLLNSGNQKNYLAWYQQK PGQPPKLLIYGASTRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAIY HCQNDLYYPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
H1 (SEQ ID NO：42)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGIHWVRQAPGKGL EWVAYISRGSSTIYYADTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDT AVYYCARGGYDTRNAMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

H2 (SEQ ID NO：43)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGIHWVRQAPGKGL EWVAYISRGSSTIYYADTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMTSLRAEDT AVYYCARGGYDTRNAMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
H3 (SEQ ID NO：44)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGIHWVRQAPGKGL EWIAYISRGSSTIYYADTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMTSLRAEDT AVYYCARGGYDTRNAMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

H4 (SEQ ID NO：45)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGIHWVRQAPGKGL EWVAYISRGSSTIYYADTVKGRFTMSRDNAKNSLYLQMTSLRAED TAVYYCARGGYDTRNAMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

【0172】表 8. mAb1902 人源化抗體

輕重鏈	H11	H12	H13	H14
L11	h1902-1	h1902-2	h1902-3	h1902-4
L12	h1902-5	h1902-6	h1902-7	h1902-8
L13	h1902-9	h1902-10	h1902-11	h1902-12

【0173】全長抗體輕重鏈序列如下所示：

表 9. mAb1901 人源化抗體輕鏈和重鏈序列

可變區名稱(SEQ ID NO：)	序列
L11 (SEQ ID NO：46)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLLNSGNQKNYLTWYQQ KPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVA VYYCQNAYTYPFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY SLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
L12 (SEQ ID NO：47)	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLLNSGNQKNYLTWYQQK PGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAV YYCQNAYTYPFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS VVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYS LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
L13 (SEQ ID NO：48)	DIVLTQSPDSLAVSLGERATISCKSSQSLLNSGNQKNYLTWYQQK PGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAV YYCQNAYTYPFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS VVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYS LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

H11 (SEQ ID NO：49)	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPG QRLEWMGMIHPNSGSTNYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSL RSEDTAVYYCARLKTGNSFDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLP PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK
H12 (SEQ ID NO：50)	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPG QRLEWMGMIHPNSGSTNYNEKFKGRVTLTLDKSASTAYMELSSL RSEDTAVYYCARLKTGNSFDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLP PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK

H13 (SEQ ID NO：51)	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPG QRLEWIGMIHPNSGSTNYNEKFKGKATLTLDKSASTAYMELSSLR SEDTAVYYCARLKTGNSFDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLP PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK
H14 (SEQ ID NO：52)	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPG QRLEWIGMIHPNSGSTNYNEKFKGKATLTLDKSASTAYMELSSLR SEDTAVYYCARLKTGNSFDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLP PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK

【0174】本披露陽性對照抗體為 IMAB-362(來自 WO2016166122)。

【0175】重鏈(SEQ ID NO：53)

QVQLQQPGAE LVRPGASVKL SCKASGYTFT SYWINWVKQR PGQGLEWIGN

IYPSDSYTNY NQKFKDKATL TVDKSSSTAY MQLSSPTSED SAVYYCTRSW

RGNSFDYWGQ GTTLTVSSAS TKGPSVFPLA PSSKSTSGGT AALGCLVKDY

FPEPVTVSWN SGALTSGVHT FPAVLQSSGL YSLSSVVTVP SSSLGTQTYI

CNVNHKPSNT KVDKRVEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD

TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST

YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY

TLPPSREEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTPPVLD

SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK；

【0176】輕鏈(SEQ ID NO：54)

DIVMTQSPSS LTVTAGEKVT MSCKSSQSLL NSGNQKNYLT WYQQKPGQPP

KLLIYWASTR ESGVPDRFTG SGSGTDFTLT ISSVQAEDLA VYYCQNDYSY

PFTFGSGTKL EIKRTVAAPS VFIFPPSDEQ LKSGTASVVC LLNNFYPREA

KVQWKVDNAL QSGNSQESVT EQDSKDSTYS LSSTLTLSKA DYEKHKVYAC

EVTHQGLSSP VTKSFNRGEC。

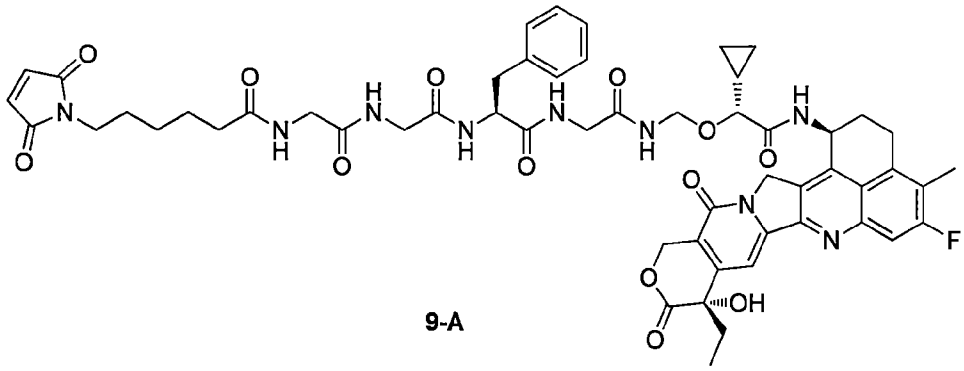
【0177】用常規基因選植、重組表達的方法分別選植、表達、純化上述抗體。

【0178】抗 Claudin18.2 ADC 偶聯物的製備

藥物

本披露中抗 Claudin18.2 ADC 偶聯物的藥物部分可以是任意適宜的藥物。特別適宜的藥物描述於例如 PCT 公開號 WO2020063676A1(藉由援引完整收入本文)。本披露的化合物 9-A 是 N-((2R,10S)-10-苄基-2-環丙基-1-(((1S,9S)-9-乙基-5-氟-9-羥基-4-甲基-10,13-二側氧-2,3,9,10,13,15-六氫-1H,12H-苯并[de]吡喃并[3',4':6,7]吲哚嗪并[1,2-b]喹啉-1-基)胺基)-1,6,9,12,15-五側氧-3-氧雜-5,8,11,14-四

氮雜十六-16-基)-6-(2,5-二側氧-2,5-二氫-1H-吡咯-1-基)己醯胺，其具有如下的結構：



9-A

【0179】 ADC 原液藥物載量分析

1. UV-HPLC 方法

將裝有琥珀酸鈉緩衝液的比色皿分別置於參比吸收池和樣品測定吸收池中後，扣除溶劑空白後，再將裝有待測樣品溶液的比色皿置於樣品測定吸收池中，測定 280nm 和 370nm 處吸光度。

【0180】 結果計算：採用紫外分光光度法(使用儀器：Thermo nanodrop2000 紫外分光光度計)測定 ADC 原液載量，其原理是在某波長下 ADC 原液的總吸光值等於藥物與單株抗體在該波長下吸光值的加和，即：

(1) $A_{280nm}=\varepsilon_{mab-280}bC_{mab}+\varepsilon_{Drug-280}bC_{Drug}$

$\varepsilon_{Drug-280}$：藥物在 280nm 平均莫耳消光係數 5100；

C_{Drug}：藥物的濃度；

$\varepsilon_{mab-280}$：單抗原液在 280nm 平均莫耳消光係數 214600；

C_{mab}：單抗原液的濃度；

b：光程長度為 1cm。

同理可以得到樣品在 370nm 下的總吸光值方程：

(2) $A_{370nm}=\varepsilon_{mab-370}bC_{mab}+\varepsilon_{Drug-370}bC_{Drug}$

$\varepsilon_{Drug-370}$：藥物在 370nm 平均莫耳消光係數 19000；

C_{Drug}：藥物的濃度；

$\varepsilon_{mab-370}$：單抗原液在 370nm 消光係數為 0；

C_{mab}：單抗原液的濃度；

b：光程長度為 1cm。

【0181】 由(1)和(2)兩種方程結合單株抗體和藥物在兩個檢測波長下的消光係數和濃度數據可以計算出藥物的載量。

藥物載量=C_{Drug}/C_{mab}。

【0182】 2.RP-HPLC 方法

裸抗體和待測 ADC 樣品(濃度為 1 mg/ml)，加入 4μl DDT(sigma)還原，37℃水浴 1 小時，結束後取出到內插管中。使用高效液相色譜儀 Agilent 1200 進行檢測，色譜管柱選用 Agilent PLRP-S 1000A 8μm 4.6*250 mm，管柱溫：80℃；DAD 檢測器波長 280 nm；流速：1 mL/min；進樣量為：40 μL；之後藉由樣品與裸抗體的譜圖比對，區分出輕重鏈的位置，然後對檢測樣品的譜圖進行積分，計算出 DAR 值。

【0183】 溶液配製：

1)0.25M DTT 溶液：

配製示例：取 DTT 5.78 mg，加入 150μl 純化水充分溶解後，配得 0.25M DTT 溶液，-20℃保存。

【0184】 2)流動相 A(0.1% TFA 水溶液)：

配製示例：量筒量取 1000 ml 純化水，加入 1 mL TFA(sigma)，充分混勻後使用，2-8℃保存 14 天。

【0185】 3)流動相 B(0.1% TFA 乙腈溶液)：

配製示例：量筒量取 1000 ml 乙腈，加入 1 mL TFA，充分混勻後使用，2-8℃保存 14 天。

【0186】 數據分析：

藉由樣品與裸抗體的譜圖比對，區分出輕鏈與重鏈的位置，然後對檢測樣品的譜圖進行積分，計算出 DAR 值。

【0187】 計算公式如下：

表 10. ADC 輕鏈與重鏈載藥標記表

名稱	連接藥物數
LC	0
LC+1	2
HC	0
HC+1	2
HC+2	4
HC+3	6

LC 峰面積總和=LC 峰面積+LC+1 峰面積；

HC 峰面積總和=HC 峰面積+HC+1 峰面積+ HC+2 峰面積+ HC+3 峰面積；

LC DAR=Σ(連接藥物數*峰面積百分比)/ LC 峰面積總和；

HC DAR=Σ(連接藥物數*峰面積百分比)/ HC 峰面積總和；

DAR= LC DAR+ HC DAR。

【0188】 **實施例 1-4： ADC-1/ ADC-2**

在 37℃條件下，向含抗體 h1902-5 的 PBS 緩衝液(pH=6.5、0.05M 的 PBS 緩衝液；10.0 mg/mL，320.0 mL，21.62 μmol)加入三(2-羧乙基)膦(TCEP)的水溶液(10 mM，11.03 mL，110.3 μmol)，置於水浴振盪器，於 37℃下振盪反應 3 小時，停止反應。

【0189】 將反應液用水浴降溫至 25℃，再將化合物 9-A(350mg，303mol)溶解於 13.2ml 乙腈和 6.6ml DMSO 中後加入到反應液中，置於水浴振盪器，於 25℃下振盪反應 3 小時，停止反應。

【0190】 反應液藉由超濾膜純化，除去小分子。純化先後採用 5L 的 50mM pH=6.5 PBS 緩衝液(4% 乙腈 2% DMSO)和 5L 的 10mM pH=5.3 琥珀酸緩衝液。隨後在經純化的溶液中加入蔗糖至 60mg/mL、吐溫-20 至 0.2mg/mL，製備得到 ADC-1(10mM、pH=5.3 的琥珀酸緩衝液；10mg/mL，2.626g)，收率：81.81%。後製成 20mg/瓶的凍乾粉。

【0191】 UV-HPLC 計算平均值：n=6.8。

【0192】 使用上述方法，可以用抗體 h1901-11 代替 h1902-5，和化合物 9-A 製備得到 ADC-2，n=7.1。

【0193】 **實施例 1-5： ADC-3**

在 37℃條件下，向含抗體 h1901-11 的 PBS 緩衝水溶液(pH=6.5 的 0.05 M 的 PBS 緩衝水溶液；10.0 mg/mL，1 mL，67.5 nmol)加入配置好的 TCEP 水溶液(10 mM，10.1 μL，101nmol)，置於水浴振盪器，於 37℃下振盪反應 3 小時，停止反應。將反應液用水浴降溫至 25℃。

【0194】 將化合物 9-A(0.58mg，540nmol)溶解於 34 μl DMSO 中，加入到上述反應液中，置於水浴振盪器，於 25℃下振盪反應 3 小時，停止反應。將反應液用 Sephadex G25 凝膠管柱脫鹽純化(沖提相：pH 為 6.5 的 0.05*M* 的 PBS 緩衝水溶液，含 0.001M 的 EDTA)，得到 ADC-3 的 PBS 緩衝液(0.72 mg/mL，11.2 mL)，於 4℃儲存。RP-HPLC 計算平均值：n=2.51。

【0195】 實施例 1-6： ADC-4

在 37℃條件下，向含抗體 h1901-11 的 PBS 緩衝水溶液(pH=6.5 的 0.05 M 的 PBS 緩衝水溶液；10.0 mg/mL，1 mL，67.5 nmol)加入配置好的 TCEP 水溶液(10 mM，16.9 μL，169nmol)，置於水浴振盪器，於 37℃下振盪反應 3 小時，停止反應。將反應液用水浴降溫至 25℃。

【0196】 將化合物 9-A(0.73mg，680nmol)溶解於 43 μl DMSO 中，加入到上述反應液中，置於水浴振盪器，於 25℃下振盪反應 3 小時，停止反應。將反應液用 Sephadex G25 凝膠管柱脫鹽純化(沖提相：pH 為 6.5 的 0.05*M* 的 PBS 緩衝水溶液，含 0.001M 的 EDTA)，得到 ADC-4 的 PBS 緩衝液(0.62 mg/mL，12.5 mL)，於 4℃儲存。RP-HPLC 計算平均值：n=4.06。

【0197】 實施例 1-7： ADC-5

在 37℃條件下，向抗體 h1901-11 的 PBS 緩衝水溶液(pH=6.5 的 0.05 M 的 PBS 緩衝水溶液；10.0 mg/mL，1 mL，67.5 nmol)加入配置好的 TCEP 水溶液(10 mM，35.8 μL，358nmol)，置於水浴振盪器，於 37℃下振盪反應 3 小時，停止反應。將反應液用水浴降溫至 25℃。

【0198】 將化合物 9-A(1.09mg，1015nmol)溶解於 64 μl DMSO 中，加入到上述反應液中，置於水浴振盪器，於 25℃下振盪反應 3 小時，停止反應。將反

應液用 Sephadex G25 凝膠管柱脫鹽純化(沖提相：pH 為 6.5 的 0.05*M* 的 PBS 緩衝水溶液，含 0.001M 的 EDTA)，得到 ADC-5 的 PBS 緩衝液(0.54 mg/mL，12.5 mL)，於 4℃儲存。RP-HPLC 計算平均值：n=6.8。

【0199】 實施例 1-8： ADC-6

在 37℃條件下，向抗體 h1902-5 的 PBS 緩衝水溶液(pH=6.5 的 0.05 M 的 PBS 緩衝水溶液；10.0 mg/mL，1.08 mL，72.9 nmol)加入配置好的 TCEP 水溶液(10 mM，10.9 μL，109nmol)，置於水浴振盪器，於 37℃下振盪反應 3 小時，停止反應。將反應液用水浴降溫至 25℃。

【0200】 將化合物 9-A(0.63mg，587nmol)溶解於 40 μl DMSO 中，加入到上述反應液中，置於水浴振盪器，於 25℃下振盪反應 3 小時，停止反應。將反應液用 Sephadex G25 凝膠管柱脫鹽純化(沖提相：pH 為 6.5 的 0.05*M* 的 PBS 緩衝水溶液，含 0.001M 的 EDTA)，得到 ADC-6 的 PBS 緩衝液(0.7 mg/mL，13.0 mL)，於 4℃儲存。RP-HPLC 計算平均值：n=2.69。

【0201】 實施例 1-9： ADC-7

在 37℃條件下，向抗體 h1902-5 的 PBS 緩衝水溶液(pH=6.5 的 0.05 M 的 PBS 緩衝水溶液；10.0 mg/mL，1.08 mL，72.9 nmol)加入配置好的 TCEP 水溶液(10 mM，18.3 μL，183nmol)，置於水浴振盪器，於 37℃下振盪反應 3 小時，停止反應。將反應液用水浴降溫至 25℃。

【0202】 將化合物 9-A(0.79mg，736nmol)溶解於 50 μl DMSO 中，加入到上述反應液中，置於水浴振盪器，於 25℃下振盪反應 3 小時，停止反應。將反應液用 Sephadex G25 凝膠管柱脫鹽純化(沖提相：pH 為 6.5 的 0.05*M* 的 PBS 緩

衝水溶液，含 0.001M 的 EDTA)，得到 ADC-7 的 PBS 緩衝液(0.6 mg/mL，14.0 mL)，於 4℃儲存。RP-HPLC 計算平均值：n=4.25。

【0203】 實施例 1-10： ADC-8

在 37℃條件下，向抗體 h1902-5 的 PBS 緩衝水溶液(pH=6.5 的 0.05 M 的 PBS 緩衝水溶液；10.0 mg/mL，1.08 mL，72.9 nmol)加入配置好的 TCEP 水溶液(10 mM，38.7 μL，387nmol)，置於水浴振盪器，於 37℃下振盪反應 3 小時，停止反應。將反應液用水浴降溫至 25℃。

【0204】 將化合物 9-A(1.18mg，1099nmol)溶解於 70 μl DMSO 中，加入到上述反應液中，置於水浴振盪器，於 25℃下振盪反應 3 小時，停止反應。將反應液用 Sephadex G25 凝膠管柱脫鹽純化(沖提相：pH 為 6.5 的 0.05*M* 的 PBS 緩衝水溶液，含 0.001M 的 EDTA)，得到 ADC-8 的 PBS 緩衝液(0.56 mg/mL，14.2 mL)，於 4℃儲存。RP-HPLC 計算平均值：n=7.01。

【0205】 實施例 1-11： ADC-9

在 12℃條件下，向含抗體 h1902-5 的組胺酸-醋酸-Tris/EDTA 緩衝液(pH 7.2 的 10mM 組胺酸-醋酸-Tris 和 2.5 mM EDTA 的緩衝液；20.6g/L，6.49L，0.91mmol)中加入配製好的 TCEP 組胺酸緩衝液(10mM 組胺酸緩衝液；1.717mM，1.16L 1.99mmol)，置於恆溫水浴鍋中，於 12°C 下攪拌反應 2 小時，停止反應，得到中間體 I 溶液。

【0206】 將化合物 9-A(4.72g，4.39mmol)溶解於 0.38 L DMSO 中，生成化合物 9-A 的 DMSO 溶液。向上述中間體 I 溶液中預加 0.38 L DMSO，再加入上述化合物 9-A 的 DMSO 溶液，置於恆溫水浴鍋中，於 12℃下攪拌反應 1 小時，停止反應。

【0207】將上述反應液經 Capto S Impact 陽離子層析管柱純化，分別用 9 個管柱體積的含有 10%(v/v)DMSO 的 0.05M 醋酸緩衝液(pH=5.0)和 6 個管柱體積 0.05M 醋酸緩衝液(pH=5.0)洗滌，再用 0.05M 醋酸、0.30M 氯化鈉緩衝液(pH=5.5)進行沖提，去除反應液中游離毒素和殘留溶劑。在 22℃下，將陽離子沖提液進行 7 倍體積等體積超濾(超濾膜包採用 30KD 的聚纖維素膜包)得到產物 ADC-9。RP-HPLC 計算平均值：n=4.1。

【0208】**生物學評價**

測試例 1： 細胞 Cell 水平 ELISA 結合實驗

基於細胞的 ELISA 實驗被用來檢測 Claudin18.2 抗體的結合特性。將穩轉表達 Claudin18.2 的 NUGC4 細胞培養於 96 孔細胞板(Corning，3599)中，待生長至 90%密度時加入 4%多聚甲醛固定細胞 1 小時，用 PBST 緩衝液(pH 7.4 PBS 含 0.05% Tween-20)洗板 3 次後，加入用 PBS 稀釋的 5%脫脂牛奶(光明脫脂奶粉)封閉液 200μl/孔，37℃孵育箱孵育 2.5 小時或 4℃放置過夜(16-18 小時)進行封閉。封閉結束後，棄去封閉液，並用 PBST 緩衝液洗板 3 次後，加入 50μl/孔用樣品稀釋液(pH7.4 PBS 含 1% 脫脂乳)稀釋的不同濃度待測抗體，放於 37℃孵育箱孵育 2 小時。孵育結束後用 PBST 洗板 5 次，加入 100μl/孔用樣品稀釋液稀釋的 HRP 標記的羊抗人二抗(Jackson Immuno Research，109-035-003)，37℃孵育 1 小時。用 PBST 洗板 6 次後，加入 50μl/孔 TMB 顯色底物(KPL，52-00-03)，於室溫孵育 10-15min，加入 50μl/孔 1M H_2SO_4 終止反應，用 MD Versa Max TM 酶標儀在 450nm 處讀取吸收值，計算 Claudin18.2 抗體對 Claudin18.2 的結合 EC50 值。

【0209】 表 11. 抗體的結合活性

抗體	IMAB362	ch1901	ch1902
Emax	1.175	1.399	1.272
EC50 (nM)	0.108	0.098	0.074

【0210】 表 12. mAb1901 人源化抗體結合活性

抗體	Emax	EC50(nM)
IMAB362	1.115	0.086
h1901-2	1.039	0.076
h1901-3	1.1055	0.22
h1901-4	0.986	0.201
h1901-6	0.937	0.091
h1901-7	0.921	0.166
h1901-8	1.047	0.091
h1901-11	1.44	0.076
h1901-12	1.22	0.116

【0211】 表 13. mAb1902 人源化抗體結合活性

抗體	Emax	EC50(nM)
IMAB362	0.88	0.187
h1902-1	0.87	0.113
h1902-2	0.88	0.107
h1902-3	0.84	0.175
h1902-4	0.82	0.087
h1902-5	0.9	0.098
h1902-6	0.78	0.141
h1902-7	0.75	0.121
h1902-8	0.89	0.132
h1902-9	0.75	0.137
h1902-10	0.89	0.133

【0212】 **測試例 2：抗體細胞水平結合實驗**

將穩轉表達 Claudin18.2 的 NUGC4 細胞用 FACS 緩衝液(2%胎牛血清(Gibco，10099141)pH7.4 PBS(Sigma，P4417-100TAB))製備成 1×10^6/ml 的細胞懸液，100μl/孔加入 96 孔圓底板(Corning，3795)中。離心去除上清後加入 50μl/孔用 FACS 緩衝液稀釋的不同濃度待測 Claudin18.2 抗體，放於 4℃冰箱中避光孵育 1 小時。以 FACS 緩衝液 300g 離心洗滌 3 次後，加入工作濃度的 Alexa Fluor 488 包被的抗人 IgG(H+L)(invitrogen，A-11013)，放於 4℃冰箱中避光孵育 40 分鐘。以 FACS 緩衝液 300g 離心洗滌 3 次後，在 BD FACS CantoII 流式細胞儀上檢測幾何平均

數螢光強度，計算 Claudin18.2 抗體對穩轉表達 Claudin18.2 的 NUGC4 細胞的結合 EC50 值，結果見圖 1。

【0213】 測試例 3：抗體內吞實驗

將預標記了 DyLight 488 NHS Ester(thermofisher，46403)的待測 Claudin18.2 抗體，以 5 μg/ml 終濃度加入 1×10^6/ml 穩轉表達 Claudin18.2 的 NUGC4 細胞中，放於冰上避光孵育 1 小時，以預冷的 FACS 緩衝液(pH7.4 PBS，2%胎牛血清)離心洗滌 3 次，去上清後加入預熱的完全培養基，放入 37℃ 5% CO_2 細胞培養箱。分別在 0、0.5、1、2、4 小時後取出細胞，放置於冰上避光保存。待樣品全部收集後，300g 低溫離心去除上清，加入沖提緩衝液(pH1.7 0.05M 甘胺酸，0.1M 氯化鈉)後，室溫孵育 7 分鐘，以 FACS 緩衝液 300g 離心洗滌 1 次，在 BD FACS CantoII 流式細胞儀上檢測幾何平均數螢光強度，計算 Claudin18.2 抗體對穩轉表達 Claudin18.2 的 NUGC4 細胞的內吞效率。結果顯示(見圖 2)，人源化抗體具有良好的細胞內吞效率。

【0214】 測試例 4：基於流式細胞技術測定抗體親和力

實驗當天收集 HEK293/hClaudin18.2 細胞於 U 底 96 孔板中，每孔 1×10^5 至 2×10^5 個細胞。加入起始濃度 5μg/ml，2×梯度稀釋(12 個濃度點)的 Claudin18.2 抗體，4℃孵育 1 小時，陽性對照為 IMAB362，同時設置不加抗體的陰性對照。離心去除抗體，再加入 100μl/孔 FITC 抗人 IgG Fc 抗體(200×)，4℃避光孵育 30 分鐘，用 PBS+2%FBS 清洗兩遍後準備進行流式細胞檢測。啟動 BD FACS CantoII，預熱完成後打開 BD FACSDiva 軟體，建立一個新的實驗，檢測 HEK293/hClaudin18.2 陰性對照樣品，調節 FSC 及 SSC 電壓至適當的數值並保存。根據 Quantum™ FITC-5 MESF Kit 說明書，分別檢測空白樣品 B 及標準曲線

1，調節 FITC 電壓至適當的數值並保存。在保存的電壓下檢測 U 底 96 孔板中的樣品，記錄數據。使用 Flowjo 軟體分析實驗數據得到 Geo Mean 數值，根據 Quantum™ FITC-5 MESF Kit 說明書擬合 MESF-Geo Mean 標準曲線，根據 FITC 抗人 IgG Fc 抗體的濃度螢光值計算出與 HEK293/hClaudin18.2 細胞結合的 Claudin18.2 抗體的莫耳濃度及游離抗體濃度，利用 Scatchard 作圖法計算抗體的 Bmax 和解離常數 KD。結果見表 14。

【0215】 表 14. 人源化抗體細胞水平親和力

抗體	IMAB362	h1901-11	h1902-5
KD (nM)	10.2	6.8	1.64

【0216】 測試例 5：抗體的 ADCC 效應評價

消化各種 NUGC4 細胞(高中低表達 Claudin18.2)，1000rpm 離心後，重新懸浮計數。將細胞以 3×10^5 細胞/ml 的密度重新懸浮在添加 10% FBS(新西蘭超低 IgG 胎牛血清，Gibco，1921005PJ)的無酚紅 RPMI 1640 中(Gibco，11835-030)。在 96 孔板(Corning，3903)中，每孔加入 25μl 細胞(7500 個/孔)。將抗體稀釋在上述無酚紅培養基中，配製成 3×的抗體稀釋液，向細胞板中加入 25μl/孔的抗體。在 37℃、5% CO_2 培養箱中孵育 0.5 小時。

【0217】 收集效應細胞(FcrR3A-V158-NFAT-RE-Jurkat 細胞)，1000rpm 離心後，重新懸浮計數。將細胞以 3×10^6 細胞/ml 的密度重新懸浮在添加 10%FBS(新西蘭超低 IgG 胎牛血清)的無酚紅 RPMI 1640 中，在實驗板中每孔加入 25μl 細胞(7.5×10^4 個細胞/孔)。在 37℃、5% CO_2 培養箱中孵育 6 小時。

【0218】 向實驗板的每個孔中加入75μl/孔的Bright-Glo(Promega，E2610)，用酶標儀(PerkinElmer，VITOR3)檢測化學發光(luminescence)。

【0219】 結果顯示(見表 15 和圖 3A-圖 3C)，在低(圖 3A)-中(圖 3B)-高(圖 3C)不同程度 Claudin18.2 表達的 NUGC4 細胞中，抗體 h1901-11 和 h1902-5 均顯示出很強的 ADCC 活性。

表 15. 抗體在 Claudin18.2 不同表達程度的 NUGC4 細胞中的 ADCC 效應

單位 IC50(ng/ml)

Claudin18.2 表達程度	h1901-11	h1902-5	IMAB362
低表達	22.42	35.46	183.4
中等表達	15.35	30.00	210.4
高表達	26.17	32.16	132.6

【0220】 測試例 6：ADC 分子細胞活性實驗

本實驗藉由利用 CellTiter-Glo Luminescence Cell Viability Assay 檢測 ADC 分子在體外對人胃癌細胞株的殺傷作用。第一天，收集 NUGC4-claudin18.2 低表達，NUGC4-claudin18.2 中表達，NUGC4-claudin18.2 高表達細胞，調整密度為 2.5×10^4/ml，在 96 孔白色透明底板中加入 90μl/孔，約為 2500 個細胞每孔。37℃，5% CO_2 培養箱過夜培養。第二天，在 U 底 96 孔板中稀釋樣品，起始濃度為 5μM，4×梯度稀釋，9 個濃度點，向細胞板中加入 10μl/well 稀釋好的樣品。37℃，5% CO_2 培養 6 天。第八天，取出細胞培養板，加入 50μl/well Cell Titer-Glo Reagent，室溫放置 2 至 3 分鐘，在 PHERAstar FS microplate reader 上讀取 luminescence 數值。利用 GraphPad Prism 軟體進行數據分析。見表 16。

【0221】表 16. ADC 體外細胞殺傷實驗

ADC	NUGC4-claudin18.2 低表達細胞		NUGC4-claudin18.2 中表達細胞		NUGC4-claudin18.2 高表達細胞	
	EC50(nM)	Emax	EC50 (nM)	Emax	EC50(nM)	Emax
ADC-1	126.8	66.7	23.6	82.1	1.3	91.5
ADC-2	109.0	69.8	16.8	82.3	1.9	91.1
ADC-3	>500	49.0			94	78.7
ADC-4	299	61.03			12	84.97
ADC-5	142	69.91			3.5	95.89
ADC-6	>500	45.22			11	78.00
ADC-7	284	61.09			3.9	88.51
ADC-8	154	66.74			1.3	97.15

【0222】測試例 7：ADC 分子體內藥效評價

Balb/c 裸在右肋部皮下接種人胃癌細胞 NUGC4(Claudin18.2 中等表達)細胞(5×10^6含 50% matrigel 基質膠/隻)，第 0 日分組，8 隻/組，共 8 組。平均瘤體積約 84.41mm^3。

【0223】ADC 腹腔注射，共給藥 3 次，每隻按體重注射 10g/0.1ml，分別於第 0 日，4 日，11 日給藥。

【0224】分組當天 ADC 腹腔注射，共給藥 4 次，間隔 5 天給藥，每隻按體重注射 10g/0.1ml。

【0225】每週測量 2 次瘤體積和體重，記錄數據。

【0226】 使用 Excel 2003 統計軟體：平均值以 avg 計算；SD 值以 STDEV 計算；SEM 值以 STDEV/SQRT 計算；組間差異 P 值以 TTEST 計算。

腫瘤體積(V)計算公式為：$V=1/2\times L_{長}\times L_{短}^{2}$

相對體積(RTV)=VT/V0

抑瘤率(%)=(CRTV-TRTV)/CRTV(%)

【0227】 其中 V0、VT 分別為實驗開始時(首次給藥當天為第 0 天)及實驗結束時的腫瘤體積。CRTV、TRTV 分別為實驗結束時的空白對照組(Vehicle)及實驗組的相對腫瘤體積。結果見表 17 和圖 4、圖 5。

【0228】 表17. ADC抑瘤實驗結果

分組	平均腫瘤體積(mm^3)		平均腫瘤體積(mm^3)		相對腫瘤體積		%抑瘤率 D32
	D0	SEM	D32	SEM	D0	SEM	
空白對照組	83.33	0.82	2067.0	102.24	24.83	1.27	-
ADC-2 10mpk	83.93	1.65	263.13	44.17	3.11	0.51	87.47%**
ADC-2 3mpk	84.35	1.83	328.95	45.04	3.86	0.48	84.45%**
ADC-1 10mpk	83.60	1.61	123.80	20.99	1.48	0.25	94.04%**
ADC-1 3mpk	86.84	1.91	356.41	55.18	4.06	0.58	83.65%**

vs 空白對照組： **p<0.01。

【0229】 **二、製劑**

製劑製備與檢測過程中使用的設備及結果計算方法如下：

SEC 分子排阻色譜法：

根據凝膠孔隙的孔徑大小與高分子樣品分子的線團尺寸間的相對關係而對溶質進行分離的分析的方法。

【0230】 SEC%(SEC單體含量百分比)=A單體/A總*100%(A單體為樣品中主峰單體的峰面積，A總為所有峰面積之和)。

【0231】 SEC測定用儀器：安捷倫1260；管柱：waters，XBrige BEH200Å SEC(300×7.8mm 3.5μm)。

【0232】 **CE 毛細管凝膠電泳：**

將凝膠移到毛細管中作為支持介質進行的一種電泳，並在一定的電壓下根據樣品分子量的大小進行分離的方法。

【0233】 還原CE純度百分比=A主峰/A總*100%(A主峰為樣品中輕鏈主峰+重鏈主峰的峰面積，A總為所有峰面積之和。

【0234】 CE測定用儀器：Beckman型號plus800。

【0235】 **滲透壓測定：**

冰點法測定滲透壓，以冰點下降值與溶液的莫耳濃度成正比例關係為基礎，採用高靈敏度感溫元件，測定溶液結冰點，藉由電量轉化為滲透壓。儀器廠家羅澤Loser，型號OM815。

【0236】 **蛋白濃度測定：**

因為抗體藥物偶聯物中的藥物在280 nm下有吸收，用以下公式對蛋白濃度進行校正，

A280=Cd*ε280d+Cmab*ε280mab；

A370=Cd*ε370d；

Cd代表藥物的濃度，Cmab代表蛋白的濃度，ε280d代表藥物在280 nm下的消光係數，ε280mab代表蛋白在280 nm下的消光係數，ε370d代表藥物在370 nm下的消光係數。ε280mab=1.49 mg-1*cm-1*ml，ε280d =5000(280 nm藥物莫耳消光係數)/1074.13(藥物分子量)= 4.65 mg-1*cm-1*mL，ε370d =19000(370 nm藥物莫耳消光係數)/1074.13(藥物分子量)= 17.69 mg-1*cm-1*mL，以上消光係數為質量消光係數。

【0237】 蛋白濃度測定儀器：紫外可見分光光度計，型號：Nano Drop oneC，光程為1mm。

【0238】 實施例 2-1：製劑緩衝體系與 pH 值的篩選

配製含有 20 mg/mL(蛋白濃度)的 ADC-9 和以下不同緩衝體系，以及0.1mg/mL 聚山梨酯 80(PS80)的製劑。

1)10 mM 檸檬酸-檸檬酸鈉(CA)，pH 5.5

2)10 mM 琥珀酸-琥珀酸鈉(SA)，pH 5.0

3)10 mM 琥珀酸-琥珀酸鈉，pH 5.5

4)10 mM 組胺酸鹽酸鹽(His-HCl)，pH 5.5

5)10 mM 組胺酸鹽酸鹽，pH 6.0

6)10 mM 組胺酸鹽酸鹽，pH 6.5

7)10 mM 組胺酸-醋酸鹽(His-AA)，pH 5.0

8)10 mM 組胺酸-醋酸鹽，pH 5.5

9)10 mM 磷酸鹽(PB)，pH 6.5。

【0239】 將每種製劑過濾，灌裝，加塞，軋蓋，取樣品進行高溫穩定性(40℃)、振搖(25℃，300 rpm)研究，考察外觀、SEC、還原 CE。結果見表 18。

【0240】 振搖 11 天後，只有 2)、3)、7)、9)號樣品外觀澄明；40℃放置 15 天後，1)、2)、3)、7)、8)號樣品外觀澄明。即從外觀的角度看，2)、3)、7)號樣品的製劑較優。

【0241】 40℃放置 15 天後，採用 SEC 檢測樣品，結果顯示：4)、5)、6)、7)、8)號樣品的單體降低幅度在 4%左右；其他製劑單體降低幅度為 7%-10%。

【0242】 40℃放置 15 天後，採用還原 CE 檢測樣品，結果顯示：4)、5)、7)、8)號樣品的主峰下降幅度在 1%-2%左右，優於其他樣品。

【0243】 綜合以上數據，7)號樣品即 10 mM His-AA，pH 5.0 製劑從外觀及各化學檢測項均優於其餘製劑，因此選擇 10mM His-AA，pH 5.0 為最終緩衝液。

【0244】 表 18. pH和緩衝液穩定性結果

編號	緩衝液及 pH	放置條件	外觀	SEC% 單體	Δ單體	還原 CE %	Δ主峰
1	10mM CA，pH 5.5	D0	澄明	94.4	N/A	98.5	N/A
		振搖 D11	澄明，偶見顆粒	92.0	-2.4	98.6	0.1
		40℃ D15	澄明	83.5	-10.9	94.5	-4.0
2	10mM SA，pH 5.0	D0	澄明	95.1	N/A	98.4	N/A
		振搖 D11	澄明	93.7	-1.4	98.8	0.5
		40℃ D15	澄明	87.7	-7.4	94.0	-4.3
3	10mM SA，pH 5.5	D0	澄明	94.4	N/A	98.1	N/A
		振搖 D11	澄明	92.3	-2.1	98.4	0.3
		40℃ D15	澄明	87.2	-7.2	94.9	-3.1
4	10mM His-HCl，pH 5.5	D0	微乳光	94.6	N/A	98.2	N/A
		振搖 D11	微乳光，含有顆粒+	93.9	-0.7	97.7	-0.5
		40℃ D15	澄明，偶見顆粒	90.7	-3.9	96.9	-1.2
5	10mM His-HCl，pH 6.0	D0	澄明	94.1	N/A	98.0	N/A
		振搖 D11	細小顆粒+++	92.8	-1.3	97.1	-0.8
		40℃ D15	少量細小顆粒	90.1	-4.1	96.3	-1.6
6	10mM His-HCl，pH 6.5	D0	有乳光	93.5	N/A	98.2	N/A
		振搖 D11	乳光++，細小顆粒+++	91.5	-2.0	96.3	-1.9
		40℃ D15	顆粒沉底	88.8	-4.7	94.7	-3.5
7	10mM His-AA，pH 5.0	D0	澄明	95.5	N/A	98.4	N/A
		振搖 D11	澄明	95.2	-0.4	99.0	0.6
		40℃ D15	澄明	91.6	-4.0	96.4	-2.0
8	10mM His-AA，pH 5.5	D0	微乳光	94.8	N/A	98.4	N/A
		振搖 D11	澄明，偶見顆粒	93.8	-1.0	98.3	-0.1
		40℃ D15	澄明	90.9	-3.9	96.6	-1.8
9		D0	澄明	91.9	N/A	97.4	N/A

	10mM PB，pH 6.5	振搖 D11	澄明	87.2	-4.7	98.0	0.6
		40℃ D15	少量細小顆粒	83.6	-8.3	93.7	-3.7

註：表中"D "表示天，例如D3表示3天，以此類推；D0表示實驗開始時，下同。

【0245】 實施例 2-2：表面活性劑種類及濃度篩選

製備含有不同型號和濃度聚山梨酯，且含有 10mM His-AA，pH 5.0 的緩衝液、80 mg/mL 蔗糖和蛋白濃度為 20 mg/mL 的 ADC-9 的製劑。將每種製劑過濾，灌裝，加塞，軋蓋。將樣品進行高溫穩定性研究(40℃)和凍融研究。其中凍融研究為凍融 5 次循環(FT5C，35℃-2 至 8℃)後室溫放置三天(25℃ D3)，考察外觀、SEC、還原 CE，具體製劑設計見表 19。

【0246】 結果見表 20，實驗結果顯示採用 0.2 mg/ml PS80 的製劑在各條件下外觀和化學檢測項為最優。

【0247】 綜合以上結果，表面活性劑種類及濃度定為 0.2mg/ml PS80。

表 19. 聚山梨酯種類及濃度篩選製劑

劑型	聚山梨酯	Buffer	ADC 蛋白濃度
溶液劑	PS80 0.2 mg/mL	10mM His-AA，pH 5.0+80mg/mL 蔗糖	20 mg/mL
	PS80 0.4 mg/mL		
	PS20 0.2 mg/mL		
	PS20 0.4 mg/mL		

註：PS20表示聚山梨酯20。

【0248】 表 20. 聚山梨酯種類篩選結果

聚山梨酯種類	條件	外觀	SEC%	還原 CE%
PS80 0.2 mg/mL	D0	澄明	95.5	98.6
	FT5C+25℃ D3	澄明	95.8	97.9
	40°C M1	澄明	89.2	93.4
PS80 0.4 mg/mL	D0	澄明	95.5	98.3
	FT5C+25℃ D3	少量霾狀顆粒	95.8	98.6
	40℃ M1	細小顆粒	86.4	89.9
PS20 0.2 mg/mL	D0	澄明	95.7	98.1
	FT5C+25℃ D3	少量霾狀顆粒	95.9	98.2
	40℃ M1	細小顆粒	88.4	91.7
PS20 0.4 mg/mL	D0	澄明	95.7	98.6
	FT5C+25℃ D3	澄明	95.5	97.0
	40℃ M1	顆粒沉底	89.6	92.9

備註：表中"M"表示月，M1表示1個月，以此類推，下同。

【0249】 **實施例 2-3 ：糖種類篩選**

製備分別含有蔗糖、海藻糖、甘露醇的製劑，其還含有 10mM His-AA(pH 5.0)緩衝液、0.2 mg/mL PS80 和 20 mg/mL(蛋白濃度)的 ADC-9。將每種製劑過濾，灌裝，加塞，軋蓋。將樣品進行高溫穩定性研究(40℃)、-35℃/4℃凍融循環並在室溫放置 3 天研究，考察外觀、SEC、還原 CE。

【0250】 結果見表 21。在不同糖種類製劑凍融條件下，採用蔗糖的樣品的外觀優於採用海藻糖或甘露醇的樣品。SEC 檢測結果顯示，採用蔗糖或海藻糖的

樣品優於甘露醇；40℃放置一個月後，採用蔗糖的樣品的外觀優於採用海藻糖或甘露醇的樣品，SEC 和還原 CE 的檢測結果也顯示採用蔗糖的樣品略優於採用海藻糖的樣品。

【0251】 表 21. 糖種類溶液劑篩選結果

糖濃度	條件	外觀	SEC%	還原 CE %
80 mg/mL 蔗糖	D0	澄明	95.5	98.6
	FT5C+25℃ D3	澄明	95.8	97.9
	40℃ M1	澄明	89.2	93.4
80 mg/mL 海藻糖	D0	澄明	95.5	97.7
	FT5C+25℃ D3	澄明	95.2	98.0
	40℃ M1	細小顆粒	88.0	91.8
50 mg/mL 甘露醇	D0	澄明	95.0	98.6
	FT5C+25℃ D3	少量霾狀顆粒	89.5	98.6
	40℃ M1	細小顆粒	88.4	92.9

【0252】 製備分別含有蔗糖、海藻糖、甘露醇的製劑，其還含有 10mM His-AA(pH 5.0)緩衝液、0.2 mg/mL PS80 和 20 mg/mL(蛋白濃度)的 ADC-9。將每種製劑過濾、灌裝、半加塞、凍乾、加塞、軋蓋，放置高溫穩定性研究(40℃)考察外觀、SEC、還原 CE。凍乾工藝參見表 22 的凍乾工藝參數 1。

【0253】 表 22. 凍乾工藝參數 1

凍乾工藝參數	設定溫度(℃)	設定時間(min)	保持時間(h)	真空度(Pa)
預凍	5	10	1	N/A
預凍	-45	50	2.5	N/A
一次乾燥	-20	120	45	20
二次乾燥	25	60	8	1

【0254】 40℃放置一個月後，SEC 的檢測結果(見表 23)顯示採用蔗糖的樣品略優於採用海藻糖的樣品，更優於採用甘露醇的樣品，還原 CE 的檢測結果(見表 23)顯示，採用蔗糖的樣品和採用海藻糖的樣品相當，同時優於採用甘露醇的樣品。

【0255】 表 23. 糖種類凍乾劑篩選結果

糖濃度	放置條件	SEC%	還原 CE %
80 mg/mL 蔗糖	凍乾前	96.2	98.8
	40℃ M1	95.9	98.63
80 mg/mL 海藻糖	凍乾前	96.1	98.76
	40℃ M1	95.1	98.89
50 mg/mL 甘露醇	凍乾前	96.0	98.79
	40℃ M1	89.9	97.37

【0256】 **實施例 2-4 ：凍乾後樣品外觀優化實驗**

按照 10mM His-AA，pH 5.0、80 mg/mL 蔗糖、0.2 mg/mL PS80 和 20 mg/mL(蛋白濃度)ADC-9 配製原液，過濾灌裝後按照凍乾工藝參數 1 凍乾(見表 22)，考察凍乾後樣品外觀。凍乾樣品為表面平整白色粉餅，但粉餅底部邊緣略有縮小。

【0257】 將樣品的糖濃度進一步下調至 60 mg/mL，按照 10mM His-AA，pH5.0、60 mg/mL 蔗糖、0.2 mg/mL PS80 和 20mg/mL(蛋白濃度)ADC-9 配製原液，過濾灌裝後按照表 22 的凍乾工藝參數 1 凍乾。凍乾後，粉餅表面平整無皺縮，粉餅底部邊緣略有縮底。

【0258】 將糖濃度降至 40 mg/ml，但此時成品滲透壓過低，在臨床給藥時有滲透壓偏低的風險，為了保證成品滲透壓，將緩衝液離子強度提高至 30 mM。按照 30 mM His-AA，pH 5.0、40 mg/mL 蔗糖、0.2 mg/mL PS80 和 20 mg/mL(蛋白濃度)ADC-9 配製原液，過濾灌裝後繼續按照凍乾工藝參數 1 凍乾。凍乾後樣品粉餅表面平整無塌陷，粉餅底部邊緣完整。

【0259】 三種製劑的結果見表 24。

表 24. 凍乾後樣品外觀

製劑	凍乾後外觀
10mM His-AA pH5.0、 80mg/mL 蔗糖、0.2mg/mL PS80 和 20mg/mL(蛋白濃度)ADC-9	粉餅表面平整，底部邊緣收縮
10mM His-AA pH5.0、 60mg/mL 蔗糖、0.2mg/mL PS80 和 20mg/mL(蛋白濃度)ADC-9	粉餅表面平整，底部邊緣略有收縮
30mM His-AA pH5.0、 40mg/mL 蔗糖、0.2mg/mL PS80 和 20mg/mL(蛋白濃度)ADC-9	粉餅表面平整，底部邊緣完整

【0260】 實施例 2-5：凍乾後樣品穩定性

按照表 25 中的製劑配製原液，過濾灌裝後按照凍乾工藝參數 1 凍乾(見表 22)，將凍乾後樣品於 40℃ M1 條件下放置後複溶檢測其穩定性變化。

【0261】 穩定性結果顯示見表 25，3 號製劑的凍乾樣品在 40℃ M1 條件下還原 CE 下降約 3.7%，其餘兩製劑各化學檢測項均無明顯變化，穩定性明顯優於 3 號製劑。2 號製劑凍乾前原液的 pH 為 5.04，凍乾後複溶溶液的 pH 為 5.27。

【0262】 表 25. 製劑穩定性結果

編號	製劑	放置條件	SEC%單體	還原 CE %	複溶後外觀
1	10mM His-AA pH5.0、80mg/mL 蔗糖、0.2mg/mL PS80 和 20mg/mL(蛋白濃度)ADC-9	凍乾前	96.2	98.8	N/A
		凍乾後複溶	96.0	98.3	澄明
		40℃ M1	95.9	98.6	N/A
2	30mM His-AA pH5.0、40mg/mL 蔗糖、0.2mg/mL PS80 和 20mg/mL(蛋白濃度)ADC-9	凍乾前	98.2	98.8	N/A
		凍乾後複溶	N/A	N/A	澄明
		40℃ M1	98.0	98.3	N/A
3	10mM SA pH5.0、80mg/ml 蔗糖、0.4mg/mL PS80 和 20mg/mL(蛋白濃度)ADC-9	凍乾前	95.3	98.73	N/A
		凍乾後複溶	95.3	98.29	澄明
		40℃ M1	95.1	95.06	N/A

【0263】 實施例 2-6：凍乾製劑溶液劑穩定性

按照表 26 中的製劑製備製劑，過濾，灌裝，加塞，軋蓋後進行-35℃/4℃凍融循環並在室溫放置 3 天研究，振搖 11 天研究和高溫穩定性研究(40℃)，考察對應條件下樣品外觀，SEC 和還原 CE 變化。

【0264】 穩定性結果顯示見表 26，在降低蔗糖濃度和提高緩衝液離子強度後，2 號製劑在外觀和純度項變化上與 1 號製劑無明顯差異，在高溫條件下還原 CE 降幅略優於 1 號製劑。

表 26. 製劑穩定性結果

編號	製劑	放置條件	外觀	SEC%	還原 CE %
1	10mM His-AA pH5.0、80mg/mL 蔗糖、0.2mg/mL PS80 和 20mg/mL(蛋白濃度)ADC-9	D0	澄明	95.5	98.6
		FT5C+25℃ D3	澄明	95.8	97.9
		振搖 D11	澄明	95.1	98.5
		40℃ M1	澄明	89.2	93.4
2	30mM His-AA pH5.0、40mg/mL 蔗糖、0.2mg/mL PS80 和 20mg/mL(蛋白濃度)ADC-9	D0	澄明	97.4	98.7
		FT5C+25℃ D3	澄明	97.3	98.6
		振搖 D11	澄明	97.9	98.7
		40°C M1	澄明	92.4	96.2

【符號說明】無

【序列表】

<110> 江蘇恆瑞醫藥股份有限公司(JIANGSU HENGRUI MEDICINE CO., LTD.)
上海恆瑞醫藥有限公司(SHANGHAI HENFRUI PHARMACEUTICAL CO., LTD.)

<120> 一種含抗體藥物偶聯物的醫藥組成物及其用途

<130> 721106CGTW

<150> 202011061863.1
<151> 2020-09-30

<150> 202111069020.0
<151> 2021-09-13

<160> 55

<170> SIPOSequenceListing 1.0

<210> 1
<211> 261
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<220>
<221> 肽
<223> Claudin18.2蛋白

<400> 1

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

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

<210> 2
<211> 3350
<212> DNA
<213> 智人(Homo sapiens)

<220>
<221> 基因
<223> Claudin18.2

<400> 2

```
agaattgcgc tgtccacttg tcgtgtggct ctgtgtcgac actgtgcgcc accatggccg   60
tgactgcctg tcagggcttg gggttcgtgg tttcactgat tgggattgcg ggcatcattg  120
ctgccacctg catggaccag tggagcaccc aagacttgta caacaacccc gtaacagctg  180
ttttcaacta ccaggggctg tggcgctcct gtgtccgaga gagctctggc ttcaccgagt  240
gccggggcta cttcaccctg ctggggctgc cagccatgct gcaggcagtg cgagccctga  300
tgatcgtagg catcgtcctg ggtgccattg gcctcctggt atccatcttt gccctgaaat  360
gcatccgcat tggcagcatg gaggactctg ccaaagccaa catgacactg acctccggga  420
tcatgttcat tgtctcaggt ctttgtgcaa ttgctggagt gtctgtgttt gccaacatgc  480
tggtgactaa cttctggatg tccacagcta acatgtacac cggcatgggt gggatggtgc  540
agactgttca gaccaggtac acatttggtg cggctctgtt cgtgggctgg gtcgctggag  600
gcctcacact aattgggggt gtgatgatgt gcatcgcctg ccggggcctg gcaccagaag  660
aaaccaacta caaagccgtt tcttatcatg cctcaggcca cagtgttgcc tacaagcctg  720
gaggcttcaa ggccagcact ggctttgggt ccaacaccaa aaacaagaag atatacgatg  780
gaggtgcccg cacagaggac gaggtacaat cttatccttc caagcacgac tatgtgtaat  840
gctctaagac ctctcagcac gggcggaaga aactcccgga gagctcaccc aaaaaacaag  900
gagatcccat ctagatttct tcttgctttt gactcacagc tggaagttag aaaagcctcg  960
atttcatctt tggagaggcc aaatggtctt agcctcagtc tctgtctcta aatattccac 1020
cataaaacag ctgagttatt tatgaattag aggctatagc tcacatttc aatcctctat 1080
ttctttttt aaatataact ttctactctg atgagagaat gtggttttaa tctctctctc 1140
acattttgat gatttagaca gactcccct cttcctccta gtcaataaac ccattgatga 1200
tctatttccc agcttatccc caagaaaact tttgaaagga aagagtagac ccaaagatgt 1260
tattttctgc tgtttgaatt ttgtctcccc acccccaact tggctagtaa taaacactta 1320
ctgaagaaga agcaataaga gaaagatatt tgtaatctct ccagcccatg atctcggttt 1380
tcttacactg tgatcttaaa agttaccaaa ccaaagtcat tttcagtttg aggcaaccaa 1440
acctttctac tgctgttgac atcttcttat tacagcaaca ccattctagg agtttcctga 1500
gctctccact ggagtcctct ttctgtcgcg ggtcagaaat tgtccctaga tgaatgagaa 1560
aattattttt tttaatttaa gtcctaaata tagttaaaat aaataatgtt ttagtaaaat 1620
gatacactat ctctgtgaaa tagcctcacc cctacatgtg gatagaagga aatgaaaaaa 1680
taattgcttt gacattgtct atatggtact ttgtaaagtc atgcttaagt acaaattcca 1740
tgaaaagctc actgatccta attctttccc tttgaggtct ctatggctct gattgtacat 1800
gatagtaagt gtaagccatg taaaaagtaa ataatgtctg ggcacagtgg ctcacgcctg 1860
taatcctagc actttgggag gctgaggagg aaggatcact tgagcccaga agttcgagac 1920
tagcctgggc aacatggaga agccctgtct ctacaaaata cagagagaaa aaatcagcca 1980
gtcatggtgg cctacacctg tagtcccagc attccgggag gctgaggtgg gaggatcact 2040
tgagcccagg gaggttgggg ctgcagtgag ccatgatcac accactgcac tccagccagg 2100
```

tgacatagcg agatcctgtc taaaaaaata aaaaataaat aatggaacac agcaagtcct 2160
aggaagtagg ttaaaactaa ttctttaaaa aaaaaaaaaa gttgagcctg aattaaatgt 2220
aatgtttcca agtgacaggt atccacattt gcatggttac aagccactgc cagttagcag 2280
tagcactttc ctggcactgt ggtcggtttt gttttgtttt gctttgttta gagacggggt 2340
ctcactttcc aggctggcct caaactcctg cactcaagca attcttctac cctggcctcc 2400
caagtagctg gaattacagg tgtgcgccat cacaactagc tggtggtcag ttttgttact 2460
ctgagagctg ttcacttctc tgaattcacc tagagtggtt ggaccatcag atgtttgggc 2520
aaaactgaaa gctctttgca accacacacc ttccctgagc ttacatcact gccctttga 2580
gcagaaagtc taaattcctt ccaagacagt agaattccat cccagtacca aagccagata 2640
ggcccctag gaaactgagg taagagcagt ctctaaaaac tacccacagc agcattggtg 2700
caggggaact tggccattag gttattattt gagaggaaag tcctcacatc aatagtacat 2760
atgaaagtga cctccaaggg gattggtgaa tactcataag gatcttcagg ctgaacagac 2820
tatgtctggg gaaagaacgg attatgcccc attaaataac aagttgtgtt caagagtcag 2880
agcagtgagc tcagaggccc ttctcactga gacagcaaca tttaaaccaa accagaggaa 2940
gtatttgtgg aactcactgc ctcagtttgg gtaaaggatg agcagacaag tcaactaaag 3000
aaaaaagaaa agcaaggagg agggttgagc aatctagagc atggagtttg ttaagtgctc 3060
tctggatttg agttgaagag catccatttg agttgaaggc cacagggcac aatgagctct 3120
cccttctacc accagaaagt ccctggtcag gtctcaggta gtgcggtgtg gctcagctgg 3180
gtttttaatt agcgcattct ctatccaaca tttaattgtt tgaaagcctc catatagtta 3240
gattgtgctt tgtaattttg ttgttgttgc tctatcttat tgtatatgca ttgagtatta 3300
acctgaatgt tttgttactt aaatattaaa aacactgtta tcctacagtt 3350

<210> 3
<211> 120
<212> PRT
<213> 小鼠(Mus musculus)

<220>
<221> 結構域
<223> mAb1901 鼠源抗體重鏈可變區

<400> 3

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

<210> 4
<211> 113
<212> PRT
<213> 小鼠(Mus musculus)

<220>
<221> 結構域

<223> mAb1901 鼠源抗體輕鏈可變區

<400> 4
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Val Ser Ala Gly
1 5 10 15
Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30
Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45
Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Ser Gly Val
50 55 60
Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80
Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Ile Tyr His Cys Gln Asn
85 90 95
Asp Leu Tyr Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu
100 105 110
Lys

<210> 5
<211> 118
<212> PRT
<213> 小鼠(Mus musculus)

<220>
<221> 結構域
<223> mAb1902 鼠源抗體重鏈可變區

<400> 5
Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Met Ile His Pro Asn Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Leu Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Gln Leu Ser Ser Leu Pro Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Leu Lys Thr Gly Asn Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Thr Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 6
<211> 113
<212> PRT
<213> 小鼠(Mus musculus)

<220>
<221> 結構域
<223> mAb1902 鼠源抗體輕鏈可變區

<400> 6
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val Thr Ala Gly
1 5 10 15
Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30
Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45
Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60
Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80
Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Ile Tyr Tyr Cys Gln Asn
85 90 95
Ala Tyr Thr Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110
Lys

<210> 7
<211> 330
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<220>
<221> 結構域
<223> 人 IgG1 抗體的重鏈恆定區

<400> 7
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 8
<211> 107
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<220>
<221> 結構域
<223> 人源抗體κ輕鏈恆定區

<400> 8
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
20 25 30
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 9
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> mAb1901 HCDR1

<400> 9
Asp Tyr Gly Ile His
1 5

<210> 10
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> mAb1901 HCDR2

<400> 10
Tyr Ile Ser Arg Gly Ser Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Thr Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 11
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> mAb1901 HCDR3

<400> 11
Gly Gly Tyr Asp Thr Arg Asn Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 12
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> mAb1901 LCDR1

<400> 12
Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15
Ala

<210> 13
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> mAb1901 LCDR2

<400> 13

Gly Ala Ser Thr Arg Ala Ser
1 5

<210> 14
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> mAb1901 LCDR3

<400> 14
Gln Asn Asp Leu Tyr Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 15
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> mAb1902 HCDR1

<400> 15
Ser Tyr Trp Met His
1 5

<210> 16
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> mAb1902 HCDR2

<400> 16
Met Ile His Pro Asn Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly Arg

<210> 17
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> mAb1902 HCDR3

<400> 17
Leu Lys Thr Gly Asn Ser Phe Asp Tyr
1 5

<210> 18
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> mAb1902 LCDR1

<400> 18
Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15
Thr

<210> 19
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> mAb1902 LCDR2

<400> 19
Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 20
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> mAb1902 LCDR3

<400> 20
Gln Asn Ala Tyr Thr Tyr Pro Phe Thr
1 5

<210> 21
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> VL1

<400> 21
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30
Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45
Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Ser Gly Val
50 55 60
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80
Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
85 90 95
Asp Leu Tyr Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110
Lys

<210> 22
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> VL2

<400> 22
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30
Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45
Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Ser Gly Val
50 55 60
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80
Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
85 90 95
Asp Leu Tyr Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110
Lys

<210> 23
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> VL3

<400> 23
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30
Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45
Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Ser Gly Val
50 55 60
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80
Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Ile Tyr His Cys Gln Asn
85 90 95
Asp Leu Tyr Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110
Lys

<210> 24
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> VH1

<400> 24
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30
Gly Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Tyr Ile Ser Arg Gly Ser Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Thr Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Gly Tyr Asp Thr Arg Asn Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 25
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> VH2

<400> 25

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

<210> 26
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> VH3

<400> 26

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

<210> 27
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> VH4

<400> 27

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
```

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

<210> 28
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> VL11

<400> 28
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30
Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45
Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80
Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
85 90 95
Ala Tyr Thr Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110
Lys

<210> 29
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> VL12

<400> 29
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

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

<210> 30
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> VL13

<400> 30
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30
Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45
Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80
Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
85 90 95
Ala Tyr Thr Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110
Lys

<210> 31
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> VH11

<400> 31
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

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

<210> 32
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> VH12

<400> 32

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

<210> 33
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> VH13

<400> 33

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

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

<210> 34
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 結構域
<223> VH14

<400> 34
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Met Ile His Pro Asn Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Leu Asp Lys Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Leu Lys Thr Gly Asn Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 35
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈
<223> ch1901 重鏈

<400> 35
Glu Val Gln Leu Met Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30
Gly Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Glu Met Gly Leu Glu Trp Ile

```
        35                  40                  45
Ala Tyr Ile Ser Arg Gly Ser Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Thr Val
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Phe Thr Met Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Phe
65                  70                  75                  80
Leu Gln Met Thr Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Gly Gly Tyr Asp Thr Arg Asn Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110
Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
        115                 120                 125
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
    130                 135                 140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145                 150                 155                 160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
                165                 170                 175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
            180                 185                 190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
        195                 200                 205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
    210                 215                 220
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225                 230                 235                 240
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
                245                 250                 255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
            260                 265                 270
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
        275                 280                 285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
    290                 295                 300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305                 310                 315                 320
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
                325                 330                 335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
            340                 345                 350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
        355                 360                 365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
    370                 375                 380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385                 390                 395                 400
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
                405                 410                 415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
            420                 425                 430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
        435                 440                 445
Gly Lys
    450
```

<210> 36
<211> 220
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈
<223> ch1901 輕鏈

<400> 36
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Val Ser Ala Gly
1 5 10 15
Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30
Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45
Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Ser Gly Val
50 55 60
Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80
Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Ile Tyr His Cys Gln Asn
85 90 95
Asp Leu Tyr Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu
100 105 110
Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
115 120 125
Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
130 135 140
Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
145 150 155 160
Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
165 170 175
Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
180 185 190
Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
195 200 205
Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215 220

<210> 37
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈
<223> ch1902 重鏈

<400> 37
Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ile Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Met Ile His Pro Asn Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Leu Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80
Met Gln Leu Ser Ser Leu Pro Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Leu Lys Thr Gly Asn Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Thr Leu Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120 125
Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190
Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
195 200 205
Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
210 215 220
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
225 230 235 240
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
260 265 270
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
325 330 335
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340 345 350
Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 38
<211> 220
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈
<223> ch1902 輕鏈

<400> 38
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Thr Val Thr Ala Gly
1 5 10 15
Glu Lys Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30
Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45
Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60
Pro Asp Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80
Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Ile Tyr Tyr Cys Gln Asn
85 90 95
Ala Tyr Thr Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110
Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
115 120 125
Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
130 135 140
Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
145 150 155 160
Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
165 170 175
Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
180 185 190
Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
195 200 205
Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215 220

<210> 39
<211> 220
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈
<223> L1

<400> 39
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30
Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45
Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Ser Gly Val
50 55 60
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80
Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
85 90 95
Asp Leu Tyr Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110
Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp

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

<210> 40
<211> 220
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈
<223> L2

<400> 40

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

<210> 41
<211> 220
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈
<223> L3

<400> 41

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

<210> 42
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈
<223> H1

<400> 42

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

65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Gly Tyr Asp Thr Arg Asn Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445
Gly Lys
450

<210> 43
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈

<223> H2

<400> 43

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                  10                  15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
            20                  25                  30
Gly Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
Ala Tyr Ile Ser Arg Gly Ser Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Thr Val
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Gln Met Thr Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Gly Gly Tyr Asp Thr Arg Asn Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
        115                 120                 125
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
    130                 135                 140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145                 150                 155                 160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
                165                 170                 175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
            180                 185                 190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
        195                 200                 205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
    210                 215                 220
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225                 230                 235                 240
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
                245                 250                 255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
            260                 265                 270
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
        275                 280                 285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
    290                 295                 300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305                 310                 315                 320
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
                325                 330                 335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
            340                 345                 350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
        355                 360                 365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
    370                 375                 380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385                 390                 395                 400
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
                405                 410                 415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
```

```
            420                 425                 430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
        435                 440                 445
Gly Lys
    450
```

<210> 44
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈
<223> H3

<400> 44

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                  10                  15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
            20                  25                  30
Gly Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45
Ala Tyr Ile Ser Arg Gly Ser Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Thr Val
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Gln Met Thr Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Gly Gly Tyr Asp Thr Arg Asn Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
        115                 120                 125
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
    130                 135                 140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145                 150                 155                 160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
                165                 170                 175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
            180                 185                 190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
        195                 200                 205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
    210                 215                 220
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225                 230                 235                 240
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
                245                 250                 255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
            260                 265                 270
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
        275                 280                 285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
    290                 295                 300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305                 310                 315                 320
```

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445
Gly Lys
450

<210> 45
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈
<223> H4

<400> 45
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30
Gly Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Tyr Ile Ser Arg Gly Ser Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Thr Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Met Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Thr Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Gly Tyr Asp Thr Arg Asn Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp

210 215 220
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445
Gly Lys
450

<210> 46
<211> 220
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈
<223> L11

<400> 46
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30
Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45
Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80
Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
85 90 95
Ala Tyr Thr Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110

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

<210> 47
<211> 220
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈
<223> L12

<400> 47
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30
Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45
Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80
Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
85 90 95
Ala Tyr Thr Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110
Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
115 120 125
Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
130 135 140
Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
145 150 155 160
Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
165 170 175
Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
180 185 190
Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
195 200 205
Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215 220

<210> 48
<211> 220

<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈
<223> L13

<400> 48

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

<210> 49
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈
<223> H11

<400> 49

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

```
Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Leu Lys Thr Gly Asn Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
            100                 105                 110
Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
        115                 120                 125
Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
    130                 135                 140
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145                 150                 155                 160
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
                165                 170                 175
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
            180                 185                 190
Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
        195                 200                 205
Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
    210                 215                 220
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
225                 230                 235                 240
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
                245                 250                 255
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
            260                 265                 270
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
        275                 280                 285
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
    290                 295                 300
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305                 310                 315                 320
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
                325                 330                 335
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
            340                 345                 350
Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
        355                 360                 365
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
    370                 375                 380
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385                 390                 395                 400
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
                405                 410                 415
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
            420                 425                 430
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
        435                 440                 445
```

<210> 50
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈
<223> H12

<400> 50

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Met Ile His Pro Asn Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Val Thr Leu Thr Leu Asp Lys Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Leu Lys Thr Gly Asn Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120 125
Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190
Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
195 200 205
Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
210 215 220
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
225 230 235 240
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
260 265 270
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
325 330 335
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340 345 350
Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430

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

<210> 51
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈
<223> H13

<400> 51
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Met Ile His Pro Asn Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Leu Asp Lys Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Leu Lys Thr Gly Asn Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120 125
Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190
Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
195 200 205
Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
210 215 220
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
225 230 235 240
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
260 265 270
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
325 330 335
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu

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

<210> 52
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈
<223> H14

<400> 52

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

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

<210> 53
<211> 448
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈
<223> IMAB-362 重鏈

<400> 53
Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Ile Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Asn Ile Tyr Pro Ser Asp Ser Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Gln Leu Ser Ser Pro Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Arg Ser Trp Arg Gly Asn Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Thr Leu Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120 125
Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln

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

<210> 54
<211> 220
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> 鏈
<223> IMAB-362 輕鏈

<400> 54

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

```
Ile Ser Ser Val Gln Ala Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
                85                  90                  95
Asp Tyr Ser Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile
            100                 105                 110
Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
        115                 120                 125
Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
    130                 135                 140
Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
145                 150                 155                 160
Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
                165                 170                 175
Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
            180                 185                 190
Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
        195                 200                 205
Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210                 215                 220
```

<210> 55
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<223> 四肽接頭

<400> 55
```
Gly Gly Phe Gly
1           4
```

第 110136528 號專利申請案
114 年 1 月 23 日修正替換頁

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種醫藥組成物，包含抗 Claudin18.2 抗體藥物偶聯物和緩衝劑，其中該抗 Claudin18.2 抗體藥物偶聯物中的抗 Claudin18.2 抗體包含重鏈可變區和輕鏈可變區，其中，

該重鏈可變區包含分別如 SEQ ID NO：15、SEQ ID NO：16 和 SEQ ID NO：17 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3，該輕鏈可變區包含分別如 SEQ ID NO：18、SEQ ID NO：19 和 SEQ ID NO：20 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；

該緩衝劑是組胺酸-醋酸鹽緩衝劑，其中該緩衝劑的濃度為 5 mM 至 50 mM，

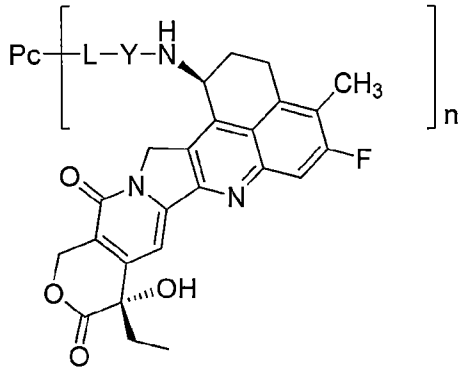
其中該醫藥組成物還包含表面活性劑，該表面活性劑為聚山梨酯 80，其中該表面活性劑濃度為 0.05 mg/mL 至 0.5 mg/mL；

其中該組成物還包含蔗糖，其中該蔗糖濃度為 20 mg/mL 至 100 mg/mL；

其中該抗 Claudin18.2 抗體藥物偶聯物濃度為以蛋白濃度計 1 mg/mL 至 100 mg/mL；

其中該醫藥組成物的 pH 為 5.0-6.5；

其中該抗 Claudin18.2 抗體藥物偶聯物具有如通式(Pc-L-Y-D)所示的結構：



(Pc-L-Y-D)　　；

其中，

Y 選自-O-(CR^{a}R^b)m-CR^{1}R^2-C(O)-；

R^a和 R^b相同或不同，且各自獨立地選自氫原子、氘原子、鹵素、C_{1-6}烷基、C_{1-6}鹵烷基、C_{1-6}氘代烷基、C_{1-6}烷氧基、羥基、胺基、氰基、硝基、C_{1-6}羥烷基和 C_{3-7}環烷基；

或者，R^a和 R^b與其相連接的碳原子一起形成 C_{3-7}環烷基；

R^1選自鹵素、C_{1-6}鹵烷基、C_{1-6}氘代烷基、C_{3-7}環烷基、C_{3-7}環烷基 C_{1-6}烷基和 C_{1-6}烷氧基 C_{1-6}烷基；

R^2選自氫原子、鹵素、C_{1-6}鹵烷基、C_{1-6}氘代烷基、C_{3-7}環烷基、C_{3-7}環烷基 C_{1-6}烷基和 C_{1-6}烷氧基 C_{1-6}烷基；

或者，R^1和 R^2與其相連接的碳原子一起形成 C_{3-7}環烷基；

或者，R^a和 R^2與其相連接的碳原子一起形成 C_{3-7}環烷基；

m 為 0 至 4 的整數；

n 為 1 至 10，n 是小數或整數；

L 為接頭單元；

Pc 為抗 Claudin18.2 抗體。

【請求項2】 如請求項 1 所述的醫藥組成物，其中該表面活性劑濃度為 0.1 mg/mL 至 0.2 mg/mL。

【請求項3】 如請求項 1 所述的醫藥組成物，其中該蔗糖濃度為 40 mg/mL 至 80 mg/mL。

【請求項4】 如請求項 1 所述的醫藥組成物，其中該抗 Claudin18.2 抗體藥物偶聯物濃度為以蛋白濃度計 10 mg/mL 至 30 mg/mL。

【請求項5】 如請求項 1 所述的醫藥組成物，其中該緩衝劑的濃度為 10 mM 至 30 mM。

【請求項6】 如請求項 1 所述的醫藥組成物，其中該醫藥組成物的 pH 為 5.0-5.5。

【請求項7】 如請求項 1 所述的醫藥組成物，其中該醫藥組成物的 pH 為 5.0-5.3。

【請求項8】 如請求項 1 所述的醫藥組成物，其包含如下組分：

(a) 以蛋白濃度計 10 mg/mL 至 30 mg/mL 的所述抗 Claudin18.2 抗體藥物偶聯物，(b) 0.1 mg/mL 至 0.2 mg/mL 的聚山梨酯 80，(c) 40 mg/mL 至 80 mg/mL 的蔗糖，和 (d) 10 mM 至 30 mM 的組胺酸-醋酸鹽緩衝劑；該醫藥組成物的 pH 為 5.0-5.5。

【請求項9】 如請求項 1 所述的醫藥組成物，其中該醫藥組成物包含如下組分：

(a) 以蛋白濃度計 20 mg/mL 的該抗 Claudin18.2 抗體藥物偶聯物，(b) 0.2 mg/mL 的聚山梨酯 80，(c) 40 mg/mL 的蔗糖，和 (d) 30 mM 組胺酸-醋酸鹽緩衝劑，該醫藥組成物的 pH 為 5.0-5.3。

【請求項10】 如請求項 1 所述的醫藥組成物，其中該抗 Claudin18.2 抗體包含重鏈可變區和輕鏈可變區，其中該重鏈可變區如 SEQ ID NO：31 所示和該輕鏈可變區如 SEQ ID NO：29 所示。

【請求項11】 如請求項 1 所述的醫藥組成物，其中該抗 Claudin18.2 抗體包含：SEQ ID NO：49 所示的重鏈，和 SEQ ID NO：47 所示的輕鏈。

【請求項12】 一種醫藥組成物，其包含：

以蛋白濃度計 20 mg/mL 的抗 Claudin18.2 抗體藥物偶聯物、

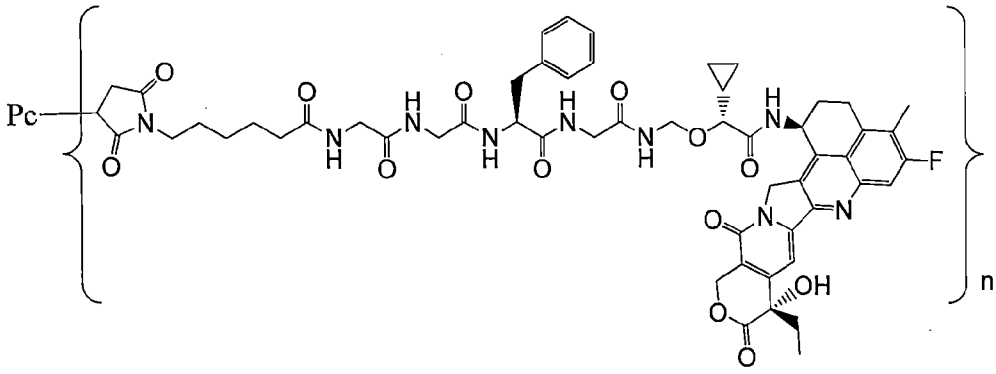
0.2 mg/mL 的聚山梨酯 80、

40 mg/mL 的蔗糖、和

30 mM 組胺酸-醋酸鹽緩衝劑；

該醫藥組成物的 pH 為 5.0 至 5.3；

該抗 Claudin18.2 抗體藥物偶聯物具有如下式所示的結構：



；

其中，

n 為 2 至 8，n 是小數或整數；

Pc 為抗 Claudin18.2 抗體，其包含如 SEQ ID NO：49 所示的重鏈，和如 SEQ ID NO：47 所示的輕鏈。

【請求項13】 一種含抗體藥物偶聯物的凍乾製劑，其特徵在於該製劑複溶後可形成如請求項 1 至 12 任一項所述的醫藥組成物。

【請求項14】 一種製備含抗體藥物偶聯物的凍乾製劑的方法，其中包括將如請求項 1 至 12 中任一項所述的醫藥組成物進行冷凍乾燥的步驟。

【請求項15】 一種含抗體藥物偶聯物的凍乾製劑，該製劑藉由將如請求項 1 至 12 中任一項所述的醫藥組成物經冷凍乾燥獲得。

【請求項16】 一種含抗體藥物偶聯物的複溶溶液，其特徵在於該複溶溶液是藉由將如請求項 13 或 15 所述的凍乾製劑經複溶製備獲得。

【請求項17】 如請求項 16 所述的複溶溶液，該複溶溶液包含如下組分：

其中(a) 以蛋白濃度計 10 mg/mL 至 30 mg/mL 的該抗 Claudin18.2 抗體藥物偶聯物，(b) 0.1 mg/mL 至 0.2 mg/mL 的聚山梨酯 80，(c) 40 mg/mL 至 80 mg/mL 的蔗糖，和 (d) 10 mM 至 30 mM 的組胺酸-醋酸鹽緩衝劑；該複溶溶液的 pH 為 5.0-5.5。

【請求項18】 如請求項 16 所述的複溶溶液，該複溶溶液包含如下組分：

其中(a) 以蛋白濃度計 20 mg/mL 的該抗 Claudin18.2 抗體藥物偶聯物，(b) 0.2 mg/mL 的聚山梨酯 80，(c) 40 mg/mL 的蔗糖，和 (d) 30 mM 組胺酸-醋酸鹽緩衝劑，該複溶溶液的 pH 為 5.0-5.3。

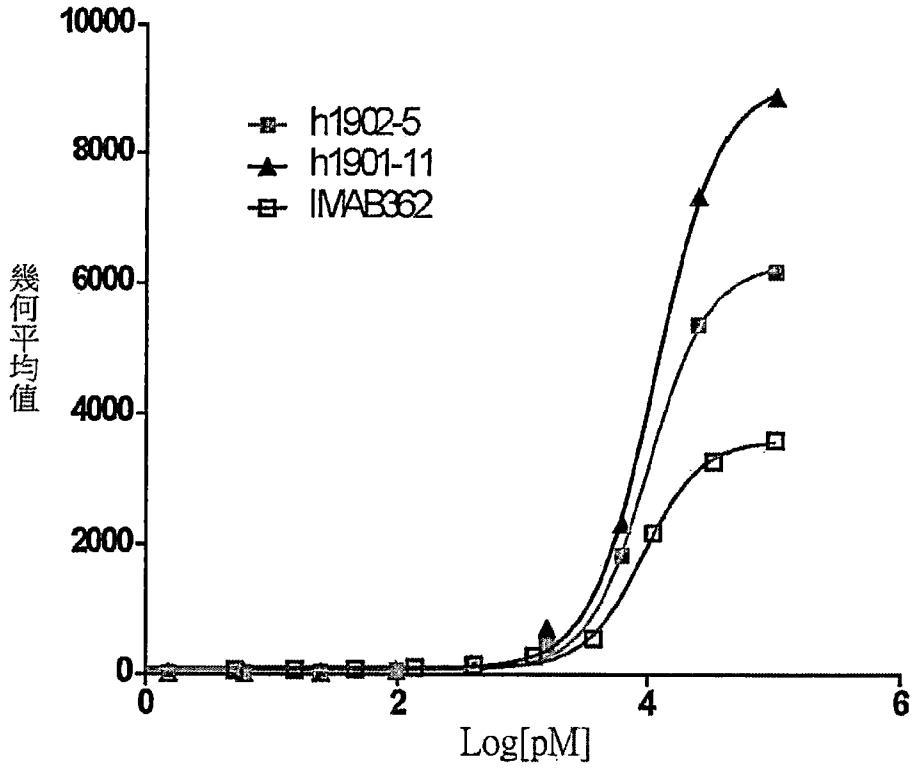
【請求項19】 一種製品，其包括容器，該容器中裝有如請求項 1 至 12 任一項所述的醫藥組成物、如請求項 13 或 15 所述的凍乾製劑或如請求項 16 至 18 任一項所述的複溶溶液。

【請求項20】 一種如請求項 1 至 12 任一項所述的醫藥組成物、或如請求項 13 或 15 所述的凍乾製劑、或如請求項 16 至 18 任一項所述的複溶溶液、或如請求項 19 所述製品於製備治療腫瘤或癌症的藥物的用途；

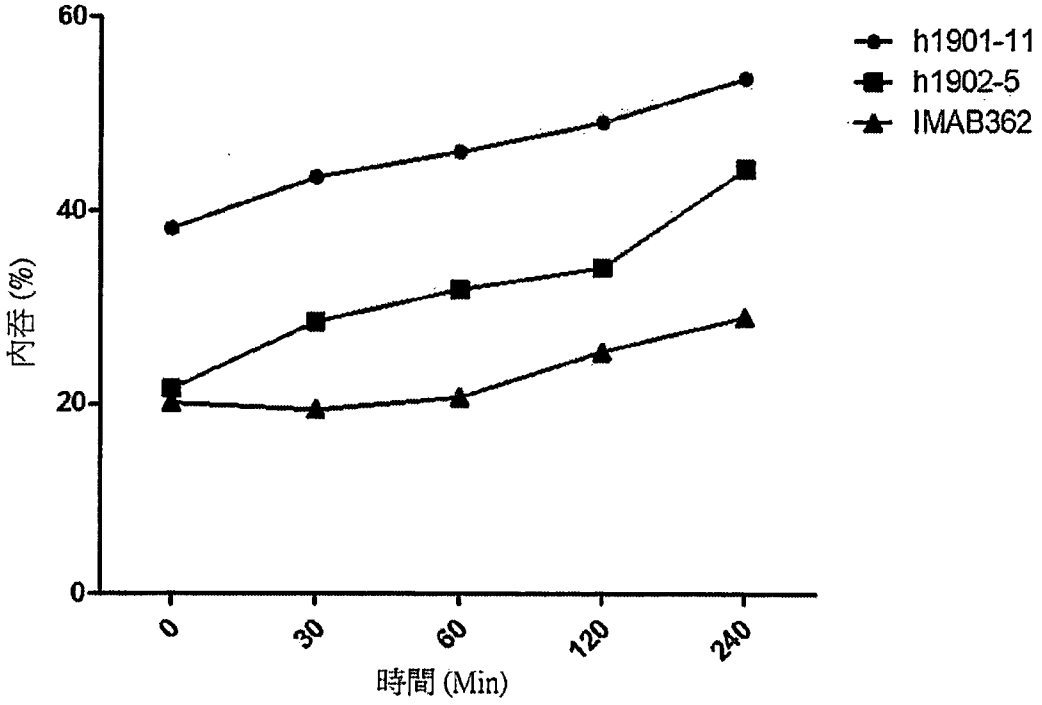
其中，該腫瘤或癌症選自：頭和頸鱗狀細胞癌、頭和頸癌、腦癌、神經膠質瘤、多形性成膠質細胞瘤、神經母細胞瘤、中樞神經系統癌、神經內分泌腫瘤、咽喉癌、鼻咽癌、食管癌、甲狀腺癌、惡性胸膜間皮瘤、肺癌、乳腺癌、肝癌、肝細胞瘤、肝膽癌、胰腺癌、胃癌、胃腸道癌、腸癌、結腸癌、結腸直腸癌、腎癌、透明細胞腎細胞癌、卵巢癌、子宮內膜癌、子宮頸癌、膀胱癌、前列腺癌、睾丸癌、皮膚癌、黑色素瘤、白血病、淋巴瘤、骨癌、軟骨肉瘤、骨髓瘤、多發性骨髓瘤、骨髓異常增生綜合症、庫肯勃氏瘤、骨髓增生性腫瘤、鱗狀細胞癌、尤因氏肉瘤、全身性輕鏈澱粉樣變性和梅克爾細胞癌；

該淋巴瘤選自：何杰金淋巴瘤、非何杰金淋巴瘤、瀰漫性大 B-細胞淋巴瘤、濾泡性淋巴瘤、原發性縱隔大 B-細胞淋巴瘤、套細胞淋巴瘤、小淋巴細胞性淋巴瘤、富含 T-細胞/組織細胞的大 B-細胞淋巴瘤和淋巴漿細胞性淋巴瘤；該肺癌選自：非小細胞肺癌和小細胞肺癌；該白血病選自：慢性髓細胞樣白血病、急性髓細胞樣白血病、淋巴細胞白血病、成淋巴細胞性白血病、急性成淋巴細胞性白血病、慢性淋巴細胞性白血病和髓樣細胞白血病。

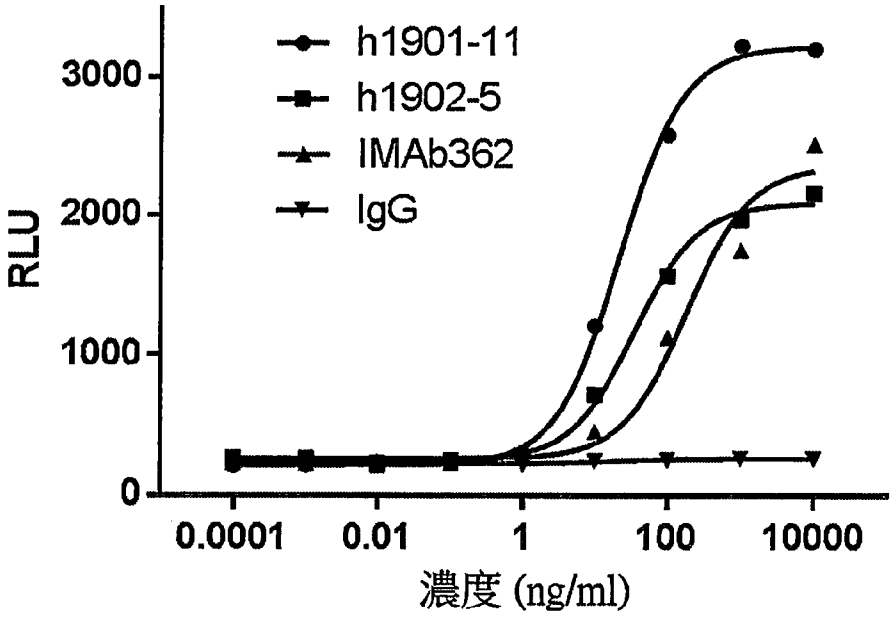
【發明圖式】


10000
8000
6000
4000
2000
0
幾何平均值
h1902-5
h1901-11
IMAB362
0
2
4
6
Log[pM]

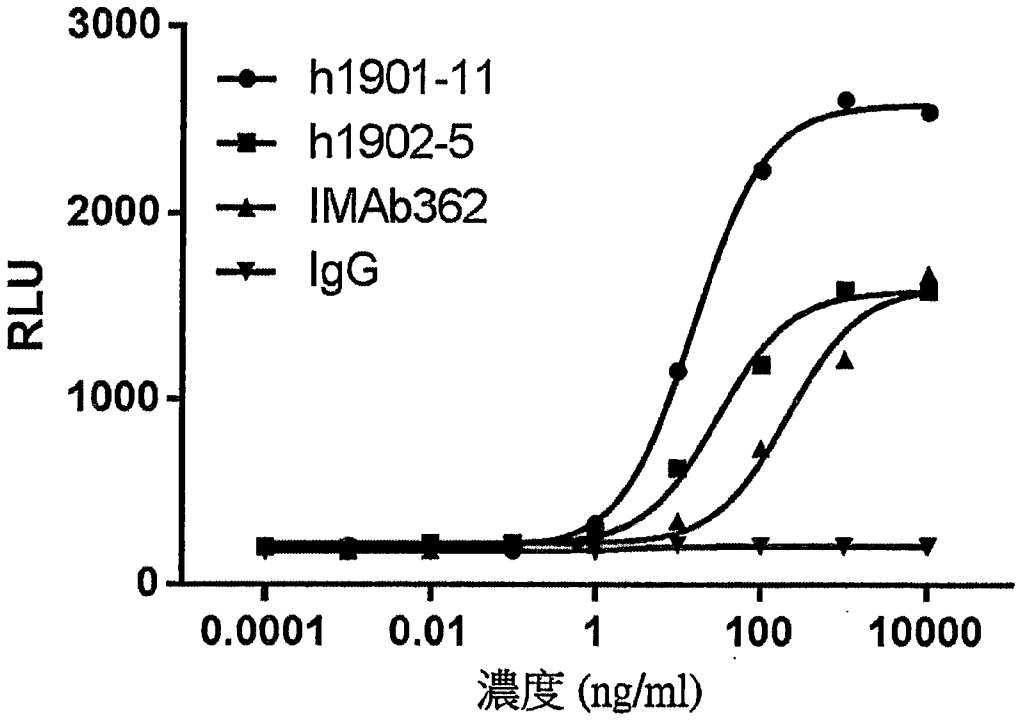
【圖1】


60
40
20
0
內吞 (%)
h1901-11
h1902-5
IMAB362
0
30
60
120
240
時間 (Min)

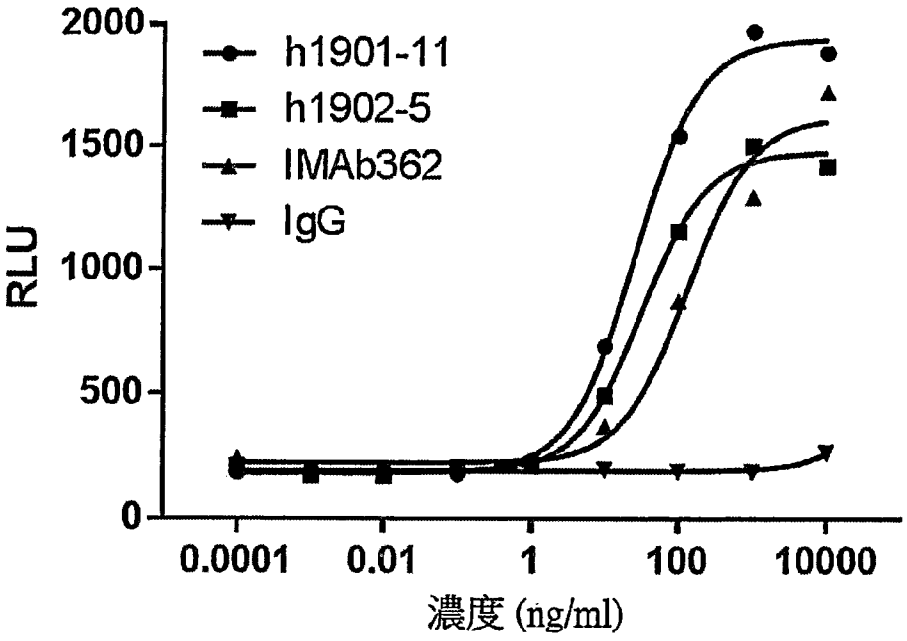
【圖2】


h1901-11
h1902-5
IMAb362
IgG
RLU
3000
2000
1000
0
0.0001
0.01
1
100
10000
濃度 (ng/ml)

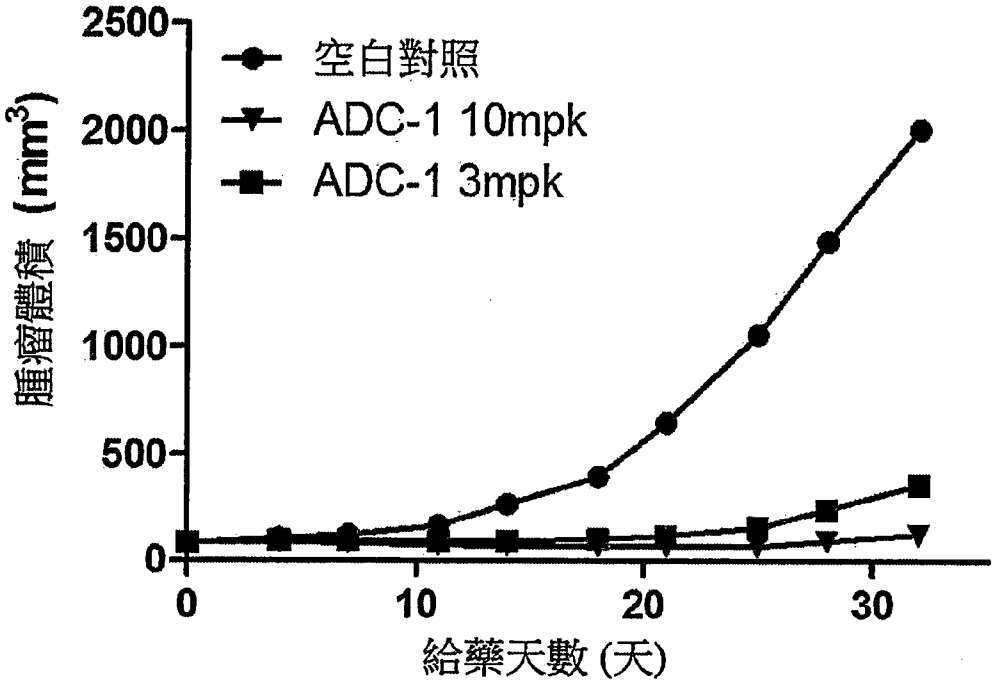
【圖3A】


h1901-11
h1902-5
IMAb362
IgG
RLU
3000
2000
1000
0
0.0001
0.01
1
100
10000
濃度 (ng/ml)

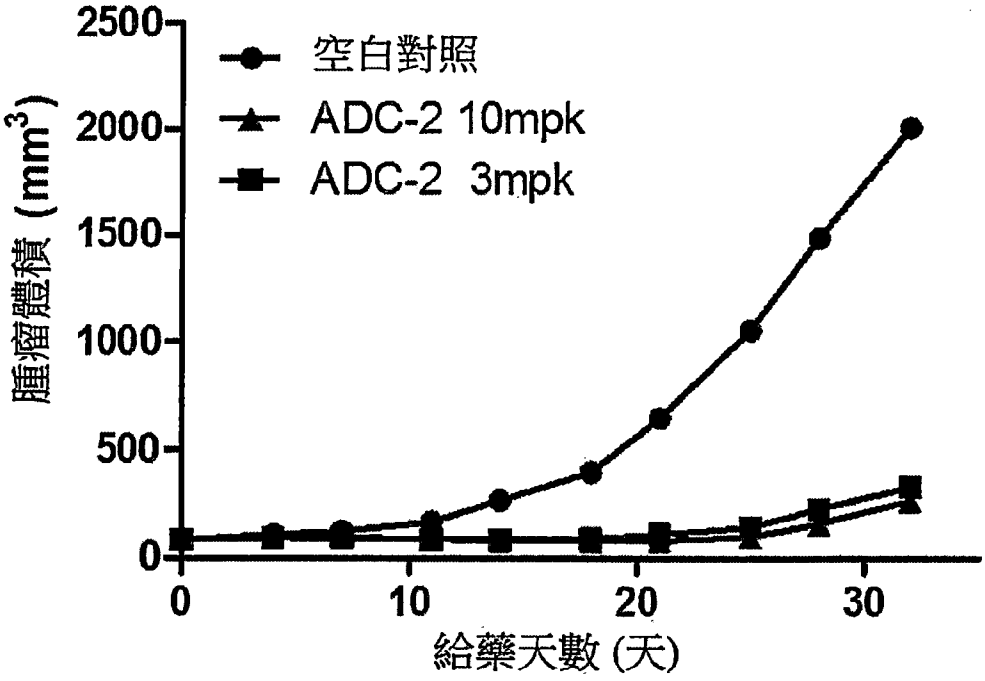
【圖3B】


2000
1500
1000
500
0
RLU
h1901-11
h1902-5
IMAb362
IgG
0.0001
0.01
1
100
10000
濃度 (ng/ml)

【圖3C】


2500
2000
1500
1000
500
0
腫瘤體積 (mm3)
空白對照
ADC-1 10mpk
ADC-1 3mpk
0
10
20
30
給藥天數 (天)

【圖4】


2500
2000
1500
1000
500
0
腫瘤體積 (mm3)
空白對照
ADC-2 10mpk
ADC-2 3mpk
0
10
20
30
給藥天數 (天)

【圖5】