

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2022年5月12日 (12.05.2022)



(10) 国际公布号
WO 2022/095698 A1

(51) 国际专利分类号:
C07K 16/28 (2006.01) *A61K 39/395* (2006.01)
C12N 15/13 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
C07K 1/00 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2021/124806

(22) 国际申请日: 2021年10月20日 (20.10.2021)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
202011221844.0 2020年11月5日 (05.11.2020) CN

(71) 申请人: 上海麦济生物技术有限公司
(SHANGHAIMABGEEKBIOTECH.CO., LTD.) [CN/
CN]; 中国上海市浦东新区哈雷路1011号304
室党尉, Shanghai 201203 (CN)。

(72) 发明人: 朱玲巧 (ZHU, Lingqiao); 中国上海市浦
东新区哈雷路1011号304室, Shanghai 201203
(CN)。 党尉 (DANG, Wei); 中国上海市浦东新
区哈雷路1011号304室, Shanghai 201203 (CN)。
张成海 (ZHANG, Chenghai); 中国上海市浦东新
区哈雷路1011号304室, Shanghai 201203 (CN)。
袁玉菁 (YUAN, Yujing); 中国上海市浦东新区
哈雷路1011号304室, Shanghai 201203 (CN)。 郭
锦林 (GUO, Jinlin); 中国上海市浦东新区哈雷
路1011号304室, Shanghai 201203 (CN)。 吴易
潘 (WU, Yipan); 中国上海市浦东新区哈雷路
1011号304室, Shanghai 201203 (CN)。 邹秋玲
(ZOU, Qiuling); 中国上海市浦东新区哈雷路
1011号304室, Shanghai 201203 (CN)。 李致科

(LI, Zhike); 中国上海市浦东新区哈雷路1011
号304室, Shanghai 201203 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家
保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG,
BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU,
CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB,
GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT,
JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK,
LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX,
MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL,
PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL,
ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US,
UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

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

本国际公布:

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

(54) Title: ANTI-HUMAN CD38 ANTIBODY, PREPARATION METHOD THEREFOR AND USE THEREOF

(54) 发明名称: 抗人CD38抗体及其制备方法和用途

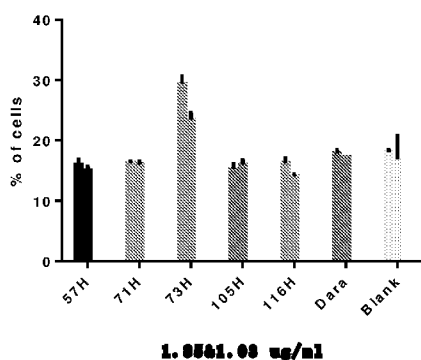


图2

(57) Abstract: Disclosed are an antibody capable of binding to human CD38, a preparation method therefor and an application thereof. The antibody of the present invention comprises anti-human CD38 antibodies having high, medium, and low affinities, can bind to crab-eating macaque CD38, and can kill tumor cells by means of a Fc-dependent immune effect mechanism. The antibody can be applied to treat CD38 related diseases such as multiple myeloma, non-Hodgkin lymphoma, AL amyloidosis, T-cell lymphoma, and diffuse large B-cell lymphoma.

(57) 摘要: 本发明公开了能够结合人CD38的抗体及其制备方法和应用。本发明的抗体具有高、中和低不同亲和力的抗人CD38抗体, 同时可以和食蟹猴的CD38结合, 其能够通过Fc依赖性免疫效应机制杀死肿瘤细胞。可应用于治疗CD38相关疾病, 例如多发性骨髓瘤、非霍奇金淋巴瘤、AL型淀粉样变性、T细胞淋巴瘤和弥漫性大B细胞淋巴瘤。

WO 2022/095698 A1

抗人 CD38 抗体及其制备方法和用途

技术领域

本发明涉及抗体领域，更具体地，本发明涉及抗人 CD38 的抗体及其制备方法和应用。

背景技术

CD38 是一个 46kDa 的二型跨膜糖蛋白，胞外段由 258 个氨基酸组成，CD38 的功能包括受体介导的粘附和信号传导及双功能体外酶活性促进胞内钙动员。在正常状态下，CD38 低水平表达在淋系和髓系细胞上，但在多发性骨髓瘤中，恶性肿瘤细胞特异性高表达 CD38，使 CD38 成为理想的骨髓瘤靶点。

多发性骨髓瘤是一类发生于 B 淋巴细胞的恶性浆细胞病。通常骨髓瘤细胞在骨髓内及骨骼海绵软组织内克隆性增生，引起溶骨性骨骼破坏，愈后不良多伴有贫血、肾衰竭和骨髓瘤细胞髓外浸润所导致的多种损害。中国多发性骨髓瘤的发病率已经超过急性白血病，是仅次于非霍奇金淋巴瘤之后居于第二位的血液系统恶性肿瘤。MM 在中国每年新发病例约 1.5~2 万例，患者的中位生存期约 4~5 年，中国患病人数大约 8-10 万例。随着老龄化社会的到来和环境的恶化等多种因素的影响，发现多发性骨髓瘤呈发病比率上升。

研究发现 CD38 单克隆抗体主要通过 Fc 依赖性免疫效应机制杀死肿瘤细胞，包括补体介导的细胞毒作用（CDC）、抗体介导的细胞毒作用（ADCC）、抗体介导的细胞吞噬作用（ADCP），以及通过细胞凋亡（apoptosis）。此外，CD38 抗体具有免疫调节作用：通过减少 CD38+免疫抑制、调节细胞及促进 T 细胞扩增和活性等免疫调节作用，对骨髓瘤细胞进行调控。

国际上针对 CD38 的抗体药物如强生的 Daratumumab 和赛诺菲的 Isatuximab 已上市，天境生物的 MOR202 在临床试验中。靶向 CD38 的抗体在多发性骨髓瘤治疗中相比于现行药物及在研的大分子、小分子药物均有非常显著的疗效优势，单药及联合用药均显示疗效优势，因此将能保持较好的竞争优势。

我国目前骨髓瘤的主要治疗方法是干细胞移植及杨森的万珂（硼替佐米）或 Celgene 的瑞复美（来那度胺）等联合用药方案治疗。近两年 FDA 批准了多个全新药物分子用于多发性骨髓瘤治疗，随着治疗新药的不断涌现，疗效得到提高、改善了预后，目前中位生存期为 7-8 年，正逐步将多发性骨髓瘤转为慢性病，客

观上也带动了多发性骨髓瘤治疗市场的增长。CD38 单抗的到来，为多发性骨髓瘤患者，特别是复发和难治性患者提供了新的选择。期待 CD38 抗体领域的研究能取得更多突破，造福更多患者。

发明内容

本发明的发明人进行了大量试验，得到了一组可以特异性结合细胞表面 CD38 的单克隆抗体，这些抗体同时可以和食蟹猴的 CD38 结合。获得了一系列具有高、中和低不同亲和力的抗人 CD38 抗体，其能够通过 Fc 依赖性免疫效应机制杀死肿瘤细胞。

第一方面，本申请提供了一种特异性结合人 CD38 的抗体或其抗原结合部分，其包含重链可变区，所述重链可变区包含 HCDR3 序列，任选地还包含 HCDR1 和/或 HCDR2 序列。在一些实施方案中，上述 HCDR3 序列包含选自 SEQ ID NOs: 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33, 36, 39, 42, 45 和 48 的氨基酸序列。在一些实施方案中，上述 HCDR2 序列包含选自 SEQ ID NOs: 2, 5, 8, 11, 14, 17, 20, 23, 26, 29, 32, 35, 38, 41, 44 和 47 的氨基酸序列。在一些实施方案中，上述 HCDR1 序列包含选自 SEQ ID NOs: 1, 4, 7, 10, 13, 16, 19, 22, 25, 28, 31, 34, 37, 40, 43 和 46 的氨基酸序列。

在一些实施方案中，上述重链可变区包含与选自 SEQ ID Nos: 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109 和 111 的氨基酸序列具有至少 80%同源性的氨基酸序列，或者所述重链可变区包含选自 SEQ ID NOs: 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109 和 111 的氨基酸序列。

在一些实施方案中，特异性结合人 CD38 的抗体或其抗原结合部分还包含轻链可变区，其中所述轻链可变区包含 LCDR1、LCDR2 和/或 LCDR3 序列。在某些实施方案中，所述 LCDR1 序列包含选自 SEQ ID NOs: 49, 52, 55, 58, 61, 64, 67, 70, 73, 76, 79, 82, 85, 88, 91 和 94 的氨基酸序列。在一些实施方案中，LCDR1 序列还包含选自 SEQ ID NO: 115 的氨基酸序列。在某些实施方案中，所述 LCDR2 序列包含选自 SEQ ID NOs: 50, 53, 56, 59, 62, 65, 68, 71, 74, 77, 80, 83, 86, 89, 92 和 95 的氨基酸序列。在一些实施方案中，LCDR2 序列还包含选自 SEQ ID NO: 116 的氨基酸序列。在某些实施方案中，所述 LCDR3 序列包含选自 SEQ ID NOs: 51, 54, 57, 60, 63, 66, 69, 72, 75, 78, 81, 84,

87, 90, 93 和 96 的氨基酸序列。在一些实施方案中, LCDR3 序列还包含选自 SEQ ID NO: 117 的氨基酸序列。

在一些实施方案中, 上述轻链可变区包含与选自 SEQ ID NOs: 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110 和 112 的氨基酸序列具有至少 80%同源性的氨基酸序列; 或者所述轻链可变区包含选自 SEQ ID NOs: 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110 和 112 的氨基酸序列。

在可选的实施方案中, 上述抗原结合部分选自 Fab 片段、Fab' 片段、F(ab')₂ 片段、Fv 片段、scFv 片段、Fd 片段和单域抗体。

在一些实施方案中, 第一方面所述的特异性结合人 CD38 的抗体为鼠源单克隆抗体。

在一些实施方案中, 第一方面所述的特异性结合人 CD38 的抗体为人源化抗体。

第二方面, 本申请提供了一种表达载体, 所述表达载体含有的核苷酸分子可编码如上所述的氨基酸序列。

在一些实施方案中, 所述表达载体为 pTT5、pUC57、pDR1、pcDNA3.1(+)、pDHFF 或 pCHO 1.0 等。

第三方面, 本申请提供了一种宿主细胞, 所述宿主细胞含有如上所述的表达载体。在一些实施方案中, 所述宿主细胞为 HEK293、COS、CHO、NS0、sf9、sf21、DH5 α 、BL21 (DE3) 或 TG1 等。

第四方面, 本申请提供了一种制备第一方面所述的特异性结合人 CD38 的抗体或其抗原结合部分的方法, 所述方法包括以下步骤:

a) 在使得第三方面所述的宿主细胞能够产生所述抗体或其抗原结合部分的表达条件下, 培养所述的宿主细胞, 从而表达所述抗体或其抗原结合部分; 以及
b) 分离并纯化 a) 表达的所述抗体或其抗原结合部分。

第五方面, 本申请提供了一种药物组合物, 所述组合物包含第一方面所述的抗人 CD38 抗体或其抗原结合部分以及药学上可接受的载体。

在一些实施方案中, 所述组合物用于治疗人 CD38 相关的疾病。

在一些实施方案中, 所述 CD38 相关疾病包括多发性骨髓瘤、非霍奇金淋巴瘤、AL 型淀粉样变性、T 细胞淋巴瘤、弥漫性大 B 细胞淋巴瘤、慢性淋巴细胞白血病、急性淋巴细胞白血病、浆细胞性白血病、急性髓性白血病、非小细胞肺癌、

胰腺癌、结直肠癌和三阴乳腺癌等。

在其他方面，本申请提供了预防或治疗人 CD38 相关疾病的方法，包括给予有需要的个体第一方面所述的抗体或其抗原结合部分、或第五方面所述的药物组合物。

本发明的抗人 CD38 抗体或其抗原结合部分能够特异性与人 CD38 结合，具有高、中和低不同亲和力的抗人 CD38 抗体，其能够通过 Fc 依赖性免疫效应机制杀死肿瘤细胞。本发明的抗人 CD38 抗体或其抗原结合部分可以用于预防或治疗 CD38 相关的疾病，例如多发性骨髓瘤、非霍奇金淋巴瘤、AL 型淀粉样变性、T 细胞淋巴瘤和弥漫性大 B 细胞淋巴瘤等。

附图说明

图 1 为人源化 CD38 单克隆抗体与 Daudi 细胞结合的实验结果

图 2 为人源化 CD38 抗体诱导 Daudi 淋巴瘤细胞凋亡的实验结果

图 3 为人源化 CD38 抗体抗 Fc 交联诱导 Daudi 淋巴瘤细胞凋亡的实验结果

具体实施方式

本申请提供了特异性结合于人 CD38 的新的抗 CD38 抗体或其抗原结合部分。在优选实施方案中，本申请的抗体或其抗原结合部分具有高、中和低不同亲和力结合 CD38 的活性，同时可以结合食蟹猴 CD38。本申请还提供了该抗体或其抗原结合片段的氨基酸、包含所述氨基酸的载体、包含所述氨基酸或载体的宿主细胞、制备和纯化该抗体的方法以及所述抗体或其抗原结合片段的医学和生物学应用，例如预防或治疗 CD38 相关疾病或病症。

为容易地理解本申请，首先定义本文中使用的某些术语。

本文所用术语“抗体”指包含四条多肽链，即通过双硫键互连的两条重链(H)链及两条轻链(L)的免疫球蛋白分子，及其多聚体(例如 IgM)。各重链包含重链可变区(缩写为 VH)及重链恒定区(缩写为 CH)。重链恒定区包含三个域，即 CH1、CH2 及 CH3。各轻链包含轻链可变区(缩写为 VL)及轻链恒定区(缩写为 CL)。轻链恒定区包含一个域(CL1)。VH 及 VL 区可进一步细分称为互补决定区(CDR)的高变区，其中穿插有称为构架区(FR)的保守区。

如本文所用，术语抗体的“抗原结合部分”是指负责结合抗原的完整抗体分子的一部分或区段。抗原结合域可以包含重链可变区(VH)、轻链可变区(VL)或上述两者。抗体的抗原结合片段可使用任何适合的标准技术从完整抗体分子制备，

所述标准技术包括蛋白水解消化或重组遗传工程化技术等。抗原结合部分的非限制性实例包括：Fab 片段；F(ab')₂ 片段；Fd 片段；Fv 片段；单链 Fv (scFv) 分子；单域抗体；dAb 片段及由模拟抗体高变区的氨基酸残基组成的最小识别单元（例如分离的 CDR）。术语“抗原结合部分”也包括其它工程化的分子，如双抗体、三抗体、四抗体及微型抗体等。

如本文所用，术语“重链可变区 (VH)”及“轻链可变区 (VL)”分别指单一抗体可变重链及轻链区，其包含 FR1、2、3 及 4 及 CDR 1、2 及 3。

本领域技术人员公知，互补决定区 (CDR，通常有 CDR1、CDR2 及 CDR3) 是可变区中对抗体的亲和力和特异性影响最大的区域。VH 或 VL 的 CDR 序列有两种常见的定义方式，即 kabat 定义和 Chothia 定义，例如参见 Kabat et al, “Sequences of Proteins of Immunological Interest”, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991); Al-Lazikani et al., J. Mol. Biol. 273:927-948 (1997); 以及 Martin et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:9268-9272 (1989)。对于给定抗体的可变区序列，可以根据 Kabat 定义或者 Chothia 定义来确定 VH 和 VL 序列中 CDR 区序列。在本申请的实施方案中，利用 Kabat 定义 CDR 序列。在本文中，重链可变区的 CDR1、CDR2 及 CDR3 分别简称为 HCDR1、HCDR2 及 HCDR3；轻链可变区的 CDR1、CDR2 及 CDR3 分别简称为 LCDR1、LCDR2 及 LCDR3。

对于给定抗体的可变区序列，可以通过多种方式分析可变区序列中 CDR 区序列，例如可以利用在线软件 Abysis 确定 (<http://www.abysis.org/>)。

如本文所用术语“特异性结合”，是指两个分子之间的非随机结合反应，例如抗体至抗原表位的结合，例如抗体以比其对非特异性抗原的亲和性大至少两倍的亲和性结合于特异性抗原的能力。然而应了解，抗体能够特异性结合于两种或更多其序列相关的抗原。例如，本发明的抗体可特异性结合于人类与非人类（例如小鼠或非人类灵长动物）的 CD38。

本文所用术语“单克隆抗体”指由基本同质的抗体群体获得的抗体，即，除了可能在少量个体中存在自然发生的突变以外，组成群体的各个抗体是相同的。本文所述单克隆抗体特别包括“嵌合”抗体，其中重链和/或轻链的一部分与来源于具体物种或属于具体抗体类或亚类的抗体中的对应序列相同或同源，而重链和/或轻链的余下部分与来源于另一物种或属于另一抗体类或亚类的抗体中的对

应序列相同或同源，并且还包括这样的抗体的片段，只要它们能表现出所期望的生物学活性(参见,美国专利号 4,816,567;和Morrison *et al*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6851-6855 (1984))。

如本文所用，术语“同源性”被定义为经过序列比对和引入空位后，氨基酸或核苷酸序列变体中相同的残基的百分比，如果需要，达到最大百分比的同源性。用于比对的方法和计算机程序在本领域内是公知的。本文所述的“至少 80%同源性”是指同源性为 80%至 100%中的任一值，例如 85%、90%、95%、99%等。

如本文所用，术语“CD38 相关疾病”包括多发性骨髓瘤、非霍奇金淋巴瘤、AL 型淀粉样变性、T 细胞淋巴瘤和弥漫性大 B 细胞淋巴瘤等。

一方面，本申请提供了特异性结合 CD38 的抗体或其抗原结合部分，其包含重链可变区和/或轻链可变区。表 1-3 中示例性列出了适用于本申请公开的抗体的 CDR、重链和轻链可变区氨基酸序列。

在具体的实施方案中，HCDR3 选自 SEQ ID NOs: 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33, 36, 39, 42, 45 和 48 所示的氨基酸序列。在另一具体的实施方案中，HCDR3 选自 SEQ ID NOs: 3, 9, 18, 21, 27, 33, 36 和 45 所示的氨基酸序列。在优选的实施方案中，HCDR3 选自 9, 18, 21, 27, 33, 36 和 45 所示的氨基酸序列。

在具体的实施方案中，HCDR2 选自 SEQ ID NOs: 2, 5, 8, 11, 14, 17, 20, 23, 26, 29, 32, 35, 38, 41, 44 和 47 所示的氨基酸序列。在另一具体的实施方案中，HCDR2 选自 SEQ ID NOs: 2, 8, 17, 20, 26, 32, 35 和 44 所示的氨基酸序列。在优选的实施方案中，HCDR2 选自 8, 17, 20, 26, 32, 35 和 44 所示的氨基酸序列。

在具体的实施方案中，HCDR1 选自 SEQ ID NOs: 1, 4, 7, 10, 13, 16, 19, 22, 25, 28, 31, 34, 37, 40, 43 和 46 所示的氨基酸序列。在另一具体的实施方案中，HCDR1 选自 SEQ ID NOs: 1, 7, 16, 19, 25, 31, 34 和 43 所示的氨基酸序列。在优选的实施方案中，HCDR1 选自 7, 16, 19, 25, 31, 34 和 43 所示的氨基酸序列。

在一些实施方案中，本文公开的抗体重链可变区包含选自 SEQ ID NOs: 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109 和 111 的氨基酸序列。在具体的实施方案中，所述重链可变区由选自 SEQ ID NOs: 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109 和 111

的氨基酸序列组成。

本文公开的抗体或其抗原结合部分在包含重链可变区的基础上还可以进一步包含轻链可变区。

在一些实施方案中，所述轻链可变区的 CDR3 (LCDR3) 选自 SEQ ID NOs: 51, 54, 57, 60, 63, 66, 69, 72, 75, 78, 81, 84, 87, 90, 93, 96 和 117 所示的氨基酸序列。在另一具体的实施方案中 LCDR3 选自 SEQ ID NOs: 51, 57, 66, 69, 75, 81, 84 和 117 所示的氨基酸序列。在优选的实施方案中，LCDR3 选自 SEQ ID NOs: 57, 66, 69, 75, 81, 84 和 117 所示的氨基酸序列。

在一些实施方案中，LCDR2 选自 SEQ ID NOs: 50, 53, 56, 59, 62, 65, 68, 71, 74, 77, 80, 83, 86, 89, 92, 95 和 116 所示的氨基酸序列，或者选自 SEQ ID NOs: 50, 65, 68, 74, 80, 83, 92 和 116 所示的氨基酸序列。在优选的实施方案中，LCDR2 选自 SEQ ID NOs: 65, 68, 74, 80, 83, 92 和 116 所示的氨基酸序列。

在一些实施方案中，LCDR1 选自 SEQ ID NOs: 49, 52, 55, 58, 61, 64, 67, 70, 73, 76, 79, 82, 85, 88, 91, 94 和 115 的氨基酸序列，或者选自 SEQ ID NOs: 55, 64, 67, 73, 79, 82, 91 和 115 的氨基酸序列。在优选的实施方案中，LCDR1 选自 SEQ ID NOs: 55, 64, 67, 73, 79, 82 和 91 所示的氨基酸序列。

在一些实施方案中，本文公开的抗体轻链可变区包含选自 SEQ ID NOs: 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110 和 112 的氨基酸序列。在具体的实施方案中，所述轻链可变区由选自 SEQ ID NOs: 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110 和 112 的氨基酸序列组成。

在一些实施方案中，本文公开的抗体的重链或重链可变区、轻链或轻链可变区可以在上述所列举的各自对应的具体氨基酸序列的基础上取代、缺失或添加至少一个氨基酸，且得到的变体仍然保持结合人 CD38 的活性。

在某些实施方案中，上述氨基酸取代、缺失或添加的数目为 1-30 个，优选为 1-20 个，更优选为 1-10 个。在优选的实施方案中，序列变体与原氨基酸序列相差约 1、2、3、4、5、6、7、8、9、或 10 个氨基酸的取代、缺失和/或添加。在更优选的实施方案中，序列变体与原氨基酸序列相差约 1、2、3、4 或 5 个氨基酸的取代、缺失或添加。在具体的实施方案中，所述氨基酸取代为保守性取代。

在优选的实施方案中，本文公开的抗体为抗体 57H、105H、116H、或 145H，

其中抗体 57H 的重链可变区序列如 SEQ ID NO: 99 所示, 轻链可变区序列如 SEQ ID NO: 100 所示, 其中 LCDR2 优选为 SEQ ID NO: 116 所示, 其余 CDR 序列与鼠源抗体 57 的相同; 抗体 105H 的重链可变区序列如 SEQ ID NO: 107 所示, 轻链可变区序列如 SEQ ID NO: 108 所示, 其中 CDR 序列与鼠源抗体 105 相同; 抗体 116H 的重链可变区序列如 SEQ ID NO: 109 所示, 轻链可变区序列如 SEQ ID NO: 110 所示, 其中 CDR 序列与鼠源抗体 116 相同; 抗体 145H 的重链可变区序列如 SEQ ID NO: 111 所示, 轻链可变区序列如 SEQ ID NO: 112 所示, 其中 LCDR3 优选为 SEQ ID NO: 117 所示, 其余 CDR 序列与鼠源抗体 145 的相同。

在一些实施方案中, 本文公开的抗体为单克隆抗体。在具体的实施方案中, 本文公开的抗体为人源化的抗体。

本文公开的抗体或其抗原结合部分能够特异性结合人 CD38。在具体的实施方案中, 所述抗体或其抗原结合部分特异性结合人 CD38 或食蟹猴 CD38。在优选的实施方案中, 所述抗体或其抗原结合部分特异性结合人 CD38。

在一些实施方案中, 任何合适的表达载体都可以用于本申请。例如, 所述表达载体可以为 pTT5、pUC57、pDR1、pcDNA3.1(+)、pDHFF 及 pCHO 1.0 中的一种。表达载体中可以包括连接有合适的转录和翻译调节序列的融合 DNA 序列。

在一些实施方案中, 可用的宿主细胞为含有上述表达载体的细胞, 可以是真核细胞, 如哺乳动物或昆虫宿主细胞培养系统均可用于本申请的抗体或其抗原结合部分的表达。例如, HEK293 细胞、COS、CHO、NS0、sf9 及 sf21 等均可适用于本发明。所述宿主细胞也可以为含有上述表达载体的原核细胞, 例如可以为 DH5 α 、BL21(DE3) 或 TG1 等。

在一些实施方案中, 本文公开的抗人 CD38 单克隆抗体的制备方法包括: 在适合的表达条件下, 培养宿主细胞, 从而表达抗人 CD38 单克隆抗体; 分离和纯化表达的抗人 CD38 单克隆抗体。利用上述方法, 可以将重组蛋白纯化为基本均一的物质, 例如在 SDS-PAGE 电泳上为单一条带。

在一些实施方案中, 可以利用亲和层析的方法对本文公开的抗人 CD38 抗体进行分离纯化, 根据所利用的亲和柱的特性, 可以使用常规的方法例如高盐缓冲液、改变 PH 等方法洗脱结合在亲和柱上的抗人 CD38 抗体。

在一些实施方案中, 本文公开的人源化的抗人 CD38 单克隆抗体是通过以下方法得到的: 利用实验室制备的人 CD38 抗原免疫 Balb/c 小鼠, 在多次免疫小鼠

滴度较高后取小鼠脾细胞与杂交瘤细胞融合并筛选出具有不同亲和力的杂交瘤细胞株。更具体地，本申请的发明人通过大量实验，首先分别表达了人 CD38 抗原，在此基础上利用不同的佐剂与人 CD38 抗原混合免疫小鼠，然后进一步将上述小鼠的脾细胞与杂交瘤细胞株 sp2/0 融合，融合后的杂交瘤利用人 CD38 抗原筛选出阳性细胞株，在验证其对人 CD38 结合和与 Daudi 细胞的结合后获得目标细胞株。将目标分子进行人源化改造后，将轻链和重链基因同时克隆到真核表达载体 pCHO1.0 中。将上述表达载体通过脂质体法转染 CHO 细胞，然后用嘌呤霉素和甲胺蝶呤筛选阳性细胞克隆，将筛选得到的高表达克隆用无血清培养基扩大培养，用 Protein A 亲和柱分离或纯化人源化的抗人 CD38 抗原单克隆抗体。

在另外一些实施方案中，可以使用本领域的常规技术，例如 PCR 诱变进一步改变鼠源的亲本抗体来产生抗体的嵌合或人源化形式或其他变异形式。本申请的亲本抗体可以在例如抗原互补决定区（CDR）结构域内被突变来产生变异抗体，可筛选其目的性质的存在，例如结合亲和力（更低的 KD）、IC50、特异性、优先结合等等。优选地，变异抗体中目的性质是相对于亲本抗体中性质的改善。优选氨基酸替代变异抗体，并且亲本抗体分子的至少 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 个氨基酸残基被去除且在它的位置上插入不同的残基。用于替代诱变的最感兴趣的位点是一个或更多个 CDR 区，但是也考虑框架区（FR）改变。优选保守的氨基酸替代，也可引入非保守氨基酸改变并用获得的变异抗体筛选目的性质。

本申请提供了药物组合物，其包含本文公开的抗体或其抗原结合部分以及药学上可接受的载体。本文公开的上述抗人 CD38 单克隆抗体，可以和药学上可接受的载体一起配制成药物制剂，从而更稳定地发挥疗效。在一些实施方案中，这些制剂可以保证本文公开的抗人 CD38 单克隆抗体的氨基酸核心序列构象的完整性，同时还保护蛋白质的多官能团防止其降解（包括但不限于凝聚、脱酰胺或氧化）。在一些实施方案中，对于液体制剂，通常可以在 2° C-8° C 条件下保存至少稳定一年。在一些实施方案中，对于冻干制剂，在 30° C 下至少六个月保持稳定。

在一些实施方案中，所述抗人 CD38 抗体单克隆抗体制剂可为制药领域常用的混悬、水针、冻干等制剂，优选水针或冻干制剂，对于本文公开的抗人 CD38 单克隆抗体的水针或冻干制剂，药学上可以接受的辅料包括但不限于：表面活性剂、溶液稳定剂、等渗调节剂和缓冲液或其组合。在一些实施方案中，表面活性

剂包括但不限于：非离子型表面活性剂如聚氧乙烯山梨醇脂肪酸酯（吐温 20 或 80），泊洛沙姆（如泊洛沙姆 188），Triton，十二烷基硫酸钠（SDS），月桂硫酸钠，十四烷基、亚油基或十八烷基肌氨酸，Pluronics，MONAQUATM 等，其加入量应使抗人 CD38 单克隆抗体的颗粒化趋势最小。在一些实施方案中，溶液稳定剂包括但不限于以下列举的一种或其组合：糖类，例如还原性糖和非还原性糖；氨基酸类，例如谷氨酸单钠或组氨酸；醇类，例如三元醇、高级糖醇、丙二醇、聚乙二醇等。溶液稳定剂的加入量应该使最后形成的制剂在本领域的技术人员认为达到稳定的时间内保持稳定状态。等渗调节剂包括但不限于氯化钠、甘露醇或其组合。缓冲液包括但不限于：Tris、组氨酸缓冲液、磷酸盐缓冲液或其组合。

本申请还提供了预防或治疗 CD38 相关疾病的方法，其包括给予个体抗人 CD38 抗体、或者包含抗人 CD38 抗体的组合物。具体地说，本文公开的抗人 CD38 抗体能够有效地预防和/或治疗 CD38 相关疾病。

在一些实施方案中，所述 CD38 相关疾病包括多发性骨髓瘤、非霍奇金淋巴瘤、AL 型淀粉样变性、T 细胞淋巴瘤、弥漫性大 B 细胞淋巴瘤、慢性淋巴细胞白血病、急性淋巴细胞白血病、浆细胞性白血病、急性髓性白血病、非小细胞肺癌、胰腺癌、结直肠癌和三阴乳腺癌等。

本文公开的抗人 CD38 单克隆抗体及其组合物在对包括人在内的动物给药时，给药剂量因病人的年龄和体重、疾病特性和严重性以及给药途径而异，可以参考动物实验的结果和综合情况，总给药量不能超过一定范围。

抗体或其组合物的施用剂量和频率可根据对疾病进行预防或治疗而变化。在预防性应用中，向尚未处于疾病状态的患者施用含有本申请的抗体或其混合物的组合物以增强患者抵抗力，此量定义为“预防性有效剂量”。在此用途中，具体的剂量又视患者健康状况及全身免疫性而定。通常以相对不频繁的间隔施用相对较低剂量较长时间。在治疗性应用中，有时需要以相对较短间隔施用相对较高剂量直至疾病进展减缓或终止为止，且优选直至患者显示疾病症状部分或完全改善为止。此后，可向患者施用预防性方案。本领域普通技术人员可以容易地根据实际需要掌握具体的剂量和频率。

本说明书和权利要求书中，词语“包括”、“包含”和“含有”意指“包括但不限于”，且并非意图排除其他部分、添加物、组分、或步骤。

应该理解，在本申请的特定方面、实施方案或实施例中所描述的特征、特性、

组分或步骤，可适用于本文所描述的任何其他的方面、实施方案或实施例，除非与之矛盾。

上述公开内容总体上描述了本发明。以下具体的实施例是对本发明作进一步的说明，不应理解为对本发明的限制。实施例不包括对传统常规方法的详细描述，这样的方法对于本领域具有普通技术的人员是众所周知的，并且在许多出版物中都有所描述，例如分子克隆手册、冷泉港的抗体技术实验手册。未注明试剂来源的为常规试剂。

具体实施例

实施例 1 人 CD38 胞外段的 Fc 标签和 Flag 标签抗原、食蟹猴 CD38 胞外段 Flag 标签蛋白、参比抗体 Daratumumab 的制备

人CD38抗原序列购买于义翘神州（货号：HG10818-M）。通过PCR法将人CD38 N端第43-300位氨基酸片段分别与hFc片段和Flag标签（DYKDDDDK）进行拼接，hFc片段和Flag标签位于C端，并构建至pTT5表达载体（实验室保存）上，获得pTT5(hCD38-ECD-hFc)和pTT5(hCD38-ECD-Flag)，选取测序结果完全正确的克隆进行质粒抽提后转染。

食蟹猴CD38序列购买于义翘神州（货号：CG90050-G）。通过PCR法将其N端第44-301位氨基酸片段与Flag标签（DYKDDDDK）进行拼接，Flag标签位于C端，并构建至pTT5表达载体（实验室保存）上，获得pTT5(cyno-CD38-ECD-Flag)，选取测序结果完全正确的克隆进行质粒抽提后转染。

Daratumumab的氨基酸序列来自IMGT，经过密码子优化后全基因合成重链、轻链的可变区核苷酸序列。通过PCR法将Daratumumab重链的可变区与IgG1的恒定区连接；Daratumumab轻链可变区与Kappa链的恒定区连接。然后将这些片段克隆至pTT5表达载体，测序验证确认后进行质粒抽提以备转染。

通过PEI法将质粒转染至HEK293E细胞系(实验室保存)。利用含3mM的丙戊酸的Freestyle293培养基(购自Gibco公司)培养5天后，利用Protein A亲和层析(购自Pharmacia公司)或Flag亲和层析(购自Genscript公司)从细胞培养上清中纯化目的蛋白。蛋白的定量通过二喹啉甲酸（Bicinchoninic acid, BCA）方法进行，纯化得到的蛋白用于以下的进一步分析与研究。纯化得到的蛋白用于以下的小鼠

免疫及进一步分析与研究。

实施例2 hCD38-ECD-hFc的免疫

将100 μ g/鼠的hCD38-ECD-hFc抗原用生理盐水稀释成75 μ l后，与等体积的弗氏完全佐剂混合，并经超声乳化完全后对4-5周龄的Balb/c小鼠(购自上海灵畅生物科技有限公司，动物生产许可证号：SCXK(沪)2013-0018)进行皮下多点注射。三周后，将50 μ g/鼠的蛋白同样稀释成75 μ l后与等体积弗氏不完全佐剂混合，超声乳化完全后对小鼠进行皮下多点注射，两周后再次重复此免疫。所有小鼠在第三次免疫后一周剪尾取血分离血清，利用包被hCD38-ECD-hFc抗原的ELISA进行血清滴度的检测。对于血清抗体效价>10000的小鼠，在取血后一周进行冲击免疫：尾静脉注射10 μ g抗原/100 μ l生理盐水/鼠。

滴度的检测通过ELISA方法进行：利用hCD38-ECD-hFc抗原包被ELISA板，包被浓度为1 μ g/ml，每孔100 μ l，4 $^{\circ}$ C包被过夜。PBST(含0.5% Tween-20的PBS)洗板2次后拍干。每孔加入含1% BSA的包被液封闭200 μ l，常温下封闭4小时后拍干，至-20 $^{\circ}$ C冰箱中保存待用。检测时在ELISA板中每孔加入不同浓度的小鼠血清100 μ l，设2个复孔，室温孵育1.5小时。PBST洗涤3次后拍干。加入用PBST1:10000倍稀释的HRP标记的兔抗鼠Ig抗体(购自Sigma公司)100 μ l，室温孵育1小时。PBST洗涤3次后拍干。每孔加100 μ l显色液(临用前将ELISA显色A液与显色B液按照1:1的体积比混匀)显色，随后每孔加入100 μ l 2M H₂SO₄终止液终止反应。立即用酶标仪(Molecular Device)在450nm波长处测量各孔OD值。

实施例3 杂交瘤融合和筛选

杂交瘤 sp2/0 细胞(来自中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库，保藏号为TCM-18)在37 $^{\circ}$ C、5% CO₂培养箱中培养，融合前一天换液。小鼠冲击免疫三天后取小鼠脾细胞进行融合。融合与筛选方法如下：取小鼠脾脏，研磨洗涤后进行脾细胞计数。将脾细胞和 sp2/0 细胞以10:1的比例混合，1500rpm离心7分钟。洗去上清液。1分钟内加入1ml PEG(1450)，轻摇90秒，在2.5分钟内加入无血清DMEM培养液(购自Gibco公司)5ml，再一次性加5ml无血清培养液终止反应，静置5分钟，1280rpm离心8分钟。按照一块96孔板两百万个sp2/0细胞的数量，将细胞均匀接种入96孔板，每孔200 μ l。先用含次黄嘌呤(hypoxanthine，

H)、甲胺蝶呤 (aminopterin, A) 和胸腺嘧啶核苷 (thymidine, T) 的 HAT 培养基筛选, 每 3~4 天半量换液, 第 10 天改用 HT 培养基。10 天后, 待杂交瘤细胞铺满 96 孔板底部大于 10% 时, 取上清用 hCD38-ECD-hFc 抗原包被的酶标板进行 ELISA 检测。ELISA 检测方法如实施例 2 中所述方法相同。挑选出阳性杂交瘤克隆于 24 孔板中扩大培养, 有限稀释法进行亚克隆, 获得稳定表达目的抗体的杂交瘤株后进行保种建库。

实施例 4 鼠源的抗人 CD38 单克隆抗体序列的测定

亲和力较高的阳性孔经过 2~3 轮的亚克隆最后得到了 150 株杂交瘤株。对这些杂交瘤细胞株进行抗体序列调取。使用 Trizol 提取各杂交瘤细胞株的总 RNA, 用逆转录试剂盒 (购自 ABI 公司) 将 mRNA 逆转录成 cDNA。以文献报道的引物通过 PCR 扩增鼠源的抗人 CD38 单克隆抗体的轻链可变区和重链可变区基因, 然后将 PCR 产物克隆入 pGEM-T 载体, 测序并分析可变区基因序列。在 GenBank 中对获得的序列进行比对分析, 所有序列均符合小鼠 IgG 可变区基因的特征。表 1 和表 2 列举了优选抗体的 CDR 区域的氨基酸序列。

表 1: 示例性鼠源抗人 CD38 抗体的重链 CDR 氨基酸序列

抗体编号	HCDR1 对应的序列号 (SEQ ID NO.)	HCDR2 对应的序列号 (SEQ ID NO.)	HCDR3 对应的序列号 (SEQ ID NO.)
1	1	2	3
30	4	5	6
57	7	8	9
63	10	11	12
64	13	14	15
71	16	17	18
73	19	20	21
77	22	23	24
78	25	26	27
84	28	29	30
105	31	32	33
116	34	35	36
119	37	38	39
132	40	41	42
145	43	44	45
148	46	47	48

实施例 5 抗人 CD38 单克隆抗体的人源化

根据序列分析结果，挑取 1, 57, 71, 73, 77, 78, 105, 116 和 145 号抗体进行了嵌合抗体和人源化抗体的构建。嵌合抗体的构建通过截取鼠源抗体的重链可变区和轻链可变区，利用 overlapping PCR 分别与人 IgG1 的轻重链恒定区连接而成。

表 2: 示例性鼠源抗人 CD38 抗体的轻链 CDR 氨基酸序列

抗体编号	LCDR1 对应的序列号 (SEQ ID NO.)	LCDR2 对应的序列号 (SEQ ID NO.)	LCDR3 对应的序列号 (SEQ ID NO.)
1	49	50	51
30	52	53	54
57	55	56	57
63	58	59	60
64	61	62	63
71	64	65	66
73	67	68	69
77	70	71	72
78	73	74	75
84	76	77	78
105	79	80	81
116	82	83	84
119	85	86	87
132	88	89	90
145	91	92	93
148	94	95	96

根据 Kabat 法则对鼠源的抗人 CD38 单克隆抗体的轻链可变区和重链可变区的氨基酸序列进行分析并确定了 3 个 CDR 和 4 个 FR。以 105 号抗体为例，通过在 NCBI IgBlast 与人 IgG 胚系序列 (Germline) 进行同源性比较，选择 IGHV1-46*01 为重链 CDR 移植模板，将鼠源的抗人 CD38 单克隆抗体 105 号的重链 CDR 区移植入 IGHV1-46*01 骨架区，构建成重链的 CDR 移植抗体。同样地，经过与人 IgG 胚系序列同源性比较，选择 IGKV1-16*01 为轻链 CDR 移植模板，将鼠源的抗人 CD38 单克隆抗体 105 号的轻链 CDR 区移植入 IGKV1-16*01 的骨架区，构建成轻链的 CDR 移植抗体。同时，在此基础上，对一些框架区的氨基酸位点进行了回复突变。在进行回复突变时，将氨基酸序列进行了 Kabat 编码，位点的位置由 Kabat 码指示。优选地，对于轻链可变区序列，将 Kabat 编码第 36 位的 F 回复为鼠源的 L，将第 43 位的 A 突变成 T，第 44 位的 P 回复为鼠源的 I，第 46 位的 S 回复为鼠源的 R，第 66 位的 G 回复为鼠源的 R，第 69 位的 T 回复为鼠源

的 S。对于重链可变区序列，将 Kabat 编码第 48 位的 M 回复为鼠源的 I，第 67 位的 V 回复为鼠源的 A，第 69 位的 M 回复为鼠源的 L，第 71 位的 R 回复为鼠源的 A，第 73 位的 T 回复为鼠源的 K，第 78 位的 V 回复为鼠源的 A。上述可变区基因序列由生工生物按照 *Cricetulus griseus* 的密码子使用偏好进行密码子优化并合成。将合成的人源化可变区序列与人 IgG1 恒定区相连，此抗体定义为 105 号抗体的人源化抗体 105-Humanization, 105H)。

利用上述相同原理，对其余抗体同样进行了人源化。人源化抗体的可变区氨基酸序列编号见表 3，重链恒定区的氨基酸序列为 SEQ ID NO: 113 所示，轻链恒定区的氨基酸序列为 SEQ ID NO: 114 所示。利用 pTT5 载体分别构建人源化重链、轻链的瞬时表达载体，将上述轻重链组合利用 HEK293E 系统进行瞬时转染并表达抗体。HEK293E 细胞在 Free Style 293 Expression Medium (购自 Gibco 公司) 培养基中培养，利用 PEI 转染法将质粒转入细胞 5 天后收取细胞上清，利用 Protein A 纯化后获得各个人源化单克隆抗体。

最终，1 号抗体人源化后的重链可变区氨基酸序列如 SEQ ID NO: 97 所示；人源化后的轻链可变区氨基酸序列如 SEQ ID NO: 98 所示。与人 IgG1 恒定区相连后，最终获得 1H 的抗体序列。

57 号抗体人源化后的重链可变区氨基酸序列如 SEQ ID NO: 99 所示；人源化后的轻链可变区氨基酸序列如 SEQ ID NO: 100 所示。与人 IgG1 恒定区相连后，最终获得 57H 的抗体序列。

71 号抗体人源化后的重链可变区氨基酸序列如 SEQ ID NO: 101 所示；人源化后的轻链可变区氨基酸序列如 SEQ ID NO: 102 所示。与人 IgG1 恒定区相连后，最终获得 71H 的抗体序列。

73 号抗体人源化后的重链可变区氨基酸序列如 SEQ ID NO: 103 所示；人源化后的轻链可变区氨基酸序列如 SEQ ID NO: 104 所示。与人 IgG1 恒定区相连后，最终获得 73H 的抗体序列。

78 号抗体人源化后的重链可变区氨基酸序列如 SEQ ID NO: 105 所示；人源化后的轻链可变区氨基酸序列如 SEQ ID NO: 106 所示。与人 IgG1 恒定区相连后，最终获得 78H 的抗体序列。

105 号抗体人源化后的重链可变区氨基酸序列如 SEQ ID NO: 107 所示；人源化后的轻链可变区氨基酸序列如 SEQ ID NO: 108 所示。与人 IgG1 恒定区相连

后，最终获得 105H 的抗体序列。

116 号抗体人源化后的重链可变区氨基酸序列如 SEQ ID NO: 109 所示；人源化后的轻链可变区氨基酸序列如 SEQ ID NO: 110 所示。与人 IgG1 恒定区相连后，最终获得 116H 的抗体序列。

145 号抗体人源化后的重链可变区氨基酸序列如 SEQ ID NO: 111 所示；人源化后的轻链可变区氨基酸序列如 SEQ ID NO: 112 所示。与人 IgG1 恒定区相连后，最终获得 145H 的抗体序列。

表 3: 示例性人源化抗人 CD38 抗体重链和轻链可变区的氨基酸序列

抗体名	重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO.)	轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO.)
1H	97	98
57H	99	100
71H	101	102
73H	103	104
78H	105	106
105H	107	108
116H	109	110
145H	111	112

实施例 6 人源化 CD38 单克隆抗体与 Daudi 细胞的结合

将生长状态良好的 Daudi 细胞(实验室保存)取样计数,离心后用添加 1% FBS 的 PBS 重悬,密度调节为 2×10^7 。抗体样品最高浓度 $10 \mu\text{g/ml}$, 三倍梯度稀释(共 8 个梯度)后加样。在 96 孔培养板中,加入 $20 \mu\text{l/孔}$ ($4 \times 10^5/\text{孔}$) Daudi 细胞,并加入 $30 \mu\text{l}$ 梯度稀释的抗体药物, 4°C 孵育 30 分钟。加入 $180 \mu\text{l}$ 1% FBS PBS 清洗, 1200rpm 离心 6min。用真空泵吸去上清后,加入羊抗人 IgG-FITC (用 1% FBS PBS 1: 1000 稀释) $50 \mu\text{l}$, 在 4°C 孵育 30 分钟。加入 $180 \mu\text{l}$ 1% FBS PBS 后 1200rpm 离心 6 分钟后用 $160 \mu\text{l}$ PBS 重悬。最后用流式细胞仪检测细胞表面荧光强度。利用 GraphPad Prism6 软件进行数据分析。实验结果见图 1 和表 4。

表 4: 人源化 CD38 抗体对 Daudi 细胞的结合

抗体编号	EC50 (ng/ml)
57H	1248.0
71H	811.5
78H	942.9
105H	6845.0

116H	563.7
145H	1345.0

实施例 7 人源化 CD38 抗体诱导 Daudi 淋巴瘤细胞凋亡

在 96 孔培养板 200 μ l/孔的实验体系中，加入 1×10^5 Daudi 细胞/孔，并加入 1.85 和 1.03 μ g/孔的抗体药物，培养 24 小时结束后，在培养孔中直接加入 1:100 的 PI (Propidium Iodide) 溶液 (2 μ l)，继续培养 30 分钟，离心去除上清，用 PBS 洗涤，离心去除上清，然后加入 160 μ l PBS 重悬，用流式细胞仪完成检测。设置未染色孔作为空白对照，参比抗体为 Daratumumab (图 2 中简称为 Dara)。图 2 的结果表明 73H 相较参比抗体显示了更强的诱导凋亡活性，其余抗体和参比抗体一致，并未见明显的诱导凋亡活性。

实施例 8 人源化 CD38 抗体抗 Fc 交联诱导 Daudi 淋巴瘤细胞凋亡

在 96 孔培养板 200 μ l/孔的实验体系中，加入 1×10^5 Daudi 细胞/孔，并加入 1.85 和 1.03 μ g/孔的抗体药物，在细胞培养箱中孵育 30 分钟。然后加入 1 μ g/孔抗人 Fc 抗体，继续培养 24 小时。培养 24 小时。培养结束后在培养孔中直接加入 1:100 的 PI 溶液 (2 μ l)，继续培养 30 分钟，离心去除上清，用 PBS 洗涤，离心去除上清，然后加入 160 μ l PBS 重悬，用流式细胞仪完成检测。设置未染色孔作为空白对照，参比抗体为 Daratumumab (图 3 中简称为 Dara)。图 3 的结果表明 5 个优选抗体相较参比抗体具有一致的较强的抗 Fc 交联诱导细胞凋亡活性。

实施例 9 人源化 CD38 单克隆抗体的亲和力测定

表达纯化的人源化抗体的亲和力通过 Biacore T200 (GE healthcare) 检测。具体实验方法为：利用 Protein-A CM5 传感芯片 (GE healthcare)，以 FC1 (Flow cell 1) 为参照通道，FC2 (Flow cell 2) 为样品通道。在 FC2 通道分别捕获人源抗体或对照抗体，随后注射不同浓度的 hCD38-Flag 或者 cyno-CD38-Flag。循环条件为：在 FCs 所有通道中以 50 μ l/min 注射 4min 分析物，解离时间为 20min，以 10 μ l/min 速率注射 6M 盐酸胍 (国药集团化学试剂有限公司) 30s 进行表面再生，然后利用 Biacore T200 Evaluation Software Ver 1.0 计算捕获抗体的信

号和无捕获抗体的信号差值及相互作用的亲和力。如表 5 和表 6 所显示。实验结果表明优选抗体均能够与人和食蟹猴的 CD38 结合,具有高、中和低不同亲和力。

表 5: 人源化 CD38 抗体结合人 CD38 的亲和力

抗体编号	Ka (1/Ms)	Kd (1/s)	KD (nM)
57H	2.641E+05	1.009E-04	0.382
105H	2.976E+04	9.748E-04	32.755
116H	1.472E+06	9.530E-05	0.065
145H	6.125E+05	1.975E-03	3.224

表 6: 人源化 CD38 抗体结合猴 CD38 的亲和力

抗体编号	Ka (1/Ms)	Kd (1/s)	KD (nM)
57H	5.492E+04	9.201E-05	1.675
105H	6.113E+04	2.080E-04	3.402
116H	2.513E+05	1.019E-04	0.405
145H	9.782E+04	3.930E-03	40.176

结论: 本发明的发明人进行了大量试验,得到了一组可以特异性结合细胞表面 CD38 的单克隆抗体,这些抗体同时可以和食蟹猴的 CD38 结合。获得了一系列具有高、中和低不同亲和力的抗人 CD38 抗体,其能够通过 Fc 依赖性免疫效应机制杀死肿瘤细胞。

可以理解,尽管本申请以某种形式被说明,但本申请并不局限于本说明书中所显示和描述的内容。对本领域的技术人员显而易见的是,在不偏离本申请的范围的前提下还可对所述实施方式和/或某一特征或参数做出各种变化。这些变化都在本申请要求保护的范围内。

权利要求书

1. 特异性结合人 CD38 的抗体或其抗原结合部分,其包含至少 1 个选自以下序列,其突变序列或者与其具有至少 95%序列同一性的氨基酸序列。其包含重链可变区,所述重链可变区包含 HCDR3 序列,任选地还包含 HCDR1 和/或 HCDR2 序列,其中所述 HCDR3 序列包含选自 SEQ ID NOs: 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33, 36, 39, 42, 45 和 48 的氨基酸序列;和/或所述 HCDR2 序列包含选自 SEQ ID NOs: 2, 5, 8, 11, 14, 17, 20, 23, 26, 29, 32, 35, 38, 41, 44 和 47 的氨基酸序列;和/或所述 HCDR1 序列包含选自 SEQ ID NOs: 1, 4, 7, 10, 13, 16, 19, 22, 25, 28, 31, 34, 37, 40, 43 和 46 的氨基酸序列。

2. 如权利要求 1 所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述重链可变区包含选自 SEQ ID NOs: 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109 和 111 的氨基酸序列或者具有至少 80%同源性的氨基酸序列。

3. 如权利要求 1 或 2 所述的抗体或其抗原结合部分,其还包含轻链可变区。其包含以下序列,其突变序列或者与其具有至少 95%序列同一性的氨基酸序列。所述轻链可变区包含 LCDR1、LCDR2 和/或 LCDR3 序列,其中所述 LCDR1 序列包含选自 SEQ ID NOs: 49, 52, 55, 58, 61, 64, 67, 70, 73, 76, 79, 82, 85, 88, 91 和 94 的氨基酸序列;和/或所述 LCDR2 序列包含选自 SEQ ID NOs: 50, 53, 56, 59, 62, 65, 68, 71, 74, 77, 80, 83, 86, 89, 92 和 95 的氨基酸序列;和/或所述 LCDR3 序列包含选自 SEQ ID NOs: 51, 54, 57, 60, 63, 66, 69, 72, 75, 78, 81, 84, 87, 90, 93 和 96 的氨基酸序列。

4. 如权利要求 3 所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述 CDR 区突变序列为 CDR 区发生 1-3 个优化抗体活性的氨基酸突变。其中所述的 LCDR1 序列突变序列优选为 SEQ ID NO: 115;其中所述的 LCDR2 序列突变序列优选为 SEQ ID NO: 116;其中所述的 LCDR3 序列突变序列优选为 SEQ ID NO: 117。

5. 如权利要求 3 和 4 所述的抗体或其抗原结合部分,其中所述轻链可变区包含选自 SEQ ID NOs: 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110 和 112 的氨基酸序列或者具有至少 80%同源性的氨基酸序列。

6. 如前述权利要求任一项所述的抗体或其抗原结合部分,优选的所述抗体 57H、105H、116H、或 145H。其中抗体 57H 的重链可变区序列如 SEQ ID NO: 99 所示,轻链可变区序列如 SEQ ID NO: 100 所示,其中 LCDR2 优选为 SEQ ID NO: 116 所示,其余 CDR 序列与鼠源抗体 57 的相同;抗体 105H 的重链可变区序列如

SEQ ID NO: 107 所示, 轻链可变区序列如 SEQ ID NO: 108 所示, 其中 CDR 序列与鼠源抗体 105 相同; 抗体 116H 的重链可变区序列如 SEQ ID NO: 109 所示, 轻链可变区序列如 SEQ ID NO: 110 所示, 其中 CDR 序列与鼠源抗体 116 相同; 抗体 145H 的重链可变区序列如 SEQ ID NO: 111 所示, 轻链可变区序列如 SEQ ID NO: 112 所示, 其中 LCDR3 优选为 SEQ ID NO: 117 所示, 其余 CDR 序列与鼠源抗体 145 的相同。

7. 优选地, 权利要求 1-6 所述抗原结合部分选自 Fab 片段、Fab' 片段、F(ab')₂ 片段、Fv 片段、scFv 片段、Fd 片段和单域抗体。

8. 如前述权利要求任一项所述的抗体或其抗原结合部分, 其中所述抗体或其抗原结合部分特异性结合于人 CD38 或食蟹猴 CD38, 其中优选地, 所述抗体具有高、中和低不同亲和力。

9. 药物组合物, 其包含权利要求 1-7 中任一项所述的抗体或其抗原结合部分以及药学上可接受的载体。

10. 表达载体, 其包含权利要求 9 所述的抗体氨基酸序列。

11. 宿主细胞, 其包含权利要求 9 所述的抗体氨基酸序列或权利要求 10 所述的表达载体。

12. 产生权利要求 1-7 中任一项所述的抗体或其抗原结合部分的方法, 其包括:

a) 在使得权利要求 11 所述的宿主细胞能够产生所述抗体或其抗原结合部分的表达条件下, 培养所述宿主细胞, 从而表达抗体或其抗原结合部分; 以及 b) 分离并纯化步骤 a) 中表达的所述抗体或其抗原结合部分。

13. 权利要求 1-7 中任一项所述的抗体或其抗原结合部分、或者权利要求 9 所述的组合物在制备用于预防或治疗 CD38 相关疾病的药物中的用途。

14. 权利要求 13 所述的用途, 其中所述 CD38 相关疾病选自多发性骨髓瘤、非霍奇金淋巴瘤、AL 型淀粉样变性、T 细胞淋巴瘤和弥漫性大 B 细胞淋巴瘤。

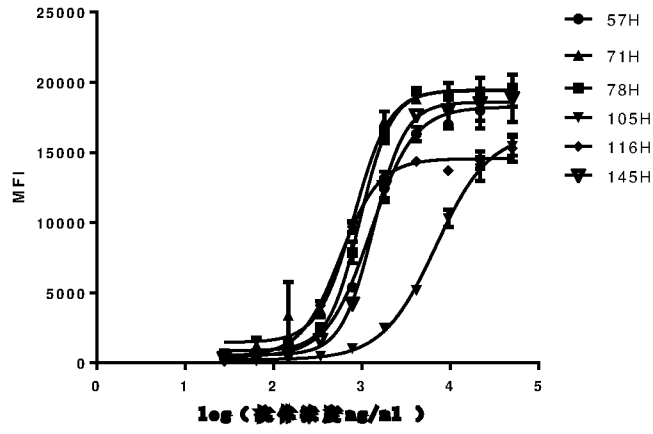


图 1

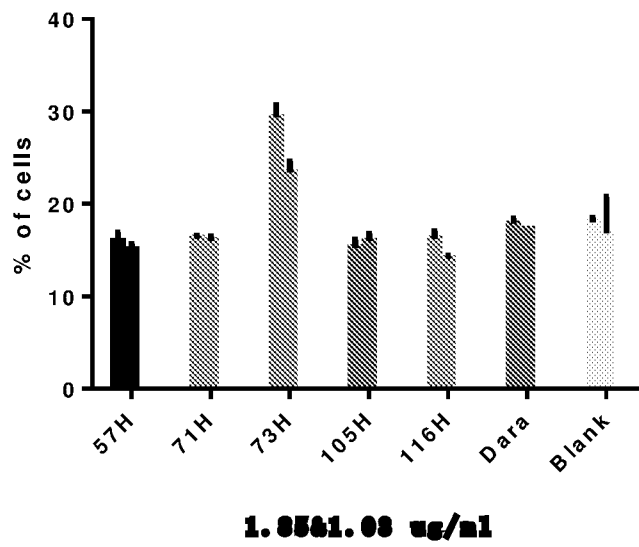


图 2

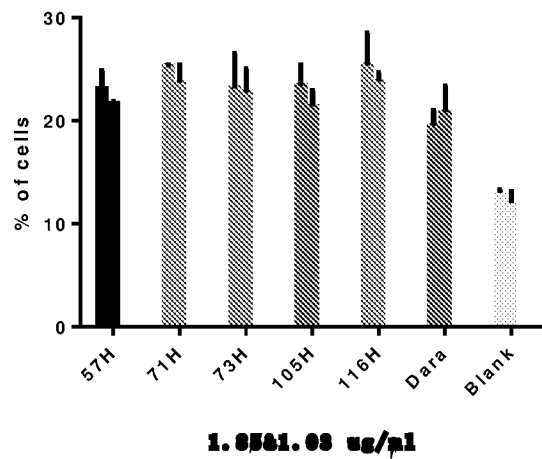


图 3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2021/124806

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
C07K 16/28(2006.01)i; C12N 15/13(2006.01)i; C07K 1/00(2006.01)i; A61K 39/395(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07K C12N A61K A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CNABS, CNKI, CNTXT, DWPI, SIPOABS, EPTXT, USTXT, WOTXT, JPTXT, NCBI, 中国专利生物序列检索系统, Chinese Patent Biological Sequence Retrieval System, Genbank, EMBL, STN: CD38, 抗体, 人, antibody, human, SEQ ID Nos: 1-3, 49-51, 97 and 98		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 108752475 A (BEIJING WISDOMAB BIOTECHNOLOGY CO., LTD.) 06 November 2018 (2018-11-06) entire document, in particular claims 1-11	1-14 (in part)
A	CN 109053892 A (SUZHOU STAINWEI BIOTECH INC.) 21 December 2018 (2018-12-21) entire document, in particular claims 1-14	1-14 (in part)
A	CN 111051344 A (BLACK BELT THERAPEUTICS LTD.) 21 April 2020 (2020-04-21) entire document, in particular claims 1-78	1-14 (in part)
A	CN 110997722 A (BLACK BELT THERAPEUTICS LTD.) 10 April 2020 (2020-04-10) entire document, in particular claims 1-34	1-14 (in part)
A	CN 110997723 A (BLACK BELT THERAPEUTICS LTD.) 10 April 2020 (2020-04-10) entire document	1-14 (in part)
A	CN 111032086 A (BLACK BELT THERAPEUTICS LTD.) 17 April 2020 (2020-04-17) entire document	1-14 (in part)
A	CN 111032693 A (BLACK BELT THERAPEUTICS LTD.) 17 April 2020 (2020-04-17) entire document	1-14 (in part)
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 17 December 2021		Date of mailing of the international search report 19 January 2022
Name and mailing address of the ISA/CN China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No. (86-10)62019451		Authorized officer Telephone No.

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

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
 - a. forming part of the international application as filed:
 - in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - on paper or in the form of an image file.
 - b. furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - c. furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
 - in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
 - on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2. In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

- [1] Invention 1: claims 1-14 (in part);
- [2] An antibody that specifically binds to human CD38, having 6 CDR sequences: 1-3, 49-51, and a method for producing an antibody by corresponding pharmaceutical compositions, expression vectors, and host cells and a use thereof in the preparation of drugs for preventing or treating CD38 related diseases.
- [3] Inventions 2-16: claims 1-14 (in part); the same subject as Invention 1, but amino acid sequences related to the 6 CDRs are as follows:
 - [4] Invention 2: SEQ ID NOs: 4-6 and 52-54
 - [5] Invention 3: SEQ ID NOs: 7-9 and 55-57
 - [6] Invention 4: SEQ ID NOs: 10-12 and 58-60
 - [7] Invention 5: SEQ ID NOs: 13-15 and 61-63
 - [8] Invention 6: SEQ ID NOs: 16-18 and 64-66
 - [9] Invention 7: SEQ ID NOs: 17-21 and 67-69
 - [10] Invention 8: SEQ ID NOs: 22-24 and 70-72
 - [11] Invention 9: SEQ ID NOs: 25-27 and 73-75
 - [12] Invention 10: SEQ ID NOs: 28-30 and 76-78
 - [13] Invention 11: SEQ ID NOs: 31-33 and 79-81
 - [14] Invention 12: SEQ ID NOs: 34-36 and 82-84
 - [15] Invention 13: SEQ ID NOs: 37-39 and 85-87
 - [16] Invention 14: SEQ ID NOs: 40-42 and 88-90
 - [17] Invention 15: SEQ ID NOs: 43-45 and 91-93
 - [18] Invention 16: SEQ ID NOs: 46-48 and 94-96
- [19] The corresponding technical feature between claims 1-16 is "specifically binding to human CD38". Document 1 (CN108752475A, 06 November 2018) discloses an antibody that binds to human CD38, containing 6 CDRs (see claims 1-11). Document 2 (CN109053892A, 21 December 2018) discloses a monoclonal antibody that specifically binds to human CD38 antigen (see claims 1-5). Document 3 (CN111051344A, 21 April 2020) discloses an antibody that binds to human CD38 (see claims 27-63). Document 4 (CN110997722A, 10 April 2020) discloses an antibody that binds to human CD38 (see claims 17 and 18). Hence, Documents 1-4 all disclose an antibody that specifically binds to human CD38. Therefore, the technical solutions set forth in inventions 1-16 do not belong to a single general inventive concept because they are not technically related, do not share a same or corresponding special technical feature, and do not satisfy the requirement of unity under PCT Rules 13.1 and 13.2.

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.: **Claims 1-14 (in part, relating to SEQ ID Nos: 1-3, 49-51, 97, and 98)**

- Remark on Protest**
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
 - The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
 - No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2021/124806

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)	
CN	108752475	A	06 November 2018	None		
CN	109053892	A	21 December 2018	CN	109053892 B	26 March 2021
				WO	2020056790 A1	26 March 2020
CN	111051344	A	21 April 2020	JP	2020523038 A	06 August 2020
				US	2020190209 A1	18 June 2020
				CA	3066547 A1	13 December 2018
				EP	3635001 A1	15 April 2020
				WO	2018224682 A1	13 December 2018
				AU	2018280868 A1	02 January 2020
CN	110997722	A	10 April 2020	KR	20200021068 A	27 February 2020
				CA	3066555 A1	13 December 2018
				CA	3066553 A1	13 December 2018
				WO	2018224685 A1	13 December 2018
				AU	2018280871 A8	30 January 2020
				EP	3635003 A1	15 April 2020
				EP	3635002 A1	15 April 2020
				WO	2018224683 A1	13 December 2018
				JP	2020522280 A	30 July 2020
				KR	20200021069 A	27 February 2020
				AU	2018280871 A1	16 January 2020
				AU	2018280869 A1	16 January 2020
				JP	2020522281 A	30 July 2020
				CN	110997723 A	10 April 2020
CN	110997723	A	10 April 2020	KR	20200021068 A	27 February 2020
				CA	3066555 A1	13 December 2018
				CN	110997722 A	10 April 2020
				CA	3066553 A1	13 December 2018
				WO	2018224685 A1	13 December 2018
				AU	2018280871 A8	30 January 2020
				EP	3635003 A1	15 April 2020
				EP	3635002 A1	15 April 2020
				WO	2018224683 A1	13 December 2018
				JP	2020522280 A	30 July 2020
				KR	20200021069 A	27 February 2020
				AU	2018280871 A1	16 January 2020
				AU	2018280869 A1	16 January 2020
				JP	2020522281 A	30 July 2020
CN	111032086	A	17 April 2020	JP	2020533965 A	26 November 2020
				WO	2019034753 A1	21 February 2019
				CA	3072296 A1	21 February 2019
				EP	3668543 A1	24 June 2020
				SG	11202000484 T A	27 February 2020
				US	2020362050 A1	19 November 2020
				AU	2018316522 A1	05 March 2020
				KR	20200036861 A	07 April 2020
CN	111032693	A	17 April 2020	JP	2020531003 A	05 November 2020
				KR	20200036860 A	07 April 2020
				WO	2019034752 A1	21 February 2019
				SG	11202000321 P A	27 February 2020

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2021/124806

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
		AU 2018316521 A1	13 February 2020
		CA 3073085 A1	21 February 2019
		US 2020362049 A1	19 November 2020
		EP 3668896 A1	24 June 2020

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2021/124806

A. 主题的分类 C07K 16/28(2006.01)i; C12N 15/13(2006.01)i; C07K 1/00(2006.01)i; A61K 39/395(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i 按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类		
B. 检索领域 检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号) C07K C12N A61K A61P 包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献 在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用)) CNABS, CNKI, CNTXT, DWPI, SIPOABS, EPTXT, USTXT, WOTXT, JPTXT, NCBI, 中国专利生物序列检索系统, Genbank, EMBL, STN和检索项: CD38, 抗体, 人, antibody, human, SEQ ID Nos: 1-3、49-51、97和98		
C. 相关文件		
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
A	CN 108752475 A (北京智仁美博生物科技有限公司) 2018年11月6日 (2018 - 11 - 06) 全文, 尤其是权利要求1-11	1-14 (部分)
A	CN 109053892 A (苏州思坦维生物技术股份有限公司) 2018年12月21日 (2018 - 12 - 21) 全文, 尤其是权利要求1-14	1-14 (部分)
A	CN 111051344 A (黑带医疗有限公司) 2020年4月21日 (2020 - 04 - 21) 全文, 尤其是权利要求1-78	1-14 (部分)
A	CN 110997722 A (黑带医疗有限公司) 2020年4月10日 (2020 - 04 - 10) 全文, 尤其是权利要求1-34	1-14 (部分)
A	CN 110997723 A (黑带医疗有限公司) 2020年4月10日 (2020 - 04 - 10) 全文	1-14 (部分)
A	CN 111032086 A (黑带医疗有限公司) 2020年4月17日 (2020 - 04 - 17) 全文	1-14 (部分)
A	CN 111032693 A (黑带医疗有限公司) 2020年4月17日 (2020 - 04 - 17) 全文	1-14 (部分)
<input type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。 <input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。		
* 引用文件的具体类型: “A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 “E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 “L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) “O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 “P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 “T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 “X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 “Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 “&” 同族专利的文件		
国际检索实际完成的日期	2021年12月17日	国际检索报告邮寄日期
		2022年1月19日
ISA/CN的名称和邮寄地址	中国知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 传真号 (86-10)62019451	授权官员 王翔宇 电话号码 62089318

第1栏 核苷酸和/或氨基酸序列(续第1页第1. c项)

1. 关于国际申请中所公开的任何核苷酸和/或氨基酸序列, 国际检索是基于下列序列列表进行的:
- a. 作为国际申请的一部分提交的:
- 附件C/ST. 25文本文件形式
 - 纸件或图形文件形式
- b. 根据细则13之三. 1(a) 仅为国际检索目的以附件C/ST. 25文本文件形式与国际申请同时提交的:
- c. 仅为国际检索目的在国际申请日之后提交的:
- 附件C/ST. 25文本文件形式(细则13之三. 1(a))
 - 纸件或图形文件形式(细则13之三. 1(b)和行政规程第713段)
2. 另外, 在提交/提供了多个版本或副本的序列列表的情况下, 提供了关于随后提交的或附加的副本中的信息与申请时提交的作为申请一部分的序列列表的信息相同或未超出申请时提交的申请中的信息范围(如适用)的所需声明。
3. 补充意见:

第III栏 缺乏发明单一性的意见(续第1页第3项)

本国际检索单位在该国际申请中发现多项发明，即：

- [1] 发明1：权利要求1-14（部分）；
- [2] 特异性结合人CD38的抗体，其6个CDR序列为：SEQ ID Nos：1-3、49-51，以及相应的药物组合物、表达载体、宿主细胞、产生抗体的方法和制备用于预防或治疗CD38相关疾病的药物中的用途。
- [3] 发明2-16：权利要求1-14（部分）；与发明1的主题相同，但6个CDR所涉及的氨基酸序列如下：
- [4] 发明2：SEQ ID Nos：4-6、52-54
- [5] 发明3：SEQ ID Nos：7-9、55-57
- [6] 发明4：SEQ ID Nos：10-12、58-60
- [7] 发明5：SEQ ID Nos：13-15、61-63
- [8] 发明6：SEQ ID Nos：16-18、64-66
- [9] 发明7：SEQ ID Nos：17-21、67-69
- [10] 发明8：SEQ ID Nos：22-24、70-72
- [11] 发明9：SEQ ID Nos：25-27、73-75
- [12] 发明10：SEQ ID Nos：28-30、76-78
- [13] 发明11：SEQ ID Nos：31-33、79-81
- [14] 发明12：SEQ ID Nos：34-36、82-84
- [15] 发明13：SEQ ID Nos：37-39、85-87
- [16] 发明14：SEQ ID Nos：40-42、88-90
- [17] 发明15：SEQ ID Nos：43-45、91-93
- [18] 发明16：SEQ ID Nos：46-48、94-96
- [19] 发明1-16之间相应的技术特征为“特异性结合人CD38”。文献1（CN108752475 A 20181106）公开结合人CD38的抗体，其包含6个CDR（参见权利要求1-11）。文献2（CN109053892 A 20181221）公开特异结合人CD38抗原的单克隆抗体（参见权利要求1-5）。文献3（CN111051344 A 20200421）公开结合至人CD38的抗体（参见权利要求27-63）。文献4（CN110997722 A 20200410）公开结合至人CD38的抗体（参见权利要求17-18）。由此可知，文献1-4均公开了特异性结合人CD38的抗体。因此，发明1-16之间所要求保护的技术方案不属于一个总的发明构思，技术上无相互关联，没有相同或者相应的特定技术特征，不具备单一性，因此不符合PCT细则13.1和13.2的规定。

第III栏 缺乏发明单一性的意见(续第1页第3项)

1. 由于申请人按时缴纳了被要求缴纳的全部附加检索费，本国际检索报告涉及全部可作检索的权利要求。
2. 由于无需付出有理由要求附加费的劳动即能对全部可检索的权利要求进行检索，本单位未通知缴纳任何加费。
3. 由于申请人仅按时缴纳了部分被要求缴纳的附加检索费，本国际检索报告仅涉及已缴费的那些权利要求，具体地说，是权利要求：
4. 申请人未按时缴纳被要求缴纳的附加检索费。因此，本国际检索报告仅涉及权利要求书中首先提及的发明；包含该发明的权利要求是：权利要求1-14（部分，涉及SEQ ID Nos: 1-3、49-51、97和98）

对异议的意见

- 申请人缴纳了附加检索费，同时提交了异议书，适用时，缴纳了异议费。
- 申请人缴纳了附加检索费，同时提交了异议书，但未在通知书规定的时间期限内缴纳异议费。
- 缴纳附加检索费时未提交异议书。

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2021/124806

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	108752475	A	2018年11月6日	无			
CN	109053892	A	2018年12月21日	CN	109053892	B	2021年3月26日
				WO	2020056790	A1	2020年3月26日
CN	111051344	A	2020年4月21日	JP	2020523038	A	2020年8月6日
				US	2020190209	A1	2020年6月18日
				CA	3066547	A1	2018年12月13日
				EP	3635001	A1	2020年4月15日
				WO	2018224682	A1	2018年12月13日
				AU	2018280868	A1	2020年1月2日
CN	110997722	A	2020年4月10日	KR	20200021068	A	2020年2月27日
				CA	3066555	A1	2018年12月13日
				CA	3066553	A1	2018年12月13日
				WO	2018224685	A1	2018年12月13日
				AU	2018280871	A8	2020年1月30日
				EP	3635003	A1	2020年4月15日
				EP	3635002	A1	2020年4月15日
				WO	2018224683	A1	2018年12月13日
				JP	2020522280	A	2020年7月30日
				KR	20200021069	A	2020年2月27日
				AU	2018280871	A1	2020年1月16日
				AU	2018280869	A1	2020年1月16日
				JP	2020522281	A	2020年7月30日
				CN	110997723	A	2020年4月10日
CN	110997723	A	2020年4月10日	KR	20200021068	A	2020年2月27日
				CA	3066555	A1	2018年12月13日
				CN	110997722	A	2020年4月10日
				CA	3066553	A1	2018年12月13日
				WO	2018224685	A1	2018年12月13日
				AU	2018280871	A8	2020年1月30日
				EP	3635003	A1	2020年4月15日
				EP	3635002	A1	2020年4月15日
				WO	2018224683	A1	2018年12月13日
				JP	2020522280	A	2020年7月30日
				KR	20200021069	A	2020年2月27日
				AU	2018280871	A1	2020年1月16日
				AU	2018280869	A1	2020年1月16日
				JP	2020522281	A	2020年7月30日
CN	111032086	A	2020年4月17日	JP	2020533965	A	2020年11月26日
				WO	2019034753	A1	2019年2月21日
				CA	3072296	A1	2019年2月21日
				EP	3668543	A1	2020年6月24日
				SG	11202000484T	A	2020年2月27日
				US	2020362050	A1	2020年11月19日
				AU	2018316522	A1	2020年3月5日
				KR	20200036861	A	2020年4月7日
CN	111032693	A	2020年4月17日	JP	2020531003	A	2020年11月5日
				KR	20200036860	A	2020年4月7日
				WO	2019034752	A1	2019年2月21日
				SG	11202000321P	A	2020年2月27日

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2021/124806

检索报告引用的专利文件	公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
		AU	2018316521	A1	2020年2月13日
		CA	3073085	A1	2019年2月21日
		US	2020362049	A1	2020年11月19日
		EP	3668896	A1	2020年6月24日