

(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7月21日 (21.07.2022)



(10) 国际公布号
WO 2022/152282 A1

(51) 国际专利分类号:

A61P 35/00 (2006.01) *C07K 16/28* (2006.01)
A61K 38/00 (2006.01) *C12N 15/13* (2006.01)
A61P 7/00 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2022/072234

(22) 国际申请日: 2022年1月17日 (17.01.2022)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
202110060035.4 2021年1月18日 (18.01.2021) CN

(71) 申请人: 江苏先声药业有限公司 (JIANGSU SIMCERE PHARMACEUTICAL CO., LTD.) [CN/CN]; 中国江苏省南京市玄武区玄武大道699-18号, Jiangsu 210042 (CN)。

(72) 发明人: 王琼 (WANG, Qiong); 中国上海市浦东新区芙蓉花路118弄, Shanghai 201318 (CN)。杨翠青 (YANG, Cuiqing); 中国上海市浦东新区芙蓉花路118弄, Shanghai 201318 (CN)。曹卓晓 (CAO, Zhuoxiao); 中国上海市浦东新区芙蓉花路118弄, Shanghai 201318 (CN)。唐任宏 (TANG, Renhong); 中国上海市浦东新区芙蓉花路118弄, Shanghai 201318 (CN)。任晋生 (REN, Jinsheng); 中国江苏省南京市玄武区玄武大道699-18号, Jiangsu 210042 (CN)。

(74) 代理人: 北京林达刘知识产权代理事务所 (普通合伙) (LINDA LIU & PARTNERS); 中国北京

市东城区北三环东路36号北京环球贸易中心C座16层, Beijing 100013 (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 CD22 MONOCLONAL ANTIBODIES AND USE THEREOF

(54) 发明名称: 抗人CD22的单克隆抗体及其用途

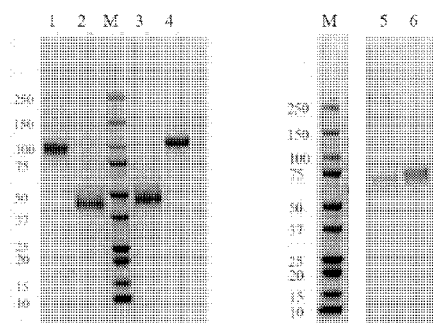


图1

(57) Abstract: CD22 antibodies, a preparation method therefor, and an application thereof. The CD22 antibodies have a high affinity to CD22 protein. Therefore, the CD22 antibodies can be used in the preparation of drugs for the treatment of diseases such as tumors and autoimmune diseases.

(57) 摘要: 一种CD22的抗体及其制备方法和应用。所述的CD22抗体与CD22蛋白具有高度亲和力, 因此能够运用于治疗肿瘤和自身免疫性疾病等药物的制备中。



WO 2022/152282 A1

抗人 CD22 的单克隆抗体及其用途

本申请要求于 2021 年 1 月 18 日提交中国专利局、申请号为 202110060035.4、发明名称为“抗人 CD22 的单克隆抗体及其用途”的中国专利申请的优先权，其全部内容通过引用结合在本公开中。

技术领域

本发明涉及生物工程、生物医药领域，主要涉及一种靶向人 CD22 的单克隆抗体或其抗原结合片段，其编码核酸、表达载体和表达细胞、制备方法、药物组合物、以及它们用于治疗疾病的用途，例如治疗肿瘤和自身免疫病的用途。

背景技术

CD22 是一个 I 型跨膜糖蛋白，属于唾液酸结合性免疫球蛋白样凝集素 (Siglec, sialic acid-binding immunoglobulinlike lectins) 家族中的一员，作为一种 B 系分化抗原，特异性表达于 B 细胞，从前 B 细胞(pre-B cell)时期开始表达，至 B 细胞分化为浆细胞后不再表达 CD22。CD22 在 B 细胞发育中的广谱表达，使其成为一个极具吸引力的靶向 B 细胞的分子。

CD22 胞外区由 7 个免疫球蛋白样结构域 (Ig-like domain) 和 12 个预测的 N-连接的糖基化位点组成，其 N 端 (即远膜端) 结构域 domain 1 是 V 型 Ig-like domain，作为配体结合位点能够识别 α 2,6-偶联唾液酸。CD22 胞内区具有酪氨酸免疫受体依赖的抑制结构 (ITIMs, immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motifs)，当 ITIMs 上的酪氨酸被 Src 家族蛋白激酶磷酸化后，会产生含有 SH2 (Src homology 2) 结构域分子的结合位点，随后招募 SHP-1 (Src homology region 2 domain-containing phosphatase-1) 从而抑制正常 B 细胞的 BCR (B 细胞受体, B-cell receptor) 信号通路。

在造血细胞，某些内皮细胞以及 T 细胞和 B 细胞中都存在 α 2,6-偶联唾液酸糖蛋白，且 CD22 蛋白本身也会产生 α 2,6-偶联唾液酸，因此 CD22 能够与自身以及 B 细胞表面其它唾液酸糖蛋白之间形成顺式相互作用，与其它细胞类型细胞表面的唾液酸糖蛋白之间形成反式相互作用。在静息 B 细胞中，CD22 之间的顺式相互作用使得 CD22 的配体结合位点被遮蔽，但是一旦临近细胞呈现出配体，被遮蔽的 CD22 配体结合位点便被暴露出来而与临近细胞配体形成反式相互作用。CD22 之间的顺式相互作用会在 B 细胞表面形成同源寡聚体，这些同源寡聚体可以形成一个动态的纳米簇并产生 B 细胞激活之前必须达到的一个抗原结合信号阈值，从而调节 B 细胞信号通路。

CD22 在 60%~90% 的 B 细胞恶性肿瘤中表达，在造血干细胞中不表达。在早期的一项急性淋巴细胞白血病 (acute lymphoblastic leukemia, ALL) 的临床研究中，60% 到 85% 的 ALL 均表达 CD22；另一项研究中 B-lineage ALL 病人的 CD22 阳性率达 93%。在弥漫大 B 细胞淋巴瘤 (DLBCLs) 中 85% 以上的病人表达 CD22。有许多临床试验研究了靶向 CD22 药物的有效性。依帕珠单抗 (Epratuzumab) 是一种 CD22 单克隆抗体，在成人和儿童 B-ALL 中具有一定的效果；CD22 抗体偶联药物对 B-ALL 有一定的治疗作用。

单克隆抗体由于具有靶向性、特异性、专一性、高亲和力等优势，正发展成为新型治疗药物。然而，早期的临床试验揭示，在人体中使用非人源单克隆抗体，常常因为人抗小鼠抗体 (HAMA) 和人抗大鼠抗体 (HARA) 应答，导致严重的免疫反应，抗体被快速清除。随后开发

出免疫原性较小的抗体，包括嵌合抗体、人源化抗体和全人源抗体。根据人源化程度不同，治疗性单克隆抗体药物可分为 4 种：鼠源性抗体（无人源氨基酸序列）、嵌合抗体（60%~70%人源化氨基酸序列）、CDR 移植抗体（90%~95%人源化氨基酸序列）以及全人源抗体（100%人源氨基酸序列）。随着人源化程度增加，非鼠源单克隆抗体可以减轻人体治疗过程中人抗鼠抗体反应（HAMA 和 HARA 反应），逐步消除异源性抗体的免疫原性问题，在保持对抗原高亲和力的同时，改善了抗体的药代动力学，临床上已大量使用这些抗体药物进行靶向治疗。

发明内容

本发明提供特异性结合人 CD22 的抗体或抗原结合片段，编码这些抗体及抗原结合片段的核酸，包含所述抗体及抗原结合片段的药物组合物和试剂盒，以及它能够用于治疗肿瘤等药物的制备。

在一些实施方案中，特异性结合人 CD22 的抗体或抗原结合片段，所述抗体或抗原结合片段包含 CDRs 组合，所述 CDRs 组合包含：CDR1、CDR2 和 CDR3；所述 CDR1、CDR2 和 CDR3 具有选自以下的任意序列组合或者与所述序列组合相比具有 1、2、3 或更多个氨基酸插入、缺失和/或替换的序列组合：

编号	SEQ ID NO.		
	CDR1-VH	CDR2-VH	CDR3-VH
VH1	SEQ ID NO.83	SEQ ID NO.84	SEQ ID NO.85
VH2	SEQ ID NO.86	SEQ ID NO.87	SEQ ID NO.88
VH3	SEQ ID NO.89	SEQ ID NO.90	SEQ ID NO.91
VH4	SEQ ID NO.101	SEQ ID NO.102	SEQ ID NO.103
VH5	SEQ ID NO.104	SEQ ID NO.105	SEQ ID NO.106
VH6	SEQ ID NO.107	SEQ ID NO.108	SEQ ID NO.109
VH7	SEQ ID NO.119	SEQ ID NO.120	SEQ ID NO.121
VH8	SEQ ID NO.122	SEQ ID NO.123	SEQ ID NO.124
VH9	SEQ ID NO.125	SEQ ID NO.126	SEQ ID NO.127
VH10	SEQ ID NO.137	SEQ ID NO.138	SEQ ID NO.139
VH11	SEQ ID NO.140	SEQ ID NO.141	SEQ ID NO.142
VH12	SEQ ID NO.143	SEQ ID NO.144	SEQ ID NO.145
VH13	SEQ ID NO.155	SEQ ID NO.156	SEQ ID NO.157
VH14	SEQ ID NO.158	SEQ ID NO.159	SEQ ID NO.160
VH15	SEQ ID NO.161	SEQ ID NO.162	SEQ ID NO.163

VH16	SEQ ID NO.173	SEQ ID NO.174	SEQ ID NO.175
VH17	SEQ ID NO.176	SEQ ID NO.177	SEQ ID NO.178
VH18	SEQ ID NO.179	SEQ ID NO.180	SEQ ID NO.181
VH19	SEQ ID NO.191	SEQ ID NO.192	SEQ ID NO.193
VH20	SEQ ID NO.194	SEQ ID NO.195	SEQ ID NO.196
VH21	SEQ ID NO.197	SEQ ID NO.198	SEQ ID NO.199
VH22	SEQ ID NO.209	SEQ ID NO.210	SEQ ID NO.211
VH23	SEQ ID NO.212	SEQ ID NO.213	SEQ ID NO.214
VH24	SEQ ID NO.215	SEQ ID NO.216	SEQ ID NO.217
VH25	SEQ ID NO.227	SEQ ID NO.228	SEQ ID NO.229
VH26	SEQ ID NO.230	SEQ ID NO.231	SEQ ID NO.232
VH27	SEQ ID NO.233	SEQ ID NO.234	SEQ ID NO.235
VH28	SEQ ID NO.245	SEQ ID NO.246	SEQ ID NO.247
VH29	SEQ ID NO.248	SEQ ID NO.249	SEQ ID NO.250
VH30	SEQ ID NO.251	SEQ ID NO.252	SEQ ID NO.253
VH31	SEQ ID NO.263	SEQ ID NO.264	SEQ ID NO.265
VH32	SEQ ID NO.266	SEQ ID NO.267	SEQ ID NO.268
VH33	SEQ ID NO.269	SEQ ID NO.270	SEQ ID NO.271
VH34	SEQ ID NO.281	SEQ ID NO.282	SEQ ID NO.283
VH35	SEQ ID NO.284	SEQ ID NO.285	SEQ ID NO.286
VH36	SEQ ID NO.287	SEQ ID NO.288	SEQ ID NO.289
VH37	SEQ ID NO.299	SEQ ID NO.300	SEQ ID NO.301
VH38	SEQ ID NO.302	SEQ ID NO.303	SEQ ID NO.304
VH39	SEQ ID NO.305	SEQ ID NO.306	SEQ ID NO.307
VH40	SEQ ID NO.317	SEQ ID NO.318	SEQ ID NO.319
VH41	SEQ ID NO.320	SEQ ID NO.321	SEQ ID NO.322
VH42	SEQ ID NO.323	SEQ ID NO.324	SEQ ID NO.325

VH43	SEQ ID NO.335	SEQ ID NO.336	SEQ ID NO.337
VH44	SEQ ID NO.338	SEQ ID NO.339	SEQ ID NO.340
VH45	SEQ ID NO.341	SEQ ID NO.342	SEQ ID NO.343
VH46	SEQ ID NO.353	SEQ ID NO.354	SEQ ID NO.355
VH47	SEQ ID NO.356	SEQ ID NO.357	SEQ ID NO.358
VH48	SEQ ID NO.359	SEQ ID NO.360	SEQ ID NO.361
VH49	SEQ ID NO.371	SEQ ID NO.372	SEQ ID NO.373
VH50	SEQ ID NO.374	SEQ ID NO.375	SEQ ID NO.376
VH51	SEQ ID NO.377	SEQ ID NO.378	SEQ ID NO.379
VH52	SEQ ID NO.389	SEQ ID NO.390	SEQ ID NO.391
VH53	SEQ ID NO.392	SEQ ID NO.393	SEQ ID NO.394
VH54	SEQ ID NO.395	SEQ ID NO.396	SEQ ID NO.397
VH55	SEQ ID NO.407	SEQ ID NO.408	SEQ ID NO.409
VH56	SEQ ID NO.410	SEQ ID NO.411	SEQ ID NO.412
VH57	SEQ ID NO.413	SEQ ID NO.414	SEQ ID NO.415
VH58	SEQ ID NO.425	SEQ ID NO.426	SEQ ID NO.427
VH59	SEQ ID NO.428	SEQ ID NO.429	SEQ ID NO.430
VH60	SEQ ID NO.431	SEQ ID NO.432	SEQ ID NO.433
VH61	SEQ ID NO.443	SEQ ID NO.444	SEQ ID NO.445
VH62	SEQ ID NO.446	SEQ ID NO.447	SEQ ID NO.448
VH63	SEQ ID NO.449	SEQ ID NO.450	SEQ ID NO.451
VH64	SEQ ID NO.461	SEQ ID NO.462	SEQ ID NO.463
VH65	SEQ ID NO.464	SEQ ID NO.465	SEQ ID NO.466
VH66	SEQ ID NO.467	SEQ ID NO.468	SEQ ID NO.469
VH67	SEQ ID NO.479	SEQ ID NO.480	SEQ ID NO.481
VH68	SEQ ID NO.482	SEQ ID NO.483	SEQ ID NO.484
VH69	SEQ ID NO.485	SEQ ID NO.486	SEQ ID NO.487

VH70	SEQ ID NO.497	SEQ ID NO.498	SEQ ID NO.499
VH71	SEQ ID NO.500	SEQ ID NO.501	SEQ ID NO.502
VH72	SEQ ID NO.503	SEQ ID NO.504	SEQ ID NO.505
VH73	SEQ ID NO.515	SEQ ID NO.516	SEQ ID NO.517
VH74	SEQ ID NO.518	SEQ ID NO.519	SEQ ID NO.520
VH75	SEQ ID NO.521	SEQ ID NO.522	SEQ ID NO.523
VH76	SEQ ID NO.533	SEQ ID NO.534	SEQ ID NO.535
VH77	SEQ ID NO.536	SEQ ID NO.537	SEQ ID NO.538
VH78	SEQ ID NO.539	SEQ ID NO.540	SEQ ID NO.541
VH79	SEQ ID NO.551	SEQ ID NO.552	SEQ ID NO.553
VH80	SEQ ID NO.554	SEQ ID NO.555	SEQ ID NO.556
VH81	SEQ ID NO.557	SEQ ID NO.558	SEQ ID NO.559
VH82	SEQ ID NO.569	SEQ ID NO.570	SEQ ID NO.571
VH83	SEQ ID NO.572	SEQ ID NO.573	SEQ ID NO.574
VH84	SEQ ID NO.575	SEQ ID NO.576	SEQ ID NO.577
VH85	SEQ ID NO.587	SEQ ID NO.588	SEQ ID NO.589
VH86	SEQ ID NO.590	SEQ ID NO.591	SEQ ID NO.592
VH87	SEQ ID NO.593	SEQ ID NO.594	SEQ ID NO.595
VH88	SEQ ID NO.605	SEQ ID NO.606	SEQ ID NO.607
VH89	SEQ ID NO.608	SEQ ID NO.609	SEQ ID NO.610
VH90	SEQ ID NO.611	SEQ ID NO.612	SEQ ID NO.613
VH91	SEQ ID NO.623	SEQ ID NO.624	SEQ ID NO.625
VH92	SEQ ID NO.626	SEQ ID NO.627	SEQ ID NO.628
VH93	SEQ ID NO.629	SEQ ID NO.630	SEQ ID NO.631
VH94	SEQ ID NO.641	SEQ ID NO.642	SEQ ID NO.643
VH95	SEQ ID NO.644	SEQ ID NO.645	SEQ ID NO.646
VH96	SEQ ID NO.647	SEQ ID NO.648	SEQ ID NO.649

VH97	SEQ ID NO.659	SEQ ID NO.660	SEQ ID NO.661
VH98	SEQ ID NO.662	SEQ ID NO.663	SEQ ID NO.664
VH99	SEQ ID NO.665	SEQ ID NO.666	SEQ ID NO.667
VH100	SEQ ID NO.677	SEQ ID NO.678	SEQ ID NO.679
VH101	SEQ ID NO.680	SEQ ID NO.681	SEQ ID NO.682
VH102	SEQ ID NO.683	SEQ ID NO.684	SEQ ID NO.685
VH103	SEQ ID NO.695	SEQ ID NO.696	SEQ ID NO.697
VH104	SEQ ID NO.698	SEQ ID NO.699	SEQ ID NO.700
VH105	SEQ ID NO.701	SEQ ID NO.702	SEQ ID NO.703

和，

(2) 所述轻链 CDRs 组合包含：CDR1-VL、CDR2-VL 和 CDR3-VL，所述 CDR1-VL、CDR2-VL 和 CDR3-VL 具有选自以下任意序列组合或者与所述序列组合相比具有 1、2、3 或更多个氨基酸插入、缺失和/或替换的序列组合：

编号	SEQ ID NO.		
	CDR1-VL	CDR2-VL	CDR3-VL
VL1	SEQ ID NO.92	SEQ ID NO.93	SEQ ID NO.94
VL2	SEQ ID NO.95	SEQ ID NO.96	SEQ ID NO.97
VL3	SEQ ID NO.98	SEQ ID NO.99	SEQ ID NO.100
VL4	SEQ ID NO.110	SEQ ID NO.111	SEQ ID NO.112
VL5	SEQ ID NO.113	SEQ ID NO.114	SEQ ID NO.115
VL6	SEQ ID NO.116	SEQ ID NO.117	SEQ ID NO.118
VL7	SEQ ID NO.128	SEQ ID NO.129	SEQ ID NO.130
VL8	SEQ ID NO.131	SEQ ID NO.132	SEQ ID NO.133
VL9	SEQ ID NO.134	SEQ ID NO.135	SEQ ID NO.136
VL10	SEQ ID NO.146	SEQ ID NO.147	SEQ ID NO.148
VL11	SEQ ID NO.149	SEQ ID NO.150	SEQ ID NO.151
VL12	SEQ ID NO.152	SEQ ID NO.153	SEQ ID NO.154

VL13	SEQ ID NO.164	SEQ ID NO.165	SEQ ID NO.166
VL14	SEQ ID NO.167	SEQ ID NO.168	SEQ ID NO.169
VL15	SEQ ID NO.170	SEQ ID NO.171	SEQ ID NO.172
VL16	SEQ ID NO.182	SEQ ID NO.183	SEQ ID NO.184
VL17	SEQ ID NO.185	SEQ ID NO.186	SEQ ID NO.187
VL18	SEQ ID NO.188	SEQ ID NO.189	SEQ ID NO.190
VL19	SEQ ID NO.200	SEQ ID NO.201	SEQ ID NO.202
VL20	SEQ ID NO.203	SEQ ID NO.204	SEQ ID NO.205
VL21	SEQ ID NO.206	SEQ ID NO.207	SEQ ID NO.208
VL22	SEQ ID NO.218	SEQ ID NO.219	SEQ ID NO.220
VL23	SEQ ID NO.221	SEQ ID NO.222	SEQ ID NO.223
VL24	SEQ ID NO.224	SEQ ID NO.225	SEQ ID NO.226
VL25	SEQ ID NO.236	SEQ ID NO.237	SEQ ID NO.238
VL26	SEQ ID NO.239	SEQ ID NO.240	SEQ ID NO.241
VL27	SEQ ID NO.242	SEQ ID NO.243	SEQ ID NO.244
VL28	SEQ ID NO.254	SEQ ID NO.255	SEQ ID NO.256
VL29	SEQ ID NO.257	SEQ ID NO.258	SEQ ID NO.259
VL30	SEQ ID NO.260	SEQ ID NO.261	SEQ ID NO.262
VL31	SEQ ID NO.272	SEQ ID NO.273	SEQ ID NO.274
VL32	SEQ ID NO.275	SEQ ID NO.276	SEQ ID NO.277
VL33	SEQ ID NO.278	SEQ ID NO.279	SEQ ID NO.280
VL34	SEQ ID NO.290	SEQ ID NO.291	SEQ ID NO.292
VL35	SEQ ID NO.293	SEQ ID NO.294	SEQ ID NO.295
VL36	SEQ ID NO.296	SEQ ID NO.297	SEQ ID NO.298
VL37	SEQ ID NO.308	SEQ ID NO.309	SEQ ID NO.310
VL38	SEQ ID NO.311	SEQ ID NO.312	SEQ ID NO.313
VL39	SEQ ID NO.314	SEQ ID NO.315	SEQ ID NO.316

VL40	SEQ ID NO.326	SEQ ID NO.327	SEQ ID NO.328
VL41	SEQ ID NO.329	SEQ ID NO.330	SEQ ID NO.331
VL42	SEQ ID NO.332	SEQ ID NO.333	SEQ ID NO.334
VL43	SEQ ID NO.344	SEQ ID NO.345	SEQ ID NO.346
VL44	SEQ ID NO.347	SEQ ID NO.348	SEQ ID NO.349
VL45	SEQ ID NO.350	SEQ ID NO.351	SEQ ID NO.352
VL46	SEQ ID NO.362	SEQ ID NO.363	SEQ ID NO.364
VL47	SEQ ID NO.365	SEQ ID NO.366	SEQ ID NO.367
VL48	SEQ ID NO.368	SEQ ID NO.369	SEQ ID NO.370
VL49	SEQ ID NO.380	SEQ ID NO.381	SEQ ID NO.382
VL50	SEQ ID NO.383	SEQ ID NO.384	SEQ ID NO.385
VL51	SEQ ID NO.386	SEQ ID NO.387	SEQ ID NO.388
VL52	SEQ ID NO.398	SEQ ID NO.399	SEQ ID NO.400
VL53	SEQ ID NO.401	SEQ ID NO.402	SEQ ID NO.403
VL54	SEQ ID NO.404	SEQ ID NO.405	SEQ ID NO.406
VL55	SEQ ID NO.416	SEQ ID NO.417	SEQ ID NO.418
VL56	SEQ ID NO.419	SEQ ID NO.420	SEQ ID NO.421
VL57	SEQ ID NO.422	SEQ ID NO.423	SEQ ID NO.424
VL58	SEQ ID NO.434	SEQ ID NO.435	SEQ ID NO.436
VL59	SEQ ID NO.437	SEQ ID NO.438	SEQ ID NO.439
VL60	SEQ ID NO.440	SEQ ID NO.441	SEQ ID NO.442
VL61	SEQ ID NO.452	SEQ ID NO.453	SEQ ID NO.454
VL62	SEQ ID NO.455	SEQ ID NO.456	SEQ ID NO.457
VL63	SEQ ID NO.458	SEQ ID NO.459	SEQ ID NO.460
VL64	SEQ ID NO.470	SEQ ID NO.471	SEQ ID NO.472
VL65	SEQ ID NO.473	SEQ ID NO.474	SEQ ID NO.475
VL66	SEQ ID NO.476	SEQ ID NO.477	SEQ ID NO.478

VL67	SEQ ID NO.488	SEQ ID NO.489	SEQ ID NO.490
VL68	SEQ ID NO.491	SEQ ID NO.492	SEQ ID NO.493
VL69	SEQ ID NO.494	SEQ ID NO.495	SEQ ID NO.496
VL70	SEQ ID NO.506	SEQ ID NO.507	SEQ ID NO.508
VL71	SEQ ID NO.509	SEQ ID NO.510	SEQ ID NO.511
VL72	SEQ ID NO.512	SEQ ID NO.513	SEQ ID NO.514
VL73	SEQ ID NO.524	SEQ ID NO.525	SEQ ID NO.526
VL74	SEQ ID NO.527	SEQ ID NO.528	SEQ ID NO.529
VL75	SEQ ID NO.530	SEQ ID NO.531	SEQ ID NO.532
VL76	SEQ ID NO.542	SEQ ID NO.543	SEQ ID NO.544
VL77	SEQ ID NO.545	SEQ ID NO.546	SEQ ID NO.547
VL78	SEQ ID NO.548	SEQ ID NO.549	SEQ ID NO.550
VL79	SEQ ID NO.560	SEQ ID NO.561	SEQ ID NO.562
VL80	SEQ ID NO.563	SEQ ID NO.564	SEQ ID NO.565
VL81	SEQ ID NO.566	SEQ ID NO.567	SEQ ID NO.568
VL82	SEQ ID NO.578	SEQ ID NO.579	SEQ ID NO.580
VL83	SEQ ID NO.581	SEQ ID NO.582	SEQ ID NO.583
VL84	SEQ ID NO.584	SEQ ID NO.585	SEQ ID NO.586
VL85	SEQ ID NO.596	SEQ ID NO.597	SEQ ID NO.598
VL86	SEQ ID NO.599	SEQ ID NO.600	SEQ ID NO.601
VL87	SEQ ID NO.602	SEQ ID NO.603	SEQ ID NO.604
VL88	SEQ ID NO.614	SEQ ID NO.615	SEQ ID NO.616
VL89	SEQ ID NO.617	SEQ ID NO.618	SEQ ID NO.619
VL90	SEQ ID NO.620	SEQ ID NO.621	SEQ ID NO.622
VL91	SEQ ID NO.632	SEQ ID NO.633	SEQ ID NO.634
VL92	SEQ ID NO.635	SEQ ID NO.636	SEQ ID NO.637
VL93	SEQ ID NO.638	SEQ ID NO.639	SEQ ID NO.640

VL94	SEQ ID NO.650	SEQ ID NO.651	SEQ ID NO.652
VL95	SEQ ID NO.653	SEQ ID NO.654	SEQ ID NO.655
VL96	SEQ ID NO.656	SEQ ID NO.657	SEQ ID NO.658
VL97	SEQ ID NO.668	SEQ ID NO.669	SEQ ID NO.670
VL98	SEQ ID NO.671	SEQ ID NO.672	SEQ ID NO.673
VL99	SEQ ID NO.674	SEQ ID NO.675	SEQ ID NO.676
VL100	SEQ ID NO.686	SEQ ID NO.687	SEQ ID NO.688
VL101	SEQ ID NO.689	SEQ ID NO.690	SEQ ID NO.691
VL102	SEQ ID NO.692	SEQ ID NO.693	SEQ ID NO.694
VL103	SEQ ID NO.704	SEQ ID NO.705	SEQ ID NO.706
VL104	SEQ ID NO.707	SEQ ID NO.708	SEQ ID NO.709
VL105	SEQ ID NO.710	SEQ ID NO.711	SEQ ID NO.712

各个 CDR1-VH、CDR2-VH、CDR3-VH、CDR1-VL、CDR2-VL 和 CDR3-VL 为根据 KABAT、Chothia 或 IMGT 的通行分析方法编码。

特别地，例如本发明的抗体或其抗原结合片段包含选自以下的重链 CDRs 和轻链 CDRs 组合：VH1+VL1、VH2+VL2、VH3+VL3、VH4+VL4、VH5+VL5、VH6+VL6、VH7+VL7、VH8+VL8、VH9+VL9、VH10+VL10、VH11+VL11、VH12+VL12、VH13+VL13、VH14+VL14、VH15+VL15、VH16+VL16、VH17+VL17、VH18+VL18、VH19+VL19、VH20+VL20、VH21+VL21、VH22+VL22、VH23+VL23、VH24+VL24、VH25+VL25、VH26+VL26、VH27+VL27、VH28+VL28、VH29+VL29、VH30+VL30、VH31+VL31、VH32+VL32、VH33+VL33、VH34+VL34、VH35+VL35、VH36+VL36、VH37+VL37、VH38+VL38、VH39+VL39、VH40+VL40、VH41+VL41、VH42+VL42、VH43+VL43、VH44+VL44、VH45+VL45、VH46+VL46、VH47+VL47、VH48+VL48、VH49+VL49、VH50+VL50、VH51+VL51、VH52+VL52、VH53+VL53、VH54+VL54、VH55+VL55、VH56+VL56、VH57+VL57、VH58+VL58、VH59+VL59、VH60+VL60、VH61+VL61、VH62+VL62、VH63+VL63、VH64+VL64、VH65+VL65、VH66+VL66、VH67+VL67、VH68+VL68、VH69+VL69、VH70+VL70、VH71+VL71、VH72+VL72、VH73+VL73、VH74+VL74、VH75+VL75、VH76+VL76、VH77+VL77、VH78+VL78、VH79+VL79、VH80+VL80、VH81+VL81、VH82+VL82、VH83+VL83、VH84+VL84、VH85+VL85、VH86+VL86、VH87+VL87、VH88+VL88、VH89+VL89、VH90+VL90、VH91+VL91、VH92+VL92、VH93+VL93、VH94+VL94、VH95+VL95、VH96+VL96、VH97+VL97、VH98+VL98、VH99+VL99、VH100+VL100、VH101+VL101、VH102+VL102、VH103+VL103、VH104+VL104、或 VH105+VL105，以及与所述重链和轻链 CDRs 组合之序列相比具有 1、2、3 或更多个氨基酸插入、缺失和/或替换的 CDRs 组合。

在一个具体实施方案中，本发明提供这样的抗体或其抗原结合片段，其包含：

(1) 重链可变区具有 SEQ ID NO:13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、33、35、

37、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、或 81 所示序列；轻链可变区具有 SEQ ID NO:14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76、78、80 或 82 所示序列；

(2) 与上述 (1) 所示序列具有至少 90%同一性的氨基酸序列，优选为至少 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%同一性；或，

(3) 所述抗体或抗原结合片段的框架区与上述 (1) 所示氨基酸序列的框架区具有至少 90%同一性，优选为至少 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%同一性。

在一个优选的实施方案中，本发明的抗体或抗原结合片段与人 CD22 结合的解离常数 (KD) 不大于 10^{-6} M，与恒河猴 CD22 结合的解离常数 (KD) 不大于 10^{-6} M。

或，可选地，所述抗体或抗原结合片段与猴 CD22 结合或不结合；

可选地，所述抗体或抗原结合片段与鼠 CD22 结合或不结合。

在一个优选的实施方案中，本发明的抗体或抗原结合片段是嵌合的或人源化的或全人源的；优选地，所述抗体或抗原结合片段选自单克隆抗体、多克隆抗体、天然抗体、工程化抗体、单特异性抗体、多特异性抗体（例如双特异性抗体）、单价抗体、多价抗体、全长抗体、抗体片段、裸抗体、缀合抗体、人源化抗体、全人抗体、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fd、Fv、scFv、双抗体 (diabody) 或单域抗体。

在一个优选实施方案中，本发明的抗体或其抗原结合片段，包含人或鼠抗体 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、IgM、IgE 或 IgD 任何其中之一恒定区的序列；优选包含人或鼠抗体 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 的恒定区的序列；或携带突变的人或鼠抗体 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 的恒定区的序列。

在一个优选实施方案中，本发明所述抗原结合片段选自 F(ab)₂、Fab'、Fab、Fv、scFv、双特异抗体、纳米抗体和抗体最小识别单位中的一种或多种。

在一个优选实施方案中，本发明的抗体或其抗原结合片段还偶联有治疗剂或示踪剂；优选地，所述治疗剂选自放射性同位素、化疗药或免疫调节剂，所述示踪剂选自放射学造影剂、顺磁离子、金属、荧光标记、化学发光标记、超声造影剂或光敏剂。

在一个优选实施方案中，本发明还提供一种多特异性抗原结合分子；优选地，所述多特异性抗原结合分子包含第一抗原结合模块和第二抗原结合模块，所述第一抗原结合模块包含上述任一项所述的抗体或抗原结合片段，所述第二抗原结合模块特异性结合 CD22 以外的其他抗原或结合与第一抗原结合模块不同的 CD22 抗原表位；

优选地，所述其他抗原选自 CD3、CD16、CD16A、CD4、CD5、CD8、CD14、CD15、CD19、CD20、CD21、CD23、CD25、CD33、CD37、CD38、CD40、CD40L、CD46、CD52、CD54、CD66(a-d)、CD74、CD80、CD126、CD138、B7、MUC、Ia、HLA-DR、腱生蛋白、VEGF、P1GF、ED-B 纤连蛋白、癌基因产物、IL-2、IL-6、TRAIL-R1 或 TRAIL-R2；

优选地，所述多特异性抗体为双特异性抗体、三特异性抗体或四特异性抗体。

在一个优选实施方案中，本发明提供一种嵌合抗原受体 (CAR)；优选地，所述嵌合抗原受体至少包含细胞外抗原结合结构域、跨膜结构域和胞内信号传导结构域，所述细胞外抗原结合结构域包含上述任一项所述 CD22 抗体或抗原结合片段。

在一个优选实施方案中，本发明提供一种免疫效应细胞；优选地，所述免疫效应细胞包含上述所述嵌合抗原受体或包含上述所述嵌合抗原受体的核酸片段；

优选地，所述免疫效应细胞选自 T 细胞、NK 细胞 (natural killer cell)、NKT 细胞 (natural killer T cell)、单核细胞、巨噬细胞、树突状细胞或肥大细胞；所述 T 细胞可选自炎性 T 细胞、细胞毒性 T 细胞、调节性 T 细胞 (Treg) 或辅助性 T 细胞；

优选地，所述免疫效应细胞为同种异体免疫效应细胞或自体免疫细胞。

在一个优选实施方案中，本发明提供一种分离的核酸分子，所述核酸分子编码本发明上述任一项所述的纳米抗体、抗原结合片段、或其任意组合，上述所述的多特异性抗原结合分子或上述所述的嵌合抗原受体。

在一些实施方案中，本发明提供一种表达载体，其包含本发明上述所述分离的核酸分子。

在一些实施方案中，本发明提供一种宿主细胞，其包含本发明上述所述分离的核酸分子或表达载体。

在一个优选实施方案中，所述宿主细胞是真核细胞或原核细胞；更优选，所述宿主细胞来源于哺乳动物细胞、酵母细胞、昆虫细胞、大肠杆菌和/或枯草杆菌；更优选，所述宿主细胞选自 HEK293E 或中国仓鼠卵巢细胞 (CHO)。

在一些实施方案中，本发明提供一种抗体或抗原结合片段或多特异性抗原结合分子的制备方法，培养或在适当的条件下培养本发明上述所述的宿主细胞，并分离抗体或抗原结合片段或多特异性抗原结合分子。

在一些实施方案中，本发明提供一种免疫效应细胞的制备方法，将上述所述 CAR 的核酸片段导入免疫效应细胞，优选地，所述方法还包括启动所述免疫效应细胞表达上述所述的 CAR。

在一些实施方案中，本发明提供一种药物组合物，组合物包含本发明上述所述的抗体或抗原结合片段、本发明上述所述的多特异性抗原结合分子、本发明上述所述的嵌合抗原受体、本发明上述所述的免疫效应细胞、本发明上述所述分离的核酸分子、本发明上述所述的表达载体、本发明上述所述的细胞，或本发明上述所述方法制备的产品（例如抗体和抗原结合片段），以及药学上可接受的载体。

在一个优选实施方案中，所述药物组合物还包含药学上可接受的运载体 (carrier)、稀释剂或助剂；更优选地，所述药物组合物还包含额外的抗肿瘤剂。

在一些实施方案中，本发明提供一种预防和/或治疗 B 细胞疾病的方法，包含向有此需要的患者施用本发明上述所述的抗体或抗原结合片段、本发明上述所述的多特异性抗原结合分子、本发明上述所述的嵌合抗原受体、本发明上述所述的免疫效应细胞、本发明上述所述的分离的核酸分子、本发明上述所述的表达载体、本发明上述所述的细胞、本发明上述所述的方法制备的产品、或本发明上述所述的药物组合物；所述 B 细胞疾病优选肿瘤或自身免疫病；

优选地，所述肿瘤选自淋巴瘤或白血病，所述淋巴瘤或白血病选自 B 细胞淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、原发纵隔 B 细胞淋巴瘤、弥漫性大 B 细胞淋巴瘤、前体 B 细胞急性淋巴细胞白血病 (pre-B ALL)、急性淋巴细胞白血

病（ALL）、慢性淋巴细胞白血病、多发性骨髓瘤；

优选地，所述自身免疫病选自系统性红斑狼疮（SLE）、抗磷脂抗体综合征、多发性硬化症、溃疡性结肠炎、克罗恩病、类风湿性关节炎、斯耶格伦氏综合征、吉兰-巴雷综合征、重症肌无力、大血管血管炎、中血管血管炎、结节性多动脉炎、天疱疮、硬皮病、肺出血-肾炎综合征、肾小球肾炎、原发性胆汁性肝硬化、格雷夫斯氏病、膜性肾病、自身免疫性肝炎、口炎性腹泻、阿狄森氏病、多发性肌炎/皮肌炎、单克隆丙种球蛋白病、因子 VIII 缺乏、冷球蛋白血症、周围神经病变、IgM 多神经病、慢性神经病和慢性淋巴细胞性甲状腺炎。

在一些实施方案中，本发明提供上述所述的抗体或抗原结合片段、本发明上述所述的多特异性抗原结合分子、本发明上述所述的嵌合抗原受体、本发明上述所述的免疫效应细胞、本发明上述所述的分离的核酸分子、本发明上述所述的表达载体、本发明上述所述的细胞、本发明上述所述的方法制备的产品（例如抗体和抗原结合片段）、或本发明上述所述药物组合物在在制备预防和/或治疗 B 细胞疾病的药物中的用途，所述 B 细胞疾病优选肿瘤或自身免疫病；

优选地，所述肿瘤选自淋巴瘤或白血病，所述淋巴瘤或白血病选自 B 细胞淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、原发纵隔 B 细胞淋巴瘤、弥漫性大 B 细胞淋巴瘤、前体 B 细胞急性淋巴细胞白血病（pre-B ALL）、急性淋巴细胞白血病（ALL）、慢性淋巴细胞白血病、多发性骨髓瘤；

优选地，所述自身免疫病选自系统性红斑狼疮（SLE）、抗磷脂抗体综合征、多发性硬化症、溃疡性结肠炎、克罗恩病、类风湿性关节炎、斯耶格伦氏综合征、吉兰-巴雷综合征、重症肌无力、大血管血管炎、中血管血管炎、结节性多动脉炎、天疱疮、硬皮病、肺出血-肾炎综合征、肾小球肾炎、原发性胆汁性肝硬化、格雷夫斯氏病、膜性肾病、自身免疫性肝炎、口炎性腹泻、阿狄森氏病、多发性肌炎/皮肌炎、单克隆丙种球蛋白病、因子 VIII 缺乏、冷球蛋白血症、周围神经病变、IgM 多神经病、慢性神经病和慢性淋巴细胞性甲状腺炎。

在一些实施方案中，本发明提供上述所述的抗体或抗原结合片段、本发明上述所述的多特异性抗原结合分子、本发明上述所述的嵌合抗原受体、本发明上述所述的免疫效应细胞、本发明上述所述的分离的核酸分子、本发明上述所述的表达载体、本发明上述所述的细胞、本发明上述所述的方法制备的产品（例如抗体和抗原结合片段）、或本发明上述所述药物组合物用于预防和/或治疗 B 细胞疾病；所述 B 细胞疾病优选肿瘤或自身免疫病；

优选，所述肿瘤选自淋巴瘤或白血病，所述淋巴瘤或白血病选自 B 细胞淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、原发纵隔 B 细胞淋巴瘤、弥漫性大 B 细胞淋巴瘤、前体 B 细胞急性淋巴细胞白血病（pre-B ALL）、急性淋巴细胞白血病（ALL）、慢性淋巴细胞白血病、多发性骨髓瘤；

优选地，所述自身免疫病选自系统性红斑狼疮（SLE）、抗磷脂抗体综合征、多发性硬化症、溃疡性结肠炎、克罗恩病、类风湿性关节炎、斯耶格伦氏综合征、吉兰-巴雷综合征、重症肌无力、大血管血管炎、中血管血管炎、结节性多动脉炎、天疱疮、硬皮病、肺出血-肾炎综合征、肾小球肾炎、原发性胆汁性肝硬化、格雷夫斯氏病、膜性肾病、自身免疫性肝炎、口炎性腹泻、阿狄森氏病、多发性肌炎/皮肌炎、单克隆丙种球蛋白病、因子 VIII 缺乏、冷球蛋白血症、周围神经病变、IgM 多神经病、慢性神经病和慢性淋巴细胞性甲状腺炎。

在一些实施方案中，本发明提供一种试剂盒，其包含本发明上述所述的抗体或抗原结合片段、本发明上述所述的多特异性抗原结合分子、本发明上述所述的嵌合抗原受体、本发明上述所述的免疫效应细胞、本发明上述所述的分离的核酸分子、本发明上述所述的表达载体、本发明上述所述的细胞、或本发明上述所述的方法制备的产品（例如抗体和抗原结合片段）、或本发明上述所述的药物组合物，以及使用说明。

术语定义和说明

如本文所用，术语“抗体”（Ab）是指与目标抗原特异性结合或具有免疫反应性的免疫球蛋白分子，包括抗体的多克隆、单克隆、基因工程化和其他修饰形式（包括但不限于嵌合抗体，人源化抗体，全人源抗体，异源偶联抗体（例如双特异性、三特异性和四特异性抗体，双抗体，三抗体和四抗体，抗体缀合物）以及抗体的抗原结合片段（包括例如 Fab'、F(ab')₂、Fab、Fv、rIgG 和 scFv 片段）。此外，除非另有说明，否则术语“单克隆抗体”（mAb）意指包括能够特异性结合靶蛋白的完整抗体分子以及不完整的抗体片段（例如 Fab 和 F(ab')₂ 片段，它们缺少完整抗体的 Fc 片段（从动物循环中更快地清除），因此缺乏 Fc 介导的效应功能（effector function）（参见 Wahl 等人，J.Nucl. Med. 24:316, 1983；其内容援引加入本文）。

本文“抗体”可以来源于任何动物，包括但不限于人和非人动物，所述非人动物可选自灵长类动物、哺乳动物、啮齿动物和脊椎动物，例如骆驼科动物、大羊驼、原驼、羊驼、羊、兔、小鼠、大鼠或软骨鱼纲（例如鲨）。

本文术语“天然抗体”是指通过多细胞生物体的免疫系统制造和配对的抗体。本文术语“工程化抗体”的抗体是指通过基因工程、抗体工程等技术获得的非天然抗体，示例性地，“工程化抗体”包括人源化抗体、小分子抗体（例如 scFv 等）、双特异性抗体等等。

本文术语“单特异性”是指具有一个或多个结合位点，其中每个结合位点结合相同抗原的相同表位。

本文术语“多特异性”是指具有至少两个抗原结合位点，所述至少两个抗原结合位点中的每一个抗原结合位点与相同抗原的不同表位或与不同抗原的不同表位结合。因此，诸如“双特异性”、“三特异性”、“四特异性”等术语是指抗体/抗原结合分子可以结合的不同表位的数目。

本文术语“价”表示抗体/抗原结合分子中规定数目的结合位点的存在。因此，术语“单价”、“二价”、“四价”和“六价”分别表示抗体/抗原结合分子中一个结合位点、两个结合位点、四个结合位点和六个结合位点的存在。

本文“全长抗体”、“完好抗体”和“完整抗体”可互换使用，是指其具有基本上与天然抗体结构相似的结构。

如本文所用，术语“抗原结合片段”是指保留特异性结合靶抗原的能力的一个或多个抗体片段。抗体的抗原结合功能可以由全长抗体的片段执行。抗体片段可以是 Fab、F(ab')₂、scFv、SMIP、双抗体、三抗体、亲和体（affibody）、纳米抗体、适体或结构域抗体。涵盖术语抗体的“抗原结合片段”的结合片段的实例包括但不限于：（i）Fab 片段，一种由 VL、VH、CL 和 CH1 结构域组成的单价片段；（ii）F(ab)₂ 片段，一种包含由二硫键在铰链区连接

的两个 Fab 片段的双价片段；(iii) 由 VH 和 CH1 结构域组成的 Fd 片段；(iv) 由抗体单臂的 VL 和 VH 结构域组成的 Fv 片段；(v) 包含 VH 和 VL 结构域的 dAb；(vi) 由 VH 结构域组成的 dAb 片段 (Ward 等人, *Nature* 341:544-546, 1989)；(vii) 由 VH 或 VL 结构域组成的 dAb；(viii) 分离的互补决定区 (CDR)；以及 (ix) 两个或更多个分离的 CDR 的组合，所述 CDR 可以任选地由合成接头连接。此外，虽然 Fv 片段的两个结构域 VL 和 VH 是通过独立的基因编码的，但是这两个结构域可以使用重组方法通过接头接合，该接头能够使其制成其中 VL 和 VH 区配对以形成单价分子的单蛋白质链 (称为单链 Fv (scFv)；参见例如, Bird 等人, *Science* 242:423-426, 1988 以及 Huston 等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883, 1988)。这些抗体片段可以使用本领域技术人员已知的常规技术获得，并且这些片段被筛选用于与完整抗体相同的方式使用。可以通过重组 DNA 技术、完整免疫球蛋白的酶促或化学裂解、或在一些实施方式中通过本领域已知的化学肽合成程序来产生抗原结合片段。

如本文所用，术语“CD22”是指属于 SIGLEC 凝集素家族的分子 Siglec-2，其存在于成熟 B 细胞的表面上，并且在某些未成熟的 B 细胞上存在程度较低。术语“CD22”包括任何人类和非人类动物物种的 CD22 蛋白，并且具体地包括人类 CD22 以及非人类哺乳动物的 CD22。

如本文所用，术语“双特异性抗体”是指对至少两种不同的抗原具有单克隆结合特异性的抗体，其通常是人或人源化的抗体。在本发明中，结合特异性之一可以针对 CD22 的抗原表位而被检测，另一个可以针对 CD22 的另一个抗原表位或除 CD22 外的任何其他抗原，例如针对细胞表面蛋白、受体、受体亚基、组织特异性抗原、病毒来源蛋白、病毒编码的包膜蛋白、细菌来源蛋白或细菌表面蛋白等而被检测。

如本文所用，术语“嵌合”抗体是指以下抗体，其具有源自一种来源生物 (如大鼠或小鼠) 的免疫球蛋白的可变序列以及源自不同生物体 (例如人) 的免疫球蛋白的恒定区。用于生产嵌合抗体的方法是本领域已知的。参见例如, Morrison, 1985, *Science* 229(4719):1202-7; Oi 等人, 1986, *Bio Techniques* 4:214-221; Gillies 等人, 1985 *J Immunol Methods* 125:191-202; 以上通过援引加入并入本文。

如本文所用，术语“重链抗体”是指缺乏常规抗体的轻链的抗体。该术语具体包括但不限于在不包含 CH1 结构域的情况下包含 VH 抗原结合结构域以及 CH2 和 CH3 恒定结构域的同型二聚体抗体。

如本文所用，术语“纳米抗体”是指骆驼体内存在天然的缺失轻链的重链抗体，克隆其可变区可以得到只有重链可变区组成的单域抗体，也称为 VHH (Variable domain of heavy chain of heavy chain antibody)，它是最小的功能性抗原结合片段。关于 VHH 和纳米抗体的进一步描述，参考 Muylldermans 的综述文章 (2001, *Reviews in Molecular Biotechnology* 74: 277-302)，以及参考作为一般背景技术提及的以下专利申请：布鲁塞尔自由大学的 WO 94/04678、WO 95/04079 和 WO 96/34103；联合利华的 WO 94/25591、WO 99/37681、WO 00/40968、WO 00/43507、WO 00/65057、WO 01/40310、WO 01/44301、EP 1134231 和 WO 02/48193；Vlaams Instituut voor Biotechnologie (VIB) 的 WO 97/49805、WO 01/21817、WO 03/035694、WO 03/054016 和 WO 03/055527；Algonomics N.V. 和 Ablynx N.V. 的 WO 03/050531；加拿大国家研究理事会的 WO 01/90190；Institute of Antibodies 的 WO 03/025020 (=EP 1433793)；

以及 Ablynx N.V. 的 WO 04/041867、WO 04/041862、WO 04/041865、WO 04/041863、WO 04/062551、WO 05/044858、WO 06/40153、WO 06/079372、WO 06/122786、WO 06/122787 和 WO 06/122825，和 Ablynx N.V. 的进一步公开的专利申请。还参考了这些申请中提及的另外的现有技术，特别是国际申请 WO 06/040153 第 41-43 页上提及的参考文献列表，所述列表和参考文献通过引用并入本文。如这些参考文献中所述，纳米抗体(特别是 VHH 序列和部分人源化的纳米抗体)尤其可以通过在一个或多个框架序列中存在一个或多个“特征残基”来表征。可在例如 WO 08/101985 和 WO 08/142164 中发现纳米抗体的进一步描述，包括纳米抗体的人源化和/或骆驼源化，以及其他的修饰，部分或片段，衍生物或“纳米抗体融合”，多价构建体(包括接头序列的一些非限制性实例)和增加纳米抗体及其制剂的半衰期的不同修饰。对于纳米抗体的进一步的一般描述，参考本文引用的现有技术，例如 WO 08/020079(第 16 页)中所述。

如本文所用，术语“互补决定区”(CDR)指在轻链和重链可变结构域中均发现的高变区。可变结构域中更高保守性的部分称为框架区(FR)。如本领域所理解的，表示抗体的高变区的氨基酸位置可以根据上下文和本领域已知的各种定义而变化。可变结构域内的一些位置可以被视为杂合高变位置，因为这些位置可以被认为是在一组标准(如 IMGT 或 KABAT)下的高变区之内，而被认为在不同组的标准(如 KABAT 或 IMGT)下的高变区之外。这些位置中的一个或多个也可以在延伸的高变区中找到。本发明包括在这些杂合高变的位置中包含修饰的抗体。天然重链和轻链的可变结构域各自包含主要采用片层构型的四个框架区，其通过三个 CDR(CDR1、CDR2 和 CDR3)连接，这三个 CDR 形成连接片层结构的环，并且在一些情况下形成片层结构的一部分。每条链中的 CDR 通过 FR 区按顺序 FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4 紧密保持在一起，并且与来自其他抗体链的 CDR 促成了抗体的抗原结合位点的形成(参见 Kabat 等人, Sequences of Protein of Immunological Interest, National Institute of Health, Bethesda, Md. 1987; 其通过援引加入并入本文)。例如在本文中，CDR1-VH、CDR2-VH 和 CDR3-VH 分别是指重链可变区(VH)的第一个 CDR、第二个 CDR 和第三个 CDR，这三个 CDR 构成了重链(或其可变区)的 CDR 组合(VHCDR 组合)；CDR1-VL、CDR2-VL 和 CDR3-VL 分别是指轻链可变区(VL)的第一个 CDR、第二个 CDR 和第三个 CDR，这三个 CDR 构成了轻链(或其可变区)的 CDR 组合(VLCDR 组合)。

如本文所用，术语“单克隆抗体”是指来源于单个克隆(包括任何真核、原核、或噬菌体克隆)的抗体，而限于该抗体的产生方法。

如本文所用，术语“VH”是指抗体的免疫球蛋白重链(包括 Fv、scFv 或 Fab 的重链)的可变区。术语“VL”是指免疫球蛋白轻链(包括 Fv、scFv、dsFv 或 Fab 的轻链)的可变区。

本文术语“重链恒定区”是指抗体重链的羧基端部分，其不直接参与抗体与抗原的结合，但是表现出效应子功能，诸如与 Fc 受体的相互作用，其相对于抗体的可变结构域具有更保守的氨基酸序列。“重链恒定区”至少包含以下之一：CH1 结构域，铰链区，CH2 结构域，CH3 结构域，或其变体或片段。“重链恒定区”包括“全长重链恒定区”和“重链恒定区片段”，前者具有基本上与天然抗体恒定区基本相似的结构，而后者仅包括“全长重链恒定区的一部分”。示例性地，典型的“全长抗体重链恒定区”由 CH1 结构域-铰链区-CH2 结构域-CH3 结构域组成；当抗体为 IgE 时，其还包括 CH4 结构域；当抗体为重链抗体时，则其不包括 CH1 结构域。示例性地，典型的“重链恒定区片段”可选自 CH1、Fc 或 CH3 结构域。

本文术语“轻链恒定区”是指抗体轻链的羧基端部分，其不直接参与抗体与抗原的结合，所述轻链恒定区可选自恒定 κ 结构域或恒定 λ 结构域。

本文术语“Fc”是指完整抗体经木瓜蛋白酶水解而成的抗体羧基端部分，典型地，其包含抗体的CH3和CH2结构域。Fc区包括例如天然序列Fc区、重组Fc区和变体Fc区。尽管免疫球蛋白重链的Fc区的边界可以略微变化，但是人IgG重链的Fc区通常被定义为从Cys226位置的氨基酸残基或从Pro230延伸至其羧基末端。Fc区的C末端赖氨酸(根据EU编号系统的残基447)可以例如在抗体的产生或纯化过程中，或通过编码抗体重链的核酸重组工程化而除去，因此，Fc区可包括或不包括Lys447。

本文术语“人源化抗体”是指，经基因工程改造的非人源抗体，其氨基酸序列经修饰以提高与人源抗体的序列的同源性。通常而言，人源化抗体的全部或部分CDR区来自于非人源抗体(供体抗体)，全部或部分的非CDR区(例如，可变区FR和/或恒定区)来自于人源免疫球蛋白(受体抗体)。人源化抗体通常保留或部分保留了供体抗体的预期性质，包括但不限于，抗原特异性、亲和性、反应性、提高免疫细胞活性的能力、增强免疫应答的能力等。

本文术语“全人抗体”是指具有其中FR和CDR二者都源自人种系免疫球蛋白序列的可变区的抗体。此外，如果抗体包含恒定区，则恒定区也源自人种系免疫球蛋白序列。本文全人抗体可以包括不由人种系免疫球蛋白序列编码的氨基酸残基(例如，通过体外随机或位点特异性诱变或通过体内体细胞突变引入的突变)。然而，本文“全人抗体”不意图包括其中来源于另一个哺乳动物物种(例如小鼠)的种系的CDR序列已被移植到人框架序列上的抗体。

本文术语“裸抗体”是指不与另一种作用剂或分子(例如标记或药物)、肽或多肽连接、融合或缀合的抗体。在具体的实施方案中，由哺乳动物宿主细胞表达的裸抗体可被宿主细胞的糖基化机器(例如糖基化酶)糖基化。在某些实施方案，当通过不具有其自身糖基化机器(例如糖基化酶)的宿主细胞表达时，裸抗体不被糖基化。在某些实施方案中，裸抗体是完整抗体，而在其它实施方案中，裸抗体是完整抗体的抗原结合片段，例如Fab抗体。

本文术语“缀合抗体”是指可与药学上可接受的载体或稀释剂缔合的抗体，其可为单克隆抗体、嵌合抗体、人源化抗体或人抗体。

本文术语“双抗体”是指二价的双特异性抗体，可以与相同或不同抗原上的不同表位结合。

如本文所用，术语“百分比(%)序列一致性”是指在为达到最大百分比序列一致性而比对序列和引入空位(如果需要)(例如，为了最佳比对，可以在候选和参比序列中的一个或两个中引入空位，并且出于比较的目的，可以忽略非同源序列)之后，候选序列的氨基酸(或核苷酸)残基与参比序列的氨基酸(或核苷酸)残基相同的百分比。出于确定百分比序列一致性的目的，可以用本领域技术人员熟知的多种方式来实现比对，例如使用公众可得的计算机软件，如BLAST、ALIGN或MegaAlign(DNASTAIi)软件。本领域技术人员可以确定用于测量比对的适当参数，包括需要在被比较序列的全长范围实现最大比对的任何算法。例如，用于与候选序列进行比较而比对的参比序列可以显示候选序列在候选序列的全长或候选序列的连续氨基酸(或核苷酸)残基的选定部分上表现出从50%至100%的序列同一性。出于比较目的而比对的候选序列的长度可以是例如参比序列的长度的至少30%(例如30%、40%、50%、60%、

70%、80%、90%或 100%)。当候选序列中的位置被与在参比序列中的相应位置相同的氨基酸(或核苷酸)残基占据时,则这些分子在那个位置是相同的。

本文术语“保守氨基酸”通常是指属于同一类或具有类似特征(例如电荷、侧链大小、疏水性、亲水性、主链构象和刚性)的氨基酸。示例性地,下述每组内的氨基酸彼此属于保守氨基酸残基,组内氨基酸残基的替换属于保守氨基酸的替换:

- (1) 酸性氨基酸: Asp (D) 和 Glu (E);
- (2) 碱性氨基酸: Lys (K)、Arg (R) 和 His (H);
- (3) 亲水性不带电荷氨基酸: Ser (S)、Thr (T)、Asn (N) 和 Gln (Q);
- (4) 脂肪族不带电荷氨基酸: Gly (G)、Ala (A)、Val (V)、Leu (L) 和 Ile (I);
- (5) 非极性不带电荷的氨基酸: Cys (C)、Met (M) 和 Pro (P);
- (6) 芳香族氨基酸: Phe (F)、Tyr (Y) 和 Trp (W)。

本文术语“Kabat 编号系统”通常是指由 Elvin A. Kabat 提出的免疫球蛋白比对及编号系统(参见,例如 Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991)。

本文术语“Chothia 编号系统”通常是指由 Chothia 等人提出的免疫球蛋白编号系统,其是基于结构环区的位置鉴定 CDR 区边界的经典规则(参见,例如 Chothia&Lesk(1987) J. Mol. Biol. 196:901-917; Chothia 等人(1989) Nature 342:878- 883)。

本文术语“IMGT 编号系统”通常是指由 Chothia 等人提出的免疫球蛋白编号系统,其是基于结构环区的位置鉴定 CDR 区边界的经典规则(参见,例如 Chothia&Lesk(1987) J. Mol. Biol. 196:901-917; Chothia 等人(1989) Nature 342:878- 883)。

如本文所用,术语“特异性结合”是指一种结合反应,其决定抗原在蛋白质和其他生物分子的一个异质性群体中的存在状况,所述蛋白质和其他生物分子例如被抗体或其抗原结合片段特异性识别。与抗原特异性结合的抗体或其抗原结合片段将以小于 100nM 的 KD 与抗原结合。例如,与抗原特异性结合的抗体或其抗原结合片段将以高达 100nM (例如,1pM 至 100nM 之间)的 KD 与抗原结合。不显示与特定抗原或其表位特异性结合的抗体或其抗原结合片段将显示对该特定抗原或其表位的大于 100nM (例如,大于 500nM、1 μ M、100 μ M、500 μ M 或 1mM)的 KD。可以使用多种免疫测定方式来选择与特定蛋白或碳水化合物进行特异性免疫反应的抗体。例如,常规地使用固相 ELISA 免疫测定法来选择与蛋白质或碳水化合物进行特异性免疫反应的抗体。参见, Harlow & Lane, Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press, New York (1988) 以及 Harlow & Lane, Using Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press, New York (1999), 其描述了可以用于确定特异免疫反应性的免疫测定方式和条件。

如本文所用,术语“抗体缀合物”是指抗体分子直接或者通过连接接头与另一个分子化学键合而形成的偶联体/缀合物。例如抗体-药物缀合物(ADC),其中药物分子就是所述的另一个分子。

本文术语“嵌合抗原受体(CAR)”是指这样的重组蛋白,其包含至少(1)细胞外抗原结

合结构域,例如抗体的可变重链或轻链,(2)锚定 CAR 进入免疫效应细胞的跨膜结构域,和(3)胞内信号传导结构域。在某些实施方式中,CAR 的细胞外抗原结合结构域包含 scFv。scFv 可以源自融合抗体的可变重和轻区。替代地或另外,scFv 可以衍生自 Fab' s(而不是抗体,例如获自 Fab 文库)。在某些实施方式中,将 scFv 融合至跨膜结构域,然后融合至细胞内信号传导结构域。

本文术语“核酸”包括包含核苷酸的聚合物的任何化合物和/或物质。每个核苷酸由碱基,特别是嘌呤或嘧啶碱基(即胞嘧啶(C)、鸟嘌呤(G)、腺嘌呤(A)、胸腺嘧啶(T)或尿嘧啶(U))、糖(即脱氧核糖或核糖)和磷酸基团组成。通常,核酸分子由碱基的序列描述,由此所述碱基代表核酸分子的一级结构(线性结构)。碱基的序列通常表示为 5' 至 3'。在本文中,术语核酸分子涵盖脱氧核糖核酸(DNA),包括例如互补 DNA(cDNA)和基因组 DNA、核糖核酸(RNA),特别是信使 RNA(mRNA)、DNA 或 RNA 的合成形式,以及包含两种或更多种这些分子的混合的聚合物。核酸分子可以是线性的或环状的。此外,术语核酸分子包括有义链和反义链二者,以及单链和双链形式。而且,本文所述的核酸分子可含有天然存在的或非天然存在的核苷酸。非天然存在的核苷酸的例子包括具有衍生的糖或磷酸骨架键合或化学修饰的残基的修饰的核苷酸碱基。核酸分子还涵盖 DNA 和 RNA 分子,其适合作为载体用于在体外和/或体内,例如在宿主或患者中,直接表达本发明的抗体。此类 DNA(例如 cDNA)或 RNA(例如 mRNA)载体可以是未修饰的或修饰的。例如,可以对 mRNA 进行化学修饰以增强 RNA 载体的稳定性和/或被编码分子的表达,从而可以将 mRNA 注入到受试者内以在体内产生抗体(参见例如 Stadler 等人, Nature Medicine 2017, published online 2017 年 6 月 12 日, doi: 10.1038/nm.4356 或 EP 2 101 823 B1)。

如本文所用,术语“载体”包括核酸载体,例如 DNA 载体(如质粒),RNA 载体,病毒或其他适合的复制子(例如病毒载体)。已经开发了多种载体用于将编码外源蛋白质的多核苷酸递送到原核或真核细胞中。本发明的表达载体含有多核苷酸序列以及例如用于表达蛋白质和/或将这些多核苷酸序列整合到哺乳动物细胞基因组中的附加序列元件。可以用于表达本发明的抗体和抗体片段的某些载体包括含有指导基因转录的调控序列(如启动子和增强子区域)的质粒。用于表达抗体和抗体片段的其他有用的载体含有多核苷酸序列,其增强这些基因的翻译速率或改善由基因转录产生的 mRNA 的稳定性或核输出。这些序列元件包括例如 5' 和 3' 非翻译区、内部核糖体进入位点(IRES)和聚腺苷酸化信号位点,以便指导表达载体上携带的基因的有效转录。本发明的表达载体还可以含有以下多核苷酸,该多核苷酸编码用于选择含有这种载体的细胞的标记。适合的标记的实例包括编码抗生素(如氨基青霉素、氯霉素、卡那霉素或诺尔丝菌素)抗性的基因。

本文术语“宿主细胞”是指细胞中引入外源核酸的细胞,包括这种细胞的后代。宿主细胞包括“转化体”和“经转化的细胞”,其包括原代的经转化的细胞和来源于其的后代,而不考虑传代的次数。后代在核酸内容物上可能与亲本细胞不完全相同,而是可以包含突变。本文中包括具有与在初始转化的细胞中筛选或选择的相同功能或生物学活性的突变体后代。

本文术语“药物组合物”是指这样的制剂,其以允许包含在其中的活性成分的生物活性有效的形式存在,并且不含有对施用所述药物组合物的受试者具有不可接受的毒性的另外的成分。

如本文所用，术语“受试者”、“对象”和“患者”是指接受对如本文所述的特定疾病或病症（如癌症或传染性疾病）的治疗的生物体。对象和患者的实例包括接受疾病或病症（例如细胞增殖性病症，如癌症或传染性疾病）的治疗的哺乳动物，如人、灵长类动物、猪、山羊、兔、仓鼠、猫、狗、豚鼠、牛科家族成员（如家牛、野牛、水牛、麋鹿和牦牛等）、绵羊和马等。

如本文所用，术语“治疗”是指外科手术或药物处理（surgical or therapeutic treatment），其目的是预防、减缓（减少）治疗对象中不希望的生理变化或病变，如细胞增殖性病症（如癌症或传染性疾病）的进展。有益的或所希望的临床结果包括但不限于症状的减轻、疾病程度减弱、疾病状态稳定（即，未恶化）、疾病进展的延迟或减慢、疾病状态的改善或缓和、以及缓解（无论是部分缓解或完全缓解），无论是可检测的或不可检测的。需要治疗的对象包括已患有病症或疾病的对象以及易于患上病症或疾病的对象或打算预防病症或疾病的对象。当提到减缓、减轻、减弱、缓和、缓解等术语时，其含义也包括消除、消失、不发生等情况。

本文术语“有效量”指单独给予或与另一治疗剂组合给予细胞、组织或对象时能有效防止或缓解疾病病症或该疾病进展的治疗剂用量。“有效量”还指足以缓解症状，例如治疗、治愈、防止或缓解相关医学病症，或治疗、治愈、防止或缓解这些病症的速度增加的化合物用量。当将活性成分单独给予个体时，治疗有效剂量单指该成分。当应用某一组合时，治疗有效剂量指产生治疗作用的活性成分的组合用量，而无论是组合、连续或同时给予。

本文术语“适当的条件”指适合培养各种宿主细胞的条件，其中宿主细胞包括真核细胞和原核细胞。

本文术语“癌症”指向或描述哺乳动物中典型地以不受调节的细胞生长为特征的生理状况。此定义中包括良性和恶性癌症。

本文术语“肿瘤”指所有赘生性(neoplastic)细胞生长和增殖，无论是恶性的还是良性的，及所有癌前(pre-cancerous)和癌性细胞和组织。术语“癌症”和“肿瘤”在本文中提及时并不互相排斥。

本文术语“抗肿瘤剂”指抗肿瘤药物，其为治疗肿瘤疾病的一类药物，例如化疗药物、生物制剂等。

本文术语“EC50”是指半最大有效浓度，其包括在指定暴露时间之后诱导基线与最大值之间的半途响应的抗体浓度。EC50本质上代表其中观察到其最大作用的50%的抗体浓度，可通过本领域已知方法测量。

附图说明

除非本发明另外定义，与本发明相关的科学和技术术语应具有本领域普通技术人员所理解的含义。

图1为CD22-ECD-His、CD22 domain1-4-His和CD22 domain5-7-His蛋白样品SDS-PAGE还原胶和非还原胶检测结果。泳道1为非还原条件下hCD22-ECD-His的蛋白条带，泳道2为非还原条件下hCD22 domain5-7-His的蛋白条带，泳道3为还原条件下hCD22 domain5-7-His的蛋白条带，泳道4为还原条件下hCD22-ECD-His的蛋白条带，泳道5为非还原条件下hCD22

domain1-4-His 的蛋白条带，泳道 6 为还原条件下 hCD22 domain1-4-His 的蛋白条带，泳道 M 为蛋白 marker 条带。

图 2A 为 HA22 抗体检测 Raji 细胞 CD22 表达量的 FACS 结果；图 2B 为 m971 抗体检测 Raji 细胞 CD22 表达量的 FACS 结果。

图 3A 为人 CD22 蛋白转染的 CHO-K1-人 CD22 2C4 细胞 FACS 筛选检测结果；图 3B 为人 CD22 蛋白转染的 CHO-K1-人 CD22 1G5 细胞 FACS 筛选检测结果；图 3C 为人 CD22 蛋白转染的 CHO-K1-人 CD22 1D9 细胞 FACS 筛选检测结果。

图 4 为 hL22 抗体检测猴 CD22 蛋白转染的 HEK293T 细胞的 FACS 结果。

图 5 为 ELISA 检测嵌合抗体与人 CD22-ECD-His 蛋白的结合反应。抗 CD22 阳性对照抗体为：HA22 和 m971，阴性对照为 hIgG1。

图 6A 为 FACS 检测本发明嵌合抗体与 Raji 的结合反应；图 6B 为 FACS 检测本发明嵌合抗体与 CHO-K1-人 CD22 的结合反应；抗 CD22 阳性对照抗体为：HA22 和 m971，阴性对照为 hIgG1；图 6C 为 FACS 检测 1nM 和 10nM 本发明的嵌合抗体与 Raji 细胞和 MOLT4 细胞的结合反应；图 6D 为 FACS 检测 1nM 和 10nM 本发明的嵌合抗体与 CHO-K1 细胞和 CHO-K1-人 CD22 细胞的结合反应。

图 7 为 ELISA 检测本发明嵌合抗体与鼠 CD22-ECD-His 蛋白的结合反应；阳性对照为 983；阴性对照为 hIgG1。

图 8 为 ELISA 检测本发明嵌合抗体与猴 CD22-ECD-His 蛋白的结合反应；阳性对照为 HA22；阴性对照为 hIgG1。

图 9A 为 FACS 检测本发明嵌合抗体与 HEK293T-猴 CD22 的结合反应；抗 CD22 阳性对照抗体为：HA22，阴性对照为 hIgG1；图 9B 为 FACS 检测 1nM 和 10nM 本发明的嵌合抗体与 HEK293T 细胞和 HEK293T-猴 CD22 的结合反应。

图 10A-10B 为 FACS 检测 CD20 抗体和 1nM 本发明的嵌合抗体双染色食蟹猴外周血单核细胞散点图，CD20 为 B 细胞标记物，图中所示比例为嵌合抗体阳性细胞占 CD20 阳性细胞比例，抗 CD22 阳性对照抗体为：HA22 和 hL22，阴性对照为 hIgG1。

图 11A 为 ELISA 检测本发明嵌合抗体与人 CD22 domain1-4-His 蛋白的结合反应；图 11B 为 ELISA 检测本发明嵌合与人 CD22 domain5-7-His 蛋白的结合反应。抗 CD22 domain1-4 阳性对照抗体为 HA22，抗 CD22 domain5-7 阳性对照抗体为 m971，阴性对照为 hIgG1。

具体实施方式

下面结合具体实施例来进一步描述本发明，本发明的优点和特点将会随着描述而更为清楚。实施例中未注明具体条件者，按照常规条件或制造商建议的条件进行。所用试剂或仪器未注明生产厂商者，均为可以通过市售购买获得的常规产品。

本发明实施例仅是范例性的，并不对本发明的范围构成任何限制。本领域技术人员应该理解的是，在不偏离本发明的精神和范围下可以对本发明技术方案的细节和形式进行修改或替换，但这些修改和替换均落入本发明的保护范围内。

实施例 1

1.1 人 CD22-His 标签蛋白的制备

CD22 蛋白胞外具有 7 个类 IgG 样结构域，其中 domain1 位于最远膜端，domain7 位于最近膜端。将含有编码人 CD22 蛋白的氨基酸序列（NCBI: NP_001762.2, SEQ ID NO:1）、胞外区（ECD, extra-cellular domain）氨基酸序列 Asp 20 - Arg 687（SEQ ID NO: 2）、结构域（domain）1-4 Asp 20-Val 425 氨基酸序列（SEQ ID NO: 3）和结构域（domain）5-7 Asp 414- Arg 687 氨基酸序列（SEQ ID NO: 4）的核苷酸序列分别克隆到 pTT5 载体（由通用生物系统（安徽）有限公司完成）并按已建立的标准分子生物学方法制备质粒，对应的氨基酸序列信息如下表 1 所示。具体方法参见 Sambrook, J., Fritsch, E. F., and Maniatis, T. (1989). *Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Second Edition* (Plainview, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press)。对 HEK293E 细胞（购自苏州益研生物科技有限公司）进行瞬时转染（PEI, Polysciences, 货号：24765-1），并使用 FreeStyle™ 293（Thermofisher scientific, 货号：12338018）在 37℃ 下进行扩大培养。6 天后收集细胞培养液，离心去除细胞成分，获得含人 CD22 蛋白胞外区的培养上清液。将培养上清液上样到镍离子亲和层析柱 HisTrap™ Excel（GE Healthcare, 货号：GE17-3712-06），同时用紫外（UV）检测仪监测紫外吸收值（A280nm）的变化。上样后用 20mM PB, 0.5M NaCl（pH7.4）清洗镍离子亲和层析柱直到紫外吸收值回到基线，然后用 buffer A: 20mM PB, 0.5M NaCl（pH7.4）和 buffer B : 20mM PB, 0.5M NaCl, 500mM 咪唑进行梯度洗脱（2%, 4%, 8%, 16%, 50%, 100%），收集从镍离子亲和层析柱上洗脱下来的带 His 标签的人 CD22 蛋白，用 PBS 磷酸盐缓冲液（pH7.4）在 4℃ 冰箱透析过夜。透析后的蛋白经 0.22 微米滤膜无菌过滤后分装于 -80℃ 保存，即获得纯化的人 CD22 蛋白， SDS-PAGE 还原胶和非还原胶检测样品目的条带如图 1 所示。

表 1. 人 CD22 蛋白及胞外区氨基酸序列

序列名称	序列编号	氨基酸序列
人 CD22 蛋白	SEQ ID NO: 1	MHLLGPWLLLLVLEYLAFSDSSKWVFEHPETLYAWEGACVWIPC TYRALDGDLESFILFHNPEYNKNTSKFDGTRLYESTKDGKVPSEQ KRVQFLGDKNKNCTLSIHPVHLNDSGQLGLRMESKTEKWMERIH LNVSERPFPPHIQLPPEIQESQEVTLTCLLNFSYGYPIQLQWLLEG VPMRQAAVTSTSLTIKSVFTRSELKFSPQWSHHGKIVTCQLQDAD GKFLSNDTVQLNVKHTPKLEIKVTPSDAIVREGDSVTMTCEVSSS NPEYTTVSWLKDGTSLKKQNTFTLNLREVTKDQSGKYCCQVSND VGPRSEEVFLQVQYAPEPSTVQILHSPAVEGSQVEFLCMSLANPL PTNYTWYHNGKEMQGRTEEKVHIPKILPWHAGTYSCVAENILGT GQRGPGAELDVQYPPKVTTVIQNPMPIREGDTVTLSCNYNSSNP SVTRYEWKPHGAWEEPSLGVKIQNVGWDNTTIAACAACNSWCS WASPVALNVQYAPRDVVRKIKPLSEIHSGNSVSLQCDFSSHPKE VQFFWEKNGRLLGKESQLNFDSPEDAGSYSCWVNNSIGQTASK AWTLEVLVYAPRRLRVSMSPGDQVMGKSATLTCESDANPPVSHY TWFDWNNQSLPYHSQKLRLEPVKVQHSGAYWCQGTNSVKGGRS PLSTLTVYYSPETIGRRVAVGLGSLAILILAICGLKLRRWKRTQS QQGLQENSSGQSFVRNKKVRRAPLSEGPLSLGCYNPMMEDGIS YTTLRFPEMNIPRTGDAESSEMQRPPDCDDTVTYSALHKRQVGD YENVIPDFPEDEGIHYSELIQFGVGERPQAQENVVDYVILKH
人 CD22 蛋白 胞外区	SEQ ID NO: 2	DSSKWVFEHPETLYAWEGACVWIPCTYRALDGDLESFILFHNPEY NKNTSKFDGTRLYESTKDGKVPSEQKRVQFLGDKNKNCTLSIHPV

		HLNDSGQLGLRMESKTEKWMERIHLNVSERPFPPHIQLPPEIQESQ EVTLTCLLNFCYGYPIQLQWLLEGVPMRQA AVTSTSLTIKSVFTR SELKFSPQWSHHGKIVTCQLQDADGKFLSNDTVQLNVKHTPKLEI KVTPSDAIVREGDSVTMTCEVSSSNPEYTTVSWLKDGTSLKKQN TFTLNLREVTKDQSGKYCCQVSN DVGPRSEE VFLQVQYAPEPST VQILHSPA VEGSQVEFLCMSLANPLPTNYTWYHNGKEMQGRTEE KVHIPKILPWHAGTYSCVAENILGTGQRGPGAELDVQYPPKKVTT VIQNPMPIREGDTVTLSCNYNSSNPSVTRYEWKPHGAWEEPSLG LKIQNVGWDNTTIAACAACNSWCSWASPVALNVQYAPRDVVRKI KPLSEIHSGNSVSLQCDFSSSHPKVEVQFFWEKNGRLLGKESQLNF DSISPEDAGSYSCWVNNSIGQTASKAWTLEVLVYAPRRLRVSMSPG DQVMEGKSATLTCESDANPPVSHYTWFDWNNQSLPYHSQKLRLE PVKVQHSGAYWCQGTNSVGKGRSPLSTLTVYYSPETIGRR
人 CD22 蛋白 domain1-4	SEQ ID NO: 3	DSSKWVFEHPETLYAWEGACVWIPCTYRALDGDLESFILFHNPEY NKNTSKFDGTRLYESTKDGKVPSEQKRVQFLGDKNKNCTLSIHPV HLNDSGQLGLRMESKTEKWMERIHLNVSERPFPPHIQLPPEIQESQ EVTLTCLLNFCYGYPIQLQWLLEGVPMRQA AVTSTSLTIKSVFTR SELKFSPQWSHHGKIVTCQLQDADGKFLSNDTVQLNVKHTPKLEI KVTPSDAIVREGDSVTMTCEVSSSNPEYTTVSWLKDGTSLKKQN TFTLNLREVTKDQSGKYCCQVSN DVGPRSEE VFLQVQYAPEPST VQILHSPA VEGSQVEFLCMSLANPLPTNYTWYHNGKEMQGRTEE KVHIPKILPWHAGTYSCVAENILGTGQRGPGAELDVQYPPKKVTT V
人 CD22 蛋白 domain5-7	SEQ ID NO: 4	DVQYPPKKVTTVIQNPMPIREGDTVTLSCNYNSSNPSVTRYEWK HGAWEEPSLGV LKIQNVGWDNTTIAACAACNSWCSWASPVALNV QYAPRDVVRKIKPLSEIHSGNSVSLQCDFSSSHPKVEVQFFWEKN GRLLGKESQLNFDSISPEDAGSYSCWVNNSIGQTASKAWTLEVLV APRRLRVSMSPGDQVMEGKSATLTCESDANPPVSHYTWFDWNN QSLPYHSQKLRLEPVKVQHSGAYWCQGTNSVGKGRSPLSTLTVY YSPETIGRR

1.2 人 CD22 对照抗体的制备

HA22 和 m971 克隆是识别人 CD22 的抗体,其中 HA22 克隆的抗原结合表位位于 domain 2-3, m971 克隆的抗原结合表位位于 domain5-7。HA22 克隆的重链可变区和轻链可变区序列根据专利 US9580461B (其通过援引加入并入本文) 获得, m971 克隆的重链可变区和轻链可变区序列根据专利 US8591889B (其通过援引加入并入本文) 获得。由泰州市百英生物科技有限公司将 HA22 和 m971 克隆的轻链可变区序列克隆到包含信号肽和人源抗 IgG1 的轻链恒定区的表达载体 pcDNA3.4-B1HH1 (泰州市百英生物科技有限公司自有载体) 中,重链可变区序列克隆到包含信号肽和人源抗体 IgG1 的重链恒定区的表达载体 pcDNA3.4-B1HLK (泰州市百英生物科技有限公司自有载体) 中,获得 m971-hIgG1 和 HA22-hIgG1 的序列,如无特殊说明则后文中 HA22 和 m971 均分别指 m971-hIgG1 和 HA22-hIgG1。并按已建立的标准分子生物学方法制备质粒,具体方法参见 Sambrook, J., Fritsch, E. F., and Maniatis, T. (1989). *Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Second Edition* (Plainview, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press。将表达载体按照 PEI (购自 Polysciences, 货号: 24765-1) 说明书瞬时转染 HEK293E 细胞 (购自苏州益研生物科技有限公司), 并使用 FreeStyle™ 293 (Thermofisher scientific, 货号: 12338018) 在 37°C 下连续培养 5 天, 离心去除细胞成

分，获得含抗体的培养上清液。将培养上清液上样到蛋白 A 层析柱（蛋白 A 填料 AT Protein A Diamond 和层析柱 B XK16/26 均购自博格隆，货号分别为：AA0273 和 B-1620），使用 PBS 磷酸盐缓冲液（pH7.4）清洗后再用 20 mM PB, 1M NaCl（pH 7.2）进行清洗，最后使用 pH3.4 的柠檬酸缓冲液进行洗脱，收集从蛋白 A 层析柱上洗脱下来的带 Fc 标签的抗体，用 1/10 体积的 pH8.0 的 1M Tris 中和，用 PBS 在 4℃ 条件透析过夜，透析后的蛋白经 0.22 微米滤膜无菌过滤后分装于-80℃ 保存。

表 2. 抗人 CD22 的抗体 HA22-hIgG1 和 m971-hIgG1 的重链和轻链序列信息

序列名称	序列编号	氨基酸序列
HA22-hIgG1 重链	SEQ ID NO: 5	EVQLVESGGGLVKGPGSLKLSAASGFAFSIYDMSWVRQTPEKCL EWWAYISSGGGTTYYPDTVKGRFTISRDNANTLYLQMSSLKSEDT AMYYCARHSGYGTHWGVLFAYWGQGLVTVSAASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVDFCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
HA22-hIgG1 轻链	SEQ ID NO: 6	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQQKPDGTVKL LIYYTSSILHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDFATYFCQQGNTL PWTFGCGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
m971-hIgG1 重链	SEQ ID NO: 7	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTLCAISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSRG LEWLGRTYYRSKWNNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPE DTAVYYCAREVTGDLEDAFDIWGQGMVTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSH DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVDFCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
m971-hIgG1 轻链	SEQ ID NO: 8	DIQMTQSPSSLSASVGRVITTCRASQTIWSYLNWYQQRPGKAPNL LIYAASSLQSGVPSRFSGRGSGTDFTLTISLSLAEDFATYYCQSYSI PQTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

实施例 2 过表达人 CD22 和猴 CD22 的细胞株构建和鉴定

2.1 内源性表达 CD22 细胞株的鉴定

将 Raji 细胞（购自武汉大学中国典型培养物保藏中心，货号：TCHu 44）在 T-25 细胞培养瓶中扩大培养至对数生长期，离心弃去培养基上清，细胞沉淀用 PBS 洗涤 2 次。用 HA22 和 m971 抗体作为一抗，APC 标记的二抗（购自 Biologend，货号：409306），用 FACS（FACS Canto™，购自 BD 公司）检测和分析结果。分析结果如表 3 以及图 2A-2B 所示，Raji 细胞均可与 HA22 和 m971 结合。

表 3. 内源细胞系 Raji 细胞的 FACS 检测结果

序号	抗体名称	细胞平均荧光密度	
		IgG 亚型对照	CD22 抗体
1	HA22	44	22952
2	m971	44	12686

2.2 人 CD22 稳转 CHO-K1 单克隆细胞株的制备

编码人 CD22 全长氨基酸序列 (NCBI: NP_001762.2, SEQ ID NO: 1) 的核苷酸序列被克隆到 pcDNA3.1 载体并制备质粒 (由通用生物系统 (安徽) 有限公司完成)。对 CHO-K1 细胞系 (购自中国科学院上海生命科学研究院, 货号: SCSP-507) 进行质粒转染 (Lipofectamine® 3000 Transfection Kit, 购自 Invitrogen, 货号: L3000-015) 后, 在含 10 μ g/ml 嘌呤霉素和含 10% (w/w) 胎牛血清的 DMEM/F12 培养基中选择性培养 2 周, 用 FITC 标记的抗 CD22 抗体 (ThermoFisher scientific, 货号: 11-0229-42) 在流式细胞仪 FACS AriaII (BD Biosciences) 上分选阳性单克隆细胞到 96 孔板, 并置于 37°C, 5% (v/v) CO₂ 细胞培养箱中培养, 大约 2 周后选择部分单克隆孔进行扩增。对扩增后的克隆经流式细胞分析法进行筛选。选择长势较好、荧光强度较高的单克隆细胞系继续扩大培养并液氮冻存。

具体选择结果如表 4 和图 3A-图 3C 所示, IgG 亚型对照为人 IgG1 对照。表 4 说明, 已经制得一系列 CD22 阳性表达的 CHO-K1 单克隆细胞系。图 3A-图 3C 中, 横坐标为细胞荧光强度, 纵坐标为细胞数。图 3A-图 3C 的结果说明, CHO-K1-人 CD22 2C4、CHO-K1-人 CD22 1G5 以及 CHO-K1-人 CD22 1D9 为 CD22 高水平表达细胞株, 最终选择 CHO-K1-人 2C4 细胞株用于后续实施例。

表 4. 人 CD22 蛋白的 CHO-K1 稳转细胞系 FACS 检测结果

序号	稳定转染细胞系克隆号	细胞平均荧光强度	
		IgG 亚型对照	CD22 抗体
1	CHO-K1-人 CD22 2C4	66	4621
2	CHO-K1-人 CD22 1G5	66	3154
3	CHO-K1-人 CD22 1D9	66	2488

2.3 猴 CD22 稳转 HEK293T 细胞株的制备

编码猴 CD22 全长氨基酸序列 (NCBI: XP_014979161.2, SEQ ID NO:9) 的核苷酸序列被克隆到 pcDNA3.1 载体 (购自 ThermoFisher scientific, 货号: V79020) 并制备质粒。对 HEK293T 细胞系用 FuGENE® HD (Promega, 货号: #E2311) 进行质粒转染后, 在含 10 μ g/ml 嘌呤霉素和含 10% (w/w) 胎牛血清的 DMEM 培养基中选择性培养 2 周, 用有限稀释法在 96 孔培养板中进行亚克隆, 并置于 37°C, 5% (v/v) CO₂ 培养箱中培养, 大约 2 周后选择部分多克隆孔扩增到 6 孔板中。对扩增后的克隆用具有猴交叉活性的 CD22 抗体 hL22 (购自 Enzo Life Sciences; 货号: ENZ-ABS619-0200) 经流式细胞分析法进行筛选, 选择长势较好、荧光强度较高的细胞系继续扩大培养并液氮冻存, 图 4 为 hL22 抗体检测 HEK293T 细胞株的流式分析结果, 结果显示经过嘌呤霉素筛选后呈现过表达猴 CD22 的单一阳性细胞峰, 可用于检测抗体的交叉活性。

猴 CD22 全长氨基酸序列 (SEQ ID NO: 9)

MHLLGPWLLLLLVLEYLAFSDSSKWNIEHPGTIYAWEGACVWVPCTYRVL DGALETFILFHNPEYNQNM SKFEGTRL
 YESTKDGKLP SGQKRVQFLGNKINNCTLSIHPVHVND SGQLGLRMVSKTEKWMER IHLNVSERPFPPRIQLPPKLQESQ
 EVTLTCLLNFS CYGYQIQ LQWLEGVPMRQAAVTLTSLSTKSVFTRSELKFS PQW SHHGKIVTCELHDVDGKVLSEDMVQ
 LNVKHTPKLTI E VTPNETTVRK GDSVTMTCKVNSSNPEYTTVSWLKDGIPLKEQNTLMLTLHKVTKSQSGRYCCRVSNDV
 GPATSEKVFLQVYAP ESSRVQISQSPAVEGSEVNFLCISPANPLPTNYTWYHNGKEVQGRTEKQFQIQKILPWHAGTYS
 CEAENILGIGERGP GTELDVQYPPKVTMVIENPTPIREGDTVTLSCNYSSSNPIVNHYEWRPRGAWEEP SLGVLKIQNI
 GWNNTAVACAACNNWCS WASPVTLNVL YAPRGVVRKIKPLSEI HSGNSVSLQCDFSSSHPKEVQFFWEKNGSLLGKESQ
 LNFDSISPEDAGSYSCWVNSIGQTASKAWTLEVL YAPRRLRVSMSQGNQVMEGKTATLICESDANPPVYSYAWFDWNNQ
 SLPYSGRMLRLEPVKVQ HSGAYWCQGTNRVKGKHSPLITLVYYSPTIGRRVAVGLGSCLA I LILAMCGFKVQR RWKRT
 QSQQGLQENSSQSFFVRNKVRRTP LSEGPHSLGCYNPMMEDGISYATLRFPETNTPRTGDAETSELQRPPPCDDT VT
 YSVLQKRQVGDYENVIPDFPEDEGIHYSELIQFGGERPQAQENV D YVIVKH

实施例 3、抗人 CD22 杂交瘤单克隆抗体的制备

3.1 动物免疫

抗人 CD22 单克隆抗体通过免疫小鼠产生。实验用 6~8 周龄 BALB / c AnNCr1 小鼠和 SJL/ Jor11coCr1 小鼠 (购自上海斯莱克公司), 雌性。饲养环境: SPF 级。小鼠购进后, 实验室环境饲养 1 周, 12/12 小时光/暗周期调节, 温度 20-25℃; 湿度 40-60%。将已适应环境的小鼠按以下方案免疫。免疫抗原为人 CD22 (Asp20-Arg687)-His 蛋白(购自 ACRO Biosystems, 货号: CD2-H52H8)。初次免疫时, 免疫原用 TiterMax (购自 Sigma, 货号: T2684) 乳化后皮下与腹腔分别注射 0.1 毫升, 即每只小鼠注射 50 微克免疫原 A 蛋白。加强免疫时, 免疫原用 Imject Alum Adjuvant (购自 Thermo fisher scientific, 货号: 77161) 皮下与腹腔分别注射 0.1 毫升, 即每只小鼠注射 25 微克免疫原。免疫频次每周一次, 于第 4, 18, 46, 70 天取血, 用 ELISA 和 FACS 方法检测小鼠血清中的抗体滴度。结果如表 5-8 所示, 经人 CD22-his 蛋白免疫的小鼠的免疫后血清对免疫原均有不同程度的结合, 呈现抗原抗体反应, 其中最高稀释度在六百万左右。其中空白对照为 1% (w/w) BSA, 其中批次指第 7 次加强免疫后第七天的小鼠血清, 表中的数据为 OD450nm 和 MFI 值。

表 5. ELISA 检测免疫后 Balb/c 小鼠血清抗体效价

OD450nm 批次	血清稀释度											
	1:100	1:300	1:900	1:2700	1:8100	1:24300	1:72900	1:218700	1:656100	1:1968300	1:5904900	空白对照
261(TB3)	2.55	2.60	2.57	2.54	2.25	2.10	1.69	1.23	0.65	0.33	0.20	0.09
262(TB3)	2.33	2.26	2.22	2.27	2.07	1.94	1.51	0.95	0.45	0.23	0.13	0.08
263(TB3)	2.40	2.24	2.15	2.13	2.01	1.82	1.41	0.85	0.41	0.20	0.12	0.08
264(TB3)	2.40	2.31	2.30	2.27	2.07	1.82	1.30	0.71	0.31	0.16	0.10	0.07
265(TB3)	2.35	2.31	2.32	2.16	2.08	1.84	1.41	0.85	0.41	0.19	0.11	0.08

表 6. ELISA 检测免疫后 SJL 小鼠血清抗体效价

OD450nm 批次	血清稀释度											空白对照
	1:100	1:300	1:900	1:2700	1:8100	1:24300	1:72900	1:218700	1:656100	1:1968300	1:5904900	
266 (TB3)	2.40	2.36	2.35	2.24	2.05	1.79	1.34	0.75	0.37	0.19	0.12	0.08
267 (TB3)	2.31	2.16	2.02	1.82	1.51	1.06	0.53	0.26	0.13	0.09	0.07	0.09
268 (TB3)	2.29	2.10	1.96	1.64	1.29	0.78	0.35	0.19	0.12	0.10	0.10	0.11
269 (TB3)	2.61	2.49	2.36	2.29	2.07	1.88	1.45	0.88	0.43	0.21	0.13	0.09
270 (TB3)	1.83	1.23	0.63	0.28	0.14	0.08	0.08	0.06	0.09	0.09	0.07	0.08

表 7. FACS 检测免疫后 Balb/c 小鼠血清抗体效价

MFI 批次	血清稀释度											空白对照
	1:100	1:300	1:900	1:2700	1:8100	1:24300	1:72900	1:218700	1:656100	1:1968300	1:5904900	
261(TB3)	64458	52926	45069	39113	32293	20440	9577	4202	1860	821	459	131
262(TB3)	63113	54421	48096	41627	30655	17728	7976	3348	1476	679	399	112
263(TB3)	68470	54517	46623	39177	29120	16910	7792	3301	1374	641	340	89
264(TB3)	62190	48925	40670	32314	19921	9761	3979	1703	698	347	292	150
265(TB3)	63768	52435	45919	37727	26351	14061	6023	2590	1122	504	284	110

表 8 . FACS 检测免疫后 SJL 小鼠血清抗体效价

MFI 批次	血清稀释度											空白对照
	1:100	1:300	1:900	1:2700	1:8100	1:24300	1:72900	1:218700	1:656100	1:1968300	1:5904900	
266(TB3)	67436	53379	45330	37604	26313	13406	5887	2427	1095	514	310	195
267(TB3)	37379	27314	14870	6493	2661	1102	496	245	157	209	98	116
268(TB3)	34130	26195	14039	5895	2365	971	449	270	140	136	134	156
269(TB3)	9657	4490	1894	797	398	258	127	133	160	97	165	139
270(TB3)	12544	5962	2715	1054	494	261	182	102	129	113	142	117

在第 7-8 次免疫以后,选择血清中抗体滴度高并且滴度趋于平台的小鼠进行脾细胞融合。在进行脾细胞融合前 3 天加强免疫,皮下、腹膜内(IP)注射生理盐水配制的抗原溶液 50 μ g/只。

3.2 脾细胞融合和杂交瘤筛选

加入 ACK Lysing Buffer (购自 Gibco, 货号: A1049201), 裂解脾细胞中掺杂的红细胞, 获得脾细胞悬液。用 DMEM (购自 Gibco, 货号: 11995081) 基础培养基 1000 转/分钟离心清洗细胞 3 次, 然后按照活细胞数目 2:1 比率与小鼠骨髓瘤细胞 SP2/0 (购自 ATCC, 货号: CRL-1581) 混合, 采用 BTX ECM2001+高效电融合方法(参见 METHODS IN ENZYMOLOGY, VOL. 220) 进行细胞融合。融合后的细胞稀释到含 20%胎牛血清(ExCell Bio, 货号: FSD500)、 $1 \times$ HAT (购自 Sigma, 货号: H0262) 的 DMEM 培养基中, 所述百分比为质量百分比。然后按 2×10^4 /200 微升每孔加入到 96 孔细胞培养板中, 放入 5% CO_2 、 37°C 培养箱中, 所述百分比为体积百分比。14 天后用 ELISA 筛选细胞融合板上清, 将 ELISA 阳性克隆扩增到 24 孔板, 用含 10% (w/w) HT (购自 Sigma, 货号: H0137) 和胎牛血清的 DMEM (购自 Gibco, 货号: 11995081) 培养基, 在 37°C , 5% (v/v) CO_2 条件下扩大培养。培养 3 天后取 24 孔板中扩大培养的培养液进行离心, 收集上清液, 对上清液进行抗体亚型分析, 用 ELISA、FACS 确定对人 CD22 蛋白和人 CD22 阳性细胞的结合活性(结合活性的检测方法请分别参见实施例 5.1 和实施例 5.2)。

根据 24 孔板筛选结果, 挑选 ELISA 和 FACS 实验中阳性的杂交瘤细胞作为符合条件的阳性克隆, 用有限稀释法在含 10% (w/w) FBS 的 DMEM 培养基(购自 Gibco, 货号: 11995081) 的 96 孔板中进行亚克隆, 并置于 37°C , 5% (v/v) CO_2 条件下培养。亚克隆后 10 天用 ELISA 和 FACS 进行初步筛选, 挑选单个阳性单克隆扩增到 24 孔板继续培养。根据 24 孔板样品检测结果, 挑选出最优的克隆, 并将该最优的克隆于含 10% (w/w) FBS 的 DMEM 培养基(购自 Gibco, 货号: 11995081) 中在 37°C , 5% (v/v) CO_2 条件下进行扩大培养, 液氮冻存即得本发明的杂交瘤细胞。

实施例 4 杂交瘤阳性克隆轻重链可变区氨基酸序列测定

收集对数生长期杂交瘤细胞, 用 Trizol (Invitrogen, Cat No. 15596-018) 充分裂解细胞后于 -80°C 保存待测。委托苏州金唯智生物科技有限公司完成杂交瘤阳性克隆轻重链可变区氨基酸序列的测定, 对测序结果使用 MOE 软件进行分析, 根据可变区编码蛋白氨基酸序列并构建进化树, 根据序列相似性剔除在进化树上距离较近的序列后, 筛选获得 35 个克隆, 其中 F1 系列 23 个 F1. 236. 15, F1. 214. 8, F1. 273. 12, F1. 231. 15, F1. 11. 7, F1. 77. 9, F1. 105. 11, F1. 267. 9, F1. 7. 6, F1. 224. 1, F1. 250. 16, F1. 120. 15, F1. 216. 2, F1. 280. 1, F1. 200. 11, F1. 192. 1, F1. 245. 2, F1. 60. 9, F1. 172. 13, F1. 17. 1, F1. 161. 7, F1. 257. 3, F1. 62. 10, F2 系列 12 个 F2. 70. 2, F2. 104. 10, F2. 180. 16, F2. 121. 9, F2. 173. 9, F2. 343. 16, F2. 205. 9, F2. 99. 1, F2. 127. 11, F2. 55. 1, F2. 42. 9, F2. 151. 13。

由泰州市百英生物科技有限公司将 35 个克隆的重链可变区序列克隆到包含信号肽和人源抗体 IgG1 的重链恒定区 (SEQ ID NO: 10) 的表达载体 pcDNA3. 4-B1HH1 (泰州市百英生物科技有限公司自有载体) 中, F1 系列克隆的轻链可变区序列克隆到包含信号肽和人源抗体 IgG1 的 Kappa 轻链恒定区 (SEQ ID NO: 11) 的表达载体 pcDNA3. 4-B1HLK (泰州市百英生物

科技有限公司自有载体)中, F2 系列克隆的轻链可变区序列克隆到包含信号肽和人源抗体 IgG1 的 Lambda 轻链恒定区 (SEQ ID NO: 12) 的表达载体 pcDNA3.4- BIHL5 (泰州市百英生物科技有限公司自有载体) 中, 获得人鼠嵌合抗体的表达载体并按照实施例 1.2 的方法制备抗体。其序列的 CDRs 分别用 KABAT、Chothia 或 IMGT 软件分析, 对应的序列信息如下表 9-10 所示, 其中表 9 示出 35 个嵌合抗体分子重轻链可变区氨基酸表示的抗体序列, 表 10 示出 35 个嵌合抗体分子 CDRs 的 IMGT、Kabat 和 Chothia 分析结果。

表 9. 抗 CD22 抗体重链可变区和轻链可变区的氨基酸具体序列信息

抗体编号	序列编号	重链可变区序列 (VH)
F1.236.15	SEQ ID NO.13	QVQLQQPGAELVKPGTSVKVSKASGYTFTNYWMHWVKQRPGQGLEWIGRIHPSDSDTEYNLQFKDKAALTVDKSSSTAYMRLSSLTSEDSAVYYCAMQFDYWGQGTTLVSS
F1.214.8	SEQ ID NO.15	QVQLQQPGTELVKPGASVKLSCKASGYTFTSFWMHWVKQRPGQGLEWIGNIDPSNGDTNYNEKFKSKATLTVDKSSSTAYIQLSSLTSEDSAVYYCASSYAMDYWGQGTSVTVSS
F1.273.12	SEQ ID NO.17	QVQLQQPGTELVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMDWVKQRPGQGLEWIGNINPSNGGTNYNEKFKTKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTPEDSAVYYCAGQLDYWGQGTTLTVSS
F1.231.15	SEQ ID NO.19	QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKTSGYTFTIYWMQWVKQRPGRGLEWIGRIDPHSGDTHYNEFTTKVTLTVDETSNTAYMHL SGLTSEDSAVYYCARRDYSYYVLDYWGQGTSVTVSS
F1.11.7	SEQ ID NO.21	QVQLQQPGSELVRPGASVKLSCKASGYTFTNFWMHVVKQGHGQGLEWIGNIYPGSGDTYYNEKFRSRGSLTVDTSSSTAYMHLNSLTSEDSAVYYCTNQMDYWGQGTSVTVSS
F1.77.9	SEQ ID NO.23	QVQLQQSGAELARPGASVKMSCRASGYTFTTYTMHWVKQRPGQGLEWIGYINPSSGYTQYNQKFKDKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYFTLQLDYWGQGTTLTVSS
F1.161.7	SEQ ID NO.25	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYWISWVKQRPGQGLEWIGDIYPGTGSSNYNEKFKSKATLTVDTSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARLKFEGIGYWGQGTTLTVSS
F1.257.3	SEQ ID NO.27	QVQLQQSGPELARPGASVKLSCKASGYTFTSYGISWVKQRTGQDLEWIGEIYPKLGTTYNEKFKDKATLTDRSSSTAYMALRSLTSEDSAVYFCACPHYATRGGDYWGQGTTLTVSS
F1.105.11	SEQ ID NO.29	EVQLQQSGPVLVKPGASVKMSCKASGYTFSDFYFMNWVKQSHGKSLEWIGIINSYSGGTSYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELNSLTSEDSAVYYCARWMDYWGQGTSVTVSS
F1.267.9	SEQ ID NO.31	EVQLQQSGPVLVKPGASVKMSCKASGYTFTDFYMNWAKQSHGKSLEWVGVINPYNGGINYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMEFNLSLTSEDSAVYYCARRMEYHAMDYWGQGTSVTVSS
F1.7.6	SEQ ID NO.33	EIQLQQSGPELVKPGTSVKVSKASGYDFTRYNMYWVKQSHGKSLEWIGYIDPYNGDTRYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMHLNSLTSEDSAVYYCEAIYYDMEGYALDYWGQGTSVTVSS
F1.224.1	SEQ ID NO.35	EVLHQSPELVKPGASVKISCKASGYTFTDFNMDWVRQRHGQSLEWIGDVNPNNGGTIYNQKFKGKATLTVDKSSSTVYMDLRSLTSDDTAVYYCVRLGTSYGEAWFISWGQGTVVTVSA
F1.250.16	SEQ ID NO.37	QVQLQQSGAEQVKPGASVKMSCKASGYTFTTYPIEWMKQNHGESLDWIGNIHPYNDDEYNEKFKGKATLTVEKSSNTVFLSRLTSDDSAVY

		YCVRGDYNSRYWYFDVWGTGTTVTVSS
F1.120.15	SEQ ID NO.39	QVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGNAFSNSWMNWVKQRPGKGLE WIGRVYSEDGDTQYNGKFRDKATLTADRSTSTAYMQLSSLTSEDSAV YFCARWLIYYGTYGAMDYWGQGTSVTVSS
F1.62.10	SEQ ID NO.41	QVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYEFSSIWMNWVKQRPGEGLE WIGRIFPGDGEINYNEKFKGKATLTADRSSTTAYMQLSSLTSEDSAVY FCAGWRIYYGTYGAMDYWGQGTSVTVSS
F1.216.2	SEQ ID NO.43	QVQLQQSGPEVVRPGASVKISCKASGYAFSSSWMNWMKQRPGKALE WIGRIYPGDGDNTYSGEFKVKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAV YFCAREGSYYSNPWYFDYWGQGTTLTVSS
F1.280.1	SEQ ID NO.45	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTTYGMSWVKQTPGKGLTW MGWINTDSGVPTYADDFKRRFAFSLEASATTAYLQINLNKNEDTATY FCARGGPDYWGQGTTLTVSS
F1.200.11	SEQ ID NO.47	QNQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTTAGMQWVQKMPGKGFK WIGWINTLSGEPKYAEDFKGRFAFSLETSATTAYLQISLNKNEDTATY FCARAYYSNLYWYFDVWGTGTTVTVSS
F1.192.1	SEQ ID NO.49	AVQLQQSGVELVRPGASVKLSCTGSDFNKEDIYHWVKQRPEQGLEW IGWIDPENGDTHEYASKFQKATITADTSSNTAYLQLSSLTSEDTAVYY CATYGLSDYWGQGTTLTVSS
F1.245.2	SEQ ID NO.51	EVQLQQSGAELVKPGASVKLSCTGSGFNKDYIHWVKQRTEQGLEW MGRIDPEDGETEYAPKFQDEATITSDTSSNTAYLQLSSLTYEDTAVYY CAREAAAGYFYRGSSYGYFDVWGTGTTVTVSS
F1.60.9	SEQ ID NO.53	QVQLKESGPGVLVAPSQLSITCTVSGLSLNNGVSWVRQPPGKGLEW LGVWGDGSTNYHSALISRLSISKDNSKSVFLKLNLSLHTDDTATYYC AINWGDYWGQGTTLTVSS
F1.172.13	SEQ ID NO.55	QVTLKESGPGILQSSQTLTLTCSFSGFSLSTSGMGVSWIRQPSGKGLEW LAHIYWDDDKRYNPSLKSRLTISKDTSRNQVFLKITSVDTADTATYYC ARAPPPNWDEYYFDYWGQGTTLTVSS
F1.17.1	SEQ ID NO.57	QVQLKESGPGVLVAPSQLSITCTVSGFSLRYTVHWVRQPPGKGLEWL GMIWGGGSTDYNSALKSRLSISKDNSKSVFLKMNLSLQTDAMYY CARPHDFDAGGFAYWGQGLTVTVSA
F2.151.13	SEQ ID NO.59	QVHLQQPGTELMKPGASVKLSCKATGYTFRDYWLEWVKQRPGHGL EWIGEILPGSGNAYYNEKFKGKATFTADTSSNTAYMQLSSLTTEDSAI YYCARVYSNWFDAWGKGTTVTVSS
F2.70.2	SEQ ID NO.61	EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSDYGMNWFRQAPEKGLE WVAYISRGSHTIYYADTVKGRFTISRDNKNTLFLQMTSLRSNDTAM YYCVRMAGYYAMDYWGQGTSVTVSS
F2.104.10	SEQ ID NO.63	EVQLVESGGGFVKPGGSLKLSCAASGFTFSDYGMNWFRQAPEKGLE WVAYISRGSHTIYYADTVKGRFTISRDNKNTLFLQMTSLRSNDTAM YYCVRMAGYYAMDYWGQGTSVTVSS
F2.180.16	SEQ ID NO.65	EVKLVESGGGLVLPGGSLKISCAASGFTFSDYMYWIRQTPDKRLEW VAYSISNTGYSTFYPDVSVKGRFTVSRDNKNTLYLQMSRLQSEDTAMY YCARHGILYAMDYWGQGTSVTVSS
F2.121.9	SEQ ID NO.67	EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSDYVMSWIRQTPEKRLEW VATISDAGSYTFYPDNLKGRFTISRDNKNNLYLQMNHLTSEDATFY YCAIIFGNYGGYWGQGLTVTVSV
F2.173.9	SEQ ID NO.69	EVQLVESGGDLVKPGESLKLSCASGFTFSDYAMSWSVRQTPDRRLEW VATISSIGSFTYYSDSVKGRFTISRDNVKSSTLHLQMNLLKSGDTAIYFC

		ARLGVYFDSWGQGTTLTVSS
F2.343.16	SEQ ID NO.71	QVQLKQSGPGLVQPSQSLTCTVSGFSLTGYGVQWVRQSPGKGLEW LGVIWGGGGTDYNAAFISRLNIKDNSKSKVFFKMNSLQADDTAIYYC ARYSKYGHFDVWGTGTAVTVSS
F2.205.9	SEQ ID NO.73	QVTLKESGPGILQPSQTLSTCSFSGFSLSTSGMGVGVWIRQPSGKGLE WLAHIWWDDEYYNPALKSRLTISKDTSKNQVFLKIANVDTADTAT YYCARISIPYGYDWFDFVWGTGTTVTVS
F2.99.1	SEQ ID NO.75	QVTLKESGPGILQPSQTLSTCSFSGFSLSTFPMGVGVWIRQPSGKGLEW LAHIWWDDEYYNPVLSRLTISKDTSKKQVYLRANVDTVDTATYY CTRANWDRWYFDVWGTGTTVTVSS
F2.127.11	SEQ ID NO.77	QVTLKESGPGILQPSQTLSTCSFSGFSLSTFGMGVGVWIRQPSGKGLE WLAHIWWDDEKHYNPALKSRLTISKDTSRNQVFLKIANVDTADGAT YFCARDNWVSSLDYWGQGTSVIVSS
F2.55.1	SEQ ID NO.79	QVTLKESGPGILQPSQTLSTCSFSGFSLSTFPLGVGVWIRQPSGKGLEW LAHVWWDDEYYNPALKSRLTISKDTSNTRVFLSVASVDTAETATY YCARLNWDRWYFDVWGTGTTVTVSS
F2.42.9	SEQ ID NO.81	QVTLKESGPGILQPSQTLSTCSFSGFSLSTFDRGVGVWIRQPSGKGLEW LAHIWWDKFKYNPVLSRLTISKDTSKNQVFLTIANVDSADTATYS CARIVWDKYYFDYWGQGIPLTVSS
抗体编号	序列编号	轻链可变区序列 (VL)
F1.236.15	SEQ ID NO.14	DIKLTQSPSSMYASLGERVTITCKASQDINTFLSWFQQKPGKSPKILIYR ANRLVDGVPSRFSGSGSGQDYSLTISSEEDLGIYHCLQYDEFPRTFG GGTKVEFK
F1.214.8	SEQ ID NO.16	DIKMTQSPSSMSASLGERVTITCKASQDINRFLSWFQQKPGKSPKILIY RANRLVDGVPSRFSGSGSGQDYSLTISSEYEDMGIIYCLQYDEFRTF GGGTKVEIK
F1.273.12	SEQ ID NO.18	DIKMTQSPSSMYASLGERVTITCKASQDINSYLSWFQQKPGKSPKILIY RANRLVDGVPSRFSGSGSGQDYSFTISSEYEDMEIYYCLQYNEFPRTF GGGTKLEIK
F1.231.15	SEQ ID NO.20	DVVLVTQTPSLPVS LGDQASISCRSSQSLVHINGDTYLHWYLQKPGQS PKLLIYTVFNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGAYFCSQST HVPYTFGGGKLEIK
F1.11.7	SEQ ID NO.22	DIKMTQSPSSMYVSLGERVTISCTASQDTNRYLKWVHFKPGKSPKPLI YRTNRLIDGVPSRFSGTGSGQDYSLTIVSNLEYEDMGFYCLQYAEFP YTFGGGKLEIK
F1.77.9	SEQ ID NO.24	DIKMTQSPSSMYTSLGERVTITCKASQDINSYLSWFQQKPGKSPKILIY RANRLVDGVPSRFSGRGSGQDYSLTISSEYEDMAIYYCLQYYELYTF GGGTKLEIK
F1.161.7	SEQ ID NO.26	QIVLTQSPAIMASLGEIITLCSASSSVSYMHWVQQKSGTSPKLLIYSI SNLASGVPSRFSGSGSGTFYSLTISSVEAEDAADYYCHQWSSYPWTFG GGTKLEIK
F1.257.3	SEQ ID NO.28	EIVLTQSPATLSVTPGDSVTFSCRASQSSINHLHWYQQKSHESPRLLIR YASQSIGIPSRFSGSGSGTDFTLSSVETEDFGVYFCQQSHSWPYTFG GGTKLEIA
F1.105.11	SEQ ID NO.30	DVQITQSPSYLAASPGETITINCRITSESISKHLAWYQEKPGKTNKLLIYS GSTLQSGIPSRFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAMYQCQHNIEYPWTFG GGTKLEIK

F1.267.9	SEQ ID NO.32	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDNYGFDHFIHWYQQKPGQPP KLLIYRASNLESGIPARFSGSGSRPDTLTINPVETDDVATYYCQQSIKD PWTFGGGTKLEIK
F1.7.6	SEQ ID NO.34	DIVMSQSPSSLAVSVGEKVTMSCKSSQSLLYSNNQKNYLAWYQQKPG QSPKLLIYWASTRESGVPDRLTGSGSGTDFTLTISSVTAEDLAVYYCQ QFYSYPWTFGGGTKLEIK
F1.224.1	SEQ ID NO.36	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASQSVSTPRYSFMHWYQQKPGQPP KLLIKYASNLESGFPARFTGSGSGTDFTLNHPVEEEDTAAAYCQQSW AIPWTFGGGTKLEIK
F1.250.16	SEQ ID NO.38	DIVMTQSQKFMSTTVGDRVSITCKAGQNVRTAVAWYQQKPGQSPKL LIYSASTRYIGVPERFTGSGSGTDFTLTITNMQSEDLADYFCQYSSFP LTFGTGKLELK
F1.120.15	SEQ ID NO.40	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDINNLYLNWYHQKPDGTVKLLI YFTSRPYSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPWT FGGGTKLEIK
F1.62.10	SEQ ID NO.42	DIQMTQITSSLSASLGDRVTISCRASQDIGNLYLNWYQQKPDGTVKLLI YYTSRLHSGVPSRFSGSGSRTDYSLTISNLQQEDIATYFCQQGNTLPWT FGGGTKLEIK
F1.216.2	SEQ ID NO.44	DVLVTQTPLSLPVSLGDQASISCRSSQSIVQSNNGDTYLEWYLQKPGQS PKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFQGS HVPFTFGSGTKLEIK
F1.280.1	SEQ ID NO.46	DILLTQSPATLSVTPGETVSLSCRASQSIYKNLHWYHQKSHRSPRLLIK YASDSISGIPSRFTGSGSGTNFTLSINSVKPEDEGIYYCLQGYIVPLTFG AGTKLELK
F1.200.11	SEQ ID NO.48	DIVMTQSQKFMSTTVGDRVTITCKASQNVVTA VAWYQQKPGQSPKV LIYSASNRYSGVPDRFTGSGSGTDFTLTISNMHSEDLANYFCHQYSSYP FTFGSGTKLEIK
F1.192.1	SEQ ID NO.50	DIKMTQSPSSMYAFLGERVTITCKASQGINSFLTWFQKPGKSPKTLIY RANRLVDGVPSRFSGSGSGQDYSLTISSEYEDVGIYYCLQYDEFPRTF GGGTKLEIK
F1.245.2	SEQ ID NO.52	DFQMTQTTSSLSASLGDRVTISCSASQDISNLYLNWYQQKPDGTVKLLI YYTSSLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEPEDIATYYCQYSSMLPYT FGGGTKLEME
F1.60.9	SEQ ID NO.54	DIKMTQSPSSMNASLGERVTITCKASQDINSYLSWFQKPGKSPKILY RANRLIDGVPSRFSGSGSGQDYSLTISSEYEDMGIYYCLQYGVFPLTF GAGTKLELK
F1.172.13	SEQ ID NO.56	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASGNIHNSLAWYQQKQKSPQLLV HNAKTLADGVPSRFSGSGSGTQYSLKINSLQPEDFGSY YCQHFVSTPP FGGGTKLEIK
F1.17.1	SEQ ID NO.58	QIVLTQSPAILSTSPGEKVTMTCSASSRVNYMYWYQQKPGSSPRLLIY DTSNLASGVVPRFSGSGSGTSYSLTISRMEAEDAATYYCQQWTSYPLT FGAGTKLELK
F2.151.13	SEQ ID NO.60	QAVVTQESALTTSPGETVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQEKPDHLFT GLIGGTNNQAPGVPARFSGSLIGDKAALTISGAQTEDEAIYFCALWFS NHWVFGGGTKLTVL
F2.70.2	SEQ ID NO.62	QLVLTQSSASFSL GASAKLTCTLSSQHSSYIIEWYQQQLKPPKYVME LKKDGSHTGDGIPDRFSGSSSGADRYLSISNIQPEDEAIYICGVGDTIK EQFVYVFGGGTKVTVL

F2.104.10	SEQ ID NO.64	QLVLTQSSSASFSLGASAKLTCTLSSQHSSYIIIEWYQQQPLKPPKYVME VKKDGSHSTGDGIPDRFSGSSSGADRYLSISNIQSEDEAIYICGVGDTIK EQFVYVFGGGTKVTVL
F2.180.16	SEQ ID NO.66	QPVLQSSSASFSLGASAKLTCTLSSQYSTYTIGWYQQQPLKPPKYVM ELKHDGSRHTGDGIPDRFSGSSSGADRYLSISNIQPEDEATYICGVGDTI KEQFMVYVFGGGTKVTVL
F2.121.9	SEQ ID NO.68	QAVVTQESALTTSPGGTVVLTCSRNTGAVTTSNYANWVQEKPDHLFT GLIGGTSNRAPGVVPRFSGSLIGDKAALTITGAQTEDDAMYFCALWYS THWVFGGGTKLTVL
F2.173.9	SEQ ID NO.70	QLVLTQSSSASFSLGASAKLTCTLSSQHSTYTIEWYQQQPHKPPKFVM EIKKDGSHYTGDGIPDRFSGSSSGADRYLSISNIQPEDETIYICGVSDMI KDQFVYVFGGGTKVTVL
F2.343.16	SEQ ID NO.72	QAVVTQESALTTSPGETVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQEKPDHLFT GLIGGTYNRVPVGPVPRFSGSLIGDKAALTITGAQTEDEAIYFCALWYS NHFVWVFGGGTKLTVL
F2.205.9	SEQ ID NO.74	QAVVTQESALTTSPGETVTLTCSRSTGAVTTRNYANWVQEKPDHLFT GLIGGTNNRAPGVVPRFSGSLIGDKAALTITGAQTEDEAIYFCALWYS NHFIFGSGTKVTVL
F2.99.1	SEQ ID NO.76	QLVLTQSSSASFSLGASAKLTCTLSRQHSAYTIEWYQQQPLKPPKYVM EVKKGSHSTGDGIPDRFSGSSSGADRYLSISNIQPEDEAIYICGVGDTI KEHFVFGGGTKVTVL
F2.127.11	SEQ ID NO.78	QPVITQSSSASFSLGASAEALTCTLSSQHSTYTIEWYQQQPLKPPKYVMG LKKDGSHSTGDGIPDRFSGSSSGADRYLSISNIQPEDEAIYICGVSDTIK EQFVYVFGGGTKVTVL
F2.55.1	SEQ ID NO.80	QLVLTQSSSASFSLGASAKLTCTLSSQHSAYTVEWYQQQPLKPPKYV MELKKGSHSTGDGIPDRFSGSSSGADRYLSISNIQPEDEAIYICGVGD TVKEQFVFGGGTKVTVL
F2.42.9	SEQ ID NO.82	QLVLTQSSSASFSLGASAKLTCTLSSQHSAYTIEWYQQQPLKPPKFVM DLKKGSHSTGDGIPARFSGSSSGADRYLTISNIQPEDEAIYICGVGDTI KEQYVFGGGTKVTVL

表 10. IMGT、KABAT 和 Chothia 软件分析 CD22 抗体的 CDRs 具体序列信息

IMGT 分析						
抗体编号	序列编号	CDR1-HC	序列编号	CDR2-HC	序列编号	CDR3-HC
F1.236.15	SEQ ID NO.83	GYTFTNYW	SEQ ID NO.84	IHPSDSDT	SEQ ID NO.85	AMQFDY
F1.214.8	SEQ ID NO.101	GYTFTSFW	SEQ ID NO.102	IDPSNGDT	SEQ ID NO.103	ASSYAMDY
F1.273.12	SEQ ID NO.119	GYTFTSYW	SEQ ID NO.120	INPSNGGT	SEQ ID NO.121	AGQLDY
F1.231.15	SEQ ID NO.137	GYTFTIYW	SEQ ID NO.138	IDPHSGDT	SEQ ID NO.139	ARRDYSYYV LDY
F1.11.7	SEQ ID NO.155	GYTFTNFW	SEQ ID NO.156	IYPGSGDT	SEQ ID NO.157	TNQMDY
F1.77.9	SEQ ID NO.173	GYTFTTYT	SEQ ID NO.174	INPSSGYT	SEQ ID NO.175	TLQLDY
F1.161.7	SEQ ID	GYTFTSYW	SEQ ID	IYPGTGSS	SEQ ID	ARLKFEIGY

	NO.191		NO.192		NO.193	
F1.257.3	SEQ ID NO.209	GYTFTSYG	SEQ ID NO.210	IYPKLGTT	SEQ ID NO.211	ACPHYATR GGDY
F1.105.11	SEQ ID NO.227	GYTFSDYF	SEQ ID NO.228	INSYSGGT	SEQ ID NO.229	ARWMDY
F1.267.9	SEQ ID NO.245	GYTFTDFY	SEQ ID NO.246	INPYNGGI	SEQ ID NO.247	ARRMEYHA MDY
F1.7.6	SEQ ID NO.263	GYDFTRYN	SEQ ID NO.264	IDPYNGDT	SEQ ID NO.265	EAIYYDMEG YALDY
F1.224.1	SEQ ID NO.281	GYTFTDFN	SEQ ID NO.282	VNPNGGT	SEQ ID NO.283	VRLGTSDYG EAWFIS
F1.250.16	SEQ ID NO.299	GYTFTTYP	SEQ ID NO.300	IHPYNDDT	SEQ ID NO.301	VRGDYNSR YWYFDV
F1.120.15	SEQ ID NO.317	GNAFSNSW	SEQ ID NO.318	VYSEDGDT	SEQ ID NO.319	ARWLIYYGT YGAMDY
F1.62.10	SEQ ID NO.335	GYEFSSIW	SEQ ID NO.336	IFPGDGEI	SEQ ID NO.337	AGWRIYYGT YGAMDY
F1.216.2	SEQ ID NO.353	GYAFSSSW	SEQ ID NO.354	IYPGDGDT	SEQ ID NO.355	AREGSYYSNP WYFDY
F1.280.1	SEQ ID NO.371	GYTFTTYG	SEQ ID NO.372	INTDSGVP	SEQ ID NO.373	ARGGPDY
F1.200.11	SEQ ID NO.389	GYTFTTAG	SEQ ID NO.390	INTLSGEP	SEQ ID NO.391	ARAYYSNLY WYFDV
F1.192.1	SEQ ID NO.407	DFNIKEDY	SEQ ID NO.408	IDPENGDT	SEQ ID NO.409	ATYGSLDY
F1.245.2	SEQ ID NO.425	GFNIKDY	SEQ ID NO.426	IDPEDGET	SEQ ID NO.427	AREAAGYFY RGSSYGYFD V
F1.60.9	SEQ ID NO.443	GLSLNNYG	SEQ ID NO.444	IWGDGST	SEQ ID NO.445	AINWGDY
F1.172.13	SEQ ID NO.461	GFSLSTSGM G	SEQ ID NO.462	IYWDDDK	SEQ ID NO.463	ARAPPPNWD EYFDY
F1.17.1	SEQ ID NO.479	GFSLSRYT	SEQ ID NO.480	IWGGGST	SEQ ID NO.481	ARPHDFDAG GFAY
F2.151.13	SEQ ID NO.497	GYTFRDYW	SEQ ID NO.498	ILPGSGNA	SEQ ID NO.499	ARVYSNWYF DA
F2.70.2	SEQ ID NO.515	GFTFSDYG	SEQ ID NO.516	ISRGSHTI	SEQ ID NO.517	VRMAGYYA MDY
F2.104.10	SEQ ID NO.533	GFTFSDYG	SEQ ID NO.534	ISRGSHTI	SEQ ID NO.535	VRMAGYYA MDY
F2.180.16	SEQ ID NO.551	GFTFSDYY	SEQ ID NO.552	ISNTGYST	SEQ ID NO.553	ARHGILYAM DY
F2.121.9	SEQ ID NO.569	GFTFSDYV	SEQ ID NO.570	ISDAGSYT	SEQ ID NO.571	AIIYFGNYGG Y
F2.173.9	SEQ ID NO.587	GFTFSNYA	SEQ ID NO.588	ISSIGSFT	SEQ ID NO.589	ARLGVYFDS
F2.343.16	SEQ ID NO.605	GFSLTGYYG	SEQ ID NO.606	IWGGGGT	SEQ ID NO.607	ARYSKYGHF DV
F2.205.9	SEQ ID	GFSLSTSGM	SEQ ID	IWWDDDE	SEQ ID	ARISIPYGY

	NO.623	G	NO.624		NO.625	DWFFDV
F2.99.1	SEQ ID NO.641	GFSLSTFPM G	SEQ ID NO.642	IWWDDDE	SEQ ID NO.643	TRANWDRW YFDV
F2.127.11	SEQ ID NO.659	GFSLSTFGM G	SEQ ID NO.660	IWWDDDK	SEQ ID NO.661	ARDNWVSSL DY
F2.55.1	SEQ ID NO.677	GFSLSTFPL G	SEQ ID NO.678	VWWNDDD	SEQ ID NO.679	ARLNWDRW YFDV
F2.42.9	SEQ ID NO.695	GFSLSTFDR G	SEQ ID NO.696	IWWNDKK	SEQ ID NO.697	ARIVWDKYY FDY
抗体编号	序列编号	CDR1-LC	序列编号	CDR2-LC	序列编号	CDR3-LC
F1.236.15	SEQ ID NO.92	QDINTF	SEQ ID NO.93	RA	SEQ ID NO.94	LQYDEFPRT
F1.214.8	SEQ ID NO.110	QDINRF	SEQ ID NO.111	RA	SEQ ID NO.112	LQYDEFRT
F1.273.12	SEQ ID NO.128	QDINSY	SEQ ID NO.129	RA	SEQ ID NO.130	LQYNEFPRT
F1.231.15	SEQ ID NO.146	QSLVHING DTY	SEQ ID NO.147	TV	SEQ ID NO.148	SQSTHVPYT
F1.11.7	SEQ ID NO.164	QDTNRY	SEQ ID NO.165	RT	SEQ ID NO.166	LQYAEFPYT
F1.77.9	SEQ ID NO.182	QDINSY	SEQ ID NO.183	RA	SEQ ID NO.184	LQYYELYT
F1.161.7	SEQ ID NO.200	SSVSY	SEQ ID NO.201	SI	SEQ ID NO.202	HQWSSYPWT
F1.257.3	SEQ ID NO.218	QISISNH	SEQ ID NO.219	YA	SEQ ID NO.220	QQSHSWPYT
F1.105.11	SEQ ID NO.236	ESISKH	SEQ ID NO.237	SG	SEQ ID NO.238	QQHNEYPT
F1.267.9	SEQ ID NO.254	ESVDNYGF DF	SEQ ID NO.255	RA	SEQ ID NO.256	QQSIKDPWT
F1.7.6	SEQ ID NO.272	QSLLYSNN QKNY	SEQ ID NO.273	WA	SEQ ID NO.274	QQFYSPWT
F1.224.1	SEQ ID NO.290	QSVSTPRYS F	SEQ ID NO.291	YA	SEQ ID NO.292	QQSWAIPWT
F1.250.16	SEQ ID NO.308	QNVRTA	SEQ ID NO.309	SA	SEQ ID NO.310	QQYSSFPLT
F1.120.15	SEQ ID NO.326	QDINNY	SEQ ID NO.327	FT	SEQ ID NO.328	QQGNTLPWT
F1.62.10	SEQ ID NO.344	QDIGNY	SEQ ID NO.345	YT	SEQ ID NO.346	QQGNTLPWT
F1.216.2	SEQ ID NO.362	QSIVQSN GD TY	SEQ ID NO.363	KV	SEQ ID NO.364	FQGSHVPFT
F1.280.1	SEQ ID NO.380	QSIYKN	SEQ ID NO.381	YA	SEQ ID NO.382	LQGYIVPLT
F1.200.11	SEQ ID NO.398	QNVVTA	SEQ ID NO.399	SA	SEQ ID NO.400	HQYSSYPFT
F1.192.1	SEQ ID	QGINSF	SEQ ID	RA	SEQ ID	LQYDEFPRT

	NO.416		NO.417		NO.418	
F1.245.2	SEQ ID NO.434	QDISNY	SEQ ID NO.435	YT	SEQ ID NO.436	QQYSMLPYT
F1.60.9	SEQ ID NO.452	QDINSY	SEQ ID NO.453	RA	SEQ ID NO.454	LQYGVFPLT
F1.172.13	SEQ ID NO.470	GNIHNS	SEQ ID NO.471	NA	SEQ ID NO.472	QHFWSTPP
F1.17.1	SEQ ID NO.488	SRVNY	SEQ ID NO.489	DT	SEQ ID NO.490	QQWTSYPLT
F2.151.13	SEQ ID NO.506	TGAVTTSN Y	SEQ ID NO.507	GT	SEQ ID NO.508	ALWFSNHVW
F2.70.2	SEQ ID NO.524	SQHSSYI	SEQ ID NO.525	LKKDGS	SEQ ID NO.526	GVGDTIKEQF VYV
F2.104.10	SEQ ID NO.542	SQHSSYI	SEQ ID NO.543	VKKDGS	SEQ ID NO.544	GVGDTIKEQF VYV
F2.180.16	SEQ ID NO.560	SQYSTYT	SEQ ID NO.561	LKHDGS	SEQ ID NO.562	GVGDTIKEQF MYV
F2.121.9	SEQ ID NO.578	TGAVTTSN Y	SEQ ID NO.579	GT	SEQ ID NO.580	ALWYSTHWV
F2.173.9	SEQ ID NO.596	SQHSTYT	SEQ ID NO.597	IKKDGS	SEQ ID NO.598	GVSDMIKDQ FVYV
F2.343.16	SEQ ID NO.614	TGAVTTSN Y	SEQ ID NO.615	GT	SEQ ID NO.616	ALWYSNHFV V
F2.205.9	SEQ ID NO.632	TGAVTTRN Y	SEQ ID NO.633	GT	SEQ ID NO.634	ALWYSNHFI
F2.99.1	SEQ ID NO.650	RQHSAYT	SEQ ID NO.651	VKKDGS	SEQ ID NO.652	GVGDTIKEHF V
F2.127.11	SEQ ID NO.668	SQHSTYT	SEQ ID NO.669	LKKDGS	SEQ ID NO.670	GVSDTIKEQF VYV
F2.55.1	SEQ ID NO.686	SQHSAYT	SEQ ID NO.687	LKKDGS	SEQ ID NO.688	GVGDTVKEQ FV
F2.42.9	SEQ ID NO.704	SQHSAYT	SEQ ID NO.705	LKKDGS	SEQ ID NO.706	GVGDTIKEQ YV

KABAT 分析

抗体编号	序列编号	CDR1-HC	序列编号	CDR2-HC	序列编号	CDR3-HC
F1.236.15	SEQ ID NO.86	NYWMH	SEQ ID NO.87	RIHPSDSDEYNL QFKD	SEQ ID NO.88	QFDY
F1.214.8	SEQ ID NO.104	SFWMH	SEQ ID NO.105	NIDPSNGDTNYN EKFKS	SEQ ID NO.106	SYAMDY
F1.273.12	SEQ ID NO.122	SYWMD	SEQ ID NO.123	NINPSNGGTNYN EKFKT	SEQ ID NO.124	QLDY
F1.231.15	SEQ ID NO.140	IYWMQ	SEQ ID NO.141	RIDPHSGDTHYN ENFTT	SEQ ID NO.142	RDYSYYVLD Y
F1.11.7	SEQ ID NO.158	NFWMH	SEQ ID NO.159	NIYPSGDTYYN EKFRS	SEQ ID NO.160	QMDY
F1.77.9	SEQ ID	TYTMH	SEQ ID	YINPSSGYTQYN	SEQ ID	QLDY

	NO.176		NO.177	QKFKD	NO.178	
F1.161.7	SEQ ID NO.194	SYWIS	SEQ ID NO.195	DIYPGTGSSNYN EKFKS	SEQ ID NO.196	LKFEGIGY
F1.257.3	SEQ ID NO.212	SYGIS	SEQ ID NO.213	EIYPKLGTTYYN EKFKD	SEQ ID NO.214	PHYYATRGG DY
F1.105.11	SEQ ID NO.230	DYFMN	SEQ ID NO.231	IINSYSGGTSYNQ KFKG	SEQ ID NO.232	WMDY
F1.267.9	SEQ ID NO.248	DFYMN	SEQ ID NO.249	VINPYNGGINYN QKFKG	SEQ ID NO.250	RMEYHAMD Y
F1.7.6	SEQ ID NO.266	RYNMY	SEQ ID NO.267	YIDPYNGDTRYN QKFKG	SEQ ID NO.268	IYYDMEGYA LDY
F1.224.1	SEQ ID NO.284	DFNMD	SEQ ID NO.285	DVNPNNGGTIYN QKFKG	SEQ ID NO.286	LGTSDYGEA WFIS
F1.250.16	SEQ ID NO.302	TYPIE	SEQ ID NO.303	NIHPYNDDEYN EKFKG	SEQ ID NO.304	GDYYNSRYW YFDV
F1.120.15	SEQ ID NO.320	NSWMN	SEQ ID NO.321	RVYSEDGDTQY NGKFRD	SEQ ID NO.322	WLIYYGTYG AMDY
F1.62.10	SEQ ID NO.338	SIWMN	SEQ ID NO.339	RIFPGDGEINYNE KFKG	SEQ ID NO.340	WRIYYGTYG AMDY
F1.216.2	SEQ ID NO.356	SSWMN	SEQ ID NO.357	RIYPGDGDNTNYS GEFKV	SEQ ID NO.358	EGSYYSNPW YFDY
F1.280.1	SEQ ID NO.374	TYGMS	SEQ ID NO.375	WINTDSGVPTYA DDFKR	SEQ ID NO.376	GGPDY
F1.200.11	SEQ ID NO.392	TAGMQ	SEQ ID NO.393	WINTLSGEPKYA EDFKG	SEQ ID NO.394	AYYSNLYWY FDV
F1.192.1	SEQ ID NO.410	EDYIH	SEQ ID NO.411	WIDPENGDEYA SKFQG	SEQ ID NO.412	YGSLDY
F1.245.2	SEQ ID NO.428	DYYIH	SEQ ID NO.429	RIDPEDGETEYAP KFQD	SEQ ID NO.430	EAAGYFYRG SSYGYFDV
F1.60.9	SEQ ID NO.446	NYGVS	SEQ ID NO.447	VIWGDGSTNYHS ALIS	SEQ ID NO.448	NWGDY
F1.172.13	SEQ ID NO.464	TSGMGVS	SEQ ID NO.465	HIYWDDDKRYN PSLKS	SEQ ID NO.466	APPPNWDEY YFDY
F1.17.1	SEQ ID NO.482	RYTVH	SEQ ID NO.483	MIWGGGSTDYN SALKS	SEQ ID NO.484	PHDFDAGGF AY
F2.151.13	SEQ ID NO.500	DYWLE	SEQ ID NO.501	EILPGSGNAYYN EKFKG	SEQ ID NO.502	VYSNWYFDA
F2.70.2	SEQ ID NO.518	DYGMN	SEQ ID NO.519	YISRGSHTIYYAD TVKG	SEQ ID NO.520	MAGYYAMD Y
F2.104.10	SEQ ID NO.536	DYGMN	SEQ ID NO.537	YISRGSHTIYYAD TVKG	SEQ ID NO.538	MAGYYAMD Y
F2.180.16	SEQ ID NO.554	DYYMY	SEQ ID NO.555	YISNTGYSTFYPD SVKG	SEQ ID NO.556	HGILYAMDY
F2.121.9	SEQ ID NO.572	DYVMS	SEQ ID NO.573	TISDAGSYTFYPD NLKG	SEQ ID NO.574	IYFGNYGGY
F2.173.9	SEQ ID NO.590	NYAMS	SEQ ID NO.591	TISSIGSFTYYS VKG	SEQ ID NO.592	LGVYFDS
F2.343.16	SEQ ID NO.608	GYGVQ	SEQ ID NO.609	VIWGGGGTDYN AAFIS	SEQ ID NO.610	YSKYGHFDV

F2.205.9	SEQ ID NO.626	TSGMGVG	SEQ ID NO.627	HIWWDDDEYYN PALKS	SEQ ID NO.628	ISIPYGYDWD FFDV
F2.99.1	SEQ ID NO.644	TFPMGVG	SEQ ID NO.645	HIWWDDDEYYN PVLKS	SEQ ID NO.646	ANWDRWYF DV
F2.127.11	SEQ ID NO.662	TFGMGVG	SEQ ID NO.663	HIWWDDDKHYN PALKS	SEQ ID NO.664	DNWVSSLDY
F2.55.1	SEQ ID NO.680	TFPLGVG	SEQ ID NO.681	HVWWNDDDDYY NPALKS	SEQ ID NO.682	LNWDRWYF DV
F2.42.9	SEQ ID NO.698	TFDRGVG	SEQ ID NO.699	HIWWNDKKFYN PVLKS	SEQ ID NO.700	IVWDKYYFD Y
抗体编号	序列编 号	CDR1-LC	序列编号	CDR2-LC	序列编号	CDR3-LC
F1.236.15	SEQ ID NO.95	KASQDINTF LS	SEQ ID NO.96	RANRLVD	SEQ ID NO.97	LQYDEFPR
F1.214.8	SEQ ID NO.113	KASQDINRF LS	SEQ ID NO.114	RANRLVD	SEQ ID NO.115	LQYDEFRT
F1.273.12	SEQ ID NO.131	KASQDINSY LS	SEQ ID NO.132	RANRLVD	SEQ ID NO.133	LQYNEFPRT
F1.231.15	SEQ ID NO.149	RSSQSLVHI NGDTYLH	SEQ ID NO.150	TVFNRF	SEQ ID NO.151	SQSTHVPYT
F1.11.7	SEQ ID NO.167	TASQDTNR YLK	SEQ ID NO.168	RTNRLID	SEQ ID 169NO.	LQYAEFPYT
F1.77.9	SEQ ID NO.185	KASQDINSY LS	SEQ ID NO.186	RANRLVD	SEQ ID NO.187	LQYYELYT
F1.161.7	SEQ ID NO.203	SASSSVSY MH	SEQ ID NO.204	SISNLAS	SEQ ID NO.205	HQWSSYPWT
F1.257.3	SEQ ID NO.221	RASQSISNH LH	SEQ ID NO.222	YASQSI	SEQ ID NO.223	QQSHSWPYT
F1.105.11	SEQ ID NO.239	RTSESISKH LA	SEQ ID NO.240	SGSTLQS	SEQ ID NO.241	QQHNEYPWT
F1.267.9	SEQ ID NO.257	RASESVDN YGFDFIH	SEQ ID NO.258	RASNLES	SEQ ID NO.259	QQSIKDPWT
F1.7.6	SEQ ID NO.275	KSSQSLLYS NNQKNYLA	SEQ ID NO.276	WASTRES	SEQ ID NO.277	QQFYSPWT
F1.224.1	SEQ ID NO.293	RASQSVSTP RYSFMH	SEQ ID NO.294	YASNLES	SEQ ID NO.295	QQSWAIPWT
F1.250.16	SEQ ID NO.311	KAGQNVRT AVA	SEQ ID NO.312	SASTRYI	SEQ ID NO.313	QQYSSFPLT
F1.120.15	SEQ ID NO.329	RASQDINN YLN	SEQ ID NO.330	FTRSPYS	SEQ ID NO.331	QQGNTLPWT
F1.62.10	SEQ ID NO.347	RASQDIGN YLN	SEQ ID NO.348	YTSRLHS	SEQ ID NO.349	QQGNTLPWT
F1.216.2	SEQ ID NO.365	RSSQSIVQS NGDTYLE	SEQ ID NO.366	KVSNRF	SEQ ID NO.367	FQGSHVPFT
F1.280.1	SEQ ID NO.383	RASQSIYKN LH	SEQ ID NO.384	YASDSIS	SEQ ID NO.385	LQGYIVPLT
F1.200.11	SEQ ID NO.401	KASQNVVT AVA	SEQ ID NO.402	SASNRY	SEQ ID NO.403	HQYSSYPFT

F1.192.1	SEQ ID NO.419	KASQGINSF LT	SEQ ID NO.420	RANRLVD	SEQ ID NO.421	LQYDEFPRT
F1.245.2	SEQ ID NO.437	SASQDISNY LN	SEQ ID NO.438	YTSSLHS	SEQ ID NO.439	QQYSMLPYT
F1.60.9	SEQ ID NO.455	KASQDINSY LS	SEQ ID NO.456	RANRLID	SEQ ID NO.457	LQYGVFPLT
F1.172.13	SEQ ID NO.473	RASGNIHNS LA	SEQ ID NO.474	NAKTLAD	SEQ ID NO.475	QHFWSTPP
F1.17.1	SEQ ID NO.491	SASSRVNY MY	SEQ ID NO.492	DTSNLAS	SEQ ID NO.493	QQWTSYPLT
F2.151.13	SEQ ID NO.509	RSSTGAVTT SNYAN	SEQ ID NO.510	GTNNQAP	SEQ ID NO.511	ALWFSNHVW
F2.70.2	SEQ ID NO.527	TLSSQHSSY IIE	SEQ ID NO.528	LKKDGSHTGD	SEQ ID NO.529	GVGDTIKEQF VYV
F2.104.10	SEQ ID NO.545	TLSSQHSSY IIE	SEQ ID NO.546	VKKDGSHTGD	SEQ ID NO.547	GVGDTIKEQF VYV
F2.180.16	SEQ ID NO.563	TLSSQYSTY TIG	SEQ ID NO.564	LKHDGSRHTGD	SEQ ID NO.565	GVGDTIKEQF MYV
F2.121.9	SEQ ID NO.581	RSNTGAVT TSNYAN	SEQ ID NO.582	GTSNRAP	SEQ ID NO.583	ALWYSTHWV
F2.173.9	SEQ ID NO.599	TLSSQHSTY TIE	SEQ ID NO.600	IKKDGSHTGD	SEQ ID NO.601	GVSDMIKDQ FVYV
F2.343.16	SEQ ID NO.617	RSSTGAVTT SNYAN	SEQ ID NO.618	GTYNRVP	SEQ ID NO.619	ALWYSNHFW V
F2.205.9	SEQ ID NO.635	RSSTGAVTT RNYAN	SEQ ID NO.636	GTNNRAP	SEQ ID NO.637	ALWYSNHFI
F2.99.1	SEQ ID NO.653	TLSRQHSA YTIE	SEQ ID NO.654	VKKDGSHTGD	SEQ ID NO.655	GVGDTIKEHF V
F2.127.11	SEQ ID NO.671	TLSSQHSTY TIE	SEQ ID NO.672	LKKDGSHTGD	SEQ ID NO.673	GVSDTIKEQF VYV
F2.55.1	SEQ ID NO.689	TLSSQHSAY TVE	SEQ ID NO.690	LKKDGSHTGD	SEQ ID NO.691	GVGDTVKEQ FV
F2.42.9	SEQ ID NO.707	TLSSQHSAY TIE	SEQ ID NO.708	LKKDGSHTGD	SEQ ID NO.709	GVGDTIKEQ YV
Chothia 分析						
抗体编号	序列编 号	CDR1-HC	序列编号	CDR2-HC	序列编号	CDR3-HC
F1.236.15	SEQ ID NO.89	GYTFTNY	SEQ ID NO.90	HPSDSD	SEQ ID NO.91	QFDY
F1.214.8	SEQ ID NO.107	GYTFTSF	SEQ ID NO.108	DPSNGD	SEQ ID NO.109	SYAMDY
F1.273.12	SEQ ID NO.125	GYTFTSY	SEQ ID NO.126	NPSNGG	SEQ ID NO.127	QLDY
F1.231.15	SEQ ID NO.143	GYTFTIY	SEQ ID NO.144	DPHSGD	SEQ ID NO.145	RDYSYYVLD Y
F1.11.7	SEQ ID NO.161	GYTFTNF	SEQ ID NO.162	YPGSGD	SEQ ID NO.163	QMDY

F1.77.9	SEQ ID NO.179	GYTFTTY	SEQ ID NO.180	NPSSGY	SEQ ID NO.181	QLDY
F1.161.7	SEQ ID NO.197	GYTFTSY	SEQ ID NO.198	YPGTGS	SEQ ID NO.199	LKFEGIGY
F1.257.3	SEQ ID NO.215	GYTFTSY	SEQ ID NO.216	YPKLGT	SEQ ID NO.217	PHYYATRGG DY
F1.105.11	SEQ ID NO.233	GYTFSDY	SEQ ID NO.234	NSYSGG	SEQ ID NO.235	WMDY
F1.267.9	SEQ ID NO.251	GYTFTDF	SEQ ID NO.252	NPYNGG	SEQ ID NO.253	RMEYHAMD Y
F1.7.6	SEQ ID NO.269	GYDFTRY	SEQ ID NO.270	DPYNGD	SEQ ID NO.271	IYYDMEGYA LDY
F1.224.1	SEQ ID NO.287	GYTFTDF	SEQ ID NO.288	NPNNGG	SEQ ID NO.289	LGTSDYGEA WFIS
F1.250.16	SEQ ID NO.305	GYTFTTY	SEQ ID NO.306	HPYND	SEQ ID NO.307	GDYYNSRYW YFDV
F1.120.15	SEQ ID NO.323	GNAFSNS	SEQ ID NO.324	YSEDGD	SEQ ID NO.325	WLIYYGTYG AMDY
F1.62.10	SEQ ID NO.341	GYEFSSI	SEQ ID NO.342	FPGDGE	SEQ ID NO.343	WRIYYGTYG AMDY
F1.216.2	SEQ ID NO.359	GYAFSSS	SEQ ID NO.360	YPGDGD	SEQ ID NO.361	EGSYSNPW YFDY
F1.280.1	SEQ ID NO.377	GYTFTTY	SEQ ID NO.378	NTDSGV	SEQ ID NO.379	GGPDY
F1.200.11	SEQ ID NO.395	GYTFTTA	SEQ ID NO.396	NTLSGE	SEQ ID NO.397	AYYSNLYWY FDV
F1.192.1	SEQ ID NO.413	DFNIKED	SEQ ID NO.414	DPENGD	SEQ ID NO.415	YGSLDY
F1.245.2	SEQ ID NO.431	GFNIKDY	SEQ ID NO.432	DPEDGE	SEQ ID NO.433	EAAGYFYRG SSYGYFDV
F1.60.9	SEQ ID NO.449	GLSLNNY	SEQ ID NO.450	WGDGS	SEQ ID NO.451	NWGDY
F1.172.13	SEQ ID NO.467	GFSLSSTGM	SEQ ID NO.468	YWDDD	SEQ ID NO.469	APPPNWDEY YFDY
F1.17.1	SEQ ID NO.485	GFSLSRY	SEQ ID NO.486	WGGGS	SEQ ID NO.487	PHDFDAGGF AY
F2.151.13	SEQ ID NO.503	GYTFRDY	SEQ ID NO.504	LPGSGN	SEQ ID NO.505	VYSNWYFDA
F2.70.2	SEQ ID NO.521	GFTFSDY	SEQ ID NO.522	SRGSHT	SEQ ID NO.523	MAGYYAMD Y
F2.104.10	SEQ ID NO.539	GFTFSDY	SEQ ID NO.540	SRGSHT	SEQ ID NO.541	MAGYYAMD Y
F2.180.16	SEQ ID NO.557	GFTFSDY	SEQ ID NO.558	SNTGYS	SEQ ID NO.559	HGILYAMDY
F2.121.9	SEQ ID NO.575	GFTFSDY	SEQ ID NO.576	SDAGSY	SEQ ID NO.577	IYFGNYGGY
F2.173.9	SEQ ID NO.593	GFTFSNY	SEQ ID NO.594	SSIGSF	SEQ ID NO.595	LGVIYFDS
F2.343.16	SEQ ID	GFSLTGY	SEQ ID	WGGGG	SEQ ID	YSKYGHFDV

	NO.611		NO.612		NO.613	
F2.205.9	SEQ ID NO.629	GFSLSSTSGM	SEQ ID NO.630	WWDDD	SEQ ID NO.631	ISIPYGYDWD FFDV
F2.99.1	SEQ ID NO.647	GFSLSSTFPM	SEQ ID NO.648	WWDDD	SEQ ID NO.649	ANWDRWYF DV
F2.127.11	SEQ ID NO.665	GFSLSSTFGM	SEQ ID NO.666	WWDDD	SEQ ID NO.667	DNWVSSLDY
F2.55.1	SEQ ID NO.683	GFSLSSTFPL	SEQ ID NO.684	WWNDD	SEQ ID NO.685	LNWDRWYF DV
F2.42.9	SEQ ID NO.701	GFSLSSTFDR	SEQ ID NO.702	WWNDK	SEQ ID NO.703	IVWDKYYFD Y
抗体编号	序列编 号	CDR1-LC	序列编号	CDR2-LC	序列编号	CDR3-LC
F1.236.15	SEQ ID NO.98	KASQDINTF LS	SEQ ID NO.99	RANRLVD	SEQ ID NO.100	LQYDEFPRT
F1.214.8	SEQ ID NO.116	KASQDINRF LS	SEQ ID NO.117	RANRLVD	SEQ ID NO.118	LQYDEFRT
F1.273.12	SEQ ID NO.134	KASQDINSY LS	SEQ ID NO.135	RANRLVD	SEQ ID NO.135	LQYNEFPRT
F1.231.15	SEQ ID NO.152	RSSQSLVHI NGDTYLH	SEQ ID NO.153	TVFNRF	SEQ ID NO.154	SQSTHVPYT
F1.11.7	SEQ ID NO.170	TASQDTNR YLK	SEQ ID NO.171	RTNRLID	SEQ ID NO.172	LQYAEFPYT
F1.77.9	SEQ ID NO.188	KASQDINSY LS	SEQ ID NO.189	RANRLVD	SEQ ID NO.190	LQYYELYT
F1.161.7	SEQ ID NO.206	SASSSVSY MH	SEQ ID NO.207	SISNLAS	SEQ ID NO.208	HQWSSYPWT
F1.257.3	SEQ ID NO.224	RASQSISNH LH	SEQ ID NO.225	YASQSI	SEQ ID NO.226	QQSHSWPYT
F1.105.11	SEQ ID NO.242	RTSESISKH LA	SEQ ID NO.243	SGSTLQS	SEQ ID NO.244	QQHNEYPT
F1.267.9	SEQ ID NO.260	RASESVDN YGFDFIH	SEQ ID NO.261	RASNLES	SEQ ID NO.262	QQSIKDPWT
F1.7.6	SEQ ID NO.278	KSSQSLLYS NNQKNYLA	SEQ ID NO.279	WASTRES	SEQ ID NO.280	QQFYSSYPWT
F1.224.1	SEQ ID NO.296	RASQSVSTP RYSFMH	SEQ ID NO.297	YASNLES	SEQ ID NO.298	QQSWAIPWT
F1.250.16	SEQ ID NO.314	KAGQNVRT AVA	SEQ ID NO.315	SASTRYI	SEQ ID NO.316	QQYSSFPLT
F1.120.15	SEQ ID NO.332	RASQDINN YLN	SEQ ID NO.333	FSTRPYS	SEQ ID NO.334	QQGNTLPWT
F1.62.10	SEQ ID NO.350	RASQDIGN YLN	SEQ ID NO.351	YTSRLHS	SEQ ID NO.352	QQGNTLPWT
F1.216.2	SEQ ID NO.368	RSSQSIVQS NGDTYLE	SEQ ID NO.369	KVSNRFS	SEQ ID NO.370	FQGSHPFT
F1.280.1	SEQ ID NO.386	RASQSIYKN LH	SEQ ID NO.387	YASDSIS	SEQ ID NO.388	LQGYIVPLT
F1.200.11	SEQ ID	KASQNVVT	SEQ ID	SASNRYS	SEQ ID	HQYSSYPFT

	NO.404	AVA	NO.405		NO.406	
F1.192.1	SEQ ID NO.422	KASQGINSF LT	SEQ ID NO.423	RANRLVD	SEQ ID NO.424	LQYDEFPRP
F1.245.2	SEQ ID NO.440	SASQDISNY LN	SEQ ID NO.441	YTSSLHS	SEQ ID NO.442	QQYSMLPYT
F1.60.9	SEQ ID NO.458	KASQDINSY LS	SEQ ID NO.459	RANRLID	SEQ ID NO.460	LQYGVFPLT
F1.172.13	SEQ ID NO.476	RASGNIHNS LA	SEQ ID NO.477	NAKTLAD	SEQ ID NO.478	QHFWSSTPP
F1.17.1	SEQ ID NO.494	SASSRVNY MY	SEQ ID NO.495	DTSNLAS	SEQ ID NO.496	QQWTSYPLT
F2.151.13	SEQ ID NO.512	RSSTGAVTT SNYAN	SEQ ID NO.513	GTNNQAP	SEQ ID NO.514	ALWFSNHVW
F2.70.2	SEQ ID NO.530	TLSSQHSSY IIE	SEQ ID NO.531	LKKDGSHTGD	SEQ ID NO.532	GVGDTIKEQF VYV
F2.104.10	SEQ ID NO.548	TLSSQHSSY IIE	SEQ ID NO.549	VKKDGSHTGD	SEQ ID NO.550	GVGDTIKEQF VYV
F2.180.16	SEQ ID NO.566	TLSSQYSTY TIG	SEQ ID NO.567	LKHDGSRHTGD	SEQ ID NO.568	GVGDTIKEQF MYV
F2.121.9	SEQ ID NO.584	RSNTGAVT TSNYAN	SEQ ID NO.585	GTSNRAP	SEQ ID NO.586	ALWYSTHWV
F2.173.9	SEQ ID NO.602	TLSSQHSTY TIE	SEQ ID NO.603	IKKDGSHTGD	SEQ ID NO.604	GVSDMIKDQ FVYV
F2.343.16	SEQ ID NO.620	RSSTGAVTT SNYAN	SEQ ID NO.621	GTYNRVP	SEQ ID NO.622	ALWYSNHFW V
F2.205.9	SEQ ID NO.638	RSSTGAVTT RNYAN	SEQ ID NO.639	GTNNRAP	SEQ ID NO.640	ALWYSNHFI
F2.99.1	SEQ ID NO.656	TLSRQHSA YTIE	SEQ ID NO.657	VKKDGSHTGD	SEQ ID NO.658	GVGDTIKEHF V
F2.127.11	SEQ ID NO.674	TLSSQHSTY TIE	SEQ ID NO.675	LKKDGSHTGD	SEQ ID NO.676	GVSDTIKEQF VYV
F2.55.1	SEQ ID NO.692	TLSSQHSAY TVE	SEQ ID NO.693	LKKDGSHTGD	SEQ ID NO.694	GVGDTVKEQ FV
F2.42.9	SEQ ID NO.710	TLSSQHSAY TIE	SEQ ID NO.711	LKKDGSHTGD	SEQ ID NO.712	GVGDTIKEQ YV

包含信号肽和鼠源抗体 IgG1 的重链恒定区 (SEQ ID NO: 10)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL
GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP
SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFNCSVMHEALH
NHYTQKSLSLSPGK

包含信号肽和人源抗体 IgG1 的 Kappa 轻链恒定区 (SEQ ID NO: 11)

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSK
ADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

包含信号肽和人源抗体 IgG1 的 Lambda 轻链恒定区 (SEQ ID NO: 12)

GQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNKYAASSYLSLTP
EQWKSHRYSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

实施例 5 CD22 人鼠嵌合抗体的鉴定

5.1 酶联免疫吸附实验 (ELISA) 检测嵌合抗体与 CD22 蛋白的结合

为了检测 CD22 人鼠嵌合抗体与 CD22 蛋白的结合活性, 将实施例 2 获得的纯化的人 CD22-ECD-His 蛋白用 PBS 稀释到终浓度 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 然后以 100 μl /孔加到 96 孔 ELISA 板。用塑料膜封好 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, 第二天用 PBS 洗板 2 次, 加入封闭液 [PBS +2% (w/w) BSA] 室温封闭 2 小时。倒掉封闭液, 以 50 μl /孔加入 100nM 梯度稀释的嵌合抗体或阴性对照抗体。37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 2 小时后, 用 PBS 洗板 3 次。加入 HRP (辣根过氧化物酶) 标记的二抗 (购自 Sigma, 货号: A0170), 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 2 小时后, 用 PBS 洗板 5 次。加入 TMB 底物 50 μl /孔, 室温孵育 30 分钟后, 加入终止液 (1.0N HCl) 50 μl /孔。用 ELISA 读板机 (Multimode Plate Reader, EnSight, 购自 Perkin Elmer) 读取 OD450nm 数值, 嵌合抗体与人 CD22-ECD 蛋白的 ELISA 结果如图 5 和表 11 所示, 表 11 说明, 纯化后的抗体均能与 CD22-ECD 在 ELISA 水平结合。其中阴性对照抗体 hIgG1 为针对鸡卵溶菌酶的抗体 anti-hel-hIgG1 (购自百英, 货号: B117901), 表中的数据为 OD450nm 值。

表 11. ELISA 检测嵌合抗体与人 CD22 蛋白的结合反应

OD450 抗体名称	抗体浓度 (nM)							空白 对照
	100.00	10.00	0.10	0.01	0.001	0.0001	0.00001	
F1.236.15	2.98	2.62	2.51	2.05	0.57	0.14	0.09	0.08
F1.214.8	2.95	2.50	2.34	2.14	0.81	0.18	0.08	0.06
F1.273.12	3.07	2.72	2.58	2.20	0.77	0.17	0.07	0.06
F1.231.15	2.64	2.44	2.42	2.14	1.08	0.27	0.13	0.06
F1.11.7	2.89	2.63	2.42	1.64	0.37	0.11	0.06	0.06
F1.77.9	2.84	2.64	2.58	2.12	0.69	0.19	0.11	0.06
F1.105.11	2.79	2.68	2.52	1.93	0.53	0.14	0.08	0.07
F1.267.9	2.56	2.55	2.39	1.47	0.34	0.10	0.06	0.07
F1.7.6	2.88	2.46	2.51	2.20	1.19	0.34	0.15	0.08
F1.224.1	3.12	2.43	2.37	2.21	1.08	0.34	0.17	0.07
F1.250.16	3.07	2.56	2.58	2.24	0.86	0.21	0.12	0.06
F1.120.15	2.89	2.61	2.63	2.28	1.21	0.42	0.12	0.06
F1.216.2	2.69	2.53	2.55	2.48	1.71	0.45	0.20	0.06
F1.280.1	2.46	2.30	2.38	1.92	0.81	0.24	0.13	0.06
F1.200.11	2.34	2.33	2.40	2.00	0.85	0.51	0.33	0.07
F1.192.1	2.71	2.57	2.52	1.79	0.46	0.10	0.06	0.07
F1.245.2	2.70	2.54	2.57	2.30	1.24	0.44	0.22	0.07
F1.60.9	2.82	2.55	2.59	1.75	0.47	0.13	0.09	0.08
F1.172.13	2.87	2.51	2.53	2.11	0.74	0.17	0.10	0.10
F1.17.1	2.86	2.21	2.41	1.85	0.75	0.20	0.11	0.10
F1.161.7	2.97	2.63	2.61	2.34	1.22	0.43	0.25	0.06
F1.257.3	2.83	2.64	2.49	1.66	0.60	0.28	0.20	0.07
F1.62.10	2.93	2.67	2.79	2.16	1.07	0.37	0.24	0.06

F2.70.2	2.24	2.03	1.86	1.56	0.57	0.18	0.09	0.07
F2.104.10	2.44	2.00	1.94	1.70	0.66	0.32	0.22	0.06
F2.180.16	2.61	2.08	1.80	1.55	0.61	0.31	0.21	0.06
F2.121.9	2.11	1.92	1.84	1.60	0.69	0.33	0.23	0.06
F2.173.9	2.32	1.97	1.93	1.52	0.65	0.32	0.18	0.06
F2.343.16	1.94	1.84	1.93	1.29	0.43	0.25	0.18	0.06
F2.205.9	2.22	2.11	2.10	1.48	0.40	0.24	0.19	0.06
F2.99.1	2.10	2.06	2.10	1.45	0.51	0.27	0.08	0.06
F2.127.11	1.92	1.98	1.91	1.34	0.50	0.26	0.21	0.06
F2.55.1	2.08	2.16	2.03	1.30	0.44	0.23	0.16	0.07
F2.42.9	3.14	2.68	2.58	1.95	0.68	0.19	0.09	0.08
F2.151.13	3.28	2.60	2.55	2.10	0.64	0.20	0.10	0.07
HA22	2.65	2.61	2.57	2.12	0.89	0.33	0.19	0.07
m971	2.63	2.48	2.58	2.12	0.83	0.17	0.08	0.06
hIgG1	0.15	0.08	0.06	0.05	0.06	0.06	0.05	0.06

5.2 流式细胞实验 (FACS) 检测嵌合抗体与不同 CD22 表达细胞的结合

将所需细胞在 T-75 细胞培养瓶中扩大培养至对数生长期，对于贴壁细胞 CHO-K1 吸除培养基，用 PBS 缓冲液洗涤 2 次，然后用胰酶消化细胞，终止消化后用 PBS 缓冲液洗涤细胞 2 次；对于悬浮细胞 Raji 直接离心弃去培养基上清，细胞沉淀用 PBS 洗涤 2 次。对上一步的细胞进行细胞计数后将细胞沉淀用 [PBS +2% (w/w) BSA] 封闭液重悬至 2×10^6 个细胞/毫升，按 50 μ l/孔加入到 96 孔 FACS 反应板中，加入嵌合抗体待测样品 50 μ l/孔，冰上孵育 2 小时。用 PBS 缓冲液离心洗涤 3 次，加入 50 μ l/孔 Alexa Flour 488 标记的二抗 (购自 Invitrogen，货号：A-11013)，冰上孵育 1 小时。用 PBS 缓冲液离心洗涤 5 次，用 FACS (FACS Canto™，购自 BD 公司) 检测和分析结果。通过软件 (CellQuest) 进行数据分析，得到细胞的平均荧光密度 (MFI)。再通过软件 (GraphPad Prism8) 分析，进行数据拟合，计算 EC50 值。分析结果如表 12-13 以及图 6A-6B 所示，嵌合抗体均可结合 Raji 细胞和 CHO-K1-人 CD22 2C4 细胞表面的人 CD22 蛋白 (图 6A-6B)。使用同样的方法同时检测了嵌合抗体与内源 CD22 阴性的细胞 MoLT4 细胞 (购自 ATCC, CRL-1582) 以及 CHO-K1 细胞的结合，结果如图 6C-6D 所示：图 6C-6D 中未显示与 MoLT4 细胞以及 CHO-K1 细胞结合的柱状图，可见，所有嵌合抗体均不结合 MoLT4 细胞以及 CHO-K1 细胞，具有很好的特异性。

表 12. FACS 检测嵌合抗体与 Raji 和 CHO-K1-人 CD22 2C4 细胞的结合反应

抗体名称	Raji		CHO-K1-人 CD22 2C4	
	最大平均荧光强度	Ec50 (nM)	最大平均荧光强度	Ec50 (nM)
F1.236.15	26025	0.34	30207	0.81
F1.214.8	24067	0.33	24120	0.81
F1.273.12	25310	0.38	28225	0.99
F1.231.15	28757	0.45	35404	1.18
F1.11.7	25492	0.42	29596	0.89
F1.77.9	24148	0.29	20158	0.71
F1.105.11	24407	1.39	28288	2.53
F1.267.9	26741	1.66	31189	2.08
F1.7.6	25861	0.23	29720	0.63

F1.224.1	23595	0.65	30372	0.99
F1.250.16	24999	0.16	37373	0.49
F1.120.15	23746	0.89	27851	1.07
F1.216.2	25288	0.16	31494	0.32
F1.280.1	25039	0.5	43819	0.92
F1.200.11	20844	2.41	23041	11.2
F1.192.1	24398	0.37	27170	0.81
F1.245.2	29927	0.07	43303	0.33
F1.60.9	25323	0.29	30139	0.61
F1.172.13	23765	0.17	33783	0.59
F1.17.1	28521	0.17	36915	0.44
F1.161.7	27853	0.22	37135	0.59
F1.257.3	29336	0.27	46611	0.68
F1.62.10	25601	1.1	29180	1.31
HA22	25015	0.29	32749	0.81
m971	13043	3.32	23659	2.45
hIgG1	2772	阴性	5221	阴性

表 13. FACS 检测嵌合抗体与 Raji 和 CHO-K1-人 CD22 2C4 细胞的结合反应

抗体名称	Raji		CHO-K1-人 CD22 2C4	
	最大平均 荧光强度	Ec50 (nM)	最大平均 荧光强度	Ec50 (nM)
F2.70.2	16564	0.35	39021	0.76
F2.104.10	16258	0.4	40596	0.88
F2.180.16	15686	0.88	34374	1.63
F2.121.9	18917	0.86	39749	1.09
F2.173.9	18947	0.84	40264	1.23
F2.343.16	19332	0.8	50169	1.15
F2.205.9	15548	0.38	40245	0.72
F2.99.1	18104	0.59	44796	0.83
F2.127.11	24364	0.59	58514	1.22
F2.55.1	18574	0.41	42004	0.82
F2.42.9	16701	0.33	40953	0.87
F2.151.13	18763	1.26	36975	3.28
HA22	19668	0.71	43414	1.1
m971	8917	4.61	30114	2.86
hIgG1	564	阴性	150	阴性

实施例 6 嵌合抗体的种属交叉结合活性检测

6.1 ELISA 检测嵌合抗体与不同种属 CD22 蛋白的结合

为检测嵌合抗体的种属交叉活性，将商品化的鼠 CD22 蛋白 (ACROBiosystems, 货号: SI2-M52Ha) 和猴 CD22 蛋白 (ACROBiosystems, 货号: SI2-R52Ha) 分别包被 ELISA 板，按照实施例 5.1 的方法进行 ELISA 检测。嵌合抗体与鼠 CD22 -ECD 的 ELISA 结果如图 7 和表 14 所示，表 14 说明，纯化后的嵌合抗体与鼠 CD22 -ECD 在 ELISA 水平均无结合。其中阴性对照为 hIgG1, 983 为人 CD22-ECD-His 免疫小鼠后的血清作为阳性对照，表中的数据为 OD450nm

值。

表 14. ELISA 检测嵌合抗体与鼠 CD22 蛋白的结合反应

抗体名称 \ OD450	抗体浓度 (nM)							空白对照
	100	10	0.1	0.01	0.001	0.0001	0.00001	
F1.236.15	0.07	0.08	0.07	0.07	0.07	0.07	0.08	0.08
F1.214.8	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	0.07
F1.273.12	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.07
F1.231.15	0.06	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	0.06
F1.11.7	0.07	0.05	0.05	0.06	0.05	0.05	0.06	0.07
F1.77.9	0.08	0.06	0.05	0.05	0.05	0.06	0.06	0.06
F1.105.11	0.08	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06
F1.267.9	0.07	0.08	0.06	0.06	0.07	0.07	0.07	0.07
F1.7.6	0.07	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.07
F1.224.1	0.07	0.10	0.05	0.06	0.05	0.05	0.06	0.06
F1.250.16	0.06	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	0.06
F1.120.15	0.06	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	0.07
F1.216.2	0.08	0.06	0.05	0.05	0.05	0.06	0.06	0.07
F1.280.1	0.16	0.07	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	0.07
F1.200.11	0.07	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	0.07
F1.192.1	0.08	0.08	0.07	0.07	0.06	0.07	0.07	0.08
F1.245.2	0.09	0.07	0.06	0.06	0.06	0.07	0.06	0.07
F1.60.9	0.08	0.06	0.05	0.06	0.05	0.06	0.06	0.07
F1.172.13	0.08	0.06	0.05	0.05	0.05	0.06	0.06	0.07
F1.17.1	0.07	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	0.07
F1.161.7	0.08	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	0.07
F1.257.3	0.20	0.07	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	0.07
F1.62.10	0.08	0.06	0.05	0.05	0.05	0.06	0.07	0.07
F2.70.2	0.10	0.07	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.07
F2.104.10	0.07	0.07	0.06	0.07	0.06	0.06	0.05	0.07
F2.180.16	0.05	0.06	0.05	0.05	0.05	0.07	0.06	0.06
F2.121.9	0.06	0.06	0.05	0.05	0.06	0.06	0.06	0.07
F2.173.9	0.09	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	0.09
F2.343.16	0.07	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	0.07
F2.205.9	0.07	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06	0.06
F2.99.1	0.07	0.06	0.05	0.06	0.05	0.05	0.06	0.07
F2.127.11	0.10	0.07	0.06	0.05	0.05	0.06	0.06	0.06
F2.55.1	0.09	0.06	0.06	0.05	0.05	0.06	0.06	0.06
F2.42.9	0.09	0.08	0.08	0.07	0.07	0.08	0.08	0.09
F2.151.13	0.09	0.08	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07
983*	2.58	2.13	1.12	0.25	0.08	0.06	0.10	0.09
HA22	0.10	0.07	0.06	0.06	0.05	0.06	0.06	0.07
m971	0.11	0.08	0.07	0.07	0.06	0.07	0.07	0.08
hIgG1	0.16	0.09	0.08	0.08	0.08	0.07	0.08	0.08

*: 983 血清从 1: 100 开始进行 5 倍浓度梯度稀释。

嵌合抗体与猴 CD22- ECD 的 ELISA 结果如图 8 和表 15 所示, 表 15 说明, F1. 236. 15、F1. 11. 7、F1. 105. 11、F1. 267. 9、F1. 224. 1、F1. 250. 16、F1. 120. 15、F1. 216. 2、F1. 200. 11、F1. 192. 1、F1. 172. 13、F1. 17. 1、F2. 121. 9、F2. 173. 9、F1. 205. 9、F2. 99. 1、F2. 55. 1、F2. 42. 9 和 F2. 151. 13 与猴 CD22- ECD 蛋白有结合活性。

表 15. ELISA 检测嵌合抗体与猴 CD22 蛋白的结合反应

抗体名称 \ OD450	抗体浓度 (nM)							
	100	10	0.1	0.01	0.001	0.0001	0.00001	空白对照
F1.236.15	1.03	0.81	0.49	0.23	0.08	0.06	0.06	0.07
F1.214.8	0.23	0.15	0.12	0.08	0.06	0.07	0.06	0.06
F1.273.12	0.23	0.22	0.09	0.07	0.06	0.06	0.06	0.06
F1.231.15	0.45	0.31	0.17	0.09	0.06	0.06	0.06	0.06
F1.11.7	1.82	1.72	1.72	0.86	0.21	0.08	0.06	0.06
F1.77.9	0.44	0.67	0.14	0.08	0.06	0.06	0.06	0.06
F1.105.11	1.29	1.40	1.31	0.68	0.17	0.07	0.06	0.06
F1.267.9	2.27	1.89	1.07	0.27	0.10	0.07	0.06	0.07
F1.7.6	0.44	0.17	0.07	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06
F1.224.1	2.87	2.48	2.30	1.86	0.60	0.15	0.08	0.06
F1.250.16	3.08	2.97	2.81	2.62	1.02	0.23	0.10	0.07
F1.120.15	1.64	1.90	1.56	0.65	0.16	0.07	0.06	0.06
F1.216.2	1.94	2.15	2.24	2.04	0.91	0.21	0.09	0.06
F1.280.1	0.20	0.08	0.06	0.05	0.06	0.06	0.06	0.07
F1.200.11	1.25	1.23	0.62	0.19	0.08	0.06	0.06	0.06
F1.192.1	1.21	0.84	0.53	0.19	0.07	0.07	0.07	0.07
F1.245.2	0.08	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.07
F1.60.9	0.09	0.07	0.06	0.05	0.05	0.06	0.06	0.06
F1.172.13	3.21	2.93	2.78	2.47	0.82	0.18	0.09	0.07
F1.17.1	1.91	2.16	1.99	1.75	0.51	0.13	0.07	0.06
F1.161.7	0.34	0.13	0.06	0.05	0.05	0.05	0.06	0.06
F1.257.3	0.18	0.07	0.06	0.05	0.05	0.06	0.06	0.07
F1.62.10	0.36	0.18	0.07	0.05	0.05	0.06	0.06	0.06
F2.70.2	0.11	0.08	0.06	0.06	0.07	0.06	0.06	0.06
F2.104.10	0.07	0.07	0.05	0.06	0.05	0.05	0.05	0.06
F2.180.16	0.06	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06
F2.121.9	0.72	0.56	0.34	0.13	0.06	0.05	0.05	0.06
F2.173.9	1.18	1.12	1.25	0.38	0.12	0.06	0.06	0.06
F2.343.16	0.08	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06
F2.205.9	2.33	2.28	2.21	1.78	0.63	0.16	0.08	0.06
F2.99.1	1.37	1.03	0.27	0.07	0.05	0.05	0.05	0.06
F2.127.11	0.39	0.09	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.06
F2.55.1	1.91	2.00	1.73	0.85	0.18	0.07	0.06	0.08
F2.42.9	2.42	1.65	0.95	0.25	0.09	0.07	0.07	0.08
F2.151.13	2.77	1.89	1.60	0.94	0.27	0.10	0.07	0.07
HA22	2.20	2.41	2.24	1.54	0.47	0.14	0.08	0.06
m971	0.12	0.09	0.07	0.07	0.06	0.07	0.07	0.08
hIgG1	0.13	0.10	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07

6.2 FACS 检测嵌合抗体与猴 CD22 表达细胞的结合

将 HEK293T-猴 CD22 细胞按照实施例 5.2 的方法进行 FACS 检测与数据分析。分析结果如表 16-17 以及图 9A 所示,除了 F1.280.1, F1.245.2, F1.60.9, F1.257.3, F2.70.2, F2.104.10, F2.180.16, F2.343.16, F2.99.1, F2.127.11 和 F2.42.9 外,其余嵌合抗体与过表达猴 CD22 的 HEK293T 细胞均有结合活性, EC50 显示结合活性最高达到 0.26nM。使用同样的方法同时检测了 1nm 和 10nm 嵌合抗体与 HEK293T 细胞的结合,结果如图 9B 所示;图 9B 中未显示与 HEK293T 细胞结合的柱状图,可见,所有嵌合抗体均不结合 HEK293T 细胞, , 具有很好的特异性。

表 16. FACS 检测嵌合抗体与 HEK293T-猴 CD22 细胞的结合反应

抗体名称	HEK293T-猴 CD22	
	最大平均 荧光强度	Ec50 (nM)
F1.236.15	6754	2.47
F1.214.8	12120	0.55
F1.273.12	9998	0.82
F1.231.15	9254	12.34
F1.11.7	16077	0.63
F1.77.9	10879	0.71
F1.105.11	7528	1.3
F1.267.9	15314	1.15
F1.7.6	9223	2.22
F1.224.1	16267	0.79
F1.250.16	19655	0.31
F1.120.15	13565	0.95
F1.216.2	13880	0.26
F1.280.1	1488	阴性
F1.200.11	16187	4.32
F1.192.1	16286	0.62
F1.245.2	124	阴性
F1.60.9	531	阴性
F1.172.13	19039	0.47
F1.17.1	17192	0.38
F1.161.7	6027	31.2
F1.257.3	147	阴性
F1.62.10	4326	41.08
HA22	17054	0.91
m971	49	阴性
hIgG1	129	阴性

表 17. FACS 检测嵌合抗体与 HEK293T-猴 CD22 细胞的结合反应

抗体名称	HEK293T-猴 CD22	
	最大平均	Ec50 (nM)

	荧光强度	
F2.70.2	409	阴性
F2.104.10	251	阴性
F2.180.16	69	阴性
F2.121.9	19947	0.97
F2.173.9	22679	2.1
F2.343.16	83	阴性
F2.205.9	25370	0.4
F2.99.1	144	阴性
F2.127.11	109	阴性
F2.55.1	5765	34.7
F2.42.9	580	阴性
F2.151.13	30502	1.26
HA22	31169	1.59
m971	104	阴性
hIgG1	167	阴性

6.3 FACS 检测嵌合抗体与食蟹猴（拉丁名：*Macaca fascicularis*）外周血 B 细胞的结合

从新鲜食蟹猴外周血（购自上海美迪西生物医药股份有限公司）中按照 Ficoll-Paque Plus（购自 GE Healthcae，货号：171440-02）说明书提取猴外周血单核细胞，细胞悬液离心后以含 1%BSA 的 PBS 重悬细胞后计数，同时加入有猴 CD20 交叉结合活性的鼠源抗体 Brilliant Violet 605 anti-human CD20（货号：302334，购自 Biolegend）和待测嵌合抗体（1nM、10nM 和 100nM），室温孵育 1 小时。清洗细胞三次后加入 APC 标记的二抗 anti-human IgG Fc（货号：409306，购自 Biolegend），避光室温孵育 30 分钟后清洗细胞 5 次，用含 1%BSA 的 PBS 轻轻重悬细胞，用 FACS（FACS Canto™，购自 BD 公司）检测和分析，其中 CD20 作为 B 细胞的标记物，对 CD20 阳性的 B 细胞群进行圈门，分析其中嵌合抗体阳性细胞所占比例，分别计算 100nM、10nM 和 1nM 浓度下的嵌合抗体处理的嵌合抗体阳性细胞群占 B 细胞群的比例，结果如表 18 所示。Brilliant Violet 605 标记 CD20 和 APC 二抗间接标记嵌合抗体的双染细胞散点图见图 10A-图 10B（1nM 嵌合抗体浓度条件下）。由结果可知，F1.11.7、F1.77.9、F1.105.11、F1.267.9、F1.224.1、F1.250.16、F1.120.15、F1.17.1、F2.121.9 和 F2.151.13 即使在 1nM 低浓度条件下依然与食蟹猴 B 细胞有较高比例的结合，且相比于阳性抗体 HA22 和 hL22 有相当或者更好的结合活性。

表 18. FACS 检测嵌合抗体与食蟹猴 B 细胞的结合反应

嵌合抗体阳性细胞占 B 细胞的比例 (%)			
抗体名称	抗体浓度		
	100nM	10nM	1nM
F1.236.15	22	17	12
F1.214.8	52	35	24
F1.273.12	45	33	26

F1.231.15	29	16	11
F1.11.7	91	84	74
F1.77.9	61	39	27
F1.105.11	69	59	46
F1.267.9	95	91	39
F1.7.6	43	28	17
F1.224.1	97	96	83
F1.250.16	97	95	92
F1.120.15	93	86	27
F1.216.2	34	25	22
F1.280.1	35	18	19
F1.200.11	56	37	21
F1.192.1	38	30	22
F1.245.2	17	17	16
F1.60.9	18	16	16
F1.172.13	34	31	30
F1.17.1	68	62	60
F1.161.7	29	21	16
F1.257.3	34	20	17
F1.62.10	24	19	17
F2.70.2	34	20	20
F2.104.10	26	21	19
F2.180.16	23	20	16
F2.121.9	64	56	27
F2.173.9	71	43	19
F2.343.16	22	21	21
F2.205.9	46	41	40
F2.99.1	22	16	19
F2.127.11	22	21	20
F2.55.1	66	28	22
F2.42.9	23	20	20
F2.151.13	60	48	38
HA22	93	89	33
hL22	66	42	30
hIgG1	10	8	10

实施例 7 CD22 抗体亲和力测定

7.1 嵌合抗体与人 CD22-ECD-His 蛋白亲和力测定

使用 Protein A 芯片 (GE Healthcare; 29-127-558) 捕获抗人 CD22 嵌合抗体。样品和运行缓冲液是 HBS-EP+ (10mM HEPES, 150mM NaCl, 3mM EDTA, 0.05% surfactant P20) (GE Healthcare; BR-1006-69)。流经池设置为 25°C。样品块设置为 16°C。两者都用运行缓冲液预处理。在每一个循环中, 首先用 Protein A 芯片捕获待测抗体, 然后注入单一浓度的 CD22 抗原蛋白, 记录抗体和抗原蛋白的结合和解离过程, 最后用 Glycine pH1.5 (GE Healthcare; BR-1003-54) 完成芯片再生。通过注射溶液中不同浓度的重组人 CD22-ECD His 蛋白持续 240 秒来测量结合, 其中流速为 30 μ L/分钟, 从 200nM 起始 (测试的实际浓度见详细结果), 以 1:1 稀释, 总共 5 个浓度。监测解离相长达 600 秒, 并通过从样品溶液切换到运行缓冲液触发。

通过用 10mM 甘氨酸溶液 (pH 1.5) 以 30 μ L/分钟 的流速洗涤 30 秒, 再生表面。通过减去从山羊抗人 Fc 表面获得的响应来校正本体折射率 (Bulk refractive index) 差异。也减去空白注射 (= 双重参照)。为了计算表观 KD 和其他动力学参数, 使用 Langmuir 1: 1 模型。嵌合抗体与人 CD22-His 蛋白的结合速率 (k_a)、解离速率 (k_d) 及结合亲和力 (KD) 如表 19 所示, 其中抗体 HA22、m971 作为阳性对照。表 19 所示, 嵌合抗体与人 CD22 的亲和力最高可达到 $2.54E-10M$ 。

表 19. SPR (biacore) 检测嵌合抗体与人 CD22 的亲和力

抗体名称	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	KD (M)
F1.11.7	2.27E+05	7.80E-05	3.43E-10
F1.105.11	2.99E+05	1.54E-04	5.14E-10
F1.236.15	2.62E+05	1.56E-04	5.96E-10
F1.257.3	2.70E+05	1.13E-04	4.17E-10
F1.60.9	3.01E+05	7.64E-05	2.54E-10
F1.245.2	2.60E+06	1.19E-03	4.58E-10
F1.17.1	2.41E+05	4.98E-04	2.07E-09
F1.77.9	1.90E+05	3.59E-04	1.89E-09
F1.216.2	3.73E+04	9.44E-04	2.53E-08
F1.161.7	2.01E+05	1.18E-03	5.88E-09
F1.280.1	6.29E+04	4.23E-04	6.73E-09
F1.267.9	5.44E+03	2.23E-04	4.09E-08
F1.7.6	1.20E+05	2.03E-04	1.70E-09
F1.62.10	1.36E+04	3.99E-04	2.93E-08
F1.192.1	2.25E+05	2.44E-04	1.08E-09
F1.214.8	1.51E+05	2.42E-03	1.60E-08
F1.224.1	1.94E+04	2.67E-04	1.38E-08
F1.273.12	1.21E+05	3.75E-04	3.10E-09
F1.231.15	5.45E+04	2.44E-03	4.48E-08
F1.250.16	4.22E+05	6.07E-04	1.44E-09
F1.120.15	1.19E+04	2.32E-04	1.95E-08
F1.172.13	3.06E+05	5.39E-03	1.76E-08
F1.200.11	9.98E+03	1.02E-03	1.02E-07
F2.205.9	2.46E+05	3.86E-04	1.57E-09
F2.99.1	1.05E+05	1.62E-04	1.55E-09
F2.70.2	6.95E+04	7.44E-04	1.07E-08
F2.127.11	2.26E+05	6.60E-04	2.93E-09
F2.55.1	1.27E+05	7.42E-05	5.86E-10
F2.104.10	7.14E+04	6.10E-04	8.54E-09
F2.42.9	6.61E+04	6.63E-04	1.00E-08
F2.180.16	8.45E+03	1.55E-04	1.84E-08
F2.173.9	4.90E+04	2.32E-04	4.74E-09
F2.121.9	4.91E+03	3.93E-04	8.00E-08
F2.343.16	2.04E+04	1.01E-01	4.97E-06
F2.151.13	2.35E+04	5.33E-04	2.27E-08
HA22	6.74E+04	8.96E-05	1.33E-09

m971	1.87E+05	1.31E-02	7.02E-08
------	----------	----------	----------

7.2 嵌合抗体与恒河猴 CD22-ECD-His 蛋白亲和力测定

按照实施例 7.1 的方法对嵌合抗体与恒河猴 CD22 (ACROBiosystems, 货号: SI2-R52Ha) 蛋白进行亲和力测定, 结果如表 20 所示, 嵌合抗体与恒河猴 CD22 的亲和力最高可达到 2.04E-09M。

表 20. SPR (biacore) 检测嵌合抗体与恒河猴 CD22 的亲和力

抗体名称	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
F1.11.7	5.94E+04	1.11E-03	1.87E-08
F1.105.11	2.59E+04	4.48E-04	1.73E-08
F1.17.1	1.44E+05	5.31E-04	3.67E-09
F1.216.2	7.49E+04	5.38E-04	7.18E-09
F1.267.9	2.67E+04	6.00E-05	2.25E-09
F1.192.1	6.92E+04	1.60E-03	2.31E-08
F1.224.1	5.23E+04	1.07E-04	2.04E-09
F1.273.12	有结合/拟合差		
F1.231.15	有结合/拟合差		
F1.250.16	3.66E+05	1.27E-03	3.48E-09
F1.120.15	4.21E+04	6.37E-04	1.51E-08
F1.172.13	2.00E+05	1.38E-03	6.90E-09
F1.200.11	1.35E+04	5.96E-04	4.42E-08
F2.205.9	1.35E+05	1.40E-03	1.03E-08
F2.99.1	3.76E+04	5.45E-04	1.45E-08
F2.55.1	有结合/拟合差		
F2.42.9	有结合/拟合差		
F2.173.9	1.89E+04	8.83E-04	4.67E-08
F2.121.9	有结合/拟合差		
F2.151.13	1.92E+04	5.28E-04	2.75E-08
HA22	6.86E+04	2.34E-04	3.41E-09

备注: “拟合差”表示无法计算出 EC50 值。

实施例 8 抗体抗原结合区域的鉴定

CD22 蛋白胞外具有 7 个类 IgG 样结构域, 其中 domain1 位于最远膜端, domain7 位于最近膜端, HA22 和 hL22 的抗原结合表位位于 domain 2-3, m971 的抗原结合表位位于 domain5-7。为了鉴定嵌合抗体的抗原结合表位分布, 按照实施例 5.1 中的 ELISA 方法, 分别包被人 CD22-domain1-4-His (远膜端) 和人 CD22 domain5-7-His (近膜端), 并对嵌合抗体进行远膜端和近膜端分类, 如图 11A-11B 和表 21 所示, 可以将抗体分为三类: 第一类与 CD22 domain5-7 不结合, 与 CD22 domain1-4 的结合活性和 CD22 全长 ECD 的结合活性相当, 结合表位位于 domain1-4, 如 F1. 231. 15; 第二类与 CD22 domain1-4 不结合, 与 CD22 domain5-7 的结合活性和 CD22 全长 ECD 的结合活性相当, 结合表位位于 domain5-7, 如 F1. 236. 15; 第三类与 CD22 domain5-7 不结合, 与 CD22 domain1-4 的结合活性相比 CD22 全长 ECD 的结合活性减弱, 如 F1. 250. 16、F1. 172. 13 和 F1. 62. 10。

表 21. ELISA 方法对嵌合抗体进行远膜端和近膜端表位分类

抗体名称	结合区域
------	------

	domain1-4	domain5-7
F1.236.15	—	+
F1.214.8	—	+
F1.273.12	—	+
F1.231.15	+	—
F1.11.7	—	+
F1.77.9	—	+
F1.105.11	—	+
F1.267.9	+	—
F1.7.6	+	—
F1.224.1	+	—
F1.250.16	弱结合	—
F1.120.15	+	—
F1.216.2	+	—
F1.280.1	+	—
F1.200.11	—	+
F1.192.1	—	+
F1.245.2	+	—
F1.60.9	—	+
F1.172.13	弱结合	—
F1.17.1	+	—
F1.161.7	+	—
F1.257.3	+	—
F1.62.10	弱结合	—
F2.70.2	+	—
F2.104.10	+	—
F2.180.16	—	+
F2.121.9	+	—
F2.173.9	+	—
F2.343.16	+	—
F2.205.9	+	—
F2.99.1	+	—
F2.127.11	+	—
F2.55.1	+	—
F2.42.9	+	—

F2.151.13	—	+
HA22	+	—
m971	—	+

“+”：代表在该区域有结合。

“—”：代表在该区域无结合。

权 利 要 求 书

1、特异性结合人 CD22 的分离的抗体或抗原结合片段，其特征在于，所述抗体或抗原结合片段包含重链 CDRs 组合和轻链 CDRs 组合：

(1) 所述重链 CDRs 组合包含：CDR1-VH、CDR2-VH 和 CDR3-VH；所述 CDR1-VH、CDR2-VH 和 CDR3-VH 具有选自以下的任意序列组合或者与所述序列组合相比具有 1、2、3 或更多个氨基酸插入、缺失和/或替换的序列组合：

编号	SEQ ID NO.		
	CDR1-VH	CDR2-VH	CDR3-VH
VH1	SEQ ID NO.83	SEQ ID NO.84	SEQ ID NO.85
VH2	SEQ ID NO.86	SEQ ID NO.87	SEQ ID NO.88
VH3	SEQ ID NO.89	SEQ ID NO.90	SEQ ID NO.91
VH4	SEQ ID NO.101	SEQ ID NO.102	SEQ ID NO.103
VH5	SEQ ID NO.104	SEQ ID NO.105	SEQ ID NO.106
VH6	SEQ ID NO.107	SEQ ID NO.108	SEQ ID NO.109
VH7	SEQ ID NO.119	SEQ ID NO.120	SEQ ID NO.121
VH8	SEQ ID NO.122	SEQ ID NO.123	SEQ ID NO.124
VH9	SEQ ID NO.125	SEQ ID NO.126	SEQ ID NO.127
VH10	SEQ ID NO.137	SEQ ID NO.138	SEQ ID NO.139
VH11	SEQ ID NO.140	SEQ ID NO.141	SEQ ID NO.142
VH12	SEQ ID NO.143	SEQ ID NO.144	SEQ ID NO.145
VH13	SEQ ID NO.155	SEQ ID NO.156	SEQ ID NO.157
VH14	SEQ ID NO.158	SEQ ID NO.159	SEQ ID NO.160
VH15	SEQ ID NO.161	SEQ ID NO.162	SEQ ID NO.163
VH16	SEQ ID NO.173	SEQ ID NO.174	SEQ ID NO.175
VH17	SEQ ID NO.176	SEQ ID NO.177	SEQ ID NO.178
VH18	SEQ ID NO.179	SEQ ID NO.180	SEQ ID NO.181
VH19	SEQ ID NO.191	SEQ ID NO.192	SEQ ID NO.193
VH20	SEQ ID NO.194	SEQ ID NO.195	SEQ ID NO.196

VH21	SEQ ID NO.197	SEQ ID NO.198	SEQ ID NO.199
VH22	SEQ ID NO.209	SEQ ID NO.210	SEQ ID NO.211
VH23	SEQ ID NO.212	SEQ ID NO.213	SEQ ID NO.214
VH24	SEQ ID NO.215	SEQ ID NO.216	SEQ ID NO.217
VH25	SEQ ID NO.227	SEQ ID NO.228	SEQ ID NO.229
VH26	SEQ ID NO.230	SEQ ID NO.231	SEQ ID NO.232
VH27	SEQ ID NO.233	SEQ ID NO.234	SEQ ID NO.235
VH28	SEQ ID NO.245	SEQ ID NO.246	SEQ ID NO.247
VH29	SEQ ID NO.248	SEQ ID NO.249	SEQ ID NO.250
VH30	SEQ ID NO.251	SEQ ID NO.252	SEQ ID NO.253
VH31	SEQ ID NO.263	SEQ ID NO.264	SEQ ID NO.265
VH32	SEQ ID NO.266	SEQ ID NO.267	SEQ ID NO.268
VH33	SEQ ID NO.269	SEQ ID NO.270	SEQ ID NO.271
VH34	SEQ ID NO.281	SEQ ID NO.282	SEQ ID NO.283
VH35	SEQ ID NO.284	SEQ ID NO.285	SEQ ID NO.286
VH36	SEQ ID NO.287	SEQ ID NO.288	SEQ ID NO.289
VH37	SEQ ID NO.299	SEQ ID NO.300	SEQ ID NO.301
VH38	SEQ ID NO.302	SEQ ID NO.303	SEQ ID NO.304
VH39	SEQ ID NO.305	SEQ ID NO.306	SEQ ID NO.307
VH40	SEQ ID NO.317	SEQ ID NO.318	SEQ ID NO.319
VH41	SEQ ID NO.320	SEQ ID NO.321	SEQ ID NO.322
VH42	SEQ ID NO.323	SEQ ID NO.324	SEQ ID NO.325
VH43	SEQ ID NO.335	SEQ ID NO.336	SEQ ID NO.337
VH44	SEQ ID NO.338	SEQ ID NO.339	SEQ ID NO.340
VH45	SEQ ID NO.341	SEQ ID NO.342	SEQ ID NO.343
VH46	SEQ ID NO.353	SEQ ID NO.354	SEQ ID NO.355

VH47	SEQ ID NO.356	SEQ ID NO.357	SEQ ID NO.358
VH48	SEQ ID NO.359	SEQ ID NO.360	SEQ ID NO.361
VH49	SEQ ID NO.371	SEQ ID NO.372	SEQ ID NO.373
VH50	SEQ ID NO.374	SEQ ID NO.375	SEQ ID NO.376
VH51	SEQ ID NO.377	SEQ ID NO.378	SEQ ID NO.379
VH52	SEQ ID NO.389	SEQ ID NO.390	SEQ ID NO.391
VH53	SEQ ID NO.392	SEQ ID NO.393	SEQ ID NO.394
VH54	SEQ ID NO.395	SEQ ID NO.396	SEQ ID NO.397
VH55	SEQ ID NO.407	SEQ ID NO.408	SEQ ID NO.409
VH56	SEQ ID NO.410	SEQ ID NO.411	SEQ ID NO.412
VH57	SEQ ID NO.413	SEQ ID NO.414	SEQ ID NO.415
VH58	SEQ ID NO.425	SEQ ID NO.426	SEQ ID NO.427
VH59	SEQ ID NO.428	SEQ ID NO.429	SEQ ID NO.430
VH60	SEQ ID NO.431	SEQ ID NO.432	SEQ ID NO.433
VH61	SEQ ID NO.443	SEQ ID NO.444	SEQ ID NO.445
VH62	SEQ ID NO.446	SEQ ID NO.447	SEQ ID NO.448
VH63	SEQ ID NO.449	SEQ ID NO.450	SEQ ID NO.451
VH64	SEQ ID NO.461	SEQ ID NO.462	SEQ ID NO.463
VH65	SEQ ID NO.464	SEQ ID NO.465	SEQ ID NO.466
VH66	SEQ ID NO.467	SEQ ID NO.468	SEQ ID NO.469
VH67	SEQ ID NO.479	SEQ ID NO.480	SEQ ID NO.481
VH68	SEQ ID NO.482	SEQ ID NO.483	SEQ ID NO.484
VH69	SEQ ID NO.485	SEQ ID NO.486	SEQ ID NO.487
VH70	SEQ ID NO.497	SEQ ID NO.498	SEQ ID NO.499
VH71	SEQ ID NO.500	SEQ ID NO.501	SEQ ID NO.502
VH72	SEQ ID NO.503	SEQ ID NO.504	SEQ ID NO.505

VH73	SEQ ID NO.515	SEQ ID NO.516	SEQ ID NO.517
VH74	SEQ ID NO.518	SEQ ID NO.519	SEQ ID NO.520
VH75	SEQ ID NO.521	SEQ ID NO.522	SEQ ID NO.523
VH76	SEQ ID NO.533	SEQ ID NO.534	SEQ ID NO.535
VH77	SEQ ID NO.536	SEQ ID NO.537	SEQ ID NO.538
VH78	SEQ ID NO.539	SEQ ID NO.540	SEQ ID NO.541
VH79	SEQ ID NO.551	SEQ ID NO.552	SEQ ID NO.553
VH80	SEQ ID NO.554	SEQ ID NO.555	SEQ ID NO.556
VH81	SEQ ID NO.557	SEQ ID NO.558	SEQ ID NO.559
VH82	SEQ ID NO.569	SEQ ID NO.570	SEQ ID NO.571
VH83	SEQ ID NO.572	SEQ ID NO.573	SEQ ID NO.574
VH84	SEQ ID NO.575	SEQ ID NO.576	SEQ ID NO.577
VH85	SEQ ID NO.587	SEQ ID NO.588	SEQ ID NO.589
VH86	SEQ ID NO.590	SEQ ID NO.591	SEQ ID NO.592
VH87	SEQ ID NO.593	SEQ ID NO.594	SEQ ID NO.595
VH88	SEQ ID NO.605	SEQ ID NO.606	SEQ ID NO.607
VH89	SEQ ID NO.608	SEQ ID NO.609	SEQ ID NO.610
VH90	SEQ ID NO.611	SEQ ID NO.612	SEQ ID NO.613
VH91	SEQ ID NO.623	SEQ ID NO.624	SEQ ID NO.625
VH92	SEQ ID NO.626	SEQ ID NO.627	SEQ ID NO.628
VH93	SEQ ID NO.629	SEQ ID NO.630	SEQ ID NO.631
VH94	SEQ ID NO.641	SEQ ID NO.642	SEQ ID NO.643
VH95	SEQ ID NO.644	SEQ ID NO.645	SEQ ID NO.646
VH96	SEQ ID NO.647	SEQ ID NO.648	SEQ ID NO.649
VH97	SEQ ID NO.659	SEQ ID NO.660	SEQ ID NO.661
VH98	SEQ ID NO.662	SEQ ID NO.663	SEQ ID NO.664

VH99	SEQ ID NO.665	SEQ ID NO.666	SEQ ID NO.667
VH100	SEQ ID NO.677	SEQ ID NO.678	SEQ ID NO.679
VH101	SEQ ID NO.680	SEQ ID NO.681	SEQ ID NO.682
VH102	SEQ ID NO.683	SEQ ID NO.684	SEQ ID NO.685
VH103	SEQ ID NO.695	SEQ ID NO.696	SEQ ID NO.697
VH104	SEQ ID NO.698	SEQ ID NO.699	SEQ ID NO.700
VH105	SEQ ID NO.701	SEQ ID NO.702	SEQ ID NO.703

和,

(2) 所述轻链 CDRs 组合包含: CDR1-VL、CDR2-VL 和 CDR3-VL, 所述 CDR1-VL、CDR2-VL 和 CDR3-VL 具有选自以下任意序列组合或者与所述序列组合相比具有 1、2、3 或更多个氨基酸插入、缺失和/或替换的序列组合:

编号	SEQ ID NO.		
	CDR1-VL	CDR2-VL	CDR3-VL
VL1	SEQ ID NO.92	SEQ ID NO.93	SEQ ID NO.94
VL2	SEQ ID NO.95	SEQ ID NO.96	SEQ ID NO.97
VL3	SEQ ID NO.98	SEQ ID NO.99	SEQ ID NO.100
VL4	SEQ ID NO.110	SEQ ID NO.111	SEQ ID NO.112
VL5	SEQ ID NO.113	SEQ ID NO.114	SEQ ID NO.115
VL6	SEQ ID NO.116	SEQ ID NO.117	SEQ ID NO.118
VL7	SEQ ID NO.128	SEQ ID NO.129	SEQ ID NO.130
VL8	SEQ ID NO.131	SEQ ID NO.132	SEQ ID NO.133
VL9	SEQ ID NO.134	SEQ ID NO.135	SEQ ID NO.136
VL10	SEQ ID NO.146	SEQ ID NO.147	SEQ ID NO.148
VL11	SEQ ID NO.149	SEQ ID NO.150	SEQ ID NO.151
VL12	SEQ ID NO.152	SEQ ID NO.153	SEQ ID NO.154
VL13	SEQ ID NO.164	SEQ ID NO.165	SEQ ID NO.166
VL14	SEQ ID NO.167	SEQ ID NO.168	SEQ ID NO.169

VL15	SEQ ID NO.170	SEQ ID NO.171	SEQ ID NO.172
VL16	SEQ ID NO.182	SEQ ID NO.183	SEQ ID NO.184
VL17	SEQ ID NO.185	SEQ ID NO.186	SEQ ID NO.187
VL18	SEQ ID NO.188	SEQ ID NO.189	SEQ ID NO.190
VL19	SEQ ID NO.200	SEQ ID NO.201	SEQ ID NO.202
VL20	SEQ ID NO.203	SEQ ID NO.204	SEQ ID NO.205
VL21	SEQ ID NO.206	SEQ ID NO.207	SEQ ID NO.208
VL22	SEQ ID NO.218	SEQ ID NO.219	SEQ ID NO.220
VL23	SEQ ID NO.221	SEQ ID NO.222	SEQ ID NO.223
VL24	SEQ ID NO.224	SEQ ID NO.225	SEQ ID NO.226
VL25	SEQ ID NO.236	SEQ ID NO.237	SEQ ID NO.238
VL26	SEQ ID NO.239	SEQ ID NO.240	SEQ ID NO.241
VL27	SEQ ID NO.242	SEQ ID NO.243	SEQ ID NO.244
VL28	SEQ ID NO.254	SEQ ID NO.255	SEQ ID NO.256
VL29	SEQ ID NO.257	SEQ ID NO.258	SEQ ID NO.259
VL30	SEQ ID NO.260	SEQ ID NO.261	SEQ ID NO.262
VL31	SEQ ID NO.272	SEQ ID NO.273	SEQ ID NO.274
VL32	SEQ ID NO.275	SEQ ID NO.276	SEQ ID NO.277
VL33	SEQ ID NO.278	SEQ ID NO.279	SEQ ID NO.280
VL34	SEQ ID NO.290	SEQ ID NO.291	SEQ ID NO.292
VL35	SEQ ID NO.293	SEQ ID NO.294	SEQ ID NO.295
VL36	SEQ ID NO.296	SEQ ID NO.297	SEQ ID NO.298
VL37	SEQ ID NO.308	SEQ ID NO.309	SEQ ID NO.310
VL38	SEQ ID NO.311	SEQ ID NO.312	SEQ ID NO.313
VL39	SEQ ID NO.314	SEQ ID NO.315	SEQ ID NO.316
VL40	SEQ ID NO.326	SEQ ID NO.327	SEQ ID NO.328

VL41	SEQ ID NO.329	SEQ ID NO.330	SEQ ID NO.331
VL42	SEQ ID NO.332	SEQ ID NO.333	SEQ ID NO.334
VL43	SEQ ID NO.344	SEQ ID NO.345	SEQ ID NO.346
VL44	SEQ ID NO.347	SEQ ID NO.348	SEQ ID NO.349
VL45	SEQ ID NO.350	SEQ ID NO.351	SEQ ID NO.352
VL46	SEQ ID NO.362	SEQ ID NO.363	SEQ ID NO.364
VL47	SEQ ID NO.365	SEQ ID NO.366	SEQ ID NO.367
VL48	SEQ ID NO.368	SEQ ID NO.369	SEQ ID NO.370
VL49	SEQ ID NO.380	SEQ ID NO.381	SEQ ID NO.382
VL50	SEQ ID NO.383	SEQ ID NO.384	SEQ ID NO.385
VL51	SEQ ID NO.386	SEQ ID NO.387	SEQ ID NO.388
VL52	SEQ ID NO.398	SEQ ID NO.399	SEQ ID NO.400
VL53	SEQ ID NO.401	SEQ ID NO.402	SEQ ID NO.403
VL54	SEQ ID NO.404	SEQ ID NO.405	SEQ ID NO.406
VL55	SEQ ID NO.416	SEQ ID NO.417	SEQ ID NO.418
VL56	SEQ ID NO.419	SEQ ID NO.420	SEQ ID NO.421
VL57	SEQ ID NO.422	SEQ ID NO.423	SEQ ID NO.424
VL58	SEQ ID NO.434	SEQ ID NO.435	SEQ ID NO.436
VL59	SEQ ID NO.437	SEQ ID NO.438	SEQ ID NO.439
VL60	SEQ ID NO.440	SEQ ID NO.441	SEQ ID NO.442
VL61	SEQ ID NO.452	SEQ ID NO.453	SEQ ID NO.454
VL62	SEQ ID NO.455	SEQ ID NO.456	SEQ ID NO.457
VL63	SEQ ID NO.458	SEQ ID NO.459	SEQ ID NO.460
VL64	SEQ ID NO.470	SEQ ID NO.471	SEQ ID NO.472
VL65	SEQ ID NO.473	SEQ ID NO.474	SEQ ID NO.475
VL66	SEQ ID NO.476	SEQ ID NO.477	SEQ ID NO.478

VL67	SEQ ID NO.488	SEQ ID NO.489	SEQ ID NO.490
VL68	SEQ ID NO.491	SEQ ID NO.492	SEQ ID NO.493
VL69	SEQ ID NO.494	SEQ ID NO.495	SEQ ID NO.496
VL70	SEQ ID NO.506	SEQ ID NO.507	SEQ ID NO.508
VL71	SEQ ID NO.509	SEQ ID NO.510	SEQ ID NO.511
VL72	SEQ ID NO.512	SEQ ID NO.513	SEQ ID NO.514
VL73	SEQ ID NO.524	SEQ ID NO.525	SEQ ID NO.526
VL74	SEQ ID NO.527	SEQ ID NO.528	SEQ ID NO.529
VL75	SEQ ID NO.530	SEQ ID NO.531	SEQ ID NO.532
VL76	SEQ ID NO.542	SEQ ID NO.543	SEQ ID NO.544
VL77	SEQ ID NO.545	SEQ ID NO.546	SEQ ID NO.547
VL78	SEQ ID NO.548	SEQ ID NO.549	SEQ ID NO.550
VL79	SEQ ID NO.560	SEQ ID NO.561	SEQ ID NO.562
VL80	SEQ ID NO.563	SEQ ID NO.564	SEQ ID NO.565
VL81	SEQ ID NO.566	SEQ ID NO.567	SEQ ID NO.568
VL82	SEQ ID NO.578	SEQ ID NO.579	SEQ ID NO.580
VL83	SEQ ID NO.581	SEQ ID NO.582	SEQ ID NO.583
VL84	SEQ ID NO.584	SEQ ID NO.585	SEQ ID NO.586
VL85	SEQ ID NO.596	SEQ ID NO.597	SEQ ID NO.598
VL86	SEQ ID NO.599	SEQ ID NO.600	SEQ ID NO.601
VL87	SEQ ID NO.602	SEQ ID NO.603	SEQ ID NO.604
VL88	SEQ ID NO.614	SEQ ID NO.615	SEQ ID NO.616
VL89	SEQ ID NO.617	SEQ ID NO.618	SEQ ID NO.619
VL90	SEQ ID NO.620	SEQ ID NO.621	SEQ ID NO.622
VL91	SEQ ID NO.632	SEQ ID NO.633	SEQ ID NO.634
VL92	SEQ ID NO.635	SEQ ID NO.636	SEQ ID NO.637

VL93	SEQ ID NO.638	SEQ ID NO.639	SEQ ID NO.640
VL94	SEQ ID NO.650	SEQ ID NO.651	SEQ ID NO.652
VL95	SEQ ID NO.653	SEQ ID NO.654	SEQ ID NO.655
VL96	SEQ ID NO.656	SEQ ID NO.657	SEQ ID NO.658
VL97	SEQ ID NO.668	SEQ ID NO.669	SEQ ID NO.670
VL98	SEQ ID NO.671	SEQ ID NO.672	SEQ ID NO.673
VL99	SEQ ID NO.674	SEQ ID NO.675	SEQ ID NO.676
VL100	SEQ ID NO.686	SEQ ID NO.687	SEQ ID NO.688
VL101	SEQ ID NO.689	SEQ ID NO.690	SEQ ID NO.691
VL102	SEQ ID NO.692	SEQ ID NO.693	SEQ ID NO.694
VL103	SEQ ID NO.704	SEQ ID NO.705	SEQ ID NO.706
VL104	SEQ ID NO.707	SEQ ID NO.708	SEQ ID NO.709
VL105	SEQ ID NO.710	SEQ ID NO.711	SEQ ID NO.712

各个 CDR1-VH、CDR2-VH、CDR3-VH、CDR1-VL、CDR2-VL 和 CDR3-VL 为根据 KABAT、Chothia 或 IMGT 的通行分析方法编码。

2、根据权利要求 1 所述的抗体或抗原结合片段，其特征在于，其包含选自以下的重链 CDRs 和轻链 CDRs 组合：VH1+VL1、VH2+VL2、VH3+VL3、VH4+VL4、VH5+VL5、VH6+VL6、VH7+VL7、VH8+VL8、VH9+VL9、VH10+VL10、VH11+VL11、VH12+VL12、VH13+VL13、VH14+VL14、VH15+VL15、VH16+VL16、VH17+VL17、VH18+VL18、VH19+VL19、VH20+VL20、VH21+VL21、VH22+VL22、VH23+VL23、VH24+VL24、VH25+VL25、VH26+VL26、VH27+VL27、VH28+VL28、VH29+VL29、VH30+VL30、VH31+VL31、VH32+VL32、VH33+VL33、VH34+VL34、VH35+VL35、VH36+VL36、VH37+VL37、VH38+VL38、VH39+VL39、VH40+VL40、VH41+VL41、VH42+VL42、VH43+VL43、VH44+VL44、VH45+VL45、VH46+VL46、VH47+VL47、VH48+VL48、VH49+VL49、VH50+VL50、VH51+VL51、VH52+VL52、VH53+VL53、VH54+VL54、VH55+VL55、VH56+VL56、VH57+VL57、VH58+VL58、VH59+VL59、VH60+VL60、VH61+VL61、VH62+VL62、VH63+VL63、VH64+VL64、VH65+VL65、VH66+VL66、VH67+VL67、VH68+VL68、VH69+VL69、VH70+VL70、VH71+VL71、VH72+VL72、VH73+VL73、

VH74+VL74、VH75+VL75、VH76+VL76、VH77+VL77、VH78+VL78、VH79+VL79、VH80+VL80、VH81+VL81、VH82+VL82、VH83+VL83、VH84+VL84、VH85+VL85、VH86+VL86、VH87+VL87、VH88+VL88、VH89+VL89、VH90+VL90、VH91+VL91、VH92+VL92、VH93+VL93、VH94+VL94、VH95+VL95、VH96+VL96、VH97+VL97、VH98+VL98、VH99+VL99、VH100+VL100、VH101+VL101、VH102+VL102、VH103+VL103、VH104+VL104、或 VH105+VL105，以及与所述重链和轻链 CDRs 组合之序列相比具有 1、2、3 或更多个氨基酸插入、缺失和/或替换的 CDRs 组合。

3、根据权利要求 1-2 任一项所述的抗体或抗原结合片段，其特征在于，所述的抗体或抗原结合片段包含：

(1) 重链可变区具有 SEQ ID NO:13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、或 81 所示序列；轻链可变区具有 SEQ ID NO:14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76、78、80 或 82 所示序列；

(2) 与上述(1) 所示序列具有至少 90%同一性的氨基酸序列，优选为至少 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%同一性；或，

(3) 所述抗体或抗原结合片段的框架区与上述(1) 所示氨基酸序列的框架区具有至少 90%同一性，优选为至少 91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%同一性。

4、根据权利要求 1-3 任一项的抗体或抗原结合片段，其特征在于，其与人 CD22 结合的解离常数(KD)不大于 10^{-6} M，与恒河猴 CD22 结合的解离常数(KD)不大于 10^{-8} M。

或，可选地，所述抗体或抗原结合片段与猴 CD22 结合或不结合；

可选地，所述抗体或抗原结合片段与鼠 CD22 结合或不结合。

5、根据权利要求 1-4 任一项的抗体或抗原结合片段，其特征在于，所述抗体或抗原结合片段为：

- (1) 嵌合抗体或其片段；
- (2) 人源化抗体或其片段；
- (3) 全人源抗体或其片段；

优选的，所述抗体或抗原结合片段选自单克隆抗体、多克隆抗体、天然抗体、工程化抗体、单特异性抗体、多特异性抗体（例如双特异性抗体）、单价抗体、多价抗体、全长抗体、抗体片段、裸抗体、缀合抗体、人源化抗体、全人抗体、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fd、

Fv、scFv、双抗体（diabody）或单域抗体。

6、根据权利要求 1-5 任一项的抗体或抗原结合片段，其特征在于，所述抗体包含人或鼠抗体 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、IgM、IgE 或 IgD 任何其中之一恒定区的序列；优选包含人或鼠抗体 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 的恒定区的序列。

7、根据权利要求 1-6 任一项的抗体或抗原结合片段，其特征在于，所述抗原结合片段选自 F(ab)₂、Fab'、Fab、Fv、scFv、双特异抗体、纳米抗体和抗体最小识别单位中的一种或多种。

8、根据权利要求 1-7 任一项所述的抗体或抗原结合片段，其特征在于，所述抗体或抗原结合片段进一步还偶联有治疗剂或示踪剂；优选地，所述治疗剂选自放射性同位素、化疗药或免疫调节剂，所述示踪剂选自放射学造影剂、顺磁离子、金属、荧光标记、化学发光标记、超声造影剂或光敏剂。

9、一种多特异性抗原结合分子，其特征在于，所述多特异性抗原结合分子包含第一抗原结合模块和第二抗原结合模块，所述第一抗原结合模块包含权利要求 1-8 任一项所述的抗体或抗原结合片段，所述第二抗原结合模块特异性结合 CD22 以外的其他抗原或结合与第一抗原结合模块不同的 CD22 抗原表位；

优选地，所述其他抗原选自 CD3、CD16、CD16A、CD4、CD5、CD8、CD14、CD15、CD19、CD20、CD21、CD23、CD25、CD33、CD37、CD38、CD40、CD40L、CD46、CD52、CD54、CD66(a-d)、CD74、CD80、CD126、CD138、B7、MUC、Ia、HLA-DR、髓生蛋白、VEGF、PIGF、ED-B 纤连蛋白、癌基因产物、IL-2、IL-6、TRAIL-R1 或 TRAIL-R2；

优选地，所述多特异性抗体为双特异性抗体、三特异性抗体或四特异性抗体。

10、一种嵌合抗原受体（CAR），其特征在于，所述嵌合抗原受体至少包含细胞外抗原结合结构域、跨膜结构域和胞内信号传导结构域，所述细胞外抗原结合结构域包含权利要求 1-8 任一项所述 CD22 抗体或抗原结合片段。

11、一种免疫效应细胞，其特征在于，所述免疫效应细胞包含权利要求 10 所述嵌合抗原受体或包含编码权利要求 10 所述嵌合抗原受体的核酸片段；

优选地，所述免疫效应细胞选自 T 细胞、NK 细胞（natural killer cell）、NKT 细胞（natural killer T cell）、单核细胞、巨噬细胞、树突状细胞或肥大细胞；所述 T 细胞可选自炎症性 T 细胞、细胞毒性 T 细胞、调节性 T 细胞（Treg）或辅助性 T 细胞；

优选地，所述免疫效应细胞为同种异体免疫效应细胞或自体免疫细胞。

12、一种分离的核酸分子，其特征在于，所述核酸分子编码权利要求 1-8 任一项所述的

抗体、抗原结合片段、或其任意组合，权利要求 9 所述的多特异性抗原结合分子或权利要求 10 所述的嵌合抗原受体。

13、包含权利要求 12 所述分离的核酸分子的表达载体。

14、包含权利要求 12 所述的分离的核酸分子、或权利要求 13 所述的表达载体的分离的宿主细胞；优选，所述宿主细胞是真核细胞或原核细胞；更优选，所述宿主细胞来源于哺乳动物细胞、酵母细胞、昆虫细胞、大肠杆菌和/或枯草杆菌；更优选，所述宿主细胞选自 HEK293E 或 CHO 细胞。

15、一种制备权利要求 1-8 任一项所述抗体或抗原结合片段或权利要求 9 所述多特异性抗原结合分子的方法，其特征在于，培养或在适当的条件下培养权利要求 14 所述的宿主细胞，并分离抗体或抗原结合片段或多特异性抗原结合分子。

16、一种制备权利要求 11 所述免疫效应细胞的方法，其特征在于，所述方法包括将编码权利要求 10 所述 CAR 的核酸片段导入免疫效应细胞，可选地，所述方法还包括启动所述免疫效应细胞表达权利要求 10 所述 CAR。

17、一种药物组合物，其特征在于，所述组合物包含权利要求 1-8 任一项所述的抗体或抗原结合片段、权利要求 9 所述的多特异性抗原结合分子、权利要求 10 所述的嵌合抗原受体、权利要求 11 所述的免疫效应细胞、权利要求 12 的分离的核酸分子、权利要求 13 的表达载体、权利要求 14 的细胞，或权利要求 15 或 16 所述方法制备的产品；优选，所述组合物还包含药学上可接受的运载体（carrier）、稀释剂或助剂；优选，所述药物组合物还包含额外的抗肿瘤剂。

18、权利要求 1-8 任一项所述的抗体或抗原结合片段、权利要求 9 所述的多特异性抗原结合分子、权利要求 10 所述的嵌合抗原受体、权利要求 11 所述的免疫效应细胞、权利要求 12 的分离的核酸分子、权利要求 13 的表达载体、权利要求 14 的细胞，或权利要求 15 或 16 所述方法制备的产品、或权利要求 17 所述的药物组合物在制备预防和/或治疗 B 细胞疾病的药物中的用途，所述 B 细胞疾病优选肿瘤或自身免疫病；

优选，所述肿瘤选自淋巴瘤或白血病，更优选，所述淋巴瘤或白血病选自 B 细胞淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、原发纵隔 B 细胞淋巴瘤、弥漫性大 B 细胞淋巴瘤、前体 B 细胞急性淋巴细胞白血病（pre-B ALL）、急性淋巴细胞白血病（ALL）、慢性淋巴细胞白血病、多发性骨髓瘤；

优选，其中所述自身免疫病选自系统性红斑狼疮（SLE）、抗磷脂抗体综合征、多发性硬化症、溃疡性结肠炎、克罗恩病、类风湿性关节炎、斯耶格伦氏综合征、吉兰-巴雷综合征、重症肌无力、大血管血管炎、中血管血管炎、结节性多动脉炎、天疱疮、硬皮病、肺出血-

肾炎综合征、肾小球肾炎、原发性胆汁性肝硬化、格雷夫斯氏病、膜性肾病、自身免疫性肝炎、口炎性腹泻、阿狄森氏病、多发性肌炎/皮肌炎、单克隆丙种球蛋白病、因子 VIII 缺乏、冷球蛋白血症、周围神经病变、IgM 多神经病、慢性神经病和慢性淋巴细胞性甲状腺炎。

19、一种预防和/或治疗 B 细胞疾病的方法，包含向有此需要的患者施用有效量的权利要求 1-8 任一项所述的抗体或抗原结合片段、权利要求 9 所述的多特异性抗原结合分子、权利要求 10 所述的嵌合抗原受体、权利要求 11 所述的免疫效应细胞、权利要求 12 的分离的核酸分子、权利要求 13 的表达载体、权利要求 14 的细胞，或权利要求 15 或 16 所述方法制备的产品、或权利要求 17 所述的药物组合物；所述 B 细胞疾病优选肿瘤或自身免疫病；

优选，所述肿瘤选自淋巴瘤或白血病，更优选，所述淋巴瘤或白血病选自 B 细胞淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、原发纵隔 B 细胞淋巴瘤、弥漫性大 B 细胞淋巴瘤、前体 B 细胞急性淋巴细胞白血病（pre-B ALL）、急性淋巴细胞白血病（ALL）、慢性淋巴细胞白血病、多发性骨髓瘤；

优选，其中所述自身免疫病选自系统性红斑狼疮（SLE）、抗磷脂抗体综合征、多发性硬化症、溃疡性结肠炎、克罗恩病、类风湿性关节炎、斯耶格伦氏综合征、吉兰-巴雷综合征、重症肌无力、大血管血管炎、中血管血管炎、结节性多动脉炎、天疱疮、硬皮病、肺出血-肾炎综合征、肾小球肾炎、原发性胆汁性肝硬化、格雷夫斯氏病、膜性肾病、自身免疫性肝炎、口炎性腹泻、阿狄森氏病、多发性肌炎/皮肌炎、单克隆丙种球蛋白病、因子 VIII 缺乏、冷球蛋白血症、周围神经病变、IgM 多神经病、慢性神经病和慢性淋巴细胞性甲状腺炎。

20、权利要求 1-8 任一项所述的抗体或抗原结合片段、权利要求 9 所述的多特异性抗原结合分子、权利要求 10 所述的嵌合抗原受体、权利要求 11 所述的免疫效应细胞、权利要求 12 的分离的核酸分子、权利要求 13 的表达载体、权利要求 14 的细胞，或权利要求 15 或 16 所述方法制备的产品、或权利要求 17 所述的药物组合物，其特征在于，用于和/或治疗 B 细胞疾病；所述 B 细胞疾病优选肿瘤或自身免疫病；

优选，所述肿瘤选自淋巴瘤或白血病，更优选，所述淋巴瘤或白血病选自 B 细胞淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、原发纵隔 B 细胞淋巴瘤、弥漫性大 B 细胞淋巴瘤、前体 B 细胞急性淋巴细胞白血病（pre-B ALL）、急性淋巴细胞白血病（ALL）、慢性淋巴细胞白血病、多发性骨髓瘤；

优选，其中所述自身免疫病选自系统性红斑狼疮（SLE）、抗磷脂抗体综合征、多发性硬化症、溃疡性结肠炎、克罗恩病、类风湿性关节炎、斯耶格伦氏综合征、吉兰-巴雷综合征、重症肌无力、大血管血管炎、中血管血管炎、结节性多动脉炎、天疱疮、硬皮病、肺出血-肾炎综合征、肾小球肾炎、原发性胆汁性肝硬化、格雷夫斯氏病、膜性肾病、自身免疫性肝

炎、口炎性腹泻、阿狄森氏病、多发性肌炎/皮肌炎、单克隆丙种球蛋白病、因子 VIII 缺乏、冷球蛋白血症、周围神经病变、IgM 多神经病、慢性神经病和慢性淋巴细胞性甲状腺炎。

21、一种试剂盒，其包含权利要求 1-8 任一项的抗体或其抗原结合片段、权利要求 9 所述的多特异性抗原结合分子、权利要求 10 所述的嵌合抗原受体、权利要求 11 所述的免疫效应细胞、权利要求 12 的分离的核酸分子、权利要求 13 的表达载体、权利要求 14 的细胞，或权利要求 15 或 16 所述方法制备的产品、或权利要求 17 所述的药物组合物；任选地，还包含使用说明。

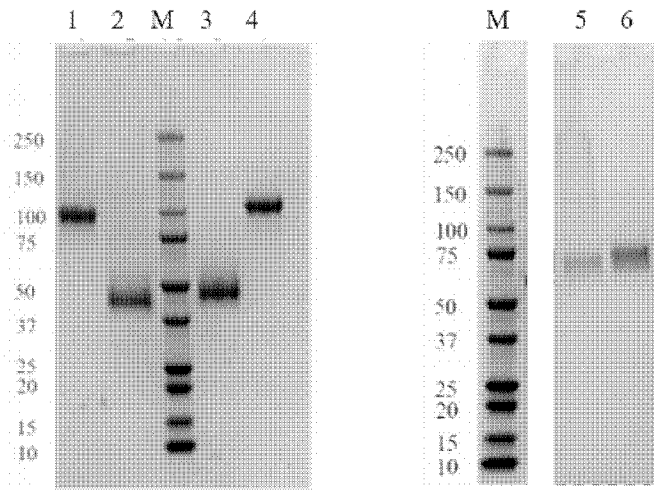


图 1

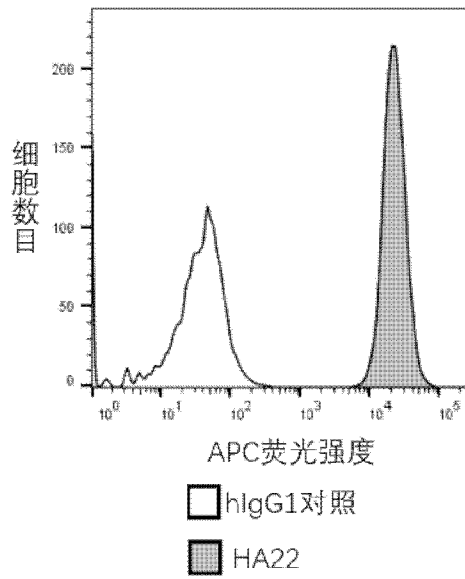


图 2A

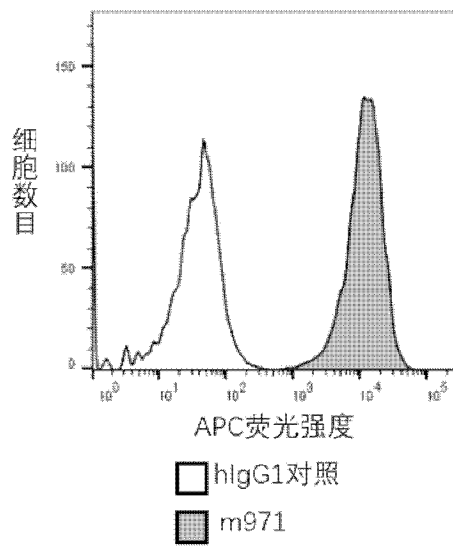


图 2B

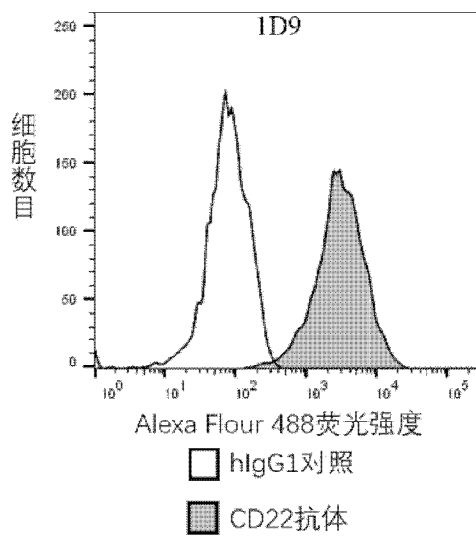
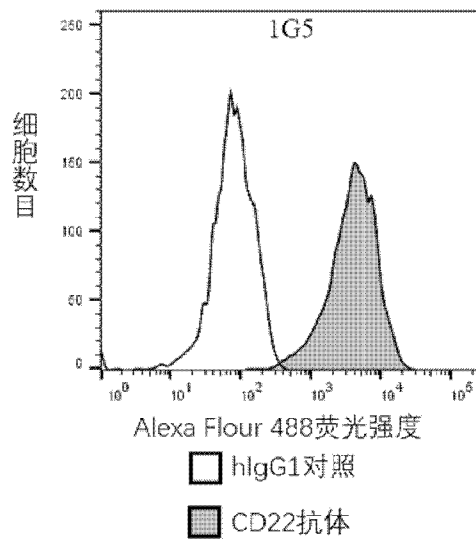
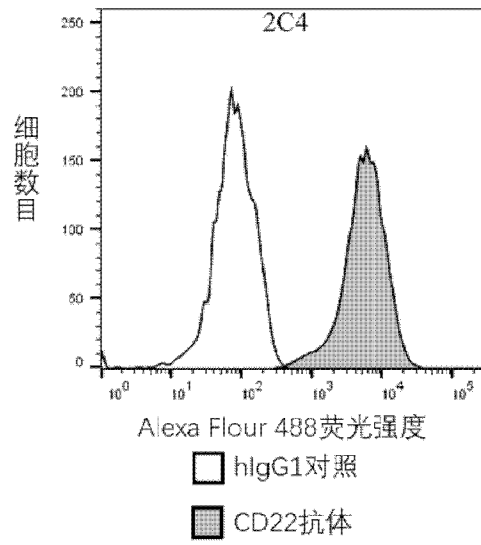


图 3

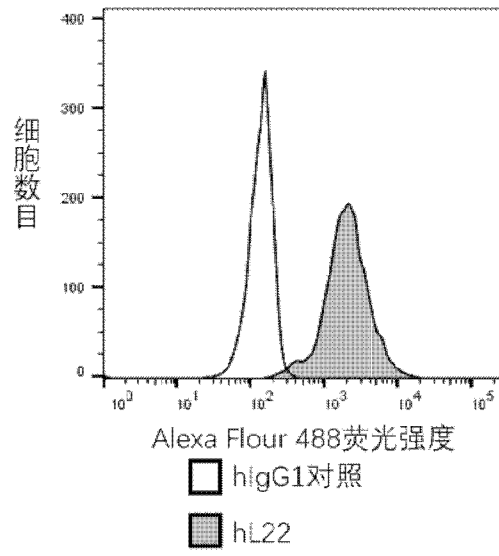


图 4

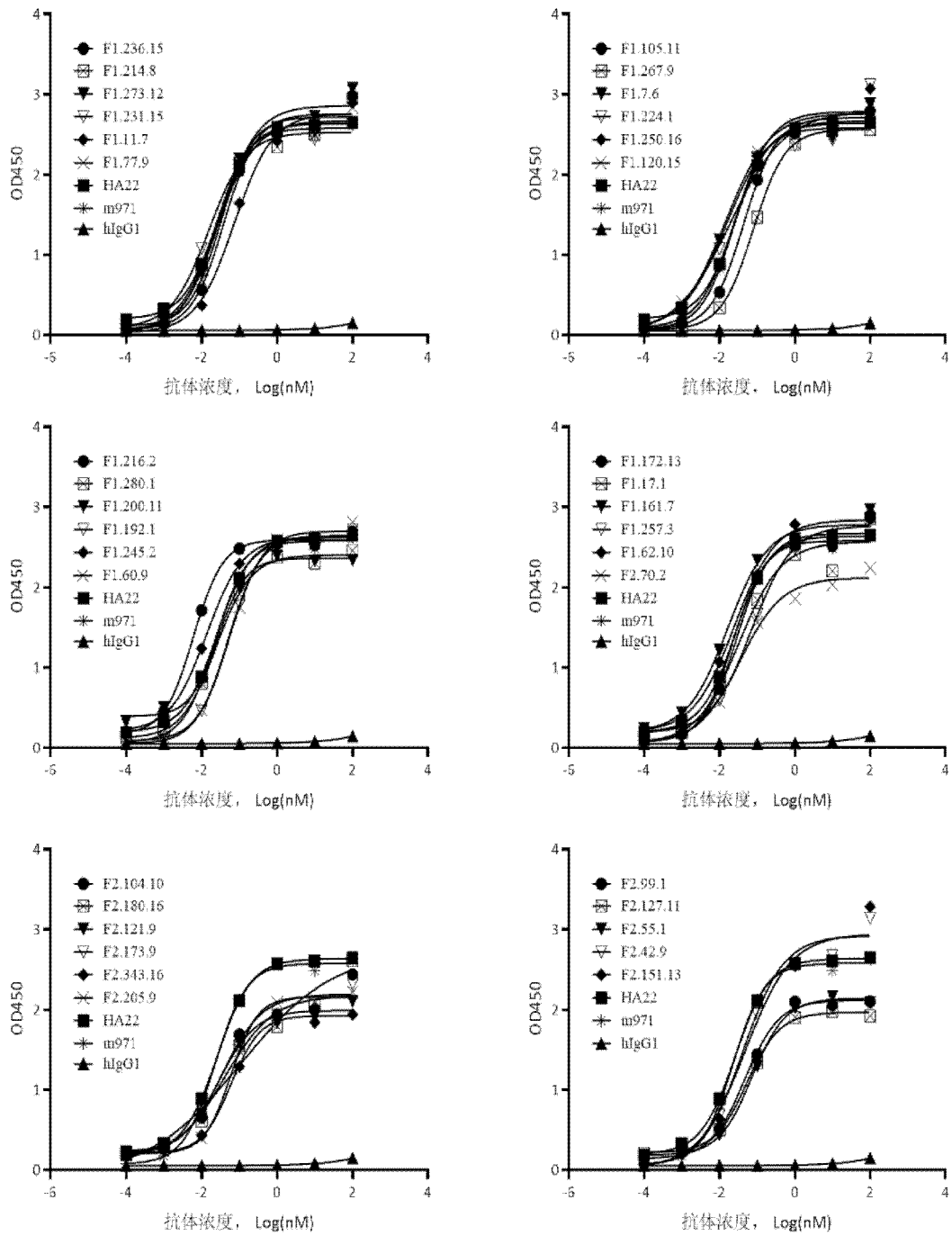


图 5

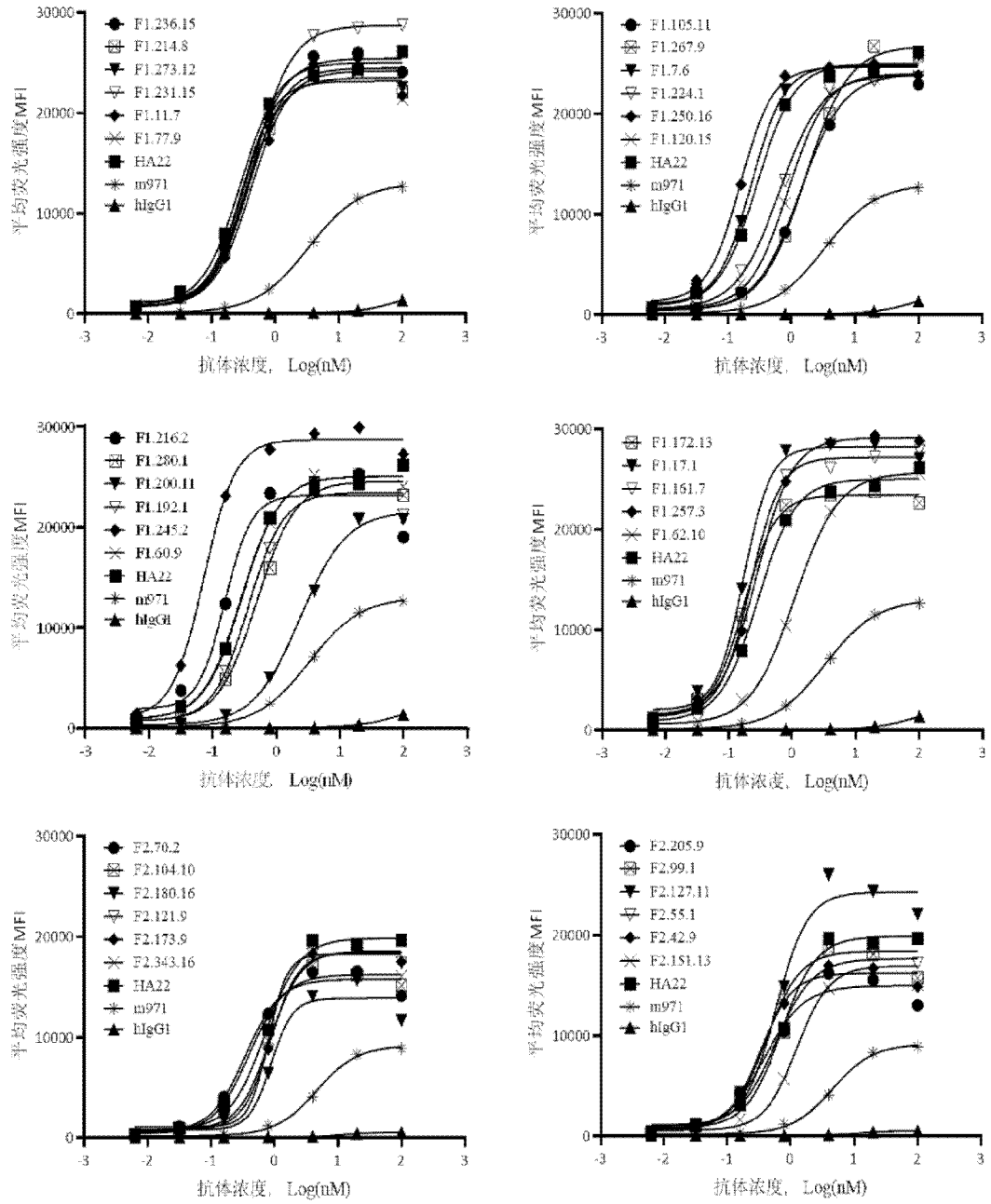


图 6A

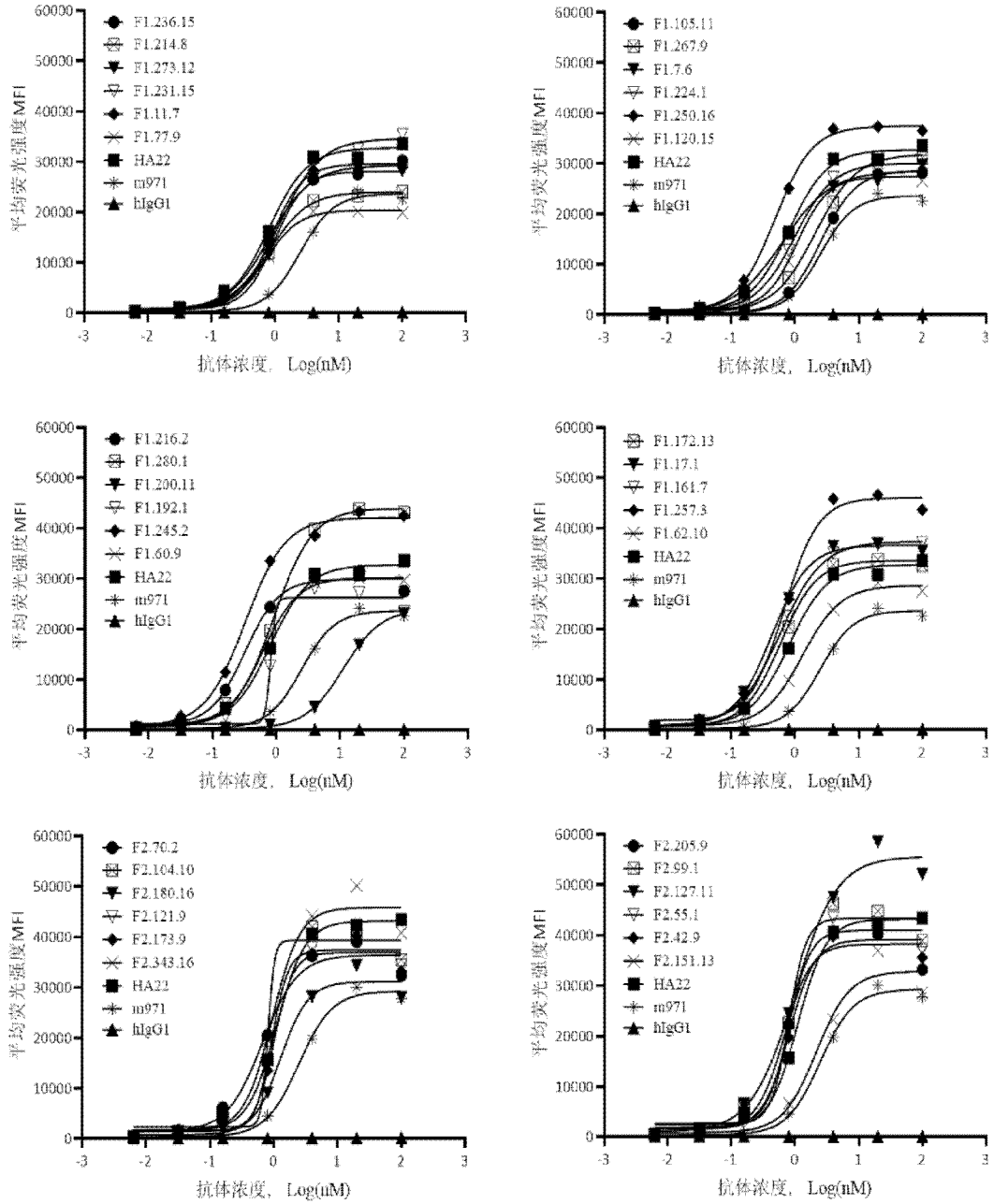


图 6B

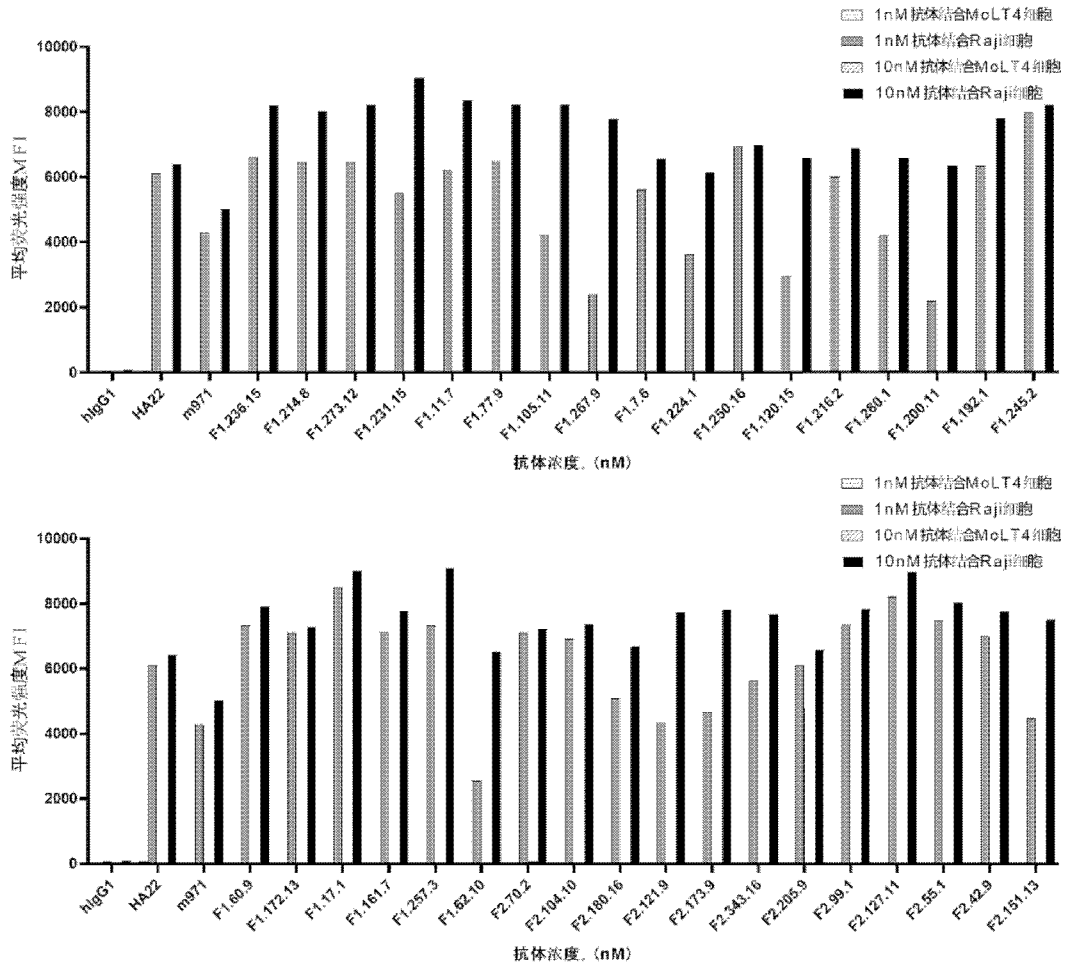


图 6C

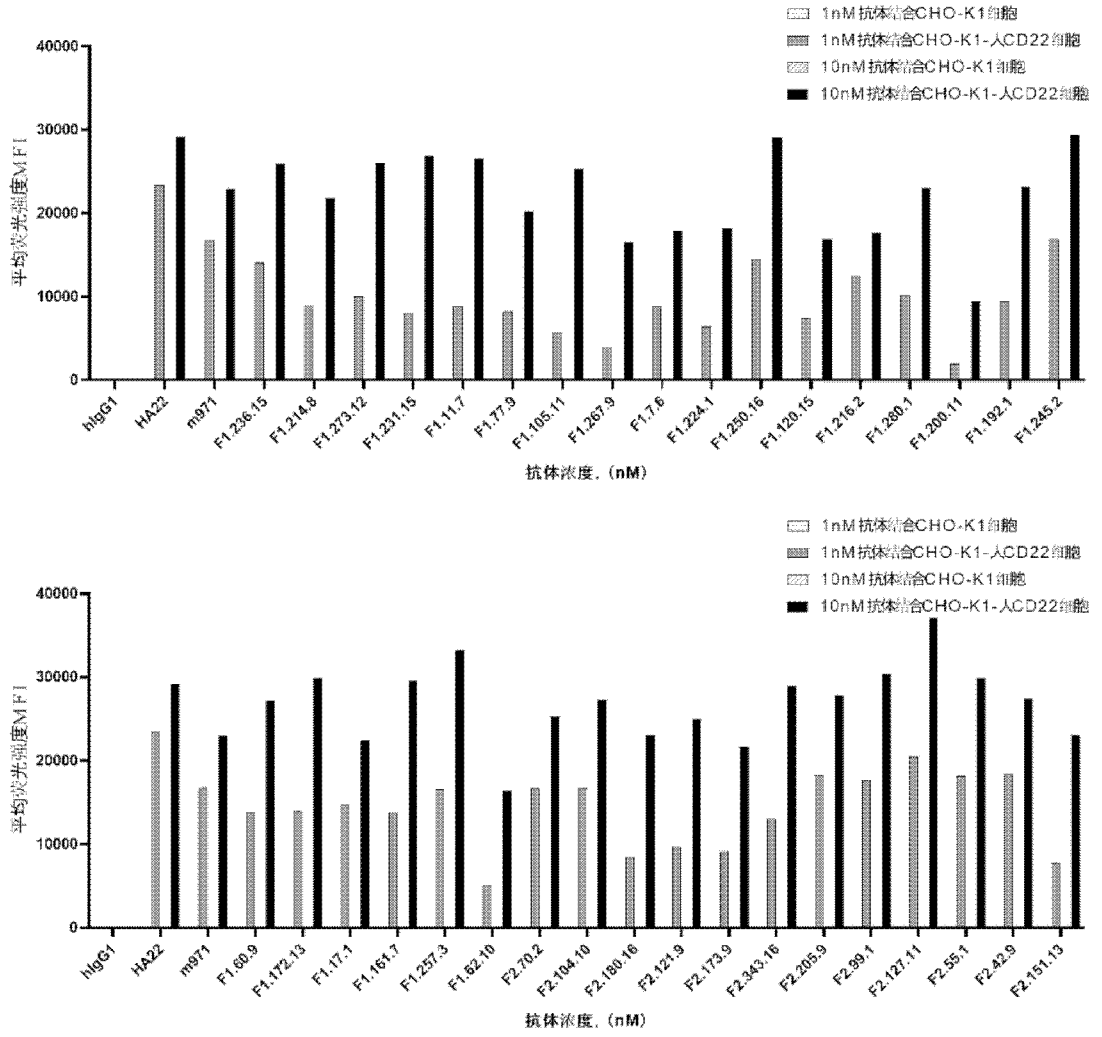


图 6D

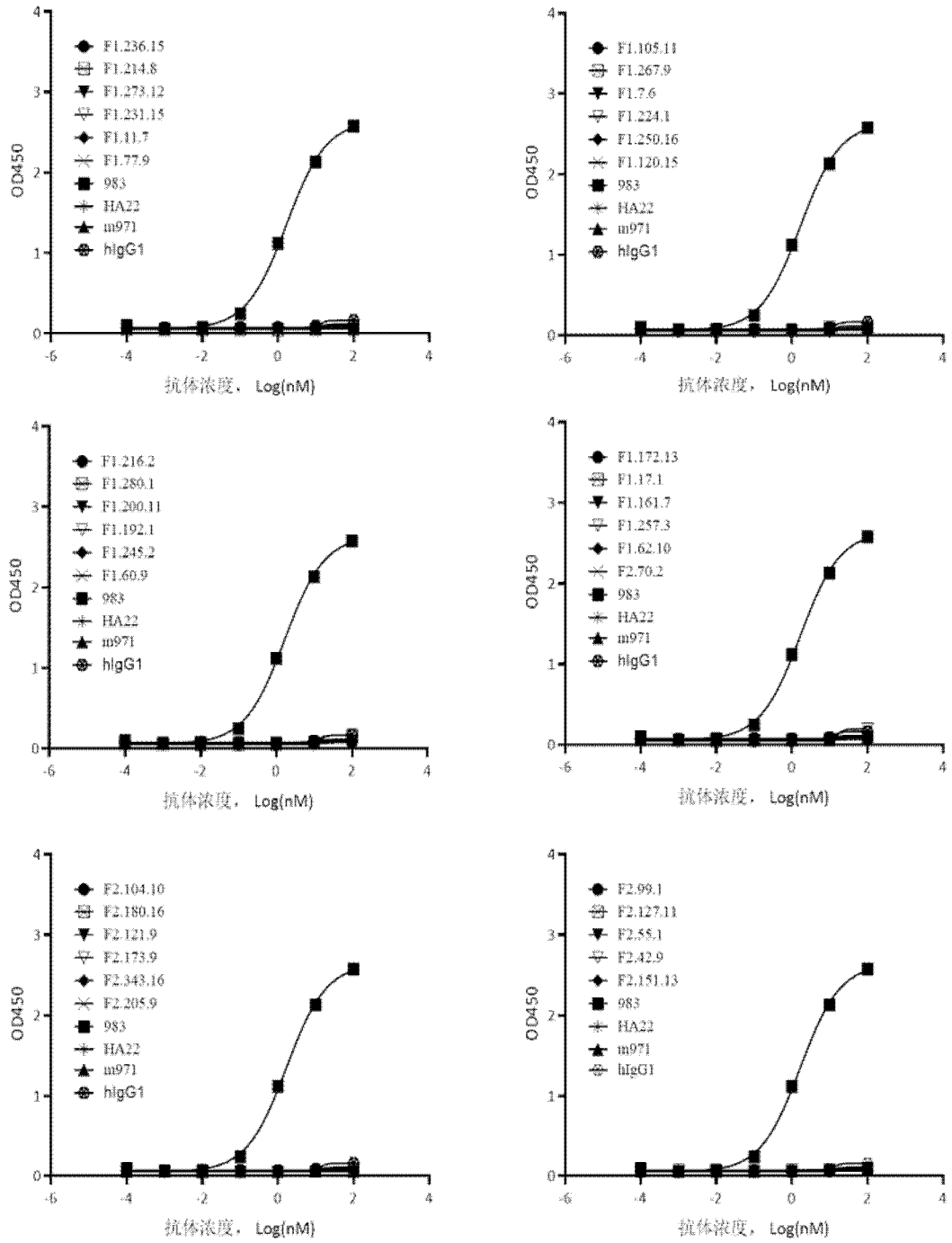


图 7

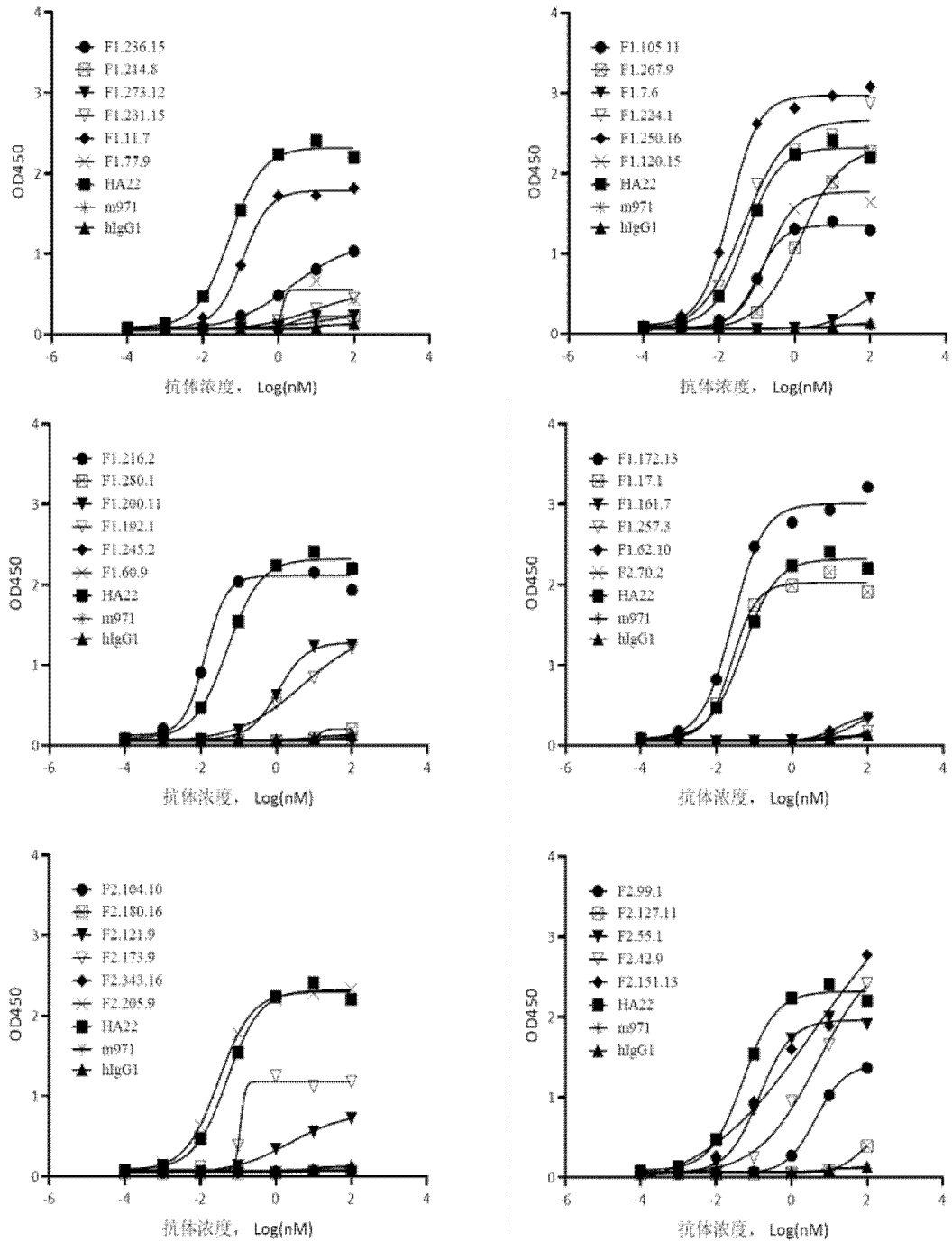


图 8

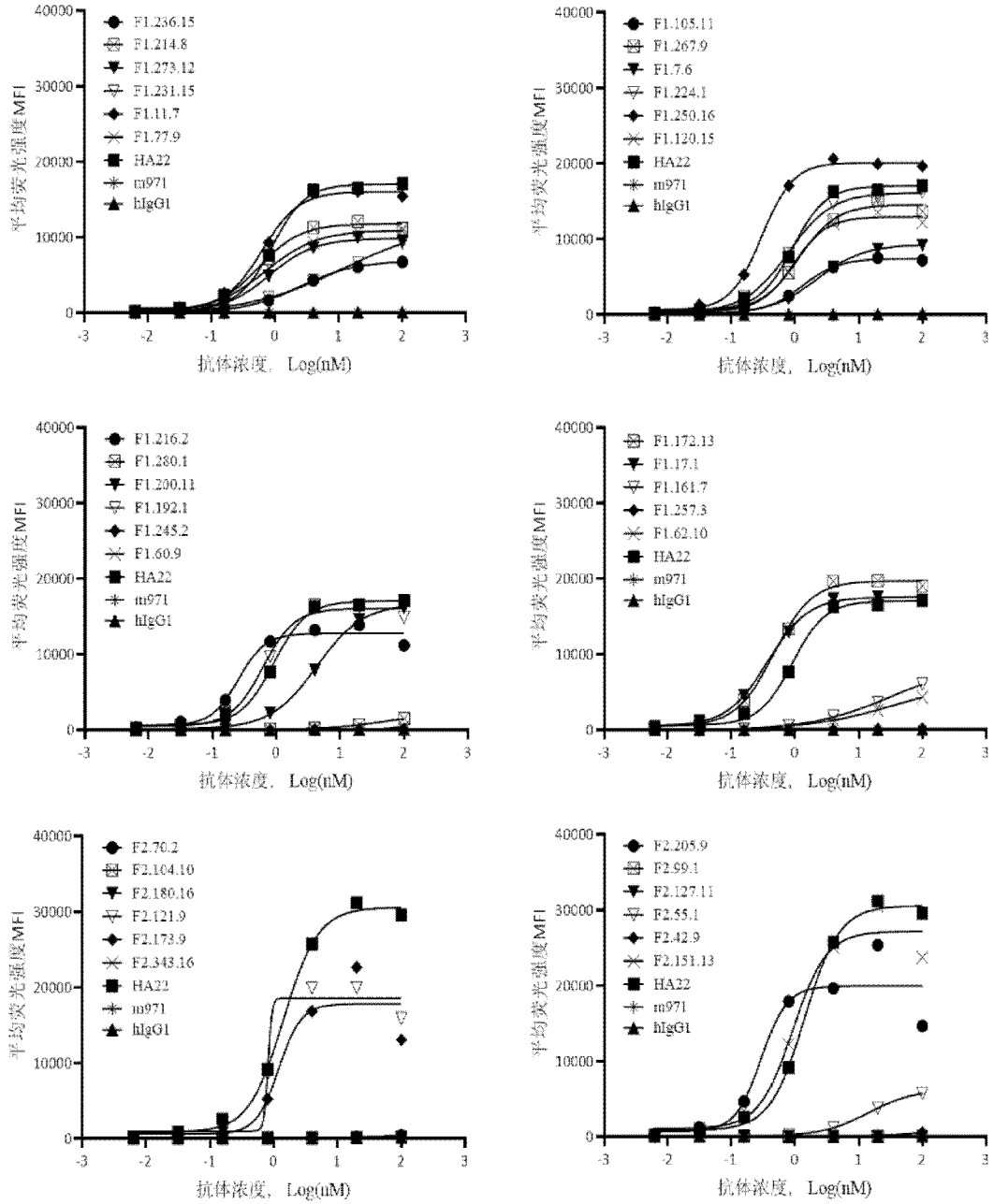


图 9A

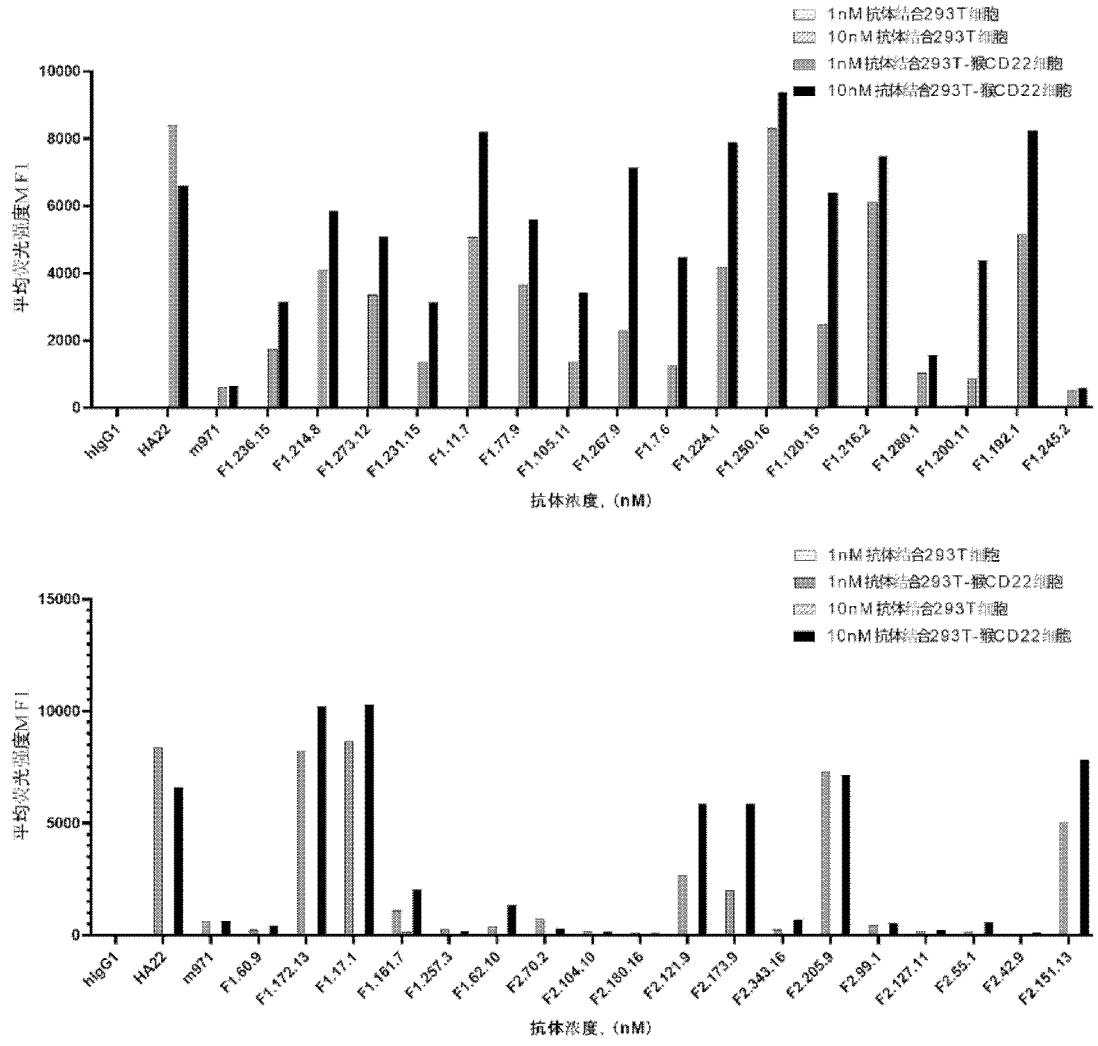


图 9B

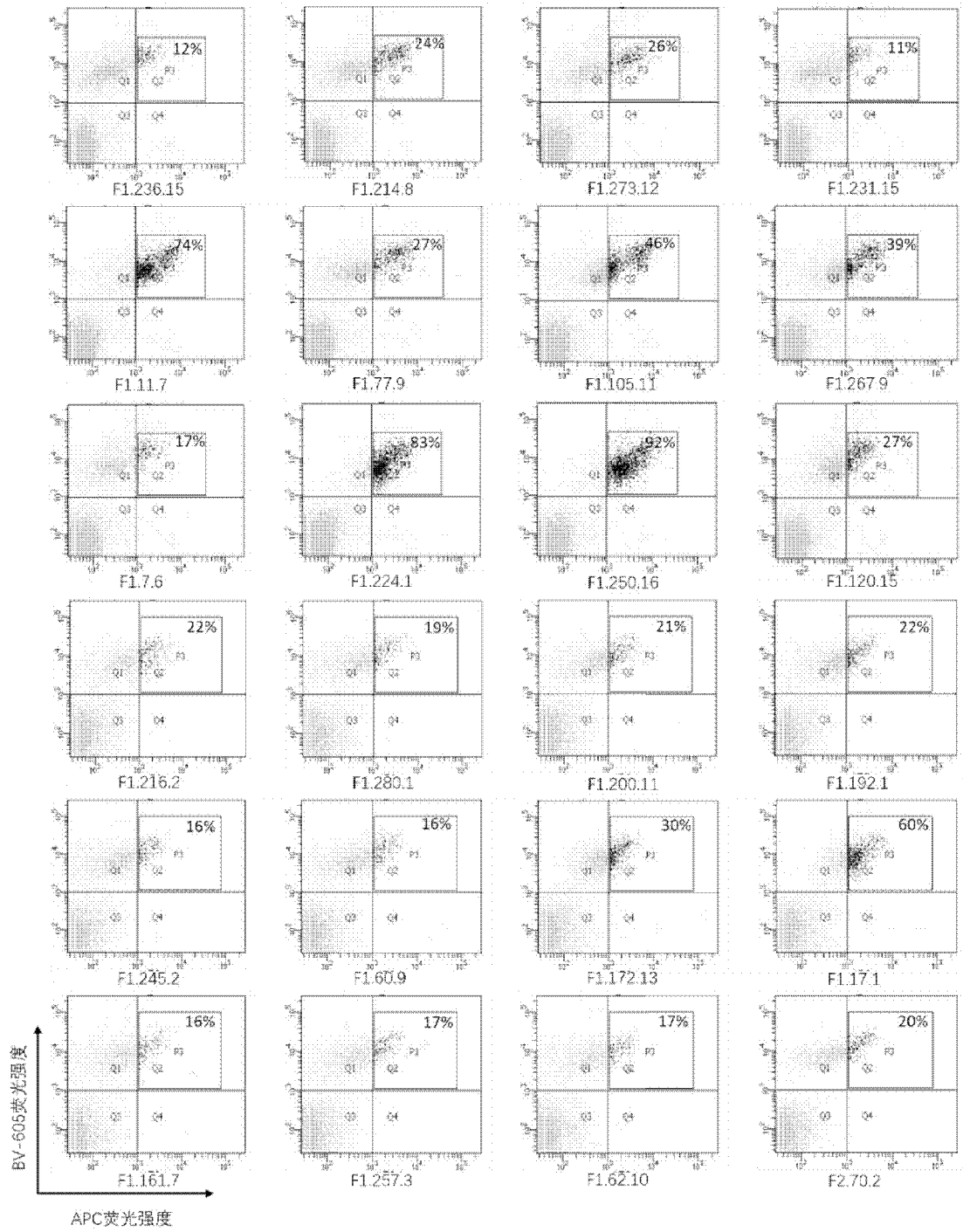


图 10A

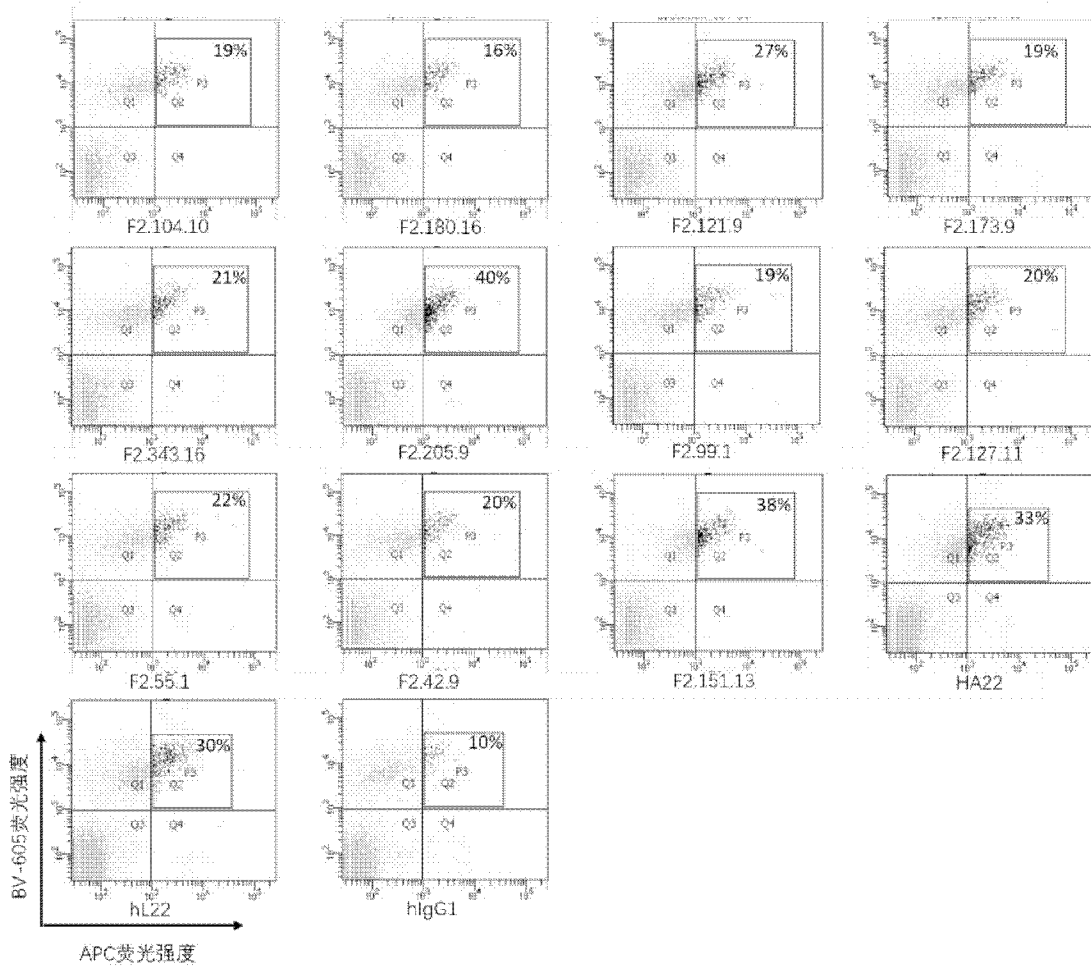


图 10B

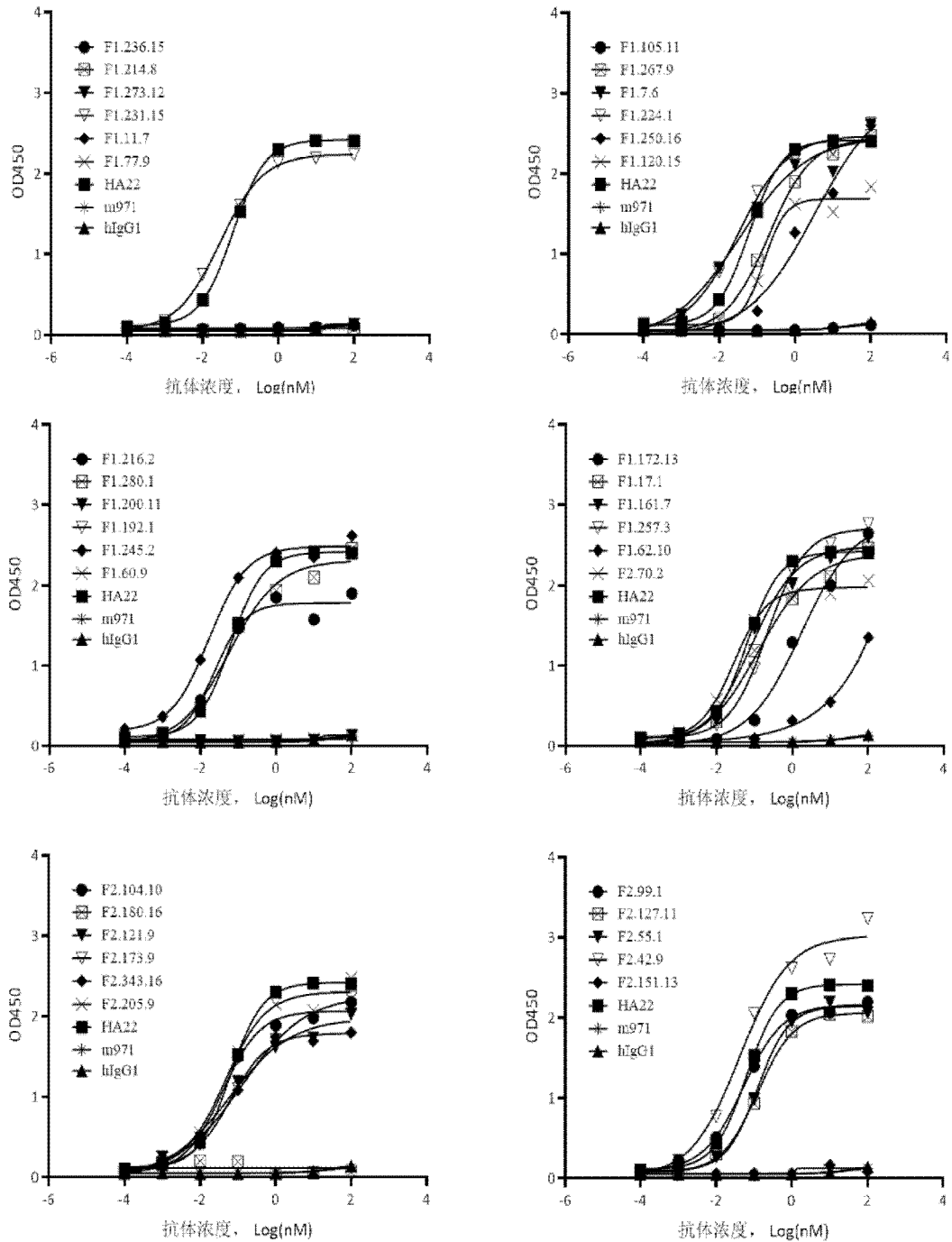


图 11A

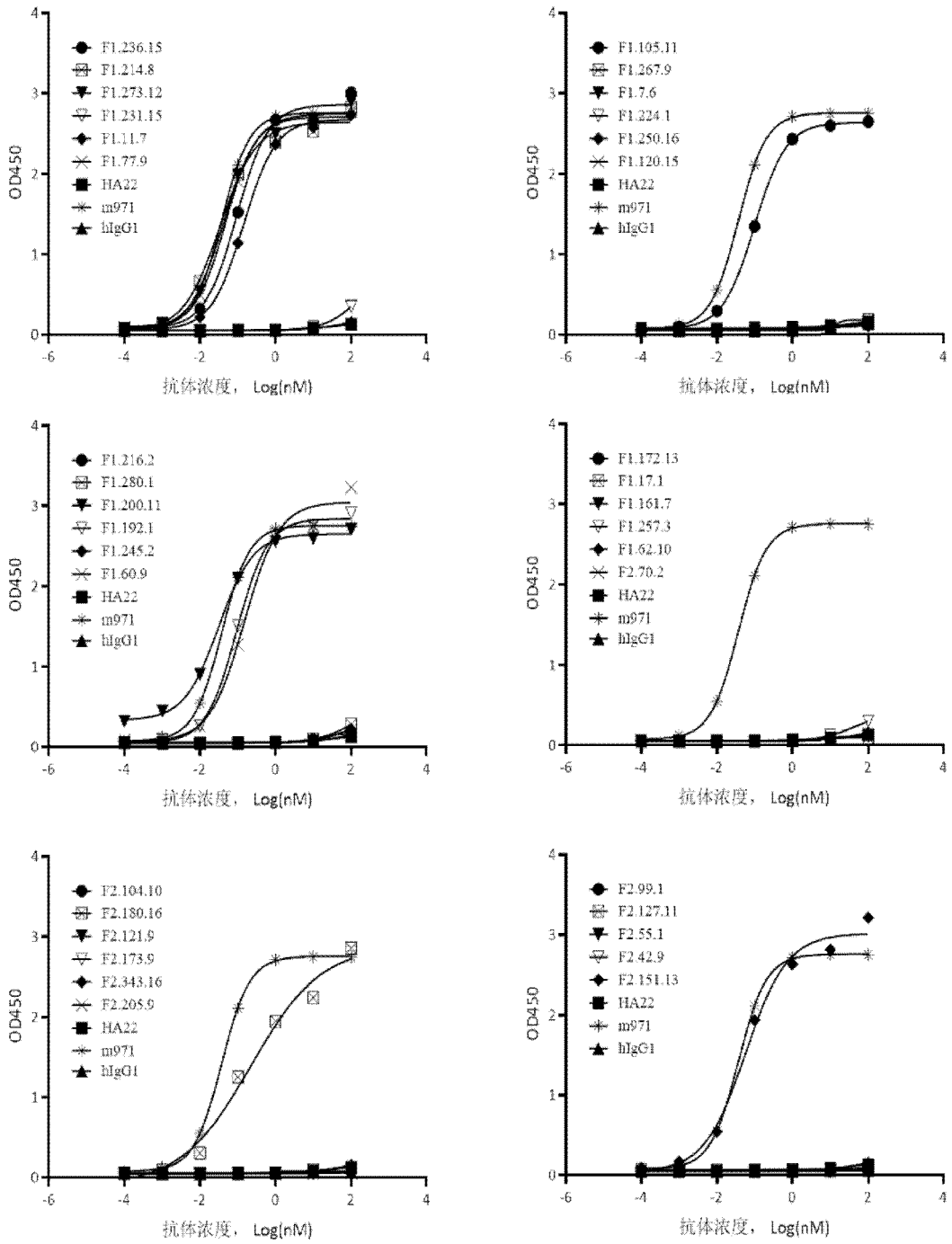


图 11B

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2022/072234

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
A61P 35/00(2006.01)i; A61K 38/00(2006.01)i; A61P 7/00(2006.01)i; C07K 16/28(2006.01)i; C12N 15/13(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) A61P,A61K,C07K,C12N		
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, DWPI, SIPOABS, CNTXT, WOTXT, JPTXT, USTXT, EPTX, 万方, WANFANG, CNKI, PubMed, GenBank, ISI web of knowledge: CD22抗体, 重链CDRs, 轻链CDRs, GYTFTNYW, IHPSDSDT, AMQFDY, 特异性结合, B细胞疾病, CD22 Antibodies, Heavy Chain CDRs, Light Chain CDRs, Specific Binding, B-Cell Disease		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 106029098 A (IMMUNOMEDICS INC.) 12 October 2016 (2016-10-12) entire document	1-21
A	CN 103214578 A (BEIJING DONGFANG BAITAI BIOLOGICAL TECHNOLOGY CO., LTD) 24 July 2013 (2013-07-24) entire document	1-21
A	CN 109970858 A (SHENZHEN PREGENE BIOPHARMACEUTICAL CO., LTD.) 05 July 2019 (2019-07-05) entire document	1-21
A	WO 0067795 A1 (IMMUNOMEDICS, INC.) 16 November 2000 (2000-11-16) entire document	1-21
A	CN 103588882 A (SINOMAB BIOSCIENCE LIMITED) 19 February 2014 (2014-02-19) entire document	1-21
A	US 2013142787 A1 (IMMUNOMEDICS, INC.) 06 June 2013 (2013-06-06) entire document	1-21
A	CN 109476747 A (ABBVIE BIOTHERAPEUTICS, INC.) 15 March 2019 (2019-03-15) entire document	1-21
<input checked="" 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 18 February 2022		Date of mailing of the international search report 29 March 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.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2022/072234

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2015239974 A1 (IMMUNOMEDICS, INC.) 27 August 2015 (2015-08-27) entire document	1-21

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. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: **19**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
 - [1] Claims 19 relates to a method for treatment or diagnosis method for a living human body or animal body, and falls within the case listed in PCT Rule 39.1(iv) for which no international search is required. The present report relates to performing a search on the basis of "a use in the preparation of a drug for preventing and/or treating a B cell disease".
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2022/072234

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	106029098	A	12 October 2016	US	2016376366	A1	29 December 2016
				US	9701748	B2	11 July 2017
				CA	2935748	A1	03 September 2015
				US	2017275363	A1	28 September 2017
				US	9944703	B2	17 April 2018
				WO	2015130416	A1	03 September 2015
				WO	2015130416	A9	06 October 2016
				US	2015239974	A1	27 August 2015
				US	9139649	B2	22 September 2015
				EP	3110445	A1	04 January 2017
				EP	3110445	A4	27 September 2017
				US	2015344573	A1	03 December 2015
				US	9518115	B2	13 December 2016
				CN	103214578	A	24 July 2013
CN	109970858	A	05 July 2019	None			
WO	0067795	A1	16 November 2000	US	2003124058	A1	03 July 2003
				US	7837995	B2	23 November 2010
				AU	4829600	A	21 November 2000
				AU	774044	B2	17 June 2004
				CA	2373618	A1	16 November 2000
				CA	2373618	C	29 March 2016
				US	6306393	B1	23 October 2001
				US	2011165073	A1	07 July 2011
				US	8105596	B2	31 January 2012
				US	2002071807	A1	13 June 2002
				US	7910103	B2	22 March 2011
				EP	1178826	A1	13 February 2002
				EP	1178826	B1	19 October 2016
				US	2006057136	A1	16 March 2006
				US	7939073	B2	10 May 2011
				JP	2002544173	A	24 December 2002
US	2002041847	A1	11 April 2002				
US	2012183472	A1	19 July 2012				
CN	103588882	A	19 February 2014	CN	103588882	B	28 October 2015
US	2013142787	A1	06 June 2013	US	2016032003	A1	04 February 2016
				US	9475883	B2	25 October 2016
				US	9192664	B2	24 November 2015
				US	2016368986	A1	22 December 2016
				US	9663576	B2	30 May 2017
				WO	2013085893	A1	13 June 2013
				CA	2853138	A1	13 June 2013
				EP	2788020	A1	15 October 2014
				EP	2788020	A4	29 April 2015
				US	2017226205	A1	10 August 2017
				US	9963507	B2	08 May 2018
				CN	109476747	A	15 March 2019
PH	12018502478	A1	23 September 2019				
EC	SP18095014	A	29 March 2019				
CA	3025345	A1	30 November 2017				

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2022/072234

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
		WO 2017205738 A1	30 November 2017
		PE 20190562 A1	22 April 2019
		DO P2018000259 A	28 February 2019
		RU 2018146050 A	29 June 2020
		EP 3464367 A1	10 April 2019
		EP 3464367 B1	09 September 2020
		IL 263225 D0	31 December 2018
		TW 201806972 A	01 March 2018
		US 2018194862 A1	12 July 2018
		US 10233258 B2	19 March 2019
		SG 11201810591V A	28 December 2018
		BR 112018074453 A2	19 March 2019
		US 2017342169 A1	30 November 2017
		CL 2018003378 A1	15 March 2019
		JP 2019519223 A	11 July 2019
		AU 2017271601 A1	13 December 2018
US	2015239974 A1	27 August 2015	
		US 2016376366 A1	29 December 2016
		US 9701748 B2	11 July 2017
		CN 106029098 A	12 October 2016
		CA 2935748 A1	03 September 2015
		US 2017275363 A1	28 September 2017
		US 9944703 B2	17 April 2018
		WO 2015130416 A1	03 September 2015
		WO 2015130416 A9	06 October 2016
		US 9139649 B2	22 September 2015
		EP 3110445 A1	04 January 2017
		EP 3110445 A4	27 September 2017
		US 2015344573 A1	03 December 2015
		US 9518115 B2	13 December 2016

<p>A. 主题的分类</p> <p>A61P 35/00(2006.01)i; A61K 38/00(2006.01)i; A61P 7/00(2006.01)i; C07K 16/28(2006.01)i; C12N 15/13(2006.01)i</p> <p>按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类</p>																										
<p>B. 检索领域</p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>A61P, A61K, C07K, C12N</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))</p> <p>CNABS, DWPI, SIPOABS, CNTXT, WOTXT, JPTXT, USTXT, EPTXT, 万方, CNKI, PubMed, GenBank, ISI web of knowledge: CD22抗体, 重链CDRs, 轻链CDRs, GYTFTNYW, IHPSDSDT, AMQFDY, 特异性结合, B细胞疾病, CD22 Antibodies, Heavy Chain CDRs, Light Chain CDRs, Specific Binding, B-Cell Disease</p>																										
<p>C. 相关文件</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>类型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>A</td> <td>CN 106029098 A (免疫医疗公司) 2016年10月12日 (2016 - 10 - 12) 全文</td> <td>1-21</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 103214578 A (北京东方百泰生物科技有限公司) 2013年7月24日 (2013 - 07 - 24) 全文</td> <td>1-21</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 109970858 A (深圳普瑞金生物药业有限公司) 2019年7月5日 (2019 - 07 - 05) 全文</td> <td>1-21</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>WO 0067795 A1 (IMMUNOMEDICS, INC.) 2000年11月16日 (2000 - 11 - 16) 全文</td> <td>1-21</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 103588882 A (中国抗体制药有限公司) 2014年2月19日 (2014 - 02 - 19) 全文</td> <td>1-21</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>US 2013142787 A1 (IMMUNOMEDICS, INC.) 2013年6月6日 (2013 - 06 - 06) 全文</td> <td>1-21</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 109476747 A (艾伯维生物制药股份有限公司) 2019年3月15日 (2019 - 03 - 15) 全文</td> <td>1-21</td> </tr> </tbody> </table>			类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	A	CN 106029098 A (免疫医疗公司) 2016年10月12日 (2016 - 10 - 12) 全文	1-21	A	CN 103214578 A (北京东方百泰生物科技有限公司) 2013年7月24日 (2013 - 07 - 24) 全文	1-21	A	CN 109970858 A (深圳普瑞金生物药业有限公司) 2019年7月5日 (2019 - 07 - 05) 全文	1-21	A	WO 0067795 A1 (IMMUNOMEDICS, INC.) 2000年11月16日 (2000 - 11 - 16) 全文	1-21	A	CN 103588882 A (中国抗体制药有限公司) 2014年2月19日 (2014 - 02 - 19) 全文	1-21	A	US 2013142787 A1 (IMMUNOMEDICS, INC.) 2013年6月6日 (2013 - 06 - 06) 全文	1-21	A	CN 109476747 A (艾伯维生物制药股份有限公司) 2019年3月15日 (2019 - 03 - 15) 全文	1-21
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求																								
A	CN 106029098 A (免疫医疗公司) 2016年10月12日 (2016 - 10 - 12) 全文	1-21																								
A	CN 103214578 A (北京东方百泰生物科技有限公司) 2013年7月24日 (2013 - 07 - 24) 全文	1-21																								
A	CN 109970858 A (深圳普瑞金生物药业有限公司) 2019年7月5日 (2019 - 07 - 05) 全文	1-21																								
A	WO 0067795 A1 (IMMUNOMEDICS, INC.) 2000年11月16日 (2000 - 11 - 16) 全文	1-21																								
A	CN 103588882 A (中国抗体制药有限公司) 2014年2月19日 (2014 - 02 - 19) 全文	1-21																								
A	US 2013142787 A1 (IMMUNOMEDICS, INC.) 2013年6月6日 (2013 - 06 - 06) 全文	1-21																								
A	CN 109476747 A (艾伯维生物制药股份有限公司) 2019年3月15日 (2019 - 03 - 15) 全文	1-21																								
<p><input checked="" type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。 <input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p>																										
<p>* 引用文件的具体类型:</p> <p>“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件</p> <p>“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利</p> <p>“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)</p> <p>“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件</p> <p>“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</p> <p>“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</p> <p>“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</p> <p>“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</p> <p>“&” 同族专利的文件</p>																										
<p>国际检索实际完成的日期</p> <p>2022年2月18日</p>		<p>国际检索报告邮寄日期</p> <p>2022年3月29日</p>																								
<p>ISA/CN的名称和邮寄地址</p> <p>中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088</p> <p>传真号 (86-10)62019451</p>		<p>授权官员</p> <p>吕健</p> <p>电话号码 86-(10)-53962098</p>																								

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	US 2015239974 A1 (IMMUNOMEDICS, INC.) 2015年8月27日 (2015 - 08 - 27) 全文	1-21

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II栏 某些权利要求被认为是不能检索的意见(续第1页第2项)

根据条约第17条(2)(a)，对某些权利要求未做国际检索报告的理由如下：

1. 权利要求： 19
因为它们涉及不要求本单位进行检索的主题，即：
[1] 权利要求19涉及对有生命的人体或动物体的治疗或诊断方法，属于PCT细则39.1(IV)中所列的无需进行国际检索的情形。本报告基于“制备预防和/或治疗B细胞疾病的药物中的用途”进行检索。
2. 权利要求：
因为它们涉及国际申请中不符合规定的要求的部分，以致不能进行任何有意义的国际检索，具体地说：
3. 权利要求：
因为它们是从属权利要求，并且没有按照细则6.4(a)第2句和第3句的要求撰写。

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2022/072234

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	106029098	A	2016年10月12日	US	2016376366	A1	2016年12月29日
				US	9701748	B2	2017年7月11日
				CA	2935748	A1	2015年9月3日
				US	2017275363	A1	2017年9月28日
				US	9944703	B2	2018年4月17日
				WO	2015130416	A1	2015年9月3日
				WO	2015130416	A9	2016年10月6日
				US	2015239974	A1	2015年8月27日
				US	9139649	B2	2015年9月22日
				EP	3110445	A1	2017年1月4日
				EP	3110445	A4	2017年9月27日
				US	2015344573	A1	2015年12月3日
				US	9518115	B2	2016年12月13日
CN	103214578	A	2013年7月24日	CN	103214578	B	2014年5月28日
CN	109970858	A	2019年7月5日	无			
WO	0067795	A1	2000年11月16日	US	2003124058	A1	2003年7月3日
				US	7837995	B2	2010年11月23日
				AU	4829600	A	2000年11月21日
				AU	774044	B2	2004年6月17日
				CA	2373618	A1	2000年11月16日
				CA	2373618	C	2016年3月29日
				US	6306393	B1	2001年10月23日
				US	2011165073	A1	2011年7月7日
				US	8105596	B2	2012年1月31日
				US	2002071807	A1	2002年6月13日
				US	7910103	B2	2011年3月22日
				EP	1178826	A1	2002年2月13日
				EP	1178826	B1	2016年10月19日
				US	2006057136	A1	2006年3月16日
				US	7939073	B2	2011年5月10日
				JP	2002544173	A	2002年12月24日
				US	2002041847	A1	2002年4月11日
				US	2012183472	A1	2012年7月19日
CN	103588882	A	2014年2月19日	CN	103588882	B	2015年10月28日
US	2013142787	A1	2013年6月6日	US	2016032003	A1	2016年2月4日
				US	9475883	B2	2016年10月25日
				US	9192664	B2	2015年11月24日
				US	2016368986	A1	2016年12月22日
				US	9663576	B2	2017年5月30日
				WO	2013085893	A1	2013年6月13日
				CA	2853138	A1	2013年6月13日
				EP	2788020	A1	2014年10月15日
				EP	2788020	A4	2015年4月29日
				US	2017226205	A1	2017年8月10日
				US	9963507	B2	2018年5月8日
CN	109476747	A	2019年3月15日	KR	20190014525	A	2019年2月12日
				PH	12018502478	A1	2019年9月23日
				EC	SP18095014	A	2019年3月29日
				CA	3025345	A1	2017年11月30日

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2022/072234

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)
		WO 2017205738 A1	2017年11月30日
		PE 20190562 A1	2019年4月22日
		DO P2018000259 A	2019年2月28日
		RU 2018146050 A	2020年6月29日
		EP 3464367 A1	2019年4月10日
		EP 3464367 B1	2020年9月9日
		IL 263225 D0	2018年12月31日
		TW 201806972 A	2018年3月1日
		US 2018194862 A1	2018年7月12日
		US 10233258 B2	2019年3月19日
		SG 11201810591V A	2018年12月28日
		BR 112018074453 A2	2019年3月19日
		US 2017342169 A1	2017年11月30日
		CL 2018003378 A1	2019年3月15日
		JP 2019519223 A	2019年7月11日
		AU 2017271601 A1	2018年12月13日
US 2015239974 A1	2015年8月27日	US 2016376366 A1	2016年12月29日
		US 9701748 B2	2017年7月11日
		CN 106029098 A	2016年10月12日
		CA 2935748 A1	2015年9月3日
		US 2017275363 A1	2017年9月28日
		US 9944703 B2	2018年4月17日
		WO 2015130416 A1	2015年9月3日
		WO 2015130416 A9	2016年10月6日
		US 9139649 B2	2015年9月22日
		EP 3110445 A1	2017年1月4日
		EP 3110445 A4	2017年9月27日
		US 2015344573 A1	2015年12月3日
		US 9518115 B2	2016年12月13日