

(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  
2024年1月18日 (18.01.2024)



(10) 国际公布号  
WO 2024/012539 A1

- (51) 国际专利分类号:  
A61K 39/395 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2023/107283
- (22) 国际申请日: 2023年7月13日 (13.07.2023)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:  
202210838320.9 2022年7月14日 (14.07.2022) CN
- (71) 申请人: 百奥泰生物制药股份有限公司 (BIO-THERA SOLUTIONS, LTD.) [CN/CN]; 中国广东省广州市高新技术产业开发区科学城开源大道11号A6栋第五层, Guangdong 510530 (CN)。
- (72) 发明人: 梅星星 (MEI, Xingxing); 中国广东省广州市高新技术产业开发区科学城开源大道11号A6栋第五层, Guangdong 510530 (CN)。冯翠英 (FENG, Cuiying); 中国广东省广州市高新技术产业开发区科学城开源大道11号A6栋第五层, Guangdong 510530 (CN)。汤伟佳 (TANG, Weijia); 中国广东省广州市高新技术产业开发区科学

城开源大道11号A6栋第五层, Guangdong 510530 (CN)。张慧 (ZHANG, Hui); 中国广东省广州市高新技术产业开发区科学城开源大道11号A6栋第五层, Guangdong 510530 (CN)。陈俊有 (CHEN, Junyou); 中国广东省广州市高新技术产业开发区科学城开源大道11号A6栋第五层, Guangdong 510530 (CN)。汪志炜 (WANG, Zhiwei); 中国广东省广州市高新技术产业开发区科学城开源大道11号A6栋第五层, Guangdong 510530 (CN)。黄贤明 (HUANG, Xianming); 中国广东省广州市高新技术产业开发区科学城开源大道11号A6栋第五层, Guangdong 510530 (CN)。俞金泉 (YU, Jin-Chen); 中国广东省广州市高新技术产业开发区科学城开源大道11号A6栋第五层, Guangdong 510530 (CN)。李胜峰 (LI, Shengfeng); 中国广东省广州市高新技术产业开发区科学城开源大道11号A6栋第五层, Guangdong 510530 (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, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI,

(54) Title: ANTI-NECTIN-4 ANTIBODY AND USE THEREOF

(54) 发明名称: 抗Nectin-4抗体及其应用

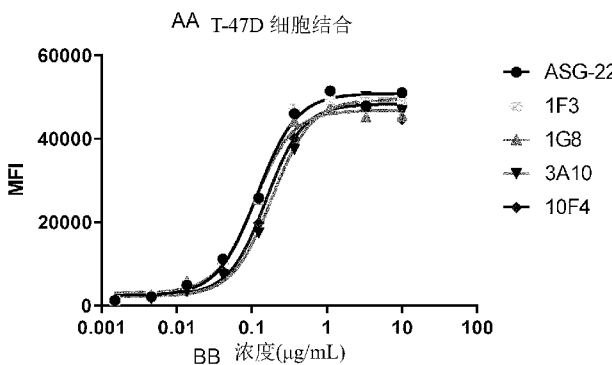


图 2

AA T-47D cell binding  
BB Concentration (µg/mL)

(57) Abstract: Provided are an anti-Nectin-4 antibody and the use thereof. The anti-Nectin-4 antibody or antigen-binding fragment can specifically bind to Nectin-4 and has high affinity and strong endocytosis capability, and therefore can be used for diagnosis, prevention and/or treatment of tumors (comprising cancers and benign tumors).

(57) 摘要: 提供了抗Nectin-4抗体及其应用。所述抗Nectin-4抗体或抗原结合片段可以特异性结合Nectin-4, 具有高亲和力和强内吞能力, 可用于肿瘤(包括癌症和良性肿瘤)的诊断、预防和/或治疗。

GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, 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, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, 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, ME, 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))。

## 抗 Nectin-4 抗体及其应用

### 技术领域

本申请涉及免疫学领域。具体涉及抗 Nectin-4 抗体及其应用。

### 背景技术

Nectin-4 是免疫球蛋白超家族 (IgSF) 中细胞黏附分子之一, 是一种钙非依赖性细胞黏附分子 (cell adhesion molecules, CAM), 也被称为脊髓灰质炎病毒受体相关蛋白 (poliovirus receptor-like protein 4, PVRL4) 或脊髓灰质炎病毒相关受体 (poliovirus receptor-related, PRR4)。Nectin-4 是一种单次跨膜蛋白, 包含胞外区、跨膜区和胞内区, 在胞外区含有三个高度糖基化的结构域, 即靠近胞膜的两个 C2 结构域和远离细胞膜的一个 V 结构域。Nectin-4 分子通过自身 N-端的 V 结构域与 H 蛋白结合, 从而实现病毒对细胞的感染。Nectin-4 通过与钙黏素相互作用参与粘着连接的形成和维持。Nectin-4 介导  $\text{Ca}^{2+}$  非依赖性的粘附, 通过驱动细胞间附着和基质非依赖性整合素蛋白  $\beta 4$  / SHP-2 / c-Src 的活化来促进锚定非依赖性生长。

Nectin-4 在胎儿发育过程中表达, 与其他 Nectins 在成人组织中的广泛表达不同, 其在成人组织中的表达显著下降。多个研究机构证实 Nectin-4 在包括乳腺癌、膀胱癌等多种肿瘤中过表达。Nectin-4 在正常成人组织中的皮肤角质层、皮肤附属结构 (汗腺和毛囊)、膀胱移行上皮、唾液腺、食管、乳腺和胃中弱到中等程度表达, 在喉头、垂体, 胎盘, 睾丸, 输尿管和子宫有较弱的表达。

### 发明内容

本申请涉及抗 Nectin-4 抗体及其应用。具体地, 本发明涉及以下方面:

1. 抗 Nectin-4 (例如来自人、猴如食蟹猴或鼠) 抗体或抗原结合

片段，所述抗 Nectin-4 抗体包含以下 HCDR1，HCDR2，和 HCDR3 或其变体中的一个或多个：

(1)按照 Kabat 编号系统，HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO:181-195, SEQ ID NO:234-248 和 SEQ ID NO:304-317 任一项所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO:196-231, SEQ ID NO:251-303 和 SEQ ID NO:318-358 任一项所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:18, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:22 和 SEQ ID NO:24 任一项所示的序列或由其组成；

(2) SEQ ID NO:7 所示的重链可变区包含的 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3；

在一些实施方案中，按照 Kabat 编号系统，HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:10 所示的序列或由其组成；

(3) SEQ ID NO:11 所示的重链可变区包含的 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3；

在一些实施方案中，按照 Kabat 编号系统，HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:12 所示的序列或由其组成；

(4) SEQ ID NO:13 所示的重链可变区包含的 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3；

在一些实施方案中，按照 Kabat 编号系统，HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:14 所示的序列或由其组成；

(5) SEQ ID NO:15 所示的重链可变区包含的 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3；

在一些实施方案中，按照 Kabat 编号系统，HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:16 所示的序列或由其组成；

(6) SEQ ID NO:17 所示的重链可变区包含的 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3；

在一些实施方案中，按照 Kabat 编号系统，HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:18 所示的序列或由其组成；

(7) SEQ ID NO:19 所示的重链可变区包含的 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3；

在一些实施方案中，按照 Kabat 编号系统，HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:20 所示的序列或由其组成；

(8) SEQ ID NO:21 所示的重链可变区包含的 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3；

在一些实施方案中，按照 Kabat 编号系统，HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:22 所示的序列或由其组成；

(9) SEQ ID NO:23 所示的重链可变区包含的 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3；

在一些实施方案中，按照 Kabat 编号系统，HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:24 所示的序列或由其组成；

(10) HCDR1 的序列包含 X1X2X3MS 所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 X1'IX2'X3'X4'X5'X6'X7'X8'X9'YADSVKG

(SEQ ID NO: 368)所示的序列或由其组成, HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:12, 14 或 16 所示的序列或由其组成, 其中 X1, X2, X3, X1', X2', X3', X4', X5', X6', X7', X8', X9'和 X10'表示独立选自 G, A, V, L, I, S, T, C, M, N, Q, K, R, D, E, F, Y, H, P 和 W 中的任意一种氨基酸,

在一些实施方案中, X1 表示 S, N, T, D 或 G, X2 表示 Y, F 或 S, X3 表示 A, G, S 或 Y, X1'表示 A, R, G, I 或 W, X2'表示 S, K, Y 或 D, X3'表示 G, P, S, A, Q 或 W, X4'表示 S, T, G, Y, H, D, W 或 I, X5'表示 G, D, T, S, A 或 K, X6'表示 G, S, D, A 或 W, X7'表示 S, Y, T, N, D, V, E 或 G, X8'表示 T, A, N, K, I, R, S 或 P, X9'表示 Y, S, H, R, N, G, F 或 D;

在一些实施方案中, X1 表示 S, N, T, D 或 G, X2 表示 Y, N, F 或 S, X3 表示 A, G, S 或不存在, X1'表示 A, R, G, W 或 S, X2'表示 S, K, Y 或 D, X3'表示 G, P, S, T, A, Q 或 Y, X4'表示 S, T, G, Y, H, D, W 或 I, X5'表示 G, D, T, S, F 或 K, X6'表示 G, S, D, A, W 或不存在, X7'表示 S, Y, T, N, D, V, E 或 G, X8'表示 T, A, N, K, I, R, S 或 P, X9'表示 Y, S, H, R, N, F 或 D;

在一些实施方案中, X1 表示 S, N, D, G 或 T, X2 表示 Y, F 或 S, X3 表示 A, D, W, S 或 Y, X1'表示 A, S, G 或 V, X2'表示 S, K, I, Y 或 D, X3'表示 G, P, S, A, Q, Y, T 或 D, X4'表示 S, T, G, Y, H, D 或 W, X5'表示 G, D, T, S 或 K, X6'表示 G, S, D, A 或 Y, X7'表示 S, Y, T, N, D, V 或 G, X8'表示 T, A, N, K, I, R 或 S, X9'表示 Y, S, H, R, N, G, F 或 D;

在一些实施方案中, HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 和 SEQ ID NO:181-195 任一项所示的序列或由其组成, HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 和 SEQ ID NO:196-231 任一项所示的序列或由其组成, HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:14 所示的序列或由其组成;

在一些实施方案中, HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8, SEQ ID

NO:181, SEQ ID NO:185, SEQ ID NO:186, SEQ ID NO:187, SEQ ID NO:194 和 SEQ ID NO:234-248 任一项所示的序列或由其组成, HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:202 和 SEQ ID NO:251-303 任一项所示的序列或由其组成, HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:12 所示的序列或由其组成;

在一些实施方案中, HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:235, SEQ ID NO:238, SEQ ID NO:241 和 SEQ ID NO:304-317 任一项所示的序列或由其组成, HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:318-358 任一项所示的序列或由其组成, HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:16 所示的序列或由其组成;

在一些实施方案中, 所述 HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO: 241 所示的序列或由其组成, HCDR2 的序列包含 357 所示的序列或由其组成, HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:16 所示的序列或由其组成;

在一些实施方案中, 所述 HCDR1 的序列由 SEQ ID NO: 241 所示的序列组成, HCDR2 的序列由 357 所示的序列组成, HCDR3 的序列由 SEQ ID NO:16 所示的序列组成;

其中所述变体序列与所述对应的 CDR 序列分别具有 3, 2 或 1 个氨基酸差异 (优选保守氨基酸置换) 或分别具有至少 60%、65%、70%、75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 同一性, 并且所述变体保留与 Nectin-4 的结合亲和力, 如与 Nectin-4 结合的结合解离平衡常数(KD)为约 1  $\mu$ M 或更低, 或 KD 在约 100 nM 至约 1 pM 之间或更低。

在一些实施方案中, 所述抗 Nectin-4 抗体或抗原结合片段来自鸟类和哺乳动物; 在一些实施方案中, 所述抗 Nectin-4 抗体是人源、鼠源、驴源、兔源、山羊源、骆驼源、美洲驼源、马源或鸡源抗体。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:8 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:9 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:10 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:8 所示

的 HCDR1, SEQ ID NO:9 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中,所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:8 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:9 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中,所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:8 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:9 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中,所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:8 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:9 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:18 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中,所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:8 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:9 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:20 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中,所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:8 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:9 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:22 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中,所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:8 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:9 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:24 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中,所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:181 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:196 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中,所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:182 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:197 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中,所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:183 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:9 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中,所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:184



所示的 HCDR1, SEQ ID NO:199 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:185 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:200 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:184 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:201 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:186 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:202 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:187 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:203 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:183 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:204 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:182 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:205 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:187 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:206 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:188 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:207 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:189 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:208 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:190

所示的 HCDR1, SEQ ID NO:209 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:184 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:210 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:183 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:211 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:185 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:212 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:184 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:213 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:189 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:214 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:191 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:215 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:183 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:216 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:181 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:217 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:183 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:218 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:192

所示的 HCDR1, SEQ ID NO:219 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中,所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:8 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:220 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中,所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:185 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:207 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中,所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:190 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:222 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中,所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:183 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:223 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中,所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:184 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:224 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中,所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:193 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:225 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中,所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:184 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:226 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中,所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:194 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:227 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中,所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:184 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:228 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中,所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:184

所示的 HCDR1, SEQ ID NO:229 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中,所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:189 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:230 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中,所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:190 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:231 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中,所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:195 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:198 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中,所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:183 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:221 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:14 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中,所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:234 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:251 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中,所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:8 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:252 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中,所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:8 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:253 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中,所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:181 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:254 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中,所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:181 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:255 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中,所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:181

所示的 HCDR1, SEQ ID NO:256 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:235 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:257 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:186 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:202 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:236 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:258 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:237 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:259 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:181 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:260 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:238 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:261 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:8 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:262 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:235 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:263 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:237 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:264 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:8 所示

的 HCDR1, SEQ ID NO:265 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:239 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:266 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:237 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:267 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:236 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:268 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:238 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:269 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:240 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:270 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:241 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:271 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:237 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:272 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:242 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:273 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:242 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:274 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:185

所示的 HCDR1, SEQ ID NO:275 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:243 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:276 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:187 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:277 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:244 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:278 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:245 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:279 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:240 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:280 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:181 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:281 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:237 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:282 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:8 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:283 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:246 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:284 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:247

所示的 HCDR1, SEQ ID NO:285 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:237 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:286 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:237 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:287 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:8 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:288 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:194 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:289 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:181 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:290 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:243 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:291 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:8 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:292 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:181 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:255 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:244 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:293 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:247



所示的 HCDR1, SEQ ID NO:294 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:194 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:295 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:238 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:296 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:181 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:297 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:181 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:298 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:8 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:299 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:248 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:300 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:181 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:301 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:237 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:302 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:237 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:9 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:181

所示的 HCDR1, SEQ ID NO:303 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:12 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:304 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:318 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:304 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:319 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:305 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:320 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:306 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:321 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:307 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:322 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:308 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:323 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:306 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:324 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:306 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:321 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:305 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:325 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:309

所示的 HCDR1, SEQ ID NO:326 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:310 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:327 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:311 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:328 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:305 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:329 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:238 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:330 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:309 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:331 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:305 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:332 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:308 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:333 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:310 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:334 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:307 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:335 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:312

所示的 HCDR1, SEQ ID NO:336 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:310 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:337 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:311 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:338 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:313 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:339 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:305 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:340 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:310 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:341 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:314 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:339 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:315 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:342 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:310 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:343 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:310 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:344 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:310

所示的 HCDR1, SEQ ID NO:339 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:305 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:345 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:305 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:346 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:306 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:347 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:307 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:339 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:235 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:348 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:314 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:349 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:316 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:350 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:306 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:351 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:304 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:352 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:309

所示的 HCDR1, SEQ ID NO:353 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:310 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:354 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:305 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:355 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:305 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:356 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3, SEQ ID NO:26 所示的 LCDR1, SEQ ID NO:27 所示的 LCDR2 和 SEQ ID NO:28 所示的 LCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:241 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:357 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体包含 SEQ ID NO:317 所示的 HCDR1, SEQ ID NO:358 所示的 HCDR2, SEQ ID NO:16 所示的 HCDR3。

在一些实施方式中, 所述抗 Nectin-4 抗体还包含 SEQ ID NO:26 所示的 LCDR1, SEQ ID NO:27 所示的 LCDR2 和 SEQ ID NO:28 所示的 LCDR3。

2. 项目 1 所述的抗 Nectin-4 抗体或抗原结合片段, 其中重链可变区中的框架区 HFR1-HFR4 的序列分别如 SEQ ID NO:29-32 所示。

3. 项目 1 所述的抗 Nectin-4 抗体或抗原结合片段, 其中重链可变区中的框架区 HFR1 的序列如 SEQ ID NO:41-180 任一项所示的序列的位置 1-30 位氨基酸序列所示, HFR2-HFR4 的序列分别如 SEQ ID NO:30-32 所示。

4. 项目 1 所述的抗 Nectin-4 抗体或抗原结合片段, 其中所述抗 Nectin-4 抗体或抗原结合片段包含选自以下各项组成的组的重链可变区, 或其变体:

- (1) SEQ ID NO:7 所示的序列或由其组成的重链可变区；
- (2) SEQ ID NO:11 所示的序列或由其组成的重链可变区；
- (3) SEQ ID NO:13 所示的序列或由其组成的重链可变区；
- (4) SEQ ID NO:15 所示的序列或由其组成的重链可变区；
- (5) SEQ ID NO:17 所示的序列或由其组成的重链可变区；
- (6) SEQ ID NO:19 所示的序列或由其组成的重链可变区；
- (7) SEQ ID NO:21 所示的序列或由其组成的重链可变区；
- (8) SEQ ID NO:23 所示的序列或由其组成的重链可变区；
- (9) SEQ ID NO:41-180 任一项所示的序列或由其组成的重链可变区；

- (10) SEQ ID NO: 179所示的序列或由其组成的重链可变区；

其中所述变体序列与所述对应的可变区序列分别具有 3, 2 或 1 个氨基酸差异（优选保守氨基酸置换）或分别具有至少 60%、65%、70%、75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 同一性，并且所述变体保留与 Nectin-4 的结合亲和力，如与 Nectin-4 结合的结合解离平衡常数(KD)为约 1  $\mu$ M 或更低，或 KD 在约 100 nM 至约 1 pM 之间或更低。

5. 项目 1-4 任一项所述的抗 Nectin-4 抗体或抗原结合片段，其中所述抗 Nectin-4 抗体的重链恒定区的氨基酸序列如 SEQ ID NO:37 所示。在一些实施方案中，所述抗 Nectin-4 抗体的重链包含 SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:13, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:19, SEQ ID NO:21, SEQ ID NO:23 和 SEQ ID NO:41-180 任一项所示的重链可变区和 SEQ ID NO:37 所示的重链恒定区。在一些实施方案中，所述抗 Nectin-4 抗体的重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:232, SEQ ID NO:233, SEQ ID NO:249 和 SEQ ID NO:360-363 任一项所示。在一些实施方案中，其中所述抗 Nectin-4 抗体的重链的氨基酸序列如 SEQ ID NO:360 所示。

6.项目 1-5 任一项所述的抗 Nectin-4 抗体或抗原结合片段，其中所述抗体还包含 SEQ ID NO:25 所示的轻链可变区包含的 LCDR1，

LCDR2 和 LCDR3。在一些实施方案中,按照 Kabat 编号系统,LCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:26 所示的序列或由其组成,LCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:27 所示的序列或由其组成,LCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:28 所示的序列或由其组成。在一些实施方案中,轻链可变区中的框架区 LFR1-LFR4 的序列分别如 SEQ ID NO:33-36 所示。在一些实施方案中,所述抗体或抗原结合片段包含 SEQ ID NO:25 所示的轻链可变区。在一些实施方案中,所述抗体或抗原结合片段还包含 SEQ ID NO:38 所示的轻链恒定区。

7.项目 1-6 任一项所述的抗 Nectin-4 抗体或抗原结合片段,其中所述抗原结合片段选自 Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、F(ab)<sub>2</sub>、Fd、Fv、dAb、Fab/c、互补决定区片段、scFv、scFv 多聚体、二硫键稳定性 Fv (dsFv)、(dsFv)<sub>2</sub>、双特异性 dsFv(dsFv-dsFv')、双链抗体(Diabody)、二硫键稳定的双链抗体(ds-Diabody)、由包含一个或多个 CDR 的抗体的一部分形成的多特异性抗体、单域抗体(sdAb)、纳米抗体、结构域抗体或二价结构域抗体。

8. 特异性结合 Nectin-4 的多肽,其选自以下更项组成的组:

(1) 多肽,其包含 HCDR1, HCDR2 和 HCDR3 的序列或其变体,其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分,其中 HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:181-195, SEQ ID NO:234-248 和 SEQ ID NO:304-317 任一项所示的序列或由其组成, HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:196-231, SEQ ID NO:251-303 和 SEQ ID NO:318-358 任一项所示的序列或由其组成, HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:18, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:22 和 SEQ ID NO:24 任一项所示的序列或由其组成;

(2) 多肽,其包含 HCDR1, HCDR2 和 HCDR3 的序列或其变体,其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分,其中 HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成, HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成, HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:10 所示的序列或由其组成;



(3) 多肽，其包含 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3 的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分，其中 HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8，SEQ ID NO:181，SEQ ID NO:185，SEQ ID NO:186，SEQ ID NO:187，SEQ ID NO:194 和 SEQ ID NO:234-248 任一项所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9，SEQ ID NO:202 和 SEQ ID NO:251-303 任一项所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:12 所示的序列或由其组成；

(4) 多肽，其包含 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3 的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分，其中 HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 和 SEQ ID NO:181-195 任一项所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 和 SEQ ID NO:196-231 任一项所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:14 所示的序列或由其组成；

(5) 多肽，其包含 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3 的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分，其中 HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8，SEQ ID NO:235，SEQ ID NO:238，SEQ ID NO:241 和 SEQ ID NO:304-317 任一项所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 和 SEQ ID NO:318-358 任一项所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:16 所示的序列或由其组成；

(6) 多肽，其包含 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3 的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分，其中 HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:18 所示的序列或由其组成；

(7) 多肽，其包含 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3 的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分，其中 HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成，HCDR3

的序列包含 SEQ ID NO:20 所示的序列或由其组成；

(8) 多肽，其包含 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3 的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分，其中 HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:22 所示的序列或由其组成；

(9) 多肽，其包含 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3 的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分，其中 HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:24 所示的序列或由其组成；

(10) 多肽，其包含 SEQ ID NO:7 所示的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分；

(11) 多肽，其包含 SEQ ID NO:11 所示的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分；

(12) 多肽，其包含 SEQ ID NO:13 所示的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分；

(13) 多肽，其包含 SEQ ID NO:15 所示的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分；

(14) 多肽，其包含 SEQ ID NO:17 所示的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分；

(15) 多肽，其包含 SEQ ID NO:19 所示的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分；

(16) 多肽，其包含 SEQ ID NO:21 所示的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分；

(17) 多肽，其包含 SEQ ID NO:23 所示的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分；

(18) 多肽，其包含 SEQ ID NO: 41-180 任一项所示的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分。

在一些实施方案中，所述多肽还包含 SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27 和 SEQ ID NO:28 所示的序列。在一些实施方案中，所述多肽还包含 SEQ ID NO:25 所示的序列或其变体。

在一些实施方案中，所述变体序列与所述对应的序列分别具有 3, 2 或 1 个氨基酸差异（优选保守氨基酸置换）或分别具有至少 60%、65%、70%、75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 同一性，并且所述变体保留与 Nectin-4 的结合亲和力。

在一些实施方式中，本发明的抗体或抗原结合片段与 Nectin-4 结合的结合解离平衡常数(KD)为约 1  $\mu$ M 或更低。在一些实施方式中，本发明的抗体或抗原结合片段与 Nectin-4 结合的 KD 在约 100 nM 至约 1 pM 之间或更低。在一些实施方式中，本发明的抗体或抗原结合片段与 Nectin-4 结合的 KD 在约 10 nM 至约 1 pM 之间或更低。在一些实施方式中，本发明的抗体或抗原结合片段与 Nectin-4 结合的 KD 在约 10 nM 至约 1 nM 之间或更低。

在一些实施方式中，本发明的抗体或抗原结合片段与人 Nectin-4（例如 SEQ ID NO: 2 所示的抗原 hNectin-4-His）结合的 KD 为约 100 nM 至约 1 pM 之间或更低。在一些实施方式中，本发明的抗体或抗原结合片段与人 Nectin-4 结合的 KD 在约 10 nM 至约 1 pM 之间或更低；或者，在约 10 nM 至约 1 nM 之间或更低。

#### 9. 生物材料，为

(1) 核酸分子，其编码项目 1-7 任一项所述的抗 Nectin-4 抗体或抗原结合片段，或编码项目 8 所述的特异性结合 Nectin-4 的多肽；

(2) 载体，其包含编码项目 1-7 任一项所述的抗 Nectin-4 抗体或抗原结合片段，或编码项目 8 所述的特异性结合 Nectin-4 的多肽的核酸分子；或

(3) 宿主细胞，其包含编码项目 1-7 任一项所述的抗 Nectin-4 抗体或抗原结合片段，或编码项目 8 所述的特异性结合 Nectin-4 的多肽的核酸分子。

10. 偶联物，其包含项目 1-7 任一项所述的抗 Nectin-4 抗体或抗

原结合片段以及偶联部分，其中，所述偶联部分为纯化标签（如 His 标签）、可检测的标记、药物、毒素、细胞因子、酶、或其组合；或，所述偶联部分为放射性同位素、荧光物质如荧光素和罗丹明等、化学发光物质如异鲁米诺和吡啶酯等、有色物质如乳胶颗粒和胶体金等、化疗剂、生物毒素、治疗剂、药物前体、肽、蛋白质、酶、病毒、脂类、生物反应调节剂或聚乙二醇。

11. 试剂盒，其包括项目 1-7 任一项所述的抗 Nectin-4 抗体或抗原结合片段、项目 8 所述的特异性结合 Nectin-4 的多肽、项目 10 所述的偶联物。在一些实施方案中，所述试剂盒还包括第二抗体，其特异性识别所述抗 Nectin-4 抗体。在一些实施方案中，所述第二抗体还包括可检测的标记，例如放射性同位素、荧光物质、化学发光物质、有色物质或酶。在一些实施方案中，所述试剂盒用于检测 Nectin-4 在样品中的存在或其水平。在一些实施方案中，所述试剂盒还包括针对其它抗原的抗体或其抗原结合片段，和/或细胞毒性剂，和任选地，使用说明书。

12. 药物组合物，其包含项目 1-7 任一项所述的抗 Nectin-4 抗体或抗原结合片段、项目 8 所述的特异性结合 Nectin-4 的多肽、项目 10 所述的偶联物；可选地，所述药物组合物还包括药学上可接受的载体和/或赋形剂。在一些实施方案中，所述药物组合物为适于通过皮下注射、皮内注射、静脉内注射、肌肉注射或病灶内注射施用的形式。

13. 项目 1-7 任一项所述的抗 Nectin-4 抗体或抗原结合片段、项目 8 所述的特异性结合 Nectin-4 的多肽、项目 10 所述的偶联物用于治疗 and/或预防疾病或在制备治疗和/或预防疾病的药物中的用途。在一些实施方案中，所述疾病为 Nectin-4 表达或过表达相关的疾病。在一些实施方案中，所述疾病为 Nectin-4 异常表达相关的疾病。在一些实施方案中，所述疾病为表达或过表达 Nectin-4 的肿瘤。在一些实施方案中，所述疾病为表达或过表达 Nectin-4 的癌症。在一些实施方案中，所述疾病为实体瘤或血液肿瘤。在一些实施方案中，所述疾病选自乳腺癌、胰腺癌、膀胱癌、尿路上皮癌、黑色素瘤、肺癌、头颈癌、宫颈癌、卵巢癌、绒毛膜癌、皮肤癌、食管癌、胃癌、子宫癌、胆囊癌、

肝癌、肝细胞癌、尿道癌、肾盂癌、输尿管癌、结直肠癌、结肠癌和前列腺癌。

14. 治疗疾病的方法，包括向有需要的患者施用有效量的项目 1-7 任一项所述的抗 Nectin-4 抗体或其抗原结合片段、项目 8 所述的特异性结合 Nectin-4 的多肽、项目 10 所述的偶联物。在一些实施方案中，所述疾病为 Nectin-4 表达或过表达相关的疾病。在一些实施方案中，所述疾病为 Nectin-4 异常表达相关的疾病。在一些实施方案中，所述疾病为表达或过表达 Nectin-4 的肿瘤。在一些实施方案中，所述疾病为表达或过表达 Nectin-4 的癌症。在一些实施方案中，所述疾病为实体瘤或血液肿瘤。在一些实施方案中，所述疾病选自乳腺癌、胰腺癌、膀胱癌、尿路上皮癌、黑色素瘤、肺癌、头颈癌、宫颈癌、卵巢癌、绒毛膜癌、皮肤癌、食管癌、胃癌、子宫癌、胆囊癌、肝癌、肝细胞癌、尿道癌、肾盂癌、输尿管癌、结直肠癌、结肠癌和前列腺癌。

15. 制备项目 1-7 任一项所述的抗 Nectin-4 抗体或抗原结合片段、项目 8 所述的特异性结合 Nectin-4 的多肽的方法，包括培养含有编码所述抗体或抗原结合片段或多肽的核酸分子的宿主细胞，可选的还包括分离所述抗体或抗原结合片段或多肽。

应理解，在本发明范围内，本发明的上述各技术特征和在下文(如实施例)中具体描述的各技术特征之间都可以互相组合，从而构成新的或优选的技术方案。限于篇幅，在此不再一一累述。

在本发明中涉及的术语具备本领域技术人员理解的常规含义。在本技术领域内使用和/或可接受的情况下，一个术语有两个或两个以上定义时，本文使用的术语的定义用于包括所有的含义。

“氨基酸”是指既含氨基又含羧基的有机化合物，比如  $\alpha$ -氨基酸，其可直接或以前体的形式由核酸编码。单个氨基酸由三个核苷酸(所谓的密码子或碱基三联体)组成的核酸编码。每一个氨基酸由至少一个密码子编码。相同氨基酸由不同密码子编码称为“遗传密码的简并性”。氨基酸包括天然氨基酸和非天然氨基酸。天然氨基酸包括丙氨酸(三字母代码: Ala, 一字母代码: A)、精氨酸(Arg, R)、天冬酰胺(Asn, N)、天冬氨酸(Asp, D)、半胱氨酸(Cys, C)、谷氨酰胺(Gln, Q)、谷氨酸(Glu,

E)、甘氨酸(Gly, G)、组氨酸(His, H)、异亮氨酸(Ile, I)、亮氨酸(Leu, L)、赖氨酸(Lys, K)、甲硫氨酸(Met, M)、苯丙氨酸(Phe, F)、脯氨酸(Pro, P)、丝氨酸(Ser, S)、苏氨酸(Thr, T)、色氨酸(Trp, W)、酪氨酸(Tyr, Y)和缬氨酸(Val, V)。

“抗体”是指特异性识别和结合抗原的多肽或多肽复合物。抗体可以是完整的抗体及其任何抗原结合片段或其单链。因此术语“抗体”包括分子中含有具有与抗原结合的生物学活性的免疫球蛋白分子的至少一部分的任何蛋白质或肽。抗体包括但不局限的实施例包括重链、轻链、其配体结合部分的互补决定区(CDR)、重链可变区(VH)、轻链可变区(VL)、重链恒定区(CH)、轻链恒定区(CL)、框架区(FR)或其任何部分或结合蛋白的至少一部分。CDR区包括轻链的CDR区(LCDR1-3)和重链的CDR区(HCDR1-3)。

本领域普通技术人员可以理解,抗体的CDR区负责抗体对抗原的结合特异性。在已知抗体重链和轻链可变区序列的情况下,目前有多种确定抗体CDR区的方法,包括Kabat, IMGT, Chothia 和 AbM 编号系统。然而,每种关于抗体或其变体的CDR的定义的应用都将在本文定义和使用的术语的范围内。如果给定该抗体的可变区氨基酸序列,则本领域技术人员通常可确定哪些残基包含在特定CDR中,而不依赖于该序列自身之外的任何实验数据。

在本领域中,用性能相近或相似的氨基酸进行取代时,通常不会改变蛋白质的功能。又比如,在C末端和/或N末端添加一个或数个氨基酸通常也不会改变蛋白质的功能。出于比较两种或更多种氨基酸序列的目的,第一氨基酸序列和第二氨基酸序列之间的“序列同源性”百分数(在本文也称为“氨基酸同一性”)可以通过用[第一氨基酸序列中与第二氨基酸序列中相应位置的氨基酸残基相同的氨基酸残基数目]除以[第一氨基酸序列中的氨基酸残基总数]并且乘以[100%]而计算,其中第二氨基酸序列中氨基酸残基的每一删除、插入、替换或添加——与第一氨基酸序列相比——都视作在单一氨基酸残基(位置)上的差异,即,视作本发明所定义的“氨基酸差异”。备选地,两种氨基酸序列之间的序列同一性程度可以使用已知的计算机算法进行计算,诸如

NCBI Multiple Alignment ([https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/cobalt/cobalt.cgi?LINK\\_LOC=BlastHomeLink](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/cobalt/cobalt.cgi?LINK_LOC=BlastHomeLink))。例如，在 WO 04/037999, EP 0 967 284, EP 1 085 089, WO 00/55318, WO 00/78972, WO 98/49185 和 GB 2 357 768-A 中描述了用于确定序列同一性程度的一些其它的技术、计算机算法和设置。通常，出于按照上文列出的计算方法来确定两种氨基酸序列之间的“序列同一性”的百分数的目的，将具有最大氨基酸残基数目的氨基酸序列视作“第一”氨基酸序列，并且将另一种氨基酸序列视作“第二”氨基酸序列。

此外，在确定两种氨基酸序列之间的序列同一性程度时，专业技术人员可以考虑所谓的“保守”氨基酸替换，其通常可以描述为这样的氨基酸替换，即，其中氨基酸残基被具有相似化学结构的另一种氨基酸残基替换，并且其对所述多肽的功能、活性或其它生物学特性几乎没有或者基本上没有影响。这种保守氨基酸替换是本领域内公知的，例如，从 WO 04/037999, GB-A-3357 768, WO 98/49185, WO 00/46383 和 WO 01/09300 中可知；并且可以基于 WO 04/037999 以及 WO 98/49185 和其中所引用的其它参考文献的相关教导而选择这种替换的（优选）类型和/或结合。

“保守氨基酸替换”是其中氨基酸残基被具有类似侧链的氨基酸残基替换。具有类似侧链的氨基酸残基家族已在本领域中定义，其包括碱性侧链(例如赖氨酸、精氨酸、组氨酸)，酸性侧链(例如天冬氨酸，谷氨酸)，不带电荷的极性侧链(例如，甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、半胱氨酸)，非极性侧链(例如，丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、蛋氨酸、色氨酸)， $\beta$ -支链的侧链(例如，苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸)和芳族侧链(例如酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸)。因此，免疫球蛋白多肽的非必需氨基酸残基优选被来自相同侧链家族的其他氨基酸残基替换。在另一些实施方案中，一串氨基酸可被结构上类似的氨基酸串替换，后者在顺序上和/或侧链家族的组成上不同。

在下表中提供了保守性氨基酸替换的非限制性实例，其中相似性得分为 0 或更高表示在这两个氨基酸之间有保守替换。

	C	G	P	S	A	T	D	E	N	Q	H	K	R	V	M	I	L	F	Y	W
W	-8	-7	-6	-2	-6	-5	-7	-7	-4	-5	-3	-3	2	-6	-4	-5	-2	0	0	17
Y	0	-5	-5	-3	-3	-3	-4	-4	-2	-4	0	-4	-5	-2	-2	-1	-1	7	10	
F	-4	-5	-5	-3	-4	-3	-6	-5	-4	-5	-2	-5	-4	-1	0	1	2	9		
L	-6	-4	-3	-3	-2	-2	-4	-3	-3	-2	-2	-3	-3	2	4	2	6			
I	-2	-3	-2	-1	-1	0	-2	-2	-2	-2	-2	-2	-2	4	2	5				
M	-5	-3	-2	-2	-1	-1	-3	-2	0	-1	-2	0	0	2	6					
V	-2	-1	-1	-1	0	0	-2	-2	-2	-2	-2	-2	-2	4						
R	-4	-3	0	0	-2	-1	-1	-1	0	1	2	3	6							
K	-5	-2	-1	0	-1	0	0	0	1	1	0	5								
H	-3	-2	0	-1	-1	-1	1	1	2	3	6									
Q	-5	-1	0	-1	0	-1	2	2	1	4										
N	-4	0	-1	1	0	0	2	1	2											
E	-5	0	-1	0	0	0	3	4												
D	-5	1	-1	0	0	0	4													
T	-2	0	0	1	1	3														
A	-2	1	1	1	2															
S	0	1	1	1																
P	-3	-1	6																	
G	-3	5																		
C	12																			

在一些实施方案中，所述保守替换是这样的替换，即，其中下列组 (a)–(e) 内的一个氨基酸被同组内的另一氨基酸残基替换：(a) 小的脂肪族、非极性或弱极性的残基：Ala, Ser, Thr, Pro 和 Gly；(b) 极性、带负电荷的残基及其（不带电荷的）酰胺：Asp, Asn, Glu 和 Gln；(c) 极性、带正电荷的残基：His, Arg 和 Lys；(d) 大的脂肪族、非极性残基：Met, Leu, Ile, Val 和 Cys；以及(e) 芳族残基：Phe, Tyr 和 Trp。

在一些实施方案中，保守替换如下：Ala 替换成 Gly 或替换成 Ser；Arg 替换成 Lys；Asn 替换成 Gln 或替换成 His；Asp 替换成 Glu；Cys 替换成 Ser；Gln 替换成 Asn；Glu 替换成 Asp；Gly 替换成 Ala 或替换成 Pro；His 替换成 Asn 或替换成 Gln；Ile 替换成 Leu 或替换成 Val；Leu 替换成 Ile 或替换成 Val；Lys 替换成 Arg，替换成 Gln 或替换成 Glu；Met 替换成 Leu，替换成 Tyr 或替换成 Ile；Phe 替换成 Met，替换成 Leu 或替换成 Tyr；Ser 替换成 Thr；Thr 替换成 Ser；Trp 替换成 Tyr；Tyr 替换成 Trp；和/或 Phe 替换成 Val，替换成 Ile 或替换成 Leu。

从 $\alpha$ -氨基酸的结构通式可知，各种 $\alpha$ -氨基酸的区别在于侧链 R 基的不同。根据 R 基的化学结构，氨基酸保守替换如下：Gly、Ala、Val、Leu、Ile 可以彼此替换；Ser 和 Thr 可以彼此替换；Cys 和 Met 可以彼此替换，Asn 和 Gln 可以彼此替换；Asp 和 Glu 可以彼此替换；Lys



和 Arg 可以彼此替换；Phe 和 Tyr 可以彼此替换。

术语“抗体片段”或“抗原结合片段”包括但不限于，F(ab')<sub>2</sub>、F(ab)<sub>2</sub>、Fab'、Fab、Fv、Fd、dAb、Fab/c、互补决定区（CDR）片段、单链 Fvs (scFv)、二硫键稳定性 Fv (Disulfide-stabilized Fv fragment, dsFv)、(dsFv)<sub>2</sub>、双特异性 dsFv(dsFv-dsFv')、双链抗体(Diabody)、二硫键稳定的双链抗体(ds-Diabody)、scFv 多聚体（如 scFv 二聚体、scFv 三聚体）、由包含一个或多个 CDR 的抗体的一部分形成的多特异性抗体、纳米抗体、单域抗体(sdab)、结构域抗体、二价结构域抗体，或任何其他与抗原结合但不包含完整的抗体结构的抗体片段。不管结构如何，抗原结合片段包括任何能够与亲本抗体或亲本抗体片段结合的相同抗原结合的多肽或多肽复合体。Mao C S 等“Disulfide stabilized Fv Fragments (dsFv): a New Type of Engineering Antibody Fragments”. *Progress in Biochemistry and Biophysics*, 1998, 25(6):525-526 介绍了 dsFv 的结构。Holt 等“Domain antibodies: proteins for therapy”. *Trends in Biotechnology* (2003): Vol. 21, No.11: 484-490 综述了称为“结构域抗体(dAbs)”的抗原结合片段，它仅含有抗体的 VH 或 VL 结构域，因此比例如 Fab 和 scFv 更小。dAbs 是抗体最小的已知的抗原结合片段，从 11kDa 到 15kDa。术语“抗体片段”包括适配体、适配体对映体(spiegelmers)和双体(diabodies)。术语“抗体片段”也包括任何合成的或基因改造的蛋白，它们与抗体一样可结合至特定的抗原以形成复合体。通常，抗体片段具有本发明抗体的至少约 50 个连续氨基酸，较佳地至少约 50 个连续氨基酸，更佳地至少约 80 个连续氨基酸，最佳地至少约 100 个连续氨基酸。

本发明公开的抗体、抗原结合片段包括被修饰的衍生物，即通过任何类型的分子与抗体或抗原结合片段的共价连接进行修饰，其中共价连接不会阻止抗体或抗原结合片段与表位结合。抗体或抗原结合片段可以被糖基化、乙酰化、聚乙二醇化、磷酸化、酰胺化、通过已知的保护/封闭基团衍生化、蛋白水解切割、连接至细胞配体或其他蛋白质等等。众多化学修饰中的任一种修饰可以通过现有技术进行，包括但不限于特异性化学裂解、乙酰化、甲酰化、衣霉素的代谢合成等。

在一些实施方案中，抗体或抗原结合片段可以与治疗剂、药物前体、肽、蛋白质、酶、病毒、脂类、生物反应调节剂、药剂或聚乙二醇（PEG）缀合。

在一些实施方案中，Nectin-4 抗原来自人，猴（如食蟹猴）或鼠。

本文所述的抗体可以来源于任何动物，包括鸟类和哺乳动物。较佳地，抗体是人源、鼠源、驴源、兔源、山羊源、骆驼源、马源或鸡源抗体。

本发明中关于细胞、核酸、多肽、抗体等所使用的术语“分离的”，例如“分离的”DNA、RNA、多肽、抗体是指分别于细胞天然环境中的其它组分如 DNA 或 RNA 中的一种或多种所分离的分子。本发明使用的术语“分离的”还指当通过重组 DNA 技术产生时基本上不含细胞材料、病毒材料或细胞培养基的核酸或肽，或化学合成时的化学前体或其他化学品。此外，“分离的核酸”意在包括不以天然状态存在的核酸片段，并且不会以天然状态存在。“分离的”也用于指从其他细胞蛋白质或组织分离的细胞或多肽。分离的多肽意在包括纯化的和重组的多肽。分离的多肽、抗体等通常通过至少一个纯化步骤制备。在一些实施方案中，分离的核酸、多肽、抗体等的纯度至少为约 50%、约 60%、约 70%、约 80%、约 90%、约 95%、约 99%，或这些数值中的任何两个值之间的范围（包括终点）或其中任何值。

多聚核苷酸是由四个核苷酸碱基的特定序列组成：腺嘌呤（A）、胞嘧啶（C）、鸟嘌呤（G）、胸腺嘧啶（T），或当多聚核苷酸是 RNA 时胸腺嘧啶换为尿嘧啶（U）。“多聚核苷酸序列”可以以多聚核苷酸分子的字母表示。该字母表示可以被输入到具有中央处理单元的计算机中的数据库中，并用于生物信息学应用，例如用于功能基因组学和同源性搜索。

术语“多聚核苷酸”和“核酸”可互换使用，是指任何长度的核苷酸的聚合形式，无论是脱氧核糖核苷酸还是核糖核苷酸或其类似物。多聚核苷酸可以具有任何三维结构并且可以执行已知或未知的任何功能。以下是不受限制的多聚核苷酸的实施例：基因或基因片段（例如探针、引物、EST 或 SAGE 标签）、外显子、内含子、信使 RNA(mRNA)、

转运 RNA、核糖体 RNA、核糖酶、cDNA、dsRNA、siRNA、miRNA、重组多聚核苷酸、分支的多聚核苷酸、质粒、载体、任何序列的分离的 DNA、任何序列的分离的 RNA、核酸探针和引物。多聚核苷酸可以包含修饰的核苷酸，例如甲基化的核苷酸和核苷酸类似物。如果存在该修饰，则对核苷酸的结构修饰可以在组装多聚核苷酸之前或之后进行。核苷酸的序列可以被非核苷酸组分中断。聚合后可以进一步修饰多聚核苷酸，例如通过与标记组分缀合。这个术语也指双链和单链分子。除另有说明或要求外，本公开的任何多聚核苷酸的实施例包括双链形式和已知或预测构成双链形式的两种可互补单链形式中的每一种。

术语“编码”应用于多聚核苷酸时，是指被称为“编码”多肽的多聚核苷酸，在其天然状态或当通过本领域技术人员公知的方法操作时，经转录和/或翻译可以产生该多肽和/或其片段。

“治疗”是指治疗性治疗和预防性或防治性措施，其目的是预防、减缓、改善或停止不良的生理改变或紊乱，例如疾病的进程，包括但不限于以下无论是可检测还是不可检测的结果，症状的缓解、疾病程度的减小、疾病状态的稳定（即不恶化）、疾病进展的延迟或减缓、疾病状态的改善、缓和、减轻或消失（无论是部分还是全部）、延长与不接受治疗时预期的生存期限等。需要治疗的包括已经患有病症或紊乱的患者，容易患有病症或紊乱的患者，或者需要预防该病症或紊乱的患者，可以或预期从施用本发明公开的抗体、抗原结合片段或药物组合物用于检测、诊断过程和/或治疗中受益的患者。

对于治疗特定患者的有效剂量和治疗方案将取决于各种因素，包括所使用的特定抗体、抗原结合片段或衍生物、患者的年龄和体重、一般健康状况、性别和饮食，以及给药时间、排泄频率、药物组合，以及所治疗的特定疾病的严重程度。由包括在本领域普通技术人员范围内的医疗护理人员对这些因素进行判断。所用剂量可以通过本领域熟知的药理学和药代动力学原理确定。在一些实施方案中，本发明抗体施用于患者的剂量为每次 0.01 mg/kg 至 100 mg/kg 患者体重。在一些实施方案中，每星期、或每月给药一次。

“患者”指需要诊断、预后或治疗的任何哺乳动物，包括人类、狗、猫、兔子、鼠、马、牛等。在一些实施方案中，患者是人患者。

“药学上可接受的”是指药典中列出的用于动物、特别是用于人类药物的物料。此外，“药学上可接受的载体和/或赋形剂”通常将是任何类型的无毒固体、半固体或液体填充剂、稀释剂、包封材料或制剂助剂。

术语“载体”是指可以与活性成分一起施用于患者的稀释剂、佐剂、赋形剂或载体。此类药物载体可以是无菌液体，如水和油，包括石油、动植物或合成来源的油，如花生油、大豆油、矿物油、芝麻油等。当药物组合物静脉内给药时，水是优选的载体。盐水溶液和葡萄糖水溶液和甘油溶液也可用作液体载体，特别是用于注射溶液。合适的药物赋形剂包括淀粉、葡萄糖、明胶、麦芽、大米、面粉、白垩、硅胶、硬脂酸钠、单硬脂酸甘油酯、滑石、脱脂奶粉、甘油、丙烯、乙二醇、水、乙醇等。如有需要，组合物还可以含有少量的润湿剂或乳化剂，或 pH 缓冲剂。这些组合物可以采取溶液、悬液、乳剂、片剂、丸剂、胶囊、散剂、缓释制剂等形式。该组合物可以用传统的粘合剂和载体如甘油三酯配制成栓剂。口服制剂可以包括标准载体，例如药物等级的淀粉、硬脂酸镁、糖精钠、纤维素、碳酸镁等。合适的药物载体的实例在 E. W. Martin 的 *Remington's Pharmaceutical Sciences* 中有描述，在此通过引用并入本发明。此类组合物将含有临床有效剂量的抗体或抗原结合片段，优选以纯化后的形式，连同合适数量的载体和/或赋形剂，以提供适合于患者的给药形式。该制剂应该适用于给药模式。亲本制剂可以封装在安瓿瓶、一次性注射器或由玻璃或塑料制成的多剂量小瓶中。

在一些实施方案中，根据常规步骤将组合物配制成适合静脉内注射于人体的药物组合物。用于静脉内给药的组合物是在无菌等渗水性缓冲液中的溶液。一般而言，有效成分以单位剂量形式单独供给或混在一起供给，如以干燥的冻干粉末或无水浓缩物的形式装在可指示活性剂份量的密封容器（如安瓿瓶或小袋）中。在通过输注施用组合物的情况下，可以用含有无菌药用级水或盐水的输液瓶来分装组合物。

在通过注射施用组合物的情况下，可以使用注射用的无菌水或盐水的安瓿瓶，使得可以在施用之前混合有效成分。

本发明的抗体或抗原结合片段包括中性的或盐的形式。药学上可接受的盐包括但不限于与衍生自如盐酸、磷酸、乙酸、草酸、酒石酸等的阴离子形成的盐，以及与衍生自如钠、钾、铵、钙、氢氧化铁、异丙胺、三乙胺、2-乙氨基乙醇、组氨酸、普鲁卡因等的阳离子形成的盐。

“约”指相关技术领域技术人员容易知道的相应数值的常规误差范围。在一些实施方式中，本文中提“约”指所描述的数值及其 $\pm 10\%$ 、 $\pm 5\%$ 或 $\pm 1\%$ 的范围。

“ $EC_{50}$ ”即半最大效应浓度（concentration for 50% of maximal effect）是指能引起 50%最大效应的浓度。

### **抗体和编码抗体的多聚核苷酸的制备方法**

本发明还公开了编码本发明所述抗体、抗原结合片段、及其衍生物的多聚核苷酸或核酸分子。本发明公开的多聚核苷酸可以编码重链可变区、轻链可变区、Fc 区、部分重链可变区、部分轻链可变区、重链或轻链等。制备和编码抗体的多聚核苷酸和抗体的方法是本领域公知的并且在本发明中有所描述。

抗体可以通过本领域已知的多种方法制备，包括使用来自免疫球蛋白序列的抗体文库进行的噬菌体展示方法。也可参考美国专利 4,444,887 和 4,716,111，以及 PCT 公布文本 WO 98/46645、WO 98/50433、WO 98/24893、WO 98/16654、WO 96/34096、WO 96/33735 和 WO 91/10741，每个专利的全部内容通过引用并入本文。

抗体可以通过使用常规重组 DNA 技术制备。使用本领域技术人员公知的技术可以选择、构建和培养生产抗体的载体及细胞系等。这些技术在各种实验室手册和主要出版物中均有描述，例如 *Recombinant DNA Technology for Production of Protein Therapeutics in Cultured Mammalian Cells*，D.L. Hacker, F.M. Wurm, in *Reference Module in Life Sciences*, 2017，其全部内容包括补充内容通过引用并入全文。

在一些实施方案中，可以按常规方法根据本文所述抗体氨基酸序列设计合成编码抗体的 DNA，将其置入表达载体中，然后转染宿主细胞，在培养基中培养被转染的宿主细胞产生单克隆抗体。在一些实施方案中，表达抗体载体包括至少一个启动子元件，抗体编码序列，转录终止信号和 polyA 尾。其他元件包括增强子，Kozak 序列及插入序列两侧 RNA 剪接的供体和受体位点。可以通过 SV40 的前期和后期启动子，来自逆转录病毒的长末端重复序列如 RSV、HTLV1、HIV1 及巨细胞病毒的早期启动子来获得高效的转录，也可应用其它一些细胞的启动子如肌动蛋白启动子。合适的表达载体可包括 pIRES1neo, pRetro-Off, pRetro-On, PLXSN, 或者 Plncx, pcDNA3.1 (+/-), pcDNA/Zeo(+/-), pcDNA3.1/Hygro (+/-), PSVL, PMSG, pRSVcat, pSV2dhfr, pBC12MI 和 pCS2 等。常使用的哺乳动物细胞包括 293 细胞, Cos1 细胞, Cos7 细胞, CV1 细胞, 鼠 L 细胞和 CHO 细胞等。

在一些实施方案中，插入基因片段需含有筛选标记，常见的筛选标记包括二氢叶酸还原酶，谷氨酰胺合成酶，新霉素抗性，潮霉素抗性等筛选基因，以便于转染成功的细胞的筛选分离。将构建好的质粒转染到无上述基因的宿主细胞，经过选择性培养基培养，转染成功的细胞大量生长，产生想要获得的目的蛋白。

scFv 的制备可参见生产单链单元的技术（美国专利 4,694,778; Bird, Science 242:423-442 (1988)、Huston et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 55:5879-5883 (1988)和 Ward et al., Nature 334:544-554 (1989)和 Nie et al., Antibody Therapeutics 3 (1):18-62 (2020)）。通过氨基酸桥接 Fv 区的重链和轻链片段形成单链单元，产生单链融合肽。也可以使用在大肠杆菌中组装功能性 Fv 片段的技术（Skerra et al., Science 242: 1038-1041 (1988)）。

可用于生产单链 Fv (scFv) 和抗体的技术的实例包括如美国专利 4,946,778 和 5,258,498，以及 Huston et al., Methods in Enzymology 203:46-88 (1991)、Shu et al., Proc. Natl. Sci. USA 90:1995-1999 (1993) 和 Skerra et al., Science 240:1038-1040 (1988)中所述。对于包括在人体内使用抗体和体外检测实验的某些用途，可以使用嵌合抗体、人源化

抗体或全人源抗体。嵌合抗体是抗体的不同部分源自不同动物物种的一类分子，例如具有鼠源单克隆抗体的可变区和人源免疫球蛋白恒定区的抗体。生产嵌合抗体的方法是本领域已知的，参见 Morrison, *Science* 229:1202 (1985); Oi et al., *BioTechniques* 4:214 (1986); Gillies et al., *J. Immunol. Methods* 125:191-202 (1989); Neuberger et al., *Nature* 372:604-608 (1984); Takeda et al., *Nature* 314:452-454 (1985); 和美国专利 5,807,715、4,816,567 和 4,816,397，其全部内容通过引用并入本文。

### 附图说明

图 1: 抗 Nectin-4 抗体的亲和力测定。

图 2: 抗 Nectin-4 抗体与 T-47D 细胞的结合活性。

图 3: 抗 Nectin-4 抗体对人 Nectin-4 同家族蛋白的特异性检测结果。

图 4: 抗 Nectin-4 抗体对不同种属 Nectin-4 的结合。

### 具体实施方式

以下通过实施例具体描述本发明。本领域技术人员将会理解，下面的实施例仅用于说明本发明，而不应视为限定本发明的范围。实施例中未注明具体技术或条件者，按照本领域内的文献所描述的技术或条件（例如参考 J. 萨姆布鲁克等著，黄培堂等译的《分子克隆实验指南》，第三版，科学出版社）或按照产品说明书进行。所用试剂或仪器未注明生产厂商者，为可以通过市场购买获得的常规产品。

#### 实施例 1: 人 Nectin-4 胞外抗原表达

人 Nectin-4 胞外抗原 (hNectin-4-His) 按照常规方法进行制备: 将人 Nectin-4 胞外序列 (序列来源 GenBank No. Q96NY8) 蛋白信号肽序列更换为白蛋白信号肽 (MKWVTFISLLFLFSSAYS, 如 SEQ ID NO:1 所示), 并在其 C-末端添加组氨酸标签 8×His, 获得抗原蛋白 (序列如 SEQ ID NO:2 所示, 表示为 hNectin-4-His), 将抗原蛋白 hNectin-4-His 的 DNA 序列克隆至表达载体, 瞬时转染真核细胞

HEK293F 细胞或稳定转染 CHO 细胞，挑选稳定细胞株，纯化表达。

MKWVTFISLLFLFSSAYSGELETSDVVTVVLGQDAKLPCFYR  
 GDSGEQVGQVAWARVDAGEGAQELALLHSKYGLHVSPAYEGRVE  
 QPPPPRNPLDGSVLLRNAVQADEGEYECRVSTFPAGSFQARLRLRV  
 LVPPLPSLNPGPALEEGQGLTLAASCTAEGSPAPSVTWDTEVKGTT  
 SSRSFKHSRSAAVTSEFHLVPSRSMNGQPLTCVVSHPGLLQDQRIT  
 HILHVSFLAEASVRGLEDQNLWHIGREGAMLKCLSEGQPPPSYNW  
 TRLDGPLPSGVRVDGDTLGFPLTTEHSGIYVCHVSNEFSSRDSQV  
 TVDVLDPQEDSGKQVDLVSASHHHHHHHH(如 SEQ ID NO:2 所示，  
 下划线部分为白蛋白信号肽)。

**实施例 2：对照抗体表达**

对照抗体 ASG-22 的重链和轻链的氨基酸序列见表 1。为了便于在宿主细胞中表达，在重链和轻链的 N-末端分别添加信号肽，重链的 N-末端连接的信号肽序列为 MELGLCWVFLVAILEGVQC(如 SEQ ID NO:3 所示)，轻链的 N-末端连接的信号肽序列为 MDMRVPAQLLGLLLLWFPGSRC(如 SEQ ID NO:4 所示)。按照常规方法合成重链和轻链的 DNA 序列并表达该抗体，该抗体与实施例 1 中 hNectin-4-His 的结合正常。

表 1：对照抗体 ASG-22 的氨基酸序列

	氨基酸序列 (下划线表示根据 Kabat 编号系统确定的 CDR 序列)	SEQ ID NO:
重链	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTF <u>SSYNMN</u> NWV RQAPGKGLEWVSYISSSSSTIYYADSVKGRFTISRDNAL NSLSLQMNSLRDEDTAVYYCAR <u>AYYYGMDVWGQ</u> GTL VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	5
轻链	DIQMTQSPSSVSASVSGDRVITICRASQGISGWLAWYQQ	6



	KPGKAPKFLIYA <u>ASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL</u> QPEDFATYYC <u>QQANSEFP</u> PTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNFPYPRKAVQWVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	
--	--	--

**实施例 3：抗 Nectin-4 抗体制备**

**1) 抗体序列**

表 2 显示 scFv 的轻重链可变区，轻链可变区具有相同的氨基酸序列。

表 2：重链可变区和轻链可变区的序列

克隆编号	类型	氨基酸序列 (下划线表示根据 Kabat 编号系统确定的 CDR 序列)
1B4	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS <u>CAASGFTFSSYAMSWV</u> RQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN <u>S</u> KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTE <u>DRYYGYDL</u> DY WGQGT <u>L</u> TVSS (SEQ ID NO:7) HCDR1: SYAMS (SEQ ID NO:8) HCDR2: AISGSGGSTYYADSVKGR (SEQ ID NO:9) HCDR3: QTEDRYYG <u>YDL</u> DY (SEQ ID NO:10)
1G8	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS <u>CAASGFTFSSYAMSWV</u> RQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN <u>S</u> KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTE <u>DRSYGYDL</u> DY WGQGT <u>L</u> TVSS (SEQ ID NO:11) HCDR1: SYAMS (SEQ ID NO:8) HCDR2: AISGSGGSTYYADSVKGR (SEQ ID NO:9) HCDR3: QTEDRSYGY <u>DL</u> DY (SEQ ID NO:12)
1F3	VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS <u>CAASGFTFSSYAMSWV</u> RQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN <u>S</u> KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR <u>AELLA</u> FDVYTAS <u>D</u> <u>Y</u> WGQGT <u>L</u> TVSS (SEQ ID NO:13) HCDR1: SYAMS (SEQ ID NO:8)

		<p>HCDR2: AISGSGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:9)</p> <p>HCDR3: AELLAFDVYTASDY (SEQ ID NO:14)</p>
10F4	VH	<p>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWV</p> <p>RQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN</p> <p>KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVDYVSVRT</p> <p><u>PLDY</u>WGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:15)</p> <p>HCDR1: SYAMS (SEQ ID NO:8)</p> <p>HCDR2: AISGSGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:9)</p> <p>HCDR3: EYSDVVDYVSVRTPLDY (SEQ ID NO:16)</p>
3A10	VH	<p>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWV</p> <p>RQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN</p> <p>KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRSDVYSYSYFPT</p> <p><u>LDY</u>WGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:17)</p> <p>HCDR1: SYAMS (SEQ ID NO:8)</p> <p>HCDR2: AISGSGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:9)</p> <p>HCDR3: DRSDVYSYSYFPTPLDY (SEQ ID NO:18)</p>
10A4	VH	<p>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWV</p> <p>RQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN</p> <p>KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRSYGYDMD</p> <p><u>Y</u>WGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:19)</p> <p>HCDR1: SYAMS (SEQ ID NO:8)</p> <p>HCDR2: AISGSGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:9)</p> <p>HCDR3: QTEDRSYGYDMDY (SEQ ID NO:20)</p>
1G7	VH	<p>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWV</p> <p>RQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN</p> <p>KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARERSDATYLRTPLD</p> <p><u>Y</u>WGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:21)</p> <p>HCDR1: SYAMS (SEQ ID NO:8)</p> <p>HCDR2: AISGSGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:9)</p> <p>HCDR3: ERSDATYLRTPLDY (SEQ ID NO:22)</p>

<p>1G12</p>	<p>VH</p>	<p>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWV  RQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN  KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHTEDRYYGYYLDY  WGQGTLLVTVSS (SEQ ID NO:23)  HCDR1: SYAMS (SEQ ID NO:8)  HCDR2: AISGSGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:9)  HCDR3: HTEDRYYGYYLDY (SEQ ID NO:24)</p>
<p>共用轻链 可变区</p>	<p>VL</p>	<p>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQ  KPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFLT  LQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKR (SEQ ID  NO:25)  LCDR1: RASQGISSYLA (SEQ ID NO:26)  LCDR2: AASSLQS (SEQ ID NO:27)  LCDR3: QQHYTTPPT (SEQ ID NO:28)</p>

VH 中的框架区 HFR1-HFR4 的序列如 SEQ ID NO:29-32 所示，  
VL 中的框架区 LFR1-LFR4 的序列如 SEQ ID NO:33-36 所示。

VH 中的框架区：

HFR1: EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS (SEQ ID NO:29)

HFR2: WVRQAPGKGLEWVS(SEQ ID NO:30)

HFR3: RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR(SEQ ID NO:31)

HFR4: WGQGTLLVTVSS(SEQ ID NO:32)

VL 中的框架区：

LFR1: DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC (SEQ ID NO:33)

LFR2: WYQQKPGKAPKLLIY (SEQ ID NO:34)

LFR3: GVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYC (SEQ ID NO:35)

LFR4: FGQGTKVEIKR (SEQ ID NO:36)

**2) scFv 制备**

将上述 1F3、1G8 和 10F4 的 HCDR3 克隆入 HCDR1 和 HCDR2

的 scFv 噬菌体库，经过筛选并挑选噬菌体克隆的上清检测，将上清液稀释 50 倍，通过 ELISA 测定对 hNectin-4-His 的结合 OD 值，3 倍梯度稀释并通过 ELISA 测量上清液与抗原结合的滴度 EC<sub>50</sub> 数值，挑选 OD 值较高的克隆进行测序，获得如表 3-8 所示的各克隆的重链可变区序列及 HCDR1 和 HCDR2 序列，轻链可变区序列如 SEQ ID NO:25 所示。其中 OD 值表示 ELISA 检测的数值，EC<sub>50</sub> 值表示上清与抗原结合活性滴度的 EC<sub>50</sub> 数值。

### 3) 抗体制备

构建抗体：表 2-5 所示的重链可变区与重链恒定区（CH）组成抗体的重链，SEQ ID NO: 25 所示的轻链可变区与轻链恒定区（CL）组成抗体的轻链；CH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 37 所示，CL 的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 38 所示。为了便于在宿主细胞中表达，在重链和轻链的 N-末端分别添加信号肽，重链的 N-末端连接的信号肽序列为 MEWSWVFLFFLSVTTGVHS（如 SEQ ID NO: 39 所示），轻链的 N-末端连接的信号肽序列为 MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARC（如 SEQ ID NO: 40 所示）。抗体编号与重链可变区对应的克隆编号一致。轻链的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 250 所示，轻链的核酸序列如 SEQ ID NO: 359 所示。根据抗体序列实际合成核酸序列。以抗体 1F3 为例，其重链的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 232 所示；以抗体 1G8 为例，其重链的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 233 所示；以抗体 10F4 为例，其重链的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 249 所示；以抗体 10F4-3 为例，其重链的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 360 所示，重链的核酸序列如 SEQ ID NO: 364 所示；以抗体 1F3-1E4 为例，其重链的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 361 所示，重链的核酸序列如 SEQ ID NO: 365 所示；以抗体 1F3-2B9 为例，其重链的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 362 所示，重链的核酸序列如 SEQ ID NO: 366 所示；以抗体 1G8-1C10 为例，其重链的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 363 所示，重链的核酸序列如 SEQ ID NO: 367 所示。按照常规操作方法构建轻重链表达载体，转化 HEK293F 细胞，获取抗体进行进一步检测。

表 3: 1F3 系列抗体重链可变区序列

克隆编号	VH 序列 (下划线表示根据 Kabat 编号系统确定的 CDR 序列)	OD 值	EC <sub>50</sub>
1F3	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSS</u> <u>YAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGT LTVS</u> S (SEQ ID NO:13)	NA	NA
1F3-1A9	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFDN</u> <u>YAMSWVRQAPGKGLEWVSRISPTGGYASYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGT LTVS</u> S (SEQ ID NO:41)	1.635	309.2
1F3-1B1	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGT</u> <u>YGMSWVRQAPGKGLEWVSGIKPGDSTTYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGT LTVS</u> S (SEQ ID NO:42)	1.651	195.1
1F3-1C11	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFSS</u> <u>YGMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGT LTVS</u> S (SEQ ID NO:43)	1.633	78.51
1F3-1C4	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGD</u> <u>YGMSWVRQAPGKGLEWVSGIKPWGSGTY</u> <u>ADVSKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT</u> <u>AVYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGT LTV</u> SS(SEQ ID NO:44)	1.591	238.3
1F3-1D1	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDIFTN</u> <u>YSMSWVRQAPGKGLEWVSGIYPSGDNNRYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGT LTVS</u> S(SEQ ID NO:45)	1.287	78.33
1F3-1D12	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYNFTD</u> <u>YGMSWVRQAPGKGLEWVSGISGSDNKYY</u> <u>ADVSKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT</u> <u>AVYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGT LTV</u> SS(SEQ ID NO:46)	1.633	323.6
1F3-1D6	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSFYG</u> <u>FGMSWVRQAPGKGLEWVSGIYSHDADKRY</u> <u>ADVSKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT</u> <u>AVYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGT LTV</u> SS(SEQ ID NO:47)	1.441	97.88
1F3-1E1	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFDD</u> <u>YAMSWVRQAPGKGLEWVSIYPTGSTNYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGT LTVS</u> S(SEQ ID NO:48)	1.643	214.1

1F3-1E10	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFSS</u> <u>YGMSWVRQAPGKGLEWVSRISPYTDNKYYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGLTVTS</u> S(SEQ ID NO:49)	1.545	187.9
1F3-1E4	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFGT</u> <u>YGMSWVRQAPGKGLEWVSRISGDSANIRYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGLTVTS</u> S(SEQ ID NO:50)	1.615	386.4
1F3-1E9	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDD</u> <u>YAMSWVRQAPGKGLEWVSGIKPSSWTTYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGLTVTS</u> S(SEQ ID NO:51)	1.555	192
1F3-1F4	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDIFTGS</u> <u>SMSWVRQAPGKGLEWVSGIYASGSDKRYAD</u> <u>SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAV</u> <u>YYCARAELLAFDVYTASDYWGQGLTVTS</u> (SEQ ID NO:52)	1.421	147.1
1F3-1F8	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFGN</u> <u>YGMSWVRQAPGKGLEWVSRISGDGNSNINYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGLTVTS</u> S(SEQ ID NO:53)	1.671	677
1F3-1G11	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFTG</u> <u>YGMSWVRQAPGKGLEWVSGISPSGGTIGYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGLTVTS</u> S(SEQ ID NO:54)	1.652	417.3
1F3-1G2	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFGD</u> <u>YGMSWVRQAPGKGLEWVSRIDPWGASIRYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGLTVTS</u> S(SEQ ID NO:55)	1.598	164.2
1F3-1G5	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFGS</u> <u>YGMSWVRQAPGKGLEWVSGIKPSTSTTYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGLTVTS</u> S(SEQ ID NO:56)	1.565	122.6
1F3-1G7	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDIFSN</u> <u>YSMSWVRQAPGKGLEWVSGIYPSGDSRRYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGLTVTS</u> S(SEQ ID NO:57)	1.56	198.3
1F3-1H11	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFTD</u> <u>YGMSWVRQAPGKGLEWVSRISQWGDTSNY</u> <u>ADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT</u> <u>AVYYCARAELLAFDVYTASDYWGQGLTVT</u> SS(SEQ ID NO:58)	1.65	162

1F3-1H3	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFYN</u> <u>YGMSWVRQAPGKGLEWVSGIKPHSDVAHY</u> <u>ADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT</u> <u>AVYYCARAELLA FVDVYTASDYWGQGLVTV</u> <u>SS</u> (SEQ ID NO:59)	1.725	313.6
1F3-2A11	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDNFYT</u> <u>FYMSWVRQAPGKGLEWVSGIKPTGSYINYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARAELLA FVDVYTASDYWGQGLVTVS</u> <u>S</u> (SEQ ID NO:60)	1.525	108.6
1F3-2A12	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFDS</u> <u>YGMSWVRQAPGKGLEWVSGIKPTGASTYYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARAELLA FVDVYTASDYWGQGLVTVS</u> <u>S</u> (SEQ ID NO:61)	1.646	264.7
1F3-2B1	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYNFDN</u> <u>YAMSWVRQAPGKGLEWVSGIKPDSATYYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARAELLA FVDVYTASDYWGQGLVTVS</u> <u>S</u> (SEQ ID NO:62)	1.617	268.7
1F3-2B2	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYNFYS</u> <u>YGMSWVRQAPGKGLEWVSIISPDGGYKRYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARAELLA FVDVYTASDYWGQGLVTVS</u> <u>S</u> (SEQ ID NO:63)	1.574	171.7
1F3-2B2-2	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFSD</u> <u>FGMSWVRQAPGKGLEWVSRIDPSGWSTSYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARAELLA FVDVYTASDYWGQGLVTVS</u> <u>S</u> (SEQ ID NO:64)	1.593	217
1F3-2B9	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFDS</u> <u>YAMSWVRQAPGKGLEWVSGIKPHTDDIYYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARAELLA FVDVYTASDYWGQGLVTVS</u> <u>S</u> (SEQ ID NO:65)	1.568	289
1F3-2C6	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDIFTN</u> <u>YSMSWVRQAPGKGLEWVSGIYASGSDKRYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARAELLA FVDVYTASDYWGQGLVTVS</u> <u>S</u> (SEQ ID NO:66)	1.382	65.37
1F3-2C9	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFGG</u> <u>YGMSWVRQAPGKGLEWVSRISPGDSTPRYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARAELLA FVDVYTASDYWGQGLVTVS</u> <u>S</u> (SEQ ID NO:67)	1.586	191.4
1F3-2D2	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFSS</u> <u>YGMSWVRQAPGKGLEWVSRISPYTGTTTHYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARAELLA FVDVYTASDYWGQGLVTVS</u> <u>S</u> (SEQ ID NO:68)	1.589	180.9

1F3-2D8	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFSD</u> <u>YGMSWVRQAPGKGLEWVSRISPSKAVKDYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARAELLA F DVYTASDYWGQGLTVTVS</u> S(SEQ ID NO:69)	1.56	155.8
1F3-2E12	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGNFTN</u> <u>SGMSWVRQAPGKGLEWVSGIKWSSDETYYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARAELLA F DVYTASDYWGQGLTVTVS</u> S(SEQ ID NO:70)	1.519	95.06
1F3-2E8	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFSD</u> <u>YGMSWVRQAPGKGLEWVSWISPSKGSASYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARAELLA F DVYTASDYWGQGLTVTVS</u> S(SEQ ID NO:71)	1.556	209.9
1F3-2F1	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDIFTG</u> <u>YSMSWVRQAPGKGLEWVSGIYQTGSNTRYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARAELLA F DVYTASDYWGQGLTVTVS</u> S(SEQ ID NO:72)	1.025	NA
1F3-2F3	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFSD</u> <u>YGMSWVRQAPGKGLEWVSRIDWDGGNTRY</u> <u>ADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT</u> <u>AVYYCARAELLA F DVYTASDYWGQGLTVTV</u> SS(SEQ ID NO:73)	1.567	325.3
1F3-2F6	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSD</u> <u>YGMSWVRQAPGKGLEWVSRISQYGGGIRYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARAELLA F DVYTASDYWGQGLTVTVS</u> S(SEQ ID NO:74)	1.519	129.4
1F3-2G10	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFNSN</u> <u>YGMSWVRQAPGKGLEWVSRIKPTDGSTHYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARAELLA F DVYTASDYWGQGLTVTVS</u> S(SEQ ID NO:75)	1.54	120.2
1F3-2G9	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGG</u> <u>YGMSWVRQAPGKGLEWVSWISAWDGSIIY</u> <u>ADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT</u> <u>AVYYCARAELLA F DVYTASDYWGQGLTVTV</u> SS(SEQ ID NO:76)	1.38	49.33
1F3-2H12	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDSFDS</u> <u>SGMSWVRQAPGKGLEWVSGIKWITGESYYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARAELLA F DVYTASDYWGQGLTVTVS</u> S(SEQ ID NO:77)	1.59	130.5
1F3-2H6	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFSS</u> <u>YGMSWVRQAPGKGLEWVSRIKSDGGDTHY</u> <u>ADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT</u> <u>AVYYCARAELLA F DVYTASDYWGQGLTVTV</u> SS(SEQ ID NO:78)	1.311	53.49



表 4: 1G8 系列重链可变区序列

克隆编号	VH 序列 (下划线表示根据 Kabat 编号系统确定的 CDR 序列)	OD 值	EC <sub>50</sub>
1G8	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS</u> CAASGFTFSS <u>YAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN</u> SKNTLYLQMNSLRAEDTA <u>VYYCARQTEDRSYGYDL</u> LDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:11)	NA	NA
1G8-1A12	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS</u> CAASGGTFDT <u>NAMSWVRQAPGKGLEWVSAISTGGDNKRY</u> <u>ADSVKGRFTISRDN</u> SKNTLYLQMNSLRAEDT <u>AVYYCARQTEDRSYGYDL</u> LDYWGQGTLVTV SS(SEQ ID NO:79)	1.612	518.8
1G8-1A3	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS</u> CAASGYNFGS <u>YAMSWVRQAPGKGLEWVSRIYPGSWSPDYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN</u> SKNTLYLQMNSLRAEDTA <u>VYYCARQTEDRSYGYDL</u> LDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:80)	1.625	316.4
1G8-1A7	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS</u> CAASGYTFDS <u>YAMSWVRQAPGKGLEWVSRIKTTDDGKSYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN</u> SKNTLYLQMNSLRAEDTA <u>VYYCARQTEDRSYGYDL</u> LDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:81)	1.573	307.6
1G8-1B11	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS</u> CAASGYNFSN <u>YAMSWVRQAPGKGLEWVSAIDASGGDTRY</u> <u>ADSVKGRFTISRDN</u> SKNTLYLQMNSLRAEDT <u>AVYYCARQTEDRSYGYDL</u> LDYWGQGTLVTV SS(SEQ ID NO:82)	1.582	597.6
1G8-1B7	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS</u> CAASGYSFNS <u>YAMSWVRQAPGKGLEWVSRISAWGSTNNY</u> <u>ADSVKGRFTISRDN</u> SKNTLYLQMNSLRAEDT <u>AVYYCARQTEDRSYGYDL</u> LDYWGQGTLVTV SS(SEQ ID NO:83)	1.558	295.9
1G8-1C1	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS</u> CAASGYIFSN <u>YAMSWVRQAPGKGLEWVSRISTGFAGPDYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN</u> SKNTLYLQMNSLRAEDTA <u>VYYCARQTEDRSYGYDL</u> LDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:84)	1.502	294.5
1G8-1C10	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS</u> CAASGFNFSD <u>YSMSWVRQAPGKGLEWVSRIKASSGGSDYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN</u> SKNTLYLQMNSLRAEDTA <u>VYYCARQTEDRSYGYDL</u> LDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:85)	1.606	618.1
1G8-1C12	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS</u> CAASGGSFYG <u>FGMSWVRQAPGKGLEWVSGIYSHDADKRY</u> <u>ADSVKGRFTISRDN</u> SKNTLYLQMNSLRAEDT <u>AVYYCARQTEDRSYGYDL</u> LDYWGQGTLVTV SS(SEQ ID NO:86)	1.415	24.26

1G8-1C8	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFGSS</u> <u>AMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSSDSPRYAD</u> <u>SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAV</u> <u>YYCARQTEDRSYGYDL DYWGQGTLVTVSS</u> (SEQ ID NO:87)	1.591	601.6
1G8-1D11	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDIFTG</u> <u>YAMSWVRQAPGKGLEWVSRIDGTGDSKFYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARQTEDRSYGYDL DYWGQGTLVTVSS</u> (SEQ ID NO:88)	1.591	326.2
1G8-1D7	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSFSN</u> <u>YAMSWVRQAPGKGLEWVSWIDTTSAYASY</u> <u>ADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT</u> <u>AVYYCARQTEDRSYGYDL DYWGQGTLVTV</u> <u>SS(SEQ ID NO:89)</u>	1.491	190.4
1G8-1E10	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDSFST</u> <u>YAMSWVRQAPGKGLEWVSRISGSGDGKDY</u> <u>ADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT</u> <u>AVYYCARQTEDRSYGYDL DYWGQGTLVTV</u> <u>SS(SEQ ID NO:90)</u>	1.602	512.5
1G8-1E12	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFTS</u> <u>YAMSWVRQAPGKGLEWVSRISAHKWDASY</u> <u>ADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT</u> <u>AVYYCARQTEDRSYGYDL DYWGQGTLVTV</u> <u>SS(SEQ ID NO:91)</u>	1.613	272.3
1G8-1E6	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYIFTD</u> <u>YSMSWVRQAPGKGLEWVSRITYTDGW EKDY</u> <u>ADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT</u> <u>AVYYCARQTEDRSYGYDL DYWGQGTLVTV</u> <u>SS(SEQ ID NO:92)</u>	1.481	225
1G8-1E8	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDG</u> <u>YAMSWVRQAPGKGLEWVSRISSYSWNPDYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARQTEDRSYGYDL DYWGQGTLVTVSS</u> (SEQ ID NO:93)	1.546	303.5
1G8-1F11	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDTFSS</u> <u>YAMSWVRQAPGKGLEWVSRISQTGGTTDYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARQTEDRSYGYDL DYWGQGTLVTVSS</u> (SEQ ID NO:94)	1.601	580.7
1G8-1F5	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDIFDT</u> <u>YMSWVRQAPGKGLEWVSRITYTDGSSDYADS</u> <u>VKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVY</u> <u>YCARQTEDRSYGYDL DYWGQGTLVTVSS(SEQ</u> <u>ID NO:95)</u>	1.564	551.9
1G8-1F7	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFYG</u> <u>YAMSWVRQAPGKGLEWVSAIDAIGGNKRYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARQTEDRSYGYDL DYWGQGTLVTVSS</u> (SEQ ID NO:96)	1.576	423

1G8-1G12	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYNFTS</u> <u>SAMSWVRQAPGKGLEWVSRIYSISGNTDYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARQTEDRSYGYDL DYWGQGLTVTVSS</u> (SEQ ID NO:97)	1.546	204.2
1G8-1G3	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFGT</u> <u>YAMSWVRQAPGKGLEWVSRISGISAGTNYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARQTEDRSYGYDL DYWGQGLTVTVSS</u> (SEQ ID NO:98)	1.581	355.4
1G8-1G5	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYNFTT</u> <u>SAMSWVRQAPGKGLEWVSRIYADTA YNDY</u> <u>ADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT</u> <u>AVYYCARQTEDRSYGYDL DYWGQGLTVTV</u> <u>SS(SEQ ID NO:99)</u>	1.482	170.1
1G8-1G9	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFGD</u> <u>FAMSWVRQAPGKGLEWVSRISGDDNASYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARQTEDRSYGYDL DYWGQGLTVTVSS</u> (SEQ ID NO:100)	1.546	348
1G8-1H1	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDTFSG</u> <u>YAMSWVRQAPGKGLEWVSRIYPYSSVRDYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARQTEDRSYGYDL DYWGQGLTVTVSS</u> (SEQ ID NO:101)	1.398	89.93
1G8-1H6	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFSG</u> <u>FAMSWVRQAPGKGLEWVSRITYPTSSESDYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARQTEDRSYGYDL DYWGQGLTVTVSS</u> (SEQ ID NO:102)	1.584	386.9
1G8-2A1	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFDG</u> <u>FAMSWVRQAPGKGLEWVSRISGHDWSSSYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARQTEDRSYGYDL DYWGQGLTVTVSS</u> (SEQ ID NO:103)	1.597	338.7
1G8-2A11	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDSFYN</u> <u>YSMSWVRQAPGKGLEWVSRISSDGWETFYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARQTEDRSYGYDL DYWGQGLTVTVSS</u> (SEQ ID NO:104)	1.538	352.9
1G8-2A4	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDTFSS</u> <u>NAMSWVRQAPGKGLEWVSRIYGGSWDTDY</u> <u>ADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT</u> <u>AVYYCARQTEDRSYGYDL DYWGQGLTVTV</u> <u>SS(SEQ ID NO:105)</u>	1.543	217.4
1G8-2A7	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFSD</u> <u>YAMSWVRQAPGKGLEWVSRISAYGWGKSY</u> <u>ADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT</u> <u>AVYYCARQTEDRSYGYDL DYWGQGLTVTV</u> <u>SS(SEQ ID NO:106)</u>	1.602	311.7

1G8-2B10	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFTN</u> <u>NAMSWVRQAPGKGLEWVSRIDTIGGTSSYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARQTEDRSYGYDL DYWGQGLTVTVSS</u> (SEQ ID NO:107)	1.559	344
1G8-2B12	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDTFGT</u> <u>SSMSWVRQAPGKGLEWVSRIDTWGWYKFY</u> <u>ADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT</u> <u>AVYYCARQTEDRSYGYDL DYWGQGLTVTV</u> <u>SS</u> (SEQ ID NO:108)	1.392	NA
1G8-2B3	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYNFTT</u> <u>SAMSWVRQAPGKGLEWVSRIYQDSSTTDYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARQTEDRSYGYDL DYWGQGLTVTVSS</u> (SEQ ID NO:109)	1.569	396.5
1G8-2B5	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYNFGN</u> <u>YAMSWVRQAPGKGLEWVSRIKSHDSTSHYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARQTEDRSYGYDL DYWGQGLTVTVSS</u> (SEQ ID NO:110)	1.578	NA
1G8-2B6	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGSFGG</u> <u>YAMSWVRQAPGKGLEWVSRIYAYKSENDY</u> <u>ADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT</u> <u>AVYYCARQTEDRSYGYDL DYWGQGLTVTV</u> <u>SS</u> (SEQ ID NO:111)	1.565	225.1
1G8-2C6	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDNFSS</u> <u>YAMSWVRQAPGKGLEWVSRIYGSDSTPDYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARQTEDRSYGYDL DYWGQGLTVTVSS</u> (SEQ ID NO:112)	1.578	615.7
1G8-2C7	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFTN</u> <u>FAMSWVRQAPGKGLEWVSRISQDGGNKNY</u> <u>ADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT</u> <u>AVYYCARQTEDRSYGYDL DYWGQGLTVTV</u> <u>SS</u> (SEQ ID NO:113)	1.585	404.3
1G8-2D11	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFSG</u> <u>NAMSWVRQAPGKGLEWVSRIDGWGSYTDY</u> <u>ADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT</u> <u>AVYYCARQTEDRSYGYDL DYWGQGLTVTV</u> <u>SS</u> (SEQ ID NO:114)	1.53	298.6
1G8-2D4	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYNFGG</u> <u>YAMSWVRQAPGKGLEWVSRI SG TSGNNDYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARQTEDRSYGYDL DYWGQGLTVTVSS</u> (SEQ ID NO:115)	1.577	492.1
1G8-2D6	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFDG</u> <u>YAMSWVRQAPGKGLEWVSRISAHSWNKDY</u> <u>ADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT</u> <u>AVYYCARQTEDRSYGYDL DYWGQGLTVTV</u> <u>SS</u> (SEQ ID NO:116)	1.629	523.9

1G8-2D7	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDSFTS</u> <u>YAMSWVRQAPGKGLEWVSRISADSASPSYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARQTEDRSYGYDL DYWGQGTLVTVSS</u> (SEQ ID NO:117)	1.544	418.6
1G8-2D9	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDIFDG</u> <u>YSMSWVRQAPGKGLEWVSRIDTGGSVKNYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARQTEDRSYGYDL DYWGQGTLVTVSS</u> (SEQ ID NO:118)	1.537	436.6
1G8-2E7	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFGN</u> <u>YAMSWVRQAPGKGLEWVSRISPSTWNIDYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARQTEDRSYGYDL DYWGQGTLVTVSS</u> (SEQ ID NO:119)	1.556	599.5
1G8-2F11	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFGS</u> <u>NAMSWVRQAPGKGLEWVSRISPDSSGISYAD</u> <u>SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAV</u> <u>YYCARQTEDRSYGYDL DYWGQGTLVTVSS</u> (SEQ ID NO:120)	1.574	617
1G8-2F2	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDIFGS</u> <u>YAMSWVRQAPGKGLEWVSRIS SHGASRDYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARQTEDRSYGYDL DYWGQGTLVTVSS</u> (SEQ ID NO:121)	1.599	566.8
1G8-2F9	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSF SN</u> <u>YAMSWVRQAPGKGLEWVSRISAWGSTNNY</u> <u>ADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT</u> <u>AVYYCARQTEDRSYGYDL DYWGQGTLVTV</u> <u>SS(SEQ ID NO:122)</u>	1.565	358.8
1G8-2G12	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSN</u> <u>NAMSWVRQAPGKGLEWVSAIYASTDGRSYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARQTEDRSYGYDL DYWGQGTLVTVSS</u> (SEQ ID NO:123)	1.505	300.9
1G8-2G3	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFIFGG</u> <u>NAMSWVRQAPGKGLEWVSRIS SDKGTTNYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARQTEDRSYGYDL DYWGQGTLVTVSS</u> (SEQ ID NO:124)	1.583	272.1
1G8-2G4	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGG</u> <u>YSMSWVRQAPGKGLEWVSRISTDGAYTN YA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARQTEDRSYGYDL DYWGQGTLVTVSS</u> (SEQ ID NO:125)	1.58	311.9
1G8-2G7	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGTFYT</u> <u>YAMSWVRQAPGKGLEWVSR IYSTKGTPDYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARQTEDRSYGYDL DYWGQGTLVTVSS</u> (SEQ ID NO:126)	1.489	136

1G8-2G8	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS</u> <u>CAASGFNFTN</u> <u>YAMSWVRQAPGKGLEWVSRI</u> <u>STYGDTTHYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN</u> <u>SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARQTE</u> <u>DRSYGYDL</u> <u>DYWGQGTLVTVSS</u> (SEQ ID NO:127)	1.584	370.9
1G8-2G9	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS</u> <u>CAASGYIFTN</u> <u>YAMSWVRQAPGKGLEWVSRI</u> <u>SQSGGTNDYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN</u> <u>SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARQTE</u> <u>DRSYGYDL</u> <u>DYWGQGTLVTVSS</u> (SEQ ID NO:128)	1.545	285.1
1G8-2H1	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS</u> <u>CAASGYSFY</u> <u>S</u> <u>YAMSWVRQAPGKGLEWVSRI</u> <u>SQGGGVTHY</u> <u>ADSVKGRFTISRDN</u> <u>SKNTLYLQMNSLRAEDT</u> <u>AVYYCARQTE</u> <u>DRSYGYDL</u> <u>DYWGQGTLVTV</u> <u>SS</u> (SEQ ID NO:129)	1.585	277.5
1G8-2H10	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS</u> <u>CAASGYNFTN</u> <u>SAMSWVRQAPGKGLEWVSSI</u> <u>YYHSGVPRYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN</u> <u>SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARQTE</u> <u>DRSYGYDL</u> <u>DYWGQGTLVTVSS</u> (SEQ ID NO:130)	1.535	214.2
1G8-2H11	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS</u> <u>CAASGFNFDN</u> <u>YAMSWVRQAPGKGLEWVSRI</u> <u>YGWDWYASY</u> <u>ADSVKGRFTISRDN</u> <u>SKNTLYLQMNSLRAEDT</u> <u>AVYYCARQTE</u> <u>DRSYGYDL</u> <u>DYWGQGTLVTV</u> <u>SS</u> (SEQ ID NO:131)	1.347	NA
1G8-2H3	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS</u> <u>CAASGYSFGG</u> <u>YAMSWVRQAPGKGLEWVSRI</u> <u>SGIKAYNDYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN</u> <u>SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARQTE</u> <u>DRSYGYDL</u> <u>DYWGQGTLVTVSS</u> (SEQ ID NO:132)	1.531	208.9
1G8-2H4	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS</u> <u>CAASGDSFTG</u> <u>YAMSWVRQAPGKGLEWVSAI</u> <u>SGSGGSTYYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN</u> <u>SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARQTE</u> <u>DRSYGYDL</u> <u>DYWGQGTLVTVSS</u> (SEQ ID NO:133)	1.578	440.5
1G8-2H8	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS</u> <u>CAASGDIFGS</u> <u>YAMSWVRQAPGKGLEWVSAI</u> <u>SGSGGSTYYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN</u> <u>SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARQTE</u> <u>DRSYGYDL</u> <u>DYWGQGTLVTVSS</u> (SEQ ID NO:134)	1.574	487.2
1G8-2H9	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS</u> <u>CAASGFNFGN</u> <u>YAMSWVRQAPGKGLEWVSAI</u> <u>YSYFDEPRYA</u> <u>DSVKGRFTISRDN</u> <u>SKNTLYLQMNSLRAEDTA</u> <u>VYYCARQTE</u> <u>DRSYGYDL</u> <u>DYWGQGTLVTVSS</u> (SEQ ID NO:135)	1.459	176.2

表 5: 10F4 系列重链可变区序列

克隆编号	VH 序列(下划线表示根据 Kabat 编号系统确定的 CDR 序列)	OD 值
------	-------------------------------------	------

10F4	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMS</u> <u>WVRQAPGKGLEWVSAISGGSTYYADSVKGRFTI</u> <u>SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVV</u> <u>DYVSVRTPLDYWGQGLVTVSS(SEQ ID NO:15)</u>	
10F4-1A1	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFDNYDMS</u> <u>WVRQAPGKGLEWVSSIKPGSAYKFYADSVKGRFTI</u> <u>SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVV</u> <u>DYVSVRTPLDYWGQGLVTVSS(SEQ ID NO:136)</u>	1.691
10F4-1A3	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFSDNYDMS</u> <u>WVRQAPGKGLEWVSGIKGWKSYTGYADSVKGRF</u> <u>TISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDV</u> <u>VDYVSVRTPLDYWGQGLVTVSS(SEQ ID NO:137)</u>	1.534
10F4-1B2	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFGNYWMS</u> <u>WVRQAPGKGLEWVSGIDGHSSYAFYADSVKGRFTI</u> <u>SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVV</u> <u>DYVSVRTPLDYWGQGLVTVSS(SEQ ID NO:138)</u>	1.635
10F4-1B5	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFTDYWM</u> <u>SWVRQAPGKGLEWVSSIIGDDSTNHYADSVKGRFT</u> <u>ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVV</u> <u>DYVSVRTPLDYWGQGLVTVSS(SEQ ID NO:139)</u>	1.526
10F4-1B7	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFSGFDMS</u> <u>WVRQAPGKGLEWVSGIKAYKSTADYADSVKGRFT</u> <u>ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVV</u> <u>DYVSVRTPLDYWGQGLVTVSS(SEQ ID NO:140)</u>	1.605
10F4-1B9	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFNYYMS</u> <u>WVRQAPGKGLEWVSSIIYQTDASIFYADSVKGRFTIS</u> <u>RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVD</u> <u>YVSVRTPLDYWGQGLVTVSS(SEQ ID NO:141)</u>	1.503
10F4-1C3	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFSDYWMS</u> <u>WVRQAPGKGLEWVSSIKQTGGVKHYADSVKGRFT</u> <u>ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVV</u> <u>DYVSVRTPLDYWGQGLVTVSS(SEQ ID NO:142)</u>	1.586
10F4-1C4	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFTDYWM</u> <u>SWVRQAPGKGLEWVSSIIGDDSTNHYADSVKGRFT</u> <u>ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVV</u> <u>DYVSVRTPLDYWGQGLVTVSS(SEQ ID NO:143)</u>	1.458
10F4-1C7	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDSFDNYWM</u> <u>SWVRQAPGKGLEWVSAIDTHSDNSFYADSVKGRF</u> <u>TISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDV</u> <u>VDYVSVRTPLDYWGQGLVTVSS(SEQ ID NO:144)</u>	1.573
10F4-1C10	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYNFGSYDMS</u> <u>WVRQAPGKGLEWVSGIKTYGGNTHYADSVKGRFT</u> <u>ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVV</u> <u>DYVSVRTPLDYWGQGLVTVSS(SEQ ID NO:145)</u>	1.518
10F4-1D3	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFYDYDMS</u> <u>WVRQAPGKGLEWVSSIIQSGSTAFYADSVKGRFTIS</u> <u>RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVD</u> <u>YVSVRTPLDYWGQGLVTVSS(SEQ ID NO:146)</u>	1.521
10F4-1D11	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFIFSDFDMS</u> <u>WVRQAPGKGLEWVSGIKOSSAGINYADSVKGRFTI</u>	1.46

	<u>SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVV</u> <u>DYVSVRTPLDYWGQGLVTVSS(SEQ ID NO:147)</u>	
10F4-1E1	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDIFGNYWMS</u> <u>WVRQAPGKGLEWVSSIDASSGNRFYADSVKGRFTI</u> <u>SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVV</u> <u>DYVSVRTPLDYWGQGLVTVSS(SEQ ID NO:148)</u>	1.627
10F4-1E10	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDTFDYAMS</u> <u>WVRQAPGKGLEWVSGISQWGAYASYADSVKGRFT</u> <u>ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVV</u> <u>DYVSVRTPLDYWGQGLVTVSS(SEQ ID NO:149)</u>	1.289
10F4-1E12	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYNFSSYDMS</u> <u>WVRQAPGKGLEWVSGISDTGDYANYADSVKGRFT</u> <u>ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVV</u> <u>DYVSVRTPLDYWGQGLVTVSS(SEQ ID NO:150)</u>	1.521
10F4-1F1	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSNYWMS</u> <u>WVRQAPGKGLEWVSAISPGDGTIFYADSVKGRFTIS</u> <u>RDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVD</u> <u>YVSVRTPLDYWGQGLVTVSS(SEQ ID NO:151)</u>	1.632
10F4-1F2	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYNFTNYMMS</u> <u>WVRQAPGKGLEWVSSISAYS DN RNYADSVKGRFTI</u> <u>SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVV</u> <u>DYVSVRTPLDYWGQGLVTVSS(SEQ ID NO:152)</u>	1.397
10F4-1F8	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTDYDMS</u> <u>WVRQAPGKGLEWVSSIITDGGGAFYADSVKGRFTI</u> <u>SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVV</u> <u>DYVSVRTPLDYWGQGLVTVSS(SEQ ID NO:153)</u>	1.492
10F4-1F9	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFGGFDMS</u> <u>WVRQAPGKGLEWVSGIKTYGGYRSYADSVKGRFT</u> <u>ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVV</u> <u>DYVSVRTPLDYWGQGLVTVSS(SEQ ID NO:154)</u>	1.484
10F4-1G5	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFDSSWMS</u> <u>WVRQAPGKGLEWVSSIDAYGDYNFYADSVKGRFT</u> <u>ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVV</u> <u>DYVSVRTPLDYWGQGLVTVSS(SEQ ID NO:155)</u>	1.408
10F4-1G7	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYNFGDYDM</u> <u>SWVRQAPGKGLEWVSSIIHGDKFYADSVKGRFT</u> <u>ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVV</u> <u>DYVSVRTPLDYWGQGLVTVSS(SEQ ID NO:156)</u>	1.545
10F4-1G8	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFSDFDMS</u> <u>WVRQAPGKGLEWVSVIKPSGDYINYADSVKGRFTI</u> <u>SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVV</u> <u>DYVSVRTPLDYWGQGLVTVSS(SEQ ID NO:157)</u>	1.52
10F4-1H1	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFGNFDMS</u> <u>WVRQAPGKGLEWVSGIKQYKGYTSYADSVKGRFT</u> <u>ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVV</u> <u>DYVSVRTPLDYWGQGLVTVSS(SEQ ID NO:158)</u>	1.611
10F4-1H4	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFTNYWM</u> <u>SWVRQAPGKGLEWVSAISGTGGYTYADSVKGRF</u> <u>TISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDV</u> <u>VDYVSVRTPLDYWGQGLVTVSS(SEQ ID NO:159)</u>	1.375



10F4-1H6	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS</u> <u>CAASGFNFYDYDMS</u> <u>WVRQAPGKGLEWVSGIKTHSGGNGYADSVKGRFT</u> <u>ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVV</u> <u>DYVSVRTPLDYWGQGT</u> <u>LVTVSS</u> (SEQ ID NO:160)	1.478
10F4-1H7	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS</u> <u>CAASGYSFDTYDMS</u> <u>WVRQAPGKGLEWVSGIKQYKGYTSYADSVKGRFT</u> <u>ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVV</u> <u>DYVSVRTPLDYWGQGT</u> <u>LVTVSS</u> (SEQ ID NO:161)	1.49
10F4-1H11	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS</u> <u>CAASGYTFTGFWMS</u> <u>WVRQAPGKGLEWVSSISPDSGTKHYADSVKGRFTI</u> <u>SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVV</u> <u>DYVSVRTPLDYWGQGT</u> <u>LVTVSS</u> (SEQ ID NO:162)	1.562
10F4-2A1	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS</u> <u>CAASGYTFDDYDMS</u> <u>WVRQAPGKGLEWVSGIKAHSDNKRYADSVKGRFT</u> <u>ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVV</u> <u>DYVSVRTPLDYWGQGT</u> <u>LVTVSS</u> (SEQ ID NO:163)	1.758
10F4-2A5	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS</u> <u>CAASGYSFTDYDMS</u> <u>WVRQAPGKGLEWVSGIKTYKSDARYADSVKGRFT</u> <u>ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVV</u> <u>DYVSVRTPLDYWGQGT</u> <u>LVTVSS</u> (SEQ ID NO:164)	1.59
10F4-2A9	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS</u> <u>CAASGYTFTDYDMS</u> <u>WVRQAPGKGLEWVSGIKQYKGYTSYADSVKGRFT</u> <u>ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVV</u> <u>DYVSVRTPLDYWGQGT</u> <u>LVTVSS</u> (SEQ ID NO:165)	1.567
10F4-2B11	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS</u> <u>CAASGGSFTNYWM</u> <u>SWVRQAPGKGLEWVSVIDSTGSRNFYADSVKGRFT</u> <u>ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVV</u> <u>DYVSVRTPLDYWGQGT</u> <u>LVTVSS</u> (SEQ ID NO:166)	1.548
10F4-2C2	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS</u> <u>CAASGFNFNSNYWMS</u> <u>WVRQAPGKGLEWVSVIDAHSANIRYADSVKGRFTI</u> <u>SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVV</u> <u>DYVSVRTPLDYWGQGT</u> <u>LVTVSS</u> (SEQ ID NO:167)	1.584
10F4-2C4	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS</u> <u>CAASGYSFGDYWM</u> <u>SWVRQAPGKGLEWVSVIDSGSGNKRYADSVKGRF</u> <u>TISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDV</u> <u>VDYVSVRTPLDYWGQGT</u> <u>LVTVSS</u> (SEQ ID NO:168)	1.534
10F4-2C6	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS</u> <u>CAASGFNFGFDMS</u> <u>WVRQAPGKGLEWVSGIKQYKGYTSYADSVKGRFT</u> <u>ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVV</u> <u>DYVSVRTPLDYWGQGT</u> <u>LVTVSS</u> (SEQ ID NO:169)	1.517
10F4-2C12	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS</u> <u>CAASGYNFGDYSMS</u> <u>WVRQAPGKGLEWVSVIDTTSAYTRYADSVKGRFTI</u> <u>SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVV</u> <u>DYVSVRTPLDYWGQGT</u> <u>LVTVSS</u> (SEQ ID NO:170)	1.447
10F4-2E1	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS</u> <u>CAASGFTFTTYDMS</u> <u>WVRQAPGKGLEWVSGIKYSKYTYHYADSVKGRFT</u> <u>ISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVV</u> <u>DYVSVRTPLDYWGQGT</u> <u>LVTVSS</u> (SEQ ID NO:171)	1.596
10F4-2E4	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS</u> <u>CAASGYTFDSYWM</u> <u>SWVRQAPGKGLEWVSAIDGTDSVAYYADSVKGRF</u>	1.429

	TISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDV VDYVSVRTPLDYWGQGLTVTVSS(SEQ ID NO:172)	
10F4-2E6	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFSFGDYWMS WVRQAPGKGLEWVSAIDQ GKATSFYADSVKGRFTI SRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVV DYVSVRTPLDYWGQGLTVTVSS(SEQ ID NO:173)	1.454
10F4-2E8	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFNFGNYDMS WVRQAPGKGLEWVSSIIPHG DYSFYADSVKGRFTIS RDNSKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVVD YVSVRTPLDYWGQGLTVTVSS(SEQ ID NO:174)	1.376
10F4-2F11	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGYNFTSYDMS WVRQAPGKGLEWVSGIKTGGGSARYADSVKGRFT ISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVV DYVSVRTPLDYWGQGLTVTVSS(SEQ ID NO:175)	1.455
10F4-2G2	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGYNFTDYDMS WVRQAPGKGLEWVSSIIASGSGNYYADSVKGRFTI SRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVV DYVSVRTPLDYWGQGLTVTVSS(SEQ ID NO:176)	1.485
10F4-2H5	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGYIFTNYWMS WVRQAPGKGLEWVSSIDQSGNIFYADSVKGRFTI SRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVV DYVSVRTPLDYWGQGLTVTVSS(SEQ ID NO:177)	1.442
10F4-1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGDSFTNYWM SWVRQAPGKGLEWVSGISQGGSYAAYADSVKGRF TISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDV VDYVSVRTPLDYWGQGLTVTVSS(SEQ ID NO:178)	1.389
10F4-3	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFSFGDFAMS WVRQAPGKGLEWVSVIDGHTAYNSYADSVKGRFT ISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVV DYVSVRTPLDYWGQGLTVTVSS(SEQ ID NO:179)	1.325
10F4-5	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFIFDGYDMS WVRQAPGKGLEWVSVIKDHGGYKFYADSVKGRFT ISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVV DYVSVRTPLDYWGQGLTVTVSS(SEQ ID NO:180)	1.308

NA 表示未检测

表 6: 1F3 系列重链可变区的 CDR 序列

编号	HCDR1					HCDR2											HCDR3	
1F3	S	Y	A	MS	SEQ ID NO:8	A	I	S	G	S	G	G	S	T	Y	YADS VKG	SEQ ID NO:9	AELLAF DVYTAS DY (SEQ ID NO:14)
1F3-1A9	N	Y	A	MS	SEQ ID NO:181	R	I	S	P	T	G	G	Y	A	S	YADS VKG	SEQ ID NO:196	
1F3-1B1	T	Y	G	MS	SEQ ID NO:182	G	I	K	P	G	D	S	T	T	Y	YADS VKG	SEQ ID NO:197	
1F3-1C11	S	Y	G	MS	SEQ ID NO:183	A	I	S	G	S	G	G	S	T	Y	YADS VKG	SEQ ID NO:9	
1F3-1C4	D	Y	G	MS	SEQ ID NO:184	G	I	K	P	W	G	S	G	T	Y	YADS VKG	SEQ ID NO:199	
1F3-1D1	N	Y	S	MS	SEQ ID NO:185	G	I	Y	P	S	G	D	N	N	R	YADS VKG	SEQ ID NO:200	
1F3-1D12	D	Y	G	MS	SEQ ID NO:184	G	I	S	G	S	G	D	N	K	Y	YADS VKG	SEQ ID NO:201	
1F3-1D6	G	F	G	MS	SEQ ID NO:186	G	I	Y	S	H	D	A	D	K	R	YADS VKG	SEQ ID NO:202	

编号	HCDR1					HCDR2												HCDR3
	D	Y	A	MS	SEQ ID NO:187	I	I	Y	P	T	G	S	T	N	Y	YADS VKG	SEQ ID NO:203	
1F3-1E1	D	Y	A	MS	SEQ ID NO:187	I	I	Y	P	T	G	S	T	N	Y	YADS VKG	SEQ ID NO:203	
1F3-1E10	S	Y	G	MS	SEQ ID NO:183	R	I	S	P	Y	T	D	N	K	Y	YADS VKG	SEQ ID NO:204	
1F3-1E4	T	Y	G	MS	SEQ ID NO:182	R	I	S	G	D	S	A	N	I	R	YADS VKG	SEQ ID NO:205	
1F3-1E9	D	Y	A	MS	SEQ ID NO:187	G	I	K	P	S	S	W	T	T	Y	YADS VKG	SEQ ID NO:206	
1F3-1F4	G	S	S	MS	SEQ ID NO:188	G	I	Y	A	S	G	S	D	K	R	YADS VKG	SEQ ID NO:207	
1F3-1F8	N	Y	G	MS	SEQ ID NO:189	R	I	S	G	D	G	S	N	I	N	YADS VKG	SEQ ID NO:208	
1F3-1G11	G	Y	G	MS	SEQ ID NO:190	G	I	S	P	S	G	G	T	I	G	YADS VKG	SEQ ID NO:209	
1F3-1G2	D	Y	G	MS	SEQ ID NO:184	R	I	D	P	W	G	A	S	I	R	YADS VKG	SEQ ID NO:210	
1F3-1G5	S	Y	G	MS	SEQ ID NO:183	G	I	K	P	S	T	S	T	T	Y	YADS VKG	SEQ ID NO:211	
1F3-1G7	N	Y	S	MS	SEQ ID NO:185	G	I	Y	P	S	G	D	S	R	R	YADS VKG	SEQ ID NO:212	
1F3-1H11	D	Y	G	MS	SEQ ID NO:184	R	I	S	Q	W	G	D	T	S	N	YADS VKG	SEQ ID NO:213	
1F3-1H3	N	Y	G	MS	SEQ ID NO:189	G	I	K	P	H	S	D	V	A	H	YADS VKG	SEQ ID NO:214	
1F3-2A11	T	F	Y	MS	SEQ ID NO:191	G	I	K	P	T	G	S	Y	I	N	YADS VKG	SEQ ID NO:215	
1F3-2A12	S	Y	G	MS	SEQ ID NO:183	G	I	K	P	T	G	A	S	T	Y	YADS VKG	SEQ ID NO:216	
1F3-2B1	N	Y	A	MS	SEQ ID NO:181	G	I	K	P	D	S	A	T	T	Y	YADS VKG	SEQ ID NO:217	
1F3-2B2	S	Y	G	MS	SEQ ID NO:183	I	I	S	P	D	G	G	Y	K	R	YADS VKG	SEQ ID NO:218	
1F3-2B2-2	D	F	G	MS	SEQ ID NO:192	R	I	D	P	S	G	W	S	T	S	YADS VKG	SEQ ID NO:219	
1F3-2B9	S	Y	A	MS	SEQ ID NO:8	G	I	K	P	H	T	D	D	I	Y	YADS VKG	SEQ ID NO:220	
1F3-2C6	N	Y	S	MS	SEQ ID NO:185	G	I	Y	A	S	G	S	D	K	R	YADS VKG	SEQ ID NO:207	
1F3-2C9	G	Y	G	MS	SEQ ID NO:190	R	I	S	P	G	D	S	T	P	R	YADS VKG	SEQ ID NO:222	
1F3-2D2	S	Y	G	MS	SEQ ID NO:183	R	I	S	P	Y	T	G	T	T	H	YADS VKG	SEQ ID NO:223	
1F3-2D8	D	Y	G	MS	SEQ ID NO:184	R	I	S	P	S	K	A	V	K	D	YADS VKG	SEQ ID NO:224	
1F3-2E12	N	S	G	MS	SEQ ID NO:193	G	I	K	W	S	S	D	E	T	Y	YADS VKG	SEQ ID NO:225	
1F3-2E8	D	Y	G	MS	SEQ ID NO:184	W	I	S	P	S	K	G	S	A	S	YADS VKG	SEQ ID NO:226	
1F3-2F1	G	Y	S	MS	SEQ ID NO:194	G	I	Y	Q	T	G	S	N	T	R	YADS VKG	SEQ ID NO:227	
1F3-2F3	D	Y	G	MS	SEQ ID NO:184	R	I	D	W	D	G	G	N	T	R	YADS VKG	SEQ ID NO:228	
1F3-2F6	D	Y	G	MS	SEQ ID NO:184	R	I	S	Q	Y	G	G	G	I	R	YADS VKG	SEQ ID NO:229	
1F3-2G10	N	Y	G	MS	SEQ ID NO:189	R	I	K	P	T	D	G	S	T	H	YADS VKG	SEQ ID NO:230	
1F3-2G9	G	Y	G	MS	SEQ ID NO:190	W	I	S	A	W	D	G	S	I	Y	YADS VKG	SEQ ID NO:231	
1F3-2H12	S	S	G	MS	SEQ ID NO:195	G	I	K	W	I	T	G	E	S	Y	YADS VKG	SEQ ID NO:198	
1F3-2H6	S	Y	G	MS	SEQ ID NO:183	R	I	K	S	D	G	G	D	T	H	YADS VKG	SEQ ID NO:221	

表7：1G8系列重链可变区的CDR序列

编号	HCDR1					HCDR2												HCDR3
	S	Y	A	MS	SEQ ID NO:8	A	I	S	G	S	G	G	S	T	Y	YADS VKG	SEQ ID NO:9	
1G8	S	Y	A	MS	SEQ ID NO:8	A	I	S	G	S	G	G	S	T	Y	YADS VKG	SEQ ID NO:9	
1G8-1A12	T	N	A	MS	SEQ ID	A	I	S	T	G	G	D	N	K	R	YADS	SEQ ID	

编号	HCDR1					HCDR2											HCDR3		
					NO:234												VKG	NO:251	NO:12
1G8-1A3	S	Y	A	MS	SEQ ID NO:8	R	I	Y	P	G	S	W	S	P	D	YADS VKG	SEQ ID NO:252		
1G8-1A7	S	Y	A	MS	SEQ ID NO:8	R	I	K	T	T	D	D	G	K	S	YADS VKG	SEQ ID NO:253		
1G8-1B11	N	Y	A	MS	SEQ ID NO:181	A	I	D	A	S	G	G	D	T	R	YADS VKG	SEQ ID NO:254		
1G8-1B7	N	Y	A	MS	SEQ ID NO:181	R	I	S	A	W	G	S	T	N	N	YADS VKG	SEQ ID NO:255		
1G8-1C1	N	Y	A	MS	SEQ ID NO:181	R	I	S	T	G	F	A	G	P	D	YADS VKG	SEQ ID NO:256		
1G8-1C10	D	Y	S	MS	SEQ ID NO:235	R	I	K	A	S	S	G	G	S	D	YADS VKG	SEQ ID NO:257		
1G8-1C12	G	F	G	MS	SEQ ID NO:186	G	I	Y	S	H	D	A	D	K	R	YADS VKG	SEQ ID NO:202		
1G8-1C8	S	S	A	MS	SEQ ID NO:236	A	I	S	G	S	S	D	S	P	R	YADS VKG	SEQ ID NO:258		
1G8-1D11	G	Y	A	MS	SEQ ID NO:237	R	I	D	G	T	G	D	S	K	F	YADS VKG	SEQ ID NO:259		
1G8-1D7	N	Y	A	MS	SEQ ID NO:181	W	I	D	T	T	S	A	Y	A	S	YADS VKG	SEQ ID NO:260		
1G8-1E10	T	Y	A	MS	SEQ ID NO:238	R	I	S	G	S	G	D	G	K	D	YADS VKG	SEQ ID NO:261		
1G8-1E12	S	Y	A	MS	SEQ ID NO:8	R	I	S	A	H	K	W	D	A	S	YADS VKG	SEQ ID NO:262		
1G8-1E6	D	Y	S	MS	SEQ ID NO:235	R	I	Y	T	D	G	W	E	K	D	YADS VKG	SEQ ID NO:263		
1G8-1E8	G	Y	A	MS	SEQ ID NO:237	R	I	S	S	Y	S	W	N	P	D	YADS VKG	SEQ ID NO:264		
1G8-1F11	S	Y	A	MS	SEQ ID NO:8	R	I	S	Q	T	G	G	T	T	D	YADS VKG	SEQ ID NO:265		
1G8-1F5	T	Y		MS	SEQ ID NO:239	R	I	Y	T	D	G		S	S	D	YADS VKG	SEQ ID NO:266		
1G8-1F7	G	Y	A	MS	SEQ ID NO:237	A	I	D	A	I	G	G	N	K	R	YADS VKG	SEQ ID NO:267		
1G8-1G12	S	S	A	MS	SEQ ID NO:236	R	I	Y	S	I	S	G	N	T	D	YADS VKG	SEQ ID NO:268		
1G8-1G3	T	Y	A	MS	SEQ ID NO:238	R	I	S	G	I	S	A	G	T	N	YADS VKG	SEQ ID NO:269		
1G8-1G5	T	S	A	MS	SEQ ID NO:240	R	I	Y	A	D	T	A	Y	N	D	YADS VKG	SEQ ID NO:270		
1G8-1G9	D	F	A	MS	SEQ ID NO:241	R	I	Y	S	G	D	D	N	A	S	YADS VKG	SEQ ID NO:271		
1G8-1H1	G	Y	A	MS	SEQ ID NO:237	R	I	Y	P	Y	S	S	V	R	D	YADS VKG	SEQ ID NO:272		
1G8-1H6	G	F	A	MS	SEQ ID NO:242	R	I	Y	P	T	S	S	E	S	D	YADS VKG	SEQ ID NO:273		
1G8-2A1	G	F	A	MS	SEQ ID NO:242	R	I	S	G	H	D	W	S	S	S	YADS VKG	SEQ ID NO:274		
1G8-2A11	N	Y	S	MS	SEQ ID NO:185	R	I	S	S	D	G	W	E	T	F	YADS VKG	SEQ ID NO:275		
1G8-2A4	S	N	A	MS	SEQ ID NO:243	R	I	Y	G	G	S	W	D	T	D	YADS VKG	SEQ ID NO:276		
1G8-2A7	D	Y	A	MS	SEQ ID NO:187	R	I	S	A	Y	G	W	G	K	S	YADS VKG	SEQ ID NO:277		
1G8-2B10	N	N	A	MS	SEQ ID NO:244	R	I	D	T	I	G	G	T	S	S	YADS VKG	SEQ ID NO:278		
1G8-2B12	T	S	S	MS	SEQ ID NO:245	R	I	D	T	W	G	W	Y	K	F	YADS VKG	SEQ ID NO:279		
1G8-2B3	T	S	A	MS	SEQ ID NO:240	R	I	Y	Q	D	S	S	T	T	D	YADS VKG	SEQ ID NO:280		
1G8-2B5	N	Y	A	MS	SEQ ID NO:181	R	I	K	S	H	D	S	T	S	H	YADS VKG	SEQ ID NO:281		
1G8-2B6	G	Y	A	MS	SEQ ID NO:237	R	I	Y	A	Y	K	S	E	N	D	YADS VKG	SEQ ID NO:282		
1G8-2C6	S	Y	A	MS	SEQ ID NO:8	R	I	Y	G	S	D	S	T	P	D	YADS VKG	SEQ ID NO:283		
1G8-2C7	N	F	A	MS	SEQ ID NO:246	R	I	S	Q	D	G	G	N	K	N	YADS VKG	SEQ ID NO:284		

编号	HCDR1					HCDR2												HCDR3	
1G8-2D11	G	N	A	MS	SEQ ID NO:247	R	I	D	G	W	G	S	Y	T	D	YADS VKG	SEQ ID NO:285		
1G8-2D4	G	Y	A	MS	SEQ ID NO:237	R	I	S	G	T	S	G	N	N	D	YADS VKG	SEQ ID NO:286		
1G8-2D6	G	Y	A	MS	SEQ ID NO:237	R	I	S	A	H	S	W	N	K	D	YADS VKG	SEQ ID NO:287		
1G8-2D7	S	Y	A	MS	SEQ ID NO:8	R	I	S	A	D	S	A	S	P	S	YADS VKG	SEQ ID NO:288		
1G8-2D9	G	Y	S	MS	SEQ ID NO:194	R	I	D	T	G	G	S	V	K	N	YADS VKG	SEQ ID NO:289		
1G8-2E7	N	Y	A	MS	SEQ ID NO:181	R	I	S	P	S	T	W	N	I	D	YADS VKG	SEQ ID NO:290		
1G8-2F11	S	N	A	MS	SEQ ID NO:243	R	I	S	P	D	S	S	G	I	S	YADS VKG	SEQ ID NO:291		
1G8-2F2	S	Y	A	MS	SEQ ID NO:8	R	I	S	S	H	G	A	S	R	D	YADS VKG	SEQ ID NO:292		
1G8-2F9	N	Y	A	MS	SEQ ID NO:181	R	I	S	A	W	G	S	T	N	N	YADS VKG	SEQ ID NO:255		
1G8-2G12	N	N	A	MS	SEQ ID NO:244	A	I	Y	A	S	T	D	G	R	S	YADS VKG	SEQ ID NO:293		
1G8-2G3	G	N	A	MS	SEQ ID NO:247	R	I	S	S	D	K	G	T	T	N	YADS VKG	SEQ ID NO:294		
1G8-2G4	G	Y	S	MS	SEQ ID NO:194	R	I	S	T	D	G	A	Y	T	N	YADS VKG	SEQ ID NO:295		
1G8-2G7	T	Y	A	MS	SEQ ID NO:238	R	I	Y	S	T	K	G	T	P	D	YADS VKG	SEQ ID NO:296		
1G8-2G8	N	Y	A	MS	SEQ ID NO:181	R	I	S	T	Y	G	D	T	T	H	YADS VKG	SEQ ID NO:297		
1G8-2G9	N	Y	A	MS	SEQ ID NO:181	R	I	S	Q	S	G	G	T	N	D	YADS VKG	SEQ ID NO:298		
1G8-2H1	S	Y	A	MS	SEQ ID NO:8	R	I	S	Q	G	G	G	V	T	H	YADS VKG	SEQ ID NO:299		
1G8-2H10	N	S	A	MS	SEQ ID NO:248	S	I	Y	Y	H	S	G	V	P	R	YADS VKG	SEQ ID NO:300		
1G8-2H11	N	Y	A	MS	SEQ ID NO:181	R	I	Y	G	W	D	W	Y	A	S	YADS VKG	SEQ ID NO:301		
1G8-2H3	G	Y	A	MS	SEQ ID NO:237	R	I	S	G	I	K	A	Y	N	D	YADS VKG	SEQ ID NO:302		
1G8-2H4	G	Y	A	MS	SEQ ID NO:237	A	I	S	G	S	G	G	S	T	Y	YADS VKG	SEQ ID NO:9		
1G8-2H8	S	Y	A	MS	SEQ ID NO:8	A	I	S	G	S	G	G	S	T	Y	YADS VKG	SEQ ID NO:9		
1G8-2H9	N	Y	A	MS	SEQ ID NO:181	A	I	Y	S	Y	F	D	E	P	R	YADS VKG	SEQ ID NO:303		

表 8：10F4 系列重链可变区的 CDR 序列

编号	HCDR1					HCDR2												HCDR3	
10F4	S	Y	A	MS	SEQ ID NO: 8	A	I	S	G	S	G	G	S	T	Y	YADS VKG	SEQ ID NO:9		
10F4-1A1	N	Y	D	MS	SEQ ID NO:304	S	I	K	P	G	S	A	Y	K	F	YADS VKG	SEQ ID NO:318		
10F4-1A3	N	Y	D	MS	SEQ ID NO:304	G	I	K	G	W	K	S	Y	T	G	YADS VKG	SEQ ID NO:319		
10F4-1B2	N	Y	W	MS	SEQ ID NO:305	G	I	D	G	H	S	S	Y	A	F	YADS VKG	SEQ ID NO:320		
10F4-1B5	D	Y	W	MS	SEQ ID NO:306	S	I	I	G	D	D	S	T	N	H	YADS VKG	SEQ ID NO:321		
10F4-1B7	G	F	D	MS	SEQ ID NO:307	G	I	K	A	Y	K	S	T	A	D	YADS VKG	SEQ ID NO:322		
10F4-1B9	N	Y	Y	MS	SEQ ID NO:308	S	I	Y	Q	T	D	A	S	I	F	YADS VKG	SEQ ID NO:323		
10F4-1C3	D	Y	W	MS	SEQ ID NO:306	S	I	K	Q	T	G	G	V	K	H	YADS VKG	SEQ ID NO:324		
10F4-1C4	D	Y	W	MS	SEQ ID NO:306	S	I	I	G	D	D	S	T	N	H	YADS VKG	SEQ ID NO:321		
10F4-1C7	N	Y	W	MS	SEQ ID NO:305	A	I	D	T	H	S	D	N	S	F	YADS VKG	SEQ ID NO:325		

EYSDVVDYV  
SVRTPLDY  
SEQ ID NO:16

编号	HCDR1					HCDR2											HCDR3
	S	Y	D	MS	SEQ ID NO:	G	I	K	T	Y	G	G	N	T	H	YADS VKG	
10F4-1C10	S	Y	D	MS	SEQ ID NO:309	G	I	K	T	Y	G	G	N	T	H	YADS VKG	SEQ ID NO:326
10F4-1D3	D	Y	D	MS	SEQ ID NO:310	S	I	I	Q	S	G	S	T	A	F	YADS VKG	SEQ ID NO:327
10F4-1D11	D	F	D	MS	SEQ ID NO:311	G	I	K	Q	S	S	A	G	I	N	YADS VKG	SEQ ID NO:328
10F4-1E1	N	Y	W	MS	SEQ ID NO:305	S	I	D	A	S	S	G	N	R	F	YADS VKG	SEQ ID NO:329
10F4-1E10	T	Y	A	MS	SEQ ID NO:238	G	I	S	Q	W	G	A	Y	A	S	YADS VKG	SEQ ID NO:330
10F4-1E12	S	Y	D	MS	SEQ ID NO:309	G	I	S	D	T	G	D	Y	A	N	YADS VKG	SEQ ID NO:331
10F4-1F1	N	Y	W	MS	SEQ ID NO:305	A	I	S	P	G	D	G	T	I	F	YADS VKG	SEQ ID NO:332
10F4-1F2	N	Y	Y	MS	SEQ ID NO:308	S	I	S	A	Y	S	D	N	R	N	YADS VKG	SEQ ID NO:333
10F4-1F8	D	Y	D	MS	SEQ ID NO:310	S	I	I	T	D	G	G	G	A	F	YADS VKG	SEQ ID NO:334
10F4-1F9	G	F	D	MS	SEQ ID NO:307	G	I	K	T	Y	G	G	Y	R	S	YADS VKG	SEQ ID NO:335
10F4-1G5	S	S	W	MS	SEQ ID NO:312	S	I	D	A	Y	G	D	Y	N	F	YADS VKG	SEQ ID NO:336
10F4-1G7	D	Y	D	MS	SEQ ID NO:310	S	I	I	G	H	G	D	T	K	F	YADS VKG	SEQ ID NO:337
10F4-1G8	D	F	D	MS	SEQ ID NO:311	V	I	K	P	S	G	D	Y	I	N	YADS VKG	SEQ ID NO:338
10F4-1H1	N	F	D	MS	SEQ ID NO:313	G	I	K	Q	Y	K	G	Y	T	S	YADS VKG	SEQ ID NO:339
10F4-1H4	N	Y	W	MS	SEQ ID NO:305	A	I	S	G	T	G	G	Y	T	Y	YADS VKG	SEQ ID NO:340
10F4-1H6	D	Y	D	MS	SEQ ID NO:310	G	I	K	T	H	S	G	G	N	G	YADS VKG	SEQ ID NO:341
10F4-1H7	T	Y	D	MS	SEQ ID NO:314	G	I	K	Q	Y	K	G	Y	T	S	YADS VKG	SEQ ID NO:339
10F4-1H11	G	F	W	MS	SEQ ID NO:315	S	I	S	P	D	S	G	T	K	H	YADS VKG	SEQ ID NO:342
10F4-2A1	D	Y	D	MS	SEQ ID NO:310	G	I	K	A	H	S	D	N	K	R	YADS VKG	SEQ ID NO:343
10F4-2A5	D	Y	D	MS	SEQ ID NO:310	G	I	K	T	Y	K	S	D	A	R	YADS VKG	SEQ ID NO:344
10F4-2A9	D	Y	D	MS	SEQ ID NO:310	G	I	K	Q	Y	K	G	Y	T	S	YADS VKG	SEQ ID NO:339
10F4-2B11	N	Y	W	MS	SEQ ID NO:305	V	I	D	S	T	G	S	N	R	F	YADS VKG	SEQ ID NO:345
10F4-2C2	N	Y	W	MS	SEQ ID NO:305	V	I	D	A	H	S	A	N	I	R	YADS VKG	SEQ ID NO:346
10F4-2C4	D	Y	W	MS	SEQ ID NO:306	V	I	D	S	G	S	G	N	K	R	YADS VKG	SEQ ID NO:347
10F4-2C6	G	F	D	MS	SEQ ID NO:307	G	I	K	Q	Y	K	G	Y	T	S	YADS VKG	SEQ ID NO:339
10F4-2C12	D	Y	S	MS	SEQ ID NO:235	V	I	D	T	T	S	A	Y	T	R	YADS VKG	SEQ ID NO:348
10F4-2E1	T	Y	D	MS	SEQ ID NO:314	G	I	K	Y	S	K	Y	Y	T	H	YADS VKG	SEQ ID NO:349
10F4-2E4	S	Y	W	MS	SEQ ID NO:316	A	I	D	G	T	D	S	V	A	Y	YADS VKG	SEQ ID NO:350
10F4-2E6	D	Y	W	MS	SEQ ID NO:306	A	I	D	Q	G	K	A	T	S	F	YADS VKG	SEQ ID NO:351
10F4-2E8	N	Y	D	MS	SEQ ID NO:304	S	I	I	P	H	G	D	Y	S	F	YADS VKG	SEQ ID NO:352
10F4-2F11	S	Y	D	MS	SEQ ID NO:309	G	I	K	T	G	G	G	S	A	R	YADS VKG	SEQ ID NO:353
10F4-2G2	D	Y	D	MS	SEQ ID NO:310	S	I	I	A	S	G	S	G	N	Y	YADS VKG	SEQ ID NO:354
10F4-2H5	N	Y	W	MS	SEQ ID NO:305	S	I	D	Q	G	S	G	N	I	F	YADS VKG	SEQ ID NO:355
10F4-1	N	Y	W	MS	SEQ ID NO:305	G	I	S	Q	G	G	S	Y	A	Y	YADS VKG	SEQ ID NO:356
10F4-3	D	F	A	MS	SEQ ID NO:241	V	I	D	G	H	T	A	Y	N	S	YADS VKG	SEQ ID NO:357

编号	HCDR1					HCDR2										HCDR3		
10F4-5	G	Y	D	MS	SEQ ID NO:317	V	I	K	D	H	G	G	Y	K	F	YADS VKG	SEQ ID NO:358	

**抗体重链恒定区 (CH) 氨基酸序列:**

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP  
 AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH  
 TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY  
 VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP  
 APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES  
 NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH  
 YTQKLSLSLSPGK (SEQ ID NO:37)

**抗体轻链恒定区 (CL) 氨基酸序列:**

TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE  
 SVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC  
 (SEQ ID NO:38)

**抗体 1F3 的重链氨基酸序列如下:**

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAIS  
 GSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAELLAF  
 DVYTASDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP  
 EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK  
 PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV  
 TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH  
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ  
 VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR  
 WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK (SEQ ID NO:232)

**抗体 1G8 的重链氨基酸序列如下:**

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAIS  
 GSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQTEDRS  
 YGYDLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE  
 PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK  
 PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV  
 TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH  
 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV  
 SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR  
 WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK (SEQ ID NO:233)

**抗体 10F4 的重链氨基酸序列如下:**

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAIS  
 GSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVV  
 DYVSVRTPLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD  
 YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV  
 NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT  
 PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT

VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK  
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV  
KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:249)

抗体 10F4-3 的重链氨基酸序列如下:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFGDFAMSWVRQAPGKGLEWVSVID  
GHTAYNSYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYSDVV  
DYVSVRTPLDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD  
YFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNV  
NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT  
PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT  
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK  
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV  
KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (如 SEQ ID NO:360)

抗体 10F4-3 的重链核酸序列如下:

gaagtgcaatgggtgaaagcggcggcgccctggcagccggcggcagcctgcgcctgagctgcgcggcgtccgg  
attctctttggcgtcgtatgagctgggtgcgccaggcaccgggcaaaggcctcgaatgggtgagcgtattgacggt  
cactactgctacaactctatgcggatagcgtgaaagccgctttaccattagccgcgataattcgaaaacacctgtatctg  
caaatgaacagcctgcgtgcggaagatactgcagtgattatlgcgcgcgtgaatactctgacgttgactacgtttctgtt  
cgtactcgcgtggattatggggccaaggcaccctgggtgacggtgagcagcgcctctaccaagggcccctctgtgttctc  
tggtccctccagcaagtctactctgggtggaacagctgccctgggctgctggtaaggattctctgagcctgtcacc  
gtgtcctggaactctggcgtctgacatctggcgtgcacaccttccagctgtgctccagctcctccggcctgtactctgtcc  
tetgtctgaccgtgcctctagctctctgggaccccagacctacatctcaatgtgaaccacaagcctccaacaccaaggt  
ggacaagaaggtggaacccaagtctcgcgacaagaccacacctgctcctcatgctcctgctccagaactgctcggcgga  
ccttcctgttctcttctccaaagcctaaggacacctgatgatctctcggaccctgaagtgacctgcgtgggtggtgga  
tgtgtctcacgaagatcccgaagtgaagtcaactggtacgtggacggcgtggaagtgcacaacgccaagaccaagccta  
gagaggaacagtacaactccacctacagagtgggtgctcgtgaccgtgctgcaccaggattggctgaacggcaaga  
gtacaagtgaaggtgtccaacaaggccctgctcctctcgaagacctccaagggccagcctagg  
gaacccaggtttacacctgctcctcctcgggacgagctgaccaagaaccaggtgcctgacctgtctctgtgaagggc  
ttctaccctccgacatcgccgtggaatgggagctaatggcagcctgagaaactacaagacaacccctcctgtgctg  
gactccgacggctcattctctgtactccaagctgacagtggaagaagtcagatggcagcagggcaacgtgttctctgct  
ccgtgatgcacgagccctgcacaatcactacaccagaagtcctctgtctctgcccctggcaataa (SEQ ID  
NO:364)

抗体 1F3-1E4 的重链氨基酸序列如下:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFGTYGMSWVRQAPGKGLEWVSRIS  
GDSANIRYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAELLA  
VYTASDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE  
PVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHK  
SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV  
T  
CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ  
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS  
LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW  
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:361)

抗体 1F3-1E4 的重链核酸序列如下:



gaagtcaattggtgaaagcggcggcgccctggtgcagccggcggcagcctgcgcctgagctgcgcggcgtccgg  
attctcttttgacttacggtatgagctgggtgcgccaggcaccgggcaaaggcctcgaatgggtgagccgtattctgggt  
actctgtaacatccgttatgcggatagcgtgaaaggccgcttaccattagccgcgataattcgaaaaacacctgtatctg  
caaatgaacagcctgcgtgcggaagatactgcagtgtattattgcgcgctgctgaactgctggctttcgacgtttacactgc  
ttctgattattggggccaaggcaccctggtgacggtgagcagcgcctctaccaagggcccctctgtttcctctggctcct  
ccagcaagtctacctctggtggaacagctgccctgggctgctggtcaaggattacttctgagcctgtcaccgtgtctg  
gaactctggcgtctgacatctggcgtgcacacctttccagctgtgctccagctcctccggcctgactctctgctctgtcgt  
gaccgtgcctctagctctctgggcaccagacctacatctgcaatgtgaaccacaagcctccaacaccaaggtggacia  
gaaggtggaaccaagtctctgcgacaagaccacacctgtcctccatgtcctgctccagaactgctcggcggacctccgt  
gttctgtttctccaaagcctaaggacacctgatgatctctcggaccctgaagtgaactgctggtggtggatgtgtctc  
acgaagatcccgaagtgaagttcaactggtacgtggacggcgtggaagtgcacaacgccaagaccaagcctagagagg  
aacagtacaactccacctacagagtgggtgctcctgctgaccgtgctgcaccaggattggtgaacggcaaagagtacaag  
tgcaaggtgtccaacaaggccctgctgctctatcgaagaccatctccaaggccaagggccagcctaggggaacccc  
aggtttacacctgctccatctcgggacgagctgaccaagaaccaggtgtcctgacctgtctcgtgaagggttctacc  
ctccgacatcggcgtggaatgggagctaatggccagcctgagaacaactacaagacaaccccctctgtgctggactccg  
acggctcattctctgactccaagctgacagtggacaagtccagatggcagcagggcaacgtttctcctgctcctgctg  
gcagaggccctgcacaatcactacaccagaagtccctgtctctgctcccctggcaataa (SEQ ID NO:365)

抗体 1F3-2B9 的重链氨基酸序列如下：

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFDSDYAMSWVRQAPGKGLEWVSGIK  
PHTDDIYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAELLAFD  
VYTASDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE  
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP  
SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT  
CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ  
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS  
LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW  
QQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:362)

抗体 1F3-2B9 的重链核酸序列如下：

gaagtcaattggtgaaagcggcggcgccctggtgcagccggcggcagcctgcgcctgagctgcgcggcgtccgg  
attcaactttgactcttacgctatgagctgggtgcgccaggcaccgggcaaaggcctcgaatgggtgagcgggtattaaacc  
gcatactgacgacatctactatgcggatagcgtgaaaggccgcttaccattagccgcgataattcgaaaaacacctgtat  
ctgcaaatgaacagcctgcgtgcggaagatactgcagtgtattattgcgcgctgctgaactgctggctttcgacgtttacac  
tgcttctgattattggggccaaggcaccctggtgacggtgagcagcgcctctaccaagggcccctctgtgtttcctctggctc  
cctccagcaagtctacctctggtggaacagctgccctgggctgctggtcaaggattacttctgagcctgtcaccgtgtcc  
tggaaactctggcgtctgacatctggcgtgcacacctttccagctgtgctccagctcctccggcctgactctctgctctgtc  
gtgaccgtgcctctagctctctgggcaccagacctacatctgcaatgtgaaccacaagcctccaacaccaaggtggac  
aagaaggtggaaccaagtctctgcgacaagaccacacctgtcctccatgtcctgctccagaactgctcggcggacctc  
cgtgttctgtttctccaaagcctaaggacacctgatgatctctcggaccctgaagtgaactgctggtggtggatgtgt  
ctcagaagatcccgaagtgaagttcaactggtacgtggacggcgtggaagtgcacaacgccaagaccaagcctagaga  
ggaacagtacaactccacctacagagtgggtgctcctgctgaccgtgctgcaccaggattggtgaacggcaaagagtaca  
agtgaaggtgtccaacaaggccctgctgctctatcgaagaccatctccaaggccaagggccagcctaggggaacc  
ccaggtttacacctgctccatctcgggacgagctgaccaagaaccaggtgtcctgacctgtctcgtgaagggttctac  
cccctccgacatcggcgtggaatgggagctaatggccagcctgagaacaactacaagacaaccccctctgtgctggactc

cgacggctcattctctgtactccaagctgacagtgagcaagtcagatggcagcagggcaacgtgttctctgctccgtg  
atgcacgagggcctgcacaatcactacaccagaagtcctgtctctgtcccctggcaataa (SEQ ID  
NO:366)

抗体 1G8-1C10 的重链核酸序列如下:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNFSVSDYSMSWVRQAPGKGLEWVSRIK  
ASSGGSFYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARQTEDRS  
YGYDLDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE  
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP  
SNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT  
CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ  
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS  
LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW  
QQGNVFSFCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:363)

抗体 1G8-1C10 的重链核酸序列如下:

gaagtcaattggtgaaagcggcggcggcctggtgcagccggcggcagcctgcgcctgagctgcgcggcgtccgg  
attcaactttctgactactctatgagctgggtgcgccagcaccgggcaagcctcgaatgggtgagcctgattaaagct  
tctctggtggttctgactatgcggatagcgtgaaaggccgcttaccattagccgcgataattcgaaaacaccctgtatctg  
caaatgaacagcctgcgtgcggaagatactgcagtgattattgcgcgcgtcagactgaagaccgttcttacggttacgacc  
tggattatggggccaagcaccctggtgacggtgagcagcgcctctaccaaggccctctgtttctctggtcctc  
cagcaagtctacctctggtggaacagctgccctgggctgcctggtcaaggatttctctgagcctgtcaccgtgtcctgg  
aactctggcgtctgacatctggcgtgcacacfttcagctgtctccagctcctcggcctgactctctgctctgtctg  
accgtgcctctagctctctgggcaccagacctacatctgcaatgtgaaccacaagcctccaacaccaaggtggacaag  
aagtggaaccaagctcctgcgacaagaccacacctgtcctccatgtcctgctccagaactgctcggcggaccttccgtg  
ttctgttctcctcaagcctaaggacacctgatgatctctcggaccctgaagtgaactgcgtggtggtggatgtgtctca  
cgaagateccgaagtgaagtcaactgttacgtggacggcgtggaagtgcacaacccaagaccaagcctagagagga  
acagtacaactccacctacagagtggtgtcctgctgaccgtgctgcaccaggattggctgaacggcaagagtagaagt  
gcaaggtgccaacaagccctgctgctctatcgaagaccatctccaaggccaagggccagcctagggaaaccca  
ggfttacacctgctcctcatctcgggacgagctgaccaagaaccagggtgtcctgacctgtctctgtaagggcttctaccc  
tccgacatgcctggaatgggagctaatggccagcctgagaacaactacaagacaacccctctgtgctggactccga  
cggctcattctctgactccaagctgacagtgagcaagtcagatggcagcagggcaacgtgttctctgctcctgatg  
cacgagccctgcacaatcactacaccagaagtcctgtctctgtcccctggcaataa (SEQ ID NO:367)

共用轻链的氨基酸序列如下:

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSL  
QSGVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRT  
VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES  
VTEQDSKIDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC  
(SEQ ID NO:250)

共用轻链的核酸序列如下:

gatatccagatgaccagteccccagctccctgagcgttagcgtgggcgaccgggtgacctcacctgagggcctccc  
agggatcagctcctacctggcttggatcagcagaagcctggcaaggcccctaagctgctgatctatgccgttctcct  
gcagtcggcgtgcctccaggttcagcggctccggcagcggcaccgacttcacctgacctctcctcctgcagcctg  
aggactcggccacctattatggcagcagcactataccacctcctaccttggccagggcaccaaggtggagatcaagc  
gtacgggtgctgcacctctgtcttctctccgacctctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttctgctgctgct

gaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaaagcagactacgagaaa cacaaagtctacgctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaagagcttcaacaggggagagtgttga (SEQ ID NO:359)

#### 实施例 4：结合活性检测

通过 ELISA 方法检测全抗体的结合活性，过程简述如下，包被实施例 1 的 hNectin-4-His 抗原蛋白，包被浓度为 1  $\mu\text{g/mL}$ ，脱脂奶粉过夜封闭后，分别加入梯度稀释的待检测抗体孵育（表 9 抗体的起始浓度为 2 $\mu\text{g/mL}$ ，2 倍梯度稀释；表 10 和表 11 抗体的起始浓度为 10 $\mu\text{g/mL}$ ，3 倍梯度稀释），室温孵育 2 小时（h）后，加入 HRP 标记的抗人-kappa（Sigma, A7164）二抗孵育 1h，随后加入 TMB（湖州英创生物科技，TMB-S-001）显色，并用 0.1M 的  $\text{H}_2\text{SO}_4$  终止显色，酶标仪读取 OD450 的吸光度后，通过四参数拟合计算各抗体的结合  $\text{EC}_{50}$  数值，比较各抗体的结合活性，结果见表 9-11。

表 9：抗 Nectin-4 抗体结合活性

抗体编号	$\text{EC}_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	抗体编号	$\text{EC}_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
ASG-22	0.042	1G8	0.068
3A10	0.068	1G7	0.022
10F4	0.038	1B4	0.025
10A4	0.041	1F3	0.041
1G12	0.073		

表 10：抗体结合活性

抗体编号	$\text{EC}_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	抗体编号	$\text{EC}_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
1G8-1E10	0.006	1F3-1C4	0.011
1G8-1C10	0.005	1F3-1D7	0.015
1G8-2B3	0.005	1F3-1E1	0.017
1G8-1G3	0.004	1F3-1F4	0.009
1G8-2C6	0.005	1F3-1F8	0.008
1G8-2G8	0.006	1F3-1G7	0.008
1G8-2F2	0.012	1F3-1G11	0.007
1G8-2F11	0.004	1F3-1D12	0.007
1G8-2H8	0.005	1F3-1H3	0.008
1F3-1A9	0.007	1F3-2B9	0.009
1G8-2H4	0.039	1F3-2D2	0.015
ASG-22	0.019	1F3-2E8	0.009
1F3	0.005	1F3-2F3	0.011
1F3-1B1	0.016	1F3-2B1	0.014

表 11：抗体结合活性

抗体编号	EC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	抗体编号	EC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )
ASG-22	0.042	ASG-22	0.046
10F4-1A1	0.051	10F4-1G7	0.068
10F4-1C3	0.053	10F4-1H6	0.063
10F4-1C10	0.058	10F4-1H11	0.059
10F4-1F1	0.057	10F4-2C6	0.09
10F4-1E1	0.067	10F4-2C12	0.06
10F4-1F8	0.054	10F4-2F11	0.078
10F4	0.041	10F4	0.043

### 实施例 5: 亲和力测定

本研究采用表面等离子体共振 (Surface Plasmon Resonance, SPR) 技术 (BIAcore: GE Healthcare, T200) 对抗体与人 Nectin-4 胞外抗原的亲和力进行检测。

用 Protein A 芯片 (Cat#29127556, GE Healthcare) 进行捕获, 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$  抗体稀释液 (稀释液是 HBS-EP+(10x): GE Healthcare, cat#BR-1006-69, 工作浓度为 1x) 以 10 $\mu\text{l}/\text{min}$  的流速通过实验流路 (Fc2、Fc4), 捕获 10 秒 (s); 之后流速调为 30  $\mu\text{l}/\text{min}$ , 依次进不同浓度的 hNectin-4-His 稀释液 (0 nM、1.23nM、3.7nM、11.1nM、33.3 nM、100nM), 同时经过实验流路 (Fc2、Fc4) 和参比流路 (Fc1、Fc3) 表面, 结合时间 120s, 解离时间 180s, 最后通过 Glycine 1.5 对芯片进行再生。使用 BiaEvaluation 3.2 进行拟合分析, 拟合模型用 1:1 模型, 拟合结果见表 12-13 和图 1。

表 12: 抗 Nectin-4 抗体与 hNectin-4-His 的亲和力

抗体编号	KD(M)	Ka (1/Ms)	Kd (1/s)	Chi <sup>2</sup> (RU <sup>2</sup> )
1G8	4.97E-09	6.05E+05	3.00E-03	0.626
ASG-22	6.03E-09	7.23E+05	4.36E-03	4.9
1G12	8.61E-09	5.39E+05	4.64E-03	0.891
1B4	5.33E-09	6.00E+05	3.20E-03	0.873
1G7	1.67E-08	3.77E+05	6.31E-03	0.124
10F4	2.77E-09	3.73E+05	1.03E-03	3.52
10A4	6.71E-09	3.46E+05	2.32E-03	1.15
3A10	2.1E-09	4.13E+05	8.67E-04	3.24
1F3	3.21E-09	8.13E+05	2.61E-03	8.81

表 13: 抗体亲和力

样品	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	Rmax (RU)	Chi <sup>2</sup> (RU <sup>2</sup> )
----	-----------	----------	--------	-----------	-------------------------------------

1F3	7.85E+05	1.95E-03	2.49E-09	127.6	0.795
1F3-1B1	1.20E+06	2.04E-04	1.7E-10	142.5	0.974
1F3-1A9	1.55E+06	9.94E-04	6.41E-10	120.8	0.949
1F3-1E4	1.94E+06	8.25E-04	4.26E-10	132	1.16
1F3-1E1	1.51E+06	2.12E-04	1.41E-10	131.5	0.172
1F3-1G7	8.02E+05	5.96E-04	7.43E-10	135.8	1.96
1F3-1F8	1.71E+06	9.66E-04	5.64E-10	124.2	0.701
1F3-1H3	1.69E+06	1.05E-03	6.2E-10	130.8	0.972
1F3-1G11	1.41E+06	1.15E-03	8.15E-10	132.6	0.89
1F3-2B9	1.82E+06	1.01E-03	5.52E-10	124.4	0.91
1F3-2B1	1.32E+06	3.17E-04	2.41E-10	130.2	0.399
1F3-2F3	1.40E+06	5.19E-04	3.7E-10	125.4	0.694
1F3-2E8	1.17E+06	1.02E-03	8.72E-10	144.8	0.864
1G8	6.05E+05	3.00E-03	4.97E-09	48.4	0.626
1G8-1G3	4.71E+05	1.41E-03	3.00E-09	135.4	1.47
1G8-1E10	6.65E+05	8.70E-04	1.31E-09	109.6	1.71
1G8-2C6	7.34E+05	1.37E-03	1.87E-09	122.1	1.27
1G8-2B3	7.42E+05	1.47E-03	1.98E-09	102.6	0.817
1G8-2G8	7.58E+05	1.42E-03	1.87E-09	100.8	0.974
1G8-2F2	7.84E+05	1.66E-03	2.12E-09	53.8	0.516
ASG-22	5.77E+05	5.81E-03	1.01E-08	84.9	0.69
1G8-1G3	4.71E+05	1.41E-03	3E-09	135.4	1.47
10F4	3.75E+05	1.21E-03	3.23E-09	29.4	0.232
10F4-1	4.15E+05	2.26E-04	5.45E-10	94.8	1.16
10F4-5	3.43E+05	1.37E-04	3.99E-10	135.8	1.79
10F4-3	3.46E+05	1.22E-04	3.52E-10	110.3	1.26
ASG-22	5.40E+05	5.90E-03	1.09E-08	78.3	0.714
10F4-1C3	3.70E+05	2.18E-04	5.89E-10	123.6	1.3
10F4-1A1	4.30E+05	1.86E-04	4.32E-10	106.1	1.47
10F4-1C10	2.65E+05	1.16E-04	4.35E-10	108.3	0.238
10F4-1F8	4.24E+05	2.37E-04	5.58E-10	95.8	0.764
10F4-1H6	2.99E+05	1.51E-04	5.05E-10	118.7	0.348
10F4-1G7	3.89E+05	1.45E-04	3.74E-10	91	0.711
10F4-2C6	2.94E+05	8.36E-05	2.85E-10	108.6	0.927
10F4-1H11	3.50E+05	2.12E-04	6.05E-10	119	1.14
10F4-2F11	4.06E+05	1.61E-04	3.96E-10	81	1.15
10F4-2C12	5.70E+05	3.04E-04	5.33E-10	89.4	2.15

### 实施例 6：内吞效率测定

本试验通过 FACS 方法检测 37°C 孵育一定时间后残留在细胞表面抗体的相对数量，以反映内吞效率。方法简述如下，细胞使用 T-47D 细胞（人乳腺导管癌细胞，来源于中国科学院细胞库，目录号 TCHu 87），将抗体调整至 10 $\mu$ g/mL 与细胞在冰上结合 1h，预冷 PBS 洗 3 遍，随后放入 37°C 分别孵育 0h、2h 和 4h，加入 0.2% N<sub>3</sub>Na 终止内吞

反应，PBS 洗三遍，随后加入 PE 标记的 anti-human Fc（Invitrogen 12-4998-82）的二抗，4°C 孵育 30 分钟（min），流式细胞仪检测红色荧光信号。各待测抗体的内吞结果如表 14-15。

表 14: 抗 Nectin-4 抗体的内吞结果

抗体编号	MFI (平均荧光强度)			2h 内吞率	4h 内吞率
	0h	2h	2h		
ASG-22	107097.7	53739.06	27694.23	49.8%	74.1%
1B4	107856.3	52035.69	26450.5	51.8%	75.5%
1F3	121007.3	60512.22	28271.26	50.0%	76.6%
1G8	104517.6	56508.13	27760.32	45.9%	73.4%
3A10	105072.4	47336.81	20035.45	54.9%	80.9%
10A4	107039.3	53157.58	21358.23	50.3%	80.0%
10F4	104284.8	56913.51	24043.91	45.4%	76.9%

表 15: 抗 Nectin-4 抗体的内吞结果

抗体编号	MFI (平均荧光强度)			2h 内吞率	4h 内吞率
	0h	2h	4h		
ASG-22	58,591.2	37,973.0	37,844.0	35.2%	35.4%
10F4-1	58,616.6	31,049.2	29,267.8	47.0%	50.1%
10F4-3	61,231.7	34,751.4	27,044.8	43.2%	55.8%
10F4-5	63,449.1	37,060.1	20,132.5	41.6%	68.3%
1F3-1B1	65,333.1	36,442.5	33,275.2	44.2%	49.1%
1F3-1E1	73,387.8	45,103.4	31,632.0	38.5%	56.9%
1F3-1G11	60,470.8	48,303.1	42,145.4	20.1%	30.3%
1F3-2B1	59,430.8	38,232.6	30,476.3	35.7%	48.7%
1F3-2E8	58,160.4	36,480.4	32,490.0	37.3%	44.1%
1F3-2F3	68,970.9	45,880.7	31,065.2	33.5%	55.0%

**实施例 7: 细胞结合曲线**

本试验通过 FACS 检测不同抗体与 Nectin-4 表达阳性的 T-47D 细胞的结合活性，并通过四参数法分析抗体与细胞结合的 EC<sub>50</sub>。方法简述如下，胰酶消化 T-47D 细胞（中国科学院细胞库，TCHu 87），梯度稀释抗体并于 4°C 与 T-47D 细胞孵育 0.5-1h，随后加入 PE 标记的 anti-human Fc（Invitrogen, 12-4998-82）的二抗，流式细胞仪检测红色荧光值的信号强度，并使用 Graphpad Prism 作图并计算 EC<sub>50</sub>，结合曲线和 EC<sub>50</sub> 结果如表 16 和图 2 所示。

表 16: 抗 Nectin-4 抗体与细胞结合的 EC<sub>50</sub> 值

EC <sub>50</sub>	ASG-22	1F3	1G8	3A10	10F4

$\mu\text{g/mL}$	0.118	0.116	0.109	0.186	0.156
nM	0.788	0.770	0.727	1.241	1.039

### 实施例 8: 特异性检测

本试验通过 ELISA 方法检测不同抗体与人 Nectin-4 同家族蛋白 hNectin-1 (ACRO, PV1-H5223)、hNectin-2 (ACRO, PV2-H52E2)、hNectin-3 (ACRO, PV3-H52E4)、hNectin-4-His 的结合情况, 确认抗体的特异性。方法和过程参考实施例 4, 包被目的抗原 ( $1\mu\text{g/mL}$ ), 封闭后加入梯度稀释抗体 (起始浓度为  $2\mu\text{g/mL}$ , 2 倍梯度稀释), 并加入 HRP 标记的抗人-Kappa 二抗显色, 结果见表 17, 抗体 3A10 与 hNectin-3 有较弱的结合外, 其余抗体均有良好的特异性, 不与同家族蛋白 hNectin-1/2/3 结合, 与 hNectin-4-His 结合。结合曲线见图 3。

表 17: 抗 Nectin-4 抗体对人 Nectin-4 同家族蛋白的结合

样品名称	1F3	1G8	3A10	10F4
	EC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )			
hNectin-1	NA	NA	NA	NA
hNectin-2	NA	NA	NA	NA
hNectin-3	NA	NA	0.626	NA
hNectin-4-His	0.040	0.041	0.062	0.045

注 NA 表示本试验中不结合。

### 实施例 9: 种属特异性检测

Nectin-4 在不同种属具有较高的同源性。

通过 ELISA 方法检测不同抗体与不同种属 Nectin-4 蛋白的结合情况。分别包被 hNectin-4-His, 猴 cNectin-4 蛋白(ACRO, NE4-C52H4)和小鼠 mNectin-4 蛋白(ACRO, NE4-M52H3), 梯度稀释抗体 ASG-22、1F3、1G8、3A10 和 10F4, 并加入 HRP 标记的抗人-Kappa 二抗显色, 结果见表 18 和图 4, 待检测抗体与人、食蟹猴和小鼠 Nectin-4 具有接近的结合活性, 对照抗体与鼠 Nectin-4 结合有弱结合。

表 18: 抗 Nectin-4 抗体对不同种属 Nectin-4 的结合

样品名称	EC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )				
	ASG-22	1F3	1G8	3A10	10F4
hNectin-4-His	0.035	0.036	0.043	0.037	0.041
cNectin-4	0.033	0.034	0.036	0.042	0.041
mNectin-4	1.229	0.034	0.037	0.037	0.041

## 权 利 要 求 书

1. 抗 Nectin-4 抗体或抗原结合片段，所述抗 Nectin-4 抗体包含以下 HCDR1，HCDR2，和 HCDR3 或其变体中的一个或多个：

(1)按照 Kabat 编号系统，HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO: 8，SEQ ID NO:181-195，SEQ ID NO:234-248 和 SEQ ID NO:304-317 任一项所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO: 9，SEQ ID NO:196-231，SEQ ID NO:251-303 和 SEQ ID NO:318-358 任一项所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO: 10，SEQ ID NO:12，SEQ ID NO:14，SEQ ID NO:16，SEQ ID NO:18，SEQ ID NO:20，SEQ ID NO:22 和 SEQ ID NO:24 任一项所示的序列或由其组成；

(2) SEQ ID NO:7 所示的重链可变区包含的 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3；

如按照 Kabat 编号系统，HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:10 所示的序列或由其组成；

(3) SEQ ID NO:11 所示的重链可变区包含的 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3；

如按照 Kabat 编号系统，HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:12 所示的序列或由其组成；

(4) SEQ ID NO:13 所示的重链可变区包含的 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3；

如按照 Kabat 编号系统，HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:14 所示的序列或由其组成；

(5) SEQ ID NO:15 所示的重链可变区包含的 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3；

如按照 Kabat 编号系统，HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成，



HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:16 所示的序列或由其组成;

(6) SEQ ID NO:17 所示的重链可变区包含的 HCDR1, HCDR2 和 HCDR3;

如按照 Kabat 编号系统, HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成, HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成, HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:18 所示的序列或由其组成;

(7) SEQ ID NO:19 所示的重链可变区包含的 HCDR1, HCDR2 和 HCDR3;

如按照 Kabat 编号系统, HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成, HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成, HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:20 所示的序列或由其组成;

(8) SEQ ID NO:21 所示的重链可变区包含的 HCDR1, HCDR2 和 HCDR3;

如按照 Kabat 编号系统, HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成, HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成, HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:22 所示的序列或由其组成;

(9) SEQ ID NO:23 所示的重链可变区包含的 HCDR1, HCDR2 和 HCDR3;

如按照 Kabat 编号系统, HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成, HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成, HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:24 所示的序列或由其组成;

(10) HCDR1 的序列包含 X1X2X3MS 所示的序列或由其组成, HCDR2 的序列包含 X1'IX2'X3'X4'X5'X6'X7'X8'X9'YADSVKG 所示的序列或由其组成, HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:12, 14 或 16 所示的序列或由其组成, 其中 X1, X2, X3, X1', X2', X3', X4', X5', X6', X7', X8', X9'和 X10'表示独立选自 G, A, V, L, I, S, T, C, M, N, Q, K, R, D, E, F, Y, H, P 和 W 中的任意一种氨基酸,

如, X1 表示 S, N, T, D 或 G, X2 表示 Y, F 或 S, X3 表示 A, G, S 或 Y, X1'表示 A, R, G, I 或 W, X2'表示 S, K, Y 或 D, X3'表示 G, P, S, A, Q 或 W, X4'表示 S, T, G, Y, H, D, W 或 I, X5'表示 G,

D, T, S, A 或 K, X6'表示 G, S, D, A 或 W, X7'表示 S, Y, T, N, D, V, E 或 G, X8'表示 T, A, N, K, I, R, S 或 P, X9'表示 Y, S, H, R, N, G, F 或 D;

或, X1 表示 S, N, T, D 或 G, X2 表示 Y, N, F 或 S, X3 表示 A, G, S 或不存在, X1'表示 A, R, G, W 或 S, X2'表示 S, K, Y 或 D, X3'表示 G, P, S, T, A, Q 或 Y, X4'表示 S, T, G, Y, H, D, W 或 I, X5'表示 G, D, T, S, F 或 K, X6'表示 G, S, D, A, W 或不存在, X7'表示 S, Y, T, N, D, V, E 或 G, X8'表示 T, A, N, K, I, R, S 或 P, X9'表示 Y, S, H, R, N, F 或 D;

或, X1 表示 S, N, D, G 或 T, X2 表示 Y, F 或 S, X3 表示 A, D, W, S 或 Y, X1'表示 A, S, G 或 V, X2'表示 S, K, I, Y 或 D, X3'表示 G, P, S, A, Q, Y, T 或 D, X4'表示 S, T, G, Y, H, D 或 W, X5'表示 G, D, T, S 或 K, X6'表示 G, S, D, A 或 Y, X7'表示 S, Y, T, N, D, V 或 G, X8'表示 T, A, N, K, I, R 或 S, X9'表示 Y, S, H, R, N, G, F 或 D;

或, HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 和 SEQ ID NO:181-195 任一项所示的序列或由其组成, HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 和 SEQ ID NO:196-231 任一项所示的序列或由其组成, HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:14 所示的序列或由其组成;

或, HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:181, SEQ ID NO:185, SEQ ID NO:186, SEQ ID NO:187, SEQ ID NO:194 和 SEQ ID NO:234-248 任一项所示的序列或由其组成, HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:202 和 SEQ ID NO:251-303 任一项所示的序列或由其组成, HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:12 所示的序列或由其组成;

或, HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:235, SEQ ID NO:238, SEQ ID NO:241 和 SEQ ID NO:304-317 任一项所示的序列或由其组成, HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:318-358 任一项所示的序列或由其组成, HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:16 所示的序列或由其组成;

其中所述变体序列与所述对应的 CDR 序列分别具有 3, 2 或 1 个氨基酸差异 (优选保守氨基酸置换) 或分别具有至少 60%、65%、70%、75%、

80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%同一性，并且所述变体保留与 Nectin-4 的结合亲和力，

可选地，所述抗 Nectin-4 抗体或抗原结合片段来自鸟类和哺乳动物，或，所述抗 Nectin-4 抗体是人源、鼠源、驴源、兔源、山羊源、骆驼源、美洲驼源、马源或鸡源抗体。

2. 权利要求 1 所述的抗 Nectin-4 抗体或抗原结合片段，其中重链可变区中的框架区 HFR1-HFR4 的序列分别如 SEQ ID NO:29-32 所示。

3. 权利要求 1 所述的抗 Nectin-4 抗体或抗原结合片段，其中重链可变区中的框架区 HFR1 的序列如 SEQ ID NO:41-180 任一项所示的序列的位置 1-30 位氨基酸序列所示，HFR2-HFR4 的序列分别如 SEQ ID NO:30-32 所示。

4. 权利要求 1 所述的抗 Nectin-4 抗体或抗原结合片段，其中所述抗 Nectin-4 抗体或抗原结合片段包含选自以下各项组成的组的重链可变区，或其变体：

- (1) SEQ ID NO:7 所示的序列或由其组成的重链可变区；
- (2) SEQ ID NO:11 所示的序列或由其组成的重链可变区；
- (3) SEQ ID NO:13 所示的序列或由其组成的重链可变区；
- (4) SEQ ID NO:15 所示的序列或由其组成的重链可变区；
- (5) SEQ ID NO:17 所示的序列或由其组成的重链可变区；
- (6) SEQ ID NO:19 所示的序列或由其组成的重链可变区；
- (7) SEQ ID NO:21 所示的序列或由其组成的重链可变区；
- (8) SEQ ID NO:23 所示的序列或由其组成的重链可变区；
- (9) SEQ ID NO:41-180 任一项所示的序列或由其组成的重链可变区；
- (10) SEQ ID NO: 179所示的序列或由其组成的重链可变区；

其中所述变体序列与所述对应的可变区序列分别具有 3，2 或 1 个氨基酸差异（优选保守氨基酸置换）或分别具有至少 60%、65%、70%、75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%同一性，并且所述变体保留与 Nectin-4 的结合亲和力。

5. 权利要求 1-4 任一项所述的抗 Nectin-4 抗体或抗原结合片段, 其中所述抗 Nectin-4 抗体的重链恒定区的氨基酸序列如 SEQ ID NO:37 所示; 或, 所述抗 Nectin-4 抗体的重链包含 SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:13, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:19, SEQ ID NO:21, SEQ ID NO:23 和 SEQ ID NO:41-180 任一项所示的重链可变区和 SEQ ID NO:37 所示的重链恒定区; 或, 所述抗 Nectin-4 抗体的重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:232, SEQ ID NO:233, SEQ ID NO:249 和 SEQ ID NO:360-363 任一项所示。

6. 权利要求 1-5 任一项所述的抗 Nectin-4 抗体或抗原结合片段, 其中所述抗体还包含 SEQ ID NO:25 所示的轻链可变区包含的 LCDR1, LCDR2 和 LCDR3, 如按照 Kabat 编号系统, LCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:26 所示的序列或由其组成, LCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:27 所示的序列或由其组成, LCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:28 所示的序列或由其组成; 或者, 轻链可变区中的框架区 LFR1-LFR4 的序列分别如 SEQ ID NO:33-36 所示; 或所述抗体或抗原结合片段包含 SEQ ID NO:25 所示的轻链可变区; 或者所述抗体或抗原结合片段还包含 SEQ ID NO:38 所示的轻链恒定区。

7. 权利要求 1-6 任一项所述的抗 Nectin-4 抗体或抗原结合片段, 其中所述抗原结合片段选自 Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、F(ab)<sub>2</sub>、Fd、Fv、dAb、Fab/c、互补决定区片段、scFv、scFv 多聚体、二硫键稳定性 Fv (dsFv)、(dsFv)<sub>2</sub>、双特异性 dsFv(dsFv-dsFv')、双链抗体(Diabody)、二硫键稳定的双链抗体(ds-Diabody)、由包含一个或多个 CDR 的抗体的一部分形成的多特异性抗体、单域抗体(sdAb)、纳米抗体、结构域抗体或二价结构域抗体。

8. 特异性结合 Nectin-4 的多肽, 其选自以下各项组成的组:

(1) 多肽, 其包含 HCDR1, HCDR2 和 HCDR3 的序列或其变体, 其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分, 其中 HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:181-195, SEQ ID NO:234-248 和 SEQ ID NO:304-317 任一项所示的序列或由其组成, HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:196-231, SEQ ID NO:251-303 和 SEQ ID NO:318-358 任一项所示的序列或由其组成, HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:18,

SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:22 和 SEQ ID NO:24 任一项所示的序列或由其组成;

(2) 多肽, 其包含 HCDR1, HCDR2 和 HCDR3 的序列或其变体, 其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分, 其中 HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成, HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成, HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:10 所示的序列或由其组成;

(3) 多肽, 其包含 HCDR1, HCDR2 和 HCDR3 的序列或其变体, 其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分, 其中 HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:181, SEQ ID NO:185, SEQ ID NO:186, SEQ ID NO:187, SEQ ID NO:194 和 SEQ ID NO:234-248 任一项所示的序列或由其组成, HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:202 和 SEQ ID NO:251-303 任一项所示的序列或由其组成, HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:12 所示的序列或由其组成;

(4) 多肽, 其包含 HCDR1, HCDR2 和 HCDR3 的序列或其变体, 其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分, 其中 HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 和 SEQ ID NO:181-195 任一项所示的序列或由其组成, HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 和 SEQ ID NO:196-231 任一项所示的序列或由其组成, HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:14 所示的序列或由其组成;

(5) 多肽, 其包含 HCDR1, HCDR2 和 HCDR3 的序列或其变体, 其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分, 其中 HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:235, SEQ ID NO:238, SEQ ID NO:241 和 SEQ ID NO:304-317 任一项所示的序列或由其组成, HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 和 SEQ ID NO:318-358 任一项所示的序列或由其组成, HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:16 所示的序列或由其组成;

(6) 多肽, 其包含 HCDR1, HCDR2 和 HCDR3 的序列或其变体, 其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分, 其中 HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成, HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成, HCDR3 的序列包含 SEQ ID

NO:18 所示的序列或由其组成；

(7) 多肽，其包含 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3 的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分，其中 HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:20 所示的序列或由其组成；

(8) 多肽，其包含 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3 的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分，其中 HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:22 所示的序列或由其组成；

(9) 多肽，其包含 HCDR1，HCDR2 和 HCDR3 的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分，其中 HCDR1 的序列包含 SEQ ID NO:8 所示的序列或由其组成，HCDR2 的序列包含 SEQ ID NO:9 所示的序列或由其组成，HCDR3 的序列包含 SEQ ID NO:24 所示的序列或由其组成；

(10) 多肽，其包含 SEQ ID NO:7 所示的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分；

(11) 多肽，其包含 SEQ ID NO:11 所示的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分；

(12) 多肽，其包含 SEQ ID NO:13 所示的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分；

(13) 多肽，其包含 SEQ ID NO:15 所示的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分；

(14) 多肽，其包含 SEQ ID NO:17 所示的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分；

(15) 多肽，其包含 SEQ ID NO:19 所示的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分；

(16) 多肽，其包含 SEQ ID NO:21 所示的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分；

(17) 多肽，其包含 SEQ ID NO:23 所示的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分；

(18) 多肽，其包含 SEQ ID NO: 41-180 任一项所示的序列或其变体，其中所述多肽作为特异性结合 Nectin-4 的抗 Nectin-4 抗体的一部分；

可选的，所述多肽还包含 SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27 和 SEQ ID NO:28 所示的序列，或 SEQ ID NO:25 所示的序列或其变体，

其中所述变体序列与所述对应的序列分别具有 3, 2 或 1 个氨基酸差异（优选保守氨基酸置换）或分别具有至少 60%、65%、70%、75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 同一性，并且所述变体保留与 Nectin-4 的结合亲和力。

#### 9. 生物材料，为

(1) 核酸分子，其编码权利要求 1-7 任一项所述的抗 Nectin-4 抗体或抗原结合片段，或编码权利要求 8 所述的特异性结合 Nectin-4 的多肽；

(2) 载体，其包含编码权利要求 1-7 任一项所述的抗 Nectin-4 抗体或抗原结合片段，或编码权利要求 8 所述的特异性结合 Nectin-4 的多肽的核酸分子；或

(3) 宿主细胞，其包含编码权利要求 1-7 任一项所述的抗 Nectin-4 抗体或抗原结合片段，或编码权利要求 8 所述的特异性结合 Nectin-4 的多肽的核酸分子。

10. 偶联物，其包含权利要求 1-7 任一项所述的抗 Nectin-4 抗体或抗原结合片段以及偶联部分，其中，所述偶联部分为纯化标签（如 His 标签）、可检测的标记、药物、毒素、细胞因子、酶、或其组合；或，所述偶联部分为放射性同位素、荧光物质、化学发光物质、有色物质、化疗剂、生物毒素、治疗剂、药物前体、肽、蛋白质、酶、病毒、脂类、生物反应调节剂或聚乙二醇。

11. 试剂盒，其包括权利要求 1-7 任一项所述的抗 Nectin-4 抗体或抗原结合片段、权利要求 8 所述的特异性结合 Nectin-4 的多肽、权利要求 10 所述的偶联物；任选地，所述试剂盒还包括第二抗体，其特异性识别所述抗 Nectin-4 抗体；任选地，所述第二抗体还包括可检测的标记，例如放射

性同位素、荧光物质、化学发光物质、有色物质或酶；任选地，所述试剂盒用于检测 Nectin-4 在样品中的存在或其水平；任选地，所述试剂盒还包括针对其它抗原的抗体或其抗原结合片段，和/或细胞毒性剂，和任选地，使用说明书。

12. 药物组合物，其包含权利要求 1-7 任一项所述的抗 Nectin-4 抗体或抗原结合片段、权利要求 8 所述的特异性结合 Nectin-4 的多肽、权利要求 10 所述的偶联物；可选地，所述药物组合物还包括药学上可接受的载体和/或赋形剂；或者，所述药物组合物为适于通过皮下注射、皮内注射、静脉内注射、肌肉注射或病灶内注射施用的形式。

13. 权利要求 1-7 任一项所述的抗 Nectin-4 抗体或抗原结合片段、权利要求 8 所述的特异性结合 Nectin-4 的多肽、权利要求 10 所述的偶联物用于治疗 and/或预防疾病或在制备治疗和/或预防疾病的药物中的用途；或者，所述疾病为 Nectin-4 异常表达相关的疾病；或者，所述疾病为表达或过表达 Nectin-4 的肿瘤；或者，所述疾病为表达或过表达 Nectin-4 的癌症；或者，所述疾病为实体瘤或血液肿瘤；或者，所述疾病选自乳腺癌、胰腺癌、膀胱癌、尿路上皮癌、黑色素瘤、肺癌、头颈癌、宫颈癌、卵巢癌、绒毛膜癌、皮肤癌、食管癌、胃癌、子宫癌、胆囊癌、肝癌、肝细胞癌、尿道癌、肾盂癌、输尿管癌、结直肠癌、结肠癌和前列腺癌。

14. 治疗疾病的方法，包括向有需要的患者施用有效量的权利要求 1-7 任一项所述的抗 Nectin-4 抗体或其抗原结合片段、权利要求 8 所述的特异性结合 Nectin-4 的多肽、权利要求 10 所述的偶联物；或者，所述疾病为 Nectin-4 异常表达相关的疾病；或者，所述疾病为表达或过表达 Nectin-4 的肿瘤；或者，所述疾病为表达或过表达 Nectin-4 的癌症；或者，所述疾病为实体瘤或血液肿瘤；或者，所述疾病选自乳腺癌、胰腺癌、膀胱癌、尿路上皮癌、黑色素瘤、肺癌、头颈癌、宫颈癌、卵巢癌、绒毛膜癌、皮肤癌、食管癌、胃癌、子宫癌、胆囊癌、肝癌、肝细胞癌、尿道癌、肾盂癌、输尿管癌、结直肠癌、结肠癌和前列腺癌。



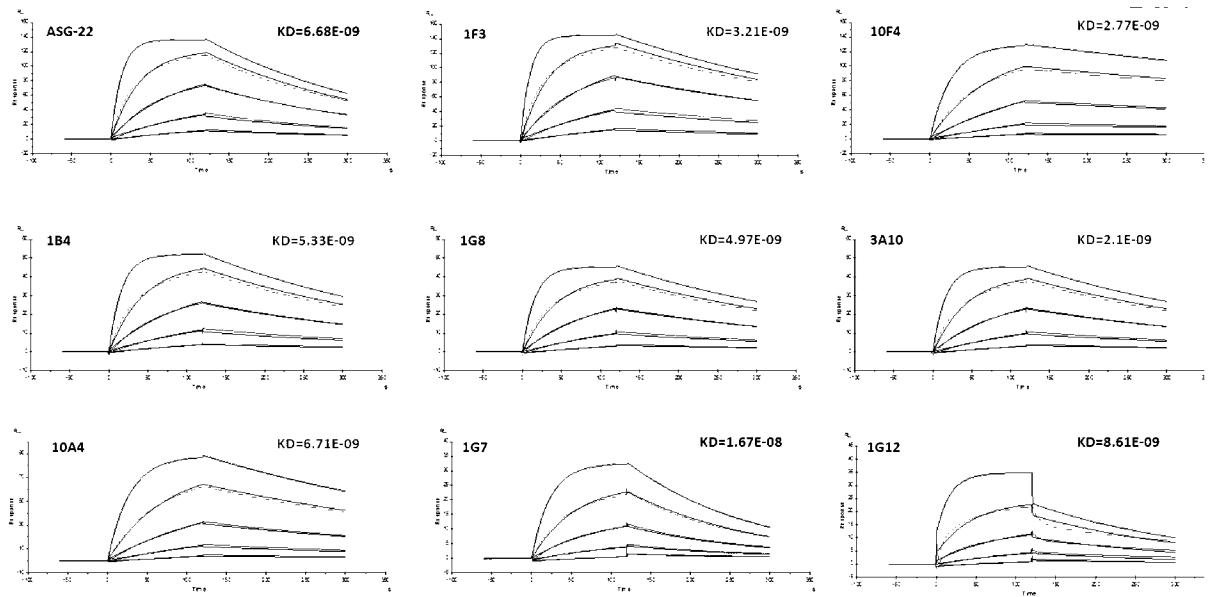


图 1

T-47D 细胞结合

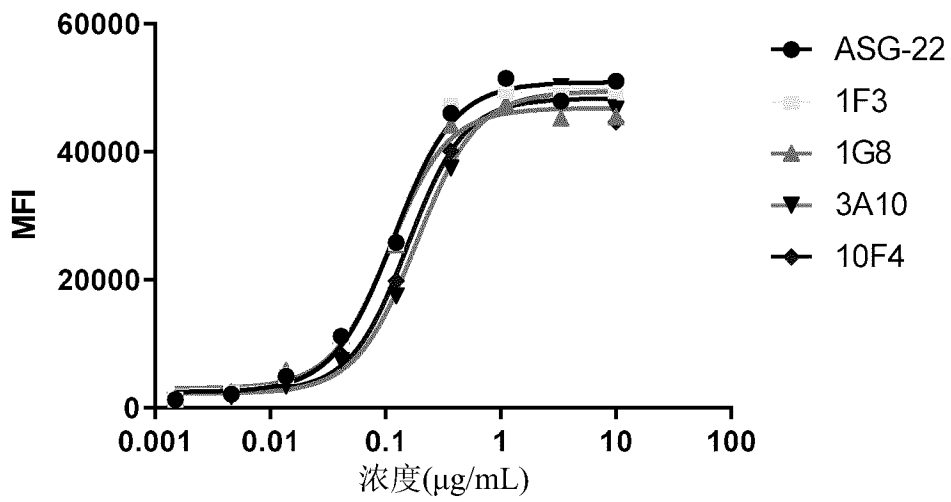


图 2

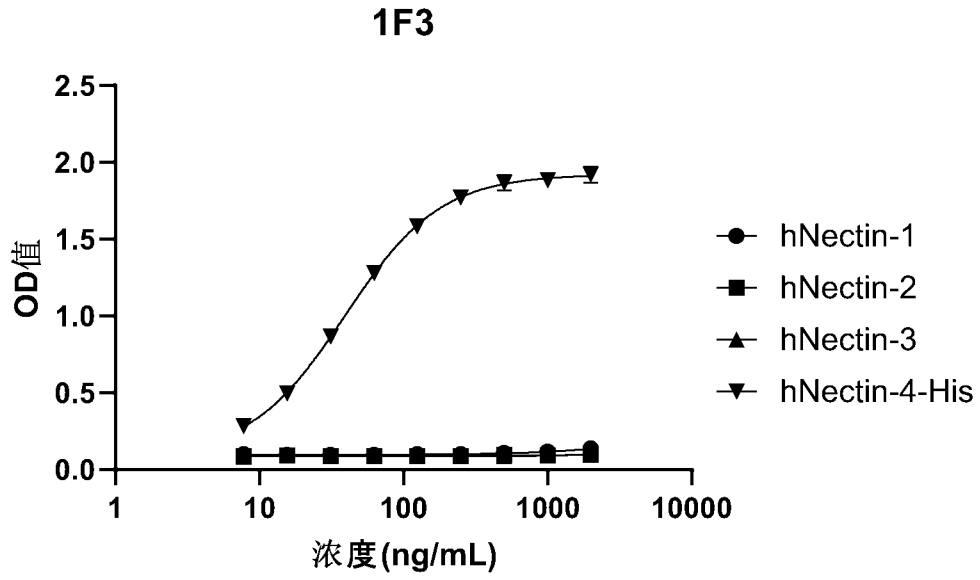


图 3A

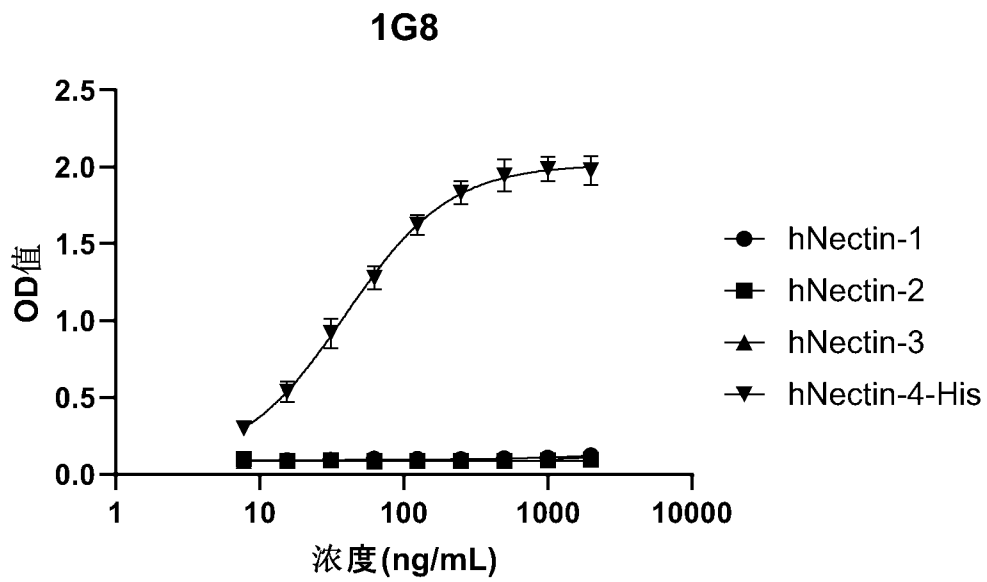


图 3B

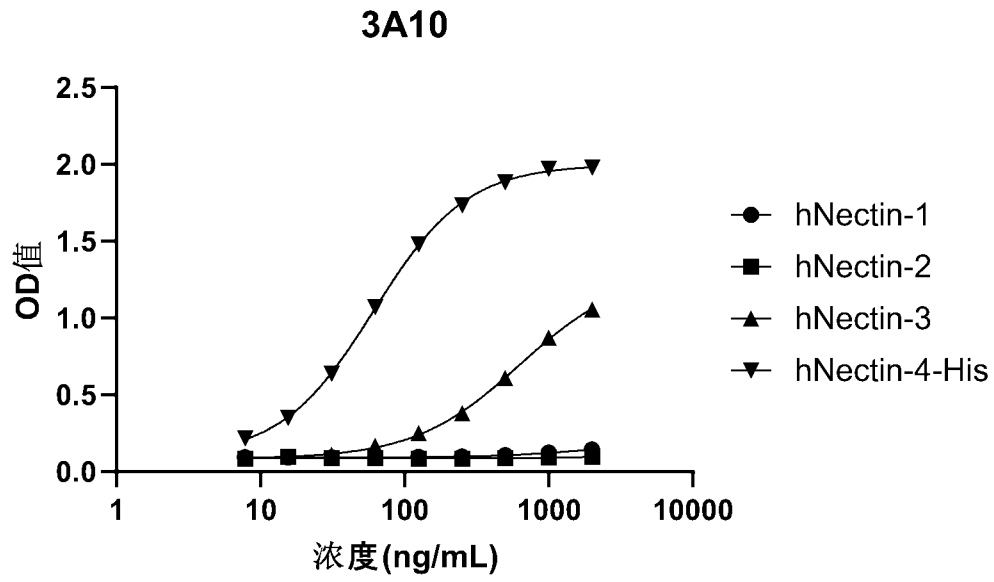


图 3C

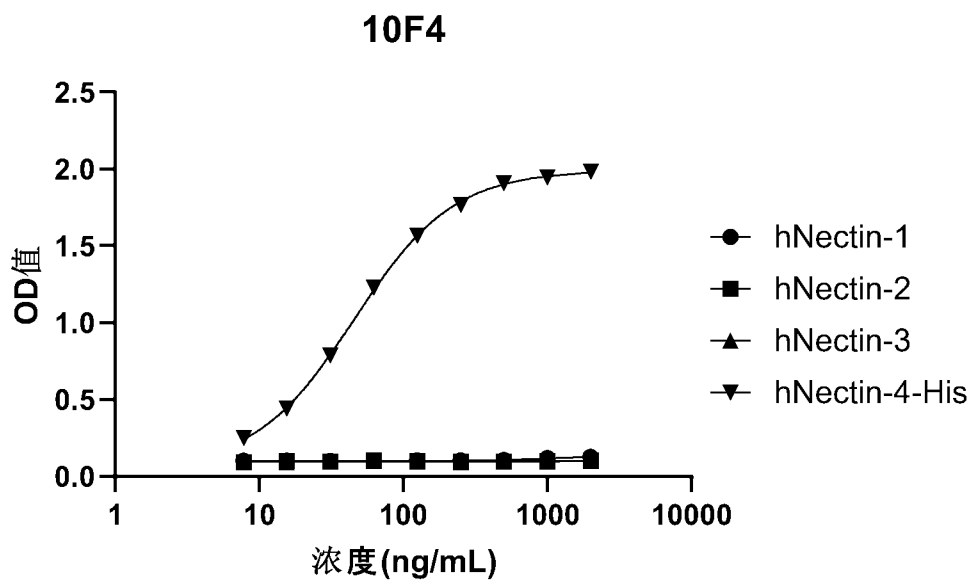


图 3D

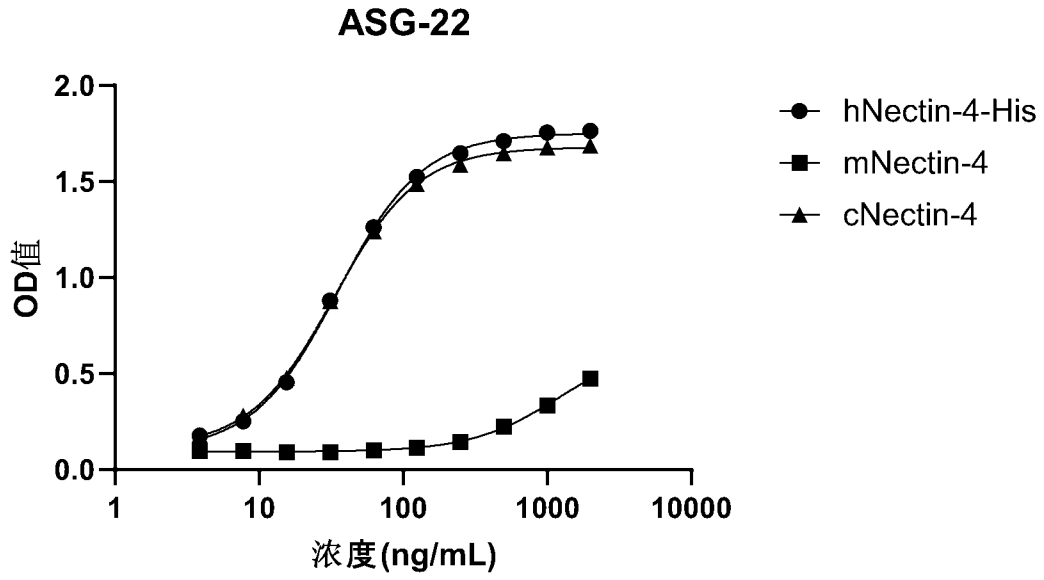


图 4A

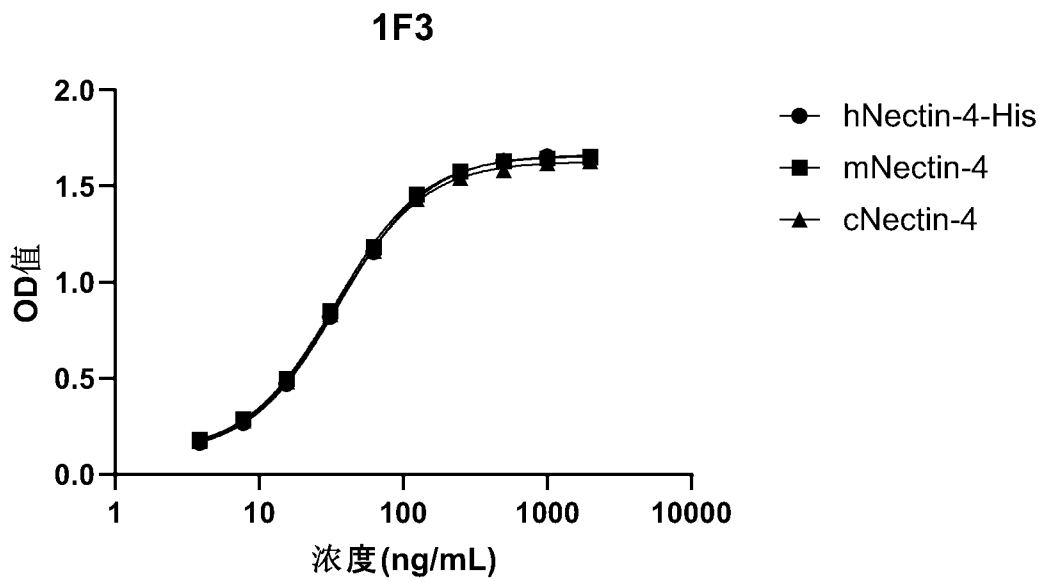


图 4B

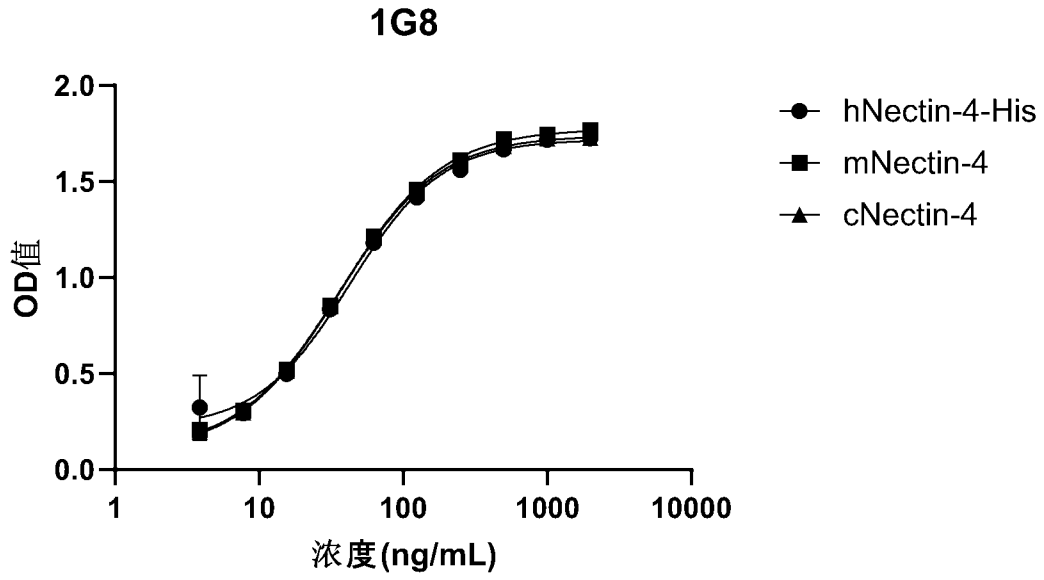


图 4C

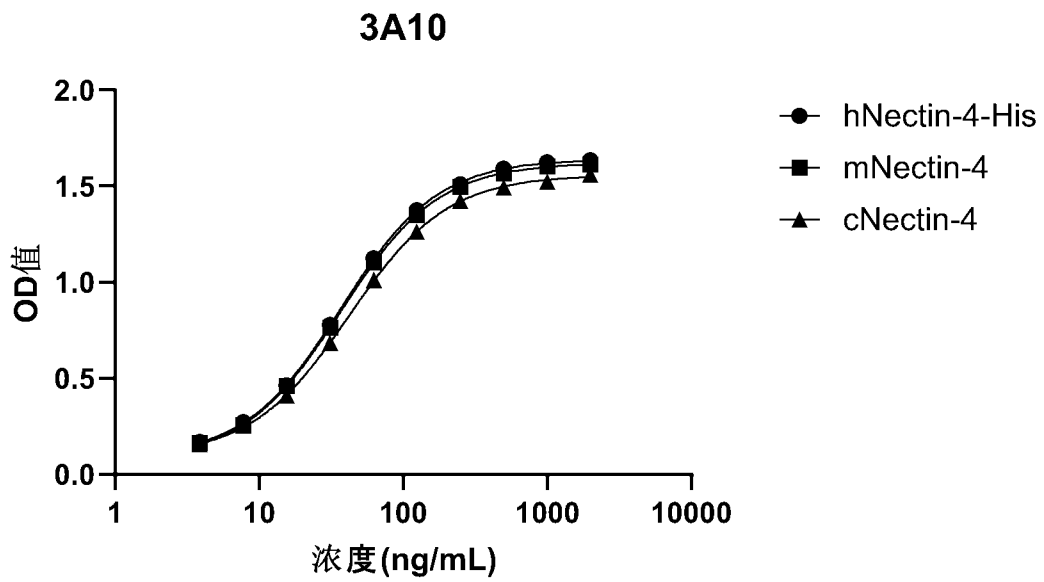


图 4D

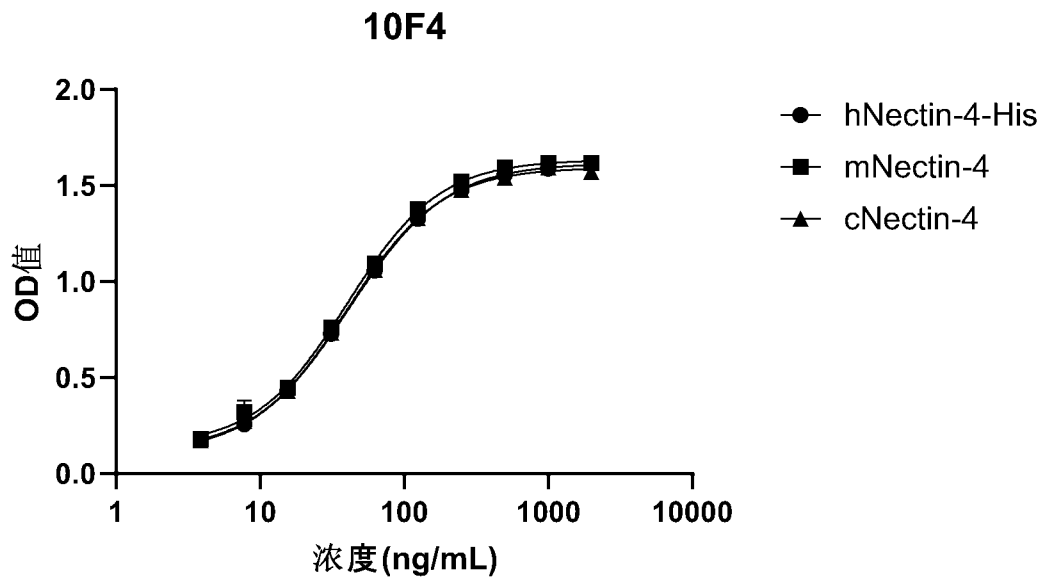


图 4E

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2023/107283

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>		
A61K39/395(2006.01)i; A61P35/00(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)		
IPC:A61K, A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
CNTXT, DWPI, ENTXT, ENTXTC, VEN, WPABS, WPABSC, PUBMED, ISI WEB OF SCIENCE, GenBank, STN: 百奥泰生物制药股份有限公司, 脊髓灰质炎病毒受体相关蛋白, 抗体, antibody, PRR4, PVRL4, Nectin-4, poliovirus receptor-related, poliovirus receptor-like protein 4, CDR, SEQ ID NOs: 8-24, 234-248, 304-317		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 113527486 A (MABWELL (SHANGHAI) BIOSCIENCE CO., LTD.) 22 October 2021 (2021-10-22) entire document	1-14
A	CN 114514246 A (UNIVERSITÉ D'AIX-MARSEILLE et al.) 17 May 2022 (2022-05-17) entire document	1-14
A	US 2011301056 A1 (ONCOTHERAPY SCIENCE, INC.) 08 December 2011 (2011-12-08) entire document	1-14
A	US 2018243434 A1 (INSERM et al.) 30 August 2018 (2018-08-30) entire document	1-14
A	WO 2021213434 A1 (MABWELL (SHANGHAI) BIOSCIENCE CO., LTD.) 28 October 2021 (2021-10-28) entire document	1-14
A	WO 2022051591 A2 (NOVAROCK BIOTHERAPEUTICS, LTD.) 10 March 2022 (2022-03-10) entire document	1-14
<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 "D" document cited by the applicant in the international application "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		Date of mailing of the international search report
17 October 2023		24 October 2023
Name and mailing address of the ISA/CN		Authorized officer
China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088		Telephone No.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	杨坤等 (YANG, Kun et al.). "Nectin-4 蛋白在乳腺癌中表达的研究 (Expression of Nectin-4 in Breast Carcinoma and Its Clinical Significance)" <i>实用肿瘤杂志 (Journal of Practical Oncology)</i> , Vol. 28, No. (3), 31 December 2013 (2013-12-31), pp. 270-272	1-14
A	WONG, J.L. et al. "Targeting Nectin-4 by Antibody-Drug Conjugates for the Treatment of Urothelial Carcinoma" <i>Expert Opinion on Biological Therapy</i> , Vol. 21, No. (7), 31 July 2021 (2021-07-31), pp. 863-873	1-14
A	CHATTERJEE, S. et al. "Nectin Cell Adhesion Molecule-4 (NECTIN-4): A Potential Target for Cancer Therapy" <i>European Journal of Pharmacology</i> , Vol. vol. 911, 20 September 2021 (2021-09-20), Document number: 174516	1-14



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2023/107283

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.
  - b.  furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)),  
 accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.
2.  With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.
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.: **13 (in part), 14**  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
  
Claims 13 (in part) and 14 relate to a method for treating tumors, which falls within methods for treatment of diseases (PCT Rule 39.1(iv)); however, a search is still conducted on the basis of a pharmaceutical use thereof.
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/CN2023/107283**

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
CN	113527486	A	22 October 2021	None	
CN	114514246	A	17 May 2022	US	2023183337 A1 15 June 2023
				JP	2022551537 A 09 December 2022
				IL	291966 A 01 June 2022
				AU	2020364959 A1 07 April 2022
				KR	20220079614 A 13 June 2022
				WO	2021069508 A1 15 April 2021
				CA	3156451 A1 15 April 2021
				EP	4041765 A1 17 August 2022
US	2011301056	A1	08 December 2011	WO	2010067487 A1 17 June 2010
				EP	2373794 A1 12 October 2011
				EP	2373794 A4 05 September 2012
				JP	2012511305 A 24 May 2012
US	2018243434	A1	30 August 2018	JP	2018531913 A 01 November 2018
				JP	6985252 B2 22 December 2021
				US	10675357 B2 09 June 2020
				WO	2017042210 A1 16 March 2017
				EP	3347048 A1 18 July 2018
				EP	3347048 B1 01 April 2020
				ES	2794557 T3 18 November 2020
WO	2021213434	A1	28 October 2021	BR	112022021322 A2 06 December 2022
				CA	3176385 A1 28 October 2021
				EP	4141029 A1 01 March 2023
				US	2023265183 A1 24 August 2023
				AU	2021260639 A1 08 December 2022
				KR	20230007406 A 12 January 2023
				JP	2023522229 A 29 May 2023
WO	2022051591	A2	10 March 2022	KR	20230060509 A 04 May 2023
				EP	4208259 A2 12 July 2023
				AU	2021337687 A1 23 March 2023
				CA	3193584 A1 10 March 2022
				WO	2022051591 A3 21 April 2022

第I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:
  - b.  为国际检索的目的在国际申请日之后提交(细则13之三.1(a)),  
 附有说明序列列表不超出所提交国际申请公开范围的声明。
2.  本报告是在没有收到符合WIPO ST.26标准的序列列表的情况下,考虑了国际申请中披露的任何核苷酸和/或氨基酸序列,在可进行有意义检索的范围内做出的。
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：13（部分）、14  
因为它们涉及不要求本单位进行检索的主题，即：  
权利要求13（部分）和14涉及治疗肿瘤的方法，属于PCT Rule 39.1（iv）规定的疾病的治疗方法，但仍然基于其制药用途进行了检索。
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。

<p>A. 主题的分类</p> <p>A61K39/395(2006.01)i; A61P35/00(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>IPC:A61K, A61P</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>CNTEXT,DWPI,ENTXT,ENTXTC,VEN,WPABS,WPABSC, PUBMED, ISI WEB OF SCIENCE, GenBank, STN:百奥泰生物制药股份有限公司,脊髓灰质炎病毒受体相关蛋白,抗体, antibody, PRR4,PVRL4,Nectin-4, poliovirus receptor-related, poliovirus receptor-like protein 4, CDR, SEQ ID NOs:8-24,234-248, 304-317</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 113527486 A (迈威(上海)生物科技股份有限公司) 2021年10月22日 (2021 - 10 - 22) 全文</td> <td>1-14</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 114514246 A (埃克斯-马赛大学 等) 2022年5月17日 (2022 - 05 - 17) 全文</td> <td>1-14</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>US 2011301056 A1 (ONCOTHERAPY SCIENCE, INC.) 2011年12月8日 (2011 - 12 - 08) 全文</td> <td>1-14</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>US 2018243434 A1 (INSERM 等) 2018年8月30日 (2018 - 08 - 30) 全文</td> <td>1-14</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>WO 2021213434 A1 (MABWELL (SHANGHAI) BIOSCIENCE CO., LTD.) 2021年10月28日 (2021 - 10 - 28) 全文</td> <td>1-14</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>WO 2022051591 A2 (NOVAROCK BIOTHERAPEUTICS, LTD.) 2022年3月10日 (2022 - 03 - 10) 全文</td> <td>1-14</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 113527486 A (迈威(上海)生物科技股份有限公司) 2021年10月22日 (2021 - 10 - 22) 全文	1-14	A	CN 114514246 A (埃克斯-马赛大学 等) 2022年5月17日 (2022 - 05 - 17) 全文	1-14	A	US 2011301056 A1 (ONCOTHERAPY SCIENCE, INC.) 2011年12月8日 (2011 - 12 - 08) 全文	1-14	A	US 2018243434 A1 (INSERM 等) 2018年8月30日 (2018 - 08 - 30) 全文	1-14	A	WO 2021213434 A1 (MABWELL (SHANGHAI) BIOSCIENCE CO., LTD.) 2021年10月28日 (2021 - 10 - 28) 全文	1-14	A	WO 2022051591 A2 (NOVAROCK BIOTHERAPEUTICS, LTD.) 2022年3月10日 (2022 - 03 - 10) 全文	1-14
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求																					
A	CN 113527486 A (迈威(上海)生物科技股份有限公司) 2021年10月22日 (2021 - 10 - 22) 全文	1-14																					
A	CN 114514246 A (埃克斯-马赛大学 等) 2022年5月17日 (2022 - 05 - 17) 全文	1-14																					
A	US 2011301056 A1 (ONCOTHERAPY SCIENCE, INC.) 2011年12月8日 (2011 - 12 - 08) 全文	1-14																					
A	US 2018243434 A1 (INSERM 等) 2018年8月30日 (2018 - 08 - 30) 全文	1-14																					
A	WO 2021213434 A1 (MABWELL (SHANGHAI) BIOSCIENCE CO., LTD.) 2021年10月28日 (2021 - 10 - 28) 全文	1-14																					
A	WO 2022051591 A2 (NOVAROCK BIOTHERAPEUTICS, LTD.) 2022年3月10日 (2022 - 03 - 10) 全文	1-14																					
<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>“D” 申请人在国际申请中引证的文件</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>“&amp;” 同族专利的文件</p>																							
<p>国际检索实际完成的日期</p> <p>2023年10月17日</p>		<p>国际检索报告邮寄日期</p> <p>2023年10月24日</p>																					
<p>ISA/CN的名称和邮寄地址</p> <p>中国国家知识产权局 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088</p>		<p>授权官员</p> <p>李恩</p> <p>电话号码 (+86) 010-53961874</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	杨坤等. "Nectin-4 蛋白在乳腺癌中表达的研究" 实用肿瘤杂志, 第28卷, 第3期, 2013年12月31日 (2013 - 12 - 31), 第270-272页	1-14
A	WONG, J.L. 等. "Targeting nectin-4 by antibody-drug conjugates for the treatment of urothelial carcinoma" EXPERT OPINION ON BIOLOGICAL THERAPY, 第21卷, 第7期, 2021年7月31日 (2021 - 07 - 31), 第863-873页	1-14
A	CHATTERJEE, S. 等. "Nectin cell adhesion molecule-4 (NECTIN-4): A potential target for cancer therapy" EUROPEAN JOURNAL OF PHARMACOLOGY, 第911卷, 2021年9月20日 (2021 - 09 - 20), 文献号: 174516	1-14

国际检索报告  
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2023/107283

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	113527486	A	2021年10月22日	无			
CN	114514246	A	2022年5月17日	US	2023183337	A1	2023年6月15日
				JP	2022551537	A	2022年12月9日
				IL	291966	A	2022年6月1日
				AU	2020364959	A1	2022年4月7日
				KR	20220079614	A	2022年6月13日
				WO	2021069508	A1	2021年4月15日
				CA	3156451	A1	2021年4月15日
				EP	4041765	A1	2022年8月17日
US	2011301056	A1	2011年12月8日	WO	2010067487	A1	2010年6月17日
				EP	2373794	A1	2011年10月12日
				EP	2373794	A4	2012年9月5日
				JP	2012511305	A	2012年5月24日
US	2018243434	A1	2018年8月30日	JP	2018531913	A	2018年11月1日
				JP	6985252	B2	2021年12月22日
				US	10675357	B2	2020年6月9日
				WO	2017042210	A1	2017年3月16日
				EP	3347048	A1	2018年7月18日
				EP	3347048	B1	2020年4月1日
				ES	2794557	T3	2020年11月18日
WO	2021213434	A1	2021年10月28日	BR	112022021322	A2	2022年12月6日
				CA	3176385	A1	2021年10月28日
				EP	4141029	A1	2023年3月1日
				US	2023265183	A1	2023年8月24日
				AU	2021260639	A1	2022年12月8日
				KR	20230007406	A	2023年1月12日
				JP	2023522229	A	2023年5月29日
WO	2022051591	A2	2022年3月10日	KR	20230060509	A	2023年5月4日
				EP	4208259	A2	2023年7月12日
				AU	2021337687	A1	2023年3月23日
				CA	3193584	A1	2022年3月10日
				WO	2022051591	A3	2022年4月21日