

权利要求书

1. 一种抗原结合构建体,其包含单价且特异性地结合 HER2 表达细胞上的 HER2 的 ECD4 抗原的第一抗原结合片段,所述第一抗原结合片段为 scFv;所述第一抗原结合片段的重链可变区包含根据 Kabat 编号系统的位置 30 处的氨基酸突变,优选地,突变后的氨基酸为 E,或/和所述第一抗原结合片段的轻链可变区包含根据 Kabat 编号系统的位置 53 处的氨基酸突变,优选地,突变后的氨基酸为 Y。
2. 根据权利要求 1 所述的抗原结合构建体,其中所述第一抗原结合片段的重链可变区包含根据 Kabat 编号系统的 K30E 突变,或/和所述第一抗原结合片段的轻链可变区包含根据 Kabat 编号系统的 F53Y 突变。
3. 根据权利要求 1 或 2 所述的抗原结合构建体,其为抗体。
4. 根据权利要求 1-3 任一项所述的抗原结合构建体,其中所述的第一抗原结合片段包含选自以下的 CDR 的组:
 - i. 包含重链 CDR1、重链 CDR2 和重链 CDR3,所述重链 CDR1、重链 CDR2 和重链 CDR3 包含分别根据 SEQ ID NOs: 27、28 和 29 的氨基酸序列;
 - ii. 包含重链 CDR1、重链 CDR2 和重链 CDR3,所述重链 CDR1、重链 CDR2 和重链 CDR3 包含与分别根据 SEQ ID NOs: 27、28 和 29 的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列;
 - iii. 包含轻链 CDR1、轻链 CDR2 和轻链 CDR3,所述轻链 CDR1、轻链 CDR2 和轻链 CDR3 包含分别根据 SEQ ID NOs: 30、34 和 32 的氨基酸序列;
 - iv. 包含轻链 CDR1、轻链 CDR2 和轻链 CDR3,所述轻链 CDR1、轻链 CDR2 和轻链 CDR3 包含与分别根据 SEQ ID NOs: 30、34 和 32 的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列;
 - v. 包含重链 CDR1、重链 CDR2、重链 CDR3、轻链 CDR1、轻链 CDR2 和轻链 CDR3,所述重链 CDR1、重链 CDR2 和重链 CDR3 包含分别根据 SEQ ID NOs: 27、28 和 29 的氨基酸序列,所述轻链 CDR1、轻链 CDR2 和轻链 CDR3 包含分别根据 SEQ ID NOs: 30、34 和 32 的氨基酸序列;
 - vi. 包含重链 CDR1、重链 CDR2、重链 CDR3、轻链 CDR1、轻链 CDR2 和轻链 CDR3,所述重链 CDR1、重链 CDR2 和重链 CDR3 包含与分别根据 SEQ ID NOs: 27、28 和 29 的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列,所述轻链 CDR1、轻链 CDR2 和轻链 CDR3 包含与分别根据 SEQ ID NOs: 30、34 和 32 的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列;
 - vii. 包含重链 CDR1、重链 CDR2、重链 CDR3、轻链 CDR1、轻链 CDR2 和轻链 CDR3,所述重链 CDR1、重链 CDR2 和重链 CDR3 包含分别根据 SEQ ID NOs: 43、28 和 29 的氨基酸序列,所述轻链 CDR1、轻链 CDR2 和轻链 CDR3 包含分别根据 SEQ ID NOs: 30、31 和 32 的氨基酸序列;
 - viii. 包含重链 CDR1、重链 CDR2、重链 CDR3、轻链 CDR1、轻链 CDR2 和轻链 CDR3,所述重链 CDR1、重链 CDR2 和重链 CDR3 包含分别根据 SEQ ID NOs: 43、28 和 29 的氨基酸序列,所述轻链 CDR1、轻链 CDR2 和轻链 CDR3 包含分别根据 SEQ ID NOs: 30、33 和 32 的氨基酸序列;或
 - ix. 包含重链 CDR1、重链 CDR2、重链 CDR3、轻链 CDR1、轻链 CDR2 和轻链 CDR3,所述重链 CDR1、重链 CDR2 和重链 CDR3 包含分别根据 SEQ ID NOs: 44、28 和 29 的氨基酸序列,所述轻链 CDR1、轻链 CDR2 和轻链 CDR3 包含分别根据 SEQ ID NOs: 30、31 和 32 的氨基酸序列。
5. 根据权利要求 1-4 任一项所述的抗原结合构建体,其中所述的第一抗原结合片段包含曲妥珠单抗的重链可变区或其突变体,以及曲妥珠单抗的轻链可变区或其突变体,所述重链可变区的突变体包含根据 Kabat 编号系统的 K30E 突变,轻链可变区的突变体包含根据 Kabat 编号系统的 F53Y 突变。
6. 根据权利要求 4-5 任一项所述的抗原结合构建体,其中所述的第一抗原结合片段选自:
 - i. 所述的第一抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区和轻链可变区包含分别根据 SEQ ID NOs: 41 和 42 的氨基酸序列;
 - ii. 所述的第一抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区和轻链可变区包含与分别根据 SEQ ID NOs: 41 和 42 的氨基酸序列具有至少 80%同一性的氨基酸序列;
 - iii. 所述的第一抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区和轻链可变区包含分别根据 SEQ ID NOs: 35 和 36 的氨基酸序列;
 - iv. 所述的第一抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区和轻链可变区包含分别根据 SEQ ID NOs: 35 和 39 的氨基酸序列;或
 - v. 所述的第一抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区,所述重链可变区和轻链可变区包含分别根据 SEQ ID NOs: 40 和 36 的氨基酸序列。
7. 根据权利要求 1-6 任一项所述的抗原结合构建体,其中所述的第一抗原结合片段的 VH 和 VL 从 N-末端到 C-末端按照如下顺序排列: VH-linker-VL。
8. 根据权利要求 1-7 任一项所述的抗原结合构建体,其中所述抗原结合构建体还包含单价且特异性地结合

HER2 表达细胞上的 HER2 的 ECD2 抗原的第二抗原结合片段。

9. 根据权利要求 8 所述的抗原结合构建体，其中所述的第二抗原结合片段为 Fab。
10. 根据权利要求 8 或 9 所述的抗原结合构建体，其中所述的第二抗原结合片段包含帕妥珠单抗的重链 CDR1、重链 CDR2、重链 CDR3、轻链 CDR1、轻链 CDR2 和轻链 CDR3。
11. 根据权利要求 8 或 9 所述的抗原结合构建体，其中所述的第二抗原结合片段包含帕妥珠单抗的重链可变区和帕妥珠单抗的轻链可变区。
12. 根据权利要求 8-11 任一项所述的抗原结合构建体，其中抗原结合构建体包含与第一抗原结合片段或/和第二抗原结合片段可操作地连接的免疫球蛋白功能域，所述免疫球蛋白功能域包含：i. CL，CH1，CH2，或 CH3 中的一个或多个，或者 ii. Fc。
13. 根据权利要求 12 所述的抗原结合构建体，其中所述 CL、CH1、CH2、CH3、Fc 分别衍生自人 IgG 的 CL、CH1、CH2、CH3、Fc。
14. 根据权利要求 12 所述的抗原结合构建体，其中所述 CL、CH1、CH2，CH3 或 Fc 具有修饰或不具有修饰；优选，所述 CH3 或 Fc 具有的修饰例如是根据 Kabat 编号系统的第 435 或/和第 436 位氨基酸的取代。
15. 根据权利要求 12 所述的抗原结合构建体，其中所述 Fc 为包含第一 Fc 多肽和第二 Fc 多肽的二聚 Fc，第一抗原结合片段与第一 Fc 多肽的可操作地连接，第二抗原结合片段与第二 Fc 多肽的可操作地连接。
16. 根据权利要求 1-15 任一项所述的抗原结合构建体，其中抗原结合构建体为双特异性抗体或多特异性抗体。
17. 根据权利要求 1-15 任一项所述的抗原结合构建体，其是二价的或多价的。
18. 根据权利要求 1-7 任一项所述的抗原结合构建体，其中抗原结合构建体为单特异性抗体；其中所述的抗原结合构建体为单价的、二价的或多价的。
19. 根据权利要求 1 所述的抗原结合构建体，其选自下组：
 - i. 所述抗原结合构建体为二价双特异性抗体，其包含：包含 SEQ ID NO：11 的重链、包含 SEQ ID NO：13 的重链和包含 SEQ ID NO：15 的轻链；
 - ii. 所述抗原结合构建体为二价双特异性抗体，其包含：包含 SEQ ID NO：21 的重链、包含 SEQ ID NO：13 的重链和包含 SEQ ID NO：15 的轻链；
 - iii. 所述抗原结合构建体为二价双特异性抗体，其包含：包含 SEQ ID NO：23 的重链、包含 SEQ ID NO：13 的重链和包含 SEQ ID NO：15 的轻链；
 - iv. 所述抗原结合构建体为二价单特异性抗体，其包含 SEQ ID NO：3 的氨基酸序列；
 - v. 所述抗原结合构建体为二价单特异性抗体，其包含 SEQ ID NO：9 的氨基酸序列；或
 - vi. 所述抗原结合构建体为二价单特异性抗体，其包含 SEQ ID NO：51 的氨基酸序列。
20. 根据权利要求 1-19 任一项所述的抗原结合构建体，其中所述的抗原结合构建体与第 30 位非 E 或/和第 53 位为非 Y 的抗原结合构建体相比具有降低的聚集性；或/和，所述的抗原结合构建体与第 30 位非 E 或/和第 53 位为非 Y 的抗原结合构建体相比未显著降低对 HER2 的 ECD4 抗原或/和 ECD2 抗原的结合亲和力。
21. 根据权利要求 1-20 任一项所述的抗原结合构建体，其中所述的抗原结合构建体是无岩藻糖基化的。
22. 一种药物组合物，其包含根据权利要求 1-21 任一项所述的抗原结合构建体和药学上可接受的载体。
23. 一种分离的核酸或分离的核酸集合，其包含编码根据权利要求 1-21 任一项所述的抗原结合构建体的至少一个抗原结合片段的至少一个核酸序列。
24. 一种载体或载体集合，其包含根据权利要求 23 所述的核酸或核酸集合中的一种或多种。
25. 一种分离的细胞，其包含根据权利要求 23 所述的核酸或核酸集合，或根据权利要求 24 所述的载体或载体集合。
26. 一种制备根据权利要求 1-21 任一项所述的抗原结合构建体的方法，其包括在适于表达所述抗原结合构建体的条件下培养宿主细胞，其中所述宿主细胞包含编码所述抗原结合构建体的核酸、或者根据权利要求 24 所述的载体或载体集合；并且纯化所述构建体。
27. 一种治疗患有 HER2 表达肿瘤的受试者的方法，其包括向所述受试者施用治疗有效量的根据权利要求 1-21 中任一项所述的抗原结合构建体或根据权利要求 22 所述的药物组合物。
28. 根据权利要求 27 所述的方法，包括使肿瘤细胞与所述抗原结合构建体接触，从而杀伤 HER2 表达肿瘤细胞或抑制 HER2 表达肿瘤细胞生长。
29. 根据权利要求 27 或 28 所述的方法，其中肿瘤为胆道癌、癌肉瘤、食管癌、胃食管结合部癌、乳腺癌、胃癌、胰腺癌、头颈癌、结直肠癌、肾癌、宫颈癌、卵巢癌、子宫内膜癌、子宫癌、恶性黑色素瘤、咽癌、

口腔癌或皮肤癌。

30. 根据权利要求 27-29 任一项所述的方法，包括向细胞施用有效量的所述抗原结合构建体或所述药物组合物，从而抑制、减少或阻断细胞中的 HER2 信号传导。

31. 一种增强抗原结合构建体的聚集抗性的方法，其中，所述抗原结合构建体包含单价且特异性地结合 HER2 表达细胞上的 HER2 的 ECD4 抗原的第一抗原结合片段，所述第一抗原结合片段为 scFv；所述方法包括：对所述抗原结合构建体进行修饰，使得所述第一抗原结合片段的重链可变区包含根据 Kabat 编号系统的位置 30 处的氨基酸突变，突变后的氨基酸为 E，或/和所述第一抗原结合片段的轻链可变区包含根据 Kabat 编号系统的位置 53 处的氨基酸突变，突变后的氨基酸为 Y。