

针对 CCR8 和 CTLA4 的双特异性抗体

相关申请的交叉引用

本申请要求 2023 年 10 月 17 日提交的中国专利申请 202311346588.1 的优先权，该专
5 利申请的全部内容以引用的方式整体并入本文。

技术领域

本申请属于生物医药技术领域，更具体地，本申请涉及能够特异性结合 CTLA4 的抗
体或其抗原结合片段以及单域抗体或其抗原结合片段，本申请还涉及包含所述抗体或其
10 抗原结合片段的免疫缀合物、药物组合物和多特异性分子。进一步的，本申请还涉及能
够特异性结合 CCR8 和 CTLA4 的多特异性分子及其用途。

背景技术

调节性 T (Treg)细胞在维持体内平衡和自我耐受中起着关键作用。肿瘤微环境中
15 存在大量的 Treg 细胞，其阻碍抗肿瘤免疫反应和免疫监视，从而促进肿瘤的发生和
发展。目前有许多 Treg 靶向疗法正处于临床研究中，但是由于难以选择性靶向肿瘤
浸润性 Treg 细胞，许多药物显示出有限的疗效和/或高全身毒性。

CCR8 是一种趋化因子受体，研究发现其主要在肿瘤相关 Tregs 上表达。然而，
也有研究报道其他的效应 T 细胞群也表达 CCR8，这对 CCR8 阳性细胞消除增加了
20 不确定性。为了特异性靶向肿瘤 Tregs，选择肿瘤浸润性 Tregs 上组成性表达的
CTLA-4 作为 CCR8 的靶标对，生成 IgG-like 的双特异性抗体，以优先消除 CCR8 x
CTLA-4 双阳性肿瘤浸润 Treg 细胞，能够对单阳性细胞的干扰最小。因此，双特异
性抗体比相应的单特异性抗体药物具有更强的抗肿瘤活性和有限的免疫毒性，可能
更安全、更特异性和高效的清除肿瘤浸润 treg。

25 综上，本领域迫切需要开发一种靶向 Treg 细胞上 CCR8 x CTLA-4 的双特异性
抗体，以提高抗体特异性和安全性，增强肿瘤治疗效果。

发明内容

综上，为了特异性靶向肿瘤 Tregs，本申请选择 Tregs 上组成性表达的 CTLA-4
30 作为 CCR8 的靶标对，并开发了单克隆抗体/纳米抗体，进一步生成了 IgG-like 的双

特异性抗体，以优先消除 CCR8 x CTLA-4 双阳性肿瘤浸润 Treg 细胞，并对单阳性细胞的干扰最小。

CTLA4 单克隆抗体

在第一方面，本申请提供了一种能够特异性结合 CTLA4 的抗体或其抗原结合片段，

5 所述抗体或其抗原结合片段包含：

(a) 包含下述 3 个互补决定区 (CDRs) 的重链可变区 (VH)：

(i) VH CDR1，其由 SEQ ID NO: 48 或 54 所示的序列组成，或与其相比具有一个或几个氨基酸的置换、缺失或添加（例如 1 个，2 个或 3 个氨基酸的置换、缺失或添加）的序列，

10 (ii) VH CDR2，其由 SEQ ID NO: 49 或 55 所示的序列组成，或与其相比具有一个或几个氨基酸的置换、缺失或添加（例如 1 个，2 个或 3 个氨基酸的置换、缺失或添加）的序列，和

(iii) VH CDR3，其由 SEQ ID NO: 50 或 56 所示的序列组成，或与其相比具有一个或几个氨基酸的置换、缺失或添加（例如 1 个，2 个或 3 个氨基酸的置换、缺失或添加）的序列；

和/或，

(b) 包含下述 3 个互补决定区 (CDRs) 的轻链可变区 (VL)：

(iv) VL CDR1，其由下述序列组成：SEQ ID NO: 51 或 57，或与其相比具有一个或几个氨基酸的置换、缺失或添加（例如 1 个，2 个或 3 个氨基酸的置换、缺失或添加）的序列，

(v) VL CDR2，其由下述序列组成：SEQ ID NO: 52 或 58，或与其相比具有一个或几个氨基酸的置换、缺失或添加（例如 1 个，2 个或 3 个氨基酸的置换、缺失或添加）的序列，和

(vi) VL CDR3，其由下述序列组成：SEQ ID NO: 53 或 59，或与其相比具有一个或几个氨基酸的置换、缺失或添加（例如 1 个，2 个或 3 个氨基酸的置换、缺失或添加）的序列。

在某些实施方案中，(i)-(vi)中任一项所述的置换为保守置换。

在某些实施方案中，(i)-(vi)任一项中所述的 CDR 根据 Kabat、IMGT 或 Chothia 编号系统定义。

30 在某些实施方案中，(i)-(vi)任一项中所述的 CDR 根据 IMGT 编号系统定义。

在某些实施方案中，如前所述的抗体或其抗原结合片段，其包含：如下 3 个重链 CDRs：如 SEQ ID NO: 48 所示的 VH CDR1、如 SEQ ID NO: 49 所示的 VH CDR2、如 SEQ ID NO: 50 所示的 VH CDR3；和/或，如下 3 个轻链 CDRs：如 SEQ ID NO: 51 所示的 VL CDR1、如 SEQ ID NO: 52 所示的 VL CDR2、如 SEQ ID NO: 53 所示的 VL CDR3。

在某些实施方案中，如前所述的抗体或其抗原结合片段，其包含：如下 3 个重链 CDRs：如 SEQ ID NO: 54 所示的 VH CDR1、如 SEQ ID NO: 55 所示的 VH CDR2、如 SEQ ID NO: 56 所示的 VH CDR3；和/或，如下 3 个轻链 CDRs：如 SEQ ID NO: 57 所示的 VL CDR1、如 SEQ ID NO: 58 所示的 VL CDR2、如 SEQ ID NO: 59 所示的 VL CDR3。

在某些实施方案中，所述抗体或其抗原结合片段进一步包含人免疫球蛋白的框架区。

在某些实施方案中，如前所述的抗体或其抗原结合片段包含：

(a) 重链可变区 (VH)，其包含选自下列的氨基酸序列：

(i) SEQ ID NO: 3 或 5 所示的序列；

(ii) 与 SEQ ID NO: 3 或 5 所示的序列相比具有一个或几个氨基酸的置换、缺失或添加（例如 1 个，2 个，3 个，4 个或 5 个氨基酸的置换、缺失或添加）的序列；或

(iii) 与 SEQ ID NO: 3 或 5 所示的序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、至少 99%、或 100% 的序列同一性的序列；

和/或

(b) 轻链可变区 (VL)，其包含选自下列的氨基酸序列：

(iv) SEQ ID NO: 4 或 6 所示的序列；

(v) 与 SEQ ID NO: 4 或 6 所示的序列相比具有一个或几个氨基酸的置换、缺失或添加（例如 1 个，2 个，3 个，4 个或 5 个氨基酸的置换、缺失或添加）的序列；或

(vi) 与 SEQ ID NO: 4 或 6 所示的序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、至少 99%、或 100% 的序列同一性的序列。

在某些实施方案中，(ii)或(v)中所述的置换是保守置换。

在某些实施方案中，所述抗体或其抗原结合片段包含：

(1) 具有如 SEQ ID NO: 3 所示的序列的 VH 和具有如 SEQ ID NO: 4 所示的序列的 VL；或，

5 (2) 具有如 SEQ ID NO: 5 所示的序列的 VH 和具有如 SEQ ID NO: 6 所示的序列的 VL。

CTLA4 单域抗体

10 在第二方面，本申请提供了一种能够特异性结合 CTLA4 的单域抗体或其抗原结合片段，其包含：

(a) CDR1，其具有：如 SEQ ID NOs: 60、63、66 或 69 任一项所示的序列，或与 SEQ ID NOs: 60、63、66 或 69 任一项所示的序列相比具有一个或几个氨基酸的置换、缺失或添加（例如 1 个，2 个或 3 个氨基酸的置换、缺失或添加）的序列；

15 (b) CDR2，其具有：如 SEQ ID NOs: 61、64、67 或 70 任一项所示的序列，或与 SEQ ID NOs: 61、64、67 或 70 任一项所示的序列相比具有一个或几个氨基酸的置换、缺失或添加（例如 1 个，2 个或 3 个氨基酸的置换、缺失或添加）的序列；以及

(c) CDR3，其具有：如 SEQ ID NOs: 62、65、68 或 71 任一项所示的序列，或与 SEQ ID NOs: 62、65、68 或 71 任一项所示的序列相比具有一个或几个氨基酸的置换、缺失或添加（例如 1 个，2 个或 3 个氨基酸的置换、缺失或添加）的序列。

20 在某些实施方案中，所述置换为保守置换。

在某些实施方案中，所述 CDR 根据 Kabat、IMGT 或 Chothia 编号系统定义。

在某些实施方案中，所述 CDR 根据 IMGT 编号系统定义。

25 在某些实施方案中，如前所述的抗体或其抗原结合片段，其包含：如 SEQ ID NO: 60 所示的 CDR1；如 SEQ ID NO: 61 所示的 CDR2；以及，如 SEQ ID NO: 62 所示的 CDR3。

在某些实施方案中，如前所述的抗体或其抗原结合片段，其包含：如 SEQ ID NO: 63 所示的 CDR1；如 SEQ ID NO: 64 所示的 CDR2；以及，如 SEQ ID NO: 65 所示的 CDR3。

30 在某些实施方案中，如前所述的抗体或其抗原结合片段，其包含：如 SEQ ID NO:

66 所示的 CDR1；如 SEQ ID NO: 67 所示的 CDR2；以及，如 SEQ ID NO: 68 所示的 CDR3。

在某些实施方案中，如前所述的抗体或其抗原结合片段，其包含：如 SEQ ID NO: 69 所示的 CDR1；如 SEQ ID NO: 70 所示的 CDR2；以及，如 SEQ ID NO: 71 所示的 CDR3。

在某些实施方案中，如前所述抗体或其抗原结合片段包含选自下列的氨基酸序列：

(i) 如 SEQ ID NOs: 7、8、9 或 10 任一项所示的序列；

(ii) 与 SEQ ID NOs: 7、8、9 或 10 任一项所示的序列相比具有一个或几个氨基酸的置换、缺失或添加（例如 1 个，2 个，3 个，4 个或 5 个氨基酸的置换、缺失或添加）的序列；或

(iii) 与 SEQ ID NOs: 7、8、9 或 10 任一项所示的序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、至少 99%、或 100% 的序列同一性的序列。

在某些实施方案中，所述置换是保守置换。

CCR8 单克隆抗体

在另一方面，本申请提供了能够特异性结合 CCR8 的抗体或其抗原结合片段，所述抗体或其抗原结合片段包含：

(a) 包含下述 3 个互补决定区（CDRs）的重链可变区（VH）：

(i) VH CDR1，其由 SEQ ID NO: 137 所示的序列组成，或与其相比具有一个或几个氨基酸的置换、缺失或添加（例如 1 个，2 个或 3 个氨基酸的置换、缺失或添加）的序列，

(ii) VH CDR2，其由 SEQ ID NO: 138 所示的序列组成，或与其相比具有一个或几个氨基酸的置换、缺失或添加（例如 1 个，2 个或 3 个氨基酸的置换、缺失或添加）的序列，和

(iii) VH CDR3，其由 SEQ ID NO: 139 所示的序列组成，或与其相比具有一个或几个氨基酸的置换、缺失或添加（例如 1 个，2 个或 3 个氨基酸的置换、缺失或添加）的序列；

和/或，

(b) 包含下述 3 个互补决定区 (CDRs) 的轻链可变区 (VL) :

(iv) VL CDR1, 其由下述序列组成: SEQ ID NO: 75, 或与其相比具有一个或几个氨基酸的置换、缺失或添加 (例如 1 个, 2 个或 3 个氨基酸的置换、缺失或添加) 的序列,

(v) VL CDR2, 其由下述序列组成: SEQ ID NO: 76, 或与其相比具有一个或几个氨基酸的置换、缺失或添加 (例如 1 个, 2 个或 3 个氨基酸的置换、缺失或添加) 的序列,
5 和

(vi) VL CDR3, 其由下述序列组成: SEQ ID NO: 77, 或与其相比具有一个或几个氨基酸的置换、缺失或添加 (例如 1 个, 2 个或 3 个氨基酸的置换、缺失或添加) 的序列。

在某些实施方案中, (i)-(vi) 中任一项所述的置换为保守置换。

10 在某些实施方案中, (i)-(vi) 任一项中所述的 CDR 根据 Kabat、IMGT 或 Chothia 编号系统定义。

在某些实施方案中, (i)-(vi) 任一项中所述的 CDR 根据 IMGT 编号系统定义。

在某些实施方案中, 如前所述的抗体或其抗原结合片段, 其包含:

15 如下 3 个重链 CDRs: 如 SEQ ID NO: 137 所示的 VH CDR1、如 SEQ ID NO: 138 所示的 VH CDR2、如 SEQ ID NO: 139 所示的 VH CDR3; 和/或, 如下 3 个轻链 CDRs: 如 SEQ ID NO: 75 所示的 VL CDR1、如 SEQ ID NO: 76 所示的 VL CDR2、如 SEQ ID NO: 77 所示的 VL CDR3。

在某些实施方案中, 所述抗体或其抗原结合片段进一步包含人免疫球蛋白的框架
20 区。

在某些实施方案中, 如前所述的抗体或其抗原结合片段包含:

(a) 重链可变区 (VH), 其包含选自下列的氨基酸序列:

(i) SEQ ID NO: 78 或 1 所示的序列;

25 (ii) 与 SEQ ID NO: 78 或 1 所示的序列相比具有一个或几个氨基酸的置换、缺失或添加 (例如 1 个, 2 个, 3 个, 4 个或 5 个氨基酸的置换、缺失或添加) 的序列; 或

(iii) 与 SEQ ID NO: 78 或 1 所示的序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、至少 99%、或 100% 的序列同一性的序列;

30 和/或

(b) 轻链可变区 (VL)，其包含选自下列的氨基酸序列：

(iv) SEQ ID NO: 2 所示的序列；

(v) 与 SEQ ID NO: 2 所示的序列相比具有一个或几个氨基酸的置换、缺失或添加（例如 1 个，2 个，3 个，4 个或 5 个氨基酸的置换、缺失或添加）的序列；或

5 (vi) 与 SEQ ID NO: 2 所示的序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、至少 99%、或 100% 的序列同一性的序列。

在某些实施方案中，(ii)或(v)中所述的置换是保守置换。

在某些实施方案中，所述抗体或其抗原结合片段包含：具有如 SEQ ID NO: 78 或 1
10 所示的序列的 VH 和具有如 SEQ ID NO: 2 所示的序列的 VL。

在某些实施方案中，如前所述的抗体或其抗原结合片段，其进一步包含来源于人免疫球蛋白的恒定区。

在某些实施方案中，所述抗体或其抗原结合片段的重链包含来源于人免疫球蛋白
15 （例如 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4）的重链恒定区或其变体。

在某些实施方案中，所述重链恒定区具有 LALA 突变和/或 knob-into-hole 修饰。

在某些实施方案中，所述重链恒定区具有如 SEQ ID NO: 12-17、79-82 任一项所示的序列。

在某些实施方案中，所述抗体或其抗原结合片段的轻链包含来源于人免疫球蛋白
20 （例如 κ 或 λ ）的轻链恒定区。

在某些实施方案中，所述轻链恒定区具有如 SEQ ID NO: 11、81、82 任一项所示的序列。

在某些实施方案中，所述抗体或其抗原结合片段是低岩藻糖基化或无岩藻糖基化的。

25

在某些实施方案中，如前所述的抗体或其抗原结合片段，其中，所述抗原结合片段选自 Fab、Fab'、(Fab')²、Fv、二硫键连接的 Fv、scFv、双抗体(diabody)和单域抗体(sdAb)；和/或，所述抗体为鼠源抗体、嵌合抗体、人源化抗体、或多特异性抗体。

30 在另一方面，本申请提供了分离的核酸分子，其编码如前所述的抗体或其抗原结合

片段或如前所述的单域抗体或其抗原结合片段。

在另一方面，本申请提供了载体，其包含如前所述的核酸分子。在某些实施方案中，所述载体为克隆载体或表达载体。

在另一方面，本申请提供了宿主细胞，其包含如前所述的核酸分子或如前所述的载体。
5 体。

在某些实施方案中，所述宿主细胞是哺乳动物细胞。

在某些实施方案中，所述宿主细胞具有低或无岩藻糖基化活性，例如选自缺乏表达编码岩藻糖基转移酶基因的哺乳动物细胞（例如 **CHO** 细胞）。

10 在另一方面，本申请提供了制备如前所述的抗体或其抗原结合片段或如前所述的单域抗体或其抗原结合片段的方法，其包括，在允许所述抗体或其抗原结合片段表达的条件下，培养如前所述的宿主细胞，和从培养的宿主细胞培养物中回收所述抗体或其抗原结合片段。

在某些实施方案中，所述宿主细胞具有低或无岩藻糖基化活性，例如选自缺乏表达
15 编码岩藻糖基转移酶基因的哺乳动物细胞（例如 **CHO** 细胞）。

双特异性抗体

在另一方面，本申请提供了多特异性抗体（例如双特异性抗体），其包含如前所述的抗体或其抗原结合片段。

20 为了特异性靶向肿瘤 Tregs，选择肿瘤浸润性 Tregs 上组成性表达的 **CTLA-4** 作为 **CCR8** 的靶标对，生成 **IgG-like** 的双特异性抗体，以优先消除 **CCR8 x CTLA-4** 双阳性肿瘤浸润 Treg 细胞，能够对单阳性细胞的干扰最小。因此，双特异性抗体比相应的单特异性抗体药物具有更强的抗肿瘤活性和有限的免疫毒性，可能更安全、更特异性和高效地清除肿瘤浸润 treg。

25

在另一方面，本申请提供了特异性结合 **CCR8** 和 **CTLA4** 的多特异性抗体（例如双特异性抗体），其包含对 **CTLA4** 特异性的第一抗原结合结构域和对 **CCR8** 特异性的第二抗原结合结构域。

在某些实施方案中，所述第一抗原结合结构域包含：如前所述的特异性结合 **CTLA4**
30 的抗体或其抗原结合片段。

在某些实施方案中，所述第一抗原结合结构域包含：如前所述的特异性结合 CTLA4 的单域抗体或其抗原结合片段。

在某些实施方案中，所述第二抗原结合结构域包含如前所述的特异性结合 CCR8 的抗体或其抗原结合片段。

5

在某些实施方案中，所述第一抗原结合结构域是 Fab 片段、scFv 或 VHH，所述第二抗原结合结构域是 Fab 片段、scFv 或 VHH。

在某些实施方案中，所述第一抗原结合结构域是 Fab 片段或 VHH，所述第二抗原结合结构域是 Fab 片段。

10

在某些实施方案中，如前所述的多特异性抗体，其还包含 Fc 结构域，所述 Fc 结构域包含第一单体和第二单体。

在某些实施方案中，所述第一抗原结合结构域和第二抗原结合结构域分别任选地通过接头连接至所述 Fc 结构域的第一单体和第二单体的 N 端。

15

在某些实施方案中，所述 Fc 结构域包含修饰以促进第一单体和第二单体的二聚化。

在某些实施方案中，所述修饰包括在 Fc 结构域的 CH3 结构域的氨基酸置换。

在某些实施方案中，所述 Fc 结构域包含修饰以促进 cFAE (Controlled Fab-arm Exchange)。

20

在某些实施方案中，所述修饰包括在 Fc 结构域的 CH3 结构域的氨基酸置换。

在某些实施方案中，所述修饰包含在 Fc 域的两个单体之一中的“节”修饰和在 Fc 域的两个单体之另一中的“穴”修饰，以形成“节-入-穴 (knob-into-hole)”修饰。

在某些实施方案中，所述 Fc 结构域的两个单体分别包含如 SEQ ID NO: 16 和 17 所示的氨基酸序列。

25

在某些实施方案中，所述修饰包含在 Fc 域的两个单体之一中的选自 F405L 和/或 R411T 的置换和在 Fc 域的两个单体之另一中的选自 T370K 和/或 K409R 的置换，以形成促进 cFAE 的修饰。

30

在某些实施方案中，所述 Fc 结构域的两个单体分别包含如 SEQ ID NO: 13 和 14 所

示的氨基酸序列，或者分别包含如 SEQ ID NO: 79 和 80 所示的氨基酸序列。

在某些实施方案中，其是低岩藻糖基化或无岩藻糖基化的。

- 5 在某些实施方案中，所述第一抗原结合结构域是 Fab 片段，所述第二抗原结合结构域是 Fab 片段，所述多特异性抗体包含：

(i) 第一肽链，其包含所述第一抗原结合结构域的 VL 和第一轻链恒定区 (CL)；
优选地，所述第一 CL 是 kappa；

- (ii) 第二肽链，其包含所述第一抗原结合结构域的 VH 和第一重链恒定区
10 (CH)；优选地，所述第一 CH 是 IgG，例如 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4；

(iii) 第三肽链，其包含所述第二抗原结合结构域的 VH 和第二重链恒定区
(CH)；优选地，所述第二 CH 是 IgG，例如 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4；

(iv) 第四肽链，其包含所述第二抗原结合结构域的 VL 和第二轻链恒定区
(CL)；优选地，所述第二 CL 是 kappa。

- 15 在某些实施方案中，所述第一 CH 和第二 CH 的 Fc 结构域单体形成二聚体。在某些实施方案中，所述 Fc 结构域包含如前定义的修饰。

在某些实施方案中，所述第一 CH 和第一 CL、所述第二 CH 和第二 CL 能够分别形成二聚体。

- 20 在某些实施方案中，所述多特异性抗体包含：

(i) 第一肽链，其包含 SEQ ID NO: 4 所示序列的 VL 和 SEQ ID NO: 11、82、81、
143 所示序列的 CL；

(ii) 第二肽链，其包含 SEQ ID NO: 3 所示序列的 VH 和 SEQ ID NO: 13、80、
79、140 所示序列的 CH；

- 25 (iii) 第三肽链，其包含 SEQ ID NO: 1、78 所示序列的 VH 和 SEQ ID NO: 14、
79、80、141 所示序列的 CH；

(iv) 第四肽链，其包含 SEQ ID NO: 2 所示序列的 VL 和 SEQ ID NO: 11、81、
82、143 所示序列的 CL。

- 在某些实施方案中，所述多特异性抗体包含 SEQ ID NO: 29 所示序列的第一肽链、
30 包含 SEQ ID NO: 28 所示序列的第二肽链、包含 SEQ ID NO: 30 所示序列的第三肽链、

以及包含 SEQ ID NO: 31 所示序列的第四肽链。

在某些实施方案中，所述多特异性抗体包含 SEQ ID NO: 86 所示序列的第一肽链、包含 SEQ ID NO: 85 所示序列的第二肽链、包含 SEQ ID NO: 87 所示序列的第三肽链、以及包含 SEQ ID NO: 88 所示序列的第四肽链。

- 5 在某些实施方案中，所述多特异性抗体包含 SEQ ID NO: 96 所示序列的第一肽链、包含 SEQ ID NO: 95 所示序列的第二肽链、包含 SEQ ID NO: 93 所示序列的第三肽链、以及包含 SEQ ID NO: 94 所示序列的第四肽链。

- 在某些实施方案中，所述多特异性抗体包含 SEQ ID NO: 100 所示序列的第一肽链、包含 SEQ ID NO: 99 所示序列的第二肽链、包含 SEQ ID NO: 97 所示序列的第三肽链、
10 以及包含 SEQ ID NO: 98 所示序列的第四肽链。

在某些实施方案中，所述多特异性抗体包含 SEQ ID NO: 110 所示序列的第一肽链、包含 SEQ ID NO: 109 所示序列的第二肽链、包含 SEQ ID NO: 111 所示序列的第三肽链、以及包含 SEQ ID NO: 112 所示序列的第四肽链。

- 在某些实施方案中，所述多特异性抗体包含 SEQ ID NO: 114 所示序列的第一肽链、
15 包含 SEQ ID NO: 113 所示序列的第二肽链、包含 SEQ ID NO: 115 所示序列的第三肽链、以及包含 SEQ ID NO: 116 所示序列的第四肽链。

在某些实施方案中，所述多特异性抗体包含 SEQ ID NO: 150 所示序列的第一肽链、包含 SEQ ID NO: 148 所示序列的第二肽链、包含 SEQ ID NO: 149 所示序列的第三肽链、以及包含 SEQ ID NO: 151 所示序列的第四肽链。

- 20 在某些实施方案中，所述多特异性抗体包含 SEQ ID NO: 154 所示序列的第一肽链、包含 SEQ ID NO: 152 所示序列的第二肽链、包含 SEQ ID NO: 153 所示序列的第三肽链、以及包含 SEQ ID NO: 155 所示序列的第四肽链。

在某些实施方案中，所述多特异性抗体包含：

- 25 (i) 第一肽链，其包含 SEQ ID NO: 6 所示序列的 VL 和 SEQ ID NO: 11、82、81、143 所示序列的 CL；

(ii) 第二肽链，其包含 SEQ ID NO: 5 所示序列的 VH 和 SEQ ID NO: 13、80、79、140 所示序列的 CH；

- (iii) 第三肽链，其包含 SEQ ID NO: 1、78 所示序列的 VH 和 SEQ ID NO: 14、
30 79、80、141 所示序列的 CH；

(iv) 第四肽链，其包含 SEQ ID NO: 2 所示序列的 VL 和 SEQ ID NO: 11、81、82、143 所示序列的 CL。

在某些实施方案中，所述多特异性抗体包含 SEQ ID NO: 33 所示序列的第一肽链、包含 SEQ ID NO: 32 所示序列的第二肽链、包含 SEQ ID NO: 34 所示序列的第三肽链、
5 以及包含 SEQ ID NO: 35 所示序列的第四肽链。

在某些实施方案中，所述多特异性抗体包含 SEQ ID NO: 90 所示序列的第一肽链、包含 SEQ ID NO: 89 所示序列的第二肽链、包含 SEQ ID NO: 91 所示序列的第三肽链、以及包含 SEQ ID NO: 92 所示序列的第四肽链。

在某些实施方案中，所述多特异性抗体包含 SEQ ID NO: 104 所示序列的第一肽链、
10 包含 SEQ ID NO: 103 所示序列的第二肽链、包含 SEQ ID NO: 101 所示序列的第三肽链、以及包含 SEQ ID NO: 102 所示序列的第四肽链。

在某些实施方案中，所述多特异性抗体包含 SEQ ID NO: 108 所示序列的第一肽链、包含 SEQ ID NO: 107 所示序列的第二肽链、包含 SEQ ID NO: 105 所示序列的第三肽链、以及包含 SEQ ID NO: 106 所示序列的第四肽链。

在某些实施方案中，所述多特异性抗体包含 SEQ ID NO: 118 所示序列的第一肽链、
15 包含 SEQ ID NO: 117 所示序列的第二肽链、包含 SEQ ID NO: 119 所示序列的第三肽链、以及包含 SEQ ID NO: 120 所示序列的第四肽链。

在某些实施方案中，所述多特异性抗体包含 SEQ ID NO: 122 所示序列的第一肽链、包含 SEQ ID NO: 121 所示序列的第二肽链、包含 SEQ ID NO: 123 所示序列的第三肽链、以及包含 SEQ ID NO: 124 所示序列的第四肽链。
20

在某些实施方案中，所述多特异性抗体包含 SEQ ID NO: 158 所示序列的第一肽链、包含 SEQ ID NO: 156 所示序列的第二肽链、包含 SEQ ID NO: 157 所示序列的第三肽链、以及包含 SEQ ID NO: 159 所示序列的第四肽链。

在某些实施方案中，所述第一抗原结合结构域是 VHH，所述第二抗原结合结构域是 Fab 片段，所述多特异性抗体包含：

(i) 第一肽链，其包含所述第二抗原结合结构域的 VL 和轻链恒定区 (CL)。在某些实施方案中，所述 CL 是 kappa 轻链恒定区。

(ii) 第二肽链，其包含所述第二抗原结合结构域的 VH 和重链恒定区 (CH)。在
30 某些实施方案中，所述 CH 是 IgG，例如 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4。

和

(iii) 第三肽链，其包含所述第一抗原结合结构域和 Fc 结构域单体。在某些实施方案中，所述 Fc 结构域单体是 IgG，例如 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4。在某些实施方案中，所述 Fc 结构域单体包含铰链区、CH2 和 CH3；优选地，所述第一抗原结合结构域通过接头（例如包含一个或多个甘氨酸(G)和/或丝氨酸(S)的肽接头）连接至所述 Fc 结构域单体的 N 端。

在某些实施方案中，所述第三肽链的 Fc 结构域单体能够与所述第二肽链的重链恒定区（CH）的 Fc 结构域形成二聚体。在某些实施方案中，所述 Fc 结构域包含如前中定义的修饰。

10 在某些实施方案中，所述第一肽链的 CL 与所述第二肽链的 CH 能够形成二聚体。

在某些实施方案中，所述多特异性抗体包含：

(i) 第一肽链，其包含 SEQ ID NO: 2 所示序列的 VL 和 SEQ ID NO: 11 所示序列的 CL；

15 (ii) 第二肽链，其包含 SEQ ID NO: 1、78 所示序列的 VH 和 SEQ ID NO: 17 所示序列的 CH；和

(iii) 第三肽链，其包含 SEQ ID NO: 7、8、9、10 所示序列的 VHH 和 SEQ ID NO: 16 所示序列的 Fc 结构域单体。

20 在某些实施方案中，所述多特异性抗体包含：

(1) 包含 SEQ ID NO: 38 所示序列的第一肽链、包含 SEQ ID NO: 37 所示序列的第二肽链和包含 SEQ ID NO: 36 所示序列的第三肽链；

(2) 包含 SEQ ID NO: 41 所示序列的第一肽链、包含 SEQ ID NO: 40 所示序列的第二肽链和包含 SEQ ID NO: 39 所示序列的第三肽链；

25 (3) 包含 SEQ ID NO: 44 所示序列的第一肽链、包含 SEQ ID NO: 43 所示序列的第二肽链和包含 SEQ ID NO: 42 所示序列的第三肽链；

(4) 包含 SEQ ID NO: 47 所示序列的第一肽链、包含 SEQ ID NO: 46 所示序列的第二肽链和包含 SEQ ID NO: 45 所示序列的第三肽链。

30 (5) 包含 SEQ ID NO: 127 所示序列的第一肽链、包含 SEQ ID NO: 126 所示序列的第二肽链和包含 SEQ ID NO: 125 所示序列的第三肽链；

(6) 包含 SEQ ID NO: 130 所示序列的第一肽链、包含 SEQ ID NO: 129 所示序列的第二肽链和包含 SEQ ID NO: 128 所示序列的第三肽链；

(7) 包含 SEQ ID NO: 133 所示序列的第一肽链、包含 SEQ ID NO: 132 所示序列的第二肽链和包含 SEQ ID NO: 131 所示序列的第三肽链；

5 (8) 包含 SEQ ID NO: 136 所示序列的第一肽链、包含 SEQ ID NO: 135 所示序列的第二肽链和包含 SEQ ID NO: 134 所示序列的第三肽链。

在另一方面，本申请提供了分离的核酸分子，其包含编码如前所述的多特异性抗体或其至少一条肽链的核苷酸序列。

10

在另一方面，本申请提供了载体，其包含如前所述的分离的核酸分子。

在某些实施方案中，所述载体包含编码所述多特异性抗体的各条肽链的核苷酸序列，并且所述编码各条肽链的核苷酸序列存在于相同或不同的载体上。

15 在另一方面，本申请提供了宿主细胞，其包含如前所述的分离的核酸分子或如前所述的载体。

在某些实施方案中，所述宿主细胞具有低或无岩藻糖基化活性，例如可以是缺乏表达编码岩藻糖基转移酶（例如 FUT8）基因的哺乳动物细胞，例如 CHO 细胞。

20 在另一方面，本申请提供了制备权利要求如前所述的多特异性抗体的方法，其包括，在允许蛋白表达的条件下，培养如前所述的宿主细胞，和从培养的宿主细胞培养物中回收所述多特异性抗体。

在某些实施方案中，所述宿主细胞具有低或无岩藻糖基化活性，从而产生低或无岩藻糖化的抗体。在某些实施方案中，所述宿主细胞可以是缺乏表达编码岩藻糖基转移酶
25 （例如 FUT8）基因的哺乳动物细胞，例如 CHO 细胞。

在另一方面，本申请提供了免疫缀合物，其包含如前所述的抗体或其抗原结合片段或如前所述的单域抗体或其抗原结合片段或如前所述多特异性分子，以及连接于所述抗体或其抗原结合片段或多特异性分子的治疗剂。

30 在某些实施方案中，所述治疗剂选自细胞毒剂。

在某些实施方案中，所述治疗剂选自烷化剂、有丝分裂抑制剂、抗肿瘤抗生素、抗代谢物、拓扑异构酶抑制剂、酪氨酸激酶抑制剂、放射性核素剂，及其任意组合。

在某些实施方案中，所述免疫缀合物是抗体-药物偶联物（ADC）。

在另一方面，本申请提供了药物组合物，其包含如前所述的抗体或其抗原结合片段，或如前所述的单域抗体或其抗原结合片段，或如前所述的多特异性分子，以及药
5 学上可接受的载体和/或赋形剂。

在某些实施方案中，药物组合物还包含另外的药学活性剂。

在某些实施方案中，所述另外的药学活性剂是具有抗肿瘤活性的药物，例如烷化剂、有丝分裂抑制剂、抗肿瘤抗生素、抗代谢物、拓扑异构酶抑制剂、酪氨酸激酶抑
10 制剂、放射性核素剂、放射增敏剂、抗血管生成剂、细胞因子、分子靶向药物、免疫检查点抑制剂或溶瘤病毒。

在某些实施方案中，所述药物组合物还包含抗 PD-1 抗体。

在某些实施方案中，所述药物组合物包含如前所述的多特异性抗体和抗 PD-1 抗体。

15 在另一方面，本申请提供了试剂盒，其含有如前所述的抗体或其抗原结合片段或如前所述的单域抗体或其抗原结合片段或如前所述的多特异性抗体。

在某些实施方案中，所述抗体或其抗原结合片段带有可检测的标记，例如酶（例如辣根过氧化物酶）、放射性核素、荧光染料、发光物质（如化学发光物质）或生物素。

在某些实施方案中，所述多特异性抗体带有可检测的标记，例如酶（例如辣根过氧
20 化物酶）、放射性核素、荧光染料、发光物质（如化学发光物质）或生物素。

在另一方面，本申请提供了一种抑制表达 CCR8 和/或 CTLA4 的肿瘤细胞生长和/或杀伤所述肿瘤细胞的方法，其包括将所述肿瘤细胞与有效量的如前所述的抗体或其抗原结合片段，或如前所述的多特异性分子，或如前所述的免疫缀合物，或如前所述的药物
25 组合物接触。

在另一方面，本申请提供了如前所述的抗体或其抗原结合片段，或如前所述的单域抗体或其抗原结合片段，或如前所述的多特异性分子，或如前所述的免疫缀合物，或如前所述的药物组合物，在制备药物中的用途，所述药物用于：

30 (1) 在体外或受试者体内提高免疫细胞活性；

- (2) 在受试者中增强免疫应答;
- (3) 在受试者中预防和/治疗肿瘤; 或
- (4) 在受试者中预防和/治疗感染。

在某些实施方案中, 所述肿瘤表达 CCR8 和/或 CTLA4。

- 5 在某些实施方案中, 所述 CCR8 和/或 CTLA4 在所述肿瘤细胞表面上表达。

在某些实施方案中, 所述肿瘤选自非小细胞肺癌、小细胞肺癌、肾细胞癌、结肠直肠癌、卵巢癌、乳癌、胰脏癌、胃癌、膀胱癌、食管癌、间皮瘤、黑色素瘤、头颈部癌、甲状腺癌、肉瘤、前列腺癌、成胶质细胞瘤、子宫颈癌、胸腺癌、白血病、淋巴瘤、骨髓瘤、蕈样肉芽肿 (mycosis fungoids)、默克尔细胞癌和其它恶性血液病、如经典型霍奇金淋巴瘤 (CHL)、原发性纵膈大 B 细胞淋巴瘤、T 细胞/组织细胞的富 B 细胞淋巴瘤、EBV 阳性和阴性 PTLN 和 EBV 相关弥漫性大 B 细胞淋巴瘤 (DLBCL)、浆母细胞性淋巴瘤、结外 NK/T 细胞淋巴瘤、鼻咽癌和 HHV8 相关原发性渗出性淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤, 中枢神经系统 (CNS) 肿瘤, 例如原发性 CNS 淋巴瘤, 脊轴肿瘤, 脑干神经胶质瘤。

- 15 在某些实施方案中, 所述感染选自病毒感染、细菌感染、真菌感染和寄生虫感染。

在某些实施方案中, 所述受试者为哺乳动物, 例如人、食蟹猴或小鼠。

- 在另一方面, 本申请提供了如前所述的抗体或其抗原结合片段或如前所述的单域抗体或其抗原结合片段或如前所述的多特异性分子在制备试剂盒中的用途, 所述试剂盒用于检测肿瘤是否能够通过靶向 CCR8 和/或 CTLA4 的抗肿瘤疗法来治疗;
- 20

(1) 将含有所述肿瘤细胞的样品与如前所述的抗体或其抗原结合片段或如前所述的单域抗体或其抗原结合片段接触;

(2) 检测所述抗体或其抗原结合片段与 CCR8 和/或 CTLA4 之间复合物的形成。

- 25 在某些实施方案中, 所述抗体或其抗原结合片段带有可检测的标记。

在某些实施方案中, 所述 CCR8 和/或 CTLA4 是哺乳动物 (例如, 人, 猴) 的 CCR8 和/或 CTLA4。

- 在某些实施方案中, 所述肿瘤选自非小细胞肺癌、小细胞肺癌、肾细胞癌、结肠直肠癌、卵巢癌、乳癌、胰脏癌、胃癌、膀胱癌、食管癌、间皮瘤、黑色素瘤、头颈部癌、甲状腺癌、肉瘤、前列腺癌、成胶质细胞瘤、子宫颈癌、胸腺癌、白血病、淋巴
- 30

瘤、骨髓瘤、蕈样肉芽肿（*mycosis fungoids*）、默克尔细胞癌和其它恶性血液病、如经典型霍奇金淋巴瘤（CHL）、原发性纵膈大B细胞淋巴瘤、T细胞/组织细胞的富B细胞淋巴瘤、EBV阳性和阴性PTLD和EBV相关弥漫性大B细胞淋巴瘤（DLBCL）、浆母细胞性淋巴瘤、结外NK/T细胞淋巴瘤、鼻咽癌和HHV8相关原发性渗出性淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤，中枢神经系统（CNS）肿瘤，例如原发性CNS淋巴瘤，脊轴肿瘤，脑干神经胶质瘤。

术语定义

如本文中所使用的，术语“抗体”是指，通常由两对多肽链（每对具有一条轻链（LC）和一条重链（HC））组成的免疫球蛋白分子。抗体轻链可分类为 κ （kappa）和 λ （lambda）轻链。重链可分类为 μ 、 δ 、 γ 、 α 或 ϵ ，并且分别将抗体的同种型定义为IgM、IgD、IgG、IgA和IgE。在轻链和重链内，可变区和恒定区通过大约12或更多个氨基酸的“J”区连接，重链还包含大约3个或更多个氨基酸的“D”区。各重链由重链可变区（VH）和重链恒定区（CH）组成。重链恒定区由3个结构域（CH1、CH2和CH3）组成。各轻链由轻链可变区（VL）和轻链恒定区（CL）组成。轻链恒定区由一个结构域CL组成。恒定结构域不直接参与抗体与抗原的结合，但展现出多种效应子功能，如可介导免疫球蛋白与宿主组织或因子，包括免疫系统的各种细胞（例如，效应细胞）和经典补系统的第一组分（C1q）的结合。VH和VL区还可被细分为具有高变性的区域（称为互补决定区（CDR）），其间散布有较保守的称为构架区（FR）的区域。各VH和VL由按下列顺序：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4从氨基末端至羧基末端排列的3个CDR和4个FR组成。各重链/轻链对的可变区（VH和VL）分别形成抗原结合部位。氨基酸在各区域或结构域的分配可遵循Kabat, *Sequences of Proteins of Immunological Interest* (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987 and 1991)), 或Chothia & Lesk (1987) *J. Mol. Biol.* 196:901-917; Chothia等人 (1989) *Nature* 342:878-883的定义。

如本文中所使用的，术语“互补决定区”或“CDR”是指抗体可变区中负责抗原结合的氨基酸残基。在重链和轻链的可变区中各含有三个CDR，命名为CDR1、CDR2和CDR3。这些CDR的精确边界可根据本领域已知的各种编号系统进行定义，例如可按照Kabat编号系统（Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991）、

Chothia编号系统 (Chothia & Lesk (1987) *J. Mol. Biol.* 196:901-917; Chothia等人 (1989) *Nature* 342:878-883) 或IMGT编号系统 (Lefranc et al., *Dev. Comparat. Immunol.* 27:55-77, 2003) 中的定义。对于给定的抗体, 本领域技术人员将容易地鉴别各编号系统所定义的CDR。并且, 不同编号系统之间的对应关系是本领域技术人员熟知的 (例如, 可参见Lefranc et al., *Dev. Comparat. Immunol.* 27:55-77, 2003)。

在本发明中, 本发明的抗体或其抗原结合片段含有的CDR可根据本领域已知的各种编号系统确定。在某些实施方案中, 本发明的抗体或其抗原结合片段含有的CDR优选地通过Kabat、Chothia或IMGT编号系统确定。

如本文中所使用的, 术语“构架区”或“FR”残基是指, 抗体可变区中除了如上定义的CDR残基以外的那些氨基酸残基。

术语“抗体”不受任何特定的产生抗体的方法限制。例如, 其包括, 重组抗体、单克隆抗体和多克隆抗体。抗体可以是不同同种型的抗体, 例如, IgG (例如, IgG1, IgG2, IgG3或IgG4亚型), IgA1, IgA2, IgD, IgE或IgM抗体。

如本文中所使用的, 术语“单克隆抗体”、“单抗”、“mAb”具有相同的含义且可互换使用可互换, 其是指, 来自一群高度同源的抗体分子中的一个抗体或抗体的一个片段, 也即, 除可能自发出现的自然突变外, 一群完全相同的抗体分子。单抗对抗原上的单一表位具有高特异性。多克隆抗体是相对于单克隆抗体而言的, 其通常包含至少2种或更多种的不同抗体, 这些不同的抗体通常识别抗原上的不同表位。此外, 修饰语“单克隆”仅表明该抗体的特征为从高度同源的抗体群中获得, 不能理解为需要通过任何特定方法来制备所述抗体。

本发明的单克隆抗体可以通过多种技术进行制备, 例如杂交瘤技术 (参见, 例如Kohler等人, *Nature*, 256:495, 1975), 重组DNA技术 (参见, 例如美国专利申请 4,816,567), 或噬菌体抗体库技术 (参见, 例如Clackson等. *Nature* 352 : 624-628, 1991, 或Marks等. *J.Mol.Biol.* 222 : 581-597, 1991)。

如本文中所使用的, 术语抗体的“抗原结合片段”是指包含全长抗体的片段的多肽, 其保持特异性结合全长抗体所结合的相同抗原的能力, 和/或与全长抗体竞争对抗原的特异性结合, 其也被称为“抗原结合部分”。通常参见, *Fundamental Immunology*, Ch. 7 (Paul, W., ed., 第2版, Raven Press, N.Y. (1989), 其以其全文通过引用合并入本文, 用于所有目的。可通过重组DNA技术或通过完整抗体的酶促或化学断裂产生抗体的抗原结合片段。抗原结合片段的非限制性实例包括Fab、Fab’、

F(ab')₂、Fd、Fv、互补决定区(CDR)片段、scFv、双抗体(diabody)、单域抗体(single domain antibody)、嵌合抗体、线性抗体(linear antibody)、纳米抗体(技术来自Domantis)、probody和这样的多肽,其包含足以赋予多肽特异性抗原结合能力的抗体的至少一部分。工程改造的抗体变体综述于Holliger等,2005; Nat Biotechnol, 23: 1126-1136中。

如本文中所使用的,术语“全长抗体”意指,由两条“全长重链”和两条“全长轻链”组成的抗体。其中,“全长重链”是指这样的多肽链,其在N端到C端的方向上由重链可变区(VH)、重链恒定区CH1结构域、铰链区(HR)、重链恒定区CH2结构域、重链恒定区CH3结构域组成;并且,当所述全长抗体为IgE同种型时,任选地还包括重链恒定区CH4结构域。优选地,“全长重链”是在N端到C端方向上由VH、CH1、HR、CH2和CH3组成的多肽链。“全长轻链”是在N端到C端方向上由轻链可变区(VL)和轻链恒定区(CL)组成的多肽链。两对全长抗体链通过在CL和CH1之间的二硫键和两条全长重链的HR之间的二硫键连接在一起。本发明的全长抗体可以来自单一物种,例如人;也可以是嵌合抗体或人源化抗体。本发明的全长抗体包含分别由VH和VL对形成的两个抗原结合部位,这两个抗原结合部位特异性识别/结合相同的抗原。

如本文中所使用的,术语“Fd”意指由VH和CH1结构域组成的抗体片段;术语“dAb片段”意指由VH结构域组成的抗体片段(Ward 等人, Nature 341:544 546 (1989));术语“Fab片段”意指由VL、VH、CL和CH1结构域组成的抗体片段;术语“F(ab')₂片段”意指包含通过铰链区上的二硫桥连接的两个Fab片段的抗体片段;术语“Fab'片段”意指还原连接F(ab')₂片段中两个重链片段的二硫键后所获片段,由一条完整的轻链和重链的Fd片段(由VH和CH1结构域组成)组成。

如本文中所使用的,术语“Fv”意指由抗体的单臂的VL和VH结构域组成的抗体片段。Fv片段通常被认为是,能形成完整的抗原结合位点的最小抗体片段。一般认为,六个CDR赋予抗体的抗原结合特异性。然而,即便是一个可变区(例如Fd片段,其仅仅含有三个对抗原特异的CDR)也能够识别并结合抗原,尽管其亲和力可能低于完整的结合位点。

如本文中所使用的,术语“Fc”意指,由抗体的第一重链的第二、第三恒定区与第二重链的第二、第三恒定区经二硫键结合而形成的抗体片段。抗体的Fc片段具有多种不同的功能,但不参与抗原的结合。

如本文中所使用的，术语“scFv”是指，包含VL和VH结构域的单个多肽链，其中所述VL和VH通过接头（linker）相连（参见，例如，Bird等人，*Science* 242:423-426 (1988)；Huston等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883 (1988)；和Pluckthun，*The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*，第113卷，Roseburg 和Moore 编，Springer-Verlag，纽约，第269-315页(1994)）。此类scFv分子可具有一般结构：NH₂-VL-接头-VH-COOH或NH₂-VH-接头-VL-COOH。合适的现有技术接头由重复的GGGGS氨基酸序列或其变体组成。例如，可使用具有氨基酸序列(GGGGS)₄的接头，但也可使用其变体（Holliger等人(1993)，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 6444-6448）。可用于本发明的其他接头由Alfthan等人(1995)，*Protein Eng.* 8:725-731，Choi等人(2001)，*Eur. J. Immunol.* 31: 94-106，Hu等人(1996)，*Cancer Res.* 56:3055-3061，Kipriyanov等人(1999)，*J. Mol. Biol.* 293:41-56和Roovers等人(2001)，*Cancer Immunol.*描述。在一些情况下，scFv的VH与VL之间还可以存在二硫键。在本发明的某些实施方案中，scFv可形成di-scFv，其指的是两个或两个以上单个scFv串联而形成抗体。在本发明的某些实施方案中，scFv可形成(scFv)₂，其指的是两个或两个以上单个scFv并联而形成抗体。

如本文中所使用的，术语“单域抗体（single-domain antibody, sdAb）”具有本领域技术人员通常理解的含义，其是指由单个单体可变抗体结构域（例如单个重链可变区）所组成的抗体片段，其保持特异性结合全长抗体所结合的相同抗原的能力。单域抗体也称为纳米抗体（nanobody）。

上述各个抗体片段均保持了特异性结合全长抗体所结合的相同抗原的能力，和/或与全长抗体竞争对抗原的特异性结合。

可使用本领域技术人员已知的常规技术（例如，重组DNA技术或酶促或化学断裂法）从给定的抗体（例如本发明提供的抗体）获得抗体的抗原结合片段（例如，上述抗体片段），并且以与用于完整抗体的方式相同的方式就特异性筛选抗体的抗原结合片段。

在本文中，除非上下文明确指出，否则当提及术语“抗体”时，其不仅包括完整抗体，而且包括抗体的抗原结合片段。

如本文中所使用的，术语“嵌合抗体（Chimeric antibody）”是指，这样的抗体，其轻链或/和重链的一部分源自一个抗体（其可以源自某一特定物种或属于某一特定抗体类或亚类），且轻链或/和重链的另一部分源自另一个抗体（其可以源自相

同或不同的物种或属于相同或不同的抗体类或亚类），但无论如何，其仍保留对目标抗原的结合活性（U.S.P 4,816,567 to Cabilly et al.; Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984)）。在某些实施方案中，术语“嵌合抗体”可包括这样的抗体，其中抗体的重链和轻链可变区来自第一抗体，而抗体的重链和轻链恒定区来自第二抗体。

如本文中所使用的，术语“同一性”用于指两个多肽之间或两个核酸之间序列的匹配情况。为了测定两个氨基酸序列或两个核酸序列的百分比同一性，为了最佳比较目的将序列进行比对（例如，可在第一氨基酸序列或核酸序列中引入缺口以与第二氨基酸或核酸序列最佳比对）。然后比较对应氨基酸位置或核苷酸位置处的氨基酸残基或核苷酸。当第一序列中的位置被与第二序列中的对应位置相同的氨基酸残基或核苷酸占据时，则分子在该位置上是同一的。两个序列之间的百分比同一性是由序列所共享的同一性位置的数目的函数（即，百分比同一性=同一重叠位置的数目/位置的总数×100%）。在某些实施方案中，两个序列长度相同。

两个序列之间的百分比同一性的测定还可使用数学算法来实现。用于两个序列的比較的数学算法的一个非限制性实例是Karlin和Altschul的算法，1990, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 87:2264-2268，如同Karlin和Altschul, 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 90:5873-5877中改进的。将这样的算法整合至Altschul等人, 1990, J. Mol. Biol. 215:403的NBLAST和XBLAST程序中。

如本文中所使用的，术语“变体”，在多肽的情境中(包括多肽)也指包含已通过引入氨基酸残基置换、缺失或添加改变的氨基酸序列的多肽或肽。在某些情况下，术语“变体”还指已被修饰（即，通过将任何类型的分子共价连接至多肽或肽）的多肽或肽。例如，但非限制性地，多肽可以被修饰，例如通过糖基化、乙酰化、聚乙二醇化、磷酸化、酰胺化、通过已知保护/封闭基团进行的衍生化、蛋白水解切割、连接至细胞配体或其它蛋白质等。衍生多肽或肽可使用本领域技术人员已知的技术通过化学修饰来产生，所述技术包括但不限于特异性化学切割、乙酰化、甲酰化、衣霉素的代谢合成等。此外，变体具有与其所源自的多肽或肽相似、相同或改善的功能。

如本文中所使用的，术语“特异性结合”是指，两分子间的非随机的结合反应，如抗体和其所针对的抗原之间的反应。特异性结合相互作用的强度或亲和力可以该相互作用的平衡解离常数(KD)表示。在本发明中，术语“KD”是指特定抗体-抗原相互

作用的解离平衡常数，其用于描述抗体与抗原之间的结合亲和力。平衡解离常数越小，抗体-抗原结合越紧密，抗体与抗原之间的亲和力越高。

如本文中所使用的，本发明所述的可检测的标记可以是可通过荧光、光谱、光化学、生物化学、免疫学、电学、光学或化学手段检测的任何物质。这类标记是本领域熟知的，其实例包括但不限于，酶（例如，辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶、 β -半乳糖苷酶、脲酶、葡萄糖氧化酶，等）、放射性核素（例如， ^3H 、 ^{125}I 、 ^{35}S 、 ^{14}C 或 ^{32}P ）、荧光染料（例如，异硫氰酸荧光素（FITC）、荧光素、异硫氰酸四甲基罗丹明（TRITC）、藻红蛋白（PE）、德克萨斯红、罗丹明、量子点或花菁染料衍生物（例如Cy7、Alexa 750））、发光物质（例如化学发光物质，如吖啶酯类化合物、鲁米诺及其衍生物、钌衍生物如三联吡啶钌）、磁珠（例如，Dynabeads®）、测热标记物例如胶体金或有色玻璃或塑料（例如，聚苯乙烯、聚丙烯、乳胶，等）珠、以及用于结合上述标记物修饰的亲合素（例如，链霉亲和素）的生物素。

如本文中所使用的，术语“载体(vector)”是指，可将多聚核苷酸插入其中的一种核酸运载工具。当载体能使插入的多核苷酸编码的蛋白获得表达时，载体称为表达载体。载体可以通过转化，转导或者转染导入宿主细胞，使其携带的遗传物质元件在宿主细胞中获得表达。载体是本领域技术人员公知的，包括但不限于：质粒；噬菌粒；柯斯质粒；人工染色体，例如酵母人工染色体(YAC)、细菌人工染色体(BAC)或P1来源的人工染色体(PAC)；噬菌体如 λ 噬菌体或M13噬菌体及动物病毒等。可用作载体的动物病毒包括但不限于，逆转录酶病毒(包括慢病毒)、腺病毒、腺相关病毒、疱疹病毒(如单纯疱疹病毒)、痘病毒、杆状病毒、乳头瘤病毒、乳头多瘤空泡病毒(如SV40)。一种载体可以含有多种控制表达的元件，包括但不限于，启动子序列、转录起始序列、增强子序列、选择元件及报告基因。另外，载体还可含有复制起始位点。

如本文中所使用的，术语“宿主细胞”是指，可用于导入载体的细胞，其包括但不限于，如大肠杆菌或枯草菌等的原核细胞，如酵母细胞或曲霉菌等的真菌细胞，如S2果蝇细胞或Sf9等的昆虫细胞，或者如纤维原细胞，CHO细胞，COS细胞，NSO细胞，HeLa细胞，BHK细胞，HEK 293细胞或人细胞等的动物细胞。

如本文中所使用的，术语“保守置换”意指不会不利地影响或改变包含氨基酸序列的蛋白/多肽的预期性质的氨基酸置换。例如，可通过本领域内已知的标准技术例如定点诱变和PCR介导的诱变引入保守置换。保守氨基酸置换包括用具有相似侧链

的氨基酸残基替代氨基酸残基的置换，例如用在物理学上或功能上与相应的氨基酸残基相似(例如具有相似大小、形状、电荷、化学性质，包括形成共价键或氢键的能力等)的残基进行的置换。已在本领域内定义了具有相似侧链的氨基酸残基的家族。这些家族包括具有碱性侧链(例如，赖氨酸、精氨酸和组氨酸)、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、色氨酸)、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、甲硫氨酸)、 β 分支侧链(例如，苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸)和芳香族侧链(例如，酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸)的氨基酸。因此，优选用来自相同侧链家族的另一个氨基酸残基替代相应的氨基酸残基。鉴定氨基酸保守置换的方法在本领域内是熟知的(参见，例如，Brummell等人，*Biochem.* 32:1180-1187 (1993); Kobayashi等人*Protein Eng.* 12(10):879-884 (1999); 和Burks等人*Proc. Natl Acad. Set USA* 94:412-417 (1997)，其通过引用并入本文)。

本文涉及的二十个常规氨基酸的编写遵循常规用法。参见例如，*Immunology-A Synthesis* (2nd Edition, E. S. Golub and D. R. Gren, Eds., Sinauer Associates , Sunderland, Mass. (1991))，其以引用的方式并入本文中。在本发明中，术语“多肽”和“蛋白质”具有相同的含义且可互换使用。并且在本发明中，氨基酸通常用本领域公知的单字母和三字母缩写来表示。例如，丙氨酸可用A或Ala表示。

如本文中所使用的，术语“药学上可接受的载体和/或赋形剂”是指在药理学和/或生理学上与受试者和活性成分相容的载体和/或赋形剂，其是本领域公知的(参见例如 Remington's Pharmaceutical Sciences. Edited by Gennaro AR, 19th ed. Pennsylvania: Mack Publishing Company, 1995)，并且包括但不限于：pH调节剂，表面活性剂，佐剂，离子强度增强剂，稀释剂，维持渗透压的试剂，延迟吸收的试剂，防腐剂。例如，pH调节剂包括但不限于磷酸盐缓冲液。表面活性剂包括但不限于阳离子，阴离子或者非离子型表面活性剂，例如Tween-80。离子强度增强剂包括但不限于氯化钠。防腐剂包括但不限于各种抗细菌试剂和抗真菌试剂，例如对羟苯甲酸酯，三氯叔丁醇，苯酚，山梨酸等。维持渗透压的试剂包括但不限于糖、NaCl及其类似物。延迟吸收的试剂包括但不限于单硬脂酸盐和明胶。稀释剂包括但不限于水，水性缓冲液(如缓冲盐水)，醇和多元醇(如甘油)等。防腐剂包括但不限于各种抗细菌试剂和抗真菌试剂，例如硫柳汞，2-苯氧乙醇，对羟苯甲酸酯，三氯叔丁醇，苯酚，山梨酸等。稳定剂具有本领域技术人员通常理解的含义，其能够稳定药物中的活性成分的

期望活性，包括但不限于谷氨酸钠，明胶，SPGA，糖类（如山梨醇，甘露醇，淀粉，蔗糖，乳糖，葡聚糖，或葡萄糖），氨基酸（如谷氨酸，甘氨酸），蛋白质（如干燥乳清，白蛋白或酪蛋白）或其降解产物（如乳白蛋白水解物）等。在某些示例性实施方案中，所述药学上可接受的载体或赋形剂包括无菌可注射液体（如水5 性或非水性悬浮液或溶液）。在某些示例性实施方案中，此类无菌可注射液体选自注射用水(WFI)、抑菌性注射用水(BWFI)、氯化钠溶液（例如0.9% (w/v)NaCl）、葡萄糖溶液（例如5%葡萄糖）、含有表面活性剂的溶液（例如0.01%聚山梨醇20）、pH缓冲溶液（例如磷酸盐缓冲溶液）、Ringer氏溶液及其任意组合。

如本文中所使用的，术语“预防”是指，为了阻止或延迟疾病或病症或症状在受10 试者体内的发生而实施的方法。如本文中所使用的，术语“治疗”是指，为了获得有益或所需临床结果而实施的方法。为了本发明的目的，有益或所需的临床结果包括(但不限于)减轻症状、缩小疾病的范围、稳定(即，不再恶化)疾病的状态，延迟或减缓疾病的发展、改善或减轻疾病的状态、和缓解症状(无论部分或全部)，无论是可检测或是不可检测的。此外，“治疗”还可以指，与期望的存活期相比(如果未接受治15 疗)，延长存活期。

如本文中所使用的，术语“受试者”是指哺乳动物，例如人、食蟹猴、小鼠。

如本文中所使用的，术语“有效量”是指足以获得或至少部分获得期望的效果的量。例如，预防疾病有效量是指，足以预防，阻止，或延迟所述疾病的发生的量；治疗疾病有效量是指，足以治愈或至少部分阻止已患有疾病的患者的疾病和其并发20 症的量。测定这样的有效量完全在本领域技术人员的能力范围之内。例如，对于治疗用途有效的量将取决于待治疗的疾病的严重度、患者自己的免疫系统的总体状态、患者的一般情况例如年龄，体重和性别，药物的施用方式，以及同时施用的其他治疗等等。

25 发明的有益效果

本申请获得了能够特异性结合 CTLA4 的单克隆抗体/单域抗体。进一步的，制备了能够特异性结合 CCR8 和 CTLA4 的双特异性抗体，以及去岩藻糖基化的双特异性抗体。与对标抗体相比，本申请的双特异性抗体或去岩藻糖基化的双特异性抗体能够：特异性的结合 CCR8/CTLA4 共表达细胞；特异性的针对 CCR8/CTLA4 共表达细胞诱导30 ADCC 效应；诱导 PBMC 对 CCR8/CTLA4 共表达细胞的杀伤；特异性的针对

CCR8/CTLA4 共表达细胞诱导内化效应；抑制肿瘤在体内的生长，且抑制肿瘤生长活性显著优于对照单抗；具有较好热稳定性和亲水性；具有较高的安全性。因此，本申请的抗体具有重大的临床价值。

5 下面将结合附图和实施例对本发明的实施方案进行详细描述，但是本领域技术人员将理解，下列附图和实施例仅用于说明本发明，而不是对本发明的范围的限定。根据附图和优选实施方案的下列详细描述，本发明的各种目的和有利方面对于本领域技术人员来说将变得显然。

10 附图说明

图 1 显示了本发明合成的 CCR8 单克隆抗体、CTLA4 单克隆抗体以及抗 CTL4xCCR8 双特异性抗体的结构示意图。

图 2-图 4 显示了本发明的单克隆抗体和抗 CTL4xCCR8 双特异性抗体与过表达人 CCR8 细胞、过表达人 CTLA4 细胞以及同时过表达人 CCR8 和人 CTLA4 细胞的结合曲线图。

图 5-图 7 显示了本发明的单克隆抗体和抗 CTL4xCCR8 双特异性抗体基于荧光素酶报告基因系统检测的 ADCC 效应。

图 8-图 10 显示了本发明的单克隆抗体和抗 CTL4xCCR8 双特异性抗体诱导 PBMC 对过表达人 CCR8 细胞、过表达人 CTLA4 细胞以及同时过表达人 CCR8 和人 CTLA4 细胞的杀伤效果。

图 11-图 13 显示了本发明的单克隆抗体和抗 CTL4xCCR8 双特异性抗体与过表达人 CCR8 细胞、过表达人 CTLA4 细胞以及同时过表达人 CCR8 和人 CTLA4 细胞结合后抗体内化的效果。

图 14 显示了本发明的单克隆抗体和抗 CTL4xCCR8 双特异性抗体对 CTLA4 与人 CD80/CD86 蛋白结合的阻断结果。

图 15 显示了本发明的抗 CTL4xCCR8 双特异性抗体高温处理后的 PTM 研究结果。

图 16 显示了本发明的单克隆抗体和抗 CTL4xCCR8 双特异性抗体亲疏水特性的研究结果。

图 17 显示了本发明的单克隆抗体和抗 CTL4xCCR8 双特异性抗体过表达人 CCR8 细胞、过表达人 CTLA4 细胞以及同时过表达人 CCR8 和人 CTLA4 细胞的结合曲线图。

图 18 显示了本发明的单克隆抗体和抗 CTL4xCCR8 双特异性抗体基于荧光素酶报告基因系统检测的 ADCC 效应。

图 19 显示了本发明的单克隆抗体和抗 CTL4xCCR8 双特异性抗体诱导 PBMC 对过表达人 CCR8 细胞、过表达人 CTLA4 细胞以及同时过表达人 CCR8 和人 CTLA4 细胞的杀伤效果。

图 20 显示了本发明的去岩藻糖化抗 CTL4xCCR8 双特异性抗体的体内药效活性。

图 21 显示了本发明的抗 CTL4xCCR8 双特异性抗体（Fc 为 mouse IgG2a）的体内药效活性。

图 22 显示了本发明的抗 CTL4xCCR8 双特异性抗体的安全性评估结果。

图 23 显示了本发明的抗 CTL4xCCR8 双特异性抗体的细胞株筛选的结果，其中，图 23 中的 A 显示了本发明的抗 CTL4xCCR8 的 SEC 结果，图 23 中的 B 和 C 为本发明的抗 CTL4xCCR8 的高效液相质谱检测结果。

图 24 显示了本发明的抗 CTL4xCCR8 双特异性抗体（细胞株来源）与过表达人 CCR8 细胞、过表达人 CTLA4 细胞以及同时过表达人 CCR8 和人 CTLA4 细胞的结合曲线图。

图 25 显示了本发明抗 CTL4xCCR8 双特异性抗体（细胞株来源）基于荧光素酶报告基因系统检测的 ADCC 效应。

图 26 显示了本发明的抗 CTL4xCCR8 双特异性抗体（细胞株来源）诱导 PBMC 对过表达人 CCR8 细胞、过表达人 CTLA4 细胞以及同时过表达人 CCR8 和人 CTLA4 细胞的杀伤效果。

序列信息

本发明涉及的部分序列的信息提供于下面的表 1 中。

表 1：序列的描述

SEQ ID NO.	名称	序列
1	Anti-CCR8(ADI68741) mAb 重链可变区	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPGTGSTSHAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARDGAFRHKYFDLWGRGTLVTVSS
2	Anti-CCR8(ADI68741) mAb 轻链可变区	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTSSLEPEDFAVYYCQQYSAWPLTFGGGTKVEIK

3	Anti-CTLA4 (ip-05) mAb 重链可变区	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYTMHWVRQAPGKGLEWVTFISEDGNNKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAIYYCARTGWLGPFDYWGQGTLVTVSS
4	Anti-CTLA4 (ip-05) mAb 轻链可变区	DIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPWTFGQGTKVEIK
5	Anti-CTLA4 (ip-0508) mAb 重链可变区	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYTMHWVRQAPGKGLEWVTFISEDGNNKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAIYYCARTGWLGPEDYWGQGTLVTVSS
6	Anti-CTLA4 (ip-0508) mAb 轻链可变区	DIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPWTFGQGTKVEIK
7	Anti-CTLA4 纳米抗体 VHH-9 的 CTLA4 结合区域	EVQLQESGGGLVQAGGSLTSLCAASGSIFSLNGMEWYRQFPGQRELVAAITVGGSTIYADSVKGRFTISRDN AKNTVYVLQMSSLKPEDTAVYYCHKFHFTLGQPYWGQGTQVTVSS
8	Anti-CTLA4 纳米抗体 VHH-16 的 CTLA4 结合区域	EVQLQESGGGLVQAGGALRLSCAAPIDIFRISIMGWYRQAPGQRELVARISKAGTTTYADSVKGRFTISRDN AKNTVILQMNSLKPEDTAVYYCNADRLRQHDLWGQGTQVTVSS
9	Anti-CTLA4 纳米抗体 VHH-23 的 CTLA4 结合区域	EVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIHFSIYHMGWYRQAPGKQRELVAITSGGSTNYADSVKGRFTISRDN AKNTVYVLQMNSLKPEDTAVYYCNSYHYGATRDYDAWGQGTQVTVSS
10	Anti-CTLA4 纳米抗体 VHH-43 的 CTLA4 结合区域	EVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCVASGSIFRPYVMGWYRQAPGKQRELVAITNSKGGSTIYADAVKGRFTISSDN DENTVYVLQMNSLKPEDTAVYYCNLKGELGIYLRGDYWGQGTQVTVSS
11	人 κ 轻链恒定区 (CL) 氨基酸序列	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
12	人 IgG1 氨基酸序列	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
13	人 IgG1 氨基酸序列 (引入 FL 突变)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
14	人 IgG1 氨基酸序	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG

	列 (引入 KR 突变)	ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQG NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
15	人 IgG1 Fc 氨基酸 序列	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNH YTQKSLSLSPG
16	人 IgG1 Fc 氨基酸 序列 (引入 Knob 突变)	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHN HYTQKSLSLSPG
17	人 IgG1 氨基酸序 列 (引入 Hole 突 变)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMEALHNRFTQKSLSLSPG
18	Anti- CCR8(ADI68741) 重链	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHWRQAP GQGLEWMGIINPGTGSTSHAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMEL SSLRSEDAVYYCARDGAFRHKYFDLWGRGTLTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MEALHNHYTQKSLSLSPG
19	Anti- CCR8(ADI68741) 轻链	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAP RLLIYDASNRATGIPARFSGSGGTDFLTLSLEPEDFAVYYCQ QYSAWPLTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSL STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

20	Anti-CTLA4 (ip-05) mAb 重链	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYTMHWVRQAPG KGLEWVTFISEDGNNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNS LRAEDTAIYYCARTGWLGPFDYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPG
21	Anti-CTLA4 (ip-05) mAb 轻链	DIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQA PRLLIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQYGSSPWTFGQG TKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS TYS LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
22	Anti-CTLA4 (ip-0508) mAb 重链	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYTMHWVRQAPG KGLEWVTFISEDGNNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNS LRAEDTAIYYCARTGWLGPEDYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPG
23	Anti-CTLA4 (ip-0508) mAb 轻链	DIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQA PRLLIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQYGSSPWTFGQG TKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS TYS LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
24	Anti-CTLA4 (VHH-9)	EVQLQESGGGLVQAGGSLTSCAASGSIFSLNGMEWYRQFP G QQRELVAAITVGGSTIYADSVKGRFTISRDN AKNTVY LQMSSLK PEDTAVYYCHKFHFTLGQPYWGQGTQVTVSSDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
25	Anti-CTLA4 (VHH-16)	EVQLQESGGGLVQAGGALRLSCAAPIDIFRISIMGWYRQAPGQ QRELVARISKAGTTTYADSVKGRFTISRDN AKNTVILQMNSLKP EDTAVYYCNADRLRQHDWLGQGTQVTVSSDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN

		WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
26	Anti-CTLA4 (VHH-23)	EVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIIHSIYHMGWYRQAPGK QRELVAVITSGGSTNYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLKP EDTAVYYCNSYHYGATRDYDAWGQGTQVTVSSDKTHTCPPCP APPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP G
27	Anti-CTLA4 (VHH-43)	EVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCVASGSIFRPYVMGWYRQAPG KQRELVATNSKGGSTIYADAVKGRFTISSDNENTVYLQMNSLK PEDTAVYYCNLKGILYLRGDYWGQGTQVTVSSDKTHTCPPCP APPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP G
28	Anti-CTLA4 (ip-05) × CCR8 -1 重链 1	EVQLVESGGGVVQPGRLRLSCAASGFTFSYTMHWVRQAPG KGLEWVTFISEDGNNKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNS LRAEDTAIYYCARTGWLGPFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPP AVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPG
29	Anti-CTLA4 (ip-05) × CCR8 -1 轻链 1	DIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQA PRLLIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQYGSSPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYS LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
30	Anti-CTLA4 (ip-05) × CCR8 -1 重链 2	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHWRQAP GQGLEWMGIINPGTGSTSHAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMEL SSLRSEDVAVYYCARDGAFRHKYFDLWGRGTLTVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT

		PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPG
31	Anti-CTLA4 (ip-05) × CCR8 -1 轻链 2	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAP RLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQ QYSAWPLTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV CLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYSL STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
32	Anti-CTLA4 (ip-0508) × CCR8 -1 重链 1	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTSSYTMHWVRQAPG KGLEWVTFISEDGNNKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNS LRAEDTAIYYCARTGWLGPEDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSIVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPG
33	Anti-CTLA4 (ip-0508) × CCR8 -1 轻链 1	DIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQA PRLLIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQYGSSPWTFTGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTY LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
34	Anti-CTLA4 (ip-0508) × CCR8 -1 重链 2	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHWRQAP GQGLEWMGIINPGTGSTSHAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMEL SSLRSEDTAVYYCARDGAFRHKYFDLWGRGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPG
35	Anti-CTLA4 (ip-0508) × CCR8 -1 轻链 2	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAP RLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQ QYSAWPLTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV CLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYSL STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
36	Anti-CTLA4 (VHH-9) × CCR8 -	EVQLQESGGGLVQAGGSLTSCAASGSIFSLNGMEWYRQFPG QQRELVAITVGGSTIYADSVKGRFTISRDNKNTVYLYQMSSLK

	1 重链 1	PEDTAVYYCHKFHFTLGQPYWGQGTQVTVSSDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWFYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDEL TKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPG
37	Anti-CTLA4 (VHH-9) × CCR8 - 1 重链 2	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHWRQAP GQGLEWMGIINPGTGSTSHAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYME LSSLRSEDTAVYYCARDGAFRHKYFDLWGRGTLTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWFYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVCTLPSSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNRFTQKSLSLSPG
38	Anti-CTLA4 (VHH-9) × CCR8 - 1 轻链 2	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAP RLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCQ QYSAWPLTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSL SLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
39	Anti-CTLA4 (VHH-16) × CCR8 -1 重链 1	EVQLQESGGGLVQAGGALRLSCAAPIDIFRISIMGWYRQAPGQ QRELVARISKAGTTTYADSVKGRFTISRDNANKNTVILQMNSLKP EDTAVYYCNADRLRQHDLDWGQGTQVTVSSDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WFYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTK NQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
40	Anti-CTLA4 (VHH-16) × CCR8 -1 重链 2	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHWRQAP GQGLEWMGIINPGTGSTSHAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYME LSSLRSEDTAVYYCARDGAFRHKYFDLWGRGTLTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWFYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVCTLPSSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNRFTQKSLSLSPG
41	Anti-CTLA4 (VHH-16) × CCR8	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAP RLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCQ

	-1 轻链 2	QYSAWPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
42	Anti-CTLA4 (VHH-23) × CCR8 -1 重链 1	EVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIIHSIYHMGWYRQAPGK QRELVAVITSGGSTNYADSVKGRFTISRDNANKNTVYLQMNSLKP EDTAVYYCNSYHYGATRDYDAWGQGTQVTVSSDKTHTCPPCP APPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDEL TKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLS PG
43	Anti-CTLA4 (VHH-23) × CCR8 -1 重链 2	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHWRQAP GQGLEWMGIINPGTGSTSHAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMEL SSLRSEDVAVYYCARDGAFRHKYFDLWGRGTLTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVCTLPSPRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MEALHNRFTQKSLSLSPG
44	Anti-CTLA4 (VHH-23) × CCR8 -1 轻链 2	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAP RLLIYDASNRATGIPARFSGSGGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQ QYSAWPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
45	Anti-CTLA4 (VHH-43) × CCR8 -1 重链 1	EVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCVASGSIFRPYVMGWYRQAPG KQRELVATNSKGGSTIYADAVKGRFTISSDNENTVYLQMNSLK PEDTAVYYCNLKELGILRGDYWGQGTQVTVSSDKTHTCPPCP APPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDEL TKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLS PG
46	Anti-CTLA4 (VHH-43) × CCR8 -1 重链 2	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHWRQAP GQGLEWMGIINPGTGSTSHAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMEL SSLRSEDVAVYYCARDGAFRHKYFDLWGRGTLTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS

		TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVCTLPSPRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNRTQKSLSLSPG
47	Anti-CTLA4 (VHH-43) × CCR8 -1 轻链 2	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAP RLLIYDASNRATGIPARFSGSGGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQ QYSAWPLTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
48	ip-05 VH CDR1	GFTFSSYT
49	ip-05 VH CDR2	ISEDGNNK
50	ip-05 VH CDR3	ARTGWLGPFDY
51	ip-05 VL CDR1	QSVGSSY
52	ip-05 VL CDR2	GAF
53	ip-05 VL CDR3	QQYGSSPWT
54	ip-0508 VH CDR1	GFTFSSYT
55	ip-0508 VH CDR2	ISEDGNNK
56	ip-0508 VH CDR3	ARTGWLGPEDY
57	ip-0508 VL CDR1	QSVGSSY
58	ip-0508 VL CDR2	GAF
59	ip-0508 VL CDR3	QQYGSSPWT
60	VHH-9 HCDR1	GSIFSLNG
61	VHH-9 HCDR2	ITVGGST
62	VHH-9 HCDR3	HKFHFTLGQPY
63	VHH-16 HCDR1	IDIFRISI
64	VHH-16 HCDR2	ISKAGTT
65	VHH-16 HCDR3	NADRLRQHDL
66	VHH-23 HCDR1	GIIFSIYH
67	VHH-23 HCDR2	ITSGGST
68	VHH-23 HCDR3	NSYHYGATRDYDA
69	VHH-43 HCDR1	GSIFRPYV
70	VHH-43 HCDR2	NSKGGST
71	VHH-43 HCDR3	NLKELGIIYLRGDY
72	ADI68741 VH CDR1	GYTFTSYY
73	ADI68741 VH	INPGTGST

	CDR2	
74	ADI68741 VH CDR3	ARDGAFRHKYFDL
75	ADI68741 VL CDR1	QSVSSY
76	ADI68741 VL CDR2	DAS
77	ADI68741 VL CDR3	QQYSAWPLT
78	Anti-CCR8(ADI68741-R2-21-DA) mAb 重链可变区	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHVVRQAPGQGLEWMGIINPMTGSASHAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCVRDAAARHKYFAFWGRGTLVTVSS
79	CH1/CL 偏好性突变的人 IgG1 Fc 氨基酸序列 CH SET1 (引入 Knob 突变)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCQVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYELSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVDFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
80	CH1/CL 偏好性突变的人 IgG1 Fc 氨基酸序列 CH SET2 (引入 Hole 突变)	ASTKGPSVFPRAPSSKSTSGGTAALGCLVRDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTKISKAKGQPREPQVCTLPSPRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVDFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
81	CH1/CL 偏好性突变的人 κ 轻链恒定区(CL)氨基酸序列 CL SET1	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGRASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSRLQLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
82	CH1/CL 偏好性突变人 κ 轻链恒定区(CL)氨基酸序列 CL SET2	RTVAAPSVFIFPPSDEELKSGTASVQCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSELTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
83	Anti-CCR8(ADI68741-R2-21-DA) mAb 重链	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHVVRQAPGQGLEWMGIINPMTGSASHAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCVRDAAARHKYFAFWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS

		TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPG
84	Anti- CCR8(ADI68741- R2-21-DA) 轻链	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAP RLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCQ QYSAWPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV CLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
85	Anti-CTLA4 (ip- 05) × CCR8 -2 重 链 1	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYTMHWVRQAPG KGLEWVTFISEDGNNKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNS LRAEDTAIYYCARTGWLGPFDYWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA AVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPG
86	Anti-CTLA4 (ip- 05) × CCR8 -2 轻 链 1	DIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQA PRLLIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQYGSSPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTY LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
87	Anti-CTLA4 (ip- 05) × CCR8 -2 重 链 2	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHWVRQAP GQGLEWMGIINPMTGSASHAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYME SSLRSED TAVYYCVRDAAARHKYFAFWGRGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPG
88	Anti-CTLA4 (ip- 05) × CCR8 -2 轻 链 2	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAP RLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCQ QYSAWPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV CLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
89	Anti-CTLA4 (ip- 0508) × CCR8 -2 重链 1	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYTMHWVRQAPG KGLEWVTFISEDGNNKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNS LRAEDTAIYYCARTGWLGPEDYWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFP

		LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
90	Anti-CTLA4 (ip-0508) × CCR8 -2 轻链 1	DIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
91	Anti-CTLA4 (ip-0508) × CCR8 -2 重链 2	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHVWRQAPGQGLEWMGIINPMTGSASHAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCVRDAAARHKYFAFWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFLLYSRLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
92	Anti-CTLA4 (ip-0508) × CCR8 -2 轻链 2	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCQQYSAWPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
93	Anti-CTLA4 (ip-05) × CCR8 -3 重链 1	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHVWRQAPGQGLEWMGIINPGTGSTSHAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARDGAFRHKYFDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCQVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYELSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
94	Anti-CTLA4 (ip-05) × CCR8 -3 轻链 1	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCQQYSAWPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGRASVVCLLNFFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLS

		SRLQLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
95	Anti-CTLA4 (ip-05) × CCR8 -3 重链 2	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYTMHWVRQAPG KGLEWVTFISEDGNNKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNS LRAEDTAIYYCARTGWLGPFDYWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFP RAPSSKSTSGGTAALGCLVRDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVCTLPSPRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPG
96	Anti-CTLA4 (ip-05) × CCR8 -3 轻链 2	DIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQA PRLLIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQYGSSPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEELKSGTASV QCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYS LSSELTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
97	Anti-CTLA4 (ip-05) × CCR8 -4 重链 1	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHVVRQAP GQGLEWMGIINPMTGSASHAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMEL SSLRSED TAVYYCVRDAAARHKYFAFWGRGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCQVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYELSSVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPG
98	Anti-CTLA4 (ip-05) × CCR8 -4 轻链 1	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAP RLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCQ QYSAWPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGRASV CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYSL SRLQLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
99	Anti-CTLA4 (ip-05) × CCR8 -4 重链 2	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYTMHWVRQAPG KGLEWVTFISEDGNNKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNS LRAEDTAIYYCARTGWLGPFDYWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFP RAPSSKSTSGGTAALGCLVRDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVCTLPSPRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPG

100	Anti-CTLA4 (ip-05) × CCR8 -4 轻链 2	DIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQA PRLLIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQYGSSPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEELKSGTASV QCLLNFFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYS LSSELTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
101	Anti-CTLA4 (ip-0508) × CCR8 -3 重链 1	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHWRQAP GQGLEWMGIINPGTGSTSHAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMEL SSLRSEDVAVYYCARDGAFRHKYFDLWGRGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCGVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYELSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPG
102	Anti-CTLA4 (ip-0508) × CCR8 -3 轻链 1	EIVLTQSPATLSSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAP RLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCQ QYSAWPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGRASVV CLLNFFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLS SRLQLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
103	Anti-CTLA4 (ip-0508) × CCR8 -3 重链 2	EVQLVESGGGVVQPGRSRLRLSCAASGFTFSSYTMHWVRQAPG KGLEWVTFISEDGNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNS LRAEDTAIYYCARTGWLGPEDYWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFP RAPSSKSTSGGTAALGCLVRDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVS LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVCTLPSPRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPG
104	Anti-CTLA4 (ip-0508) × CCR8 -3 轻链 2	DIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQA PRLLIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQYGSSPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEELKSGTASV QCLLNFFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYS LSSELTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
105	Anti-CTLA4 (ip-0508) × CCR8 -4 重链 1	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHWRQAP GQGLEWMGIINPMTGSASHAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMEL SSLRSEDVAVYYCVRDAAARHKYFAFWGRGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCGVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYELSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN

		STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPG
106	Anti-CTLA4 (ip-0508) × CCR8 -4 轻链 1	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAP RLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQ QYSAWPLTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGRASVV CLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS SRLQLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
107	Anti-CTLA4 (ip-0508) × CCR8 -4 重链 2	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYTMHWVRQAPG KGLEWVTFISEDGNNKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNS LRAEDTAIYYCARTGWLGPEDYWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFP RAPSSKSTSGGTAALGCLVRDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDDKV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVCTLPSPRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPG
108	Anti-CTLA4 (ip-0508) × CCR8 -4 轻链 2	DIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQA PRLLIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQYGSSPWTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEELKSGTASV QCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYS LSSELTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
109	Anti-CTLA4 (ip-05) × CCR8 -5 重链 1	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYTMHWVRQAPG KGLEWVTFISEDGNNKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNS LRAEDTAIYYCARTGWLGPFDYWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCQVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYELSSVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDDKV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPG
110	Anti-CTLA4 (ip-05) × CCR8 -5 轻链 1	DIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQA PRLLIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQYGSSPWTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGRASV VCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYS LSSRLQLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
111	Anti-CTLA4 (ip-05) × CCR8 -5 重链 2	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHWRQAP GQGLEWMGIINPGTGSTSHAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMEL SSLRSED TAVYYCARDGAFRHKYFDLWGRGTLTVSSASTKGP

		SVFPRAPSSKSTSGGTAALGCLVRDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPG
112	Anti-CTLA4 (ip-05) × CCR8 -5 轻链 2	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAP RLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCQ QYSAWPLTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEELKSGTASVQ CLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLS SELTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
113	Anti-CTLA4 (ip-05) × CCR8 -6 重链 1	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYTMHWVRQAPG KGLEWVTFISEDGNKKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNS LRAEDTAIYYCARTGWLGPFDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCQVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYELSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPG
114	Anti-CTLA4 (ip-05) × CCR8 -6 轻链 1	DIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQA PRLIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQYGSSPWTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGRASV VCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYS LSSRLQLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
115	Anti-CTLA4 (ip-05) × CCR8 -6 重链 2	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHVWRQAP GQGLEWMGIHPMTGSASHAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMEL SSLRSEDTAVYYCVRDAAARHKYFAFWGRGTLTVSSASTKGP SVFPRAPSSKSTSGGTAALGCLVRDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPG
116	Anti-CTLA4 (ip-05) × CCR8 -6 轻链 2	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAP RLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCQ QYSAWPLTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEELKSGTASVQ CLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLS

		SELTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
117	Anti-CTLA4 (ip-0508) × CCR8 -5 重链 1	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYTMHWVRQAPG KGLEWVTFISEDGNNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNS LRAEDTAIYYCARTGWLGPEDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCQVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYELSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPG
118	Anti-CTLA4 (ip-0508) × CCR8 -5 轻链 1	DIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQA PRLLIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQYGSSPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGRASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYS LSSRLQLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
119	Anti-CTLA4 (ip-0508) × CCR8 -5 重链 2	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHVVRQAP GQGLEWMGIINPGTGSTSHAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMEL SSLRSED TAVYYCARDGAFRHKYFDLWGRGTLVTVSSASTKGP SVFPRAPSSKSTSGGTAALGCLVRDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPG
120	Anti-CTLA4 (ip-0508) × CCR8 -5 轻链 2	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAP RLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCQ QYSAWPLTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEELKSGTASVQ CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYSL SELTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
121	Anti-CTLA4 (ip-0508) × CCR8 -6 重链 1	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYTMHWVRQAPG KGLEWVTFISEDGNNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNS LRAEDTAIYYCARTGWLGPEDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCQVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYELSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPG

122	Anti-CTLA4 (ip-0508) × CCR8 -6 轻链 1	DIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQA PRLLIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQYGSSPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGRASV VCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYS LSSRLQLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
123	Anti-CTLA4 (ip-0508) × CCR8 -6 重链 2	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHVWRQAP GQGLEWMGIINPMTGSASHAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMEL SSLRSEDVAVYYCVRDAAARHKYFAFWGRGTLVTVSSASTKGP SVFPRAPSSKSTSGGTAALGCLVRDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVCTLPSPRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG
124	Anti-CTLA4 (ip-0508) × CCR8 -6 轻链 2	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAP RLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCQ QYSAWPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEELKSGTASVQ CLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS SELTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
125	Anti-CTLA4 (VHH-9) × CCR8 -2 重链 1	EVQLQESGGGLVQAGGSLTSCAASGSIFSLNGMEWYRQFPG QQRELVAAITVGGSTIYADSVKGRFTISRDNKNTVYVLMSSLK PEDTAVYYCHKFHTLGQPYWGQGTQVTVSSDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDEL TKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP G
126	Anti-CTLA4 (VHH-9) × CCR8 -2 重链 2	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHVWRQAP GQGLEWMGIINPMTGSASHAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMEL SSLRSEDVAVYYCVRDAAARHKYFAFWGRGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVCTLPSPRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNRFTQKSLSLSPG
127	Anti-CTLA4 (VHH-9) × CCR8 -2 轻链 2	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAP RLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCQ QYSAWPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV

		CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
128	Anti-CTLA4 (VHH-16) × CCR8 -2 重链 1	EVQLQESGGGLVQAGGALRLSCAAPIDIFRISIMGWYRQAPGQ QRELVARISKAGTTTYADSVKGRFTISRDNKNTVILQMNSLKP EDTAVYYCNADRLRQHDLWGQGTQVTVSSDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTK NQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
129	Anti-CTLA4 (VHH-16) × CCR8 -2 重链 2	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHVWRQAP GQGLEWMGIINPMTGSASHAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMEL SSLRSEDVAVYYCVRDAAARHKYFAFWGRGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVCTLPSPRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVM HEALHNRFTQKSLSLSPG
130	Anti-CTLA4 (VHH-16) × CCR8 -2 轻链 2	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAP RLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCQ QYSAWPLTFFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
131	Anti-CTLA4 (VHH-23) × CCR8 -2 重链 1	EVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGIIHSIYHMGWYRQAPGK QRELVAVITSGGSTNYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLKP EDTAVYYCNSYHYGATRDYDAWGQGTQVTVSSDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDEL TKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSG GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
132	Anti-CTLA4 (VHH-23) × CCR8 -2 重链 2	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHVWRQAP GQGLEWMGIINPMTGSASHAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMEL SSLRSEDVAVYYCVRDAAARHKYFAFWGRGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVCTLPSPRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNG

		QPENNYKTTTPVLDSGSGFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNRFTQKSLSLSPG
133	Anti-CTLA4 (VHH-23) × CCR8 -2 轻链 2	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAP RLLIYDASNRTATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQ QYSAWPLTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV CLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
134	Anti-CTLA4 (VHH-43) × CCR8 -2 重链 1	EVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCVASGSIFRPYVMGWYRQAPG KQRELVAATNSKGGSTIYADAVKGRFTISDNDENTVYVLMNSLK PEDTAVYYCNLKEGLGIYLRGDYWGQGTQVTVSSDKTHTCPPCP APPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDEL TKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS GSGFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNYTQKSLSL PG
135	Anti-CTLA4 (VHH-43) × CCR8 -2 重链 2	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHWRQAP GQGLEWMGIINPMTGSASHAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMEL SSLRSEDVAVYYCVRDAAARHKYFAFWGRGTLTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVCTLPSPRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSGSGFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNRFTQKSLSLSPG
136	Anti-CTLA4 (VHH-43) × CCR8 -2 轻链 2	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAP RLLIYDASNRTATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQ QYSAWPLTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV CLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
137	Anti- CCR8(68741-R2- 21-DA)的 VH CDR1	GYTFTSY
138	Anti- CCR8(68741-R2- 21-DA)的 VH CDR2	INPMTGSA
139	Anti- CCR8(68741-R2- 21-DA)VH CDR3	VRDAAARHKYFAF
140	鼠 IgG2a 重链氨基	AKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNS

	酸序列 (引入 LT 突变)	GSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHP ASSTKVDDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKD VLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTAQTQTH REDYNSTLRVVSALPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIER TISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDI YVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSG SYLMYSKLTVEKKNWV ERNYSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPG
141	鼠 IgG2a 重链氨基酸序列 (引入 KR/RF 突变)	AKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNS GSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHP ASSTKVDDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKD VLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTAQTQTH REDYNSTLRVVSALPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIER TISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEEMTKKQVTLTCMVKDFMPEDI YVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSG SYFMYSRLRVEKKNWV ERNYSYSCSVVHEGLHNRFTTKSFSRTPG
142	鼠 IgG2a 重链恒定区氨基酸序列	AKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNS GSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHP ASSTKVDDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKD VLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTAQTQTH REDYNSTLRVVSALPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIER TISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDI YVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSG SYFMYSKLRVEKKNWV ERNYSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPG
143	鼠 IgG2a 轻链恒定区氨基酸序列	RADAAPTVISIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNMFYPKDINVWKID GSERQNGVLNSWTDQDSKDYSTYSMSSTLTTLTKDEYERHNSYT CEATHKTSTSPIVKSFNNEC
144	Anti-CCR8(ADI68741)-2 mAb 重链	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVCKASGYTFTSYMHWVRQAP GQGLEWMGIINPGTGSTSHAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMEL SSLRSEDTAVYYCARDGAFRHKYFDLWGRGTLTVSSAKTTA PSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSS GVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTK VDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMI LSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTAQTQTHREDYN STLRVVSALPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPK GSVRAPQVYVLPPEEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWT NNGKTELNYKNTEPVLDSG SYFMYSKLRVEKKNWVERNSYS CSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPG
145	Anti-CCR8(ADI68741)-2 mAb 轻链	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAP RLLIYDASNRATGIPARFSGSGGTDFLTITSSLEPEDFAVYYCQ QYSAWPLTFGGGKTKEIKRADAAPTVISIFPPSSEQLTSGGASV CFLNMFYPKDINVWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDYSTM SSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNNEC
146	Anti-CTLA4(ip-05)-2 mAb 重链	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYTMHWVRQAPG KGLEWVTFISEDGNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNS

		LRAEDTAIYYCARTGWLGPFDYWQGTLTVSSAKTTAPSVY PLAPVCGD TTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHT FPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKI EPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMSLSPIVT CVVVDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTAQTQTHREDYNSTLRV VSALPIQH QDWMMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRA PQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTD FMPEDIYVEWTNNGKT ELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNYSYSCSVVH EGLHNHHTTKSFSRTPG
147	Anti-CTLA4(ip-05)-2 mAb 轻链	DIVLTQSPGTL SLSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQ APRLLIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYY CQQYGSSPWTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGAS VVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTY SMSSTLT LTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC
148	Anti-CTLA4(ip-05)×CCR8-7 mAb 重链-1	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYTMHWVRQAPG KGLEWVTFISEDGNNKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNS LRAEDTAIYYCARTGWLGPFDYWQGTLTVSSAKTTAPSVY PLAPVCGD TTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHT FPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKI EPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMSLSPIVT CVVVDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTAQTQTHREDYNSTLRV VSALPIQH QDWMMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRA PQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTD FMPEDIYVEWTNNGKT ELNYKNTEPVLDSDGSYLMYSKLTVEKKNWVERNYSYSCSVVH EGLHNHHTTKSFSRTPG
149	Anti-CTLA4(ip-05)×CCR8-7 mAb 重链-2	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHWRQAP GQGLEWMGIHPGTGSTSHAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMEL SSLRSEDTAVYYCARDGAFRHKYFDLWGRGTLTVSSAKTTA PSVYPLAPVCGD TTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSS GVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTK VDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVLMS LSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTAQTQTHREDYN STLRVVSALPIQH QDWMMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPK GSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVKDFMPEDIYVEWT NNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSRLRVEKKNWVERNYSY CSVVHEGLHNRF TTKSFSRTPG
150	Anti-CTLA4(ip-05)×CCR8-7 mAb 轻链-1	DIVLTQSPGTL SLSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQ APRLLIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYY CQQYGSSPWTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGAS VVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTY SMSSTLT LTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC
151	Anti-CTLA4(ip-05)×CCR8-7 mAb 轻链-2	EIVLTQSPATL SLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAP RLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSEPEDFAVYYCQ QYSAWPLTFGGGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASV

		CFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSM SSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRECE
152	Anti-CTLA4(ip-05)×CCR8-8 mAb 重链-1	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYTMHWVRQAPG KGLEWVTFISEDGNNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNS LRAEDTAIYYCARTGWLGPFDYWGQGTLVTVSSAKTTAPSVY PLAPVCGD TTGSSVT LGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHT FPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKI EPRGPTIKCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVL MISLSPIVT CVVVDVSEDDPDVQISW FVN NVEVHTAQTQTHREDYNSTLRV VSALPIQH QDWMSGKEFKCKVNNKDL PAPIERTISKPKGSVRA PQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTD FMPEDIYVEWTNNGKT ELNYKNTEPVLDSDGSYLMYSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVH EGLHNHHTTKSFSRTPG
153	Anti-CTLA4(ip-05)×CCR8-8 mAb 重链-2	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHWVRQAP GQGLEWMGIINPMTGSASHAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYME LSSLRSEDTAVYYCVRDAAARHKYFAFWGRGTLTVSS AKTTAPSVYPLAPVCGD TTGSSVT LGCLVKGYFPEPVTLTWNS GSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHP ASSTKVDKKIEPRGPTIKCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKD VLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISW FVN NVEVHTAQTQTH REDYNSTLRVVSALPIQH QDWMSGKEFKCKVNNKDL PAPIER TISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMV KDFMPEDI YVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSRLRVEKKNWV ERN SYSCSVVHEGLHNRFTTKSFSRTPG
154	Anti-CTLA4(ip-05)×CCR8-8 mAb 轻链-1	DIVLTQSPGTL SLS PGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQ APRL LIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYY CQQYGSSPWTFGQG TKVEIKRADAAPT VSI FPPSSEQLTSGGAS VVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTY SMSSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRECE
155	Anti-CTLA4(ip-05)×CCR8-8 mAb 轻链-2	EIVLTQSPATL SLS PGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAP RLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLLEPEDFAVYYCQ QYSAWPLTFGGG TKVEIKRADAAPT VSI FPPSSEQLTSGGASV CFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSM SSTLTTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRECE
156	Anti-CTLA4(ip-0508)×CCR8-7 mAb 重链-1	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYTMHWVRQAPG KGLEWVTFISEDGNNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNS LRAEDTAIYYCARTGWLGPEDYWGQGTLVTVSSAKTTAPSVY PLAPVCGD TTGSSVT LGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHT FPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKI EPRGPTIKCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPKIKDVL MISLSPIVT CVVVDVSEDDPDVQISW FVN NVEVHTAQTQTHREDYNSTLRV VSALPIQH QDWMSGKEFKCKVNNKDL PAPIERTISKPKGSVRA PQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTD FMPEDIYVEWTNNGKT ELNYKNTEPVLDSDGSYLMYSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVH

		EGLHNHHTTKSFSRTPG
157	Anti-CTLA4(ip-0508)×CCR8-7 mAb 重链-2	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYMHWRQAP GQGLEWMGIINPGTGSTSHAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMEL SSLRSEDVAVYYCARDGAFRHKYFDLWGRGTLTVSSAKTTA PSVYPLAPVCGDITGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSS GVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTK VDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVIFPPKIKDVLNIS LPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNNVEVHTAQTQTHREDYN STLRVVSALPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPK GSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVKDFMPEDIYVEWT NNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSRLRVEKKNWVERNSYS CSVVHEGLHNRFITTKSFSRTPG
158	Anti-CTLA4(ip-0508)×CCR8-7 mAb 轻链-1	DIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVGSSYLAWYQQKPGQ APRLLIYGAFSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYY CQYQGSSPWTFGQGTKVEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGAS VVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTY SMSSTLTLTKEDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRECE
159	Anti-CTLA4(ip-0508)×CCR8-7 mAb 轻链-2	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAP RLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCQ QYSAWPLTFGGGTKEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVV CFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSM SSTLTLTKEDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRECE
160	ONC-392 Analog 重链	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGFSLTSYGLSWIRQPPGK GLEWIGYIWDGNTNFHSPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTA ADTAVYYCAKTEGHYYGSNYGYALDYWGQGTLLTVSSAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNATYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIAA TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHREALHNYTQKSLSLSPG
161	ONC-392 Analog 轻链	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASENIYSNLAWYQQKQGKA PKLLLYAATNLQDGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYF CQHLWGTPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDST YLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

具体实施方式

现参照下列意在举例说明本发明（而非限定本发明）的实施例来描述本发明。

除非特别指明，否则基本上按照本领域内熟知的以及在各种参考文献中描述的

常规方法进行实施例中描述的实验和方法。例如，本发明中所使用的免疫学、生物化学、化学、分子生物学、微生物学、细胞生物学、基因组学和重组 DNA 等常规技术，可参见萨姆布鲁克(Sambrook)、弗里奇(Fritsch)和马尼亚蒂斯(Maniatis)，《分子克隆：实验室手册》(MOLECULAR CLONING:A LABORATORY MANUAL)，第 2 次编辑(1989)；《当代分子生物学实验手册》(CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY)(F.M.奥苏贝尔(F.M.Ausubel)等人编辑，(1987))；《酶学方法》(METHODS IN ENZYMOLOGY)系列(学术出版公司)；《PCR 2：实用方法》(PCR 2:A PRACTICAL APPROACH)(M.J.麦克弗森(M.J.MacPherson)、B.D.黑姆斯(B.D.Hames)和 G.R.泰勒(G.R.Taylor)编辑(1995))，以及《动物细胞培养》(ANIMAL CELL CULTURE)(R.I.弗雷谢尼(R.I.Freshney)编辑(1987))。

另外，实施例中未注明具体条件者，按照常规条件或制造商建议的条件进行。所用试剂或仪器未注明生产厂商者，均为可以通过市购获得的常规产品。本领域技术人员知晓，实施例以举例方式描述本发明，且不意欲限制本发明所要求保护的范围。本文中提及的全部公开案和其他参考资料以其全文通过引用合并入本文。

15

实施例 1.双特异性抗体的克隆和表达

在本实施例中，构建了 3 种 CCR8 单克隆抗体，7 种 CTLA4 单克隆抗体和 23 种 CTLA4xCCR8 双特异性抗体，分别为：

CCR8 单克隆抗体

20 Anti-CCR8(ADI68741)-1: 由 4 条多肽链组成，其结构示意图如图 1 所示，重链具有 SEQ ID NO: 18 所示的氨基酸序列，其包含抗 CCR8 的单克隆抗体 ADI68741 的重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 1) 以及人 IgG1 氨基酸序列 (SEQ ID NO 12)。轻链具有 SEQ ID NO 19 所示的氨基酸序列，其包含抗 CCR8 的单克隆抗体 ADI68741 的轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 2)，以及在所述 VL 氨基酸序列 25 C 端的人 κ 轻链恒定区(CL)氨基酸序列 (SEQ ID NO 11)。

Anti-CCR8(ADI68741)-2: 由 4 条多肽链组成，其结构示意图如图 1 所示，重链具有 SEQ ID NO: 144 所示的氨基酸序列，其包含抗 CCR8 的单克隆抗体 ADI68741 的重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 1) 以及鼠 IgG2a 重链恒定区氨基酸序列 (SEQ ID NO 142)。轻链具有 SEQ ID NO 145 所示的氨基酸序列，其包含抗 30 CCR8 的单克隆抗体 ADI68741 的轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 2)，以及在

所述 VL 氨基酸序列 C 端的鼠 IgG2a 轻链恒定区氨基酸序列 (SEQ ID NO 143)。

Anti-CCR8(ADI68741-R2-21-DA): 由 4 条多肽链组成, 其结构示意图如图 1 所示, 重链具有 SEQ ID NO 83 所示的氨基酸序列, 其包含抗 CCR8 的单克隆抗体 ADI68741-R2-21-DA 的重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 78) 以及人 IgG1 氨基酸序列 (SEQ ID NO 12)。轻链具有 SEQ ID NO 84 所示的氨基酸序列, 其包含抗 CCR8 的单克隆抗体 ADI68741 的轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 2), 以及在所述 VL 氨基酸序列 C 端的人 κ 轻链恒定区(CL)氨基酸序列 (SEQ ID NO 11)。

CTLA4 单克隆抗体

Anti-CTLA4(ip-05)-1: 由 4 条多肽链组成, 其结构示意图如图 1 所示, 重链具有 SEQ ID NO 20 所示的氨基酸序列, 其包含抗 CTLA4 的单克隆抗体 ip-05 的重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 3) 以及人 IgG1 氨基酸序列 (SEQ ID NO 12)。轻链具有 SEQ ID NO 21 所示的氨基酸序列, 其包含抗 CTLA4 的单克隆抗体 ip-05 的轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 4), 以及在所述 VL 氨基酸序列 C 端的人 κ 轻链恒定区(CL)氨基酸序列 (SEQ ID NO 11)。

Anti-CTLA4(ip-05)-2: 由 4 条多肽链组成, 其结构示意图如图 1 所示, 重链具有 SEQ ID NO 146 所示的氨基酸序列, 其包含抗 CTLA4 的单克隆抗体 ip-05 的重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 3) 以及鼠 IgG2a 重链恒定区氨基酸序列 (SEQ ID NO 142)。轻链具有 SEQ ID NO 147 所示的氨基酸序列, 其包含抗 CTLA4 的单克隆抗体 ip-05 的轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 4), 以及在所述 VL 氨基酸序列 C 端的鼠 IgG2a 轻链恒定区氨基酸序列 (SEQ ID NO 143)。

Anti-CTLA4(ip-0508): 由 4 条多肽链组成, 其结构示意图如图 1 所示, 重链具有 SEQ ID NO 22 所示的氨基酸序列, 其包含抗 CTLA4 的单克隆抗体 ip-0508 的重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 5) 以及人 IgG1 氨基酸序列 (SEQ ID NO 12)。轻链具有 SEQ ID NO 23 所示的氨基酸序列, 其包含抗 CTLA4 的单克隆抗体 ip-0508 的轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 6), 以及在所述 VL 氨基酸序列 C 端的人 κ 轻链恒定区(CL)氨基酸序列 (SEQ ID NO 11)。

Anti-CTLA4(VHH-9): 由 2 条多肽链组成, 其结构示意图如图 1 所示, 具有 SEQ ID NO 24 所示的氨基酸序列, 其包含抗 CTLA4 的单域抗体 VHH-9 的 CTLA4 结合区域氨基酸序列 (SEQ ID NO 7) 以及人 IgG1 Fc 氨基酸序列 (SEQ ID NO 15)。

Anti-CTLA4(VHH-16): 由 2 条多肽链组成, 其结构示意图如图 1 所示, 具有 SEQ ID NO 25 所示的氨基酸序列, 其包含抗 CTLA4 的单域抗体 VHH-16 的 CTLA4 结合区域氨基酸序列 (SEQ ID NO 8) 以及人 IgG1 Fc 氨基酸序列 (SEQ ID NO 15)。

5 Anti-CTLA4(VHH-23): 由 2 条多肽链组成, 其结构示意图如图 1 所示, 具有 SEQ ID NO 26 所示的氨基酸序列, 其包含抗 CTLA4 的单域抗体 VHH-23 的 CTLA4 结合区域氨基酸序列 (SEQ ID NO 9) 以及人 IgG1 Fc 氨基酸序列 (SEQ ID NO 15)。

10 Anti-CTLA4(VHH-43): 由 2 条多肽链组成, 其结构示意图如图 1 所示, 具有 SEQ ID NO 27 所示的氨基酸序列, 其包含抗 CTLA4 的单域抗体 VHH-43 的 CTLA4 结合区域氨基酸序列 (SEQ ID NO 10) 以及人 IgG1 Fc 氨基酸序列 (SEQ ID NO 15)。

CTL4xCCR8 双特异性抗体

Anti-CTLA4(ip-05)xCCR8-1: 由 4 条多肽链组成, 其结构示意图如图 1 所示, 肽链#1 按照专利 (专利申请号: WO2011/131746 A2) 中描述的方法合成具有 SEQ ID NO 28 所示的氨基酸序列, 包含抗 CTLA4 的单克隆抗体 ip-05 的重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 3) 及可以形成异源二聚体的人 IgG1 氨基酸序列 (SEQ ID NO 13, 专利申请号: WO2011/131746 A2)。肽链#2 具有 SEQ ID NO 29 所示的氨基酸序列, 其包含抗 CTLA4 的单克隆抗体 ip-05 的轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 4), 以及在所述 VL 氨基酸序列 C 端的人 κ 轻链恒定区(CL)氨基酸序列 (SEQ ID NO 11)。肽链#3 按照专利 (专利申请号: WO2011/131746 A2) 中描述的方法合成具有 SEQ ID NO 30 所示的氨基酸序列, 包含抗 CCR8 的单克隆抗体 ADI68741 的重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 1) 及可以形成异源二聚体的人 IgG1 氨基酸序列 (SEQ ID NO 14, 专利申请号: WO2011/131746 A2)。肽链#4 具有 SEQ ID NO 31 所示的氨基酸序列, 其包含抗 CCR8 的单克隆抗体 ADI68741 的轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 2), 以及在所述 VL 氨基酸序列 C 端的人 κ 轻链恒定区(CL)氨基酸序列 (SEQ ID NO 11)。

Anti-CTLA4(ip-05)xCCR8-2: 由 4 条多肽链组成, 其结构示意图如图 1 所示, 肽链#1 按照专利 (专利申请号: WO2011/131746 A2) 中描述的方法合成具有 SEQ ID NO 85 所示的氨基酸序列, 包含抗 CTLA4 的单克隆抗体 ip-05 的重链可变区氨基

酸序列 (SEQ ID NO 3) 及可以形成异源二聚体的人 IgG1 氨基酸序列 (SEQ ID NO 13, 专利申请号: WO2011/131746 A2)。肽链#2 具有 SEQ ID NO 86 所示的氨基酸序列, 其包含抗 CTLA4 的单克隆抗体 ip-05 的轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 4), 以及在所述 VL 氨基酸序列 C 端的人 κ 轻链恒定区(CL)氨基酸序列 (SEQ ID NO 11)。肽链#3 按照专利 (专利申请号: WO2011/131746 A2) 中描述的方法合成具有 SEQ ID NO 87 所示的氨基酸序列, 包含抗 CCR8 的单克隆抗体 ADI68741-R2-21-DA 的重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 78) 及可以形成异源二聚体的人 IgG1 氨基酸序列 (SEQ ID NO 14, 专利申请号: WO2011/131746 A2)。肽链#4 具有 SEQ ID NO 88 所示的氨基酸序列, 其包含抗 CCR8 的单克隆抗体 ADI68741 的轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 2), 以及在所述 VL 氨基酸序列 C 端的人 κ 轻链恒定区(CL)氨基酸序列 (SEQ ID NO 11)。

Anti-CTLA4(ip-05)xCCR8-3:由 4 条多肽链组成, 其结构示意图如图 1 所示, 肽链#1 具有 SEQ ID NO 95 所示的氨基酸序列, 其包含抗 CTLA-4 的单克隆抗体 ip-05 的重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 3) 以及人 IgG1 氨基酸序列引入 CH3 Hole 突变和 CH1/CL 偏好性突变 CH SET2 (专利申请号: WO2021067404A2, SEQ ID NO 80)。肽链#2 具有 SEQ ID NO 96 所示的氨基酸序列, 其包含抗 CTLA-4 的单克隆抗体 ip-05 的轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 4), 以及在所述 VL 氨基酸序列 C 端的人 κ 轻链恒定区(CL)氨基酸序列引入 CH1/CL 偏好性突变 CL SET2 (专利申请号: WO2021067404A2, SEQ ID NO 82)。肽链#3 具有 SEQ ID NO 93 所示的氨基酸序列, 其包含抗 CCR8 的单克隆抗体的 ADI68741 重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 1) 以及人 IgG1 氨基酸序列引入 CH3 Knob 突变和 CH1/CL 偏好性突变 CH SET1 (专利申请号: WO2021067404A2, SEQ ID NO 79)。肽链#4 具有 SEQ ID NO 94 所示的氨基酸序列, 其包含抗 CCR8 的单克隆抗体 ADI68741 的轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 2), 以及在所述 VL 氨基酸序列 C 端的人 κ 轻链恒定区(CL)氨基酸序列引入 CH1/CL 偏好性突变 CL SET1 (专利申请号: WO2021067404A2, SEQ ID NO 81)。

Anti-CTLA4(ip-05)xCCR8-4:由 4 条多肽链组成, 其结构示意图如图 1 所示, 肽链#1 具有 SEQ ID NO 99 所示的氨基酸序列, 其包含抗 CTLA-4 的单克隆抗体 ip-05 的重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 3) 以及人 IgG1 氨基酸序列引入 CH3 Hole 突变和 CH1/CL 偏好性突变 CH SET2 (专利申请号: WO2021067404A2, SEQ ID

NO 80)。肽链#2 具有 SEQ ID NO 100 所示的氨基酸序列，其包含抗 CTLA-4 的单克隆抗体 ip-05 的轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 4)，以及在所述 VL 氨基酸序列 C 端的人 κ 轻链恒定区(CL)氨基酸序列引入 CH1/CL 偏好性突变 CL SET2 (专利申请号: WO2021067404A2, SEQ ID NO 82)。肽链#3 具有 SEQ ID NO 97 所示的氨基酸序列，其包含抗 CCR8 的单克隆抗体的 ADI68741-R2-21-DA 重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 78) 以及人 IgG1 氨基酸序列引入 CH3 Knob 突变和 CH1/CL 偏好性突变 CH SET1 (专利申请号: WO2021067404A2, SEQ ID NO 79)。肽链#4 具有 SEQ ID NO 98 所示的氨基酸序列，其包含抗 CCR8 的单克隆抗体 ADI68741 的轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 2)，以及在所述 VL 氨基酸序列 C 端的人 κ 轻链恒定区(CL)氨基酸序列引入 CH1/CL 偏好性突变 CL SET1 (专利申请号: WO2021067404A2, SEQ ID NO 81)。

Anti-CTLA4(ip-05)xCCR8-5:由 4 条多肽链组成，其结构示意图如图 1 所示，肽链#1 具有 SEQ ID NO 109 所示的氨基酸序列，其包含抗 CTLA4 的单克隆抗体的 ip-05 重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 3) 以及人 IgG1 氨基酸序列引入 CH3 Knob 突变和 CH1/CL 偏好性突变 CH SET1 (专利申请号: WO2021067404A2, SEQ ID NO 79)。肽链#2 具有 SEQ ID NO 110 所示的氨基酸序列，其包含抗 CTLA-4 的单克隆抗体 ip-05 的轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 4)，以及在所述 VL 氨基酸序列 C 端的人 κ 轻链恒定区(CL)氨基酸序列引入 CH1/CL 偏好性突变 CL SET1 (专利申请号: WO2021067404A2, SEQ ID NO 81)。肽链#3 具有 SEQ ID NO 111 所示的氨基酸序列，其包含抗 CCR8 的单克隆抗体 ADI68741 的重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 1) 以及人 IgG1 氨基酸序列引入 CH3 Hole 突变和 CH1/CL 偏好性突变 CH SET2 (专利申请号: WO2021067404A2, SEQ ID NO 80)。肽链#4 具有 SEQ ID NO 112 所示的氨基酸序列，其包含抗 CCR8 的单克隆抗体 ADI68741 的轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 2)，以及在所述 VL 氨基酸序列 C 端的人 κ 轻链恒定区(CL)氨基酸序列引入 CH1/CL 偏好性突变 CL SET2 (专利申请号: WO2021067404A2, SEQ ID NO 82)。

Anti-CTLA4(ip-05)xCCR8-6:由 4 条多肽链组成，其结构示意图如图 1 所示，肽链#1 具有 SEQ ID NO 113 所示的氨基酸序列，其包含抗 CTLA4 的单克隆抗体的 ip-05 重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 3) 以及人 IgG1 氨基酸序列引入 CH3 Knob 突变和 CH1/CL 偏好性突变 CH SET1 (专利申请号: WO2021067404A2, SEQ ID

NO 79)。肽链#2 具有 SEQ ID NO 114 所示的氨基酸序列，其包含抗 CTLA-4 的单克隆抗体 ip-05 的轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 4)，以及在所述 VL 氨基酸序列 C 端的人 κ 轻链恒定区(CL)氨基酸序列引入 CH1/CL 偏好性突变 CL SET1 (专利申请号: WO2021067404A2, SEQ ID NO 81)。肽链#3 具有 SEQ ID NO 115 所示的氨基酸序列，其包含抗 CCR8 的单克隆抗体 ADI68741-R2-21-DA 的重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 78) 以及人 IgG1 氨基酸序列引入 CH3 Hole 突变和 CH1/CL 偏好性突变 CH SET2 (专利申请号: WO2021067404A2, SEQ ID NO 80)。肽链#4 具有 SEQ ID NO 116 所示的氨基酸序列，其包含抗 CCR8 的单克隆抗体 ADI68741 的轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 2)，以及在所述 VL 氨基酸序列 C 端的人 κ 轻链恒定区(CL)氨基酸序列引入 CH1/CL 偏好性突变 CL SET2 (专利申请号: WO2021067404A2, SEQ ID NO 82)。

Anti-CTLA4(ip-05)xCCR8-7: 由 4 条多肽链组成，其结构示意图如图 1 所示，肽链#1 具有 SEQ ID NO 148 所示的氨基酸序列，包含抗 CTLA4 的单克隆抗体 ip-05 的重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 3) 及可以形成异源二聚体的鼠 IgG2a 重链恒定区氨基酸序列 (SEQ ID NO 140)。肽链#2 具有 SEQ ID NO 150 所示的氨基酸序列，其包含抗 CTLA4 的单克隆抗体 ip-05 的轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 4)，以及在所述 VL 氨基酸序列 C 端的鼠 IgG2a 轻链恒定区氨基酸序列 (SEQ ID NO 143)。肽链#3 具有 SEQ ID NO 149 所示的氨基酸序列，包含抗 CCR8 的单克隆抗体 ADI68741 的重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 1) 及可以形成异源二聚体的鼠 IgG2a 重链恒定区氨基酸序列 (SEQ ID NO 141)。肽链#4 具有 SEQ ID NO 151 所示的氨基酸序列，其包含抗 CCR8 的单克隆抗体 ADI68741 的轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 2)，以及在所述 VL 氨基酸序列 C 端的鼠 IgG2a 轻链恒定区氨基酸序列 (SEQ ID NO 143)。

Anti-CTLA4(ip-05)xCCR8-8: 由 4 条多肽链组成，其结构示意图如图 1 所示，肽链#1 具有 SEQ ID NO 152 所示的氨基酸序列，包含抗 CTLA4 的单克隆抗体 ip-05 的重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 3) 及可以形成异源二聚体的鼠 IgG2a 重链恒定区氨基酸序列 (SEQ ID NO 140)。肽链#2 具有 SEQ ID NO 154 所示的氨基酸序列，其包含抗 CTLA4 的单克隆抗体 ip-05 的轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 4)，以及在所述 VL 氨基酸序列 C 端的鼠 IgG2a 轻链恒定区氨基酸序列 (SEQ ID NO 143)。肽链#3 具有 SEQ ID NO 153 所示的氨基酸序列，包含抗 CCR8 的单克隆

抗体 ADI68741-R2-21-DA 的重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 78) 及可以形成异源二聚体的鼠 IgG2a 氨基酸序列 (SEQ ID NO 141)。肽链#4 具有 SEQ ID NO 155 所示的氨基酸序列, 其包含抗 CCR8 的单克隆抗体 ADI68741 的轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 2), 以及在所述 VL 氨基酸序列 C 端的鼠 IgG2a 轻链恒定区氨基酸序列 (SEQ ID NO 143)。

Anti-CTLA4(ip-0508)xCCR8-1: 由 4 条多肽链组成, 其结构示意图如图 1 所示, 肽链#1 按照专利 (专利申请号: WO2011/131746 A2) 中描述的方法合成具有 SEQ ID NO 32 所示的氨基酸序列, 包含抗 CTLA4 的单克隆抗体 ip-0508 的重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 5) 及可以形成异源二聚体的人 IgG1 氨基酸序列 (SEQ ID NO 13, 专利申请号: WO2011/131746 A2)。肽链#2 具有 SEQ ID NO 33 所示的氨基酸序列, 其包含抗 CTLA4 的单克隆抗体 ip-0508 的轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 6), 以及在所述 VL 氨基酸序列 C 端的人 κ 轻链恒定区(CL)氨基酸序列 (SEQ ID NO 11)。肽链#3 按照专利 (专利申请号: WO2011/131746 A2) 中描述的方法合成具有 SEQ ID NO 34 所示的氨基酸序列, 包含抗 CCR8 的单克隆抗体 ADI68741 的重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 1) 及可以形成异源二聚体的人 IgG1 氨基酸序列 (SEQ ID NO 14, 专利申请号: WO2011/131746 A2)。肽链#4 具有 SEQ ID NO 35 所示的氨基酸序列, 其包含抗 CCR8 的单克隆抗体 ADI68741 的轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 2), 以及在所述 VL 氨基酸序列 C 端的人 κ 轻链恒定区(CL)氨基酸序列 (SEQ ID NO 11)。

Anti-CTLA4(ip-0508)xCCR8-2: 由 4 条多肽链组成, 其结构示意图如图 1 所示, 肽链#1 按照专利 (专利申请号: WO2011/131746 A2) 中描述的方法合成具有 SEQ ID NO 89 所示的氨基酸序列, 包含抗 CTLA4 的单克隆抗体 ip-0508 的重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 5) 及可以形成异源二聚体的人 IgG1 氨基酸序列 (SEQ ID NO 13, 专利申请号: WO2011/131746 A2)。肽链#2 具有 SEQ ID NO 90 所示的氨基酸序列, 其包含抗 CTLA4 的单克隆抗体 ip-0508 的轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 6), 以及在所述 VL 氨基酸序列 C 端的人 κ 轻链恒定区(CL)氨基酸序列 (SEQ ID NO 11)。肽链#3 按照专利 (专利申请号: WO2011/131746 A2) 中描述的方法合成具有 SEQ ID NO 91 所示的氨基酸序列, 包含抗 CCR8 的单克隆抗体 ADI68741-R2-21-DA 的重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 78) 及可以形成异源二聚体的人 IgG1 氨基酸序列 (SEQ ID NO 14, 专利申请号: WO2011/131746 A2)。

肽链#4 具有 SEQ ID NO 92 所示的氨基酸序列，其包含抗 CCR8 的单克隆抗体 ADI68741 的轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 2)，以及在所述 VL 氨基酸序列 C 端的人 κ 轻链恒定区 (CL) 氨基酸序列 (SEQ ID NO 11)。

Anti-CTLA4(ip-0508)xCCR8-3: 由 4 条多肽链组成，其结构示意图如图 1 所示，

5 肽链#1 具有 SEQ ID NO 103 所示的氨基酸序列，其包含抗 CTLA-4 的单克隆抗体 ip-0508 的重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 5) 以及人 IgG1 氨基酸序列引入 CH3 Hole 突变和 CH1/CL 偏好性突变 CH SET2 (专利申请号: WO2021067404A2, SEQ ID NO 80)。肽链#2 具有 SEQ ID NO 104 所示的氨基酸序列，其包含抗 CTLA-4 的单克隆抗体 ip-0508 的轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 6)，以及在
10 所述 VL 氨基酸序列 C 端的人 κ 轻链恒定区 (CL) 氨基酸序列引入 CH1/CL 偏好性突变 CL SET2 (专利申请号: WO2021067404A2, SEQ ID NO 82)。肽链#3 具有 SEQ ID NO 101 所示的氨基酸序列，其包含抗 CCR8 的单克隆抗体的 ADI68741 重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 1) 以及人 IgG1 氨基酸序列引入 CH3 Knob 突变和 CH1/CL 偏好性突变 CH SET1 (专利申请号: WO2021067404A2, SEQ ID NO
15 79)。肽链#4 具有 SEQ ID NO 102 所示的氨基酸序列，其包含抗 CCR8 的单克隆抗体 ADI68741 的轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 2)，以及在所述 VL 氨基酸序列 C 端的人 κ 轻链恒定区 (CL) 氨基酸序列引入 CH1/CL 偏好性突变 CL SET1 (专利申请号: WO2021067404A2, SEQ ID NO 81)。

Anti-CTLA4(ip-0508)xCCR8-4: 由 4 条多肽链组成，其结构示意图如图 1 所示，

20 肽链#1 具有 SEQ ID NO 107 所示的氨基酸序列，其包含抗 CTLA-4 的单克隆抗体 ip-0508 的重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 5) 以及人 IgG1 氨基酸序列引入 CH3 Hole 突变和 CH1/CL 偏好性突变 CH SET2 (专利申请号: WO2021067404A2, SEQ ID NO 80)。肽链#2 具有 SEQ ID NO 108 所示的氨基酸序列，其包含抗 CTLA-4 的单克隆抗体 ip-0508 的轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 6)，以及在
25 所述 VL 氨基酸序列 C 端的人 κ 轻链恒定区 (CL) 氨基酸序列引入 CH1/CL 偏好性突变 CL SET2 (专利申请号: WO2021067404A2, SEQ ID NO 82)。肽链#3 具有 SEQ ID NO 105 所示的氨基酸序列，其包含抗 CCR8 的单克隆抗体的 ADI68741-R2-21-DA 重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 78) 以及人 IgG1 氨基酸序列引入 CH3 Knob 突变和 CH1/CL 偏好性突变 CH SET1 (专利申请号: WO2021067404A2, SEQ
30 ID NO 79)。肽链#4 具有 SEQ ID NO 106 所示的氨基酸序列，其包含抗 CCR8 的单

克隆抗体 ADI68741 的轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 2)，以及在所述 VL 氨基酸序列 C 端的人 κ 轻链恒定区(CL)氨基酸序列引入 CH1/CL 偏好性突变 CL SET1 (专利申请号: WO2021067404A2, SEQ ID NO 81)。

Anti-CTLA4(ip-0508)xCCR8-5:由 4 条多肽链组成,其结构示意图如图 1 所示,
5 肽链#1 具有 SEQ ID NO 117 所示的氨基酸序列,其包含抗 CTLA4 的单克隆抗体的 ip-0508 重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 5) 以及人 IgG1 氨基酸序列引入 CH3 Knob 突变和 CH1/CL 偏好性突变 CH SET1 (专利申请号: WO2021067404A2, SEQ ID NO 79)。肽链#2 具有 SEQ ID NO 118 所示的氨基酸序列,其包含抗 CTLA-4 的单克隆抗体 ip-0508 的轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 6),以及在所述 VL 氨基酸序列 C 端的人 κ 轻链恒定区(CL)氨基酸序列引入 CH1/CL 偏好性突变 CL SET1
10 (专利申请号: WO2021067404A2, SEQ ID NO 81)。肽链#3 具有 SEQ ID NO 119 所示的氨基酸序列,其包含抗 CCR8 的单克隆抗体 ADI68741 的重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 1) 以及人 IgG1 氨基酸序列引入 CH3 Hole 突变和 CH1/CL 偏好性突变 CH SET2 (专利申请号: WO2021067404A2, SEQ ID NO 80)。肽链#4 具有
15 SEQ ID NO 120 所示的氨基酸序列,其包含抗 CCR8 的单克隆抗体 ADI68741 的轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 2),以及在所述 VL 氨基酸序列 C 端的人 κ 轻链恒定区(CL)氨基酸序列引入 CH1/CL 偏好性突变 CL SET2 (专利申请号: WO2021067404A2, SEQ ID NO 82)。

Anti-CTLA4(ip-0508)xCCR8-6:由 4 条多肽链组成,其结构示意图如图 1 所示,
20 肽链#1 具有 SEQ ID NO 121 所示的氨基酸序列,其包含抗 CTLA4 的单克隆抗体的 ip-0508 重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 5) 以及人 IgG1 氨基酸序列引入 CH3 Knob 突变和 CH1/CL 偏好性突变 CH SET1 (专利申请号: WO2021067404A2, SEQ ID NO 79)。肽链#2 具有 SEQ ID NO 122 所示的氨基酸序列,其包含抗 CTLA-4 的单克隆抗体 ip-0508 的轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 6),以及在所述 VL 氨基酸序列 C 端的人 κ 轻链恒定区(CL)氨基酸序列引入 CH1/CL 偏好性突变 CL SET1
25 (专利申请号: WO2021067404A2, SEQ ID NO 81)。肽链#3 具有 SEQ ID NO 123 所示的氨基酸序列,其包含抗 CCR8 的单克隆抗体 ADI68741-R2-21-DA 的重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 78) 以及人 IgG1 氨基酸序列引入 CH3 Hole 突变和 CH1/CL 偏好性突变 CH SET2 (专利申请号: WO2021067404A2, SEQ ID NO
30 80)。肽链#4 具有 SEQ ID NO 124 所示的氨基酸序列,其包含抗 CCR8 的单克隆抗

体 ADI68741 的轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 2), 以及在所述 VL 氨基酸序列 C 端的人 κ 轻链恒定区 (CL) 氨基酸序列引入 CH1/CL 偏好性突变 CL SET2 (专利申请号: WO2021067404A2, SEQ ID NO 82)。

5 Anti-CTLA4(ip-0508)xCCR8-7: 由 4 条多肽链组成, 其结构示意图如图 1 所示, 肽链#1 具有 SEQ ID NO 156 所示的氨基酸序列, 包含抗 CTLA4 的单克隆抗体 ip-0508 的重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 5) 及可以形成异源二聚体的鼠 IgG2a 重链恒定区氨基酸序列 (SEQ ID NO 140)。肽链#2 具有 SEQ ID NO 158 所示的氨基酸序列, 其包含抗 CTLA4 的单克隆抗体 ip-0508 的轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 6), 以及在所述 VL 氨基酸序列 C 端的鼠 IgG2a 轻链恒定区氨基酸
10 序列 (SEQ ID NO 143)。肽链#3 具有 SEQ ID NO 157 所示的氨基酸序列, 包含抗 CCR8 的单克隆抗体 ADI68741 的重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 1) 及可以形成异源二聚体的鼠 IgG2a 重链恒定区氨基酸序列 (SEQ ID NO 141)。肽链#4 具有 SEQ ID NO 159 所示的氨基酸序列, 其包含抗 CCR8 的单克隆抗体 ADI68741 的轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 2), 以及在所述 VL 氨基酸序列 C 端的鼠 IgG2a
15 轻链恒定区氨基酸序列 (SEQ ID NO 143)。

 Anti-CTLA4(VHH-9)xCCR8-1: 由 3 条多肽链组成, 其结构示意图如图 1 所示, 肽链#1 按照专利中描述的方法合成具有 SEQ ID NO: 36 所示的氨基酸序列, 其包含抗 CTLA4 的单域抗体 VHH-9 的 CTLA4 结合区域氨基酸序列 (SEQ ID NO 7) 以及人 IgG1 Fc 氨基酸序列引入 CH3 Knob 突变 (SEQ ID NO 16)。肽链#2 具有
20 SEQ ID NO 37 所示的氨基酸序列, 包含抗 CCR8 的单克隆抗体 ADI68741 的重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 1) 及人 IgG1 氨基酸序列引入 CH3 Hole 突变 (SEQ ID NO 17)。肽链#3 具有 SEQ ID NO 38 所示的氨基酸序列, 其包含抗 CCR8 的单克隆抗体 ADI68741 的轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 2), 以及在所述 VL 氨基酸序列 C 端的人 κ 轻链恒定区 (CL) 氨基酸序列 (SEQ ID NO 11)。

25 Anti-CTLA4(VHH-9)xCCR8-2: 由 3 条多肽链组成, 其结构示意图如图 1 所示, 肽链#1 按照专利中描述的方法合成具有 SEQ ID NO 125 所示的氨基酸序列, 其包含抗 CTLA4 的单域抗体 VHH-9 的 CTLA4 结合区域氨基酸序列 (SEQ ID NO 7) 以及人 IgG1 Fc 氨基酸序列引入 CH3 Knob 突变 (SEQ ID NO 16)。肽链#2 具有 SEQ ID NO 126 所示的氨基酸序列, 包含抗 CCR8 的单克隆抗体 ADI68741-R2-21-
30 DA (的重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 78) 及人 IgG1 氨基酸序列引入 CH3

Hole 突变 (SEQ ID NO 17)。肽链#3 具有 SEQ ID NO 127 所示的氨基酸序列, 其包含抗 CCR8 的单克隆抗体 ADI68741 的轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 2), 以及在所述 VL 氨基酸序列 C 端的人 κ 轻链恒定区(CL)氨基酸序列 (SEQ ID NO 11)。

5 **Anti-CTLA4(VHH-16)xCCR8-1:** 由 3 条多肽链组成, 其结构示意图如图 1 所示, 肽链#1 按照专利中描述的方法合成具有 SEQ ID NO 39 所示的氨基酸序列, 其包含抗 CTLA4 的单域抗体 VHH-16 的 CTLA4 结合区域氨基酸序列 (SEQ ID NO 8) 以及人 IgG1 Fc 氨基酸序列引入 CH3 Knob 突变 (SEQ ID NO 16)。肽链#2 具有 SEQ ID NO 40 所示的氨基酸序列, 包含抗 CCR8 的单克隆抗体 ADI68741 的重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 1) 及人 IgG1 氨基酸序列引入 CH3 Hole 突变 (SEQ ID NO 17)。肽链#3 具有 SEQ ID NO 41 所示的氨基酸序列, 其包含抗 CCR8 的单克隆抗体 ADI68741 的轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 2), 以及在所述 VL 氨基酸序列 C 端的人 κ 轻链恒定区(CL)氨基酸序列 (SEQ ID NO 11)。

15 **Anti-CTLA4(VHH-16)xCCR8-2:** 由 3 条多肽链组成, 其结构示意图如图 1 所示, 肽链#1 按照专利中描述的方法合成具有 SEQ ID NO 128 所示的氨基酸序列, 其包含抗 CTLA4 的单域抗体 VHH-16 的 CTLA4 结合区域氨基酸序列 (SEQ ID NO 8) 以及人 IgG1 Fc 氨基酸序列引入 CH3 Knob 突变 (SEQ ID NO 16)。肽链#2 具有 SEQ ID NO 129 所示的氨基酸序列, 包含抗 CCR8 的单克隆抗体 ADI68741-R2-21-DA 的重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 78) 及人 IgG1 氨基酸序列引入 CH3 Hole 突变 (SEQ ID NO 17)。肽链#3 具有 SEQ ID NO 130 所示的氨基酸序列, 其包含抗 CCR8 的单克隆抗体 ADI68741 的轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 2), 以及在所述 VL 氨基酸序列 C 端的人 κ 轻链恒定区(CL)氨基酸序列 (SEQ ID NO 11)。

25 **Anti-CTLA4(VHH-23)xCCR8-1:** 由 3 条多肽链组成, 其结构示意图如图 1 所示, 肽链#1 按照专利中描述的方法合成具有 SEQ ID NO 42 所示的氨基酸序列, 其包含抗 CTLA4 的单域抗体 VHH-23 的 CTLA4 结合区域氨基酸序列 (SEQ ID NO 9) 以及人 IgG1 Fc 氨基酸序列引入 CH3 Knob 突变 (SEQ ID NO 16)。肽链#2 具有 SEQ ID NO 43 所示的氨基酸序列, 包含抗 CCR8 的单克隆抗体 ADI68741 的重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 1) 及人 IgG1 氨基酸序列引入 CH3 Hole 突变 (SEQ ID NO 17)。肽链#3 具有 SEQ ID NO 44 所示的氨基酸序列, 其包含抗

30

CCR8 的单克隆抗体 ADI68741 的轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 2), 以及在所述 VL 氨基酸序列 C 端的人 κ 轻链恒定区(CL)氨基酸序列 (SEQ ID NO 11)。

Anti-CTLA4(VHH-23)xCCR8-2: 由 3 条多肽链组成, 其结构示意图如图 1 所示, 肽链#1 按照专利中描述的方法合成具有 SEQ ID NO 131 所示的氨基酸序列, 其包含抗 CTLA4 的单域抗体 VHH-23 的 CTLA4 结合区域氨基酸序列 (SEQ ID NO 9) 以及人 IgG1 Fc 氨基酸序列引入 CH3 Knob 突变 (SEQ ID NO 16)。肽链#2 具有 SEQ ID NO 132 所示的氨基酸序列, 包含抗 CCR8 的单克隆抗体 ADI68741-R2-21-DA 的重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 78) 及人 IgG1 氨基酸序列引入 CH3 Hole 突变 (SEQ ID NO 17)。肽链#3 具有 SEQ ID NO 133 所示的氨基酸序列, 其包含抗 CCR8 的单克隆抗体 ADI68741 的轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 2), 以及在所述 VL 氨基酸序列 C 端的人 κ 轻链恒定区(CL)氨基酸序列 (SEQ ID NO 11)。

Anti-CTLA4(VHH-43)xCCR8-1: 由 3 条多肽链组成, 其结构示意图如图 1 所示, 肽链#1 按照专利中描述的方法合成具有 SEQ ID NO 45 所示的氨基酸序列, 其包含抗 CTLA4 的单域抗体 VHH-43 的 CTLA4 结合区域氨基酸序列 (SEQ ID NO 10) 以及人 IgG1 Fc 氨基酸序列引入 CH3 Knob 突变 (SEQ ID NO 16)。肽链#2 具有 SEQ ID NO 46 所示的氨基酸序列, 包含抗 CCR8 的单克隆抗体 ADI68741 的重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 1) 及人 IgG1 氨基酸序列引入 CH3 Hole 突变 (SEQ ID NO 17)。肽链#3 具有 SEQ ID NO: 47 所示的氨基酸序列, 其包含抗 CCR8 的单克隆抗体 ADI68741 的轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 2), 以及在所述 VL 氨基酸序列 C 端的人 κ 轻链恒定区(CL)氨基酸序列 (SEQ ID NO 11)。

Anti-CTLA4(VHH-43)xCCR8-2: 由 3 条多肽链组成, 其结构示意图如图 1 所示, 肽链#1 按照专利中描述的方法合成具有 SEQ ID NO 134 所示的氨基酸序列, 其包含抗 CTLA4 的单域抗体 VHH-43 的 CTLA4 结合区域氨基酸序列 (SEQ ID NO 10) 以及人 IgG1 Fc 氨基酸序列引入 CH3 Knob 突变 (SEQ ID NO 16)。肽链#2 具有 SEQ ID NO 135 所示的氨基酸序列, 包含抗 CCR8 的单克隆抗体 ADI68741-R2-21-DA 的重链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 78) 及人 IgG1 氨基酸序列引入 CH3 Hole 突变 (SEQ ID NO 17)。肽链#3 具有 SEQ ID NO 136 所示的氨基酸序列, 其包含抗 CCR8 的单克隆抗体 ADI68741 的轻链可变区氨基酸序列 (SEQ ID NO 2), 以及在所述 VL 氨基酸序列 C 端的人 κ 轻链恒定区(CL)氨基酸序列 (SEQ ID NO

11)。

对照分子 **ONC-392 Analog** (专利申请号: **WO2024059833A1**) 由 2 条多肽链组成, 重链具有 **SEQ ID NO 160** 所示的氨基酸序列, 轻链具有 **SEQ ID NO 161** 所示的氨基酸序列。

5

实施例 2. CTLA4xCCR8 双特异性抗体与 CTLA4/CCR8 细胞结合

本实验分别将扩大培养的 **CHOS-hCTLA4** (过表达人 **CTLA4**) 细胞、**CHOS-hCCR8** (过表达人 **CCR8**) 细胞和 **CHOS-hCTLA4/hCCR8** (过表达人 **CTLA4** 和人 **CCR8**) 双阳性细胞用 2% **BSA** 溶液调整细胞密度至 2×10^6 细胞/ml, 100 μ l/孔加入 96 孔流式板, 离心备用。将梯度稀释后的抗体按 100 μ l/孔加入上述带有细胞的 96 孔流式板中, 4°C 孵育 60 min。PBS 清洗两次, 100 μ l/孔加入用 2% **BSA** 溶液稀释 1000 倍的 **Goat anti-human IgG-Fc (PE)** (**Abcam, ab98596**), 4°C 孵育 60 min。PBS 清洗两次, 最后按 100 μ l/孔加入 PBS 重悬细胞, 在 **CytoFlex (Beckman)** 流式细胞仪上进行检测并计算对应的 **MFI**。

15 实验结果如图 2-4 所示, 本发明的 **CTLA4xCCR8** 双特异性抗体能够优先结合 **CTLA4/CCR8** 双阳性细胞, 且其对 **CTLA4** 或 **CCR8** 单阳性细胞的结合较弱, 明显弱于相对应的 **CTLA4** 或 **CCR8** 单抗。另外, 相较于 **Yervoy** (靶向 **CTLA4** 的单抗; 购自 **Bristol-Myers Squibb**, 批号: **1336379A5 ABV5408**), 亲和力优化后的单抗分子以及单域分子在与 **CTLA4** 的结合上都有不同程度的减弱。

20

实施例 3. CTLA4xCCR8 双特异性抗体诱导 ADCC 效应

本实验分别将扩大培养的 **CHOS-hCTLA4** (过表达人 **CTLA4**) 细胞、**CHOS-hCCR8** (过表达人 **CCR8**) 细胞和 **CHOS-hCTLA4/hCCR8** (过表达人 **CTLA4** 和人 **CCR8**) 双阳性细胞按照 3×10^4 个/孔与 1.2×10^5 个/孔的 **NFAT Luciferase/Jurkat CD16a** (过表达 **CD16a** 和 **NFAT-Luc**) 效应细胞混合接种至 96 孔细胞培养白底板中, 随后将梯度稀释后的多特异性抗体加入 96 孔板中并混匀, 置于细胞培养箱中孵育 6 小时。使用 **Bio-Glo luciferase assay system (Promega, G7940)** 试剂盒显色后用酶标仪收集化学发光信号。

实验结果如图 5-7 所示, 本发明的 **CTLA4xCCR8** 双特异性抗体能够优先结合 **CTLA4/CCR8** 双阳性细胞并介导 **ADCC** 效应, 从而激活 **Jurkat** 细胞上的 **CD16a**-

30

NFAT 信号通路。然而，由于 CTLA4xCCR8 双特异性抗体对 CTLA4 或 CCR8 单阳性细胞的结合很弱，其对单阳性细胞 ADCC 效应不明显。另外，相较于 Yervoy，亲和力和优化后的单抗分子以及单域分子对于 CTLA4 阳性细胞的 ADCC 功能也都表现出不同程度的减弱。

5

实施例 4.CTLA4xCCR8 双特异性抗体诱导 ADCC 效应

本实验分别将扩大培养的 CHOS-hCTLA4（过表达人 CTLA4）细胞、CHOS-hCCR8（过表达人 CCR8）细胞和 CHOS- hCTLA4/hCCR8（过表达人 CTLA4 和人 CCR8）双阳性细胞用 CellTrace™Violet 试剂盒进行细胞染色，并 1×10^4 个/孔接种至 96 孔透明底黑边细胞培养板中。收集提前一天复苏的 PBMC 并按照每孔 1×10^5 个/孔加入靶细胞孔中，随后将梯度稀释后的双特异性抗体加入到细胞孔中共孵育 48 小时。48 小时后使用 Cytation 5 收集 DAPI 荧光信号并计算对应的杀伤强度。

实验结果如图 8-10 所示，本发明的 CTLA4xCCR8 双特异性抗体能够优先结合 CTLA4/CCR8 双阳性细胞并诱导 PBMC 对靶细胞的消除，其杀伤效果与相对应的单抗相当。另外，由于 CTLA4xCCR8 双特异性抗体对 CTLA4 或 CCR8 单阳性细胞的结合很弱，其介导的 PBMC 对单阳性细胞的消除作用明显弱于相对应的 CTLA4 或 CCR8 单抗。另外，相较于 Yervoy，亲和力优化后的单抗分子以及单域分子对于 CTLA4 阳性细胞的 ADCC 功能也都表现出不同程度的减弱。

实施例 5.CTLA4xCCR8 双特异性抗体诱导内化效应

本实验分别将扩大培养的 CHOS-hCTLA4（过表达人 CTLA4）细胞、CHOS-hCCR8（过表达人 CCR8）细胞和 CHOS- hCTLA4/hCCR8（过表达人 CTLA4 和人 CCR8）双阳性细胞用培养基调整细胞密度至 4×10^6 细胞/ml，50 μ l/孔加入 96 孔流式板中。将梯度稀释后的双特异性抗体（抗体先与 pH sensitive dye 标记的二抗孵育 1 h）按 50 μ l/孔加入到细胞孔中，置于培养箱孵育 2 小时。PBS 清洗两次，最后按 100 μ l/孔加入 PBS 重悬细胞，在 CytoFlex (Beckman)流式细胞仪上进行检测并计算对应的 MFI。

实验结果如图 11-13 所示，本发明的 CTLA4xCCR8 双特异性抗体能够优先结合 CTLA4/CCR8 双阳性细胞并介导抗体的内化。另外，由于 CTLA4xCCR8 双特异性抗体对 CTLA4 或 CCR8 单阳性细胞的结合很弱，其在单阳性细胞中的内化作用要明

30

显弱于相对应的 CTLA4 或 CCR8 单抗。另外，相较于 Yervoy，亲和力优化后的单抗分子以及单域分子在 CTLA4 阳性细胞上的内化功能也都表现出不同程度的减弱。

实施例 6. CTLA4xCCR8 双特异性抗体对 CTLA4 结合 CD80/CD86 的阻断效应

5 本实验分别将扩大培养的 CHOS-hCTLA4（过表达人 CTLA4）细胞 2% BSA 溶液调整细胞密度至 2×10^6 细胞/ml，100 μ l/孔加入 96 孔流式板，离心备用。将梯度稀释后的抗体按 100 μ l/孔加入上述带有细胞的 96 孔流式板中，4℃孵育 60 min。PBS 清洗两次，100 μ l/孔加入用 2% BSA 溶液稀释的 human CD80/CD86 蛋白，4℃孵育 60 min。PBS 清洗两次，最后按 100 μ l/孔加入 PBS 重悬细胞，在 CytoFlex
10 (Beckman)流式细胞仪上进行检测并计算对应的 MFI。

实验结果如图 14 所示，本发明的 CTLA4xCCR8 双特异性抗体都不能阻断 CTLA4 与人 CD80/CD86 蛋白的结合。另外，在 CTLA4 单抗方面，Anti-CTLA4(ip-05)-1 和 Anti-CTLA4(VHH-43)能够阻断 CTLA4 与人 CD80/CD86 蛋白的结合，但阻断活性明显弱于阳性对照抗体 Yervoy。

15

实施例 7. CTLA4xCCR8 双特异性抗体的高温处理后的 PTM 分析

分别取 CTLA4xCCR8 双特异性抗体的高温加速样品 200 μ g 于 1.5 ml 离心管中，加入 100 μ l 蛋白变性液（8M 盐酸胍，pH6.0），加入 2 μ l 1M DTT，37℃水浴 30 min 进行蛋白变性还原。水浴结束后瞬离 30 s，加入 4.4 μ l 1 mol/L 的 IAM 溶
20 液，涡旋 30 s 混匀，瞬离 30 s 后避光放置 30 min。吸取避光孵育后样品至 10 kDa 超滤管中，添加 300 μ l 20 mmol/L His-HCl pH 6.0 的酶切缓冲液，13000 rpm/min 离心 15 min，脱盐后 3000g 反离 3 min，回收样品并测定蛋白浓度。取 40 μ g 脱盐后的蛋白，加入 2 μ l 0.5 mg/ml Trypsin/Lys-C mix 酶溶液（酶：蛋白比例为 1:40），补充酶切缓冲液至 40 μ l，轻轻涡旋混匀，瞬离数秒，应避免产生气泡，37℃水浴 4 小
25 时。酶切结束后加入 2 μ l 20%甲酸水溶液终止反应，混匀后 13000 rpm/min 离心 5 min，取上清，进行 RP-UHPLC-MS 分析。

实验结果如图 15 所示，本发明的 Anti-CTLA4(ip-05)xCCR8-1 双抗在高温加速处理后其 HC-CDR3 的 D99 位点的异构化呈现一定程度的提高。另外，相比于 Anti-CTLA4(ip-05)xCCR8-1 抗体，Anti-CTLA4(ip-05)xCCR8-2 双抗经改造后在 D99 位
30 点检测不到异构化产物生成，表明其具有更好的成药性。

实施例 8. CTLA4xCCR8 双特异性抗体的亲疏水特性分析

本研究利用 Sepax Proteomix HIC Butyl 色谱柱进行样品 HIC 分析，通过比较检测样品和对照样品的出峰时间，得出 ΔRT 值，以此来分析样品的亲疏水特性。

实验结果如图 16 所示，相比于 Yervoy，本发明的 Anti-CTLA4(ip-05)-1 单抗的疏水性得到了明显的改善。另外，分别和 Anti-CTLA4(ip-05)-1 或 Anti-CTLA4(ip-0508)组成的 CTLA4xCCR8 双特异性抗体，其疏水性相比单抗有了进一步的优化，明显优于 Yervoy 抗体。综上，本申请的 CTLA4xCCR8 双特异性抗体与单抗和阳性对照抗体相比，具有更好的亲水性。

实施例 9. CTLA4xCCR8 双特异性抗体与 CTLA4/CCR8 细胞结合

本实验分别将扩大培养的 CHOS-hCTLA4（过表达人 CTLA4）细胞、CHOS-hCCR8（过表达人 CCR8）细胞和 CHOS-hCTLA4/hCCR8（过表达人 CTLA4 和人 CCR8）双阳性细胞用 2% BSA 溶液调整细胞密度至 2×10^6 细胞/ml，100 μ l/孔加入 96 孔流式板，离心备用。将梯度稀释后的抗体按 100 μ l/孔加入上述带有细胞的 96 孔流式板中，4°C 孵育 60 min。PBS 清洗两次，100 μ l/孔加入用 2% BSA 溶液稀释 1000 倍的 Goat anti-human IgG-Fc (PE) (Abcam, ab98596)，4°C 孵育 60 min。PBS 清洗两次，最后按 100 μ l/孔加入 PBS 重悬细胞，在 CytoFlex (Beckman) 流式细胞仪上进行检测并计算对应的 MFI。

其中，实施例名称中带有“Afu”（即 Afucosylated hIgG）的抗体（即无岩藻糖修饰抗体）是经由第八型岩藻糖转移酶 *fut-8* 基因敲除的 CHO 细胞表达系统瞬时表达纯化而获得的。抗体的具体结构与实施例 1 中描述的相同。具体制备过程如下：使用化学转染的方法将带有抗体重链和轻链的 pcDNA3.1 载体转入 *fut-8* 基因敲除的 CHO 细胞中，在 37°C，8% CO₂ 条件下，培养 7 天。收集细胞液，13000rpm 离心 20 分钟。取上清液，Protein A 纯化上清液，SEC 检测抗体纯度，同时控制内毒素含量。

实验结果如图 17 所示，本发明的 Anti-CTLA4(ip-05)xCCR8-2-Afu 双特异性抗体的细胞结合活性和 Anti-CTLA4(ip-05)xCCR8-1-Afu 相当，能够优先结合 CCR8/CTLA4 双阳性细胞，且对 CCR8 或 CTLA4 单阳性细胞的结合较弱，明显弱于相对应的 Anti-CCR8 或 Anti-CTLA4 单克隆抗体。

实施例 10. CTLA4xCCR8 双特异性抗体诱导的 ADCC 效应

本实验分别将扩大培养的 CHOS-hCTLA4（过表达人 CTLA4）细胞、CHOS-hCCR8（过表达人 CCR8）细胞和 CHOS- hCTLA4/hCCR8（过表达人 CTLA4 和人 CCR8）双阳性细胞按照 3×10^4 个/孔与 1.2×10^5 个/孔的 NFAT Luciferase/Jurkat CD16a（过表达 CD16a 和 NFAT-Luc）效应细胞混合接种至 96 孔细胞培养白底板中，随后将梯度稀释后的多特异性抗体加入 96 孔板中并混匀，置于细胞培养箱中孵育 6 小时。使用 Bio-Glo luciferase assay system (Promega,G7940)试剂盒显色后用酶标仪收集化学发光信号。

实验结果如图 18 所示，本发明的 Anti-CTLA4(ip-05)xCCR8-2-Afu 双特异性抗体的 ADCC 活性与 Anti-CTLA4(ip-05)xCCR8-1-Afu 相当，即能够优先结合 CCR8/CTLA4 双阳性细胞并介导 ADCC 效应，从而激活 Jurkat 细胞上的 CD16a-NFAT 信号通路。然而，由于 Anti-CTLA4(ip-05)xCCR8-1-Afu 和 Anti-CTLA4(ip-05)xCCR8-2-Afu 双特异性抗体对 CCR8 或 CTLA-4 单阳性细胞的结合较弱，其对单阳性细胞的 ADCC 效应明显弱于相对应的单克隆抗体。另外，由于 Anti-CTLA4(ip-05)xCCR8-1-Afu 和 Anti-CTLA4(ip-05)xCCR8-2-Afu 双特异性抗体做了岩藻糖处理用以提高 ADCC 功能，其对于 CCR8/CTLA4 双阳性细胞的 ADCC 效应强于 Yervoy 或者 ONC-392 Analog（靶向 CTLA4 的单抗，专利公开号：WO2024059833A1；ONC-392 Analog 的重链如 SEQ ID NO 160 所示，ONC-392 Analog 的轻链如 SEQ ID NO 161 所示）。在 CLTA4 单阳性细胞上，其诱导的 ADCC 效应略弱于 Yervoy，与 ONC-392 Analog 相当。

实施例 11. CTLA4xCCR8 双特异性抗体诱导的 ADCC 效应

本实验分别将扩大培养的 CHOS-hCTLA4（过表达人 CTLA4）细胞、CHOS-hCCR8（过表达人 CCR8）细胞和 CHOS- hCTLA4/hCCR8（过表达人 CTLA4 和人 CCR8）双阳性细胞用 CellTrace™Violet 试剂盒进行细胞染色，并 1×10^4 个/孔接种至 96 孔透明底黑边细胞培养板中。收集提前一天复苏的 PBMC 并按照每孔 1×10^5 个/孔加入靶细胞孔中，随后将梯度稀释后的双特异性抗体加入到细胞孔中共孵育 48 小时。48 小时后使用 Cytation 5 收集 DAPI 荧光信号并计算对应的杀伤强度。

实验结果如图 19 所示，本发明的 Anti-CTLA4(ip-05)xCCR8-2-Afu 双特异性抗体诱导的 ADCC 活性与 Anti-CTLA4(ip-05)xCCR8-1-Afu 相当，即能够优先结合

CCR8/CTLA-4 双阳性细胞并诱导 PBMC 对靶细胞的消除，其杀伤效果与相对应的单抗相当，优于 Yervoy 或者 ONC-392 Analog。另外，由于 Anti-CTLA4(ip-05)xCCR8-1-Afu 和 Anti-CTLA4(ip-05)xCCR8-2-Afu 双特异性抗体对 CCR8 或 CTLA4 单阳性细胞的结合很弱，其介导的 PBMC 对单阳性细胞的消除作用明显弱于相对应的 CCR8 或 CTLA4 单抗，与 Yervoy 或者 ONC-392 Analog 相当。

实施例 12. CTLA4xCCR8 双特异性抗体的肿瘤抑制活性研究

本实验在 h-CTLA4/CCR8 double KI BALB/c 小鼠皮下接种 CT26 的肿瘤模型中对本发明中的 CTLA4xCCR8 双特异性抗体的抗肿瘤活性进行概念验证。

首先采用皮下接种 CT26 细胞的方式建立荷瘤小鼠模型，待肿瘤体积长至约 200 mm³ 左右时进行分组，腹腔注射分别给予 G1: PBS、G2: 3mg/kg 的 Yervoy、G3: 3mg/kg 的 Anti-CCR8(ADI68741)-1-Afu、G4: 2.2mg/kg 的 Anti-CTLA4(VHH-43) x CCR8-1-Afu 和 G5: 3mg/kg 的 Anti-CTLA4(ip-05) x CCR8-1-Afu（所有组别采用相等的摩尔剂量）治疗，监测各组小鼠肿瘤体积和体重变化，监测频率为 2-3 天/次，连续监测 2~3 周，给药剂量和方式如表 2。

其中，上述名称中带有“Afu”（即 Afucosylated hIgG）的抗体是经由 *fut-8* 基因敲除的 CHO 细胞表达系统瞬时表达纯化而获得的，抗体的具体结构与实施例 1 中描述的相同。具体制备过程如下：使用化学转染的方法将带有抗体重链和轻链的 pcDNA3.1 载体转入 *fut-8* 基因敲除的 CHO 细胞中，在 37°C，8% CO₂ 条件下，培养 7 天。收集细胞液，13000rpm 离心 20 分钟。取上清液，Protein A 纯化上清液，SEC 检测抗体纯度，同时控制内毒素含量。

实验结果如图 20 所示，CTLA4xCCR8 双特异性抗体 Anti-CTLA4(VHH-43)xCCR8-1-Afu（TGI: 87.04%）和 Anti-CTLA4(ip-05)xCCR8-1-Afu（TGI: 73.73%）的抗肿瘤活性明显优于 Yervoy（TGI: 54.44%）或 Anti-CCR8(ADI68741)-1-Afu（TGI: 30.02%）。

表 2: CTLA4xCCR8 双特异性抗体肿瘤抑制活性研究的给药方案

组别	给药剂量	给药次数
G1:阴性对照(PBS)	N/A	Q2d×5
G2:Yervoy	2.5 mg/kg	Q2d×5
G3:Anti-CCR8(ADI68741)-1-Afu	3 mg/kg	Q2d×5

G4:Anti-CTLA4(VHH-43) x CCR8-1-Afu	2.2 mg/kg	Q2d×5
G5:Anti-CTLA4(ip-05) x CCR8-1-Afu	3 mg/kg	Q2d×5

实施例 13. CTLA4xCCR8 双特异性抗体的肿瘤抑制活性研究

本实验在 h-CTLA4/CCR8 double KI BALB/c 小鼠皮下接种 CT26 的肿瘤模型中对本研究中的 Anti-CTLA4×CCR8 双特异性抗体的抗肿瘤活性进行活性验证。首先采用皮下
5 接种 CT26 细胞的方式建立荷瘤小鼠模型，待肿瘤体积长至约 150 mm³ 左右时进行分
组，腹腔注射分别给予 G1: PBS、G2: 3 mg/kg 的 Anti-CCR8 (ADI68741)-2、G3: 3
mg/kg 的 ONC-392 Analog、G4: 3 mg/kg 的 Anti-CTLA4(ip-05)-2、G5: 3 mg/kg 的 Anti-
CTLA4 (ip-05)xCCR8-7、G6: 3 mg/kg 的 Anti-CTLA4 (ip-0508)xCCR8-7、G7: 3 mg/kg
的 Anti-CTLA4 (ip-05)xCCR8-8（所有组别采用相等的摩尔剂量）治疗，监测各组小鼠肿
10 瘤体积和体重变化，监测频率为 2-3 天/次，连续监测 2~3 周，给药剂量和方式如表 3。

本实验为了更好地验证提高 Fc 功能的重要性，这里将 Anti-CTLA4xCCR8 双特异性
抗体的 Fc 改为 mouse IgG2a，可能可以更好地模拟去岩藻糖的 human IgG1 在人体内的
Fc 活性。实验结果如图 21 所示，Anti-CTLA4(ip-05)xCCR8-7（TGI: 89.54%）和 Anti-
CTLA4(ip-05)xCCR8-8（TGI: 90.16%）双特异性抗体都具有很强的抗肿瘤活性，优于
15 ONC-392 Analog（TGI: 80.33%）分子。

表 3: CTLA4xCCR8 双特异性抗体肿瘤抑制活性研究的给药方案

组别	给药剂量	给药次数
G1:阴性对照(PBS)	N/A	Q2d×4
G2:Anti-CCR8(ADI68741)-2	3 mg/kg	Q2d×4
G3:ONC-392 Analog	3 mg/kg	Q2d×4
G4:Anti-CTLA4(ip-05)-2	3 mg/kg	Q2d×4
G5:Anti-CTLA4(ip-05)×CCR8-7	3 mg/kg	Q2d×4
G6:Anti-CTLA4(ip-0508)×CCR8-7	3 mg/kg	Q2d×4
G7:Anti-CTLA4(ip-05)×CCR8-8	3 mg/kg	Q2d×4

实施例 14. CTLA4xCCR8 双特异性抗体的安全性研究

本实验利用幼年的 h-CTLA4/CCR8 double KI BALB/c 小鼠模型对本研究中的 Anti-
20 CTLA4×CCR8 双特异性抗体的安全性进行验证。腹腔注射分别给予 G1: 50 μg/只 Anti-

PD-1、G2: 50 µg/只 Anti-PD-1+100 µg/只的 Yervoy、G3: 50 µg/只 Anti-PD-1+100 µg/只的
ONC-392 Analog、G4: 50 µg/只 Anti-PD-1+100 µg/只 Anti-CTLA-4 (Ipi-05)-2、G5: 50 µg/
只 Anti-PD-1+100 µg/只的 Anti-CTLA4(ip-0508)xCCR8-7、G6: 50 µg/只 Anti-PD-1+100
µg/只的 Anti-CTLA4(ip-05)xCCR8-7 治疗, 监测各组小鼠体重变化, 监测频率为 2-3 天/
5 次, 连续监测 2~3 周。给药剂量和方式如表 4。

实验结果如图 22 所示, 在与 Anti-PD-1 抗体联用的条件下, Anti-CTLA4(ip-
05)xCCR8-7 和 Anti-CTLA4(ip-0508)xCCR8-7 双特异性抗体具有良好的安全性, 相比对
照组小鼠体重没有明显的改变, 没有明显的组织损伤, 并且直到实验终止时未出现小鼠
死亡现象。相反, Yervoy 和 Anti-PD-1 联用时毒性明显, 小鼠出现明显的体重减轻, 小
10 鼠死亡和组织损伤等现象。另外, ONC-392 Analog, 一款处于临床研究阶段并表现出优
于 Yervoy 的安全性和更大的治疗窗口的潜力的单克隆, 也出现了一定程度的小鼠体重减
轻和小鼠死亡, 但是整体安全性优于 Yervoy。

表 4: CTLA4xCCR8 双特异性抗体安全性研究的给药方案

组别	给药剂量	给药次数
G1:Anti-PD-1	50 µg	Q2d×4
G2: Anti-PD-1+Yervoy	50 µg+100 ug	Q2d×4
G3: Anti-PD-1+ONC-392 Analog	50 µg+100 ug	Q2d×4
G4: Anti-PD-1+ Anti-CTLA4(ip-05)-2	50 µg+100 ug	Q2d×4
G5: Anti-PD-1+Anti-CTLA4(ip-05)×CCR8-7	50 µg+100 ug	Q2d×4
G6: Anti-PD-1+Anti-CTLA4(ip-05)×CCR8-7	50 µg+100 ug	Q2d×4

15 实施例 15. CTLA4xCCR8 双特异性抗体的细胞株的筛选

细胞株构建

采用电击转染的方法将含有抗 CTLA4 抗体重链基因以及轻链基因的载体 pCHO2.0-
GS-Puro-H1-L1 以及含有抗 CCR8 抗体的重链基因以及轻链基因的载体 pCHO2.0-GS-
Puro-H2-L2 共转入宿主细胞 CHOS-ADP, 利用 Puromycin 和 MSX 筛选压力对细胞进行
20 加压筛选获得高产 minipool, 然后通过一轮有限稀释和单克隆鉴定, 得到高产稳定的克
隆细胞株。

细胞培养

以 Dynamis AGT Medium 为基础培养基, 接种密度(1.0±0.2) ×10⁶ cells/ml, 培养至

第 3、5、7、9、11 天分别流加 $5.0 \pm 0.5\%$ (w/w) 初始培养重量的 7a 补料, 流加 $0.5 \pm 0.05\%$ (w/w) 初始培养重量的 7b。溶氧设置 40%, 初始培养温度 36.5°C , 第 4 天降温至 33.0°C 。每天根据葡萄糖浓度检测结果, 补加 300 g/kg 葡萄糖浓缩液使细胞液中葡萄糖浓度达到 6.0 g/L , 收获当天除外。培养至第 14 天或细胞活率低于 80% 时结束培养。在培养过程中, 使用 Vicell (Beckman 公司) 对细胞密度及活率进行检测, 从第 7 天开始, 每天使用 Cedex (Roche 公司) 对抗体产量进行检测。

稳定细胞株产物质量鉴定

采用一步亲和纯化的方法进行抗体的纯化并利用 HPLC 检测获得蛋白的纯度。HPLC 方法如下, 流动相: $150 \text{ mM Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, pH7.0。色谱条件: 检测波长: 280 nm, 柱温: 25°C , 流速: 0.5 ml/min , 检测时间: 30 min, TSKgel G3000SWXL 色谱柱。SEC 结果如图 23 中的 A 显示, 一步亲和纯化获得的双特异性抗体纯度为 99.93%。

利用高效液相质谱检测获得蛋白的重轻链配对情况, 使用仪器为液相系统 Vanquish UHPLC (Thermo)、质谱仪 Q Exactive (Thermo) 及色谱柱 Waters ACQUITY UPLC BEH C4, $2.1 \text{ mm} \times 100 \text{ mm}$ 。取样品 $50 \mu\text{g}$, 加入超纯水稀释至 $25 \mu\text{l}$, 离心取 $20 \mu\text{l}$ 样品至进样瓶, 进样 $5 \mu\text{l}$, 采用 LC-MS 分析完整分子量。色谱条件为: 柱温: 80°C ; 紫外检测波长: 280 nm; 流速: 0.3 mL/min ; 流动相 A: 水溶液 (含 0.1% 甲酸); 流动相 B: 乙腈溶液 (含 0.1% 甲酸)。质谱参数为: ESI 离子源: 离子传输管温度 320°C , 电压 3.8 kV , 气体流速 36 L/min ; 模式: 正离子 Full MS; 分辨率: 17500; 扫描范围: 600-4000 m/z。结果显示纯化的 8 个双特异性抗体 Anti-CTLA4(ip-05) $\times$ CCR8 均为正确配对产物, 其中 Anti-CTLA4(ip-05) $\times$ CCR8-4 如图 23 中的 B 和图 23 中 C 所示。

实施例 16. CTLA4 $\times$ CCR8 双特异性抗体与 CTLA4/CCR8 细胞结合

本实验分别将扩大培养的 CHOS-hCTLA4 (过表达人 CTLA4) 细胞、CHOS-hCCR8 (过表达人 CCR8) 细胞和 CHOS-hCTLA4/hCCR8 (过表达人 CTLA4 和人 CCR8) 双阳性细胞用 2% BSA 溶液调整细胞密度至 2×10^6 细胞/ml, $100 \mu\text{l}$ /孔加入 96 孔流式板, 离心备用。将梯度稀释后的抗体按 $100 \mu\text{l}$ /孔加入上述带有细胞的 96 孔流式板中, 4°C 孵育 60 min。PBS 清洗两次, $100 \mu\text{l}$ /孔加入用 2% BSA 溶液稀释 1000 倍的 Goat anti-human IgG-Fc (PE) (Abcam, ab98596), 4°C 孵育 60 min。PBS 清洗两次, 最后按 $100 \mu\text{l}$ /孔加入 PBS 重悬细胞, 在 CytoFlex (Beckman) 流式细胞仪上进行检测并计算对应的

MFI。

实验结果如图 24 所示，本发明的 Anti-CTLA4(ip-05)xCCR8-4 和 Anti-CTLA4(ip-05)xCCR8-6 双特异性抗体与 CCR8/CTLA4 双阳性细胞的结合活性和 Anti-CTLA4(ip-05)xCCR8-2 相当。另外，在与 CTLA4 或 CCR8 单阳性细胞的结合活性方面略弱于 Anti-CTLA4(ip-05)xCCR8-2 双特异性抗体。

实施例 17. CTLA4xCCR8 双特异性抗体诱导的 ADCC 效应

本实验分别将扩大培养的 CHOS-hCTLA4（过表达人 CTLA4）细胞、CHOS-hCCR8（过表达人 CCR8）细胞和 CHOS- hCTLA4/hCCR8（过表达人 CTLA4 和人 CCR8）双阳性细胞按照 3×10^4 个/孔与 1.2×10^5 个/孔的 NFAT Luciferase/Jurkat CD16a（过表达 CD16a 和 NFAT-Luc）效应细胞混合接种至 96 孔细胞培养白底板中，随后将梯度稀释后的多特异性抗体加入 96 孔板中并混匀，置于细胞培养箱中孵育 6 小时。使用 Bio-Glo luciferase assay system (Promega,G7940)试剂盒显色后用酶标仪收集化学发光信号。

实验结果如图 25 所示，本发明的 Anti-CTLA4(ip-05)xCCR8-4 和 Anti-CTLA4(ip-05)xCCR8-6 双特异性抗体结合 CTLA4/CCR8 双阳性细胞并介导 ADCC 效应的活性与 Anti-CTLA4(ip-05)xCCR8-2 相当。另外，其通过与 CTLA4 或 CCR8 单阳性细胞的结合并介导的 ADCC 活性略弱于 Anti-CTLA4(ip-05)xCCR8-2 双特异性抗体。

实施例 18. CTLA4xCCR8 双特异性抗体诱导 ADCC 效应

本实验分别将扩大培养的 CHOS-hCTLA4（过表达人 CTLA4）细胞、CHOS-hCCR8（过表达人 CCR8）细胞和 CHOS- hCTLA4/hCCR8（过表达人 CTLA4 和人 CCR8）双阳性细胞用 CellTrace™Violet 试剂盒进行细胞染色，并 1×10^4 个/孔接种至 96 孔透明底黑边细胞培养板中。收集提前一天复苏的 PBMC 并按照每孔 1×10^5 个/孔加入靶细胞孔中，随后将梯度稀释后的双特异性抗体加入到细胞孔中共孵育 48 小时。48 小时后使用 Cytation 5 收集 DAPI 荧光信号并计算对应的杀伤强度。

实验结果如图 26 所示，本发明的 Anti-CTLA4(ip-05)xCCR8-4 双特异性抗体结合 CTLA4/CCR8 双阳性细胞并诱导 PBMC 对靶细胞的消除活性与 Anti-CTLA4(ip-05)xCCR8-2 相当，而 Anti-CTLA4(ip-05)xCCR8-6 介导的 ADCC 效应要弱于 Anti-

CTLA4(ip-05)xCCR8-2。另外，在单阳性细胞方面，Anti-CTLA4(ip-05)xCCR8-6 双特异性抗体介导的 ADCC 效应与 Anti-CTLA4(ip-05)xCCR8-2 相当，而 Anti-CTLA4(ip-05)xCCR8-4 双特异性抗体通过结合 CCR8 单阳性细胞并诱导的 PBMC 杀伤效应要略弱于 Anti-CTLA4(ip-05)xCCR8-2。

5

尽管本发明的具体实施方式已经得到详细的描述，但本领域技术人员将理解：根据已经公布的所有教导，可以对细节进行各种修改和变动，并且这些改变均在本发明的保护范围之内。本发明的全部分为由所附权利要求及其任何等同物给出。

权 利 要 求

1. 能够特异性结合 CTLA4 的抗体或其抗原结合片段，所述抗体或其抗原结合片段包含：

(a) 包含下述 3 个互补决定区 (CDRs) 的重链可变区 (VH)：

(i) VH CDR1，其由 SEQ ID NO: 48 或 54 所示的序列组成，或与其相比具有一个或几个氨基酸的置换、缺失或添加（例如 1 个，2 个或 3 个氨基酸的置换、缺失或添加）的序列，

(ii) VH CDR2，其由 SEQ ID NO: 49 或 55 所示的序列组成，或与其相比具有一个或几个氨基酸的置换、缺失或添加（例如 1 个，2 个或 3 个氨基酸的置换、缺失或添加）的序列，和

(iii) VH CDR3，其由 SEQ ID NO: 50 或 56 所示的序列组成，或与其相比具有一个或几个氨基酸的置换、缺失或添加（例如 1 个，2 个或 3 个氨基酸的置换、缺失或添加）的序列；

和/或，

(b) 包含下述 3 个互补决定区 (CDRs) 的轻链可变区 (VL)：

(iv) VL CDR1，其由下述序列组成：SEQ ID NO: 51 或 57，或与其相比具有一个或几个氨基酸的置换、缺失或添加（例如 1 个，2 个或 3 个氨基酸的置换、缺失或添加）的序列，

(v) VL CDR2，其由下述序列组成：SEQ ID NO: 52 或 58，或与其相比具有一个或几个氨基酸的置换、缺失或添加（例如 1 个，2 个或 3 个氨基酸的置换、缺失或添加）的序列，和

(vi) VL CDR3，其由下述序列组成：SEQ ID NO: 53 或 59，或与其相比具有一个或几个氨基酸的置换、缺失或添加（例如 1 个，2 个或 3 个氨基酸的置换、缺失或添加）的序列；

优选地，(i)-(vi)中任一项所述的置换为保守置换；

优选地，(i)-(vi)任一项中所述的 CDR 根据 Kabat、IMGT 或 Chothia 编号系统定义；

优选地，(i)-(vi)任一项中所述的 CDR 根据 IMGT 编号系统定义。

2. 权利要求 1 的抗体或其抗原结合片段，其包含：

(1) 如下 3 个重链 CDRs：如 SEQ ID NO: 48 所示的 VH CDR1、如 SEQ ID NO: 49 所示的 VH CDR2、如 SEQ ID NO: 50 所示的 VH CDR3；和/或，如下 3 个轻链 CDRs：如 SEQ ID NO: 51 所示的 VL CDR1、如 SEQ ID NO: 52 所示的 VL CDR2、如 SEQ ID NO: 53 所示的 VL CDR3；或，

(2) 如下 3 个重链 CDRs：如 SEQ ID NO: 54 所示的 VH CDR1、如 SEQ ID NO: 55 所示的 VH CDR2、如 SEQ ID NO: 56 所示的 VH CDR3；和/或，如下 3 个轻链 CDRs：如 SEQ ID NO: 57 所示的 VL CDR1、如 SEQ ID NO: 58 所示的 VL CDR2、如 SEQ ID NO: 59 所示的 VL CDR3；

优选地，所述抗体或其抗原结合片段进一步包含人免疫球蛋白的框架区。

3. 权利要求 1 或 2 的抗体或其抗原结合片段，其中，所述抗体或其抗原结合片段包含：

(a) 重链可变区 (VH)，其包含选自下列的氨基酸序列：

(i) SEQ ID NO: 3 或 5 所示的序列；

(ii) 与 SEQ ID NO: 3 或 5 所示的序列相比具有一个或几个氨基酸的置换、缺失或添加（例如 1 个，2 个，3 个，4 个或 5 个氨基酸的置换、缺失或添加）的序列；或

(iii) 与 SEQ ID NO: 3 或 5 所示的序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、至少 99%、或 100% 的序列同一性的序列；

和/或

(b) 轻链可变区 (VL)，其包含选自下列的氨基酸序列：

(iv) SEQ ID NO: 4 或 6 所示的序列；

(v) 与 SEQ ID NO: 4 或 6 所示的序列相比具有一个或几个氨基酸的置换、缺失或添加（例如 1 个，2 个，3 个，4 个或 5 个氨基酸的置换、缺失或添加）的序列；或

(vi) 与 SEQ ID NO: 4 或 6 所示的序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、至少 99%、或 100% 的序列同一性的序列；

优选地，(ii)或(v)中所述的置换是保守置换；

优选地，所述抗体或其抗原结合片段包含：

(1) 具有如 SEQ ID NO: 3 所示的序列的 VH 和具有如 SEQ ID NO: 4 所示的序列的 VL; 或,

(2) 具有如 SEQ ID NO: 5 所示的序列的 VH 和具有如 SEQ ID NO: 6 所示的序列的 VL。

4. 能够特异性结合 CTLA4 的单域抗体或其抗原结合片段, 其包含:

(a) CDR1, 其具有: 如 SEQ ID NOs: 60、63、66 或 69 任一项所示的序列, 或与 SEQ ID NOs: 60、63、66 或 69 任一项所示的序列相比具有一个或几个氨基酸的置换、缺失或添加(例如 1 个, 2 个或 3 个氨基酸的置换、缺失或添加)的序列;

(b) CDR2, 其具有: 如 SEQ ID NOs: 61、64、67 或 70 任一项所示的序列, 或与 SEQ ID NOs: 61、64、67 或 70 任一项所示的序列相比具有一个或几个氨基酸的置换、缺失或添加(例如 1 个, 2 个或 3 个氨基酸的置换、缺失或添加)的序列; 以及

(c) CDR3, 其具有: 如 SEQ ID NOs: 62、65、68 或 71 任一项所示的序列, 或与 SEQ ID NOs: 62、65、68 或 71 任一项所示的序列相比具有一个或几个氨基酸的置换、缺失或添加(例如 1 个, 2 个或 3 个氨基酸的置换、缺失或添加)的序列;

优选地, 所述的置换是保守置换。

5. 权利要求 4 所述的单域抗体或其抗原结合片段, 其包含:

(1) 如 SEQ ID NO: 60 所示的 CDR1; 如 SEQ ID NO: 61 所示的 CDR2; 以及, 如 SEQ ID NO: 62 所示的 CDR3;

(2) 如 SEQ ID NO: 63 所示的 CDR1; 如 SEQ ID NO: 64 所示的 CDR2; 以及, 如 SEQ ID NO: 65 所示的 CDR3;

(3) 如 SEQ ID NO: 66 所示的 CDR1; 如 SEQ ID NO: 67 所示的 CDR2; 以及, 如 SEQ ID NO: 68 所示的 CDR3; 或者,

(4) 如 SEQ ID NO: 69 所示的 CDR1; 如 SEQ ID NO: 70 所示的 CDR2; 以及, 如 SEQ ID NO: 71 所示的 CDR3。

6. 权利要求 4 或 5 的单域抗体或其抗原结合片段, 其包含选自下列的氨基酸序列:

(i) 如 SEQ ID NOs: 7、8、9 或 10 任一项所示的序列;

(ii) 与 SEQ ID NOs: 7、8、9 或 10 任一项所示的序列相比具有一个或几个氨基酸

的置换、缺失或添加（例如 1 个，2 个，3 个，4 个或 5 个氨基酸的置换、缺失或添加）的序列；或

(iii) 与 SEQ ID NOs: 7、8、9 或 10 任一项所示的序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、至少 99%、或 100% 的序列同一性的序列；

优选地，所述的置换是保守置换。

7. 能够特异性结合 CCR8 的抗体或其抗原结合片段，所述抗体或其抗原结合片段包含：

(a) 包含下述 3 个互补决定区（CDRs）的重链可变区（VH）：

(i) VH CDR1，其由 SEQ ID NO: 137 所示的序列组成，或与其相比具有一个或几个氨基酸的置换、缺失或添加（例如 1 个，2 个或 3 个氨基酸的置换、缺失或添加）的序列，

(ii) VH CDR2，其由 SEQ ID NO: 138 所示的序列组成，或与其相比具有一个或几个氨基酸的置换、缺失或添加（例如 1 个，2 个或 3 个氨基酸的置换、缺失或添加）的序列，和

(iii) VH CDR3，其由 SEQ ID NO: 139 所示的序列组成，或与其相比具有一个或几个氨基酸的置换、缺失或添加（例如 1 个，2 个或 3 个氨基酸的置换、缺失或添加）的序列；

和/或，

(b) 包含下述 3 个互补决定区（CDRs）的轻链可变区（VL）：

(iv) VL CDR1，其由下述序列组成：SEQ ID NO: 75，或与其相比具有一个或几个氨基酸的置换、缺失或添加（例如 1 个，2 个或 3 个氨基酸的置换、缺失或添加）的序列，

(v) VL CDR2，其由下述序列组成：SEQ ID NO: 76，或与其相比具有一个或几个氨基酸的置换、缺失或添加（例如 1 个，2 个或 3 个氨基酸的置换、缺失或添加）的序列，和

(vi) VL CDR3，其由下述序列组成：SEQ ID NO: 77，或与其相比具有一个或几个氨基酸的置换、缺失或添加（例如 1 个，2 个或 3 个氨基酸的置换、缺失或添加）的序列；

优选地，(i)-(vi) 中任一项所述的置换为保守置换；

优选地，(i)-(vi) 任一项中所述的 CDR 根据 Kabat、IMGT 或 Chothia 编号系统定

义；

优选地，(i)-(vi)任一项中所述的 CDR 根据 IMGT 编号系统定义。

8. 权利要求 7 的抗体或其抗原结合片段，其包含：

如下 3 个重链 CDRs：如 SEQ ID NO: 137 所示的 VH CDR1、如 SEQ ID NO: 138 所示的 VH CDR2、如 SEQ ID NO: 139 所示的 VH CDR3；和/或，如下 3 个轻链 CDRs：如 SEQ ID NO: 75 所示的 VL CDR1、如 SEQ ID NO: 76 所示的 VL CDR2、如 SEQ ID NO: 77 所示的 VL CDR3；

优选地，所述抗体或其抗原结合片段进一步包含人免疫球蛋白的框架区。

9. 权利要求 7 或 8 的抗体或其抗原结合片段，其中，所述抗体或其抗原结合片段包含：

(a) 重链可变区（VH），其包含选自下列的氨基酸序列：

(i) SEQ ID NO: 78 或 1 所示的序列；

(ii) 与 SEQ ID NO: 78 或 1 所示的序列相比具有一个或几个氨基酸的置换、缺失或添加（例如 1 个，2 个，3 个，4 个或 5 个氨基酸的置换、缺失或添加）的序列；或

(iii) 与 SEQ ID NO: 78 或 1 所示的序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、至少 99%、或 100% 的序列同一性的序列；

和/或

(b) 轻链可变区（VL），其包含选自下列的氨基酸序列：

(iv) SEQ ID NO: 2 所示的序列；

(v) 与 SEQ ID NO: 2 所示的序列相比具有一个或几个氨基酸的置换、缺失或添加（例如 1 个，2 个，3 个，4 个或 5 个氨基酸的置换、缺失或添加）的序列；或

(vi) 与 SEQ ID NO: 2 所示的序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、至少 99%、或 100% 的序列同一性的序列；

优选地，(ii)或(v)中所述的置换是保守置换；

优选地，所述抗体或其抗原结合片段包含：具有如 SEQ ID NO: 78 或 1 所示的序列的 VH 和具有如 SEQ ID NO: 2 所示的序列的 VL。

10. 权利要求 1-9 任一项所述的抗体或其抗原结合片段，其中，其进一步包含来源于人免疫球蛋白的恒定区；

优选地，所述抗体或其抗原结合片段的重链包含来源于人免疫球蛋白（例如 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4）的重链恒定区或其变体；

优选地，所述重链恒定区具有 LALA 突变和/或 knob-into-hole 修饰；

优选地，所述重链恒定区具有如 SEQ ID NO: 12-17、79-82 任一项所示的序列；

优选地，所述抗体或其抗原结合片段的轻链包含来源于人免疫球蛋白（例如 κ 或 λ ）的轻链恒定区；

优选地，所述轻链恒定区具有如 SEQ ID NO: 11、81、82 任一项所示的序列；

优选地，所述抗体或其抗原结合片段是低岩藻糖基化或无岩藻糖基化的。

11. 权利要求 1-3 或 7-9 任一项所述的抗体或其抗原结合片段，其中，所述抗原结合片段选自 Fab、Fab'、(Fab')²、Fv、二硫键连接的 Fv、scFv、双抗体(diabody)和单域抗体(sdAb)；和/或，所述抗体为鼠源抗体、嵌合抗体、人源化抗体、或多特异性抗体。

12. 分离的核酸分子，其编码权利要求 1-3 或 7-9 任一项所述的抗体或其抗原结合片段或权利要求 4-6 任一项所述的单域抗体或其抗原结合片段。

13. 载体，其包含权利要求 12 所述的核酸分子；优选地，所述载体为克隆载体或表达载体。

14. 宿主细胞，其包含权利要求 12 的核酸分子或权利要求 13 的载体；

优选地，所述宿主细胞是哺乳动物细胞；

优选地，所述宿主细胞具有低或无岩藻糖基化活性，例如选自缺乏表达编码岩藻糖基转移酶基因的哺乳动物细胞（例如 CHO 细胞）。

15. 制备权利要求 1-3 或 7-9 任一项所述的抗体或其抗原结合片段的方法或权利要求 4-6 任一项所述的单域抗体或其抗原结合片段，其包括，在允许所述抗体或其抗原结合片段表达的条件下，培养权利要求 14 所述的宿主细胞，和从培养的宿主细胞培养物中回收

所述抗体或其抗原结合片段；

优选地，所述宿主细胞具有低或无岩藻糖基化活性，例如选自缺乏表达编码岩藻糖基转移酶基因的哺乳动物细胞（例如 CHO 细胞）。

16. 多特异性抗体，其包含权利要求 1-3 或 7-9 任一项所述的抗体或其抗原结合片段或权利要求 4-6 任一项所述的单域抗体或其抗原结合片段。

17. 特异性结合 CCR8 和 CTLA4 的多特异性抗体（例如双特异性抗体），其包含对 CTLA4 特异性的第一抗原结合结构域和对 CCR8 特异性的第二抗原结合结构域。

18. 权利要求 17 所述的多特异性抗体，其中，所述第一抗原结合结构域包含：权利要求 1-3 任一项所述的抗体或其抗原结合片段或权利要求 4-6 任一项所述的单域抗体或其抗原结合片段。

19. 权利要求 17 或 18 所述的多特异性抗体，其中，所述第二抗原结合结构域包含：权利要求 7-9 任一项所述的抗体或其抗原结合片段。

20. 权利要求 17-19 任一项所述的多特异性抗体，其中，所述第一抗原结合结构域是 Fab 片段、scFv 或 VHH，所述第二抗原结合结构域是 Fab 片段、scFv 或 VHH；

优选地，所述第一抗原结合结构域是 Fab 片段或 VHH，所述第二抗原结合结构域是 Fab 片段。

21. 权利要求 17-20 任一项的多特异性抗体，其还包含 Fc 结构域，所述 Fc 结构域包含第一单体和第二单体；

优选地，所述第一抗原结合结构域和第二抗原结合结构域分别任选地通过接头连接至所述 Fc 结构域的第一单体和第二单体的 N 端。

22. 权利要求 21 的多特异性抗体，其中，所述 Fc 结构域包含修饰以促进第一单体和第二单体的二聚化；

优选地，所述修饰包括在 Fc 结构域的 CH3 结构域的氨基酸置换。

23. 权利要求 21 或 22 的多特异性抗体，其中，所述 Fc 结构域包含修饰以促进 cFAE (Controlled Fab-arm Exchange);

优选地，所述修饰包括在 Fc 结构域的 CH3 结构域的氨基酸置换。

24. 权利要求 21-23 任一项的多特异性抗体，其中，所述修饰包含在 Fc 域的两个单体之一中的“节”修饰和在 Fc 域的两个单体之另一中的“穴”修饰，以形成“节-入-穴 (knob-into-hole)”修饰;

优选地，所述 Fc 结构域的两个单体分别包含如 SEQ ID NO: 16 和 17 所示的氨基酸序列，或者分别包含如 SEQ ID NO: 79 和 80 所示的氨基酸序列。

25. 权利要求 21-23 任一项的多特异性抗体，其中，所述修饰包含在 Fc 域的两个单体之一中的选自 F405L 和/或 R411T 的置换和在 Fc 域的两个单体之另一中的选自 T370K 和/或 K409R 的置换，以形成促进 cFAE 的修饰;

优选地，所述 Fc 结构域的两个单体分别包含如 SEQ ID NO: 13 和 14 所示的氨基酸序列。

26. 权利要求 17-25 任一项的多特异性抗体，其是低岩藻糖基化或无岩藻糖基化的。

27. 权利要求 17-26 任一项的多特异性抗体，其中，所述第一抗原结合结构域是 Fab 片段，所述第二抗原结合结构域是 Fab 片段，所述多特异性抗体包含:

(i) 第一肽链，其包含所述第一抗原结合结构域的 VL 和第一轻链恒定区 (CL);
优选地，所述第一 CL 是 kappa;

(ii) 第二肽链，其包含所述第一抗原结合结构域的 VH 和第一重链恒定区 (CH); 优选地，所述第一 CH 是 IgG，例如 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4;

(iii) 第三肽链，其包含所述第二抗原结合结构域的 VH 和第二重链恒定区 (CH); 优选地，所述第二 CH 是 IgG，例如 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4;

(iv) 第四肽链，其包含所述第二抗原结合结构域的 VL 和第二轻链恒定区 (CL); 优选地，所述第二 CL 是 kappa;

优选地，所述第一 CH 和第二 CH 的 Fc 结构域单体形成二聚体; 优选地，所述 Fc

结构域包含权利要求 24 或 25 中定义的修饰；

优选地，所述第一 CH 和第一 CL、所述第二 CH 和第二 CL 能够分别形成二聚体。

28. 权利要求 27 的多特异性抗体，其中，所述多特异性抗体包含：

(i) 第一肽链，其包含 SEQ ID NO: 4 所示序列的 VL 和 SEQ ID NO: 11、82、81、143 所示序列的 CL；

(ii) 第二肽链，其包含 SEQ ID NO: 3 所示序列的 VH 和 SEQ ID NO: 13、80、79、140 所示序列的 CH；

(iii) 第三肽链，其包含 SEQ ID NO: 1、78 所示序列的 VH 和 SEQ ID NO: 14、79、80、141 所示序列的 CH；

(iv) 第四肽链，其包含 SEQ ID NO: 2 所示序列的 VL 和 SEQ ID NO: 11、81、82、143 所示序列的 CL；

优选地，所述多特异性抗体包含 SEQ ID NO: 29 所示序列的第一肽链、包含 SEQ ID NO: 28 所示序列的第二肽链、包含 SEQ ID NO: 30 所示序列的第三肽链、以及包含 SEQ ID NO: 31 所示序列的第四肽链；

优选地，所述多特异性抗体包含 SEQ ID NO: 86 所示序列的第一肽链、包含 SEQ ID NO: 85 所示序列的第二肽链、包含 SEQ ID NO: 87 所示序列的第三肽链、以及包含 SEQ ID NO: 88 所示序列的第四肽链；

优选地，所述多特异性抗体包含 SEQ ID NO: 96 所示序列的第一肽链、包含 SEQ ID NO: 95 所示序列的第二肽链、包含 SEQ ID NO: 93 所示序列的第三肽链、以及包含 SEQ ID NO: 94 所示序列的第四肽链；

优选地，所述多特异性抗体包含 SEQ ID NO: 100 所示序列的第一肽链、包含 SEQ ID NO: 99 所示序列的第二肽链、包含 SEQ ID NO: 97 所示序列的第三肽链、以及包含 SEQ ID NO: 98 所示序列的第四肽链；

优选地，所述多特异性抗体包含 SEQ ID NO: 110 所示序列的第一肽链、包含 SEQ ID NO: 109 所示序列的第二肽链、包含 SEQ ID NO: 111 所示序列的第三肽链、以及包含 SEQ ID NO: 112 所示序列的第四肽链；

优选地，所述多特异性抗体包含 SEQ ID NO: 114 所示序列的第一肽链、包含 SEQ ID NO: 113 所示序列的第二肽链、包含 SEQ ID NO: 115 所示序列的第三肽链、以及包含 SEQ ID NO: 116 所示序列的第四肽链；

优选地，所述多特异性抗体包含 SEQ ID NO: 150 所示序列的第一肽链、包含 SEQ ID NO: 148 所示序列的第二肽链、包含 SEQ ID NO: 149 所示序列的第三肽链、以及包含 SEQ ID NO: 151 所示序列的第四肽链；

优选地，所述多特异性抗体包含 SEQ ID NO: 154 所示序列的第一肽链、包含 SEQ ID NO: 152 所示序列的第二肽链、包含 SEQ ID NO: 153 所示序列的第三肽链、以及包含 SEQ ID NO: 155 所示序列的第四肽链。

29. 权利要求 27 的多特异性抗体，其中，所述多特异性抗体包含：

(i) 第一肽链，其包含 SEQ ID NO: 6 所示序列的 VL 和 SEQ ID NO: 11、82、81、143 所示序列的 CL；

(ii) 第二肽链，其包含 SEQ ID NO: 5 所示序列的 VH 和 SEQ ID NO: 13、80、79、140 所示序列的 CH；

(iii) 第三肽链，其包含 SEQ ID NO: 1、78 所示序列的 VH 和 SEQ ID NO: 14、79、80、141 所示序列的 CH；

(iv) 第四肽链，其包含 SEQ ID NO: 2 所示序列的 VL 和 SEQ ID NO: 11、81、82、143 所示序列的 CL；

优选地，所述多特异性抗体包含 SEQ ID NO: 33 所示序列的第一肽链、包含 SEQ ID NO: 32 所示序列的第二肽链、包含 SEQ ID NO: 34 所示序列的第三肽链、以及包含 SEQ ID NO: 35 所示序列的第四肽链；

优选地，所述多特异性抗体包含 SEQ ID NO: 90 所示序列的第一肽链、包含 SEQ ID NO: 89 所示序列的第二肽链、包含 SEQ ID NO: 91 所示序列的第三肽链、以及包含 SEQ ID NO: 92 所示序列的第四肽链；

优选地，所述多特异性抗体包含 SEQ ID NO: 104 所示序列的第一肽链、包含 SEQ ID NO: 103 所示序列的第二肽链、包含 SEQ ID NO: 101 所示序列的第三肽链、以及包含 SEQ ID NO: 102 所示序列的第四肽链；

优选地，所述多特异性抗体包含 SEQ ID NO: 108 所示序列的第一肽链、包含 SEQ ID NO: 107 所示序列的第二肽链、包含 SEQ ID NO: 105 所示序列的第三肽链、以及包含 SEQ ID NO: 106 所示序列的第四肽链；

优选地，所述多特异性抗体包含 SEQ ID NO: 118 所示序列的第一肽链、包含 SEQ ID NO: 117 所示序列的第二肽链、包含 SEQ ID NO: 119 所示序列的第三肽链、以及包含

SEQ ID NO: 120 所示序列的第四肽链；

优选地，所述多特异性抗体包含 SEQ ID NO: 122 所示序列的第一肽链、包含 SEQ ID NO: 121 所示序列的第二肽链、包含 SEQ ID NO: 123 所示序列的第三肽链、以及包含 SEQ ID NO: 124 所示序列的第四肽链；

优选地，所述多特异性抗体包含 SEQ ID NO: 158 所示序列的第一肽链、包含 SEQ ID NO: 156 所示序列的第二肽链、包含 SEQ ID NO: 157 所示序列的第三肽链、以及包含 SEQ ID NO: 159 所示序列的第四肽链。

30. 权利要求 17-26 任一项的多特异性抗体，其中，所述第一抗原结合结构域是 VHH，所述第二抗原结合结构域是 Fab 片段，所述多特异性抗体包含：

(i) 第一肽链，其包含所述第二抗原结合结构域的 VL 和轻链恒定区 (CL)；优选地，所述 CL 是 kappa 轻链恒定区；

(ii) 第二肽链，其包含所述第二抗原结合结构域的 VH 和重链恒定区 (CH)；优选地，所述 CH 是 IgG，例如 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4；

和

(iii) 第三肽链，其包含所述第一抗原结合结构域和 Fc 结构域单体；优选地，所述 Fc 结构域单体是 IgG，例如 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4；优选地，所述 Fc 结构域单体包含铰链区、CH2 和 CH3；优选地，所述第一抗原结合结构域通过接头（例如包含一个或多个甘氨酸(G)和/或丝氨酸(S)的肽接头）连接至所述 Fc 结构域单体的 N 端；

优选地，所述第三肽链的 Fc 结构域单体能够与所述第二肽链的重链恒定区 (CH) 的 Fc 结构域形成二聚体；优选地，所述 Fc 结构域包含权利要求 21 中定义的修饰；

优选地，所述第一肽链的 CL 与所述第二肽链的 CH 能够形成二聚体。

31. 权利要求 30 的多特异性抗体，其中，所述多特异性抗体包含：

(i) 第一肽链，其包含 SEQ ID NO: 2 所示序列的 VL 和 SEQ ID NO: 11 所示序列的 CL；

(ii) 第二肽链，其包含 SEQ ID NO: 1、78 所示序列的 VH 和 SEQ ID NO: 17 所示序列的 CH；和

(iii) 第三肽链，其包含 SEQ ID NO: 7、8、9、10 所示序列的 VHH 和 SEQ ID NO: 16 所示序列的 Fc 结构域单体。

32. 权利要求 30 的多特异性抗体，其中，所述多特异性抗体包含：

(1) 包含 SEQ ID NO: 38 所示序列的第一肽链、包含 SEQ ID NO: 37 所示序列的第二肽链和包含 SEQ ID NO: 36 所示序列的第三肽链；

(2) 包含 SEQ ID NO: 41 所示序列的第一肽链、包含 SEQ ID NO: 40 所示序列的第二肽链和包含 SEQ ID NO: 39 所示序列的第三肽链；

(3) 包含 SEQ ID NO: 44 所示序列的第一肽链、包含 SEQ ID NO: 43 所示序列的第二肽链和包含 SEQ ID NO: 42 所示序列的第三肽链；

(4) 包含 SEQ ID NO: 47 所示序列的第一肽链、包含 SEQ ID NO: 46 所示序列的第二肽链和包含 SEQ ID NO: 45 所示序列的第三肽链；

(5) 包含 SEQ ID NO: 127 所示序列的第一肽链、包含 SEQ ID NO: 126 所示序列的第二肽链和包含 SEQ ID NO: 125 所示序列的第三肽链；

(6) 包含 SEQ ID NO: 130 所示序列的第一肽链、包含 SEQ ID NO: 129 所示序列的第二肽链和包含 SEQ ID NO: 128 所示序列的第三肽链；

(7) 包含 SEQ ID NO: 133 所示序列的第一肽链、包含 SEQ ID NO: 132 所示序列的第二肽链和包含 SEQ ID NO: 131 所示序列的第三肽链；

(8) 包含 SEQ ID NO: 136 所示序列的第一肽链、包含 SEQ ID NO: 135 所示序列的第二肽链和包含 SEQ ID NO: 134 所示序列的第三肽链。

33. 分离的核酸分子，其包含编码权利要求 17-32 任一项所述的多特异性抗体或其至少一条肽链的核苷酸序列。

34. 载体，其包含权利要求 33 所述的分离的核酸分子；

优选地，所述载体包含编码所述多特异性抗体的各条肽链的核苷酸序列，并且所述编码各条肽链的核苷酸序列存在于相同或不同的载体上。

35. 宿主细胞，其包含权利要求 32 所述的分离的核酸分子或权利要求 30 所述的载体；

优选地，所述宿主细胞具有低或无岩藻糖基化活性，例如可以是缺乏表达编码岩藻糖基转移酶（例如 FUT8）基因的哺乳动物细胞，例如 CHO 细胞。

36. 制备权利要求 17-32 任一项所述的多特异性抗体的方法，其包括，在允许蛋白表达的条件下，培养权利要求 35 所述的宿主细胞，和从培养的宿主细胞培养物中回收所述多特异性抗体。

37. 权利要求 36 所述的方法，其中，所述宿主细胞具有低或无岩藻糖基化活性，从而产生低或无岩藻糖化的抗体；优选地，所述宿主细胞可以是缺乏表达编码岩藻糖基转移酶（例如 FUT8）基因的哺乳动物细胞，例如 CHO 细胞。

38. 免疫缀合物，其包含权利要求 1-3、7-9 任一项所述的抗体或其抗原结合片段或权利要求 4-6 任一项所述的单域抗体或其抗原结合片段或权利要求 17-32 任一项的多特异性抗体，以及连接于所述抗体或其抗原结合片段或多特异性分子的治疗剂；

优选地，所述治疗剂选自细胞毒剂；

优选地，所述治疗剂选自烷化剂、有丝分裂抑制剂、抗肿瘤抗生素、抗代谢物、拓扑异构酶抑制剂、酪氨酸激酶抑制剂、放射性核素剂，及其任意组合；

优选地，所述免疫缀合物是抗体-药物偶联物（ADC）。

39. 药物组合物，其包含权利要求 1-3、7-9 任一项所述的抗体或其抗原结合片段，或权利要求 4-6 任一项所述的单域抗体或其抗原结合片段，或权利要求 17-32 任一项所述的多特异性抗体，以及药学上可接受的载体和/或赋形剂；

优选地，药物组合物还包含另外的药学活性剂；

优选地，所述另外的药学活性剂是具有抗肿瘤活性的药物，例如烷化剂、有丝分裂抑制剂、抗肿瘤抗生素、抗代谢物、拓扑异构酶抑制剂、酪氨酸激酶抑制剂、放射性核素剂、放射增敏剂、抗血管生成剂、细胞因子、分子靶向药物、免疫检查点抑制剂或溶瘤病毒；

优选地，所述药物组合物还包含抗 PD-1 抗体；

优选地，所述药物组合物包含权利要求 17-32 任一项所述的多特异性抗体和抗 PD-1 抗体。

40. 试剂盒，其含有权利要求 1-3、7-9 任一项所述的抗体或其抗原结合片段或权利

要求 4-6 任一项所述的单域抗体或其抗原结合片段或权利要求 17-32 任一项所述的多特异性抗体；

优选地，所述抗体或其抗原结合片段带有可检测的标记，例如酶（例如辣根过氧化物酶）、放射性核素、荧光染料、发光物质（如化学发光物质）或生物素；

优选地，所述多特异性抗体带有可检测的标记，例如酶（例如辣根过氧化物酶）、放射性核素、荧光染料、发光物质（如化学发光物质）或生物素。

41. 一种抑制表达 CCR8 和/或 CTLA4 的肿瘤细胞生长和/或杀伤所述肿瘤细胞的方法，其包括将所述肿瘤细胞与有效量的权利要求 1-3、7-9 任一项所述的抗体或其抗原结合片段，或权利要求 4-6 任一项所述的单域抗体或其抗原结合片段，或权利要求 17-32 任一项所述的多特异性抗体，或权利要求 38 所述的免疫缀合物，或权利要求 39 所述的药物组合物接触。

42. 权利要求 1-3、7-9 任一项所述的抗体或其抗原结合片段，或权利要求 4-6 任一项所述的单域抗体或其抗原结合片段，或权利要求 17-32 任一项所述的多特异性分子，或权利要求 38 所述的免疫缀合物，或权利要求 39 所述的药物组合物，在制备药物中的用途，所述药物用于：

- (1) 在体外或受试者体内提高免疫细胞活性；
- (2) 在受试者中增强免疫应答；
- (3) 在受试者中预防和/治疗肿瘤；或
- (4) 在受试者中预防和/治疗感染；

优选地，所述肿瘤表达 CCR8 和/或 CTLA4；

优选地，所述 CCR8 和/或 CTLA4 在所述肿瘤细胞表面上表达；

优选地，所述肿瘤选自非小细胞肺癌、小细胞肺癌、肾细胞癌、结肠直肠癌、卵巢癌、乳癌、胰脏癌、胃癌、膀胱癌、食管癌、间皮瘤、黑色素瘤、头颈部癌、甲状腺癌、肉瘤、前列腺癌、成胶质细胞瘤、子宫颈癌、胸腺癌、白血病、淋巴瘤、骨髓瘤、蕈样肉芽肿（mycosis fungoids）、默克尔细胞癌和其它恶性血液病、如经典型霍奇金淋巴瘤（CHL）、原发性纵膈大 B 细胞淋巴瘤、T 细胞/组织细胞的富 B 细胞淋巴瘤、EBV 阳性和阴性 PTLD 和 EBV 相关弥漫性大 B 细胞淋巴瘤（DLBCL）、浆母细胞性淋巴瘤、结外 NK/T 细胞淋巴瘤、鼻咽癌和 HHV8 相关原发性渗出性淋巴瘤、霍奇金淋巴

瘤，中枢神经系统（CNS）肿瘤，例如原发性 CNS 淋巴瘤，脊轴肿瘤，脑干神经胶质瘤；

优选地，所述感染选自病毒感染、细菌感染、真菌感染和寄生虫感染；

优选地，所述受试者为哺乳动物，例如人、食蟹猴或小鼠。

43. 权利要求 1-3、7-9 任一项所述的抗体或其抗原结合片段或权利要求 4-6 任一项所述的单域抗体或其抗原结合片段或权利要求 17-32 任一项所述的多特异性抗体在制备试剂盒中的用途，所述试剂盒用于检测肿瘤是否能够通过靶向 CCR8 和/或 CTLA4 的抗肿瘤疗法来治疗；

(1) 将含有所述肿瘤细胞的样品与权利要求 1-3、7-9 任一项所述的抗体或其抗原结合片段或权利要求 4-6 任一项所述的单域抗体或其抗原结合片段接触；

(2) 检测所述抗体或其抗原结合片段与 CCR8 和/或 CTLA4 之间复合物的形成；

优选地，所述抗体或其抗原结合片段带有可检测的标记；

优选地，所述 CCR8 和/或 CTLA4 是哺乳动物（例如，人，猴）的 CCR8 和/或 CTLA4；

优选地，所述肿瘤选自非小细胞肺癌、小细胞肺癌、肾细胞癌、结肠直肠癌、卵巢癌、乳癌、胰脏癌、胃癌、膀胱癌、食管癌、间皮瘤、黑色素瘤、头颈部癌、甲状腺癌、肉瘤、前列腺癌、成胶质细胞瘤、子宫颈癌、胸腺癌、白血病、淋巴瘤、骨髓瘤、蕈样肉芽肿（mycosis fungoids）、默克尔细胞癌和其它恶性血液病、如经典型霍奇金淋巴瘤（CHL）、原发性纵膈大 B 细胞淋巴瘤、T 细胞/组织细胞的富 B 细胞淋巴瘤、EBV 阳性和阴性 PTLD 和 EBV 相关弥漫性大 B 细胞淋巴瘤（DLBCL）、浆母细胞性淋巴瘤、结外 NK/T 细胞淋巴瘤、鼻咽癌和 HHV8 相关原发性渗出性淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤，中枢神经系统（CNS）肿瘤，例如原发性 CNS 淋巴瘤，脊轴肿瘤，脑干神经胶质瘤。