

抗 CLDN-18.2 抗体及其用途

5 技术领域

本发明提供了与 CLDN-18.2 特异性结合的抗体或其抗原结合片段和包含其的组合物。还提供了编码本发明抗体或其抗原结合片段的核酸分子，用于表达本发明抗体或其抗原结合片段的表达载体和宿主细胞，以及本发明抗体或其抗原结合片段的治疗或诊断方法和用途。

背景技术

胃癌是全世界范围内发病率最高的癌症之一。据世界卫生组织癌控项目的统计数据，全球每年死于癌症的患者高达 700 万，其中死于胃癌的患者占 70 万例。与常规的胃癌治疗方案相比，基于抗体的治疗方案由于具有高特异性和低副作用，具有深远的应用前景。

Claudin，又称 CLDN，是一类建立细胞旁屏障并控制细胞间分子流动的细胞表面蛋白家族，目前已发现至少有 26 种。Claudin 蛋白家族成员是紧密连接的重要结构成分，在保持上皮细胞极性、控制细胞旁扩散、以及调控细胞生长分化方面起到重要作用。Claudin 分子跨细胞膜四次，N 端和 C 端均落在细胞质中。不同的 Claudin 成员在不同组织中表达，且其功能的改变与癌症形成相关联。Claudin 1、Claudin 18 和 Claudin 10 的表达水平变化分别与肠癌、胃癌和肝细胞癌相关。

Claudin 18 (CLDN18) 有两种选择性剪接变体 CLDN-18.1 和 CLDN-18.2。Claudin 18.1 (CLDN-18.1) 选择性地在正常肺和胃上皮中表达。Claudin 18.2 (CLDN-18.2) 在正常胃上皮短寿细胞中呈现微量表达，但在肿瘤细胞中，Claudin 18.2 在多种癌症类型中均呈现强烈表达，如 75% 的胃癌患者高表达 Claudin 18.2，50% 的胰腺癌患

者高表达 Claudin 18.2, 30%的食管癌患者高表达 Claudin 18.2, 在肺癌等中也有高表达。

尽管目前已有 Ganymed 公司开发的 Claudiximab(IMAB362)在胃食道癌晚期的 II 期临床试验中 (WO2007059997), 仍需要在亲和力、
5 特异性等方面相比于已知抗体改善的新型抗 CLDN18.2 抗体。

发明内容

本发明提供了抗 CLDN-18.2 抗体或其抗原结合片段, 其具有针对人 CLDN-18.2 的高亲和力和高特异性等优势。本发明提供的抗
10 CLDN-18.2 抗体或其抗原结合片段可作为独立的治疗或与其它疗法/或其他抗癌药剂联合, 用于诸如癌症的治疗。

在一个方面, 本发明提供了一种抗 CLDN-18.2 抗体或其抗原结合片段, 其包含重链可变区和轻链可变区, 其中,

所述重链可变区包含 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3, 其中
15 所述 HCDR1 的序列选自如 SEQ ID NO:1、10、16、22、28、34 和 37 所示的氨基酸序列;
所述 HCDR2 的序列选自如 SEQ ID NO:62、63、17、23、29、35、38、72 和 74 所示的氨基酸序列, 所述 SEQ ID NO:62 所示的 HCDR2 中 X₁ 为 C 或 S, X₂ 为 T 或
20 S, 所述 SEQ ID NO:63 所示的 HCDR2 中 X₃ 为 D 或 G, X₄ 为 K 或 T; 和
所述 HCDR3 的序列选自如 SEQ ID NO:3、12、18、24、30、36、39、73 和 75 所示的氨基酸序列; 和
所述轻链可变区包含 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3, 其中
25 所述 LCDR1 的序列选自如 SEQ ID NO:4、7、13、19、25 和 31 所示的氨基酸序列;
所述 LCDR2 的序列选自如 SEQ ID NO:5、8、14、20、26 和 32 所示的氨基酸序列; 和
所述 LCDR3 的序列选自如 SEQ ID NO:6、9、15、21、27

和 33 所示的氨基酸序列。

在一些实施方式中，本发明所述重链可变区包含：

(I)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2 和 SEQ ID NO:3 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或

5 (II)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11 和 SEQ ID NO:12 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或

(III)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17 和 SEQ ID NO:18 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或

10 (IV)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23 和 SEQ ID NO:24 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或

(V)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29 和 SEQ ID NO:30 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或

(VI)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35 和 SEQ ID NO:36 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或

15 (VII)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38 和 SEQ ID NO:39 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或

(VIII)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:40 和 SEQ ID NO:12 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或

20 (IX)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:41 和 SEQ ID NO:3 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或

(X)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:72 和 SEQ ID NO:73 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或

(XI)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:72 和 SEQ ID NO:3 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或

25 (XII)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:74 和 SEQ ID NO:75 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或

(XIII)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:74 和 SEQ ID NO:30 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；和

所述轻链可变区包含：

(I)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5 和 SEQ ID NO:6 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3; 或

(II)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8 和 SEQ ID NO:9 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3; 或

5 (III)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14 和 SEQ ID NO:15 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3; 或

(IV)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20 和 SEQ ID NO:21 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3; 或

10 (V)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26 和 SEQ ID NO:27 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3; 或

(VI)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32 和 SEQ ID NO:33 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。

在一些实施方式中, 本发明所述抗体或其抗原结合片段包含:

(I)重链可变区, 其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2 和 SEQ ID NO:3 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3; 和轻链可变区, 其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5 和 SEQ ID NO:6 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3; 或

(II)重链可变区, 其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2 和 SEQ ID NO:3 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3; 和轻链可变区, 其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8 和 SEQ ID NO:9 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3; 或

(III)重链可变区, 其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11 和 SEQ ID NO:12 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3; 和轻链可变区, 其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14 和 SEQ ID NO:15 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3; 或

(IV)重链可变区, 其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17 和 SEQ ID NO:18 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3; 和轻链可变区, 其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20 和 SEQ ID NO:21 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3; 或

(V)重链可变区,其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23 和 SEQ ID NO:24 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3; 和轻链可变区,其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26 和 SEQ ID NO:27 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3; 或

5 (VI)重链可变区,其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29 和 SEQ ID NO:30 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3; 和轻链可变区,其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32 和 SEQ ID NO:33 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3; 或

(VII)重链可变区,其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35 和 SEQ ID NO:36 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3; 和轻链可变区,其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26 和 SEQ ID NO:27 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3; 或

(VIII)重链可变区,其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38 和 SEQ ID NO:39 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3; 和轻链可变区,其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32 和 SEQ ID NO:33 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3; 或

(IX)重链可变区,其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11 和 SEQ ID NO:12 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3; 和轻链可变区,其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20 和 SEQ ID NO:21 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3; 或

(X)重链可变区,其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29 和 SEQ ID NO:30 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3; 和轻链可变区,其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14 和 SEQ ID NO:15 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3; 或

25 (XI)重链可变区,其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23 和 SEQ ID NO:24 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3; 和轻链可变区,其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14 和 SEQ ID NO:15 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3; 或

(XII)重链可变区,其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:10、SEQ

ID NO:40 和 SEQ ID NO:12 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3; 和轻链可变区, 其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14 和 SEQ ID NO:15 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3; 或

(XIII)重链可变区, 其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:41 和 SEQ ID NO:3 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3; 和轻链可变区, 其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8 和 SEQ ID NO:9 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3; 或

(XIV)重链可变区, 其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:72 和 SEQ ID NO:73 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3; 和轻链可变区, 其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8 和 SEQ ID NO:9 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3; 或

(XV)重链可变区, 其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:72 和 SEQ ID NO:3 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3; 和轻链可变区, 其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8 和 SEQ ID NO:9 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3; 或

(XVI)重链可变区, 其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:74 和 SEQ ID NO:30 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3; 和轻链可变区, 其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14 和 SEQ ID NO:15 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3; 或

(XVII)重链可变区, 其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:74 和 SEQ ID NO:75 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3; 和轻链可变区, 其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14 和 SEQ ID NO:15 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。

在一些实施方式中, 本发明所述重链可变区的氨基酸序列包含选自如 SEQ ID NO:42、45、47、49、51、53、54、76、78、82 和 83 所示的序列, 或与 SEQ ID NO:42、45、47、49、51、53、54、76、78、82 和 83 所示序列中任一者具有至少 95%、96%、97%、98%或 99%同一性的氨基酸序列; 和

所述轻链可变区的氨基酸序列包含选自如 SEQ ID NO:43、44、

46、48、50 和 52 所示的序列，或与 SEQ ID NO:43、44、46、48、50 和 52 所示序列中任一者具有至少 95%、96%、97%、98%或 99% 同一性的氨基酸序列。

在一些实施方式中，本发明所述抗体或其抗原结合片段包含：

- 5 (I)氨基酸序列如 SEQ ID NO:42 所示的重链可变区和氨基酸序列如 SEQ ID NO:43 所示的轻链可变区；或
- (II)氨基酸序列如 SEQ ID NO:42 所示的重链可变区和氨基酸序列如 SEQ ID NO:44 所示的轻链可变区；或
- (III)氨基酸序列如 SEQ ID NO:45 所示的重链可变区和氨基酸序列如 SEQ ID NO:46 所示的轻链可变区；或
- 10 (IV)氨基酸序列如 SEQ ID NO:47 所示的重链可变区和氨基酸序列如 SEQ ID NO:48 所示的轻链可变区；或
- (V)氨基酸序列如 SEQ ID NO:49 所示的重链可变区和氨基酸序列如 SEQ ID NO:50 所示的轻链可变区；或
- 15 (VI)氨基酸序列如 SEQ ID NO:51 所示的重链可变区和氨基酸序列如 SEQ ID NO:52 所示的轻链可变区；或
- (VII)氨基酸序列如 SEQ ID NO:53 所示的重链可变区和氨基酸序列如 SEQ ID NO:50 所示的轻链可变区；或
- (VIII)氨基酸序列如 SEQ ID NO:54 所示的重链可变区和氨基酸序列如 SEQ ID NO:52 所示的轻链可变区；或
- 20 (IX)氨基酸序列如 SEQ ID NO:45 所示的重链可变区和氨基酸序列如 SEQ ID NO:48 所示的轻链可变区；或
- (X)氨基酸序列如 SEQ ID NO:51 所示的重链可变区和氨基酸序列如 SEQ ID NO:46 所示的轻链可变区；或
- 25 (XI)氨基酸序列如 SEQ ID NO:49 所示的重链可变区和氨基酸序列如 SEQ ID NO:46 所示的轻链可变区。

在一些实施方式中，本发明所述抗体或其抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区，其中

所述重链可变区的氨基酸序列包含选自如 SEQ ID NO: 55、57、

58、59、60、76、78、79、82 和 83 所示的序列，或与 SEQ ID NO: 55、57、58、59、60、76、78、79、82 和 83 所示序列中任一者具有至少 95%、96%、97%、98%或 99%同一性的氨基酸序列；和

所述轻链可变区的氨基酸序列包含选自如 SEQ ID NO: 56、61、
5 77、80 和 81 所示的序列，或与 SEQ ID NO: 56、61、77、80 和 81 所示序列具有至少 95%、96%、97%、98%或 99%同一性的氨基酸序列。

在一些实施方式中，本发明所述抗体或其抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区，其中所述重链可变区包含如 SEQ ID NO:55、
10 57、60、76、78、79、82 或 83 中任一项所示的氨基酸序列；和所述轻链可变区包含如 SEQ ID NO:56、61、77、80 或 81 中任一项所示的氨基酸序列。

在一些实施方式中，本发明所述抗体或其抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区，其中所述重链可变区包含如 SEQ ID NO:55、
15 57、82 或 83 所示的氨基酸序列；和所述轻链可变区包含如 SEQ ID NO:56 所示的氨基酸序列。

在一些实施方式中，本发明所述抗体或其抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区，其中所述重链可变区包含如 SEQ ID NO:60、76 或 78 所示的氨基酸序列；和所述轻链可变区包含如 SEQ ID NO:61
20 所示的氨基酸序列。

在一些实施方式中，本发明所述抗体或其抗原结合片段包含重链可变区和轻链可变区，其中

所述重链可变区包含如 SEQ ID NO:55 所示的氨基酸序列；和所述轻链可变区包含如 SEQ ID NO:56 所示的氨基酸序列；或

25 所述重链可变区包含如 SEQ ID NO:57 所示的氨基酸序列；和所述轻链可变区包含如 SEQ ID NO:56 所示的氨基酸序列；或

所述重链可变区包含如 SEQ ID NO:58 所示的氨基酸序列；和所述轻链可变区包含如 SEQ ID NO:56 所示的氨基酸序列；或

所述重链可变区包含如 SEQ ID NO:59 所示的氨基酸序列；和所

述轻链可变区包含如 SEQ ID NO:56 所示的氨基酸序列；或

所述重链可变区包含如 SEQ ID NO:60 所示的氨基酸序列；和所述轻链可变区包含如 SEQ ID NO:61 所示的氨基酸序列；或

所述重链可变区包含如 SEQ ID NO: 76 所示的氨基酸序列；和所述轻链可变区包含如 SEQ ID NO:77 所示的氨基酸序列；或
5 所述重链可变区包含如 SEQ ID NO:79 所示的氨基酸序列；和所述轻链可变区包含如 SEQ ID NO:80 所示的氨基酸序列；或

所述重链可变区包含如 SEQ ID NO:55 所示的氨基酸序列；和所述轻链可变区包含如 SEQ ID NO:81 所示的氨基酸序列。在一些实施方式中，本发明所述抗体或其抗原结合片段包含：重链，所述重链的氨基酸序列如 SEQ ID NO:64 或其变体或者 SEQ ID NO:68 或其变体所示，和轻链，所述轻链的氨基酸序列如 SEQ ID NO:65 或其变体或者 SEQ ID NO:69 或其变体所示，其中所述变体在其可变区包含 1、2、3、4 或 5 个氨基酸变化；
10

优选地，SEQ ID NO:64 的变体包含在第 50 或 63 位或其组合处的氨基酸变化；和/或 SEQ ID NO:68 的变体包含在第 63 或 65 位或其组合处的氨基酸变化；
15

优选地，SEQ ID NO:64 的变体包含 S50C 或 S63T 或其组合；和/或 SEQ ID NO:68 的变体包含 G63D 或 T65K 或其组合。

20 在一些实施方式中，本发明所述抗体或其抗原结合片段包含：重链和轻链，其中

所述重链包含如 SEQ ID NO: 64 所示的氨基酸序列，或与 SEQ ID NO: 64 所示的氨基酸序列具有至少 90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和所述轻链包含如 SEQ ID NO: 65 所示的氨基酸序列，或与 SEQ ID NO: 65 所示的氨基酸序列具有至少 90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；或
25

所述重链包含如 SEQ ID NO: 68 所示的氨基酸序列，或与 SEQ ID NO: 68 所示的氨基酸序列具有至少 90%、92%、94%、95%、96%、

97%、98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和所述轻链包含如 SEQ ID NO: 69 所示的氨基酸序列，或与 SEQ ID NO: 69 所示的氨基酸序列具有至少 90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；或

- 5 所述重链包含如 SEQ ID NO: 84 所示的氨基酸序列，或与 SEQ ID NO: 84 所示的氨基酸序列具有至少 90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和所述轻链包含如 SEQ ID NO: 85 所示的氨基酸序列，或与 SEQ ID NO: 85 所示的氨基酸序列具有至少 90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；或
- 10 所述重链包含如 SEQ ID NO: 86 所示的氨基酸序列，或与 SEQ ID NO: 86 所示的氨基酸序列具有至少 90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和所述轻链包含如 SEQ ID NO: 87 所示的氨基酸序列，或与 SEQ ID NO: 87 所示的氨基酸序列具有至少 90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；或

- 15 所述重链包含如 SEQ ID NO: 88 所示的氨基酸序列，或与 SEQ ID NO: 88 所示的氨基酸序列具有至少 90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和所述轻链包含如 SEQ ID NO: 89 所示的氨基酸序列，或与 SEQ ID NO: 89 所示的氨基酸序列具有至少 90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；或

- 20 所述重链包含如 SEQ ID NO: 90 所示的氨基酸序列，或与 SEQ ID NO: 90 所示的氨基酸序列具有至少 90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和所述轻链包含如 SEQ ID NO: 91 所示的氨基酸序列，或与 SEQ ID NO: 91 所示的氨基酸序列具有至少 90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；或

- 25 所述重链包含如 SEQ ID NO: 92 所示的氨基酸序列，或与 SEQ ID NO: 92 所示的氨基酸序列具有至少 90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和所述轻链包含如 SEQ ID NO: 93 所示的氨基酸序列，或与 SEQ ID NO: 93 所示的氨基酸序列具有至少 90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；或

所述重链包含如 SEQ ID NO: 92 所示的氨基酸序列，或与 SEQ ID NO: 92 所示的氨基酸序列具有至少 90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；或

ID NO: 92 所示的氨基酸序列具有至少 90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和所述轻链包含如 SEQ ID NO: 93 所示的氨基酸序列，或与 SEQ ID NO:93 所示的氨基酸序列具有至少 90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；或

所述重链包含如 SEQ ID NO: 94 所示的氨基酸序列，或与 SEQ ID NO: 94 所示的氨基酸序列具有至少 90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和所述轻链包含如 SEQ ID NO: 95 所示的氨基酸序列，或与 SEQ ID NO: 95 所示的氨基酸序列具有至少 90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；或

所述重链包含如 SEQ ID NO: 96 所示的氨基酸序列，或与 SEQ ID NO: 96 所示的氨基酸序列具有至少 90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和所述轻链包含如 SEQ ID NO: 97 所示的氨基酸序列，或与 SEQ ID NO: 97 所示的氨基酸序列具有至少 90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；或

所述重链包含如 SEQ ID NO: 98 所示的氨基酸序列，或与 SEQ ID NO: 98 所示的氨基酸序列具有至少 90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和所述轻链包含如 SEQ ID NO:99 所示的氨基酸序列，或与 SEQ ID NO: 99 所示的氨基酸序列具有至少 90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；或

所述重链包含如 SEQ ID NO:100 所示的氨基酸序列，或与 SEQ ID NO:100 所示的氨基酸序列具有至少 90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和所述轻链包含如 SEQ ID NO:101 所示的氨基酸序列，或与 SEQ ID NO:101 所示的氨基酸序列具有至少 90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列同一性的氨基酸序列。

在一些实施方式中，本发明所述抗体或其抗原结合片段包含：

(I)氨基酸序列如 SEQ ID NO:64 所示的重链和氨基酸序列如 SEQ ID NO:65 所示的轻链；或

(II)氨基酸序列如 SEQ ID NO:68 所示的重链和氨基酸序列如
5 SEQ ID NO:69 所示的轻链。

在一些实施方式中，本发明所述抗体为鼠源抗体、嵌合抗体、人源化抗体、或全人抗体。

在一些实施方式中，本发明所述抗原结合片段为 Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂、Fv、scFv 或 sdAb 或双抗体。

10 在一些实施方式中，本发明所述抗体为任何 IgG 亚型，如 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4；优选地；所述抗体是低或无岩藻糖基化的。

在一些实施方式中，本发明所述抗体是低岩藻糖基化的。

在一些实施方式中，本发明所述抗体是无岩藻糖基化的。

在另一个方面，本发明提供了一种分离的抗 CLDN-18.2 抗体或
15 其抗原结合片段，其具有以下特性中的一种或多种：

(1)与本文所述的抗 CLDN-18.2 抗体或其抗原结合片段结合相同或者完全或部分重叠的人 CLDN-18.2 蛋白的表位；

(2)与本文所述的抗 CLDN-18.2 抗体或其抗原结合片段竞争结合人 CLDN-18.2 蛋白的表位；

20 (3)与人 CLDN-18.2 蛋白结合，但是不结合人 CLDN-18.1 蛋白；

(4)诱导表达人 CLDN-18.2 蛋白的细胞的 ADCC 效应；和

(5)诱导表达人 CLDN-18.2 蛋白的细胞的 CDC 效应。

在又一个方面，本发明提供了一种多核苷酸，其编码如本文所述的抗 CLDN-18.2 抗体或其抗原结合片段。

25 在又一个方面，本发明提供了一种表达载体，其包含如本文所述的多核苷酸，优选地，所述载体为真核表达载体。

在又一个方面，本发明提供了一种宿主细胞，其包含如本文所述的多核苷酸或如本文所述的表达载体，或表达如本发明所述的抗 CLDN-18.2 抗体或其抗原结合片段，优选地，所述宿主细胞是真核

细胞，更优选哺乳动物细胞。

在又一个方面，本发明提供了一种用于制备如本文所述的抗 CLDN-18.2 抗体或其抗原结合片段的方法，所述方法包括在适合于所述抗体或其抗原结合片段表达的条件下培养本文所述的宿主细胞，并从所述宿主细胞回收所表达的抗体或其抗原结合片段。

在又一个方面，本发明提供了一种药物组合物，其包含如本文所述的抗 CLDN-18.2 抗体或其抗原结合片段、本文所述的多核苷酸、本文所述的表达载体、或本文所述的宿主细胞，和药学上可接受的载体或赋形剂。

在又一个方面，本发明提供了如本文所述的抗体或其抗原结合片段、本文所述的多核苷酸、本文所述的表达载体、本文所述的宿主细胞、或本文所述的药物组合物在制备用于治疗和/或预防 CLDN-18.2 介导的疾病或病症的药物中的用途，优选地，所述疾病或病症为癌症。

在又一个方面，本发明提供了如本文所述的抗体或其抗原结合片段、本文所述的多核苷酸、本文所述的表达载体、本文所述的宿主细胞、或本文所述的药物组合物，其用于治疗 and/或预防 CLDN-18.2 介导的疾病或病症，优选地，所述疾病或病症为癌症。

在又一个方面，本发明提供了一种治疗和/或预防 CLDN-18.2 介导的疾病或病症的方法，其包括向有需要的受试者施用如本文所述的抗体或其抗原结合片段、本文所述的多核苷酸、本文所述的表达载体、本文所述的宿主细胞、或本文所述的药物组合物，优选地，所述疾病或病症为癌症。

在一些实施方式中，所述癌症选自胃癌、食道癌、胃食管癌、胰腺癌、胆管癌、肺癌、卵巢癌、结肠癌、肝癌、头颈癌、胆囊癌、肠癌和膀胱癌药物。

在又一个方面，本发明提供了一种药物组合，其包含如本文所述的抗体或其抗原结合片段、本文所述的多核苷酸、本文所述的表达载体、本文所述的宿主细胞、或本文所述的药物组合物，以及一

种或多种另外的治疗剂。

在又一个方面，本发明提供了一种试剂盒，其包括如本文所述的抗体或其抗原结合片段、本文所述的多核苷酸、本文所述的表达载体、本文所述的宿主细胞、或本文所述的药物组合物，优选其进一步包括给药装置。

在又一个方面，本发明提供了一种使用如本文所述的抗体或其抗原结合片段检测 CLDN-18.2 在样品中的存在的方法。

附图说明

10 图 1: 流式细胞术测定的嵌合抗 CLDN-18.2 抗体的细胞水平亲和力和。

图 2a 和 2b: 报告基因法测定的嵌合抗 CLDN-18.2 抗体的 ADCC 活性。

图 3: 流式细胞术测定的嵌合抗 CLDN-18.2 抗体的 CDC 活性。

15 图 4a、4b 和 4c: 流式细胞术测定的人源化抗 CLDN-18.2 抗体的细胞水平亲和力。

图 5a、5b 和 5c: 报告基因法测定的人源化抗 CLDN-18.2 抗体的 ADCC 活性。

20 图 6a、6b 和 6c: 流式细胞术测定的人源化抗 CLDN-18.2 抗体的 CDC 活性。

图 7: 人源化抗 CLDN-18.2 抗体对 M-NSG 小鼠移植人胃癌 MKN45 hClaudin18.2 Mixeno 肿瘤生长的抑制作用。

图 8: 人源化抗 CLDN-18.2 抗体对 CB-17 SCID 小鼠移植人胰腺癌 hCLDN18.2 MIA PaCa-2 肿瘤生长的抑制作用。

25

具体实施方式

定义

除非另有说明，本发明的实施将采用分子生物学(包括重组技术)、微生物学、细胞生物学、生物化学和免疫学的常规技术，这些

都在本领域的技术范围内。

为了可以更容易地理解本发明，某些科技术语具体定义如下。除非本文其它部分另有明确定义，否则本文所用的科技术语都具有本发明所属领域普通技术人员通常理解的含义。关于本领域的定义及术语，专业人员具体可参考 Current Protocols in Molecular Biology (Ausubel)。氨基酸残基的缩写是本领域中所用的指代 20 个常用 L-氨基酸之一的标准 3 字母和/或 1 字母代码。本文（包括权利要求书）所用单数形式包括其相应的复数形式，除非文中另有明确规定。

术语“约”在与数字数值联合使用时意为涵盖具有比指定数字数值小 5% 的下限和比指定数字数值大 5% 的上限的范围内的数字数值。

术语“和/或”应理解为意指可选项中的任一项或可选项中的任意两项或更多项的组合。

术语“CLDN-18.2”或“Claudin18.2”，是 Claudin 18 的两个剪接变异体之一。该术语指来自任何脊椎动物（包括哺乳动物如灵长类动物（例如人））和啮齿类动物（例如，小鼠和大鼠）的任何天然 CLDN-18.2，除非另有说明。该术语涵盖“全长”未加工的 CLDN-18.2 以及由细胞内加工产生的任何形式的 CLDN-18.2 或其任何片段。该术语还包括天然存在的 CLDN-18.2 的变体，例如，剪接变体或等位变体。在一个优选实施方式中，CLDN-18.2 是指来自人和食蟹猴 CLDN-18.2 全长或其片段（诸如其缺乏信号肽的成熟片段）。

术语“百分比(%)氨基酸序列同一性”或简称“同一性”定义为在将氨基酸序列进行比对（并在必要时导入空位）以获取最大百分比序列同一性，且不将任何保守取代视为序列同一性的部分之后，候选氨基酸序列中的氨基酸残基与参比氨基酸序列中的相同氨基酸残基的百分比。可使用本领域各种方法进行序列比对以便测定百分比氨基酸序列同一性，例如，使用公众可得到的计算机软件如 BLAST、BLAST-2、ALIGN 或 MEGALIGN(DNASTAR)软件。本领域技术人员可以决定测量比对的适宜参数，包括对所比较的序列全长获得最

大比对所需的任何算法。

术语“免疫应答”是指由例如淋巴细胞、抗原呈递细胞、吞噬细胞、粒细胞和由上述细胞或肝产生可溶性大分子（包括抗体、细胞因子和补体）的作用，该作用导致从人体选择性损害、破坏或清除侵入的病原体、感染病原体的细胞或组织、癌细胞或者在自体免疫或病理性炎症的情况下的正常人细胞或组织。

术语“信号转导途径”或“信号转导活性”是指通常由蛋白质间相互作用诸如生长因子对受体的结合启动的生化因果关系，所述关系导致信号从细胞的一部分传递至细胞的另一部分。一般地，传递包括引起信号转导的系列反应中的一种或多种蛋白质上的一个或多个酪氨酸、丝氨酸或苏氨酸残基的特定磷酸化。倒数第二过程通常包括细胞核事件，从而导致基因表达的变化。

术语“活性”或“生物活性”，或术语“生物性质”或“生物特征”此处可互换使用，包括但不限于表位/抗原亲和力和特异性、在体内或体外中和或拮抗 CLDN-18.2 活性的能力、 IC_{50} 、抗体的体内稳定性和抗体的免疫原性质。本领域公知的抗体的其它可鉴定的生物学性质或特征包括，例如，交叉反应性(即通常与靶定肽的非人同源物，或与其它蛋白质或组织的交叉反应性)，和保持哺乳动物细胞中蛋白质高表达水平的能力。使用本领域公知的技术观察、测定或评估前面提及的性质或特征，所述技术包括但不限于 ELISA、FACS 或 BIACORE 等离子体共振分析、不受限制的体外或体内中和测定、受体结合、细胞因子或生长因子的产生和/或分泌、信号转导和不同来源(包括人类、灵长类或任何其它来源)的组织切片的免疫组织化学。

术语“抗体”是指具有所需生物活性的任何形式的抗体。因此，其以最广义使用，具体包括但不限于单克隆抗体（包括全长单克隆抗体）、多克隆抗体、多特异性抗体（例如双特异性抗体）、人源化抗体、全人抗体、嵌合抗体和骆驼源化单结构域抗体。

术语“分离的抗体”是指结合化合物的纯化状态，且在这种情况下意指该分子基本不含其它生物分子，例如核酸、蛋白质、脂质、

糖或其它物质例如细胞碎片和生长培养基。术语“分离（的）”并非意指完全不存在这类物质或不存在水、缓冲液或盐，除非它们以明显干扰本文所述结合化合物的实验或治疗应用的量存在。

术语“单克隆抗体”是指获自基本均质抗体群的抗体，即组成该群的各个抗体除可少量存在的可能天然存在的突变之外是相同的。单克隆抗体是高度特异性的，针对单一抗原表位。相比之下，常规（多克隆）抗体制备物通常包括大量针对不同表位（或对不同表位有特异性）的抗体。修饰语“单克隆”表明获自基本均质抗体群的抗体的特征，且不得解释为需要通过任何特定方法产生抗体。

术语“全长抗体”，是指在天然存在时包含四条肽链的免疫球蛋白分子：两条重(H)链(全长时约 50-70kDa)和两条轻(L)链(全长时约 25kDa)通过二硫键互相连接。每一条重链由重链可变区（在本文中缩写为 VH)和重链恒定区（在本文中缩写为 CH)组成。重链恒定区由 3 个结构域 CH1、CH2 和 CH3 组成。每一条轻链由轻链可变区（在本文中缩写为 VL)和轻链恒定区组成。轻链恒定区由一个结构域 CL 组成。VH 和 VL 区可被进一步细分为具有高可变性的互补决定区（CDR)和其间隔以更保守的称为框架区（FR)的区域。每一个 VH 或 VL 区由按下列顺序：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。重链和轻链的可变区含有与抗原相互作用的结合结构域。抗体的恒定区可介导免疫球蛋白对宿主组织或因子（包括免疫系统的各种细胞（例如，效应细胞）和经典补体系统的第一组分（Clq))的结合。

术语“Fc 区”用于定义含有至少一部分的恒定区的免疫球蛋白重链的 C-末端区域。该术语包括天然序列 Fc 区和变体 Fc 区。在一个实施方式中，人 IgG 重链 Fc 区从重链的 Cys226 或从 Pro230 延伸至羧基端。然而，Fc 区的 C-端赖氨酸（Lys447）可以存在或可以不存在。除非本文中另外指出，Fc 区或恒定区中的氨基酸残基的编号根据 EU 编号系统，也称为 EU 索引，如 Kabat, E.A.等， Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第 5 版， Public Health Service

National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991) , NIH Publication 91-3242 中所述。

术语抗体 (“亲代抗体”) 的“抗原结合片段”包括抗体的片段或衍生物, 通常包括亲代抗体的抗原结合区或可变区 (例如一个或多个 CDR) 的至少一个片段, 其保持亲代抗体的至少一些结合特异性。抗体结合片段的实例包括但不限于 Fab, Fab', F(ab')₂ 和 Fv 片段; 双抗体; 线性抗体; 单链抗体分子, 例如 sc-Fv; 由抗体片段形成的纳米抗体 (nanobody) 和多特异性抗体。当抗原的结合活性在摩尔浓度基础上表示时, 结合片段或衍生物通常保持其抗原结合活性的至少 10%。优选结合片段或衍生物保持亲代抗体的抗原结合亲和力的至少 20%、50%、70%、80%、90%、95% 或 100% 或更高。还预期抗体的抗原结合片段可包括不明显改变其生物活性的保守或非保守氨基酸取代 (称为抗体的“保守变体”或“功能保守变体”)。术语“结合化合物”是指抗体及其结合片段两者。

术语“单链 Fv”或“scFv”抗体是指包含抗体的 VH 和 VL 结构域的抗体片段, 其中这些结构域存在于单条多肽链中。Fv 多肽一般还包含 VH 和 VL 结构域之间的多肽接头, 其使 scFv 能够形成用于抗原结合的所需结构。

术语“结构域抗体”是只含有重链可变区或轻链可变区的免疫功能性免疫球蛋白片段。在某些情况下, 两个或更多个 VH 区与肽接头共价连接形成二价结构域抗体。二价结构域抗体的 2 个 VH 区可靶向相同或不同的抗原。

术语“二价抗体”包含 2 个抗原结合部位。在某些情况下, 2 个结合部位具有相同的抗原特异性。然而, 二价抗体可以是双特异性的。

术语“双抗体”是指具有两个抗原结合部位的小抗体片段, 所述片段包含在同一多肽链 (VH-VL 或 VL-VH) 中与轻链可变结构域 (VL) 连接的重链可变结构域 (VH)。通过使用短得不允许在同一链的两个结构域之间配对的接头, 迫使该结构域与另一链的互补结构域配对并产生两个抗原结合部位。

术语“嵌合抗体”是具有第一抗体的可变结构域和第二抗体的恒定结构域的抗体，其中第一抗体和第二抗体来自不同物种。通常，可变结构域获自啮齿动物等的抗体（“亲代抗体”），而恒定结构域序列获自人抗体，使得与亲代啮齿动物抗体相比，所得嵌合抗体在
5 人受试者中诱导不良免疫应答的可能性较低。

术语“人源化抗体”是指含有来自人和非人（例如小鼠、大鼠）抗体的序列的抗体形式。一般而言，人源化抗体包含基本所有的至少一个、通常两个可变结构域，其中所有或基本所有的超变环相当于非人免疫球蛋白的超变环，而所有或基本所有的构架（FR）区是人
10 免疫球蛋白序列的构架区。人源化抗体任选可包含至少一部分的人免疫球蛋白恒定区（Fc）。

术语“全人抗体”是指只包含人免疫球蛋白蛋白质序列的抗体。如在小鼠中、在小鼠细胞中或在来源于小鼠细胞的杂交瘤中产生，则全人抗体可含有鼠糖链。同样，“小鼠抗体”是指仅包含小鼠免疫
15 球蛋白序列的抗体。或者，如果在大鼠中、在大鼠细胞中或在来源于大鼠细胞的杂交瘤中产生，则全人抗体可含有大鼠糖链。同样，“大鼠抗体”是指仅包含大鼠免疫球蛋白序列的抗体。

“同种型”抗体是指由重链恒定区基因提供的抗体种类（例如，IgM、IgE、IgG 诸如 IgG1、IgG2 或 IgG4）。同种型还包括这些种类
20 之一的修饰形式，其中修饰已被产生来改变 Fc 功能，例如以增强或减弱效应子功能或对 Fc 受体的结合。

术语“表位”是指抗体所结合的抗原区域。表位可以由连续的氨基酸形成或者通过蛋白的三级折叠而并置的非连续氨基酸形成。

“亲和力”或“结合亲和力”指反映结合对子的成员之间相互作用的固有结合亲和力。分子 X 对其配偶物 Y 的亲和力可以通常由平衡
25 解离常数(K_D)代表，平衡解离常数是解离速率常数和结合速率常数(分别是 k_{dis} 和 k_{on})的比值。亲和力可以由本领域已知的常见方法测量。用于测量亲和力的一个具体方法是本文中的 ForteBio 动力学结合测定法。

术语“不结合”蛋白或细胞是指，不与蛋白或细胞结合，或者不以高亲和力与其结合，即结合蛋白或细胞的 K_D 为 1.0×10^{-6} M 或更高，更优选 1.0×10^{-5} M 或更高，更优选 1.0×10^{-4} M 或更高、 1.0×10^{-3} M 或更高，更优选 1.0×10^{-2} M 或更高。

- 5 术语“高亲和性”对于 IgG 抗体而言，是指对于抗原的 K_D 为 1.0×10^{-6} M 或更低，优选 5.0×10^{-8} M 或更低，更优选 1.0×10^{-8} M 或更低、 5.0×10^{-9} M 或更低，更优选 1.0×10^{-9} M 或更低。对于其他抗体亚型，“高亲和性”结合可能会变化。例如，IgM 亚型的“高亲和性”结合是指 K_D 为 10^{-6} M 或更低，优选 10^{-7} M 或更低，更优选 10^{-8} M 或更低。
10 低。

术语“抗体依赖的细胞毒性”、“抗体依赖的细胞介导的细胞毒性”或“ADCC”是指细胞介导的免疫防御，其中免疫系统效应细胞主动地将细胞膜表面抗原与抗体，例如 Claudin18.2 抗体，结合的靶细胞例如癌细胞裂解。

- 15 术语“补体依赖的细胞毒性”或“CDC”是指 IgG 和 IgM 抗体的效应功能，当与表面抗原结合时引发典型的补体途径，包括形成膜攻击复合体以及靶细胞裂解。本发明的抗体，与 Claudin 18.2 结合时，引发对癌细胞的 CDC。

- 术语“核酸”或“多核苷酸”是指脱氧核糖核酸 (DNA) 或核糖核酸 (RNA) 及其呈单链或双链形式的聚合物。除非明确地限制，否则术语包括具有与参照核酸相似的结合性质并且以与天然存在的核苷酸相似的方式被代谢的含有已知的天然核苷酸的类似物的核酸(参见，
20 属于 Kariko 等人的美国专利 No. 8,278,036，其公开了尿苷被假尿苷替代的 mRNA 分子，合成所述 mRNA 分子的方法以及用于在体内递送治疗性蛋白的方法)。除非另有所指，否则特定核酸序列还隐含地包括其保守修饰的变体（例如，简并密码子取代）、等位基因、直系同源物、SNP 和互补序列以及明确指出的序列。具体地，简并密码子取代可通过生成其中一个或多个选择的（或全部）密码子的第三位被混合碱基和/或脱氧肌苷残基取代的序列来实现（Batzer 等
25

人, Nucleic Acid Res. 19:5081 (1991); Ohtsuka 等人, J. Biol. Chem. 260:2605-2608 (1985); 和 Rossolini 等人, Mol. Cell. Probes 8:91-98(1994))。

“构建体”是指任何重组多核苷酸分子(诸如质粒、粘粒、病毒、自主复制多核苷酸分子、噬菌体或线性或环状单链或双链 DNA 或 RNA 多核苷酸分子), 衍生自任何来源, 能够与基因组整合或自主复制, 构成如下多核苷酸分子, 其中已经以功能操作的方式连接(即, 可操作地连接)一或多个多核苷酸分子。重组构建体通常会包含可操作地连接至转录起始调节序列的本发明的多核苷酸, 这些序列会导
5 引多核苷酸在宿主细胞中的转录。可使用异源及非异源(即, 内源)启动子两者导引本发明的核酸的表达。

“载体”是指任何重组多核苷酸构建体, 该构建体可用于转化的目的(即将异源 DNA 引入到宿主细胞中)。一种类型的载体为“质粒”, 是指环状双链 DNA 环, 可将额外 DNA 区段连接至该环中。另一类型的载体为病毒载体, 其中可将额外 DNA 区段连接至病毒基因组中。某些载体能够在被引入到的宿主细胞中自主复制(例如, 具有细菌复制起点的细菌载体及游离型哺乳动物载体)。在引入到宿主细胞中后, 其他载体(例如, 非游离型哺乳动物载体)整合至宿主细胞的基因组中, 且因此与宿主基因组一起复制。此外, 某些载体
15 能够导引被操作性连接的基因的表达。本文将此类载体称为“表达载体”。

本文所用术语“表达载体”是指能够在转化、转染或转导至宿主细胞中时复制及表达目的基因的核酸分子。表达载体包含一或多个表型选择标记及复制起点, 以确保维护载体及以在需要的情况下于
25 宿主内提供扩增。

用于细胞或受体的“活化”、“刺激”和“处理”可具有相同含义, 例如细胞或受体用配体活化、刺激或处理, 除非上下文另外或明确规定。“配体”包括天然和合成配体, 例如细胞因子、细胞因子变体、类似物、突变蛋白和来源于抗体的结合化合物。“配体”还包括小分

子，例如细胞因子的肽模拟物和抗体的肽模拟物。“活化”可指通过内部机制以及外部或环境因素调节的细胞活化。“应答/反应”，例如细胞、组织、器官或生物体的应答，包括生化或生理行为（例如生物区室内的浓度、密度、粘附或迁移、基因表达速率或分化状态）
5 的改变，其中改变与活化、刺激或处理有关，或者与例如遗传编程等内部机制有关。

如本文中所用，术语任何疾病或病症的“治疗”或“医治”在一个实施方式中是指改善疾病或病症（即，减缓或阻止或减少疾病的进展或其临床症状的至少一个）。在另一个实施方式中，“治疗”或“医治”
10 是指缓解或改善至少一个身体参数，包括可能不能被患者辨别出的那些物理参数。在另一个实施方式中，“治疗”或“医治”是指在身体上（例如，可辨别的症状的稳定）、生理上（例如，身体参数的稳定）或在这两方面调节疾病或病症。除非在本文中明确描述，否则用于评估疾病的治疗和/或预防的方法在本领域中通常是已知的。

15 “受试者”包括任何人或非人动物。术语“非人动物”包括所有脊椎动物，例如哺乳动物和非哺乳动物，诸如非人灵长类动物、绵羊、狗、猫、马、牛、鸡、两栖动物、爬行动物等。如本文中所用，术语“cyno”或“食蟹猴”是指食蟹猴。

“联合”一种或多种其它治疗剂的施用包括同时(共同)施用和任意
20 意次序的连续施用。

“治疗有效量”、“治疗有效剂量”和“有效量”是指本发明的 CLDN-18.2 抗体或其抗原结合片段当单独或与其它治疗药物组合给予细胞、组织或受试者时，有效预防或改善一种或多种疾病或病况的症状或该疾病或病况的发展的量。治疗有效剂量还指足以导致症状改善的抗体或其抗原结合片段的量，例如治疗、治愈、预防或改善
25 相关医学病况或者提高这类病况的治疗、治愈、预防或改善的速度的量。当对个体施用单独给予的活性成分时，治疗有效剂量仅是指该成分。当组合施用时，治疗有效剂量是指引起治疗效果的活性成分的综合量，不论是组合、依次给予还是同时给予。治疗剂的有

效量将导致诊断标准或参数提高至少 10%；通常至少 20%；优选至少约 30%；更优选至少 40%，最优选至少 50%。

“癌症”和“癌性”指或描述哺乳动物中特征通常为细胞生长不受调控的生理疾患。此定义中包括良性和恶性癌症以及休眠肿瘤或微转移。癌症的例子包括但不限于癌，淋巴瘤，母细胞瘤，肉瘤，和白血病。此类癌症的更具体例子包括鳞状细胞癌，肺癌(包括小细胞肺癌，非小细胞肺癌，肺的腺癌，和肺的鳞癌)，腹膜癌，肝细胞癌，胃的癌或胃癌(包括胃肠癌)，胰腺癌，成胶质细胞瘤，宫颈癌，卵巢癌，肝癌，膀胱癌，肝瘤(hepatoma)，乳腺癌，结肠癌，结肠直肠癌，子宫内膜癌或子宫癌，唾液腺癌，肾癌或肾的癌，肝癌，前列腺癌，外阴癌，甲状腺癌，肝的癌，及各种类型的头和颈癌，以及 B 细胞淋巴瘤(包括低级/滤泡性非何杰金氏淋巴瘤(NHL)，小淋巴细胞性(SL)NHL，中级/滤泡性 NHL，中级弥漫性 NHL，高级成免疫细胞性 NHL，高级成淋巴细胞性 NHL，高级小无核裂细胞性 NHL，贮积病 (bulky disease) NHL，套细胞淋巴瘤，AIDS 相关淋巴瘤，和瓦尔登斯特伦氏 (Waldenstrom) 巨球蛋白血症)，慢性淋巴细胞性白血病(CLL)，急性成淋巴细胞性白血病(ALL)，毛细胞性白血病，慢性成髓细胞性白血病，和移植后淋巴增殖性病症 (PTLD)，以及与癭癌病 (phakomatoses)，水肿(诸如与脑瘤有关的)和梅格斯氏 (Meigs) 综合征有关的异常血管增殖。

抗 CLDN-18.2 抗体

在一个方面，本发明提供了抗 CLDN-18.2 抗体或其抗原结合片段。术语“抗 CLDN-18.2 抗体”、“抗 CLDN-18.2”、“CLDN-18.2 抗体”或“结合 CLDN-18.2 的抗体”是指能够以足够的亲合力结合 CLDN-18.2 蛋白或其片段以致所述抗体可以用作靶向 CLDN-18.2 中的诊断剂和/或治疗剂。

可采用用于产生抗体的任何合适方法来产生本发明的抗体。任何合适形式的 CLDN-18.2 都可用作产生抗体的免疫原(抗原)。通

过举例而非限制，任何 CLDN-18.2 变体或其片段都可用作免疫原。在一些实施方式中，产生鼠源的单克隆抗人 CLDN-18.2 抗体的杂交瘤细胞可通过本领域公知的方法产生。来源于啮齿动物（如小鼠）的抗体在体内用作治疗药物时可能引起不需要的抗体免疫原性，重复使用导致人体产生针对治疗性抗体的免疫应答，这类免疫应答至少导致丧失治疗功效，而严重的则导致潜在致死过敏反应。降低啮齿动物抗体的免疫原性的一种方法包括嵌合抗体的产生，其中将小鼠可变区与人恒定区融合（Liu 等（1987）*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84:3439-43）。然而，嵌合抗体中的完整啮齿动物可变区的保留仍可能在患者中引起有害的免疫原性。将啮齿动物可变结构域的互补决定区（CDR）环移植到人构架上（即人源化）已被用于进一步将啮齿动物序列减至最低（Jones 等（1986）*Nature* 321 :522；Verhoeyen 等（1988）*Science* 239:1534）。

在一些实施方式中，本发明的嵌合或人源化抗体可基于所制备的鼠单克隆杂交瘤抗体的序列来制备。编码重链和轻链免疫球蛋白的 DNA 可以从目标鼠杂交瘤中获得，并且使用标准分子生物学技术进行工程改造以包含非鼠（例如人）免疫球蛋白序列。

在一些实施方式中，本发明所述的嵌合 CLDN-18.2 抗体，可使用本领域已知的方法将杂交瘤来源的免疫球蛋白重链和轻链可变区与人 IgG 恒定区有效连接（参见例如属于 Cabilly 等人的美国专利 No.4,816,567），获得嵌合型重链和嵌合型轻链来制备。在一些实施方式中，本发明的嵌合抗体包含的恒定区可选自任何人 IgG 亚型，如 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4，优选 IgG4。

在一些实施方式中，本发明的嵌合 CLDN-18.2 抗体可由嵌合型轻链与嵌合型重链表达质粒“混合和匹配”转染表达细胞获得，此类“混合和匹配”的抗体的 CLDN-18.2 结合可使用上述结合测定和其它常规结合测定（例如，ELISA）来进行测试。

本发明的所述抗体的可变区 CDR 的精确氨基酸序列边界可使用许多公知的方案的任何方案来确定，包括基于抗体的三维结构和

CDR 环的拓扑学的 Chothia(Chothia 等人,(1989)Nature 342:877-883; Al-Lazikani 等人,“Standard conformations for the canonical structures of immunoglobulins”,Journal of Molecular Biology,273,927-948(1997)) 基于抗体序列可变性的 Kabat(Kabat 等人,Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第 4 版, U.S. Department of Health and Human Services,National Institutes of Health(1987)), AbM(University of Bath), Contact(University College London) , 国际 ImMunoGeneTics database(IMG) (1999 Nucleic Acids Research,27,209-212), 以及基于利用大量晶体结构的近邻传播聚类(affinity propagation clustering)的 North CDR 定义。本发明抗体的 CDR 可以由本领域的技术人员根据本领域的任何方案(例如不同的指派系统或组合)确定边界。

应该注意, 基于不同的指派系统获得的同一抗体的可变区的 CDR 的边界可能有所差异。即不同指派系统下定义的同一抗体可变区的 CDR 序列有所不同。因此, 在涉及用本发明定义的具体 CDR 序列限定抗体时, 所述抗体的范围还涵盖了这样的抗体, 其可变区序列包含所述的具体 CDR 序列,但是由于应用了不同的方案(例如不同的指派系统或组合)而导致其所声称的 CDR 边界与本发明所定义的具体 CDR 边界不同。

具有不同特异性(即, 针对不同抗原的不同结合位点)的抗体具有不同的 CDR。然而, 尽管 CDR 在抗体与抗体之间是不同的, 但是 CDR 内只有有限数量的氨基酸位置直接参与抗原结合。使用 Kabat,Chothia、AbM、Contact 和 North 方法中的至少两种, 可以确定最小重叠区域, 从而提供用于抗原结合的“最小结合单位”。最小结合单位可以是 CDR 的一个子部分。正如本领域技术人员明了, 通过抗体的结构和蛋白折叠, 可以确定 CDR 序列其余部分的残基。因此, 本发明也考虑本文所给出的任何 CDR 的变体。例如, 在一个 CDR 的变体中, 最小结合单位的氨基酸残基可以保持不变, 而根据 Kabat 或 Chothia 定义的其余 CDR 残基可以被保守氨基酸残基替代。

本发明所述的人源化抗体, 可以使用本领域已知的方法将鼠源

CDR 区插入人种系框架区。参见 Winter 等人的美国专利 No. 5,225,539 及 Queen 等人的美国专利 No. 5,530,101; 5,585,089; 5,693,762 和 6,180,370。

在一些实施方式中，氨基酸变化包括氨基酸缺失、插入或置换。

- 5 在一些实施方式中，本发明的抗 CLDN-18.2 抗体或其抗原结合片段包括具有已通过氨基酸缺失、插入或置换突变的，但仍与上述抗体（特别地在上述序列中描绘的 CDR 区中）有至少约 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 同一性的氨基酸序列的那些抗体。在一些实施方式中，本发明的抗体与具体序列中
- 10 描绘的 CDR 区相比较时，在 CDR 区中已通过氨基酸缺失、插入或置换的氨基酸突变不超过 1、2、3、4 或 5 个。

- 在一些实施方式中，编码本发明抗体的多核苷酸包括已通过核苷酸缺失、插入或置换突变的，但仍然与上文中所述的序列中描绘的 CDR 对应编码区具有至少约 60、70、80、90、95 或 100% 同一性的
- 15 的多核苷酸。

在一些实施方式中，可在本文中所提供抗体的 Fc 区中引入一个或多个氨基酸修饰，以此产生 Fc 区变体。Fc 区变体可包含在一或多个氨基酸位置处包含氨基酸修饰（例如置换）的人 Fc 区序列（例如人 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 Fc 区）。

- 20 在一些实施方式中，可能需要产生经半胱氨酸工程改造的抗体，例如“硫代 MAb”，其中抗体的一或多个残基经半胱氨酸残基置换。

- 在一些实施方式中，可以对抗体进行改变以增加或降低其糖基化程度和/或改变其糖基化模式。对抗体的糖基化位点的添加或缺失可通过改变氨基酸序列以便产生或移除一或多个糖基化位点而方便
- 25 地实现。举例而言，可实施一或多种氨基酸取代以消除或多个糖基化位点，由此消除该位点处的糖基化。可制备具有改变类型的糖基化的抗体，例如具有减小量的岩藻糖基残基的低或无岩藻糖化抗体或具有增加的等分 GlcNac 结构的抗体。这类改变的糖基化模式已显示可增加抗体的 ADCC 能力。

在一些优选实施方式中，本发明提供这样的抗体，该抗体是低或无岩藻糖基化的，从而可以显著地增加抗体与效应细胞上表达受体的结合亲和力，由此导致抗体具有增强的抗体依赖性细胞介导的细胞毒性（ADCC）活性。可以通过 MALDI-TOF 质谱法测量，相对于与 Asn 297 连接的所有糖结构（例如复合型、杂合型及高甘露糖型结构）的总和，计算在 Asn297 处糖链内的岩藻糖的平均量，由此确定岩藻糖的量，例如 WO2008/077546 中所述。Asn297 是指位于 Fc 区中大约位置 297 处（Fc 区残基的 EU 编号）的天冬氨酸残基；然而，由于抗体中微小的序列变化，Asn297 也可能位于位置 297 上游或下游约±3 个氨基酸位置，即位置 294 与 300 之间。参见例如 US2003/0157108; US2004/0093621。可以在能够产生去岩藻糖基化或低岩藻糖基化抗体的细胞系中产生此类抗体变体。此类细胞的实例包括蛋白质岩藻糖基化缺陷的 Lecl3 CHO 细胞（Ripka, J. 等, Arch.Biochem.Biophys. 249 (1986): 533-545; US2003/0157108。在一些实施方式中，使用岩藻糖苷酶切除抗体的岩藻糖残基。在一些实施方式中，使用糖型调节剂来控制抗体的岩藻糖残基。糖型调节剂可以是 CDFS01，可商购自上海奥浦迈生物科技有限公司。去岩藻糖基化可通过本领域公知的常规方法进行。

抗体的岩藻糖基化的水平可在结构上加以界定。如本文所述，“非岩藻糖基化”或“无岩藻糖基化”是指在抗体中，岩藻糖的含量低于 5%，例如约 0%、低于 1%、低于 2%、低于 3%、低于 4%。术语“低岩藻糖基化”是指在抗体中，岩藻糖的含量是约为大于等于 5%且低于 30%；例如抗体中岩藻糖的含量约为 5%-10%、10%-15%、15%-20%、20%-25%、25%-30%、10%-20%、20%-30%、10%-30%。术语“低岩藻糖基化或无岩藻糖基化”是指在抗体中岩藻糖的含量低于 30%。

在一些实施方式中，本文中所提供的抗体可进一步经修饰为含有本领域中已知且轻易获得的其他非蛋白质部分。适合抗体衍生作用的部分包括，但不限于，水溶性聚合物。水溶性聚合物的非限制

性实例包括,但不限于,聚乙二醇(PEG)、乙二醇/丙二醇共聚物、羧甲基纤维素、葡聚糖、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮、聚-1,3-二烷、聚-1,3,6-三烷、乙烯/马来酸酐共聚物、聚氨基酸(均聚物或无规共聚物)、及葡聚糖或聚(n-乙烯基吡咯烷酮)聚乙二醇、丙二醇均聚物、
5 聚环氧丙烷/氧化乙烯共聚物、聚氧乙基化多元醇(例如甘油)、聚乙烯醇、及其混合物。

抗体表达

在又一个方面,本发明提供了一种多核苷酸,其编码如本文所
10 述的抗 CLDN-18.2 抗体或其抗原结合片段。所述多核苷酸可以包含编码抗体的轻链可变区和/或重链可变区的氨基酸序列的多核苷酸,或包含编码抗体的轻链和/或重链的氨基酸序列的多核苷酸。

在又一个方面,本发明提供了一种表达载体,其包含如本文所述的多核苷酸,优选地,所述载体为真核表达载体。在一些实施方式中,如本文所述的多核苷酸包含在一个或多个表达载体中。
15

在又一个方面,本发明提供了一种宿主细胞,其包含如本文所述的多核苷酸或如本文所述的表达载体,优选地,所述宿主细胞是真核细胞,更优选哺乳动物细胞。

在又一个方面,本发明提供了一种用于制备如本文所述的抗
20 CLDN-18.2 抗体或其抗原结合片段的方法,所述方法包括在适合于所述抗体或其抗原结合片段表达的条件下在本文所述的宿主细胞中表达所述抗体或其抗原结合片段,并从所述宿主细胞回收所表达的抗体或其抗原结合片段。

本发明提供用于表达本发明的重组抗体的哺乳动物宿主细胞,
25 包括可获自美国典型培养物保藏中心(ATCC)的许多永生化细胞系。这些尤其包括中国仓鼠卵巢(CHO)细胞、NS0、SP2/0 细胞、HeLa 细胞、幼仓鼠肾(BHK)细胞、猴肾细胞(COS)、人肝细胞癌细胞、A549 细胞、293T 细胞和许多其它细胞系。哺乳动物宿主细胞包括人、小鼠、大鼠、狗、猴、猪、山羊、牛、马和仓鼠细胞。通过测定哪

种细胞系具有高表达水平来选择特别优选的细胞系。

在一个实施方式中，本发明提供制备抗 CLDN-18.2 抗体的方法，其中所述方法包括，将表达载体导入哺乳动物宿主细胞中时，通过将宿主细胞培养足够的一段时间，以允许抗体在宿主细胞中表达，
5 或者更优选抗体分泌到宿主细胞生长的培养基中，来产生抗体。可采用标准蛋白质纯化方法从培养基中回收抗体。

很可能由不同细胞系表达或在转基因动物中表达的抗体彼此具有不同的糖基化。然而，由本文提供的核酸分子编码的或包含本文提供的氨基酸序列的所有抗体是本发明的组成部分，而不论抗体的
10 糖基化如何。同样，在某些实施方式中，非岩藻糖基化抗体是有利的，因为它们通常在体外和体内具有比其岩藻糖基化对应物更强大的功效，并且不可能是免疫原性的，因为它们的糖结构是天然人血清 IgG 的正常组分。

15 药物组合物和药物制剂

在又一个方面，本发明提供了一种药物组合物，其包含如本文所述的抗 CLDN-18.2 抗体或其抗原结合片段、本文所述的多核苷酸、本文所述的表达载体、本文所述的宿主细胞，和药学上可接受的载体或赋形剂。

20 应理解，本发明提供的抗 CLDN-18.2 抗体或其药物组合物可以整合制剂中合适的运载体、赋形剂和其他试剂以联合给药，从而提供改善的转移、递送、耐受等。

术语“药物组合物”指这样的制剂，其允许包含在其中的活性成分的生物学活性有效的形式存在，并且不包含对施用所述制剂的受
25 试者具有不可接受的毒性的另外的成分。

可以通过将具有所需纯度的本发明的抗 CLDN-18.2 抗体与一种或多种任选的药用辅料(Remington's Pharmaceutical Sciences, 第 16 版, Osol, A.编辑(1980))混合来制备包含本文所述的抗 CLDN-18.2 抗体的药物制剂，优选地以水溶液或冻干制剂的形式。

本发明的药物组合物或制剂还可以包含一种或多种其它活性成分，所述活性成分是被治疗的特定适应证所需的，优选具有不会不利地影响彼此的互补活性的那些活性成分。在一些实施方式中，其它的活性成分为化疗剂、免疫检查点抑制剂、生长抑制剂、抗生素或已知的各种抗肿瘤或抗癌剂，所述活性成分以对于目的用途有效的量合适地组合存在。在一些实施方式中，本发明的药物组合物还包含编码抗 CLDN-18.2 抗体的多核苷酸的组合物。

在又一个方面，本发明提供了一种药物组合，其包含如本文所述的抗体或其抗原结合片段、本文所述的多核苷酸、本文所述的表达载体、本文所述的宿主细胞、或本文所述的药物组合物，以及一种或多种另外的治疗剂。

在又一个方面，本发明提供了一种试剂盒，其包括如本文所述的抗体或其抗原结合片段、本文所述的多核苷酸、本文所述的表达载体、本文所述的宿主细胞、或本文所述的药物组合物，优选其进一步包括给药装置。

医药用途

在又一个方面，本发明提供了如本文所述的抗体或其抗原结合片段、本文所述的多核苷酸、本文所述的表达载体、本文所述的宿主细胞、或本文所述的药物组合物在制备用于治疗和/或预防 CLDN-18.2 介导的疾病或病症的药物中的用途，优选地，所述疾病或病症为癌症。

在又一个方面，本发明提供了如本文所述的抗体或其抗原结合片段、本文所述的多核苷酸、本文所述的表达载体、本文所述的宿主细胞、或本文所述的药物组合物，其用于治疗 and/或预防 CLDN-18.2 介导的疾病或病症，优选地，所述疾病或病症为癌症。

在又一个方面，本发明提供了一种治疗和/或预防 CLDN-18.2 介导的疾病或病症的方法，其包括向有需要的受试者施用如本文所述的抗体或其抗原结合片段、本文所述的多核苷酸、本文所述的表达

载体、本文所述的宿主细胞、或本文所述的药物组合物，优选地，所述疾病或病症为癌症。

在一些实施方式中，所述癌症选自胃癌、食道癌、胃食管癌、胰腺癌、胆管癌、肺癌、卵巢癌、结肠癌、肝癌、头颈癌、胆囊癌、
5 肠癌和膀胱癌药物。

在一些实施方式中，本发明给药方式包括但不限于口服、静脉内、皮下、肌内、动脉内、关节内(例如在关节炎关节中)、通过吸入、气雾剂递送或肿瘤内给予等。

在一些实施方式中，本发明提供了向受试者联合施用治疗有效
10 量的一种或多种疗法(例如治疗方式和/或其它治疗剂)。在一些实施方式中，所述疗法包括手术治疗和/或放射疗法。

在一些实施方式中，本发明提供的方法或用途还包括向个体施用一种或多种疗法(例如治疗方式和/或其它治疗剂)。可以单独或与疗法中的其它治疗剂组合使用本发明的抗体。例如，可以与至少一
15 种另外的治疗剂共施用。例如，PD-1 抗体、PD-L1 抗体、LAG-3 抗体和/或 CTLA-4 抗体。

在一个实施方式中，本发明的癌症疾病治疗方法还包括施用 CLDN-18.2 表达稳定或增加剂。CLDN-18.2 的表达优选在癌细胞的细胞表面。CLDN-18.2 表达稳定或增加剂可以是奥沙利铂和/或
20 5-FU。

用于诊断和检测的方法

在又一个方面，本发明提供了一种使用如本文所述的抗体或其抗原结合片段检测 CLDN-18.2 在样品中的存在的方法。术语“检测”
25 用于本文中时，包括定量或定性检测。在一些实施方式中，所述样品是生物样品。在某些实施方式中，生物样品是血、血清或生物来源的其他液体样品。在某些实施方式中，生物样品包含细胞或组织。

本发明包括所叙述特定实施方式的所有组合。本发明的进一步

实施方式及可应用性的完整范畴将自下文所提供的详细描述变得显而易见。然而，应理解，尽管详细描述及特定实施例指示本发明的优选实施方式，但仅以说明的方式提供这些描述及实施例，因为本发明的精神及范畴内的各种改变及修改将自此详细描述对熟悉此项技术者变得显而易见。出于所有目的，包括引文在内的本文所引用的所有公开物、专利及专利申请将以引用的方式全部并入本文。

实施例

提供以下实施例以证明并进一步解释本发明的一些优选的实施方式和方面，不应被解释为限制其范围。

实施例 1、用于抗 CLDN-18.2 抗体制备的重组蛋白人 CLDN-18.2 (hCLDN-18.2) 的制备

从义翘神州购买含有人 CLDN-18 基因 cDNA 序列的质粒 HG20047-U，利用正向引物 5'-GTACgctagccaccTgaagagecggatccgctcttctTGCCCTGAAATGCATCCGCATTGGCAGC -3' 和反向引物 5'-GATCgcggccgcctgcaggTTACACATAGTCGTGCTTGGAAGGATAAG-3'，PCR 扩增人 CLDN-18 部分基因片段。扩增片段经 NheI 和 SbfI 双酶切后，克隆到真核表达质粒系统 (HXP) 中，得到构建体 HXP-CLDN18P。送南京金斯瑞基因合成 hCLDN-18.2 部分基因序列，通过 BSPQI 酶切将基因序列克隆到 HXP-CLDN18P 中，最终得到构建体 HXP-hCLDN-18.2。

实施例 2、小鼠杂交瘤细胞的制备

2.1、免疫动物

将实施例 1 获得的 HXP-hCLDN-18.2 与等量免疫佐剂 (福氏佐剂) 混合，取 5 只 8 周大雌性 BALB/c 小鼠进行肌肉注射免疫。初次免疫每只小鼠使用 100 μg DNA 质粒。之后每隔 2 周或 3 周进行加强

免疫，共进行5次，每次每只小鼠使用50 μg DNA质粒。最后一次加强免疫中，叠加使用过表达CLDN-18.2的稳定CHO细胞，每只小鼠腹腔注射1e+7细胞。

2.2、细胞融合

- 5 在最后一针加强免疫4天后，取小鼠腹股沟淋巴结、腭窝淋巴结和脾脏，在DMEM培养基中碾磨后取富含淋巴细胞的悬浮液，按常规电转方法将其与小鼠骨髓瘤细胞Sp2/0(ATCC)融合。将融合产物在含1:50 HAT(次黄嘌呤、氨基蝶呤和胸腺嘧啶核苷)的DMEM完全培养基中培养5天以筛选成功融合的细胞(即杂交瘤细胞)。
- 10 然后换成含1:50 HT(次黄嘌呤和胸腺嘧啶核苷)的DMEM完全培养基直至筛选结束。

DMEM完全培养基配比是：15%FBS(胎牛血清)+1:50 L-谷氨酰胺+100U/mL青链霉素+1:100 OPI(草酰乙酸、丙酮酸和胰岛素)，培养箱条件是8% CO₂，37°C。

15

实施例3、小鼠杂交瘤细胞的筛选和所得抗CLDN-18.2鼠源抗体的性能检测

- 在3840株不同多克隆杂交瘤细胞株中，根据细胞水平的结合反应，筛选出可结合人CLDN-18.2蛋白且不结合人CLDN18.1蛋白的抗体的杂交瘤细胞株。经亚克隆得到单克隆杂交瘤细胞株之后，根据体外ADCC和CDC进行功能性筛选，最终得到7株单克隆杂交瘤细胞株，对应表达的抗体1H17、2B19、4G3、9J24、9O24、10L8和10N10特异性结合人CLDN-18.2重组蛋白且不结合人CLDN-18.1重组蛋白，并有强ADCC和CDC活性。
- 20

25

实施例4、抗CLDN-18.2鼠源抗体的可变区序列的测定(根据Kabat或IMGT表示)

用基于简并引物PCR的方法，测定抗CLDN-18.2鼠源抗体的可变区对应的DNA编码序列。培养候选杂交瘤细胞，1000 rpm离心收

集细胞，并以 Trizol 提取总 RNA。以此为模板合成第一链 cDNA，之后以第一链 cDNA 作为后续模板，PCR 扩增对应的可变区 DNA 编码序列。扩增反应中所使用的引物序列与抗体的可变区第一框架区和恒定区互补(Larrick, J.W.等, 1990, Scand. J. Immunol., 32, 121-128
5 和 Coloma, J.J.等, (1991)BioTechniques, 11, 152-156)。在 50 μ l 反应体系中，分别加入 cDNA 1 μ l，10 $\times$ PCR 缓冲液 5 μ l，上游及下游引物各 1 μ l (25 pmol)，dNTP 1 μ l，25 mmol PL MgCl₂ 1 μ l，H₂O 39 μ l，95 $^{\circ}$ C 预变性 10 min，加 Taq 酶 1 μ l，进入温度循环，进行 PCR 扩增。反应条件为 94 $^{\circ}$ C 变性 1 min，58 $^{\circ}$ C 退火 1 min，72 $^{\circ}$ C 延伸 15 s，共 32
10 个循环，然后 72 $^{\circ}$ C 保温 10 min。回收并纯化 PCR 产物。对扩增产物测序，得到抗 CLDN-18.2 鼠源抗体的重链可变区和轻链可变区氨基酸序列。

用 NCBI Ig-Blast(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/igblast/>)在种系和重排 Ig 可变区序列数据库中搜索共有序列。基于 Kabat (Wu, T. T 及 Kabat, E.A. 1970 J. Exp. Med., 132:211-250) 及 IMGT 系统 (Lefranc M.-P.等, 1999 Nucleic Acids Research, 27,209-212)，藉由序列批注及藉由基于因特网的序列分析 (http://www.Imgt.org/IMGT_vquest/share/textes/index.html 与 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/igblast/>)确定互补决定区 (CDR)氨基酸序
20 列。

抗 CLDN-18.2 鼠源抗体的轻链和重链可变区及 CDR 的氨基酸序列如下表所示：

表 1. 抗 CLDN-18.2 鼠源抗体的 CDR 和可变区氨基酸序列 (KABAT 方案)

鼠源抗体	1H17	1H17-2	2B19	4G3	9J24	9O24	10L8	10N10
HCDR1	SEQ ID NO:1	SEQ ID NO:1	SEQ ID NO:10	SEQ ID NO:16	SEQ ID NO:22	SEQ ID NO:28	SEQ ID NO:34	SEQ ID NO:37
HCDR2	SEQ ID NO:2	SEQ ID NO:2	SEQ ID NO:11	SEQ ID NO:17	SEQ ID NO:23	SEQ ID NO:29	SEQ ID NO:35	SEQ ID NO:38
HCDR3	SEQ ID	SEQ ID	SEQ ID	SEQ ID	SEQ ID	SEQ ID	SEQ ID	SEQ ID

	NO:3	NO:3	NO:12	NO:18	NO:24	NO:30	NO:36	NO:39
LCDR1	SEQ ID NO:4	SEQ ID NO:7	SEQ ID NO:13	SEQ ID NO:19	SEQ ID NO:25	SEQ ID NO:31	SEQ ID NO:25	SEQ ID NO:31
LCDR2	SEQ ID NO:5	SEQ ID NO:8	SEQ ID NO:14	SEQ ID NO:20	SEQ ID NO:26	SEQ ID NO:32	SEQ ID NO:26	SEQ ID NO:32
LCDR3	SEQ ID NO:6	SEQ ID NO:9	SEQ ID NO:15	SEQ ID NO:21	SEQ ID NO:27	SEQ ID NO:33	SEQ ID NO:27	SEQ ID NO:33
VH	SEQ ID NO:42	SEQ ID NO:42	SEQ ID NO:45	SEQ ID NO:47	SEQ ID NO:49	SEQ ID NO:51	SEQ ID NO:53	SEQ ID NO:54
VL	SEQ ID NO:43	SEQ ID NO:44	SEQ ID NO:46	SEQ ID NO:48	SEQ ID NO:50	SEQ ID NO:52	SEQ ID NO:50	SEQ ID NO:52

实施例 5、抗 CLDN-18.2 嵌合抗体的构建

考虑杂交瘤细胞表达抗体的表达量、活性、类型等，选择抗 CLDN-18.2 鼠源抗体 1H17、1H17-2、2B19、4G3、9J24 和 9O24 继续向下进行。

从人血细胞（来自北京血液研究所）中克隆重链恒定区 Fc 和轻链恒定区 κ 的编码序列，引入 pCDNA3.1 质粒中。前述抗 CLDN-18.2 鼠源抗体的重链和轻链可变区编码序列由 Genscript 公司合成。各种抗 CLDN-18.2 鼠源抗体的重链可变区编码序列和轻链可变区编码序列经 Bspq I 酶切后，采用如表 2 所示的各种组合，引入已经引入恒定区编码序列的 pCDNA3.1 质粒中，并经测序确定正确克隆。将各种嵌合型重链和轻链表达质粒混合配对转染表达细胞，获得 5 种抗 CLDN-18.2 嵌合抗体，其编号和相应可变区氨基酸序列具体见表 2。后续的实验材料均由此系列质粒转染细胞后提取获得。

表 2. 抗 CLDN-18.2 嵌合抗体的编号及其重链和轻链可变区的来源

嵌合抗体编号	VH	VL
Chi-JS012-2	1H17 VH	1H17-2 VL
Chi-JS012-9	2B19 VH	2B19 VL
Chi-JS012-10	2B19 VH	4G3 VL
Chi-JS012-21	9J24 VH	2B19 VL
Chi-JS012-27	9O24 VH	2B19 VL

实施例 6、嵌合抗体的检测

6.1 抗体结合亲和力：

将过表达人 CLDN-18.2 的胃癌细胞株 NUGC4-CLDN-18.2 细胞

分别与梯度稀释成系列浓度的前述抗 CLDN-18.2 嵌合抗体 Chi-JS012-2 、 Chi-JS012-9 、 Chi-JS012-10 、 Chi-JS012-21 和 Chi-JS012-27 在 4℃ 孵育 30 min，然后洗涤并与荧光标记的二抗一起孵育。最后用 BD CantoII流式细胞仪检测荧光强度。荧光信号越
5 强，表示抗体与靶标亲和力越高。通过 GraphPad 拟合抗体剂量依赖性的结合曲线（图 1）并计算 EC₅₀（表 3），阳性对照和阴性对照分别是 IMAB362 和抗 KLH hu-IgG1 抗体。

如图 1 和表 3 所示，Chi-JS012-2、Chi-JS012-9、Chi-JS012-10、Chi-JS012-21 和 Chi-JS012-27 均能够结合在胃癌细胞株
10 NUGC4-CLDN-18.2 细胞表面上高表达的人 CLDN-18.2。

表 3. 抗 CLDN-18.2 嵌合抗体的细胞水平亲和力（EC₅₀）

嵌合抗体	EC ₅₀ （ng/mL）
Chi-JS012-2	4023
Chi-JS012-9	3218
Chi-JS012-10	3195
Chi-JS012-21	2373
Chi-JS012-27	2920

6.2 抗体依赖的细胞介导细胞毒性作用(ADCC):

将梯度稀释成系列浓度的前述抗 CLDN-18.2 嵌合抗体
15 Chi-JS012-2 、 Chi-JS012-9 、 Chi-JS012-10 、 Chi-JS012-21 和 Chi-JS012-27 分别与过表达人 CLDN-18.2 的靶细胞 CHO-CLDN-18.2（50000 个细胞），以及表达 NFAT-Luc 和 FcγRIIIaR 的效应细胞 Jurkat ADCC（100000 个细胞）在 37℃ 共孵育 6 h，然后加入底物 one-glo 并用酶标仪检测荧光素酶信号。荧光读值越高，表示 ADCC
20 效应越强。通过 GraphPad 拟合抗体剂量依赖性的 ADCC 效应曲线(图 2a 和 2b)，阳性对照和阴性对照分别是 IMAB362 和抗 KLH hu-IgG1 抗体。

如图 2a 和 2b 所示，Chi-JS012-2、Chi-JS012-9、Chi-JS012-10、Chi-JS012-21 和 Chi-JS012-27 介导 ADCC 效应的 EC₅₀ 值分别为 56.08
25 ng/mL、43.6 ng/mL、49.51 ng/mL、63.09 ng/mL 和 43.21 ng/mL，与

阳性对照 IMAB362 (图 2a: 35.98; 图 2b: 34.41 ng/mL) 相当。

6.3 补体依赖性细胞毒性(CDC):

将过表达人 CLDN-18.2 的靶细胞 CHO-CLDN-18.2 细胞(100000
5 个细胞) 分别与梯度稀释成系列浓度的前述抗 CLDN-18.2 嵌合抗体
Chi-JS012-2、Chi-JS012-9、Chi-JS012-10 和 Chi-JS012-27 混合, 加
入十倍稀释的补体血清 (Quidel, cat# A113), 然后在 37°C 孵育 1 h。
最后用 PBS 重悬细胞并加入 PI 染料, 于 4°C 孵育 5 min 后用 BD
CantoII 流式细胞仪检测荧光强度。通过 GraphPad 拟合抗体剂量依赖
10 性的补体杀伤曲线 (图 3)。阳性对照和阴性对照分别是 IMAB362
和抗 KLH hu-IgG1 抗体。

如图 3 所示, Chi-JS012-2、Chi-JS012-9、Chi-JS012-10 和
Chi-JS012-27 介导 CDC 效应的 EC₅₀ 值分别为 461.2 ng/mL, 316
ng/mL, 358.3 ng/mL 和 264.5 ng/mL, 与阳性对照 IMAB362 (353.6
15 ng/mL) 相当。

实施例 7、抗体可变区的人源化改造

出于降低抗体的免疫原性等目的, 对抗体可变区进行人源化改
造优化, 优化结果如下:

20 HCDR2: CISSGSGTIYYADTVKG (SEQ ID NO: 2) 优化为
SISSGSGTIYYADSVKG (SEQ ID NO: 41) 或
YISSGSGTIYYADSVKG (SEQ ID NO: 72);

HCDR2: WINTYTGESTYADDFKG (SEQ ID NO: 11) 优化为
WINTYTGESTYADGFTG (SEQ ID NO: 40),

25 HCDR2: TISGGDSYTYYPDSVRG (SEQ ID NO: 29) 优化为
TISGGDSYTYYPDSVKG (SEQ ID NO: 74);

HCDR3: AYYGNGFSF (SEQ ID NO: 3) 优化为 AYYGNAFSF
(SEQ ID NO: 73);

HCDR3: SYNGNSLPY (SEQ ID NO: 30) 优化为 SYNANSLPY

(SEQ ID NO: 75) ;

从而得到了一系列人源化抗 CLDN-18.2 抗体。

人源化抗 CLDN-18.2 抗体 JS012-Chi9-hu7、JS012-Chi9-hu7-v2、JS012-Chi27-hu3-v2、JS012-Chi27-hu6-v3-2 和 JS012-Chi2-hu2-v3-2 进行后续实验。上述抗体的 CDR/可变区序列如表 4-1 和 4-2 所示，重/轻链的氨基酸序列和核苷酸编码序列如表 5 所示。

人源化抗 CLDN-18.2 抗体的重链和轻链可变区编码序列由 Genscript 公司合成，各种合成的人源化抗 CLDN-18.2 抗体的重链可变区编码序列和轻链可变区编码序列经 Bspq I 酶切后引入已经含有恒定区编码序列的 pCDNA3.1 质粒中，并经测序确定正确克隆。将各种人源化型重链和轻链表达质粒混合配对转染表达细胞（CHOK1 18，苏州君盟），表达的抗体通过离心回收后，按常规方法进行抗体纯化，得到表 4-1 及 4-2 中人源化抗 CLDN-18.2 抗体。

其中，人源化抗体 JS012-Chi2-hu2-v3-2 经过在细胞培养中添加糖型调节剂（CDFS01，上海奥浦迈生物科技有限公司）进行工艺优化，得到去岩藻糖化抗体 JS012-Chi2-hu2-v3-2a。抗体 JS012-Chi2-hu2-v3-2a 为岩藻糖化低于 30%的人源化抗 CLDN-18.2 抗体。

表 4-1. 人源化抗 CLDN-18.2 抗体可变区和 CDR 序列（KABAT 方案）

人源化抗体	JS012-Chi9-hu7	JS012-Chi9-hu7-v2	JS012-Chi27-hu3-v2	JS012-Chi27-hu6-v3-2	JS012-Chi2-hu2-v3-2 / JS012-Chi2-hu2-v3-2a
HCDR1	SEQ ID NO:10	SEQ ID NO:10	SEQ ID NO:28	SEQ ID NO:28	SEQ ID NO:1
HCDR2	SEQ ID NO:40	SEQ ID NO:40	SEQ ID NO:29	SEQ ID NO:29	SEQ ID NO:41
HCDR3	SEQ ID NO:12	SEQ ID NO:12	SEQ ID NO:30	SEQ ID NO:30	SEQ ID NO:3
LCDR1	SEQ ID NO:13	SEQ ID NO:13	SEQ ID NO:13	SEQ ID NO:13	SEQ ID NO:7
LCDR2	SEQ ID NO:14	SEQ ID NO:14	SEQ ID NO:14	SEQ ID NO:14	SEQ ID NO:8
LCDR3	SEQ ID NO:15	SEQ ID NO:15	SEQ ID NO:15	SEQ ID NO:15	SEQ ID NO:9
VH	SEQ ID NO:55	SEQ ID NO:57	SEQ ID NO:58	SEQ ID NO:59	SEQ ID NO:60
VL	SEQ ID NO:56	SEQ ID NO:56	SEQ ID NO:56	SEQ ID NO:56	SEQ ID NO:61

表 4-2. 人源化抗 CLDN-18.2 抗体可变区和 CDR 序列（KABAT 方案）

人源化抗体	JS012-c hi2-hu2 7	JS012-c hi2-hu2 9	JS012-c hi2-hu1 0 V2	JS012-c hi9-hu2	JS012-c hi9-hu8 V2	JS012-c hi10-hu 9	JS012-c hi27-hu 36	JS012- Chi27-h u3-v2-2
HCDR1	SEQ ID NO:1	SEQ ID NO:1	SEQ ID NO:1	SEQ ID NO:10	SEQ ID NO:10	SEQ ID NO:10	SEQ ID NO:28	SEQ ID NO:28
HCDR2	SEQ ID NO:72	SEQ ID NO:72	SEQ ID NO:72	SEQ ID NO:40	SEQ ID NO:40	SEQ ID NO:40	SEQ ID NO:74	SEQ ID NO: 74
HCDR3	SEQ ID NO:73	SEQ ID NO:73	SEQ ID NO:3	SEQ ID NO:12	SEQ ID NO:12	SEQ ID NO:12	SEQ ID NO:75	SEQ ID NO:30
LCDR1	SEQ ID NO:7	SEQ ID NO:7	SEQ ID NO:7	SEQ ID NO:13	SEQ ID NO:13	SEQ ID NO:19	SEQ ID NO:13	SEQ ID NO:13
LCDR2	SEQ ID NO:8	SEQ ID NO:8	SEQ ID NO:8	SEQ ID NO:14	SEQ ID NO:14	SEQ ID NO:20	SEQ ID NO:14	SEQ ID NO:14
LCDR3	SEQ ID NO:9	SEQ ID NO:9	SEQ ID NO:9	SEQ ID NO:15	SEQ ID NO:15	SEQ ID NO:21	SEQ ID NO:15	SEQ ID NO:15
VH	SEQ ID NO:76	SEQ ID NO:76	SEQ ID NO:78	SEQ ID NO:79	SEQ ID NO:57	SEQ ID NO:55	SEQ ID NO:82	SEQ ID NO:83
VL	SEQ ID NO:61	SEQ ID NO:77	SEQ ID NO:61	SEQ ID NO:80	SEQ ID NO:56	SEQ ID NO:81	SEQ ID NO:56	SEQ ID NO:56
HC	SEQ ID NO:84	SEQ ID NO:86	SEQ ID NO:88	SEQ ID NO:90	SEQ ID NO:92	SEQ ID NO:94	SEQ ID NO:98	SEQ ID NO:100
LC	SEQ ID NO:85	SEQ ID NO:87	SEQ ID NO:89	SEQ ID NO:91	SEQ ID NO:93	SEQ ID NO:95	SEQ ID NO:99	SEQ ID NO:101

表 5. 人源化抗 CLDN-18.2 抗体的重链和轻链的氨基酸和核苷酸编码序列

人源化抗体	全长序列	氨基酸序列	核苷酸编码序列
JS012-Chi2-hu2-v3-2	HC	SEQ ID NO:64	SEQ ID NO:66
/			
JS012-Chi2-hu2-v3-2	LC	SEQ ID NO:65	SEQ ID NO:67
a			
JS012-Chi9-hu7	HC	SEQ ID NO:68	SEQ ID NO:70
	LC	SEQ ID NO:69	SEQ ID NO:71
JS012-Chi9-hu7-v2	HC	SEQ ID NO:96	
	LC	SEQ ID NO:97	

5 实施例 8、人源化抗 CLDN-18.2 抗体的检测

通过 FACS 检测抗体与细胞表面表达的 CLDN-18.2 结合的活性

来检测 5 种人源化抗 CLDN-18.2 抗体 JS012-Chi9-hu7、JS012-Chi9-hu7-v2、JS012-Chi27-hu3-v2、JS012-Chi27-hu6-v3-2 和 JS012-Chi2-hu2-v3-2 的结合活性。将 NUGC4-CLDN-18.2 细胞与梯度稀释的不同浓度的前述人源化抗 CLDN-18.2 抗体一起孵育，然后
5 洗涤并与荧光标记二抗一起孵育。通过 FACS 检测荧光信号；检测的荧光信号越强，则抗体亲和力越高，即靶标结合活性越高。用 GraphPad 拟合抗体结合曲线（图 4a、4b 和 4c），阳性对照和阴性对照分别是 IMAB362 和抗 KLH hu-IgG1 抗体。

如图 4a、4b 和 4c 所示，JS012-Chi9-hu7-v2、JS012-Chi9-hu7、
10 JS012-Chi27-hu3-v2、JS012-Chi2-hu2-v3-2 和 JS012-Chi27-hu6-v3-2 都能够结合在胃癌细胞株 NUGC4 细胞表面上高表达的人 CLDN-18.2，其中 JS012-Chi9-hu7-v2、JS012-Chi9-hu7、JS012-Chi27-hu3-v2 和 JS012-Chi2-hu2-v3-2 的 EC_{50} 与阳性对照相当。

15 实施例 9、人源化抗 CLDN-18.2 抗体的 ADCC

人源化抗 CLDN-18.2 抗体为人 IgG1 亚型，能够介导 ADCC 效应，抗体 Fc 端与 NK 细胞表面 Fc γ IIIaR 受体结合，激活 NK 细胞杀伤靶细胞。利用表达 Fc γ IIIaR 的 NFAT 通路荧光素酶系统，通过报告基因系统模拟体内 ADCC 效应。将人源化抗 CLDN-18.2 抗体与靶
20 细胞 CHO-CLDN-18.2 细胞以及 Jurkat ADCC 效应细胞共孵育，在加入底物 one-glo 后用酶标仪检测信号。用 GraphPad 分析数据，比较剂量依赖性的抗体 ADCC 效应（图 5a、5b 和 5c）。阳性对照和阴性对照分别是 IMAB362 和抗 KLH hu-IgG1 抗体。

如图 5a、5b 和 5c 所示，JS012-Chi9-hu7-v2、JS012-Chi9-hu7、
25 JS012-Chi27-hu3-v2、JS012-Chi2-hu2-v3-2 和 JS012-Chi27-hu6-v3-2 介导 ADCC 效应的 EC_{50} 值分别为 22.5 ng/mL，23.63 ng/mL，35.75 ng/mL，14.18 ng/mL 和 74.24 ng/mL，均明显优于阳性对照 IMAB362。

实施例 10、人源化抗 CLDN-18.2 抗体的 CDC

人源化抗 CLDN-18.2 抗体还可以介导 CDC 效应,通过形成攻膜复合物的方式杀伤靶细胞。补体血清 (1:10 稀释) 与人源化抗 CLDN-18.2 抗体以及靶细胞 CHO-CLDN-18.2 (100000 个细胞) 于 37°C 培养箱共孵育 1h, 通过碘化丙啶 (PI) 染色检测靶细胞存活杀伤情况, 计算相对杀伤率。人源化抗 CLDN-18.2 抗体的剂量依赖性 CDC 效应用相对杀伤率来反映 (图 6a、6b 和 6c)。阳性对照和阴性对照分别是 IMAB362 和抗 KLH hu-IgG1 抗体。

如图 6a、6b 和 6c 所示, JS012-Chi9-hu7-v2、JS012-Chi9-hu7、JS012-Chi27-hu3-v2、JS012-Chi2-hu2-v3-2 和 JS012-Chi27-hu6-v3-2 介导 CDC 效应的 EC_{50} 值分别为 134.2 ng/mL、86.04 ng/mL、168.9 ng/mL、166.5 ng/mL 和 714.9ng/mL, 其中 JS012-Chi9-hu7-v2、JS012-Chi9-hu7、JS012-Chi27-hu3-v2 和 JS012-Chi2-hu2-v3-2 明显优于阳性对照 IMAB362。

15 实施例 11: 人源化抗 CLDN-18.2 抗体对 M-NSG 小鼠移植人胃癌 MKN45 hClaudin18.2 Mixeno 肿瘤生长的抑制作用

1、测试目的

评价本发明 JS012-Chi2-hu2 v3-2a 在人胃癌 MKN45 hClaudin18.2 Mixeno 皮下移植模型中的抗肿瘤作用。

20 2、测试过程

将 5×10^6 个 MKN45 hClaudin18.2 肿瘤细胞(上海诺百生物)混合 5×10^6 个 PBMC 细胞 (上海澳能生物), 0.2ml/只 (含细胞和 50% 基质胶的培养基 RPMI1640 (Gibco)), 接种于 M-NSG 小鼠 (上海南方模式生物科技股份有限公司) 的右后背皮下, 根据体重挑选 50 只随机分组, 每组 10 只, 共 5 组, 分别为

Anti-KLH hIgG1 阴性对照组, 10 mg/kg;

JS012-Chi2-hu2 v3-2a 治疗组, 1 mg/kg;

JS012-Chi2-hu2 v3-2a 治疗组, 3 mg/kg;

JS012-Chi2-hu2 v3-2a 治疗组, 10 mg/kg;

IMAB362 阳性对照组, 10 mg/kg。

分组当天接种肿瘤细胞后 4h 给药, 所有组的给药途径均为腹腔注射, 每周给药 2 次, 连续给药 9 次, 末次给药 3 天后结束实验。每周测量肿瘤体积及体重 2 次, 记录小鼠体重和肿瘤体积。实验结
5 束时, 将小鼠安乐死, 计算肿瘤抑制率 TGI% ($TGI \% = [1 - T/C] \times 100\%$)。(T: 治疗组或阳性对照组在实验终点的肿瘤体积均值, C: 阴性对照组在实验终点的肿瘤体积均值)。

如图 7 所示, 在实验终点, anti-KLH hIgG1 阴性对照组平均肿瘤体积为 $1276 \pm 228 \text{ mm}^3$ 。JS012-Chi2-hu2a v3-2 在 1、3 和 10 mg/kg
10 剂量条件下的平均肿瘤体积分别为 $235 \pm 25 \text{ mm}^3$ 、 $243 \pm 33 \text{ mm}^3$ 和 $343 \pm 63 \text{ mm}^3$, TGI 分为 81.6%、81.0% 和 73.1%, 表现显著的抑瘤作用。IMAB362 在 10 mg/kg 剂量下的平均肿瘤体积为 $361 \pm 73 \text{ mm}^3$, TGI 为 71.7%。同剂量条件下(10 mg/kg), JS012-Chi2-hu2 v3-2a 抑瘤作用略优于 IMAB362。

15

实施例 12: 人源化抗 CLDN-18.2 抗体对 CB-17 SCID 小鼠移植人胰腺癌 hCLDN18.2 MIA PaCa-2 肿瘤生长的抑制作用

1、 测试目的

评价本发明 JS012-Chi2-hu2 v3-2a 在人胰腺癌 hCLDN18.2 MIA
20 PaCa-2 皮下移植模型中的抗肿瘤作用。

2、 测试过程

将 5×10^6 个 hCLDN18.2 MIA PaCa-2 细胞(Accurusbio-C3002), 0.2ml/只 (含细胞和 50% 基质胶的培养基 DMEM (Gibco)), 接种于 CB-17 SCID 小鼠 (上海吉辉实验动物饲养有限公司) 的右后背皮下, 待平均
25 肿瘤体积约为 89 mm^3 时, 根据肿瘤体积挑选 40 只动物随机分组, 每组 8 只, 共 5 组, 分别为

Anti-KLH hIgG1 阴性对照组, 3mg/kg;

IMAB362 阳性对照组, 3 mg/kg;

JS012-Chi2-hu2 v3-2a 治疗组, 0.3 mg/kg;

JS012-Chi2-hu2 v3-2a 治疗组, 1 mg/kg;

JS012-Chi2-hu2 v3-2a 治疗组, 3 mg/kg。

分组当天给药, 所有组的给药途径均为腹腔注射, 每周给药 2 次, 连续给药 6 次, 末次给药 4 天后结束实验。每周测量肿瘤体积及体重 3 次, 记录小鼠体重和肿瘤体积。实验结束时, 将小鼠安乐死, 计算肿瘤抑制率 TGI% ($TGI\% = [1 - (Ti - T0)/(Vi - V0)] \times 100\%$)。 (Ti: 治疗组或阳性对照组在给药第 i 天的肿瘤体积均值, T0: 治疗组或阳性对照组在给药第 0 天的肿瘤体积均值; Vi: 阴性对照组在给药第 i 天的肿瘤体积均值, V0: 阴性对照组在给药第 0 天的肿瘤体积均值)。

如图 8 所示, 在实验终点, anti-KLH hIgG1 组平均肿瘤体积为 $2235 \pm 145 \text{ mm}^3$ 。IMAB362 在 3 mg/kg 剂量下的平均肿瘤体积为 $465 \pm 74 \text{ mm}^3$, TGI 为 82.5%。JS012-Chi2-hu2 v3-2a 在 0.3、1 和 3 mg/kg 剂量条件下的平均肿瘤体积分别为 $1455 \pm 142 \text{ mm}^3$ 、 $673 \pm 153 \text{ mm}^3$ 和 $74 \pm 19 \text{ mm}^3$, TGI 分为 36.3%、72.8% 和 100.6%, 表现显著的抑瘤作用。同剂量条件下 (3 mg/kg), JS012-Chi2-hu2 v3-2a 抑瘤作用显著优于 IMAB362。

序列表

5 SEQ ID NO: 1
NFGMH

SEQ ID NO: 2
CISSGSGTIYYADTVKG

10 SEQ ID NO: 3
AYYGNNGFSF

SEQ ID NO: 4
SASSIFSYIF

15 SEQ ID NO: 5
LTSKLAS

SEQ ID NO: 6
20 HQWKITHT

SEQ ID NO: 7
KSSQSLNLSGNQKNYLT

25 SEQ ID NO: 8
WASTRES

SEQ ID NO: 9
QNVYSYPLT

30 SEQ ID NO: 10
NYGMN

SEQ ID NO: 11
35 WINTYTGESTYADDFKG

SEQ ID NO: 12
TLGYGNSLAY

40 SEQ ID NO: 13
KSSQSLNLSGNQKNYLT

SEQ ID NO: 14
WASTRES

45 SEQ ID NO: 15
QNNYFYPFT

SEQ ID NO: 16
50 SFGVS

SEQ ID NO: 17

AIWAGGNRNYNSALMS

5 SEQ ID NO: 18
 GSYGSSFAN

 SEQ ID NO: 19
 KSSQSLNLSGNQKNYLT

10 SEQ ID NO: 20
 WASTRDS

 SEQ ID NO: 21
 QNAYFYPT

15 SEQ ID NO: 22
 NYGMN

 SEQ ID NO: 23
 WINTYTGESTYADDFKG

20 SEQ ID NO: 24
 SYNGNSLPY

 SEQ ID NO: 25
25 KSSQSLNLSGNQKNYLT

 SEQ ID NO: 26
 WASTRES

30 SEQ ID NO: 27
 QNDYSYPLT

 SEQ ID NO: 28
 SYGMS

35 SEQ ID NO: 29
 TISGGDSYTYYPDSVRG

 SEQ ID NO: 30
40 SYNGNSLPY

 SEQ ID NO: 31
 KSSQSLNLSGNQKNYLT

45 SEQ ID NO: 32
 WASTRES

 SEQ ID NO: 33
 QNTYSFPLT

50 SEQ ID NO: 34
 NYGMN

 SEQ ID NO: 35
55 WINTYTGEPTYADDFKG

- SEQ ID NO: 36
GY
- 5 SEQ ID NO: 37
NYLIE
- SEQ ID NO: 38
VINPGSGGTNYNEKFKG
- 10 SEQ ID NO: 39
PHDGYFFWFAY
- 15 SEQ ID NO: 40
WINTYTGESTYADGFTG
- SEQ ID NO: 41
SISSGSGTIYYADSVKG
- 20 SEQ ID NO: 42
DVQLVESGGGLVQPGGSRKLSCAASGFTLNNFGMHWVRQAPKGLEWVACISSGSGTIYYA
DTVKGRFTISRDNPKNTLFLQMTSLRSEDTAMYCARAYYGNGFSFWGQGTLVTVSS
- 25 SEQ ID NO: 43
QIVLTQSPPTLMASAPGEKVTMTCSASSIFSYIFWSQQKPRSSPKPWIYLTSKLASGVPVRF
SGSGSGTSYSLTISTMEAEDAATYYCHQWKITHTFGAGTKLEK
- SEQ ID NO: 44
DIVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLNLSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRE
- 30 SGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAIYYCQNVYSYPLTFGAGTKLEIK
- SEQ ID NO: 45
QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNWVKQAPGKGLKWMGWINTYTGESTYA
- 35 DDFKGRFAFSSETSARTAYLQINNLKNEDMATYFCATLGYGNSLAYWGQGTLVTVSS
- SEQ ID NO: 46
DIVMTQYPSFLTVTGKVTMSCKSSQSLNLSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRE
- SGVPDRFAGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAIYYCQNNYFYFPTFGSGTKLEVK
- 40 SEQ ID NO: 47
QVQLKESGPGLVAPSQSLITCTVSGFSLTSFGVSWVRQPPGKGLEWLGAIWAGGNRNYS
ALMSRLSISKDNSKSQVFLKMTSLQTDTAIYYCARGSYGSSFANWGQGTLVTVSS
- SEQ ID NO: 48
DIVMTQSPSFLTVTAGEKVTMSCKSSQSLNLSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRD
- 45 SGVPDRFTGSGSGTDFTLTITSVQAEDLAVFYCQNAYFYFPTFGSGTKLEIK
- SEQ ID NO: 49
QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNWVKQAPGKGLKWMGWINTYTGESTYA
- 50 DDFKGRFAFSSETSARTAYLQINNLKNEGMATYFCARSYNGNSLPYWGQGTLVTVSS
- SEQ ID NO: 50
DIVMTQSPSFLTVTAGEKVTMSCKSSQSLNLSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRE
- 55 SGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYCQNDYSYPLTFGAGTKLEK

- SEQ ID NO: 51
 EVKLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSSYGMSWVRQTPEKRLECVATISGGDSYTYYP
DSVRGRFTISRDIAKNNLYLQMSLSRSEDTALYYCARSSYNGNSLPYWGQGTLVTVSS
- 5 SEQ ID NO: 52
 DIVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLNLSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRE
SGVPDRFTGSGSGIDFTLTISSVQAEDLAFYYCQNTYSFPLTFGAGTRLDLK
- SEQ ID NO: 53
 10 QIQLVQSGPELKKPGETVKISKASGYTFTNYGMNWVKQAPGKGLKWMGWINTYTGEPTYA
DDFKGRFAFSLETSASTAYLQINNLKNEDTATYFCARGYWGQGTTLTVSS
- SEQ ID NO: 54
 15 QVQLQQSGAELVRPGTSVKVSCASGYAFTNYLIEWVKQRPQGQGLEWIGVINPGSGGTNYP
EKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSDDSAVYFCARPHDGYFWFAYWGQGTLVTVSS
- SEQ ID NO: 55
 20 QIQLVQSGSELKKPGESVKVSCASGYTFTNYGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGESTYA
DGFTGRFVFSSDTSARTAYLQISSLKAEDTAVYFCATLGYGNSLAYWGQGTLVTVSS
- SEQ ID NO: 56
 DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNLSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRE
SGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQNNYFYPFTFGQGTKLEIK
- 25 SEQ ID NO: 57
QVQLVQSGSELKKPGESVKVSCASGYTFTNYGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGESTYA
DGFTGRFVFMSDTSASTAYLQISSLKAEDMAMYFCATLGYGNSLAYWGQGTLVTVSS
- SEQ ID NO: 58
 30 EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEWVSTISGGDSYTYYP
DSVRGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSSYNGNSLPYWGQGTLVTVSS
- SEQ ID NO: 59
 35 EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLESVSTISGGDSYTYYP
DSVRGRFTISRDIAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSSYNGNSLPYWGQGTLVTVSS
- SEQ ID NO: 60
 40 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLNNFGMHWRQAPGKGLEWVSSISSGSGTIYYA
DSVKGRFTISRDNPKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAYYGNGFSFWGQGTLVTVSS
- SEQ ID NO: 61
 DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNLSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRE
SGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQNVYSYPLTFGQGTKLEIK
- 45 SEQ ID NO: 62 X_1 ISSGSGTIYYADX₂VKG
- SEQ ID NO: 63 WINTYTGESTYADX₃FX₄G
- SEQ ID NO: 64
 50 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLNNFGMHWRQAPGKGLEWVSSISSGSGTIYYA
DSVKGRFTISRDNPKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAYYGNGFSFWGQGTLVTVSSSASTK
GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTSVNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF
PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
 55 VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL

TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS
VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 65

5 DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNLSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRE
SGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQNVYSYPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVF
IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSL
TLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

10 SEQ ID NO: 66

GAGGTGCAGCTGGTGGAGAGCGGCGGCGGCTGGTGCAGCCCCGGCGGCAGCCTGAGACTGA
GCTGCGCCGCCAGCGGCTTACCCTGAACAACTTCGGCATGCACTGGGTGAGACAGGCCCC
CGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGAGCTCCATCAGCAGCGGCAGCGGCACCATCTACTACGCC
GACAGCGTGAAGGGCAGATTACCATCAGCAGAGACAACCCCAAGAACAGCCTGTACCTGC
15 AGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGCCTACTACGG
CAACGGCTTCAGCTTCTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACCGTGAGCAGCGCTAGCACCAAG
GGCCCATCCGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCC
TGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGC
CCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTC
20 AGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGA
ATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC
TCACACATGCCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTTC
CCCCAAAACCCAAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGG
TGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGT
25 GCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGC
GTCCTCACCGTCTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCA
ACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGA
ACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGAGCCTG
ACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGC
30 AGCCGGAGAACAACACTACAAGACCAGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCCT
CTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCC
GTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGTCCCTCTCCCTGTCTCCGGGTA
AATGA

35 SEQ ID NO: 67

GACATCGTGATGACCCAGAGCCCCGACAGCCTGGCCGTGAGCCTGGGCGAGAGAGCCACCA
TCAACTGCAAGAGCAGCCAGAGCCTGCTGAACAGCGGCAACCAGAAGAACTACCTGACCTG
GTACCAGCAGAAGCCCGGCCAGCCCCCAAGCTGCTGATCTACTGGGCCAGCACCAGAGAG
AGCGGCGTGCCCGACAGATTACAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCA
40 GCAGCCTGCAGGCCGAGGACGTGGCCGTGTACTACTGCCAGAACGTGTACAGCTACCCCT
GACCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAGCGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTC
ATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGA
ATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGG
TAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGC
45 ACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCC
ATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG

SEQ ID NO: 68

QIQLVQSGSELKKPGESVKVSKASGYTFTNYGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGESTYA
50 DGFTGRFVFSSDTSARTAYLQISSLKAEDTAVYFCATLGYGNSLAYWGQGLTVTVSSASTK
GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCPPCPAPELLGGPSVFLF
PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL
55 TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS

VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 69

5 DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNLSGNQRNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRE
SGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQNNYFYPFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVF
IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSS
TLTSLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 70

10 CAGATCCAGCTGGTGCAGAGCGGCAGCGAGCTGAAGAAGCCCGGCGAGAGCGTGAAGGTGA
GCTGCAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCAACTACGGCATGAACTGGGTGAGACAGGCCCC
CGGCCAGGGCCTGGAGTGGATGGGCTGGATCAACACCTACACCGGCGAGAGCACCTACGCC
GACGGCTTCACCGGCAGATTTCGTGTTTCAGCAGCGACACCAGCGCCAGAACC GCCTACCTGC
AGATCAGCAGCCTGAAGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTTCTGCGCCACCCTGGGCTACGG
15 CAACAGCCTGGCCTACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACCGTGAGCAGCGCTAGCACCAAG
GGCCCATCCGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCC
TGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGC
CCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTC
AGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGA
20 ATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC
TCACACATGCCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTC
CCCCCAAACCCAAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGG
TGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGT
GCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGC
25 GTCCTCACCGTCTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCA
ACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGA
ACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGAGCCTG
ACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGC
AGCCGGAGAACAACACTACAAGACCAGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCT
30 CTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCC
GTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGTCCCTCTCCCTGTCTCCGGTA
AATGA

SEQ ID NO: 71

35 GACATCGTGATGACCCAGAGCCCCGACAGCCTGGCCGTGAGCCTGGGCGAGAGAGCCACCA
TCAACTGCAAGAGCAGCCAGAGCCTGCTGAACAGCGGCAACCAGAGAACTACCTGACCTG
GTACCAGCAGAAGCCCGGCCAGCCCCCAAGCTGCTGATCTACTGGGCCAGCACCAGAGAG
AGCGGCGTGCCCGACAGATTTCAGCGGCAGCGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCA
GCAGCCTGCAGGCCGAGGACGTGGCCGTGTACTACTGCCAGAACAACACTACTTCTACCCCTT
40 CACCTTCGGCCAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAGCGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTC
ATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGA
ATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGG
TAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGC
ACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCAACC
45 ATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG

SEQ ID NO: 72

YISSGSGTIYYADSVKG

50 SEQ ID NO: 73

AYYGNAFSF

SEQ ID NO: 74

TISGGDSYTYYPDSVKG

55

SEQ ID NO: 75
SYNANSLPY

5 SEQ ID NO: 76
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLNNFGMHWVRQAPGKGLEWVSYISSGSGTIYYA
DSVKGRFTISRDNPKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAYYGNAFSFWGQGLTVTVSS

10 SEQ ID NO: 77
DIVMTQSPSSLAVSLGERATINCKSSQSLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRE
SGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQNVYSYPLTFGQGTKLEIK

15 SEQ ID NO: 78
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLNNFGMHWVRQAPGKGLEWVSYISSGSGTIYYA
DSVKGRFTISRDNPKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAYYGNGFSFWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO: 79
QIQLVQSGSELKKPGASVKVSCASGYTFTNYGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGESTYA
DGFTGRVFVSSDTSARTAYLQISSLKAEDTAVYFCATTLGYGNSLAYWGQGLTVTVSS

20 SEQ ID NO: 80
DIVMTQSPDSLAVTTGERATINCKSSQSLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRE
SGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQNNYFYPTFGQGTKLEIK

25 SEQ ID NO: 81
DIVMTQSPDFLAVSLGERATINCKSSQSLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRD
SGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQNAVYFYPTFGPGTKVDIK

30 SEQ ID NO: 82
EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEWVSTISGGDSYTYYP
DSVKGRFTISRDIAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSYNANSLPYWGQGLTVTVSS

35 SEQ ID NO: 83
EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEWVSTISGGDSYTYYP
DSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSYNGNSLPYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO: 84
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLNNFGMHWVRQAPGKGLEWVSYISSGSGTIYYADSV
KGRFTISRDNPKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAYYGNAFSFWGQGLTVTVSSASTKGPSVFP
LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSS
40 SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMHREALHNYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 85

45 DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGV
PDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQNVYSYPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSD
EQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLSSTLTLSKADY
EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 86

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLNNFGMHWVRQAPGKGLEWVSYISSGSGTIYYADSV
KGRFTISRDNPKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAYYGNAFSFWGQGTlTVTSSASTKGPSVFP
 LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSS
 5 SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
 TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
 KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
 NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

10 SEQ ID NO: 87

DIVMTQSPSSLAIVSLGERATINCKSSQSLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGV
 PDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQNVYSYPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSD
 EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLSSTLTLSKADY
 EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

15

SEQ ID NO: 88

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLNNFGMHWVRQAPGKGLEWVSYISSGSGTIYYADSV
KGRFTISRDNPKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAYYGNGFSFWGQGTlTVTSSASTKGPSVFP
 LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSS
 20 SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
 TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
 KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
 NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

25 SEQ ID NO: 89

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGV
 PDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQNVYSYPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSD
 EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLSSTLTLSKADY
 EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

30

SEQ ID NO: 90

QIQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGESTYADGF
TGRFVFSSDTSARTAYLQISSLKAEDTAVYFCATTLGYGNSLAYWGQGTlTVTSSASTKGPSVFP
 LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSS
 35 SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
 TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
 KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
 NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

40 SEQ ID NO: 91

DIVMTQSPDSLAVTTGERATINCKSSQSLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGV
 PDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQNNFYFPFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSD

EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADY
EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 92

- 5 QVQLVQSGSELKKPGESVKVSCASGYTFTNYGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGESTYADGF
TGRFVFSMDTSASTAYLQISSLKAEDMAMYFCATLGYGNSLAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFP
LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSS
SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
10 KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 93

- DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLLNSGNQNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGV
15 PDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQNNYFYPTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSD
EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADY
EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 94

- 20 QIQLVQSGSELKKPGESVKVSCASGYTFTNYGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGESTYADGF
TGRFVFSSDTSARTAYLQISSLKAEDTAVYFCATLGYGNSLAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFP
LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSS
SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
25 KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 95

- DIVMTQSPDFLAFLAVSLGERATINCKSSQSLLNSGNQNYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRDSGV
30 PDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQNAVYFPTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSD
EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADY
EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 96

- 35 QVQLVQSGSELKKPGESVKVSCASGYTFTNYGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGESTYADGF
TGRFVFSMDTSASTAYLQISSLKAEDMAMYFCATLGYGNSLAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFP
LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSS
SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
40 KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: 97

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNLSGNQRYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGV
 PDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQNNYFYPTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSD
 EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLSSTLTLSKADY
 5 EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 98

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEWVSTISGGDSYTYPDSV
KGRFTISRDIAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSYNANSLPYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFP
 10 LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSS
 SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
 TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
 KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
 NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
 15

SEQ ID NO: 99

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNLSGNQRYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGV
 PDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQNNYFYPTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSD
 EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLSSTLTLSKADY
 20 EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 100

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEWVSTISGGDSYTYPDSV
KGRFTISRDNANSLYLMNSLRAEDTAVYYCARSYNGNSLPYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFP
 25 LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSS
 SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
 TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
 KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
 NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
 30

SEQ ID NO: 101

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNLSGNQRYLTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGV
 PDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQNNYFYPTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSD
 EQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLSSTLTLSKADY
 35 EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

权利要求书

1. 一种抗 CLDN-18.2 抗体或其抗原结合片段，其包含重链可变区和轻链可变区，其中，

- 5 所述重链可变区包含 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3，其中
 所述 HCDR1 的序列选自如 SEQ ID NO:1、10、16、22、
 28、34 和 37 所示的氨基酸序列；
 所述 HCDR2 的序列选自如 SEQ ID NO:62、63、17、23、
 29、35、38、72 和 74 所示的氨基酸序列，所述 SEQ
10 ID NO:62 所示的 HCDR2 中 X_1 为 C 或 S， X_2 为 T 或
 S，所述 SEQ ID NO:63 所示的 HCDR2 中 X_3 为 D 或
 G， X_4 为 K 或 T；和
 所述 HCDR3 的序列选自如 SEQ ID NO:3、12、18、24、
 30、36、39、73 和 75 所示的氨基酸序列；和
15 所述轻链可变区包含 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3，其中
 所述 LCDR1 的序列选自如 SEQ ID NO:4、7、13、19、25
 和 31 所示的氨基酸序列；
 所述 LCDR2 的序列选自如 SEQ ID NO:5、8、14、20、26
 和 32 所示的氨基酸序列；和
20 所述 LCDR3 的序列选自如 SEQ ID NO:6、9、15、21、27
 和 33 所示的氨基酸序列。

2. 如权利要求 1 所述的抗体或其抗原结合片段，其中
所述重链可变区包含：

- (I)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2 和 SEQ ID
25 NO:3 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或
 (II)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11 和 SEQ ID
 NO:12 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或
 (III)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17 和 SEQ ID
 NO:18 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或

(IV)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23 和 SEQ ID NO:24 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3; 或

(V)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29 和 SEQ ID NO:30 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3; 或

5 (VI)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35 和 SEQ ID NO:36 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3; 或

(VII)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38 和 SEQ ID NO:39 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3; 或

10 (VIII)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:40 和 SEQ ID NO:12 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3; 或

(IX)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:41 和 SEQ ID NO:3 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3; 或

(X)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:72 和 SEQ ID NO:73 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3; 或

15 (XI)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:72 和 SEQ ID NO:3 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3; 或

(XII)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:74 和 SEQ ID NO:75 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3; 或

20 (XIII)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:74 和 SEQ ID NO:30 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3; 和

所述轻链可变区包含:

(I)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5 和 SEQ ID NO:6 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3; 或

25 (II)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8 和 SEQ ID NO:9 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3; 或

(III)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14 和 SEQ ID NO:15 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3; 或

(IV)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20 和 SEQ ID NO:21 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3; 或

(V)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26 和 SEQ ID NO:27 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3; 或

(VI)氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32 和 SEQ ID NO:33 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。

5 3. 如权利要求 2 所述的抗体或其抗原结合片段, 其包含:

(I)重链可变区, 其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2 和 SEQ ID NO:3 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3; 和轻链可变区, 其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5 和 SEQ ID NO:6 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3; 或

10 (II)重链可变区, 其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2 和 SEQ ID NO:3 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3; 和轻链可变区, 其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8 和 SEQ ID NO:9 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3; 或

(III)重链可变区, 其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:10、SEQ
15 ID NO:11 和 SEQ ID NO:12 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3; 和轻链可变区, 其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14 和 SEQ ID NO:15 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3; 或

(IV)重链可变区, 其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:16、SEQ
ID NO:17 和 SEQ ID NO:18 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3; 和
20 轻链可变区, 其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20 和 SEQ ID NO:21 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3; 或

(V)重链可变区, 其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:22、SEQ
ID NO:23 和 SEQ ID NO:24 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3; 和
轻链可变区, 其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:25、SEQ ID
25 NO:26 和 SEQ ID NO:27 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3; 或

(VI)重链可变区, 其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:28、SEQ
ID NO:29 和 SEQ ID NO:30 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3; 和
轻链可变区, 其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:31、SEQ ID
NO:32 和 SEQ ID NO:33 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3; 或

(VII)重链可变区,其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35 和 SEQ ID NO:36 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3; 和轻链可变区,其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26 和 SEQ ID NO:27 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3; 或

5 (VIII)重链可变区,其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:37、SEQ ID NO:38 和 SEQ ID NO:39 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3; 和轻链可变区,其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32 和 SEQ ID NO:33 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3; 或

(IX)重链可变区,其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11 和 SEQ ID NO:12 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3; 和轻链可变区,其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20 和 SEQ ID NO:21 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3; 或

(X)重链可变区,其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29 和 SEQ ID NO:30 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3; 和轻链可变区,其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14 和 SEQ ID NO:15 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3; 或

(XI)重链可变区,其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23 和 SEQ ID NO:24 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3; 和轻链可变区,其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14 和 SEQ ID NO:15 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3; 或

(XII)重链可变区,其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:40 和 SEQ ID NO:12 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3; 和轻链可变区,其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14 和 SEQ ID NO:15 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3; 或

25 (XIII)重链可变区,其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:41 和 SEQ ID NO:3 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3; 和轻链可变区,其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8 和 SEQ ID NO:9 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3; 或

(XIV)重链可变区,其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:1、SEQ

ID NO:72 和 SEQ ID NO:73 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3; 和轻链可变区, 其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8 和 SEQ ID NO:9 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3; 或

(XV)重链可变区, 其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:72 和 SEQ ID NO:3 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3; 和轻链可变区, 其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8 和 SEQ ID NO:9 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3; 或

(XVI)重链可变区, 其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:74 和 SEQ ID NO:30 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3; 和轻链可变区, 其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14 和 SEQ ID NO:15 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3; 或

(XVII)重链可变区, 其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:74 和 SEQ ID NO:75 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3; 和轻链可变区, 其包含氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14 和 SEQ ID NO:15 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。

4. 如权利要求 1-3 中任一项所述的抗体或其抗原结合片段, 其包含重链可变区和轻链可变区, 其中

(1) 所述重链可变区的氨基酸序列包含选自如 SEQ ID NO:42、45、47、49、51、53、54、76、78、82 和 83 所示的序列, 或与 SEQ ID NO:42、45、47、49、51、53、54、76、78、82 和 83 所示序列中任一者具有至少 95%、96%、97%、98%或 99%同一性的氨基酸序列; 和

所述轻链可变区的氨基酸序列包含选自如 SEQ ID NO:43、44、46、48、50 和 52 所示的序列, 或与 SEQ ID NO:43、44、46、48、50 和 52 所示序列中任一者具有至少 95%、96%、97%、98%或 99%同一性的氨基酸序列; 或

(2) 所述抗体或其抗原结合片段包含:

氨基酸序列如 SEQ ID NO:42 所示的重链可变区和氨基酸序列如 SEQ ID NO:43 所示的轻链可变区; 或

氨基酸序列如 SEQ ID NO:42 所示的重链可变区和氨基酸序列如 SEQ ID NO:44 所示的轻链可变区；或

氨基酸序列如 SEQ ID NO:45 所示的重链可变区和氨基酸序列如 SEQ ID NO:46 所示的轻链可变区；或

5 氨基酸序列如 SEQ ID NO:47 所示的重链可变区和氨基酸序列如 SEQ ID NO:48 所示的轻链可变区；或

氨基酸序列如 SEQ ID NO:49 所示的重链可变区和氨基酸序列如 SEQ ID NO:50 所示的轻链可变区；或

10 氨基酸序列如 SEQ ID NO:51 所示的重链可变区和氨基酸序列如 SEQ ID NO:52 所示的轻链可变区；或

氨基酸序列如 SEQ ID NO:53 所示的重链可变区和氨基酸序列如 SEQ ID NO:50 所示的轻链可变区；或

氨基酸序列如 SEQ ID NO:54 所示的重链可变区和氨基酸序列如 SEQ ID NO:52 所示的轻链可变区；或

15 氨基酸序列如 SEQ ID NO:45 所示的重链可变区和氨基酸序列如 SEQ ID NO:48 所示的轻链可变区；或

氨基酸序列如 SEQ ID NO:51 所示的重链可变区和氨基酸序列如 SEQ ID NO:46 所示的轻链可变区；或

20 氨基酸序列如 SEQ ID NO:49 所示的重链可变区和氨基酸序列如 SEQ ID NO:46 所示的轻链可变区。

5. 如权利要求 1-3 中任一项所述的抗体或其抗原结合片段，其包含重链可变区和轻链可变区，其中

(1) 所述重链可变区的氨基酸序列包含选自如 SEQ ID NO: 55、57、58、59、60、76、78、79、82 和 83 所示的序列，或与 SEQ ID NO: 25 55、57、58、59、60、76、78、79、82 和 83 所示序列中任一者具有至少 95%、96%、97%、98% 或 99% 同一性的氨基酸序列；和

所述轻链可变区的氨基酸序列包含选自如 SEQ ID NO: 56、61、77、80 和 81 所示的序列，或与 SEQ ID NO: 56、61、77、80 和 81 所示序列中任一者具有至少 95%、96%、97%、98% 或 99% 同一性的

氨基酸序列；或

(2) 所述重链可变区包含如 SEQ ID NO:55、57、60、76、78、79、82 或 83 中任一项所示的氨基酸序列；和所述轻链可变区包含如 SEQ ID NO:56、61、77、80 或 81 中任一项所示的氨基酸序列；或

5 (3) 所述重链可变区包含如 SEQ ID NO:55、57、82 或 83 所示的氨基酸序列；和所述轻链可变区包含如 SEQ ID NO:56 所示的氨基酸序列；或

(4) 所述重链可变区包含如 SEQ ID NO:60、76 或 78 所示的氨基酸序列；和所述轻链可变区包含如 SEQ ID NO:61 所示的氨基酸序列；或
10

(5) 所述重链可变区包含如 SEQ ID NO:55 所示的氨基酸序列；和所述轻链可变区包含如 SEQ ID NO:56 所示的氨基酸序列；或

(6) 所述重链可变区包含如 SEQ ID NO:57 所示的氨基酸序列；和所述轻链可变区包含如 SEQ ID NO:56 所示的氨基酸序列；或

15 (7) 所述重链可变区包含如 SEQ ID NO:58 所示的氨基酸序列；和所述轻链可变区包含如 SEQ ID NO:56 所示的氨基酸序列；或

(8) 所述重链可变区包含如 SEQ ID NO:59 所示的氨基酸序列；和所述轻链可变区包含如 SEQ ID NO:56 所示的氨基酸序列；或

(9) 所述重链可变区包含如 SEQ ID NO:60 所示的氨基酸序列；和所述轻链可变区包含如 SEQ ID NO:61 所示的氨基酸序列；或
20

(10) 所述重链可变区包含如 SEQ ID NO: 76 所示的氨基酸序列；和所述轻链可变区包含如 SEQ ID NO:77 所示的氨基酸序列；或

(11) 所述重链可变区包含如 SEQ ID NO:79 所示的氨基酸序列；和所述轻链可变区包含如 SEQ ID NO:80 所示的氨基酸序列；或

25 (12) 所述重链可变区包含如 SEQ ID NO:55 所示的氨基酸序列；和所述轻链可变区包含如 SEQ ID NO:81 所示的氨基酸序列。

6. 如权利要求 1-3 任一项所述的抗体或其抗原结合片段，其包含重链和轻链，其中

(1) 所述重链的氨基酸序列如 SEQ ID NO:64 或其变体或者 SEQ

ID NO:68 或其变体所示, 和轻链, 所述轻链的氨基酸序列如 SEQ ID NO:65 或其变体或者 SEQ ID NO:69 或其变体所示, 其中所述变体在其可变区包含 1、2、3、4 或 5 个氨基酸变化; 优选地, SEQ ID NO:64 的变体包含在第 50 或 63 位或其组合处的氨基酸变化; 和/或 SEQ ID NO:68 的变体包含在第 63 或 65 位或其组合处的氨基酸变化; 优选地, SEQ ID NO:64 的变体包含 S50C 或 S63T 或其组合; 和/或 SEQ ID NO:68 的变体包含 G63D 或 T65K 或其组合; 或

(2) 所述重链包含如 SEQ ID NO: 64 所示的氨基酸序列, 或与 SEQ ID NO: 64 所示的氨基酸序列具有至少 90%、92%、94%、95%、96%、97%、98% 或 99% 序列同一性的氨基酸序列; 和所述轻链包含如 SEQ ID NO: 65 所示的氨基酸序列, 或与 SEQ ID NO: 65 所示的氨基酸序列具有至少 90%、92%、94%、95%、96%、97%、98% 或 99% 序列同一性的氨基酸序列; 或

(3) 所述重链包含如 SEQ ID NO: 68 所示的氨基酸序列, 或与 SEQ ID NO: 68 所示的氨基酸序列具有至少 90%、92%、94%、95%、96%、97%、98% 或 99% 序列同一性的氨基酸序列; 和所述轻链包含如 SEQ ID NO: 69 所示的氨基酸序列, 或与 SEQ ID NO: 69 所示的氨基酸序列具有至少 90%、92%、94%、95%、96%、97%、98% 或 99% 序列同一性的氨基酸序列; 或

(4) 所述重链包含如 SEQ ID NO: 84 所示的氨基酸序列, 或与 SEQ ID NO: 84 所示的氨基酸序列具有至少 90%、92%、94%、95%、96%、97%、98% 或 99% 序列同一性的氨基酸序列; 和所述轻链包含如 SEQ ID NO: 85 所示的氨基酸序列, 或与 SEQ ID NO: 85 所示的氨基酸序列具有至少 90%、92%、94%、95%、96%、97%、98% 或 99% 序列同一性的氨基酸序列; 或

(5) 所述重链包含如 SEQ ID NO: 86 所示的氨基酸序列, 或与 SEQ ID NO: 86 所示的氨基酸序列具有至少 90%、92%、94%、95%、96%、97%、98% 或 99% 序列同一性的氨基酸序列; 和所述轻链包含如 SEQ ID NO: 87 所示的氨基酸序列, 或与 SEQ ID NO: 87 所示的氨

基酸序列具有至少 90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或 99% 序列同一性的氨基酸序列；或

(6) 所述重链包含如 SEQ ID NO: 88 所示的氨基酸序列，或与 SEQ ID NO: 88 所示的氨基酸序列具有至少 90%、92%、94%、95%、
5 96%、97%、98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和所述轻链包含如 SEQ ID NO: 89 所示的氨基酸序列，或与 SEQ ID NO: 89 所示的氨基酸序列具有至少 90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或 99% 序列同一性的氨基酸序列；或

(7) 所述重链包含如 SEQ ID NO: 90 所示的氨基酸序列，或与
10 SEQ ID NO: 90 所示的氨基酸序列具有至少 90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和所述轻链包含如 SEQ ID NO: 91 所示的氨基酸序列，或与 SEQ ID NO: 91 所示的氨基酸序列具有至少 90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或 99% 序列同一性的氨基酸序列；或

(8) 所述重链包含如 SEQ ID NO: 92 所示的氨基酸序列，或与
15 SEQ ID NO: 92 所示的氨基酸序列具有至少 90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和所述轻链包含如 SEQ ID NO: 93 所示的氨基酸序列，或与 SEQ ID NO: 93 所示的氨基酸序列具有至少 90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%
20 序列同一性的氨基酸序列；或

(9) 所述重链包含如 SEQ ID NO: 94 所示的氨基酸序列，或与 SEQ ID NO: 94 所示的氨基酸序列具有至少 90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和所述轻链包含如 SEQ ID NO: 95 所示的氨基酸序列，或与 SEQ ID NO: 95 所示的氨基酸序列具有至少 90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%
25 序列同一性的氨基酸序列；或

(10) 所述重链包含如 SEQ ID NO: 96 所示的氨基酸序列，或与 SEQ ID NO: 96 所示的氨基酸序列具有至少 90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%序列同一性的氨基酸序列；和所述轻链包含

如 SEQ ID NO: 97 所示的氨基酸序列, 或与 SEQ ID NO: 97 所示的氨基酸序列具有至少 90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或 99% 序列同一性的氨基酸序列; 或

(11) 所述重链包含如 SEQ ID NO: 98 所示的氨基酸序列, 或与
5 SEQ ID NO: 98 所示的氨基酸序列具有至少 90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或 99% 序列同一性的氨基酸序列; 和所述轻链包含如 SEQ ID NO: 99 所示的氨基酸序列, 或与 SEQ ID NO: 99 所示的氨基酸序列具有至少 90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或 99% 序列同一性的氨基酸序列; 或

10 (12) 所述重链包含如 SEQ ID NO: 100 所示的氨基酸序列, 或与 SEQ ID NO: 100 所示的氨基酸序列具有至少 90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或 99% 序列同一性的氨基酸序列; 和所述轻链包含如 SEQ ID NO: 101 所示的氨基酸序列, 或与 SEQ ID NO: 101 所示的氨基酸序列具有至少 90%、92%、94%、95%、96%、97%、98%或
15 99% 序列同一性的氨基酸序列。

7. 如权利要求 1-6 中任一项所述的抗体或其抗原结合片段, 其中所述抗体为鼠源抗体、嵌合抗体、人源化抗体、或全人抗体; 所述抗原结合片段为 Fab、Fab'、Fab'-SH、Fv、scFv、F(ab')₂、sdAb 或双抗体。

20 8. 如权利要求 1-6 中任一项所述的抗体或其抗原结合片段, 其中所述抗体为任何 IgG 亚型, 如 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4; 优选地; 所述抗体是低或无岩藻糖基化的。

9. 一种分离的抗 CLDN-18.2 抗体或其抗原结合片段, 其具有以下特性中的一种或多种:

25 (1) 与权利要求 1-8 中任一项所述的抗 CLDN-18.2 抗体或其抗原结合片段结合相同或者完全或部分重叠的人 CLDN-18.2 蛋白的表位;

(2) 与权利要求 1-8 中任一项所述的抗 CLDN-18.2 抗体或其抗原结合片段竞争结合人 CLDN-18.2 蛋白的表位;

- (3)与人 CLDN-18.2 蛋白结合, 但是不结合人 CLDN-18.1 蛋白;
- (4)诱导表达人 CLDN-18.2 蛋白的细胞的 ADCC 效应; 和
- (5)诱导表达人 CLDN-18.2 蛋白的细胞的 CDC 效应。

10. 一种多核苷酸, 其编码如权利要求 1-9 中任一项所述的抗
5 CLDN-18.2 抗体或其抗原结合片段。

11. 一种表达载体, 其包含如权利要求 10 所述的多核苷酸, 优选地, 所述载体为真核表达载体。

12. 一种宿主细胞, 其包含如权利要求 10 所述的多核苷酸, 或如权利要求 11 所述的表达载体, 或表达如权利要求 1-9 中任一项所述的抗 CLDN-18.2 抗体或其抗原结合片段, 优选地, 所述宿主细胞是真核细胞, 更优选哺乳动物细胞。

13. 一种用于制备如权利要求 1-6 中任一项所述的抗 CLDN-18.2 抗体或其抗原结合片段的方法, 所述方法包括在适合于所述抗体或其抗原结合片段表达的条件下培养权利要求 12 所述的宿主细胞, 并
15 从所述宿主细胞回收所表达的所述抗体或其抗原结合片段。

14. 一种药物组合物, 其包含如权利要求 1-9 中任一项所述的抗 CLDN-18.2 抗体或其抗原结合片段、权利要求 10 所述的多核苷酸、权利要求 11 所述的表达载体、权利要求 12 所述的宿主细胞, 和药学上可接受的载体或赋形剂。

20 15. 如权利要求 1-9 中任一项所述的抗体或其抗原结合片段、权利要求 10 所述的多核苷酸、权利要求 11 所述的表达载体、权利要求 12 所述的宿主细胞、或权利要求 14 所述的药物组合物在制备用于治疗 and/或预防 CLDN-18.2 介导的疾病或病症的药物中的用途, 优选地, 所述疾病或病症为癌症;

25 更优选地, 所述癌症选自胃癌、食道癌、胃食管癌、胰腺癌、胆管癌、肺癌、卵巢癌、结肠癌、肝癌、头颈癌、胆囊癌、肠癌和膀胱癌药物。

16. 一种药物组合, 其包含如权利要求 1-9 中任一项所述的抗体或其抗原结合片段、权利要求 10 所述的多核苷酸、权利要求 11 所

述的表达载体、权利要求 12 所述的宿主细胞、或权利要求 14 所述的药物组合物，以及一种或多种另外的治疗剂。