

抗 CD3 抗体及其应用

技术领域

本发明属于生物医药领域，具体地，本发明涉及一种抗 CD3 抗体或其抗原结合片段及其应用。

背景技术

癌症是影响人类生存发展的重大疾病，根据最新数据，全球每年新发癌症病例 1900 万左右，每年死亡癌症病例 1000 万左右，并且发生率和死亡率呈增长趋势。除手术切除外，化疗、放疗等传统癌症治疗手段副作用大、易复发。近年来，免疫治疗，包括肿瘤靶向抗体、免疫检查点抗体、双特异性抗体等，成为了抗癌新热点和新希望。免疫治疗药物，包括单抗和双特异性抗体，主要通过促进自身免疫细胞功能，达到抗癌的作用，具有副作用小、受益患者生存期长的特点。已经获批上市的免疫检查点抗体包括 PD1-1/L1、CTLA-4、LAG-3，而双特异抗癌抗体，包括 Blinatumomab (CD3×CD19)、Kimtrak (CD3×GP100)、Mosunetuzumab (CD3×CD20)、Tecvayli (CD3×BCMA) 等。双特异抗体在血液系统肿瘤的治疗中取得了非常大的进展，靶向 CD19、CD20、BCMA，能够促使 T 细胞清除肿瘤细胞，使患者受益。

基于 CD3 的双特异性抗体（以下简称“CD3 双特异性抗体”）通过招募 T 细胞到达肿瘤局部、桥联 T 细胞和肿瘤，促进 T 细胞活化、灭杀肿瘤，这一类双特异性抗体无需新生抗原，能够引导 T 细胞灭杀“冷肿瘤”。CD3 双特异性抗体与 T 细胞和肿瘤细胞结合后引发强烈的活化信号，因此还能一定程度上“无视”免疫检查点分子的抑制性信号；但是 CD3 双特异性抗体也会促进大量的促炎性细胞因子产生，如 $TNF\alpha$ 、IL-6 等，引发强烈的细胞因子风暴和过度的免疫反应，引起机体损伤，严重的可能危及生命。因此，基于 CD3 的双特异性抗体在临床上具有良好的应用前景，但是其安全性有待进一步提高。

解决 CD3 双特异性抗体安全性问题的途径之一是提高 CD3 双特异性抗体与肿瘤靶点结合的亲和力，同时降低其与 CD3 的亲和力，从而使得 CD3 双特异性抗体药物更多分布到肿瘤局部，增加肿瘤局部药物浓度、降低外周药物浓度、降低脱靶毒性，降低促炎性细胞因子产生水平、降低在靶毒性。因此，亟需开发能够以低亲和力与人 CD3 蛋白结合的抗 CD3 抗体，进而获得安全性更好、临床应用及药物开发价值高的 CD3 抗体药物。

发明内容

本发明旨在至少在一定程度上解决现有技术中存在的技术问题至少之一。为此，本发明的一个目的在于提供抗 CD3 抗体或其抗原结合片段。本发明的另一目的在于提供利用所述抗 CD3 抗体或其抗原结合片段构建的多特异性抗体。本发明的抗 CD3 抗体或其抗原结合片段可与人 CD3 蛋白结合，且可减少促炎性细胞因子的产生，利用其构建的双特异性抗体，具有高的 PBMC 灭杀肿瘤的杀伤活性和弱的促进促炎性细胞因子分泌性能。由此，利用该抗 CD3 抗体或其抗原结合片段或其多特异性抗体制备的药物组合物，安全性更好，临床应用及药物开发价值高。

本发明是基于发明人对以下事实和问题的发现和认识作出的：

目前双特异抗体中应用比较多的 CD3 抗体有 TR66 和 UCHT1。一方面，这两种抗体均不与猴 CD3 结合，增加了药物非临床评价的难度；另一方面，这两种抗体与 T 细胞结合力非常强，增大了基于其构建的 CD3 双特异性抗体药物的安全性风险。发明人对一种高 CD3 亲和力 ($KD=0.165nM$)、人猴交叉的抗 CD3 抗体 Cross3 进行了亲和力改造，通过大量的筛选，获得了一系列能够以低亲和力与人 CD3 蛋白结合的抗 CD3 抗体，进一步地，基于所述系列抗 CD3 抗体构建 CD3 双特异性抗体并筛选获得了 19 个抗 CD3 抗体。其与 Cross3 相比，双特异性抗体肿瘤抗原特异性识别和结合不受 CD3 抗原结合区影响。进一步实验结果证明：1) 本发明的 CD3 双特异性抗体，其与 CD3E&D 蛋白结合，与肿瘤抗原（比如 PDL1、Trop2）能特异性结合，而且肿瘤抗原结合活性与基于 Cross3 构建的双特异性抗体基本相当；2) 细胞水平实验结果显示，

本发明的 CD3 双特异性抗体, 其能与 T 细胞结合, 与肿瘤细胞 (比如 A-375-Trop2 细胞、A-375 黑色素瘤细胞、HCT-15 结直肠癌细胞、A549 肺癌细胞) 能特异性结合, 而且肿瘤细胞的结合能力与基于 Cross3 抗体构建的双特异性抗体基本相当; 3) 促进 PBMC 分泌细胞因子实验结果显示, 本发明的 CD3 双特异性抗体具有降低的促进促炎性细胞因子分泌性能。

发明人通过 PBMC 杀伤肿瘤细胞实验进一步验证了上述 CD3 双特异性抗体对肿瘤细胞的杀伤活性, 结果显示: 基于本发明的抗 CD3 抗体 Cross313、Cross316、Cross325 构建的双特异性抗体 (比如 Cross313×Trop2、Cross316×Trop2、Cross325×Trop2、Cross313×PDL1、Cross316×PDL1、Cross325×PDL1), 其能达到最高杀伤效果或能够促进 PBMC 100% 杀伤肿瘤细胞, 与基于抗 CD3 抗体 Cross3 构建的双特异性抗体 (比如 Cross3×Trop2、Cross3×PDL1) 具有相当的肿瘤细胞杀伤效果。

以上实验结果显示, 基于本发明的抗 CD3 抗体或其抗原结合片段开发的 CD3 双特异性抗体具有高的 PBMC 灭杀肿瘤的杀伤活性和弱的促进促炎性细胞因子分泌性能, 安全性更好、临床应用及药物开发价值高。

因此, 在本发明的第一方面, 本发明提出了一种抗 CD3 抗体或其抗原结合片段。根据本发明的实施例, 所述抗 CD3 抗体或其抗原结合片段包含: 重链可变区 CDRs 和轻链可变区 CDRs, 其中, 所述重链可变区 CDRs 具有如 SEQ ID NO: 1~3、7~8 和 74~86 任一项所示或其保守修饰形式的氨基酸序列; 和/或所述轻链可变区 CDRs 具有如 SEQ ID NO: 4~6、9 和 87~92 任一项所示或其保守修饰形式的氨基酸序列。

根据本发明实施例的抗 CD3 抗体或其抗原结合片段可与人 CD3 蛋白结合, 且可减少促炎性细胞因子的产生。基于该 CD3 抗体或其抗原结合片段开发的 CD3 双特异性抗体具有高的 PBMC 灭杀肿瘤的杀伤活性和弱的促进促炎性细胞因子分泌性能; 制备成药物后, 一方面, 能更多地分布到肿瘤局部, 增加肿瘤局部药物浓度, 降低外周药物浓度, 从而降低脱靶毒性风险; 另一方面, 该双特异性抗体药物可减少促炎性细胞因子产生, 降低在靶毒性风险。进一步地, 利用所述的抗 CD3 抗体或其抗原结合片段制备的药物可用于预防和/或治疗 CD3 相关疾病; 基于所述的抗 CD3 抗体或其抗原结合片段开发的 CD3 双特异性抗体药物, 安全性更高, 可用于预防和/或治疗癌症或肿瘤或感染或自身免疫疾病。由此, 本发明的抗 CD3 抗体或其抗原结合片段具有良好的临床应用价值和药物开发价值。

在本发明的第二方面, 本发明提出了多特异性抗体。根据本发明的实施例, 所述多特异性抗体包含:

第一抗原结合区, 所述第一抗原结合区包含本发明第一方面所述的抗 CD3 抗体或其抗原结合片段;

第二抗原结合区, 所述第二抗原结合区具有生物分子结合活性, 所述生物分子不为 CD3。

如前所述, 基于本发明第一方面所述抗 CD3 抗体或其抗原结合片段开发的多特异性抗体 (比如双特异性抗体), 制备成药物后能更多地分布到肿瘤局部, 增加肿瘤局部药物浓度, 降低外周药物浓度, 从而降低脱靶毒性风险; 同时, 可减少促炎性细胞因子产生, 降低多特异性抗体 (比如双特异性抗体) 在靶毒性风险。由此, 基于本发明第一方面的抗 CD3 抗体或其抗原结合片段的多特异性抗体具有更好的安全性, 临床应用价值和药物开发价值高。

在本发明的第三方面, 本发明提出了一种缀合物。根据本发明的实施例, 所述缀合物包括: 本发明第一方面所述的抗体或其抗原结合片段或本发明第二方面的多特异性抗体。

如前所述, 本发明实施例的抗 CD3 抗体或其抗原结合片段可用于制备双特异性抗体药物, 一方面, 制备的双特异性抗体药物能更多地分布到肿瘤局部, 增加肿瘤局部药物浓度, 降低外周药物浓度, 从而降低脱靶毒性风险; 另一方面, 该双特异性抗体可使得促炎性细胞因子产生减少, 降低多特异性抗体 (比如双特异性抗体) 在靶毒性风险。进一步地, 利用前述的抗 CD3 抗体或其抗原结合片段制备的药物可用于预防和/或治疗 CD3 相关疾病; 基于该抗 CD3 抗体或其抗原结合片段开发的 CD3 双特异性抗体药物, 安全性更高, 可用于预防和/或治疗癌症或肿瘤或感染或自身免疫疾病。由此, 包括本发明第一方面的抗 CD3 抗体或其抗原结合片段、本发明第二方面的多特异性抗体的缀合物具有良好的临床应用价值和药物开发价值。

在本发明的第四方面, 本发明提出了一种核酸。根据本发明的实施例, 所述核酸编码本发明第一方面所述的抗 CD3 抗体或其抗原结合片段或本发明第二方面所述的多特异性抗体。根据本发明的实施例, 所述核酸编码的本发明第一方面的抗体或其抗原结合片段或本发明第二方面的多特异性抗体, 适于开发安全性更高的单抗或双特异性抗体药物。进一步

地,所述核酸编码的蛋白可用于预防和/或治疗 CD3 相关疾病或预防和/或治疗癌症或肿瘤或感染或自身免疫疾病。

在本发明的第五方面,本发明提出了一种载体或转化子。根据本发明的实施例,所述载体或转化子含有本发明第四方面所述的核酸。由此,利用构建得到的载体或转化子,可有效表达本发明第一方面的抗体或其抗原结合片段或本发明二方面的多特异性抗体,以及获得本发明第三方面的缀合物。

在本发明的第六方面,本发明提出了一种细胞。根据本发明的实施例,所述细胞携带本发明第四方面所述的核酸或本发明第五方面所述的载体或转化子,或表达本发明第一方面所述的抗体或其抗原结合片段或本发明二方面的多特异性抗体。根据本发明的实施例,所述细胞在合适条件下可高效表达本发明第一方面的抗体或其抗原结合片段或本发明二方面的多特异性抗体,进一步地,获得可与人 CD3 蛋白结合安全性提高的抗体或其抗原结合片段或其多特异性抗体。

在本发明的第七方面,本发明提出了一种药物组合物。根据本发明的实施例,所述药物组合物包括:本发明第一方面的抗体或其抗原结合片段、本发明二方面的多特异性抗体、本发明第三方面的缀合物、本发明第四方面的核酸或在本发明的第五方面的载体或转化子。由此,获得的药物可进一步用于预防和/或治疗 CD3 相关疾病,或进一步用于预防和/或治疗 CD3 相关疾病和/或癌症或肿瘤或感染或自身免疫疾病。

在本发明的第八方面,本发明提出了一种试剂盒。根据本发明的实施例,所述试剂盒包含本发明第一方面的抗体或其抗原结合片段或本发明二方面的多特异性抗体。由此,获得的试剂盒可用于 CD3 相关研究。

在本发明的第九方面,本发明提出了本发明第一方面的抗体或其抗原结合片段或本发明二方面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 CD3。本领域技术人员能够理解的是,前面针对抗体或其抗原结合片段的特征和优点,同样适用于该用途,在此不再赘述。

在本发明的第十方面,本发明提出了本发明第一方面的抗体或其抗原结合片段、本发明二方面的多特异性抗体、本发明第三方面的缀合物、本发明第四方面的核酸、在本发明的第五方面的载体或转化子或本发明第七方面的药物组合物在制备药物中的用途,所述药物用于预防和/或治疗 CD3 相关疾病和/或癌症或肿瘤或感染或自身免疫疾病。利用本发明的抗体或其抗原结合片段、多特异性抗体和缀合物、核酸、载体或转化子或药物组合物可进一步制备成药物,该药物在临床上可用于预防或治疗疾病。

本领域技术人员能够理解的是,前面针对抗体或其抗原结合片段、缀合物、核酸分子、载体或转化子和药物组合物所描述的特征和优点,同样适用于该用途,在此不再赘述。

有益效果:

(1) 本发明获得的抗 CD3 抗体 Cross303、Cross307、Cross308、Cross309、Cross310、Cross311、Cross312、Cross313、Cross314、Cross316、Cross317、Cross318、Cross323、Cross325、Cross326、Cross3ZH07、Cross3ZH09、Cross3ZH16、Cross3ZH23 相较于母本抗体 Cross3 可减少 CD3 抗原结合部分引起的促炎性细胞因子产生。

(2) 本发明获得的抗体 Cross313、Cross316、Cross325 构建得到的双特异抗体,与母本抗体 Cross3 构建得到的双特异抗体相比,T 细胞结合能力更弱。

(3) 本发明获得的抗体 Cross313、Cross316、Cross325 构建得到的双特异抗体,与母本抗体 Cross3 构建得到的双特异抗体相比,同样能够促进 PBMC 最大程度杀伤肿瘤细胞,而且促进促炎性细胞因子产生的性能更弱,安全性更好。

本发明的附加方面和优点将在下面的描述中部分给出,部分将从下面的描述中变得明显,或通过本发明的实践了解到。

附图说明

本发明的上述和/或附加的方面和优点从结合下面附图对实施例的描述中将变得明显和容易理解,其中:

图 1 为根据本发明实施例的亲合力降低抗体与母本抗体 Cross3 相比氨基酸突变情况对比图;

图 2 为根据本发明实施例的母本抗体 Cross3 及亲合力降低抗体与 CD3E&D 蛋白亲合力测定的 SPR 结果图;

图 3 为根据本发明实施例的母本抗体 Cross3 及亲合力降低抗体与 CD3E&D 蛋白结合的 ELISA 结果图;

图 4 为根据本发明实施例的母本抗体 Cross3 及亲和力降低抗体与 CD8 T 细胞结合的流式细胞术结果图；

图 5 为根据本发明实施例的母本抗体 Cross3 及亲和力降低抗体构成的 CD3×Trop2 及 CD3×PDL1 双特异性抗体构型模式图；

图 6 为根据本发明实施例的母本抗体 Cross3 及亲和力降低抗体构成的 CD3×Trop2 双特异性抗体与 CD3E&D 蛋白结合的 ELISA 结果图；

图 7 为根据本发明实施例的母本抗体 Cross3 及亲和力降低抗体构成的 CD3×Trop2 双特异性抗体与 Trop2 蛋白结合的 ELISA 结果图；

图 8 为根据本发明实施例的母本抗体 Cross3 及亲和力降低抗体构成的 CD3×Trop2 双特异性抗体桥联 CD3E&D 与 Trop2 蛋白的 ELISA 结果图；

图 9 为根据本发明实施例的母本抗体 Cross3 及亲和力降低抗体构成的 CD3×Trop2 双特异性抗体与 CD8 T 细胞结合的流式细胞术结果图；

图 10 为根据本发明实施例的母本抗体 Cross3 及亲和力降低抗体构成的 CD3×Trop2 双特异性抗体与 A-375-Trop2 黑色素瘤细胞结合的流式细胞术结果图；

图 11 为根据本发明实施例的母本抗体 Cross3 及亲和力降低抗体构成的 CD3×Trop2 双特异性抗体促进 PBMC 杀伤 A-375-Trop2 黑色素瘤细胞的结果图；

图 12 为根据本发明实施例的 Cross3×Trop2、Cross313×Trop2、Cross316×Trop2、Cross325×Trop2 双特异性抗体促进 PBMC 杀伤 A-375-Trop2 黑色素瘤细胞的结果图；

图 13 为根据本发明实施例的 Cross3×Trop2、Cross313×Trop2、Cross316×Trop2、Cross325×Trop2 双特异性抗体促进 PBMC 分泌促炎性细胞因子的结果图；

图 14 为根据本发明实施例的母本抗体 Cross3 及亲和力降低抗体构成的 CD3×PDL1 双特异性抗体与 CD3E&D 蛋白结合的 ELISA 结果图；

图 15 为根据本发明实施例的母本抗体 Cross3 及亲和力降低抗体构成的 CD3×PDL1 双特异性抗体与 PDL1 蛋白结合的 ELISA 结果图；

图 16 为根据本发明实施例的母本抗体 Cross3 及亲和力降低抗体构成的 CD3×PDL1 双特异性抗体与 CD8 T 细胞结合的流式细胞术结果图；

图 17 为根据本发明实施例的母本抗体 Cross3 及亲和力降低抗体构成的 CD3×PDL1 双特异性抗体与 A-375 黑色素瘤细胞结合的流式细胞术结果图；

图 18 为根据本发明实施例的母本抗体 Cross3 及亲和力降低抗体构成的 CD3×PDL1 双特异性抗体与 HCT-15 结直肠癌细胞结合的流式细胞术结果图；

图 19 为根据本发明实施例的母本抗体 Cross3 及亲和力降低抗体构成的 CD3×PDL1 双特异性抗体与 A-549 肺癌细胞结合的流式细胞术结果图；

图 20 为根据本发明实施例的母本抗体 Cross3 及亲和力降低抗体构成的 CD3×PDL1 双特异性抗体促进 PBMC 杀伤 A-375 黑色素瘤细胞的结果图；

图 21 为根据本发明实施例的 Cross3×PDL1、Cross313×PDL1、Cross316×PDL1、Cross325×PDL1 促进 PBMC 杀伤 A-375 黑色素瘤细胞的结果图；

图 22 为根据本发明实施例的母本抗体 Cross3 及亲和力降低抗体构成的 CD3×PDL1 双特异性抗体促进 PBMC 杀伤 HCT-15 结直肠癌细胞的结果图；

图 23 为根据本发明实施例的母本抗体 Cross3 及亲和力降低抗体构成的 CD3×PDL1 双特异性抗体促进 PBMC 与 A-375 共孵育后分泌促炎性细胞因子的结果图；

图 24 为根据本发明实施例的母本抗体 Cross3 及亲和力降低抗体构成的 CD3×PDL1 双特异性抗体促进 PBMC 与

HCT-15 共孵育后分泌促炎性细胞因子的结果图。

具体实施方式

下面详细描述本发明的实施例，所述实施例的示例在附图中示出。下面通过参考附图描述的实施例是示例性的，旨在用于解释本发明，而不能理解为对本发明的限制。

此外，术语“第一”、“第二”仅用于描述目的，而不能理解为指示或暗示相对重要性或者隐含指明所指示的技术特征的数量。由此，限定有“第一”、“第二”的特征可以明示或者隐含地包括至少一个该特征。在本发明的描述中，“多个”的含义是至少两个，例如两个，三个等，除非另有明确具体的限定。

在本文中所披露的范围的端点和任何值都不限于该精确的范围或值，这些范围或值应当理解为包含接近这些范围或值的值。对于数值范围来说，各个范围的端点值之间、各个范围的端点值和单独的点值之间，以及单独的点值之间可以彼此组合而得到一个或多个新的数值范围，这些数值范围应被视为在本文中具体公开。

术语及定义

为了更容易理解本发明，以下具体定义了某些技术和科学术语。除显而易见在本文件中的它处另有明确定义，否则本文中使用的所有其它技术和科学术语都具有本发明所属领域的一般技术人员通常理解的含义。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。

本文中，术语“抗体”通常是指可识别一种或多种抗原表位的抗体，包括但不限于单克隆抗体、多克隆抗体、二聚体、多聚体、多特异性抗体(例如双特异性抗体)、仅重链抗体、三链抗体、单链 Fv(scFv)、纳米抗体等，并且还包括抗体片段，只要它们表现出所需的生物学活性。抗体可以是鼠的、人的、人源化的、嵌合的、或来源于其他物种。抗体可以是指全长重链、全长轻链、完整免疫球蛋白分子；或这些多肽中的任一种的免疫活性部分，即包含免疫特异性结合感兴趣的靶抗原的抗原结合位点的分子或其部分，此类靶标包括但不限于癌细胞或产生与自身免疫病相关的自身免疫抗体的细胞。

本文中，在可变区中某些区域氨基酸组成和排列顺序具有更高的变化程度，称为“高变区(Hypervariable region, HVR)”，高变区为抗原和抗体结合的位置，因此也称为决定簇互补区(complementarity-determining region, CDR)。重链可变区和轻链可变区上均有三个 CDR 区。例如，通常包括：轻链可变区中 23-34(L1)、50-56(L2)和 89-97(L3)附近，和重链可变区中 31-35B(H1)、50-65(H2)和 95-102(H3)附近的氨基酸残基；和/或来自“高变环”(例如，轻链可变区中 26-32(L1)、50-52(L2)和 91-96(L3)，和重链可变区中 26-32(H1)、53-55(H2)和 96-101(H3)附近的氨基酸残基。

本文中，术语“抗 CD3 抗体”是指能够结合 CD3 的抗体。这种抗体在本文中也称为“结合 CD3 的抗体”。

本文中，术语“Fab-Linker”是指将抗体 Fab 片段的 Fab VH-CH1 和 Fab VL-CL 通过连接肽连接得到的多肽段。包括但不限于：scFab、scFab Δ (连接肽中不包括二硫键)。

本文中，术语“抗原结合片段”等同于“抗体片段”或“抗原结合性抗体片段”，可以包括完整抗体的一部分，一般是结合区或可变区。包括但不限于：Fv、scFv、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂、scFv-Fc 片段或者双特异性抗体体(Bispecific antibodies, BsAbs)、线性抗体或者通过化学修饰或通过掺入脂质体中应能够增加半衰期的任何片段，所述化学修饰例如添加聚(亚烷基)二醇，如聚乙二醇(“聚乙二醇化，PEG 化”)(被称为 Fv-PEG、scFv-PEG、Fab-PEG、F(ab')₂-PEG 或 Fab'-PEG 的聚乙二醇化片段)(“PEG”为聚乙二醇)。

本文中，术语“嵌合抗体”是指利用重组 DNA 技术，将来自一个物种(如小鼠)的单克隆抗体的恒定区氨基酸序列替换为来自另一个物种(如人)的抗体的恒定区而获得的重组抗体。

本文中，术语“人源化抗体”是指利用重组 DNA 技术，将来自一个物种(如小鼠)的单克隆抗体的恒定区和可变区的非 CDR(Fv 骨架区(FR))氨基酸序列全部替换为来自另一个物种(如人)的抗体的恒定区和可变区的非 CDR 氨基酸序列而获得的重组抗体。也即，一个抗体的恒定区被人源化时称为嵌合抗体，而恒定区和可变区的非 CDR 氨基酸序列全部人源化后称为人源化抗体。人源化的方法可以参照常规的抗体工程技术进行，在此不再赘述。

对于核苷酸而言，术语“同源性”、“同一性”或“相似性”用来描述或比较两个或更多个核苷酸序列的核苷酸相似程度。

可以通过将[第一序列中与相应位置的核苷酸相同的核苷酸的数目相除]来计算第一序列和第二序列之间的“序列同源性”的百分比。第二个序列中的核苷酸]减去[第一个序列中核苷酸的总数],然后乘以[100%],其中第二个核苷酸序列中每个核苷酸的缺失,插入,取代或添加-相对于第一核苷酸序列-被认为是单个核苷酸(位置)上的差异。或者,可以使用标准设置,使用用于序列比对的已知计算机算法,例如 NCBI Blast v2.0, 计算两个或多个核苷酸序列之间的序列同一性程度。用于确定序列同一性程度的一些其他技术,计算机算法和设置例如在 WO 04/037999, EP 0 967 284, EP 1 085 089, WO 00/55318, WO 00/78972, WO 98/49185 和 GB 2357768-A。

对于多肽而言,术语“(实质)同源性”、“同一性”或“相似性”用来描述或比较两个或更多个多肽或其指定序列在最佳比对及比较(其中适当插入或缺失核苷酸)时的氨基酸相似程度。两条序列之间的同源性%在最佳比对序列时随这些序列所共享的相同位置数而变化(即同源性% = 相同位置数/总位置数×100),其中最佳比对系考虑到为达成两条序列的最佳比对而需要引入的空位数及每一空位的长度来确定。两条序列之间的序列比较及同一性百分数测定可使用数学算法来完成,如下文非限制性实施例中所述。

本文中,术语“保守修饰形式的氨基酸序列”指这样的氨基酸修饰,所述修饰不显著影响或改变包含该氨基酸序列的抗体的结合特性,该修饰包括氨基酸置换、增加和缺失。修饰可通过例如定点诱变和 PCR 介导的诱变等标准技术引入本发明的抗体中。保守氨基酸置换系其中的氨基酸残基被具有相似侧链的氨基酸残基替换的置换。在本领域中已经确定具有相似侧链的氨基酸残基家族。这些家族包括具有碱性侧链的氨基酸(如赖氨酸、精氨酸、组氨酸),具有酸性侧链的氨基酸(如天冬氨酸、谷氨酸),具有不带电的极性侧链的氨基酸(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),具有非极性侧链的氨基酸(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),具有 β -支化侧链的氨基酸(如苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸)、和具有芳香侧链的氨基酸(如酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、组氨酸)。

在本文中,术语“缀合物”,结合上下文理解,是指使用任何共价或非共价生物缀合策略与偶联部分比如载体物质、药物、毒素、细胞因子、蛋白标签、修饰物、治疗剂和化疗剂等缀合的抗体或其抗原结合片段。

在本文中,术语“载体”通常是指能够插入在合适的宿主中自我复制的核酸分子,其将插入的核酸分子转移到宿主细胞中和/或宿主细胞之间。所述载体可包括主要用于将 DNA 或 RNA 插入细胞中的载体、主要用于复制 DNA 或 RNA 的载体,以及主要用于 DNA 或 RNA 的转录和/或翻译的表达的载体。所述载体还包括具有多种上述功能的载体。所述载体可以是当引入合适的宿主细胞时能够转录并翻译成多肽的多核苷酸。通常,通过培养包含所述载体的合适的宿主细胞,所述载体可以产生期望的表达产物。

在本文中,术语“药物组合物”通常是指单位剂量形式,并且可以通过制药领域中熟知的方法的任何一种进行制备。所有的方法包括使活性成分与构成一种或多种附属成分的载体相结合的步骤。通常,通过均匀并充分地使活性化合物与液体载体、细碎固体载体或这两者相结合,制备组合物。

在本文中,术语“药学上可接受的”的成分是适用于人和/或哺乳动物而无过度不良反应(如毒性、刺激和变态反应)的,即具有合理的效益/风险比的物质。

在本文中,术语“药学上可接受的辅料”均可包括任何溶剂、固体赋形剂、稀释剂或其他液体赋形剂等等,适合于特定的目标剂型。除了任何常规的辅料与本发明的化合物不相容的范围,例如所产生的任何不良的生物效应或与药学上可接受的组合物的任何其他组分以有害的方式产生的相互作用,它们的用途也是本发明所考虑的范围。

在本文中,术语“给药”指将预定量的物质通过某种适合的方式引入病人。本发明的抗体或抗原结合片段、重组蛋白、多特异性抗体、偶联物或药物组合物可以通过任何常见的途径被给药,只要它可以到达预期的组织。给药的各种方式是可以预期的,包括腹膜、静脉注射、肌肉注射、皮下注射等等,但是本发明不限于这些已举例的给药方式。优选地,本发明的组合物采用静脉注射或皮下注射方式被给药。

在本文中,术语“治疗”是指用于获得期望的药理学和/或生理学效果。所述效果就完全或部分预防疾病或其症状而言可以是预防性的,和/或就部分或完全治愈疾病和/或疾病导致的不良作用而言可以是治疗性的。本文使用的“治疗”涵盖哺

乳动物、特别是人的疾病，包括：(a)在容易患病但是尚未确诊得病的个体中预防疾病或病症发生；(b)抑制疾病，例如阻滞疾病发展；或(c)缓解疾病，例如减轻与疾病相关的症状。本文使用的“治疗”涵盖将药物或化合物给予个体以治疗、治愈、缓解、改善、减轻或抑制个体的疾病的任何用药，包括但不限于将含本文所述化合物的药物给予有需要的个体。

如本文所用，术语“有效量”或“有效剂量”是指可对人和/或动物产生功能或活性的且可被人/或动物所接受的量。

本发明提出了一种抗 CD3 抗体或其抗原结合片段、多特异性抗体、缀合物、核酸分子、载体或转化子、细胞、药物组合物、试剂盒及其应用，下面将分别对其进行详细描述。

抗 CD3 抗体或其抗原结合片段

本发明提供一种抗 CD3 抗体或其抗原结合片段。所述抗 CD3 抗体或其抗原结合片段包括：重链可变区 CDRs 和轻链可变区 CDRs，其中，所述重链可变区 CDRs 具有如 SEQ ID NO: 1~3、7~8 和 74~86 任一项所示或其保守修饰形式的氨基酸序列；和/或所述轻链可变区 CDRs 具有如 SEQ ID NO: 4~6、9 和 87~92 任一项所示或其保守修饰形式的氨基酸序列。

本发明的抗 CD3 抗体或其抗原结合片段可与人 CD3 蛋白结合，且可减少促炎性细胞因子的产生。基于该 CD3 抗体或其抗原结合片段开发的 CD3 双特异性抗体具有高的 PBMC 灭杀肿瘤的杀伤活性和弱的促进促炎性细胞因子分泌性能；制备成药物后，一方面，能更多地分布到肿瘤局部，增加肿瘤局部药物浓度，降低外周药物浓度，从而降低脱靶毒性风险；另一方面，该双特异性抗体药物可减少促炎性细胞因子产生，降低在靶毒性风险。进一步地，利用所述的抗 CD3 抗体或其抗原结合片段制备的药物可用于预防和/或治疗 CD3 相关疾病；基于所述的抗 CD3 抗体或其抗原结合片段开发的 CD3 双特异性抗体药物，安全性更高，可用于预防和/或治疗癌症或肿瘤或感染或自身免疫疾病。由此，本发明的抗 CD3 抗体或其抗原结合片段具有良好的临床应用价值和药物开发价值。

需要说明的是，本发明的抗体或其抗原结合片段 CDR 区中的一个或多个氨基酸残基可以被来自相同侧链家族的其他氨基酸残基替代，并且其可用本文中说明的功能测定方法对经改变的抗体的保留功能进行测试。优选的是，保守修饰在数目上不超过 1 个或 2 个。

根据本发明的实施例，所述重链可变区 CDRs 具有如 SEQ ID NO: 1~2 所示或其保守修饰形式的氨基酸序列，以及如 SEQ ID NO: 3、7~8 和 74~86 其中之一所示或其保守修饰形式的氨基酸序列；所述轻链可变区 CDRs 具有如 SEQ ID NO: 4~5 所示或其保守修饰形式的氨基酸序列，以及如 SEQ ID NO: 6、9 和 87~92 其中之一所示或其保守修饰形式的氨基酸序列。

根据本发明的实施例，所述抗体或其抗原结合片段包含：重链可变区 CDR1 具有如 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列，重链可变区 CDR2 具有如 SEQ ID NO: 2 所示的氨基酸序列，重链可变区 CDR3 具有如 SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 7~8 和 SEQ ID NO: 74~86 其中之一所示的氨基酸序列；轻链可变区 CDR1 具有如 SEQ ID NO: 4 所示的氨基酸序列，轻链可变区 CDR2 具有如 SEQ ID NO: 5 所示的氨基酸序列，轻链可变区 CDR3 具有如 SEQ ID NO: 6、9 和 87~92 其中之一所示的氨基酸序列。

根据本发明的实施例，所述重链可变区 CDR3 具有如 SEQ ID NO: 3 和 7~8 其中之一所示的氨基酸序列；和/或所述轻链可变区 CDR3 具有如 SEQ ID NO: 6 或 9 所示的氨基酸序列。

根据本发明的实施例，所述抗体或其抗原结合片段包含如下任一组：

- 1) 分别具有如 SEQ ID NO: 1、2 和 74 所示的重链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3，分别具有如 SEQ ID NO: 4、5 和 6 所示的轻链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3；
- 2) 分别具有如 SEQ ID NO: 1、2 和 75 所示的重链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3，分别具有如 SEQ ID NO: 4、5 和 6 所示的轻链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3；
- 3) 分别具有如 SEQ ID NO: 1、2 和 76 所示的重链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3，分别具有如 SEQ ID NO: 4、5 和 6 所示的轻链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3；
- 4) 分别具有如 SEQ ID NO: 1、2 和 77 所示的重链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3，分别具有如 SEQ ID NO: 4、5 和 6 所示的轻链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3；
- 5) 分别具有如 SEQ ID NO: 1、2 和 78 所示的重链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3，分别具有如 SEQ ID NO: 4、5 和

6所示的轻链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3;

6) 分别具有如 SEQ ID NO: 1、2 和 79 所示的重链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3, 分别具有如 SEQ ID NO: 4、5 和 6 所示的轻链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3;

7) 分别具有如 SEQ ID NO: 1、2 和 80 所示的重链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3, 分别具有如 SEQ ID NO: 4、5 和 6 所示的轻链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3;

8) 分别具有如 SEQ ID NO: 1、2 和 81 所示的重链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3, 分别具有如 SEQ ID NO: 4、5 和 6 所示的轻链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3;

9) 分别具有如 SEQ ID NO: 1、2 和 82 所示的重链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3, 分别具有如 SEQ ID NO: 4、5 和 6 所示的轻链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3;

10) 分别具有如 SEQ ID NO: 1、2 和 83 所示的重链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3, 分别具有如 SEQ ID NO: 4、5 和 6 所示的轻链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3;

11) 分别具有如 SEQ ID NO: 1、2 和 3 所示的重链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3, 分别具有如 SEQ ID NO: 4、5 和 6 所示的轻链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3;

12) 分别具有如 SEQ ID NO: 1、2 和 7 所示的重链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3, 分别具有如 SEQ ID NO: 4、5 和 6 所示的轻链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3;

13) 分别具有如 SEQ ID NO: 1、2 和 8 所示的重链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3, 分别具有如 SEQ ID NO: 4、5 和 87 所示的轻链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3;

14) 分别具有如 SEQ ID NO: 1、2 和 8 所示的重链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3, 分别具有如 SEQ ID NO: 4、5 和 88 所示的轻链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3;

15) 分别具有如 SEQ ID NO: 1、2 和 8 所示的重链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3, 分别具有如 SEQ ID NO: 4、5 和 9 所示的轻链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3;

16) 分别具有如 SEQ ID NO: 1、2 和 84 所示的重链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3, 分别具有如 SEQ ID NO: 4、5 和 89 所示的轻链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3;

17) 分别具有如 SEQ ID NO: 1、2 和 85 所示的重链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3, 分别具有如 SEQ ID NO: 4、5 和 90 所示的轻链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3;

18) 分别具有如 SEQ ID NO: 1、2 和 86 所示的重链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3, 分别具有如 SEQ ID NO: 4、5 和 92 所示的轻链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3;

19) 分别具有如 SEQ ID NO: 1、2 和 8 所示的重链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3, 分别具有如 SEQ ID NO: 4、5 和 91 所示的轻链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3。

需要说明的是, 所述抗原结合片段将由其来源抗体的重链可变区或轻链可变区的部分序列构成或者包含轻、重链可变区的部分序列, 所述部分序列足以保留与其来源抗体相同的结合特异性和充分的亲和力。

根据本发明的实施例, 所述抗体或其抗原结合片段包含重链框架区和/或轻链框架区。

根据本发明的实施例, 所述重链框架区和/或轻链框架区的至少一部分来自于鼠源抗体、人源抗体、灵长目源抗体、牛源抗体、马源抗体、乳牛源抗体、猪源抗体、绵羊源抗体、山羊源抗体、狗源抗体、猫源抗体、兔源抗体、骆驼源抗体、驴源抗体、鹿源抗体、貂源抗体、鸡源抗体、鸭源抗体、鹅源抗体、火鸡源抗体、斗鸡源抗体或其突变体中的至少之一; 优选为鼠源抗体、人源抗体和灵长目源抗体中的至少之一。

需要说明的是, 为了进一步提高抗体的生物可接受性, 还可以对抗体进行人源化, 即, 所述抗体为嵌合抗体或人源化抗体。

如前所述, 本发明的抗体或其抗原结合片段的重链或轻链可变区中的一个或多个氨基酸残基可以被来自相同侧链家族的其他氨基酸残基替代, 并且其可用本文中说明的功能测定方法对经改变的抗体的保留功能进行测试。

根据本发明的实施例，所述抗体或其抗原结合片段包含：具有如 SEQ ID NO: 10、12~13、15~24、27 和 31 其中之一所示的氨基酸序列或其保守修饰形式的氨基酸序列的重链可变区；和/或，具有如 SEQ ID NO: 11、14、25~26、28 和 30 其中之一所示的氨基酸序列或其保守修饰形式的氨基酸序列的轻链可变区。

需要说明的是，在不实质性影响抗体或其抗原结合片段 CD3 结合活性（保留至少 95%的活性）的前提下，本领域技术人员可以对本发明的抗体或其抗原结合片段的重链或轻链可变区氨基酸序列替换、添加和/或缺失一个或多个（例如 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 个或多个）氨基酸，以获得所述抗体或其抗原结合片段之序列的变体。它们都被视为包括在本发明保护的范围内。如在重链或轻链可变区将具有类似性质的氨基酸进行替换。本发明上述变体的序列可以与参比序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%的同一性（或同源性）。

需要说明的是，本发明所述的序列同一性可以使用序列分析软件测量。例如使用缺省参数的计算机程序 BLAST，尤其是 BLASTP 或 TBLASTN。

根据本发明的实施例，所述重链可变区具有与 SEQ ID NO: 10、12~13、15~24、27 和 31 其中之一所示的氨基酸序列具有至少 90%序列同一性的氨基酸序列；和/或，所述轻链可变区具有与 SEQ ID NO: 11、14、25~26、28 和 30 其中之一所示的氨基酸序列具有至少 90%序列同一性的氨基酸序列。

根据本发明的实施例，所述抗体或其抗原结合片段包含具有如下任一组重链可变区和轻链可变区组合所示的氨基酸序列或与其具有至少 90%序列同一性的氨基酸序列：

抗体或其抗原结合片段组别号	重链可变区	轻链可变区
1	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 11
2	SEQ ID NO: 16	SEQ ID NO: 11
3	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 11
4	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 11
5	SEQ ID NO: 19	SEQ ID NO: 11
6	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 11
7	SEQ ID NO: 21	SEQ ID NO: 11
8	SEQ ID NO: 22	SEQ ID NO: 11
9	SEQ ID NO: 23	SEQ ID NO: 11
10	SEQ ID NO: 24	SEQ ID NO: 11
11	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 11
12	SEQ ID NO: 12	SEQ ID NO: 11
13	SEQ ID NO: 13	SEQ ID NO: 25
14	SEQ ID NO: 13	SEQ ID NO: 26
15	SEQ ID NO: 13	SEQ ID NO: 14
16	SEQ ID NO: 27	SEQ ID NO: 28
17	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 28
18	SEQ ID NO: 13	SEQ ID NO: 30
19	SEQ ID NO: 31	SEQ ID NO: 26

。

根据本发明的实施例，所述抗体或其抗原结合片段进一步包含恒定区；其中，所述恒定区包括重链恒定区和轻链恒定区中的至少之一。

根据本发明的实施例，所述重链恒定区和轻链恒定区的至少之一的至少一部分来自于鼠源抗体、人源抗体、灵长目源抗体、牛源抗体、马源抗体、乳牛源抗体、猪源抗体、绵羊源抗体、山羊源抗体、狗源抗体、猫源抗体、兔源抗体、骆驼源抗体、驴源抗体、鹿源抗体、貂源抗体、鸡源抗体、鸭源抗体、鹅源抗体、火鸡源抗体、斗鸡源抗体或其突变体中的至少之一。

需要说明的是，本文述及的免疫球蛋白可为任何类型(例如，IgG、IgE、IgM、IgD 和 IgA)、类别(例如，IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1 和 IgA2)或亚类的免疫球蛋白分子，包括具有改变的 Fc 部分的工程化亚类，其提供降低的或增强的效应细胞活性。免疫球蛋白可来源于任何物种。

根据本发明的实施例，所述重链恒定区包括选自 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、IgM、IgE 或 IgD 的重链恒定区；

和/或，所述轻链恒定区包括选自 κ 型或 λ 型轻链恒定区。

在一些具体的实施方案中，所述重链恒定区包括选自人 IgG、IgA、IgM、IgE 或 IgD，例如人 IgG1、人 IgG2、人 IgG3、人 IgG4、人 IgA、人 IgM、人 IgE 或人 IgD 的重链恒定区。

在一些具体的实施方案中，所述重链恒定区包括选自鼠 IgG、IgA、IgM、IgE 或 IgD，例如鼠 IgG1、鼠 IgG2a、鼠 IgG2b、鼠 IgG2c、鼠 IgG3、鼠 IgA、鼠 IgM、鼠 IgE 或鼠 IgD 的重链恒定区。

根据本发明的实施例，所述轻链恒定区和重链恒定区均来自于鼠源抗体或其突变体，或者人源抗体或其突变体。

需要说明的是，本发明述及的氨基酸序列均按照 N 端至 C 端的方式示出。

根据本发明的实施例，所述重链恒定区的 N 端与所述重链可变区的 C 端相连；和/或，所述轻链恒定区的 N 端与所述轻链可变区的 N 端相连。

如前所述，在不实质性影响抗体或其抗原结合片段 CD3 结合活性（保留至少 95% 的活性）的前提下，本领域技术人员可以对本发明的抗体或其抗原结合片段的轻链或重链恒定区的氨基酸序列替换、添加和/或缺失一个或更多个（例如 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 个或更多个）氨基酸，以获得所述抗体或其抗原结合片段之序列的变体。它们都被视为包括在本发明保护的范围内。如在重链或轻链恒定区将具有类似性质的氨基酸进行替换。本发明上述变体的序列可以与参比序列具有至少 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98% 或 99% 的同一性（或同源性）。

根据本发明的实施例，所述重链恒定区具有如 SEQ ID NO: 93 所示的氨基酸序列或与其具有至少 80% 同一性的氨基酸序列；和/或，所述轻链恒定区具有如 SEQ ID NO: 94 所示的氨基酸序列或与其具有至少 80% 同一性的氨基酸序列。

根据本发明的实施例，所述重链恒定区和轻链恒定区分别具有如 SEQ ID NO: 93 和 SEQ ID NO: 94 所示的氨基酸序列。

根据本发明的实施例，所述重链可变区的 C 端和所述轻链可变区的 N 端相连，或所述重链可变区的 N 端和所述轻链可变区的 C 端相连。

根据本发明的实施例，所述抗体或其抗原结合片段进一步包含第一连接肽，所述重链可变区的 C 端和所述第一连接肽的 N 端相连、所述第一连接肽的 C 端与所述轻链可变区的 N 端相连，或所述轻链可变区的 C 端与所述第一连接肽的 N 端相连、所述第一连接肽的 C 端与所述重链可变区的 N 端相连。

在一些具体的实施方案中，所述第一连接肽具有如 (GGGGS)_n 所示的氨基酸序列，其中 n 为大于或等于 1 的整数，优选为 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10。

如前所述，本发明的抗体可以是全长的（例如，IgG1 或 IgG4 抗体）或仅包含抗原结合部分（例如，Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂ 或 Fv、scFv 片段），或可以被修饰影响功能。本发明包括具有修饰的糖基化模式的抗 CD3 抗体。在一些实施方式中，进行修饰以除去不期望的糖基化位点可以是有用的，或在寡糖链上不存在岩藻糖部分以例如增强抗体依赖性细胞毒性(ADCC)功能的抗体。在另一些实施方式中，可进行半乳糖基化修饰以改变补体依赖性细胞毒性(CDC)。

根据本发明的实施例，所述抗体包括全长单克隆抗体、嵌合抗体、人源化抗体、Fv、scFv、Fab、Fab'、Fab'-SH 和 F(ab')₂ 中的至少之一；所述抗体的抗原结合片段包括 F(ab')₂ 片段、Fab' 片段、Fab 片段、F(ab)₂ 片段、Fv 片段、scFv 片段、scFv-Fc 融合蛋白、scFv-Fv 融合蛋白和最小识别单位中的至少之一。

如前所述，在不实质性影响抗体或其抗原结合片段 CD3 结合活性（保留至少 95% 的活性）的前提下，本领域技术人员可以对本发明的抗体或其抗原结合片段的轻链或重链、scFv 片段、Fab 片段或 scFab 片段的氨基酸序列替换、添加和/或缺失一个或更多个（例如 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 个或更多个）氨基酸，以获得所述抗体或其抗原结合片段之序列的变体。它们都被视为包括在本发明保护的范围内。如在重链或轻链将具有类似性质的氨基酸进行替换。本发明上述变体的序列可以与参比序列具有至少 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98% 或 99% 的同一性（或同源性）。

根据本发明的实施例，所述抗体或抗原结合片段包含：具有如 SEQ ID NO: 32、34、35 和 37-46 其中之一所示的氨基酸序列或与其具有至少 80% 同一性的氨基酸序列的重链；和/或，具有如 SEQ ID NO: 33、36 和 47-48 其中之一所示的氨基酸序列或与其具有至少 80% 同一性的氨基酸序列的轻链。

根据本发明的实施例，所述抗体或其抗原结合片段具有如下任一组重链和轻链组合所示的氨基酸序列或与其具有至少 80%序列同一性的氨基酸序列：

抗体或其抗原结合片段组别号	重链	轻链
1	SEQ ID NO: 37	SEQ ID NO: 33
2	SEQ ID NO: 38	SEQ ID NO: 33
3	SEQ ID NO: 39	SEQ ID NO: 33
4	SEQ ID NO: 40	SEQ ID NO: 33
5	SEQ ID NO: 41	SEQ ID NO: 33
6	SEQ ID NO: 42	SEQ ID NO: 33
7	SEQ ID NO: 43	SEQ ID NO: 33
8	SEQ ID NO: 44	SEQ ID NO: 33
9	SEQ ID NO: 45	SEQ ID NO: 33
10	SEQ ID NO: 46	SEQ ID NO: 33
11	SEQ ID NO: 32	SEQ ID NO: 33
12	SEQ ID NO: 34	SEQ ID NO: 33
13	SEQ ID NO: 35	SEQ ID NO: 47
14	SEQ ID NO: 35	SEQ ID NO: 48
15	SEQ ID NO: 35	SEQ ID NO: 36
16	SEQ ID NO: 95	SEQ ID NO: 119
17	SEQ ID NO: 96	SEQ ID NO: 120
18	SEQ ID NO: 97	SEQ ID NO: 121
19	SEQ ID NO: 98	SEQ ID NO: 122

。

根据本发明的实施例，所述抗体或其抗原结合片段具有 SEQ ID NO: 99~117 任一项所示的氨基酸序列或与其具有至少 80%序列同一性的氨基酸序列。

根据本发明的实施例，所述抗体或其抗原结合片段具有如下任一组 Fab VL-CL 和 Fab VH-CH1 组合所示的氨基酸序列或与其具有至少 80%序列同一性的氨基酸序列：

抗体或其抗原结合片段组别号	Fab VH-CH1	Fab VL-CL
1	SEQ ID NO: 123	SEQ ID NO: 33
2	SEQ ID NO: 124	SEQ ID NO: 33
3	SEQ ID NO: 125	SEQ ID NO: 33
4	SEQ ID NO: 126	SEQ ID NO: 33
5	SEQ ID NO: 127	SEQ ID NO: 33
6	SEQ ID NO: 128	SEQ ID NO: 33
7	SEQ ID NO: 129	SEQ ID NO: 33
8	SEQ ID NO: 130	SEQ ID NO: 33
9	SEQ ID NO: 131	SEQ ID NO: 33
10	SEQ ID NO: 132	SEQ ID NO: 33
11	SEQ ID NO: 133	SEQ ID NO: 33
12	SEQ ID NO: 134	SEQ ID NO: 33
13	SEQ ID NO: 135	SEQ ID NO: 47
14	SEQ ID NO: 136	SEQ ID NO: 36
15	SEQ ID NO: 137	SEQ ID NO: 48
16	SEQ ID NO: 138	SEQ ID NO: 119
17	SEQ ID NO: 139	SEQ ID NO: 120

18	SEQ ID NO:140	SEQ ID NO: 121
19	SEQ ID NO:141	SEQ ID NO: 122

。根据本发明的实施例，所述抗体或其抗原结合片段具有如 SEQ ID NO: 142~160 任一项所示的氨基酸序列或与其具有至少 80%序列同一性的氨基酸序列。

多特异性抗体

本发明提供一种多特异性抗体。所述多特异性抗体包括：第一抗原结合区，所述第一抗原结合区包含上述的抗 CD3 抗体或其抗原结合片段；第二抗原结合区，所述第二抗原结合区具有生物分子结合活性，所述生物分子不为 CD3。

如前所述，基于本发明第一方面所述抗 CD3 抗体或其抗原结合片段开发的多特异性抗体（比如双特异性抗体），制备成药物后能更多地分布到肿瘤局部，增加肿瘤局部药物浓度，降低外周药物浓度，从而降低脱靶毒性风险；同时，可减少促炎性细胞因子产生，降低多特异性抗体（比如双特异性抗体）在靶毒性风险。由此，基于本发明第一方面的抗 CD3 抗体或其抗原结合片段的多特异性抗体具有更好的安全性，临床应用价值和药物开发价值高。

根据本发明的实施例，所述多特异性抗体选自双特异性抗体、三特异性抗体和四特异性抗体之一。

优选为双特异性抗体。

根据本发明的实施例，所述双特异性抗体包括对称双特异性抗体或不对称双特异性抗体。

根据本发明的实施例，所述第二抗原结合区为所述生物分子的结合蛋白或其片段。

根据本发明的实施例，所述生物分子选自如下至少之一：PDL1、CD47、TIGIT、CD73、CD33、CEACAM1、CEACAM5、CEACAM6、STING、WNT、Beta catenin、B7H3、VISITA 、CD19、BCMA、CD22、CD20、CD123、CD38、CEA、CD25、CD46、CD138、PSCA、PSMA、PSA、MUC1、MUC16、NY-ESO-1、GD2、WT1、Mesothelin、MAGE-A3、GPC3、PRAME、Globo H、AFP、Trop2、FOLR1、SP、Sca-1、CD133、EPCAM。

根据本发明的实施例，所述结合蛋白或其片段选自抗体或其抗原结合片段、受体、以及配体中的至少之一。

根据本发明的实施例，所述双特异性抗体为不对称双特异性抗体。

根据本发明的实施例，所述第一抗原结合区包含第一 scFv 片段、第一 Fv 片段、第一 Fab 片段或第一 Fab-Linker 片段。

根据本发明的实施例，所述第一抗原结合区进一步包含第一 Fc 肽段。

根据本发明的实施例，所述第一 Fc 肽段的 N 端和所述 scFv 片段或 Fv 片段的 C 端相连；或者，所述第一 Fc 肽段的 N 端和所述 Fab 片段或 Fab-Linker 片段的 CH1 的 C 端相连。

根据本发明的实施例，所述第一抗原结合区进一步包含第二连接肽，所述第一 Fc 肽段的 N 端和所述第二连接肽的 C 端相连、所述第二连接肽的 N 端和所述 scFv 片段或 Fv 片段的 C 端相连；或者，所述第一 Fc 肽段的 N 端和所述第二连接肽的 C 端相连、所述第二连接肽的 N 端和所述 Fab 片段或 Fab-Linker 片段的 CH1 的 C 端相连。

在一些具体的实施方案中，所述第二连接肽具有如（GGGGS）_n 所示的氨基酸序列，其中 n 为大于或等于 1 的整数，优选为 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10。

根据本发明的实施例，所述第一 Fc 肽段选自人 Fc 肽段。优选为人 IgG1 Fc 肽段。

根据本发明的实施例，所述第一 Fc 肽段具有如 SEQ ID NO: 118 所示的氨基酸序列；或所述第一 Fc 肽段具有如 SEQ ID NO:166 所示的氨基酸序列。

根据本发明的实施例，所述第一 scFv 片段具有 SEQ ID NO: 95~117 任一项所示的氨基酸序列。

根据本发明的实施例，所述第一 Fab 片段具有如下任一 Fab VL-CL 和 Fab VH-CH1 组合所示的氨基酸序列：

第一 Fab 片段组别号	Fab VH-CH1	Fab VL-CL
1	SEQ ID NO: 123	SEQ ID NO: 33
2	SEQ ID NO: 124	SEQ ID NO: 33

3	SEQ ID NO: 125	SEQ ID NO: 33
4	SEQ ID NO: 126	SEQ ID NO: 33
5	SEQ ID NO: 127	SEQ ID NO: 33
6	SEQ ID NO: 128	SEQ ID NO: 33
7	SEQ ID NO: 129	SEQ ID NO: 33
8	SEQ ID NO: 130	SEQ ID NO: 33
9	SEQ ID NO: 131	SEQ ID NO: 33
10	SEQ ID NO: 132	SEQ ID NO: 33
11	SEQ ID NO: 133	SEQ ID NO: 33
12	SEQ ID NO: 134	SEQ ID NO: 33
13	SEQ ID NO: 135	SEQ ID NO: 47
14	SEQ ID NO: 136	SEQ ID NO: 36
15	SEQ ID NO: 137	SEQ ID NO: 48
16	SEQ ID NO: 138	SEQ ID NO: 119
17	SEQ ID NO: 139	SEQ ID NO: 120
18	SEQ ID NO: 140	SEQ ID NO: 121
19	SEQ ID NO: 141	SEQ ID NO: 122

。

根据本发明的实施例，所述第一 Fab-Linker 具有如 SEQ ID NO: 142~160 任一项所示的氨基酸序列。

根据本发明的实施例，所述第一抗原结合区具有如 SEQ ID NO: 49~52、54~68 任一项所示的氨基酸序列。

根据本发明的实施例，所述生物分子为 Trop2 或 PDL1。

根据本发明的实施例，所述第二抗原结合区包含第一抗 Trop2 抗体或其抗原结合片段或第一抗 PDL1 抗体或其抗原结合片段。

根据本发明的实施例，所述第一抗 Trop2 抗体或其抗原结合片段为抗 Trop2 的第二 scFab 片段或第二 Fab 片段；或者，所述第一抗 PDL1 抗体或其抗原结合片段为抗 PDL1 的第三 scFab 片段或第三 Fab 片段。

根据本发明的实施例，所述第二 scFab 片段具有如 SEQ ID NO: 161 所示的氨基酸序列；或者，所述第二 Fab 片段具有如 SEQ ID NO: 162 和 70 所示的氨基酸序列；或者，所述第三 scFab 片段具有如 SEQ ID NO: 163 所示的氨基酸序列；或者，所述第三 Fab 片段具有如 SEQ ID NO: 164 和 72 所示的氨基酸序列。

根据本发明的实施例，所述第二抗原结合区进一步包括第二 Fc 片段；其中，所述第二 Fc 片段的 N 端和所述第二 scFab 片段、第二 Fab 片段、第三 scFab 片段或第三 Fab 片段的 CH1 的 C 端相连。

根据本发明的实施例，所述第二 Fc 肽段选自人 Fc 肽段，优选为人 IgG1 Fc 肽段。

根据本发明的实施例，所述第二 Fc 肽段具有如 SEQ ID NO: 165 所示的氨基酸序列。

根据本发明的实施例，所述第一 Fc 肽段和所述第二 Fc 肽段是通过 knob-into-hole 结构进行连接的。根据本发明的实施例，所述第二抗原结合区具有如 SEQ ID NO: 161 或 163 所示的氨基酸序列；或者，所述第二抗原结合区具有如 SEQ ID NO: 162 和 70 所示的氨基酸序列；或者，所述第二抗原结合区具有如 SEQ ID NO: 164 和 72 所示的氨基酸序列。

在本发明的一些可选实施例中，本发明的多特异性抗体具有图 5 所示的结构。

在本发明的一些可选实施例中，如图 5A 所示，本发明的多特异性抗体包括：具有如 SEQ ID NO: 49~52、54~68 任一项所示的氨基酸序列的第一肽链，具有如 SEQ ID NO: 69 所示氨基酸序列的第二肽链，和具有如 SEQ ID NO: 70 所示氨基酸序列的第三肽链；或者，具有如 SEQ ID NO: 71 所示氨基酸序列的第二肽链，和具有如 SEQ ID NO: 72 所示氨基酸序列的第三肽链。

在本发明的一些可选实施例中，如图 5B 所示，本发明的多特异性抗体包括：具有如 SEQ ID NO: 49~52、54~68 任一一项所示的氨基酸序列的第一肽链，和具有如 SEQ ID NO: 161 或 163 所示氨基酸序列的第二肽链。

在本发明的一些可选实施例中，如图 5C 所示，本发明的多特异性抗体包括：具有如 SEQ ID NO: 142~160 任一一项所示的氨基酸序列的第一肽链，和具有如 SEQ ID NO: 69 所示氨基酸序列的第二肽链，和具有如 SEQ ID NO: 70 所示氨基酸序列的第三肽链；或者，具有如 SEQ ID NO: 71 所示氨基酸序列的第二肽链，和具有如 SEQ ID NO: 72 所示氨基酸序列的第三肽链。

在本发明的一些可选实施例中，如图 5D 所示，本发明的多特异性抗体包括：具有如 SEQ ID NO: 142~160 任一一项所示的氨基酸序列的第一肽链，和具有如 SEQ ID NO: 161 或 163 所示氨基酸序列的第二肽链。

在本发明的一些可选实施例中，如图 5E 所示，本发明的多特异性抗体包括：具有如 SEQ ID NO: 70 所示的氨基酸序列的第一肽链，具有如 SEQ ID NO: 69 所示氨基酸序列的第二肽链，具有如 SEQ ID NO: 70 所示的氨基酸序列的第四肽链；或者，具有如 SEQ ID NO: 72 所示的氨基酸序列的第一肽链，具有如 SEQ ID NO: 71 所示氨基酸序列的第三肽链，具有如 SEQ ID NO: 72 所示的氨基酸序列的第四肽链；以及，第二肽链，所述第二肽链包含如 SEQ ID NO: 162 或 164 所示氨基酸序列的 Fab VH-CH1 和如 SEQ ID NO: 99~117 所示氨基酸序列的 scFv，所述 Fab VH-CH1 的 C 端与所述 scFv 的 N 端相连。

缀合物

本发明提供一种缀合物。所述缀合物包括：上述的抗体或其抗原结合片段或上述的多特异性抗体；

缀合部分，所述缀合部分与所述抗体或其抗原结合片段、或者多特异性抗体相连。

如前所述，本发明实施例的抗 CD3 抗体或其抗原结合片段可用于制备多特异性抗体，比如双特异性抗体药物，一方面，制备的双特异性抗体药物能更多地分布到肿瘤局部，增加肿瘤局部药物浓度，降低外周药物浓度，从而降低脱靶毒性风险；另一方面，该双特异性抗体可使得促炎性细胞因子产生减少，降低双特异性抗体在靶毒性风险。进一步地，利用所述抗 CD3 抗体或其抗原结合片段制备的药物可用于预防和/或治疗 CD3 相关疾病；基于所述抗 CD3 抗体或其抗原结合片段开发的 CD3 双特异性抗体药物，安全性更高，可用于预防和/或治疗癌症或肿瘤或感染或自身免疫疾病。由此，包括本发明第一方面的抗 CD3 抗体或其抗原结合片段、本发明第二方面的多特异性抗体的缀合物具有良好的临床应用价值和药物开发价值。

根据本发明的实施例，所述偶联部分包括选自为载体、药物、毒素、细胞因子、蛋白标签、修饰物、治疗剂和化疗剂中的至少之一。

核酸

本发明提供一种核酸。所述核酸编码上述的抗体或其抗原结合片段或上述的多特异性抗体。

根据本发明的实施例，所述核酸编码的本发明第一方面的抗体或其抗原结合片段或本发明第二方面的多特异性抗体适于开发安全性更高的单抗或双特异性抗体药物。进一步地，所述核酸编码的蛋白可用于预防和/或治疗 CD3 相关疾病或预防和/或治疗癌症或肿瘤或感染或自身免疫疾病。

需要说明的是，对于本文中所提及的核酸分子，本领域技术人员应当理解，实际包括互补双链的任意一条，或者两条。为了方便，在本文中，虽然多数情况下只给出了一条链，但实际上也公开了与之互补的另一条链。另外，本发明中的分子序列包括 DNA 形式或 RNA 形式，公开其中一种，意味着另一种也被公开。

载体或转化子

本发明提供一种载体或转化子。所述载体或转化子含有上述的核酸。所述载体或转化子可包括可选的控制序列，所述控制序列与所述核酸分子可操作地连接。其中，所述控制序列为可指导所述核酸分子在宿主中表达的一个或多个控制序列。由此构建得到的载体或转化子，可有效表达本发明第一方面的抗体或其抗原结合片段或本发明二方面的多特异性抗体，以及获得本发明第三方面的缀合物。

在将上述核酸分子连接到所述载体或转化子上，比如表达载体上时，可以将所述核酸分子与表达载体上的控制元件

直接或者间接相连，只要这些控制元件能够控制所述核酸分子的翻译和表达等即可。当然这些控制元件可以直接来自于载体本身，也可以是外源性的，即并非来自于载体本身。所述核酸分子与控制元件进行可操作地连接即可。

根据本发明的实施例，所述载体可以指克隆载体，也可以指表达载体，可以通过将所述核酸与商购的载体（如质粒或病毒载体）可操作地连接而获得。本发明中的载体不受特别限制，常用的质粒均可使用，如 pSecTag2、PEE14、pMH3 等。

在本文中，术语“可操作地连接”是指将外源基因连接到载体上，使得载体内的控制元件，例如转录控制序列和翻译控制序列等等，能够发挥其预期的调节外源基因的转录和翻译的功能。常用的载体例如可以为病毒载体、质粒、噬菌体等等。根据本发明的一些具体实施例的表达载体导入合适的受体细胞后，可在调控系统的介导下，有效实现前面所述的核酸分子的表达，进而实现所述核酸分子编码的蛋白质的体外大量获得。

根据本发明的实施例，所述载体为真核载体或原核载体。

根据本发明的实施例，所述载体包括选自质粒载体、腺病毒载体、慢病毒载体和腺相关病毒载体中的至少之一。

细胞

本发明提供一种细胞。所述细胞携带有上述的核酸、上述的载体或转化子，或表达上述的抗体或其抗原结合片段或上述的多特异性抗体。由此，根据本发明的实施例，所述细胞在合适条件下可高效表达本发明第一方面的抗体或其抗原结合片段或本发明二方面的多特异性抗体，进一步地，获得可与人 CD3 蛋白结合、安全性提高的抗体或其抗原结合片段或其多特异性抗体。

根据本发明的实施例，所述细胞为原核细胞、真核细胞或噬菌体。

根据本发明的实施例，所述原核细胞为人肠杆菌、枯草杆菌、链霉菌或奇异变形菌。

根据本发明的实施例，所述真核细胞为真菌、昆虫细胞、植物细胞或哺乳动物细胞。

根据本发明的实施例，所述真菌为巴斯德毕赤酵母、酿酒酵母、裂殖酵母或木霉。

根据本发明的实施例，所述昆虫细胞为草地粘虫细胞；根据本发明的实施例，所述植物细胞是烟草植物细胞；根据本发明的实施例，所述哺乳动物细胞为 BHK 细胞、CHO 细胞、COS 细胞、骨髓瘤细胞或人胚肾 293 细胞；且不包括动物生殖细胞、受精卵或胚胎干细胞。

根据本发明的实施例，所述细胞是哺乳动物细胞。

根据本发明的实施例，所述细胞是 BHK 细胞、CHO 细胞、COS 细胞或 NSO 细胞。

需要说明的是，本发明说明书中所述的“适合条件”，是指适合本发明所述抗体或其抗原结合片段或多特异性抗体表达的条件。本领域技术人员容易理解的是，适合抗体或其抗原结合片段表达或多特异性抗体的条件包括但不限于合适的转化或转染方式、合适的转化或转条件、健康的宿主细胞状态、合适的宿主细胞密度、适宜的细胞培养环境、适宜的细胞培养时间。“适合条件”不受特别限制，本领域技术人员可根据实验室的具体环境，优化最适的所述重组抗体表达的条件。

药物组合物

本发明提供一种药物组合物。所述药物组合物包含：上述的抗体或其抗原结合片段、上述的多特异性抗体、上述的缀合物、上述的核酸、或者上述的载体或转化子。由此，获得的药物可进一步用于预防和/或治疗 CD3 相关疾病，或进一步用于预防和/或治疗 CD3 相关疾病和/或癌症或肿瘤或感染或自身免疫疾病。

根据本发明的实施例，进一步包括药学上可接受的辅料。

根据本发明的实施例，所述辅料包括：药学上可接受的一种或多种赋形剂、稀释剂、稳定剂或载体。

根据本发明的实施例，所述药物组合物为注射剂。

需要说明的是，所述药物组合物包括在时间和/或空间上分开的组合，只要其能够共同作用以实现本发明的目的。例如，所述组合物中所含的成分可以以整体施用于受试者，或者分开施用于受试者。当所述组合物中所含的成分分开地施用于受试者时，各个成分可以同时或依次施用于受试者。

本发明的药物含有安全有效量的本发明的活性成分以及药学上可接受的辅料。这类辅料包括(但不限于): 盐水、缓冲液、葡萄糖、水、甘油、乙醇、及其组合。通常药物制剂应与给药方式相匹配, 本发明的药物的剂型为注射剂、口服制剂(片剂、胶囊、口服液)、透皮剂、缓释剂。例如用生理盐水或含有葡萄糖和其他辅料的水溶液通过常规方法进行制备。所述的药物宜在无菌条件下制造。

本发明所述的活性成分的有效量可随给药的模式和待治疗的疾病的严重程度等而变化。优选的有效量的选择可以由本领域普通技术人员根据各种因素来确定(例如通过临床试验)。所述的因素包括但不限于: 所述的活性成分的药代动力学参数例如生物利用率、代谢、半衰期等; 患者所要治疗的疾病的严重程度、患者的体重、患者的免疫状况、给药的途径等。例如, 由治疗状况的迫切要求, 可每天给予若干次分开的剂量, 或将剂量按比例地减少。

本发明所述的药学上可接受的辅料包括(但不限于): 水、盐水、脂质体、脂质、蛋白、蛋白-抗体缀合物、肽类物质、纤维素、纳米凝胶、或其组合。载体的选择应与给药方式相匹配, 这些都是本领域的普通技术人员所熟知的。

试剂盒

本发明提供一种试剂盒。所述试剂盒包含上述的抗体或其抗原结合片段或上述的多特异性抗体。如前所述, 本发明实施例的抗体或其抗原结合片段能够有效地与 CD3 特异性结合, 利用该特性开发得到的 CD3 相关试剂盒, 可用于 CD3 相关研究。

所述试剂盒可以有效检测、富集或分离纯化生物样品中的 CD3, 进一步用于科学研究, 如定性或定量检测生物样本中的 CD3 蛋白分子。更具体地, 可以用于免疫印迹、免疫沉淀等涉及到利用 CD3 和抗体特异性结合性能来检测的试剂盒等。这些试剂盒可包含下列中的任意一种或多种: 拮抗剂、CD3 抗体或者药物参照材料; 蛋白纯化柱; 免疫球蛋白亲和纯化缓冲剂; 细胞的测定稀释剂。CD3 抗体可被用于不同类型的诊断测试, 例如可以在体外或者体内检测各种各样的疾病或者药物、毒素或者其他蛋白等的存在。例如可以通过对受试者的血清或者血液进行检测, 用来测试 CD3 相关疾病。

制备试剂盒中的用途

本发明提供上述的抗体或其抗原结合片段或上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 CD3。

如前所述, 本发明实施例的抗体或其抗原结合片段能够与 CD3 特异性结合, 因此, 所述抗体或其抗原结合片段可用于检测 CD3。进一步地, 可用于制备 CD3 相关试剂盒并用于科学研究, 比如定性或定量检测生物样本中的 CD3 蛋白分子。更具体地, 可以用于免疫印迹、免疫沉淀等涉及到利用 CD3 和抗体或其结合片段特异性结合性能来检测的试剂盒等。这些试剂盒可包含下列中的任意一种或多种: 拮抗剂、CD3 抗体或者药物参照材料; 蛋白纯化柱; 免疫球蛋白亲和纯化缓冲剂; 细胞的测定稀释剂。CD3 抗体或抗原片段可被用于不同类型的诊断测试, 例如可以在体外或者体内检测各种各样的疾病或者药物、毒素或者其他蛋白等的存在。例如可以通过对受试者的血清或者血液进行检测, 用来测试 CD3 相关疾病。

制备药物中的用途

本发明提供上述的抗体或其抗原结合片段、上述的多特异性抗体、上述的缀合物、上述的核酸、上述的载体或转化子或上述的药物组合物在制备药物中的用途, 所述药物用于调节免疫应答和/或抑制肿瘤生长, 或所述药物用于预防和/或治疗 CD3 相关疾病和/或癌症或肿瘤或感染或自身免疫疾病。

根据本发明的实施例, 所述癌症或肿瘤或感染或自身免疫疾病为 Trop2 或 PDL1 相关疾病。

根据本发明的实施例, 所述癌症或肿瘤为肺癌、肝癌、卵巢癌、宫颈癌、皮肤癌、膀胱癌、结肠癌、直肠癌、乳腺癌、胰腺癌、前列腺癌、神经胶质瘤、肾癌、胃癌、食道癌、口腔鳞状细胞癌或头颈癌中的至少一种。

根据本发明的实施例, 所述癌症或肿瘤为非小细胞肺癌、恶性黑色素瘤、肾细胞癌、头颈部鳞癌、尿路上皮癌、结直肠癌、肝癌或经典型霍奇金淋巴瘤中的至少一种。

疾病治疗方法

本发明提供了一种调节免疫应答和/或抑制肿瘤生长或预防和/或治疗 CD3 相关疾病和/或癌症或肿瘤或感染或自身免疫疾病的方法。

根据本发明的实施例，所述方法包括：向受试者施用药学上可接受量的上述的抗体或其抗原结合片段、上述的多特异性抗体、上述的缀合物、上述的核酸、上述的载体或转化子或上述的药物组合物。

需要说明的是，术语“受试者”、“个体”和“患者”在本文可互换使用，是指被评估用于治疗和/或被治疗的哺乳动物。在一个实施方案中，哺乳动物为人。术语“受试者”、“个体”和“患者”包括但不限于患有癌症的个体、患有自身免疫性疾病的个体、患有病原体感染的个体等。受试者可以是人，但也包括其他哺乳动物，特别是可用作人疾病的实验室模型的哺乳动物，例如小鼠、大鼠等。

本发明所述的抗体或其抗原结合片段、的多特异性抗体缀合物、核酸、载体或转化子或药物组合物的有效量可随给药的模式和待治疗的疾病的严重程度等而变化。优选的有效量的选择可以由本领域普通技术人员根据各种因素来确定（例如通过临床试验）。所述的因素包括但不限于：所述的活性成分的药代动力学参数例如生物利用率、代谢、半衰期等；患者所要治疗的疾病的严重程度、患者的体重、患者的免疫状况、给药的途径等。例如，由治疗状况的迫切要求，可每天给予若干次分开的剂量，或将剂量按比例地减少。

根据本发明的实施例，所述癌症或肿瘤或感染或自身免疫疾病为 Trop2 或 PDL1 相关疾病。

根据本发明的实施例，所述癌症或肿瘤为肺癌、肝癌、卵巢癌、宫颈癌、皮肤癌、膀胱癌、结肠癌、直肠癌、乳腺癌、胰腺癌、前列腺癌、神经胶质瘤、肾癌、胃癌、食道癌、口腔鳞状细胞癌或头颈癌中的至少一种。

根据本发明的实施例，所述癌症或肿瘤为非小细胞肺癌、恶性黑色素瘤、肾细胞癌、头颈部鳞癌、尿路上皮癌、结直肠癌、肝癌或经典型霍奇金淋巴瘤中的至少一种。

本发明所涉及的序列说明详见表 1。

SEQ ID NO:	序列	说明
1	GFTFNTYA	Cross303/307/308/309/310/311/312/313/314/316/317/318/323/325/326/Cross3ZH07/Cross3ZH09/Cross3ZH16/Cross3ZH23 HCDR1
2	IRSKYNNYAT	Cross303/307/308/309/310/311/312/313/314/316/317/318/323/325/326/Cross3ZH07/Cross3ZH09/Cross3ZH16/Cross3ZH23 HCDR2
3	VRHGNFGNSYQSWFAY	Cross313 HCDR3
4	TGAVTTSNY	Cross303/307/308/309/310/311/312/313/314/316/317/318/323/325/326/Cross3ZH07/Cross3ZH09/Cross3ZH16/Cross3ZH23 LCDR1
5	GTN	Cross303/307/308/309/310/311/312/313/314/316/317/318/323/325/326/Cross3ZH07/Cross3ZH09/Cross3ZH16/Cross3ZH23 LCDR2
6	ALWYSNLWV	Cross303/307/308/309/310/311/312/313/314/316/317/318 LCDR3
7	VRHGNFGNSYVSWFLY	Cross316 HCDR3
8	VRHGNFGNSYVSWFAY	Cross325/323/326/Cross3ZH16 HCDR3
9	ALWYSNDWV	Cross325 LCDR3
10	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYQSWFAYWGQGTLLTVSS	Cross313 VH
11	ELVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGTGKLTVL	Cross3/303/307/308/309/310/311/312/313/314//316/317/318 VL

12	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYVSWFLYWGGTLTVSS	Cross316 VH
13	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYVSWFAYWGGTLTVSS	Cross3/323/325/326/ZH16 VH
14	ELVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIG GTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNDWVFG GGTKLTVL	Cross325 VL
15	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGMFGNSYVSWFAYWGGTLTVSS	Cross303/ZH07 VH
16	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNEYVSWFAYWGGTLTVSS	Cross307 VH
17	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNPYVSWFAYWGGTLTVSS	Cross308 VH
18	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNVYVSWFAYWGGTLTVSS	Cross309 VH
19	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNYVSWFAYWGGTLTVSS	Cross310 VH
20	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSEVSWFAYWGGTLTVSS	Cross311 VH
21	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYHSWFAYWGGTLTVSS	Cross312 VH
22	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYSSWFAYWGGTLTVSS	Cross314 VH
23	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYVSWFAGWGGTLTVSS	Cross317 VH
24	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYVSWFAMWGGTLTVSS	Cross318 VH
25	ELVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIG GTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYPNLWVFG GGTKLTVL	Cross323 VL
26	ELVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIG GTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSPWVFG GGTKLTVL	Cross326/ZH23 VL
27	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGMFGNSYVSWFAYWGGTLTVSS	Cross3ZH07 VH
28	ELVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIG GTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYPNPWVFG GGTKLTVL	Cross3ZH07/ZH09 VL
29	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYVSWFLYWGGTLTVSS	Cross3ZH09 VH
30	ELVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIG GTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYPNDWVFG GGTKLTVL	Cross3ZH16 VL

31	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNDYVSWFAYWGQGLTVTVSS	Cross3ZH23 VH
32	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYQSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPV LDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSPGK	Cross313 重链
33	ELVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIG GTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFG GGTKLTVLRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC	Cross3/303/307/308/309/310/311/ 312/313/314//316/317/318 轻链
34	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYVSWFLYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPV LDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSPGK	Cross316 重链
35	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPV LDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSPGK	Cross3/323/325/326 重链
36	ELVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIG GTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNDWVFG GGTKLTVLRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC	Cross325 轻链
37	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGMFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSP GK	Cross303 重链
38	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNEYVSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPV LDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSPGK	Cross307 重链

39	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNPNYVSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV LDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Cross308 重链
40	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNPNYVSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Cross309 重链
41	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNPNYVSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Cross310 重链
42	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSEVSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV LDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Cross311 重链
43	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYHSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV LDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Cross312 重链
44	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYSSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV LDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Cross314 重链

45	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYVSWFAGWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYITLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPV LDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Cross317 重链
46	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYVSWFAMWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE EPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Cross318 重链
47	ELVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIG GTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYPNLWVFG GGTKLTVLRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFPYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC	Cross323 轻链
48	ELVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIG GTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNPWVFG GGTKLTVLRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFPYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC	Cross326 轻链
49	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYQSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSELVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPG TPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL GGGGSPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPCREEMTKNQ VSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Cross313-kbss
50	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYVSWFLYWQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSELVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPG TPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL GGGGSPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPCREEMTKNQ VSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Cross316-kbss
51	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSELVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPG TPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL GGGGSPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPCREEMTKNQ VSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Cross325-kbss

52	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSELVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPG TPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL GGGGSPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQ VSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Cross3-kbss
53	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGMFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSELVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPG TPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL GGGGSPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQ VSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Cross303-kbss
54	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNEYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSELVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPG TPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL GGGGSPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQ VSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Cross307-kbss
55	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNYPVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSELVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPG TPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL GGGGSPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQ VSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Cross308-kbss
56	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNYPVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSELVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPG TPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL GGGGSPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQ VSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Cross309-kbss
57	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNYYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSELVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPG TPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL GGGGSPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQ VSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Cross310-kbss

58	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSEVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSELVVTQEPS LTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGT PARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYNSLWVFGGGTKLTVLG GGGSPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVS LWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Cross311-kbss
59	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYHSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSELVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPG TPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYNSLWVFGGGTKLTVL GGGSPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQ VSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Cross312-kbss
60	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYSSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSELVVTQEPS LTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGT PARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYNSLWVFGGGTKLTVLG GGGSPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVS LWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Cross314-kbss
61	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYVSWFAGWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSELVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPG TPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYNSLWVFGGGTKLTVL GGGSPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQ VSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Cross317-kbss
62	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYVSWFAMWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSELVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPG TPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYNSLWVFGGGTKLTVL GGGSPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQ VSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Cross318-kbss
63	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSELVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPG TPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWPNLWVFGGGTKLTVL GGGSPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQ VSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Cross323-kbss

64	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSELVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPG TPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSPWVFGGGTKLTVL GGGGSPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQ VSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Cross326-kbss
65	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGMFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSELVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPG TPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYPNPWVFGGGTKLTVL GGGGSPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQ VSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Cross3ZH07-kbss
66	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYVSWFLYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSELVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPG TPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYPNPWVFGGGTKLTVL GGGGSPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQ VSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Cross3ZH09-kbss
67	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSELVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPG TPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYPNDWVFGGGTKLTVL GGGGSPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQ VSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Cross3ZH16-kbss
68	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNDYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSELVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPG TPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSPWVFGGGTKLTVL GGGGSPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQ VSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Cross3ZH23-kbss
69	QVQLQQSGSELKKGASVKVSCASGYTFTNYGMNVWKQAPGQGLKWM GWINTYTGEPTYTDDFKGRFAFLDTSVSTAYLQISSLKADDTAVYFCARG GFGSSYWFYFDVWGQSLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTY ICNVNHNKPSNTKVDKKVEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVC TLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSD DGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Trop2 抗体重链

70	DIQLTQSPSSLSASVGDVRSITCKASQDVSIQVAVWYQQKPGKAPKLLIYSAS YRYTGVPDRFSGSGSGTDFTLTITSLQPEDFAVYYCQQHYITPLTFGAGTKV EIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC	Trop2 抗体轻链
71	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSTGYMHVWRQAPGQGLEWI GRINPYNGATTYSQNFKDRATMTVDTSISTAYMELSLRSDDTAVYYCVPT GMGYFLMDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAAGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVC TLPPSREEMTKNQVSLTSCAVKGFYPDSIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSD GGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	PDL1 抗体重链
72	DIQLTQSPSFLSASVGDVRSITCKASQDVGSVAVVWYQQKPGKAPKLLIYWA STRHTGVPDRFSGSGSGTEFTLTITSLQPEDFAVYYCQQHYITPLTFGAGTKV EIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC	PDL1 抗体轻链
73	MQSGTHWRVLGLCLLSGVGVWQDGNEMGGITQTPYKVISISGTTVILTCP QYPGSEILWQHNDKNIGGDEDDKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPR GSKPEDANFYLYLRARVCENCMEMDVMSVATIVIVDICTGGLLLVYYWS KNRKAKAKPVTRGAGAGGRQRGQNKERPPPPVNPDPYPIRKQGRDLYSGL NQRR	CD3ε
74	VRHGMFGNSYVSWFAY	Cross303 HCDR3
75	VRHGNFNGEYVSWFAY	Cross307 HCDR3
76	VRHGNFNGPYVSWFAY	Cross308 HCDR3
77	VRHGNFNGVYVSWFAY	Cross309 HCDR3
78	VRHGNFNGYYVSWFAY	Cross310 HCDR3
79	VRHGNFNGSEVSWFAY	Cross311 HCDR3
80	VRHGNFNGSYHSWFAY	Cross312 HCDR3
81	VRHGNFNGSYSSWFAY	Cross314 HCDR3
82	VRHGNFNGSYVSWFAG	Cross317 HCDR3
83	VRHGNFNGSYVSWFAM	Cross318 HCDR3
84	VRHGMFGNSYVSWFAY	Cross3ZH07 HCDR3
85	VRHGNFNGSYVSWFLY	Cross3ZH09 HCDR3
86	VRHGNFNGDYVSWFAY	Cross3ZH23 HCDR3
87	ALWYPNLWV	Cross323 LCDR3
88	ALWYSPNPWV	Cross326 LCDR3
89	ALWYSPNPWV	Cross3ZH07 LCDR3
90	ALWYSPNPWV	Cross3ZH09 LCDR3
91	ALWYSPNDWV	Cross3ZH16 LCDR3
92	ALWYSPNPWV	Cross3ZH23 LCDR3
93	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	CD3 抗体重链恒定区
94	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC	CD3 抗体轻链恒定区

95	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGMFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Cross3ZH07 重链
96	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYVSWFLYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYITLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV LDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Cross3ZH09 重链
97	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYITLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV LDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	Cross3ZH16 重链
98	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNDYVSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	Cross3ZH23 重链
99	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGMFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSELVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPG TPARFSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL	Cross303 scFv
100	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNEYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSELVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPG TPARFSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL	Cross307 scFv
101	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNPYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSELVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPG TPARFSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL	Cross308 scFv
102	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNVYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSELVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPG TPARFSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL	Cross309 scFv

103	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNYYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSELVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPG TPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL	Cross310 scFv
104	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSEVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSELVVTQEPS LTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGT PARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL	Cross311 scFv
105	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYHSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSELVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPG TPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL	Cross312 scFv
106	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYQSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSELVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPG TPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL	Cross313 scFv
107	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYSSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSELVVTQEPS LTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGT PARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL	Cross314 scFv
108	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYVSWFLYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSELVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPG TPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL	Cross316 scFv
109	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYVSWFAGWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSELVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPG TPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL	Cross317 scFv
110	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYVSWFAMWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSELVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPG TPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL	Cross318 scFv
111	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSELVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPG TPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYPNLWVFGGGTKLTVL	Cross323 scFv
112	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSELVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPG TPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNDWVFGGGTKLTVL	Cross325 scFv
113	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSELVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPG TPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSPWVFGGGTKLTVL	Cross326 scFv
114	EVQLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGMFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSELVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPG TPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYPNPWVFGGGTKLTVL	Cross3ZH07 scFv

115	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNTATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYVSWFLYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSELVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPG TPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYPNPWFVGGGTKLTVL	Cross3ZH09 scFv
116	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNTATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSELVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPG TPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYPNDWFVGGGTKLTVL	Cross3ZH16 scFv
117	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNTATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNDYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSELVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPG TPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYNSPWVFGGTKLTVL	Cross3ZH23 scFv
118	PKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWC LVKGFYPDSIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	CD3 结合区为 scFv 结构时，对 应的第一 Fc 肽段
119	ELVVTTQEPSTLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIG GTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYPNPWFVFG GGTKLTVLRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC	Cross3ZH07 轻链
120	ELVVTTQEPSTLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIG GTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYPNPWFVFG GGTKLTVLRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC	Cross3ZH09 轻链
121	ELVVTTQEPSTLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIG GTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYPNDWFVFG GGTKLTVLRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC	Cross3ZH16 轻链
122	ELVVTTQEPSTLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIG GTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYNSPWVFG GGTKLTVLRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC	Cross3ZH23 轻链
123	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNTATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGMFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE	Cross303 Fab VH-CH1
124	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNTATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNEYVSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE	Cross307Fab VH-CH1
125	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNTATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNPYVSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE	Cross308Fab VH-CH1
126	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNTATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNVYVSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE	Cross309Fab VH-CH1

127	EVQLES GGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNYYVSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE	Cross310Fab VH-CH1
128	EVQLES GGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSEVSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE	Cross311Fab VH-CH1
129	EVQLES GGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYHSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE	Cross312Fab VH-CH1
130	EVQLES GGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYQSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE	Cross313Fab VH-CH1
131	EVQLES GGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYSSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE	Cross314Fab VH-CH1
132	EVQLES GGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYVSWFLYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE	Cross316Fab VH-CH1
133	EVQLES GGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYVSWFAGWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE	Cross317Fab VH-CH1
134	EVQLES GGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYVSWFAMWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE	Cross318Fab VH-CH1
135	EVQLES GGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE	Cross323Fab VH-CH1
136	EVQLES GGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE	Cross325Fab VH-CH1
137	EVQLES GGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE	Cross326Fab VH-CH1
138	EVQLES GGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGMFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE	Cross3ZH07Fab VH-CH1

139	EVQLES GGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYVSWFLYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE	Cross3ZH09Fab VH-CH1
140	EVQLES GGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE	Cross3ZH16Fab VH-CH1
141	EVQLES GGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNDYVSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE	Cross3ZH23Fab VH-CH1
142	ELVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIG GTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFG GGTKLTVLRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSSGSGSESKSTEGKSSGSGSESKSTGGGGS EVQLES GGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGMFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE	Cross303 scFab
143	ELVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIG GTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFG GGTKLTVLRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSSGSGSESKSTEGKSSGSGSESKSTGGGGS EVQLES GGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNEYVSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE	Cross307scFab
163	ELVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIG GTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFG GGTKLTVLRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSSGSGSESKSTEGKSSGSGSESKSTGGGGS EVQLES GGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNPYVSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE	Cross308scFab
145	ELVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIG GTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFG GGTKLTVLRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSSGSGSESKSTEGKSSGSGSESKSTGGGGS EVQLES GGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNVYVSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE	Cross309scFab

146	ELVVTTQEPSTLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIG GTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSLWVFG GGTKLTVLRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSSGSGSESKSTEGKSSGSGSESKSTGGGGS EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNYYVSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE	Cross310scFab
147	ELVVTTQEPSTLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIG GTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSLWVFG GGTKLTVLRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSSGSGSESKSTEGKSSGSGSESKSTGGGGS EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSEVSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE	Cross311scFab
148	ELVVTTQEPSTLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIG GTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSLWVFG GGTKLTVLRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSSGSGSESKSTEGKSSGSGSESKSTGGGGS EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYHSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE	Cross312scFab
149	ELVVTTQEPSTLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIG GTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSLWVFG GGTKLTVLRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSSGSGSESKSTEGKSSGSGSESKSTGGGGS EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYQSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE	Cross313scFab
150	ELVVTTQEPSTLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIG GTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSLWVFG GGTKLTVLRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSSGSGSESKSTEGKSSGSGSESKSTGGGGS EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYSSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE	Cross314scFab
151	ELVVTTQEPSTLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIG GTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSLWVFG GGTKLTVLRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSSGSGSESKSTEGKSSGSGSESKSTGGGGS EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYVSWFLYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE	Cross316scFab

152	ELVVTTQEPSTLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIG GTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYNSLWVFG GGTKLTVLRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSSGSGSESKSTEGKSSGSGSESKSTGGGGS EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYVSWFAGWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE	Cross317scFab
153	ELVVTTQEPSTLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIG GTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYNSLWVFG GGTKLTVLRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSSGSGSESKSTEGKSSGSGSESKSTGGGGS EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYVSWFAMWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE	Cross318scFab
154	ELVVTTQEPSTLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIG GTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYNSLWVFG GGTKLTVLRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSSGSGSESKSTEGKSSGSGSESKSTGGGGS EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE	Cross323scFab
155	ELVVTTQEPSTLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIG GTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYNSDWVFG GGTKLTVLRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSSGSGSESKSTEGKSSGSGSESKSTGGGGS EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE	Cross325scFab
156	ELVVTTQEPSTLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIG GTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYNSPWVFG GGTKLTVLRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSSGSGSESKSTEGKSSGSGSESKSTGGGGS EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE	Cross326scFab
157	ELVVTTQEPSTLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIG GTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYNSPWVFG GGTKLTVLRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSSGSGSESKSTEGKSSGSGSESKSTGGGGS EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGMFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE	Cross3ZH07scFab

158	ELVVTTQEPSLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIG GTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAAALTSGVQPEDEAEYYCALWYPNPWVFG GGTKLTVLRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSSGSGSESKSTEGKSSGSGSESKSTGGGGS EVQLLESQGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYVSWFLYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE	Cross3ZH09scFab
159	ELVVTTQEPSLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIG GTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAAALTSGVQPEDEAEYYCALWYPNDWVFG GGTKLTVLRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSSGSGSESKSTEGKSSGSGSESKSTGGGGS EVQLLESQGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE	Cross3ZH16scFab
160	ELVVTTQEPSLTVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIG GTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAAALTSGVQPEDEAEYYCALWYSPWVFG GGTKLTVLRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSSGSGSESKSTEGKSSGSGSESKSTGGGGS EVQLLESQGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVA RIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCV RHGNFGNDYVSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE	Cross3ZH23scFab
161	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGECGGGGSEGKSSGSGSESKSTEGKSSGSGSESKSTGGGGSQVQLQSG SELKKPGASVKVSCASGYFTFTNYGMNWVKQAPGQGLKWMGWINTYTG EPTYTDDFKGRFAFSLDTSVSTAYLQISSLKADDTAVYFCARGGGSSYWF DVWGQGLSLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVE	Trop2 抗体 scFab
162	QVQLQSGSELKKPGASVKVSCASGYFTFTNYGMNWVKQAPGQGLKWM GWINTYTGEPTYTDDFKGRFAFSLDTSVSTAYLQISSLKADDTAVYFCARG GFGSSYWFYFDVWGQGLSLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVE	Trop2 抗体 Fab VH-CH1
163	DIQLTQSPSFLSASVGDRTITCKASQDVGSADVWYQQKPGKAPKLLIYWA STRHTGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYFCQQFTSYPTFGQGTKLEI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGECGGGGSEGKSSGSGSESKSTEGKSSGSGSESKSTGGGGSQVQLVQS FAEVKKPGASVKVSCASGYFTGYMHWVRQAPGQGLEWIGRINPYNG ATTYSQNFKDRATMTVDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCVPTGMGYFLM DYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVE	PDL1 抗体 scFab
164	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYFTGYMHWVRQAPGQGLEWI GRINPYNGATTYSQNFKDRATMTVDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCVPT GMGYFLMDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVE	PDL1 抗体 Fab VH-CH1

165	PKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVHLQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLSCA VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	第二 Fc 肽段
166	PKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVHLQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	CD3 结合区为 Fab 结构或者 scFab 结构时, 对应的第一 Fc 肽 段

以下将通过实施例对本发明进行详细描述。实施例或测试例中, 未注明具体条件的实验方法的, 均按照常规条件进行。

下面将结合实施例对本发明的方案进行解释。本领域技术人员将会理解, 下面的实施例仅用于说明本发明, 而不应视为限定本发明的范围。实施例中未注明具体技术或条件的, 按照本领域内的文献所描述的技术或条件或者按照产品说明书进行。所用试剂或仪器未注明生产厂商者, 均为可以通过市售购买获得的常规产品。

实施例 1: 亲和力降低抗体获得及生产

天然抗体在亲和力成熟过程中, 体细胞高频突变主要集中在 CDR 区。一般情况下, 通过体外实验在 CDR 区每个位点进行单点饱和突变, 获得足够的突变多样性, 同时不会破坏蛋白质结构, 该途径可以实现与天然抗体在体内的体细胞高频突变最相似的体外重现。上述方法一般用于抗体的亲和力成熟(提高), 本发明参考该技术路线, 相反地, 对 CD3 抗体进行了亲和力降低。

对 CDR 区的每一个氨基酸位点进行单点饱和突变, 构建出母本抗体的无偏差单点饱和突变质粒库。筛选出与抗原特异性结合减弱的突变热点, 再将这些热点进行组合筛选得到候选的抗体突变序列。

通过该技术路线、经过大量筛选试验, 对母本抗体 Cross3(重链可变区氨基酸序列如 SEQ ID NO:15 所示, 轻链可变区氨基酸序列如 SEQ ID NO: 16 所示)进行亲和力降低, 得到如下低亲和力 CD3 单抗: Cross303、Cross307、Cross308、Cross309、Cross310、Cross311、Cross312、Cross313、Cross314、Cross316、Cross317、Cross318、Cross323、Cross325、Cross326、Cross3ZH07、Cross3ZH09、Cross3ZH16、Cross3ZH23。上述低亲和力 CD3 单抗 CDR 区氨基酸序列及重链、轻链氨基酸序列如表 1 所示, 与母本抗体 Cross3 相比, 其 CDR 区氨基酸突变情况如图 1 所示。

CD3 单抗降抗体的生产具体实验操作如下: (1) 利用 ExpiCHO Expression Medium 培养基(购自 Thermo Fisher)培养 ExpiCHO 细胞(购自 Thermo Fisher), 调整细胞浓度为 $6 \times 10^6/\text{mL}$, 以获得 ExpiCHO 细胞溶液。(2) 将含有 CD3 抗体重链、轻链的 pcDNA3.4 载体(Cross3 重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:35 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO: 33 所示; Cross303 重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:37 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO: 33 所示; Cross307 重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:38 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO:33 所示; Cross308 重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:39 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO: 33 所示; Cross309 重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:40 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO:33 所示; Cross310 重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:41 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO: 33 所示; Cross311 重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:42 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO:33 所示; Cross312 重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:43 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO: 33 所示; Cross313 重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:32 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO:33 所示; Cross314 重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:44 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO: 33 所示; Cross316 重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:34 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO: 33 所示; Cross317 重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:45 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO: 33 所示; Cross318 重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:46 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO: 33 所示; Cross323 重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:45 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO: 47 所示; Cross325 重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:45 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO:36 所示; Cross326 重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:46 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO: 48 所示)(委托南京金斯瑞合成)按照 1:1 的比例加入 2mL OptiSFM 培养基(购自 Thermo Fisher)中, 获得溶液 A。(3) 将 160 μL ExpiFectamineCHO 转染试剂(购自 Thermo Fisher)加入 2mL OptiSFM 培养基(购自

Thermo Fisher) 中, 获得溶液 b。(4) 然后将溶液 a 和溶液 b 混合, 获得转染混合物, 并在 5 分钟内将转染混合物全部加入 50mL ExpiCHO 细胞溶液中。(5) 在 37℃、5% CO₂ 条件下培养 1 天后, 加入 8mL Feed、300μL Enhancer (购自 Thermo Fisher), 并转入 32℃、5% CO₂ 条件下培养 9 天后收获培养上清, 其中第 5 天添加 8mL Feed。(6) 利用 Protein A 纯化柱 (购自纳微) 从培养上清中亲和纯化, 获得目的抗体。

双特异抗体的生产具体实验操作如下: (1) 利用 ExpiCHO Expression Medium 培养基 (购自 Thermo Fisher) 培养 ExpiCHO 细胞 (购自 Thermo Fisher), 调整细胞浓度为 $6 \times 10^6/\text{mL}$, 以获得 ExpiCHO 细胞溶液。(2) 将含有 CD3 抗体、Trop2 抗体重链和 Trop2 抗体轻链的 pcDNA3.4 载体 (Cross3×Trop2 包含 CD3 抗体 SEQ ID NO:52 所示和 Trop2 抗体重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:69 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO: 70 所示; Cross303×Trop2 包含 CD3 抗体 SEQ ID NO:53 所示和 Trop2 抗体重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:69 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO: 70 所示; Cross307×Trop2 包含 CD3 抗体 SEQ ID NO:54 所示和 Trop2 抗体重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:69 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO: 70 所示; Cross308×Trop2 包含 CD3 抗体 SEQ ID NO:55 所示和 Trop2 抗体重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:69 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO: 70 所示; Cross309×Trop2 包含 CD3 抗体 SEQ ID NO:56 所示和 Trop2 抗体重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:69 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO: 70 所示; Cross310×Trop2 包含 CD3 抗体 SEQ ID NO:57 所示和 Trop2 抗体重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:69 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO: 70 所示; Cross311×Trop2 包含 CD3 抗体 SEQ ID NO:58 所示和 Trop2 抗体重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:69 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO: 70 所示; Cross312×Trop2 包含 CD3 抗体 SEQ ID NO:59 所示和 Trop2 抗体重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:69 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO: 70 所示; Cross313×Trop2 包含 CD3 抗体 SEQ ID NO:49 所示和 Trop2 抗体重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:69 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO: 70 所示; Cross314×Trop2 包含 CD3 抗体 SEQ ID NO:60 所示和 Trop2 抗体重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:69 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO: 70 所示; Cross316×Trop2 包含 CD3 抗体 SEQ ID NO:50 所示和 Trop2 抗体重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:69 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO: 70 所示; Cross317×Trop2 包含 CD3 抗体 SEQ ID NO:61 所示和 Trop2 抗体重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:69 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO: 70 所示; Cross318×Trop2 包含 CD3 抗体 SEQ ID NO:62 所示和 Trop2 抗体重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:69 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO: 70 所示; Cross323×Trop2 包含 CD3 抗体 SEQ ID NO:63 所示和 Trop2 抗体重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:69 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO: 70 所示; Cross325×Trop2 包含 CD3 抗体 SEQ ID NO:51 所示和 Trop2 抗体重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:69 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO: 70 所示; Cross326×Trop2 包含 CD3 抗体 SEQ ID NO:64 所示和 Trop2 抗体重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:69 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO: 70 所示) (委托南京金斯瑞合成), 或者, 将含有 CD3 抗体、PDL1 抗体重链和 PDL1 抗体轻链的 pcDNA3.4 载体 (Cross3×PDL1 包含 CD3 抗体 SEQ ID NO:52 所示和 PDL1 抗体重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:71 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO:72 所示; Cross303×PDL1 包含 CD3 抗体 SEQ ID NO:53 所示和 PDL1 抗体重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:71 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO:72 所示; Cross307×PDL1 包含 CD3 抗体 SEQ ID NO:54 所示和 PDL1 抗体重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:71 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO:72 所示; Cross308×PDL1 包含 CD3 抗体 SEQ ID NO:55 所示和 PDL1 抗体重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:71 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO:72 所示; Cross309×PDL1 包含 CD3 抗体 SEQ ID NO:56 所示和 PDL1 抗体重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:71 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO:72 所示; Cross310×PDL1 包含 CD3 抗体 SEQ ID NO:57 所示和 PDL1 抗体重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:71 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO:72 所示; Cross311×PDL1 包含 CD3 抗体 SEQ ID NO:58 所示和 PDL1 抗体重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:71 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO:72 所示; Cross312×PDL1 包含 CD3 抗体 SEQ ID NO:59 所示和 PDL1 抗体重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:71 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO:72 所示; Cross313×PDL1 包含 CD3 抗体 SEQ ID NO:49 所示和 PDL1 抗体重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:71 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO:72 所示; Cross314×PDL1 包含 CD3 抗体 SEQ ID NO:60 所示和 PDL1 抗体重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:71 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO:72 所示; Cross316×PDL1 包含 CD3 抗体 SEQ ID NO:50 所示和 PDL1 抗体重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:71 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO:72 所示; Cross317×PDL1 包含 CD3

抗体 SEQ ID NO:61 所示和 PDL1 抗体重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:71 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO:72 所示；Cross318×PDL1 包含 CD3 抗体 SEQ ID NO:62 所示和 PDL1 抗体重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:71 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO:72 所示；Cross323×PDL1 包含 CD3 抗体 SEQ ID NO:63 所示和 PDL1 抗体重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:71 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO:72 所示；Cross325×PDL1 包含 CD3 抗体 SEQ ID NO:51 所示和 PDL1 抗体重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:71 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO:72 所示；Cross326×PDL1 包含 CD3 抗体 SEQ ID NO:64 所示和 PDL1 抗体重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:71 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO:72 所示；Cross3ZH07×PDL1 包含 CD3 抗体 SEQ ID NO:65 所示和 PDL1 抗体重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:71 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO:72 所示；Cross3ZH09×PDL1 包含 CD3 抗体 SEQ ID NO:66 所示和 PDL1 抗体重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:71 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO:72 所示；Cross3ZH16×PDL1 包含 CD3 抗体 SEQ ID NO:67 所示和 PDL1 抗体重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:71 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO:72 所示；Cross3ZH23×PDL1 包含 CD3 抗体 SEQ ID NO:68 所示和 PDL1 抗体重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:71 所示和轻链氨基酸序列如 SEQ ID NO:72 所示）（委托南京金斯瑞合成）按照 1: 1: 1 的比例加入 2mL OptiSFM 培养基（购自 Thermo Fisher）中，获得溶液 A。（3）将 160μL ExpiFectamineCHO 转染试剂（购自 Thermo Fisher）加入 2mL OptiSFM 培养基（购自 Thermo Fisher）中，获得溶液 b。（4）然后将溶液 a 和溶液 b 混合，获得转染混合物，并在 5 分钟内将转染混合物全部加入 50mL ExpiCHO 细胞溶液中。（5）在 37℃、5% CO₂ 条件下培养 1 天后，加入 8mL Feed、300μL Enhancer（购自 Thermo Fisher），并转入 32℃、5% CO₂ 条件下培养 9 天后收获培养上清，其中第 5 天添加 8mL Feed。（6）利用 Protein A 纯化柱（购自纳微）从培养上清中亲和纯化，获得目的 CD3×Trop2 或者 CD3×PDL1 抗体，抗体构型如图 5 所示。

实施例 2：抗体亲和力检测

Biacore 是一种基于光学表面等离子共振（SPR）原理的分析生物分子相互作用的方法，不仅可以检测抗原和抗体之间的特异性结合，还可以获得分子间的结合速率常数（k_a）、解离速率常数（k_d）、平衡解离常数（K_D）等在药物研发中非常重要的数据，从而计算得到抗体的亲和力。

在 Biacore 8K（Cytiva）系统中，用运行缓冲液（HBS-EP）将抗体稀释至 10μg/mL，在流速 10μL/min 的条件下将抗体偶联到 CM5 芯片（Cytiva）上。在流速 30μL/min 的条件下，检测 CD3E&D 抗原与本发明实施例 1 的低亲和力 CD3 单抗结合的动力学和亲和力数据，设定的结合时间为 120s，解离时间为 800s。抗体亲和力考察结果如图 2 所示。

实施例 3：CD3 单抗 ELISA 结合实验

本实施例利用 ELISA 检测母本抗体 Cross3 及 CD3 亲和力降低抗体（生产方法及重链、轻链的氨基酸序列见实施例 1）的结合特性。发明人将 CD3E&D 蛋白包被到 96 孔板中，抗体加入后信号的强弱用于判断抗体和 CD3E&D 的结合特性。

用 PBS 缓冲液将 CD3E&D 蛋白（购自 Acro）稀释为 2μg/ml，以 100μL/孔的体积加于 96 孔板中，于 4℃放置过夜。将 96 孔板中 PBS 缓冲液吸掉，用 PBST（pH7.2 PBS 含 0.1% Tween 20）缓冲液洗板 6 次后，加入 200μL/孔 PBS/10% BSA，37℃孵育 2h 进行封闭。移去封闭液，用 PBST 洗板 6 次后，加入 100μL/孔用 PBST/0.05% BSA 梯度稀释的待测 Cross3 抗体、Cross303、Cross307、Cross308、Cross309、Cross310、Cross311、Cross312、Cross313、Cross314、Cross316、Cross317、Cross318、Cross323、Cross325、Cross326、对照 IgG1（购自百英生物），37℃孵育 1h。移去反应体系，用 PBST 洗板 6 次后，以 100μL/孔用 PBST/0.05% BSA 稀释 HRP（辣根过氧化物酶）标记的抗人抗体二抗（Fab 特异性）（购自 Sigma），37℃孵育 1h。用 PBST 洗板 6 次后，加入 80μL/孔 TMB（四甲基联苯胺），于室温孵育 3min，加入 80μL/孔 4M 硫酸终止反应。用酶标仪在 450nm 处读取吸光值。

结果如图 3 所示，表明本发明的所有 CD3 抗体均能够结合 CD3E&D，受限于 ELISA 实验的分辨率，ELISA 结果不能够体现各 CD3 单抗的亲和力差异。

实施例 4：CD3 单抗流式细胞术结合实验

用 PBS 将 PBMC 稀释为 2×10⁶/mL，以 100μL/管的体积加于 1.5ml EP 管中，向其中加入 10μL/管山羊血清，于 4℃封闭 30min。加入梯度稀释的待测 Cross3、Cross303、Cross307、Cross308、Cross309、Cross310、Cross311、Cross312、Cross313

抗体、Cross314、Cross316、Cross317、Cross318、Cross323、Cross325、Cross326（抗体 Cross3 及 CD3 亲和力降低抗体的生产方法及重链、轻链的氨基酸序列见实施例 1）、对照 IgG1（购自百英生物），于 4℃ 孵育 30min。向 EP 管中加入 1mL PBS，4℃ 3500rpm×5min 离心，弃尽上清，再用 PBS 洗一遍。离心后弃尽上清，用 100μL/管 PBS 重悬细胞，向其中加入 1μL/管 Alexa-647 标记的山羊抗人抗体二抗（购自 Jackson lab）及 0.5μL/管 PerCP-Cy5.5 标记的抗人 CD8 抗体，4℃ 避光孵育 30min。用 PBS 洗两遍，离心后弃尽上清。用 200μL/管 PBS 重悬细胞，用流式细胞仪进行检测。

结果如图 4 所示，显示本发明的 CD3 抗体 Cross309、Cross310、Cross311、Cross312、Cross313、Cross314、Cross316、Cross317、Cross318、Cross323、Cross325 能够结合 CD8 T 细胞并且 CD3 亲和力降低，CD3 抗体结合能力弱于母本抗体 Cross3。

实施例 5：CD3×Trop2、CD3×PDL1 双特异抗体 ELISA 结合实验

本实施例利用 ELISA 检测 CD3×Trop2、CD3×PDL1 双特异性抗体（生产方法及重链、轻链的氨基酸序列见实施例 1）的结合特性。发明人将 CD3E&D、Trop2 或者 PDL1 蛋白包被到 96 孔板中，抗体加入后信号的强弱用于判断抗体和相应蛋白的结合特性。

（1）用 PBS 缓冲液将 CD3E&D 蛋白（购自 Acro）稀释为 2μg/ml，以 100μL/孔的体积加于 96 孔板中，于 4℃ 放置过夜。将 96 孔板中 PBS 缓冲液吸掉，用 PBST（pH7.2 PBS 含 0.1% Tween 20）缓冲液洗板 6 次后，加入 200μL/孔 PBS/10% BSA，37℃ 孵育 2h 进行封闭。移去封闭液，用 PBST 洗板 6 次后，加入 100μL/孔用 PBST/0.05% BSA 梯度稀释的待测双特异抗体 Cross3×Trop2、Cross303×Trop2、Cross307×Trop2、Cross308×Trop2、Cross309×Trop2、Cross310×Trop2、Cross311×Trop2、Cross312×Trop2、Cross313×Trop2、Cross314×Trop2、Cross316×Trop2、Cross317×Trop2、Cross318×Trop2、Cross323×Trop2、Cross325×Trop2、Cross326×Trop2、Cross3×PDL1、Cross303×PDL1、Cross307×PDL1、Cross308×PDL1、Cross309×PDL1、Cross310×PDL1、Cross311×PDL1、Cross312×PDL1、Cross313×PDL1、Cross314×PDL1、Cross316×PDL1、Cross317×PDL1、Cross318×PDL1、Cross323×PDL1、Cross325×PDL1、Cross326×PDL1、对照 IgG1LALA（购自百英生物），37℃ 孵育 1h。移去反应体系，用 PBST 洗板 6 次后，以 100μL/孔用 PBST/0.05% BSA 稀释 HRP（辣根过氧化物酶）标记的抗人抗体二抗（Fab 特异性）（购自 Sigma），37℃ 孵育 1h。用 PBST 洗板 6 次后，加入 80μL/孔 TMB（四甲基联苯胺），于室温孵育 3min，加入 80μL/孔 4M 硫酸终止反应。用酶标仪在 450nm 处读取吸光值。

如图 6 所示，表明本发明的 CD3×Trop2 抗体能够结合 CD3E&D，与母本 Cross3×Trop2 双特异性抗体相比，亲和力降低 CD3 双特异性抗体与 CD3E&D 蛋白结合减弱，与预期相符。

如图 14 所示，表明本发明的 CD3×PDL1 抗体能够结合 CD3E&D，与母本 Cross3×PDL1 双特异性抗体相比，亲和力降低 CD3 双特异性抗体与 CD3E&D 蛋白结合减弱，与预期相符。

（2）用 PBS 缓冲液将 Trop2 蛋白（购自 Acro）稀释为 2μg/ml，以 100μL/孔的体积加于 96 孔板中，于 4℃ 放置过夜。将 96 孔板中 PBS 缓冲液吸掉，用 PBST（pH7.2 PBS 含 0.1% Tween 20）缓冲液洗板 6 次后，加入 200μL/孔 PBS/10% BSA，37℃ 孵育 2h 进行封闭。移去封闭液，用 PBST 洗板 6 次后，加入 100μL/孔用 PBST/0.05% BSA 梯度稀释的待测双特异抗体 Cross3×Trop2、Cross303×Trop2、Cross307×Trop2、Cross308×Trop2、Cross309×Trop2、Cross310×Trop2、Cross311×Trop2、Cross312×Trop2、Cross313×Trop2、Cross314×Trop2、Cross316×Trop2、Cross317×Trop2、Cross318×Trop2、Cross323×Trop2、Cross325×Trop2、Cross326×Trop2、对照 IgG1LALA（购自百英生物），37℃ 孵育 1h。移去反应体系，用 PBST 洗板 6 次后，以 100μL/孔用 PBST/0.05% BSA 稀释 HRP（辣根过氧化物酶）标记的抗人抗体二抗（Fab 特异性）（购自 Sigma），37℃ 孵育 1h。用 PBST 洗板 6 次后，加入 80μL/孔 TMB（四甲基联苯胺），于室温孵育 3min，加入 80μL/孔 4M 硫酸终止反应。用酶标仪在 450nm 处读取吸光值。

如图 7 所示，表明本发明的 CD3×Trop2 抗体能够结合 Trop2 蛋白，并且所有双特异性抗体与 Trop2 蛋白结合相似。

（3）用 PBS 缓冲液将 PDL1 蛋白（购自 Acro）稀释为 2μg/ml，以 100μL/孔的体积加于 96 孔板中，于 4℃ 放置过夜。将 96 孔板中 PBS 缓冲液吸掉，用 PBST（pH7.2 PBS 含 0.1% Tween 20）缓冲液洗板 6 次后，加入 200μL/孔 PBS/10% BSA，37℃ 孵育 2h 进行封闭。移去封闭液，用 PBST 洗板 6 次后，加入 100μL/孔用 PBST/0.05% BSA 梯度稀释的待测双特异抗

体 Cross3×PDL1、Cross303×PDL1、Cross307×PDL1、Cross308×PDL1、Cross309×PDL1、Cross310×PDL1、Cross311×PDL1、Cross312×PDL1、Cross313×PDL1、Cross314×PDL1、Cross316×PDL1、Cross317×PDL1、Cross318×PDL1、Cross323×PDL1、Cross325×PDL1、Cross326×PDL1、对照 IgG1LALA（购自百英生物），37℃孵育 1h。移去反应体系，用 PBST 洗板 6 次后，以 100μL/孔用 PBST/0.05% BSA 稀释 HRP（辣根过氧化物酶）标记的抗人抗体二抗（Fab 特异性）（购自 Sigma），37℃孵育 1h。用 PBST 洗板 6 次后，加入 80μL/孔 TMB（四甲基联苯胺），于室温孵育 3min，加入 80μL/孔 4M 硫酸终止反应。用酶标仪在 450nm 处读取吸光值。

如图 15 所示，表明本发明的 CD3×PDL1 抗体能够结合 PDL1 蛋白。

实施例 6：CD3×Trop2 抗体 ELISA 桥联实验

ELISA 实验被用于检测 CD3×Trop2 双特异抗体（生产方法及重链、轻链的氨基酸序列见实施例 1）的桥联结合特性。CD3E&D 抗原蛋白包被到 96 孔板中，抗体加入后，利用生物素标记的 Trop2 蛋白检测，信号的强弱用于判断双特异抗体桥联 CD3E&D 和 Trop2 蛋白的结合特性。

用 PBS 缓冲液将 CD3E&D 蛋白（购自 Acro）稀释为 2μg/ml，以 100μl/孔的体积加于 96 孔板中，于 4℃放置过夜。将 96 孔板中 PBS 缓冲液吸掉，用 PBST（pH7.2 PBS 含 0.1% Tween 20）缓冲液洗板 6 次后，加入 200μl/孔 PBS/10% BSA，37℃孵育 2h 进行封闭。移去封闭液，用 PBST 洗板 6 次后，加入 100μl/孔用 PBST/0.05% BSA 梯度稀释的待测双特异抗体 Cross3×Trop2、Cross303×Trop2、Cross307×Trop2、Cross308×Trop2、Cross309×Trop2、Cross310×Trop2、Cross311×Trop2、Cross312×Trop2、Cross313×Trop2、Cross314×Trop2、Cross316×Trop2、Cross317×Trop2、Cross318×Trop2、Cross323×Trop2、Cross325×Trop2、Cross326×Trop2、对照 hIgG1LALA（购自百英生物），37℃孵育 1h。移去反应体系，用 PBST 洗板 6 次后，加入稀释至合适浓度的 Trop2-Biotin 蛋白，37℃孵育 1h。移去反应体系，用 PBST 洗板 6 次后，以 100μl/孔用 PBST/0.05% BSA 稀释 HRP（辣根过氧化物酶）标记的 Streptavidin 二抗（购自 Southern biotech），37℃孵育 1h。用 PBST 洗板 6 次后，加入 80μl/孔 TMB（四甲基联苯胺），于室温孵育 3min，加入 80μl/孔 4M 硫酸终止反应。用酶标仪在 450nm 处读取吸光值。

结果如图 8，表明本发明的双特异抗体能够桥联 CD3E&D 和 Trop2 蛋白，并且母本 Cross3×Trop2 抗体桥联能力强于亲和力降低 CD3 双特异性抗体，与预期相符。

实施例 7：双特异性抗体流式细胞术结合实验

流式细胞术实验被用于检测双特异抗体的结合特性，向细胞中加入双特异抗体（生产方法及重链、轻链的氨基酸序列见实施例 1），抗体加入后信号的强弱。

（1）用 PBS 将 PBMC 稀释为 2×10^6 /ml，以 100μl/管的体积加于 1.5ml EP 管中，向其中加入 10μl/管山羊血清，于 4℃封闭 30min。加入梯度稀释的双特异抗体 Cross3×Trop2、Cross303×Trop2、Cross307×Trop2、Cross308×Trop2、Cross309×Trop2、Cross310×Trop2、Cross311×Trop2、Cross312×Trop2、Cross313×Trop2、Cross314×Trop2、Cross316×Trop2、Cross317×Trop2、Cross318×Trop2、Cross323×Trop2、Cross325×Trop2、Cross326×Trop2、Cross3×PDL1、Cross313×PDL1、Cross316×PDL1、Cross325×PDL1、对照 hIgG1LALA（购自百英生物），于 4℃孵育 30min。向 EP 管中加入 1ml PBS，4℃3500rpm×5min 离心，弃尽上清，再用 PBS 洗一遍。离心后弃尽上清，用 100μl/管 PBS 重悬细胞，向其中加入 1μl/管 Alexa-647 标记的山羊抗人 IgG 抗体二抗（购自 Jackson lab）和 0.5μl/管 PerCP-Cy5.5 标记的抗人 CD8 抗体，4℃避光孵育 30min。用 PBS 洗两遍，离心后弃尽上清。用 200μl/管 PBS 重悬细胞，用流式细胞仪进行检测。

结果如图 9 所示，显示本发明的 CD3×Trop2 抗体能够结合 CD8 T 细胞，并且与母本 CD3 抗体 Cross3×Trop2 相比，CD3 亲和力降低双特异性抗体与 T 细胞结合能力减弱，与预期相符。

结果如图 16 所示，显示本发明的 Cross3×PDL1、Cross313×PDL1、Cross316×PDL1、Cross325×PDL1 抗体能够结合 CD8 T 细胞，并且 Cross313×PDL1、Cross316×PDL1、Cross325×PDL1 结合 T 细胞能力弱于 Cross3×PDL1，与预期一致。

（2）用 PBS 将肿瘤细胞稀释为 2×10^6 /ml，以 100μl/管的体积加于 1.5ml EP 管中，向其中加入 10μl/管山羊血清，于 4℃封闭 30min。加入梯度稀释的双特异抗体 Cross3×Trop2、Cross303×Trop2、Cross307×Trop2、Cross308×Trop2、

Cross309×Trop2、Cross310×Trop2、Cross311×Trop2、Cross312×Trop2、Cross313×Trop2、Cross314×Trop2、Cross316×Trop2、Cross317×Trop2、Cross318×Trop2、Cross323×Trop2、Cross325×Trop2、Cross326×Trop2、Cross3×PDL1、Cross303×PDL1、Cross307×PDL1、Cross308×PDL1、Cross309×PDL1、Cross310×PDL1、Cross311×PDL1、Cross312×PDL1、Cross313×PDL1、Cross314×PDL1、Cross316×PDL1、Cross317×PDL1、Cross318×PDL1、Cross323×PDL1、Cross325×PDL1、Cross326×PDL1、对照 hIgG1LALA（购自百英生物），于 4℃ 孵育 30min。向 EP 管中加入 1ml PBS，4℃ 3500rpm×5min 离心，弃尽上清，再用 PBS 洗一遍。离心后弃尽上清，用 100μl/管 PBS 重悬细胞，向其中加入 1μl/管 Alexa-647 标记的山羊抗人 IgG 抗体二抗（购自 Jackson lab），4℃ 避光孵育 30min。用 PBS 洗两遍，离心后弃尽上清。用 200μl/管 PBS 重悬细胞，用流式细胞仪进行检测。

结果如图 10 所示，显示本发明的 CD3×Trop2 抗体能够结合 A-375-Trop2 黑色素瘤细胞，根据平均荧光强度来判断，所有双特异性抗体与 A-375-Trop2 细胞结合能力相似。

结果如图 17、18、19 所示，显示本发明的 CD3×PDL1 抗体能够结合 A-375 黑色素瘤细胞、HCT-15 结直肠癌细胞、A549 肺癌细胞。

实施例 8：双特异抗体促进 PBMC 杀伤肿瘤细胞实验

检测双特异抗体促进 PBMC 杀伤 A-375 黑色素瘤细胞、HCT-15 结直肠癌细胞的能力。

(a) 按照 50μL/孔的体积向 16 孔 RTCA 板中加入完全 RPMI-1450 培养基，上机校准；

(b) 用完全 RPMI-1450 培养基将肿瘤细胞稀释为 2×10^5 /mL，按照 50μL/孔的体积分别单独添加至加入步骤（1）获得的 RTCA 板中，然后于 37℃，5% CO₂ 条件下使用 xCELLigence RTCA MP 设备检测细胞系数 24h；

(c) 用完全 RPMI-1450 培养基将梯度稀释的双特异抗体 Cross3×Trop2、Cross303×Trop2、Cross307×Trop2、Cross308×Trop2、Cross309×Trop2、Cross310×Trop2、Cross311×Trop2、Cross312×Trop2、Cross313×Trop2、Cross314×Trop2、Cross316×Trop2、Cross317×Trop2、Cross318×Trop2、Cross323×Trop2、Cross325×Trop2、Cross326×Trop2、Cross3×PDL1、Cross303×PDL1、Cross307×PDL1、Cross308×PDL1、Cross309×PDL1、Cross310×PDL1、Cross311×PDL1、Cross312×PDL1、Cross313×PDL1、Cross314×PDL1、Cross316×PDL1、Cross317×PDL1、Cross318×PDL1、Cross323×PDL1、Cross325×PDL1、Cross326×PDL1、Cross3ZH07×PDL1、Cross3ZH09×PDL1、Cross3ZH16×PDL1、Cross3ZH23×PDL1、对照 hIgG1LALA（购自百英生物），加入步骤（2）获得的 RTCA 板中，添加体积为 20μl/孔；

(4) 用完全 RPMI-1450 培养基将 PBMC（购自妙顺生物）稀释为 1.25×10^6 个/ml，加入步骤（3）获得的 RTCA 板中，添加体积为 80μl/孔；

(5) 将步骤（4）获得的反应体系于 37℃，5% CO₂ 使用 xCELLigence RTCA MP 设备检测细胞系数 24h。

如图 11 所示，本发明的 CD3×Trop2 抗体促进 PBMC 杀伤 A-375-Trop2 黑色素瘤细胞，Cross3×Trop2 双特异性抗体起效剂量低于亲和力降低双特异性抗体；Cross313×Trop2、Cross316×Trop2、Cross325×Trop2 起效剂量虽然高，最高杀伤比例与 Cross3×Trop2 一致，均能达到最高杀伤。

如图 12 所示，Cross3×Trop2、Cross313×Trop2、Cross316×Trop2、Cross325×Trop2 促进 PBMC 杀伤 A-375-Trop2 黑色素瘤细胞，Cross313×Trop2、Cross316×Trop2 起效剂量虽然高，最高杀伤比例与 Cross3×Trop2 一致，均能达到最高杀伤。

如图 20 所示，本发明的 CD3×PDL1 促进 PBMC 杀伤 A-375 黑色素瘤细胞，并且 Cross313×PDL1、Cross316×PDL1、Cross325×PDL1 最高杀伤优于其它双特异性抗体。

如图 21 所示，本发明的 Cross3×PDL1、Cross313×PDL1、Cross316×PDL1、Cross325×PDL1 促进 PBMC 杀伤 A-375 黑色素瘤细胞，Cross316×PDL1 最高杀伤优于 Cross313×PDL1、Cross325×PDL1。

如图 22 所示，本发明的 CD3×PDL1 促进 PBMC 杀伤 HCT-15 结直肠癌细胞，并且 Cross313×PDL1、Cross316×PDL1、Cross325×PDL1 能够促进 PBMC 100% 杀伤 HCT-15 结直肠癌细胞。

实施例 9：双特异抗体促进 PBMC 分泌细胞因子实验

向 PBMC 与肿瘤细胞共孵育体系中加入双特异抗体（生产方法及重链、轻链的氨基酸序列见实施例 1），培养 48h 后收集培养上清，检测上清中细胞因子含量，用于判断双特异抗体引发细胞因子释放的特性。

（1）利用完全 RPMI 1450 培养基将肿瘤稀释为 $1 \times 10^5/\text{ml}$ ，加入 96 孔板中， 37°C ，5% CO_2 培养箱中培养 24h；

（2）利用完全 RPMI 1450 培养基将双特异抗体 Cross3×Trop2、Cross313×Trop2、Cross316×Trop2、Cross325×Trop2、Cross3×PDL1、Cross313×PDL1、Cross316×PDL1、Cross325×PDL1、对照 hIgG1LALA（购自百英生物）进行梯度稀释，加入 96 孔板中，20 μl /孔；

（3）利用完全 RPMI 1450 培养基将 PBMC（购自赛笠生物）稀释为 $1.25 \times 10^6/\text{ml}$ ，加入 96 孔板中，80 μl /孔；

（4）将 96 孔板于 37°C ，5% CO_2 培养箱中培养 48h；

（5）室温 300g×10min 离心，收集细胞培养上清；

（6）利用 CBA 试剂盒（购自 BD）检测上清中细胞因子含量。

如图 13 所示，本发明的 Cross3×Trop2、Cross313×Trop2、Cross316×Trop2、Cross325×Trop2 促进 PBMC 分泌促炎性细胞因子 TNF- α 、IL-6、IFN- γ 、IL-2，并且 Cross313×Trop2、Cross316×Trop2、Cross325×Trop2 抗体促进炎性因子分泌弱于 Cross3×Trop2。

如图 23、24 所示，本发明的 Cross3×PDL1、Cross313×PDL1、Cross316×PDL1、Cross325×PDL1 促进 PBMC 分泌促炎性细胞因子 TNF- α 、IFN- γ ，并且 Cross313×PDL1、Cross316×PDL1、Cross325×PDL1 抗体促进炎性因子分泌弱于 Cross3×PDL1。

在本说明书的描述中，参考术语“一个实施例”、“一些实施例”、“示例”、“具体示例”、或“一些示例”等的描述意指结合该实施例或示例描述的具体特征、结构、材料或者特点包含于本发明的至少一个实施例或示例中。在本说明书中，对上述术语的示意性表述不必针对的是相同的实施例或示例。而且，描述的具体特征、结构、材料或者特点可以在任一个或多个实施例或示例中以合适的方式结合。此外，在不相互矛盾的情况下，本领域的技术人员可以将本说明书中描述的不同实施例或示例以及不同实施例或示例的特征进行结合和组合。

尽管上面已经示出和描述了本发明的实施例，可以理解的是，上述实施例是示例性的，不能理解为对本发明的限制，本领域的普通技术人员在本发明的范围内可以对上述实施例进行变化、修改、替换和变型。

权 利 要 求 书

1. 一种抗 CD3 抗体或其抗原结合片段，其特征在于，包含：重链可变区 CDRs 和轻链可变区 CDRs；
其中，所述重链可变区 CDRs 具有如 SEQ ID NO: 1~3、7~8 和 74~86 任一项所示或其保守修饰形式的氨基酸序列；
和/或所述轻链可变区 CDRs 具有如 SEQ ID NO: 4~6、9 和 87~92 任一项所示或其保守修饰形式的氨基酸序列。
2. 根据权利要求 1 所述的抗体或其抗原结合片段，其特征在于，所述重链可变区 CDRs 具有如 SEQ ID NO: 1~2 所示或其保守修饰形式的氨基酸序列，以及如 SEQ ID NO: 3、7~8 和 74~86 其中之一所示或其保守修饰形式的氨基酸序列；
所述轻链可变区 CDRs 具有如 SEQ ID NO: 4~5 所示或其保守修饰形式的氨基酸序列，以及如 SEQ ID NO: 6、9 和 87~92 其中之一所示或其保守修饰形式的氨基酸序列。
3. 根据权利要求 2 所述的抗体或其抗原结合片段，其特征在于，所述抗体或其抗原结合片段包含：
重链可变区 CDR1 具有如 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列，
重链可变区 CDR2 具有如 SEQ ID NO: 2 所示的氨基酸序列，
重链可变区 CDR3 具有如 SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 7~8 和 SEQ ID NO: 74~86 其中之一所示的氨基酸序列；
轻链可变区 CDR1 具有如 SEQ ID NO: 4 所示的氨基酸序列，
轻链可变区 CDR2 具有如 SEQ ID NO: 5 所示的氨基酸序列，
轻链可变区 CDR3 具有如 SEQ ID NO: 6、9 和 87~92 其中之一所示的氨基酸序列。
4. 根据权利要求 3 所述的抗体或其抗原结合片段，其特征在于，所述抗体或其抗原结合片段包含如下任一组：
 - 1) 分别具有如 SEQ ID NO: 1、2 和 74 所示的重链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3，分别具有如 SEQ ID NO: 4、5 和 6 所示的轻链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3；
 - 2) 分别具有如 SEQ ID NO: 1、2 和 75 所示的重链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3，分别具有如 SEQ ID NO: 4、5 和 6 所示的轻链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3；
 - 3) 分别具有如 SEQ ID NO: 1、2 和 76 所示的重链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3，分别具有如 SEQ ID NO: 4、5 和 6 所示的轻链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3；
 - 4) 分别具有如 SEQ ID NO: 1、2 和 77 所示的重链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3，分别具有如 SEQ ID NO: 4、5 和 6 所示的轻链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3；
 - 5) 分别具有如 SEQ ID NO: 1、2 和 78 所示的重链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3，分别具有如 SEQ ID NO: 4、5 和 6 所示的轻链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3；
 - 6) 分别具有如 SEQ ID NO: 1、2 和 79 所示的重链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3，分别具有如 SEQ ID NO: 4、5 和 6 所示的轻链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3；
 - 7) 分别具有如 SEQ ID NO: 1、2 和 80 所示的重链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3，分别具有如 SEQ ID NO: 4、5 和 6 所示的轻链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3；
 - 8) 分别具有如 SEQ ID NO: 1、2 和 81 所示的重链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3，分别具有如 SEQ ID NO: 4、5 和 6 所示的轻链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3；
 - 9) 分别具有如 SEQ ID NO: 1、2 和 82 所示的重链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3，分别具有如 SEQ ID NO: 4、5 和 6 所示的轻链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3；
 - 10) 分别具有如 SEQ ID NO: 1、2 和 83 所示的重链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3，分别具有如 SEQ ID NO: 4、5 和 6 所示的轻链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3；
 - 11) 分别具有如 SEQ ID NO: 1、2 和 3 所示的重链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3，分别具有如 SEQ ID NO: 4、5 和 6 所示的轻链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3；
 - 12) 分别具有如 SEQ ID NO: 1、2 和 7 所示的重链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3，分别具有如 SEQ ID NO: 4、5 和 6 所示的轻链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3；

13) 分别具有如 SEQ ID NO: 1、2 和 8 所示的重链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3，分别具有如 SEQ ID NO: 4、5 和 87 所示的轻链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3；

14) 分别具有如 SEQ ID NO: 1、2 和 8 所示的重链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3，分别具有如 SEQ ID NO: 4、5 和 88 所示的轻链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3；

15) 分别具有如 SEQ ID NO: 1、2 和 8 所示的重链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3，分别具有如 SEQ ID NO: 4、5 和 9 所示的轻链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3；

16) 分别具有如 SEQ ID NO: 1、2 和 84 所示的重链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3，分别具有如 SEQ ID NO: 4、5 和 89 所示的轻链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3；

17) 分别具有如 SEQ ID NO: 1、2 和 85 所示的重链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3，分别具有如 SEQ ID NO: 4、5 和 90 所示的轻链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3；

18) 分别具有如 SEQ ID NO: 1、2 和 86 所示的重链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3，分别具有如 SEQ ID NO: 4、5 和 92 所示的轻链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3；

19) 分别具有如 SEQ ID NO: 1、2 和 8 所示的重链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3，分别具有如 SEQ ID NO: 4、5 和 91 所示的轻链可变区 CDR1、CDR2 和 CDR3。

5. 根据权利要求 1~4 任一项所述的抗体或其抗原结合片段，其特征在于，所述抗体或其抗原结合片段包含重链框架区和/或轻链框架区。

6. 根据权利要求 5 所述的抗体或其抗原结合片段，其特征在于，所述重链框架区和/或轻链框架区的至少一部分来自于鼠源抗体、人源抗体、灵长目源抗体、牛源抗体、马源抗体、乳牛源抗体、猪源抗体、绵羊源抗体、山羊源抗体、狗源抗体、猫源抗体、兔源抗体、骆驼源抗体、驴源抗体、鹿源抗体、貂源抗体、鸡源抗体、鸭源抗体、鹅源抗体、火鸡源抗体、斗鸡源抗体或其突变体中的至少之一，优选为鼠源抗体、人源抗体和灵长目源抗体中的至少之一。

7. 根据权利要求 5 所述的抗体或其抗原结合片段，其特征在于，所述抗体或其抗原结合片段包含：
具有如 SEQ ID NO: 10、12~13、15~24、27 和 31 其中之一所示的氨基酸序列或其保守修饰形式的氨基酸序列的重链可变区；和/或，
具有如 SEQ ID NO: 11、14、25~26、28 和 30 其中之一所示的氨基酸序列或其保守修饰形式的氨基酸序列的轻链可变区。

8. 根据权利要求 5 所述的抗体或其抗原结合片段，其特征在于，所述重链可变区具有与 SEQ ID NO: 10、12~13、15~24、27 和 31 其中之一所示的氨基酸序列具有至少 90%序列同一性的氨基酸序列；和/或，

所述轻链可变区具有与 SEQ ID NO: 11、14、25~26、28 和 30 其中之一所示的氨基酸序列具有至少 90%序列同一性的氨基酸序列。

9. 根据权利要求 8 所述的抗体或其抗原结合片段，其特征在于，所述抗体或其抗原结合片段包含具有如下任一组重链可变区和轻链可变区组合所示的氨基酸序列或与其具有至少 90%序列同一性的氨基酸序列：

抗体或其抗原结合片段组别号	重链可变区	轻链可变区
1	SEQ ID NO: 15	SEQ ID NO: 11
2	SEQ ID NO: 16	SEQ ID NO: 11
3	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 11
4	SEQ ID NO: 17	SEQ ID NO: 11
5	SEQ ID NO: 19	SEQ ID NO: 11
6	SEQ ID NO: 20	SEQ ID NO: 11
7	SEQ ID NO: 21	SEQ ID NO: 11
8	SEQ ID NO: 22	SEQ ID NO: 11
9	SEQ ID NO: 23	SEQ ID NO: 11
10	SEQ ID NO: 24	SEQ ID NO: 11
11	SEQ ID NO: 10	SEQ ID NO: 11
12	SEQ ID NO: 12	SEQ ID NO: 11

13	SEQ ID NO: 13	SEQ ID NO: 25
14	SEQ ID NO: 13	SEQ ID NO: 26
15	SEQ ID NO: 13	SEQ ID NO: 14
16	SEQ ID NO: 27	SEQ ID NO: 28
17	SEQ ID NO: 29	SEQ ID NO: 28
18	SEQ ID NO: 13	SEQ ID NO: 30
19	SEQ ID NO: 31	SEQ ID NO: 26

。

10. 根据权利要求 1~4 任一项所述的抗体或其抗原结合片段，其特征在于，所述抗体或其抗原结合片段进一步包含恒定区；

其中，所述恒定区包括重链恒定区和轻链恒定区中的至少之一。

11. 根据权利要求 10 所述的抗体或其抗原结合片段，其特征在于，所述重链恒定区和轻链恒定区的至少之一的至少一部分来自于鼠源抗体、人源抗体、灵长目源抗体、牛源抗体、马源抗体、乳牛源抗体、猪源抗体、绵羊源抗体、山羊源抗体、狗源抗体、猫源抗体、兔源抗体、骆驼源抗体、驴源抗体、鹿源抗体、貂源抗体、鸡源抗体、鸭源抗体、鹅源抗体、火鸡源抗体、斗鸡源抗体或其突变体中的至少之一。

12. 根据权利要求 10 所述的抗体或其抗原结合片段，其特征在于，所述重链恒定区包括选自 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、IgM、IgE 或 IgD 的重链恒定区；和/或，

所述轻链恒定区包括选自 κ 型或 λ 型轻链恒定区。

13. 根据权利要求 11 所述的抗体或其抗原结合片段，其特征在于，所述轻链恒定区和重链恒定区均来自于鼠源抗体或其突变体，或者人源抗体或其突变体。

14. 根据权利要求 10 所述的抗体或其抗原结合片段，其特征在于，所述重链恒定区的 N 端与所述重链可变区的 C 端相连；和/或，

所述轻链恒定区的 N 端与所述轻链可变区的 N 端相连。

15. 根据权利要求 10 所述的抗体或其抗原结合片段，其特征在于，所述重链恒定区具有如 SEQ ID NO: 93 所示的氨基酸序列或与其具有至少 80%同一性的氨基酸序列；和/或，

所述轻链恒定区具有如 SEQ ID NO: 94 所示的氨基酸序列或与其具有至少 80%同一性的氨基酸序列。

16. 根据权利要求 10 所述的抗体或其抗原结合片段，其特征在于，所述重链可变区的 C 端和所述轻链可变区的 N 端相连，或所述重链可变区的 N 端和所述轻链可变区的 C 端相连。

17. 根据权利要求 16 所述的抗体或其抗原结合片段，其特征在于，所述抗体或其抗原结合片段进一步包含第一连接肽，所述重链可变区的 C 端和所述第一连接肽的 N 端相连、所述第一连接肽的 C 端与所述轻链可变区的 N 端相连，或所述轻链可变区的 C 端与所述第一连接肽的 N 端相连、所述第一连接肽的 C 端与所述重链可变区的 N 端相连。

18. 根据权利要求 1~4 任一项所述的抗体或其抗原结合片段，其特征在于，所述抗体包括全长单克隆抗体、嵌合抗体、人源化抗体、Fv、scFv、Fab、Fab'、Fab'-SH 和 F(ab')₂ 中的至少之一；

所述抗体的抗原结合片段包括 F(ab')₂ 片段、Fab' 片段、Fab 片段、F(ab)₂ 片段、Fv 片段、scFv 片段、scFv-Fc 融合蛋白、scFv-Fv 融合蛋白和最小识别单位中的至少之一。

19. 根据权利要求 18 所述的抗体或其抗原结合片段，其特征在于，所述抗体或抗原结合片段包含：

具有如 SEQ ID NO: 32、34、35 和 37~46 其中之一所示的氨基酸序列或与其具有至少 80%同一性的氨基酸序列的重链；和/或，

具有如 SEQ ID NO: 33、36 和 47~48 其中之一所示的氨基酸序列或与其具有至少 80%同一性的氨基酸序列的轻链。

20. 根据权利要求 18 所述的抗体或其抗原结合片段，其特征在于，所述抗体或其抗原结合片段具有如下任一组重链和轻链组合所示的氨基酸序列或与其具有至少 80%序列同一性的氨基酸序列：

抗体或其抗原结合片段组别号	重链	轻链
---------------	----	----

1	SEQ ID NO: 37	SEQ ID NO: 33
2	SEQ ID NO: 38	SEQ ID NO: 33
3	SEQ ID NO: 39	SEQ ID NO: 33
4	SEQ ID NO: 40	SEQ ID NO: 33
5	SEQ ID NO: 41	SEQ ID NO: 33
6	SEQ ID NO: 42	SEQ ID NO: 33
7	SEQ ID NO: 43	SEQ ID NO: 33
8	SEQ ID NO: 44	SEQ ID NO: 33
9	SEQ ID NO: 45	SEQ ID NO: 33
10	SEQ ID NO: 46	SEQ ID NO: 33
11	SEQ ID NO: 32	SEQ ID NO: 33
12	SEQ ID NO: 34	SEQ ID NO: 33
13	SEQ ID NO: 35	SEQ ID NO: 47
14	SEQ ID NO: 35	SEQ ID NO: 48
15	SEQ ID NO: 35	SEQ ID NO: 36
16	SEQ ID NO: 95	SEQ ID NO: 119
17	SEQ ID NO: 96	SEQ ID NO: 120
18	SEQ ID NO: 97	SEQ ID NO: 121
19	SEQ ID NO: 98	SEQ ID NO: 122

。

21. 根据权利要求 18 所述的抗体或其抗原结合片段，其特征在于，所述抗体或其抗原结合片段具有 SEQ ID NO:99~117 任一所示的氨基酸序列或与其具有至少 80%序列同一性的氨基酸序列。

22. 根据权利要求 18 所述的抗体或其抗原结合片段，其特征在于，所述抗体或其抗原结合片段具有如下任一 Fab VL-CL 和 Fab VH-CH1 组合所示的氨基酸序列或与其具有至少 80%序列同一性的氨基酸序列：

抗体或其抗原结合片段组别号	Fab VH-CH1	Fab VL-CL
1	SEQ ID NO:123	SEQ ID NO: 33
2	SEQ ID NO:124	SEQ ID NO: 33
3	SEQ ID NO:125	SEQ ID NO: 33
4	SEQ ID NO:126	SEQ ID NO: 33
5	SEQ ID NO:127	SEQ ID NO: 33
6	SEQ ID NO:128	SEQ ID NO: 33
7	SEQ ID NO:129	SEQ ID NO: 33
8	SEQ ID NO:130	SEQ ID NO: 33
9	SEQ ID NO:131	SEQ ID NO: 33
10	SEQ ID NO:132	SEQ ID NO: 33
11	SEQ ID NO:133	SEQ ID NO: 33
12	SEQ ID NO:134	SEQ ID NO: 33
13	SEQ ID NO:135	SEQ ID NO: 47
14	SEQ ID NO:136	SEQ ID NO: 36
15	SEQ ID NO:137	SEQ ID NO: 48
16	SEQ ID NO:138	SEQ ID NO: 119
17	SEQ ID NO:139	SEQ ID NO: 120
18	SEQ ID NO:140	SEQ ID NO: 121
19	SEQ ID NO:141	SEQ ID NO: 122

。

23. 根据权利要求 18 所述的抗体或其抗原结合片段，其特征在于，所述抗体或其抗原结合片段具有如 SEQ ID

NO:142~160 任一项所示的氨基酸序列或与其具有至少 80%序列同一性的氨基酸序列。

24. 一种多特异性抗体，其特征在于，包含：

第一抗原结合区，所述第一抗原结合区包含如权利要求 1~23 任一项所述的抗 CD3 抗体或其抗原结合片段；

第二抗原结合区，所述第二抗原结合区具有生物分子结合活性，所述生物分子不为 CD3。

25. 根据权利要求 24 所述的多特异性抗体，其特征在于，所述多特异性抗体选自双特异性抗体、三特异性抗体和四特异性抗体之一，优选为双特异性抗体。

26. 根据权利要求 25 所述的多特异性抗体，其特征在于，所述双特异性抗体包括对称双特异性抗体或不对称双特异性抗体。

27. 根据权利要求 24 所述的多特异性抗体，其特征在于，所述第二抗原结合区为所述生物分子的结合蛋白或其片段。

28. 根据权利要求 24 所述的多特异性抗体，其特征在于，所述生物分子选自如下至少之一：

PDL1、CD47、TIGIT、CD73、CD33、CEACAM1、CEACAM5、CEACAM6、STING、WNT、Beta catenin、B7H3、VISITA、CD19、BCMA、CD22、CD20、CD123、CD38、CEA、CD25、CD46、CD138、PSCA、PSMA、PSA、MUC1、MUC16、NY-ESO-1、GD2、WT1、Mesothelin、MAGE-A3、GPC3、PRAME、Globo H、AFP、Trop2、FOLR1、SP、Sca-1、CD133、EPCAM。

29. 根据权利要求 27 所述的多特异性抗体，其特征在于，所述结合蛋白或其片段选自抗体或其抗原结合片段、受体、以及配体中的至少之一。

30. 根据权利要求 29 所述的多特异性抗体，其特征在于，所述双特异性抗体为不对称双特异性抗体。

31. 根据权利要求 24 所述的多特异性抗体，其特征在于，所述第一抗原结合区包含第一 scFv 片段、第一 Fv 片段、第一 Fab 片段或第一 Fab-Linker 片段。

32. 根据权利要求 31 所述的多特异性抗体，其特征在于，所述第一抗原结合区进一步包含第一 Fc 肽段。

33. 根据权利要求 32 所述的多特异性抗体，其特征在于，所述第一 Fc 肽段的 N 端和所述 scFv 片段或 Fv 片段的 C 端相连；或者，

所述第一 Fc 肽段的 N 端和所述 Fab 片段或 Fab-Linker 片段的 CH1 的 C 端相连。

34. 根据权利要求 32 所述的多特异性抗体，其特征在于，所述第一抗原结合区进一步包含第二连接肽，所述第一 Fc 肽段的 N 端和所述第二连接肽的 C 端相连、所述第二连接肽的 N 端和所述 scFv 片段或 Fv 片段的 C 端相连；或者，

所述第一 Fc 肽段的 N 端和所述第二连接肽的 C 端相连、所述第二连接肽的 N 端和所述 Fab 片段或 Fab-Linker 片段的 CH1 的 C 端相连。

35. 根据权利要求 32 所述的多特异性抗体，其特征在于，所述第一 Fc 肽段选自人 Fc 肽段。

36. 根据权利要求 35 所述的多特异性抗体，其特征在于，所述第一 Fc 肽段为人 IgG1 Fc 肽段。

37. 根据权利要求 32 所述的多特异性抗体，其特征在于，所述第一 Fc 肽段具有如 SEQ ID NO:118 所示的氨基酸序列；或所述第一 Fc 肽段具有如 SEQ ID NO:166 所示的氨基酸序列。

38. 根据权利要求 31 所述的多特异性抗体，其特征在于，所述第一 scFv 片段具有 SEQ ID NO:95~117 任一项所示的氨基酸序列。

39. 根据权利要求 31 所述的多特异性抗体，其特征在于，所述第一 Fab 片段具有如下任一组 Fab VL-CL 和 Fab VH-CH1 组合所示的氨基酸序列：

第一 Fab 片段组别号	Fab VH-CH1	Fab VL-CL
1	SEQ ID NO: 123	SEQ ID NO: 33
2	SEQ ID NO: 124	SEQ ID NO: 33
3	SEQ ID NO: 125	SEQ ID NO: 33
4	SEQ ID NO: 126	SEQ ID NO: 33

5	SEQ ID NO: 127	SEQ ID NO: 33
6	SEQ ID NO: 128	SEQ ID NO: 33
7	SEQ ID NO: 129	SEQ ID NO: 33
8	SEQ ID NO: 130	SEQ ID NO: 33
9	SEQ ID NO: 131	SEQ ID NO: 33
10	SEQ ID NO: 132	SEQ ID NO: 33
11	SEQ ID NO: 133	SEQ ID NO: 33
12	SEQ ID NO: 134	SEQ ID NO: 33
13	SEQ ID NO: 135	SEQ ID NO: 47
14	SEQ ID NO: 136	SEQ ID NO: 36
15	SEQ ID NO: 137	SEQ ID NO: 48
16	SEQ ID NO:138	SEQ ID NO: 119
17	SEQ ID NO: 139	SEQ ID NO: 120
18	SEQ ID NO: 140	SEQ ID NO: 121
19	SEQ ID NO: 141	SEQ ID NO: 122

。

40. 根据权利要求 31 所述的多特异性抗体，其特征在于，所述第一 Fab-Linker 具有如 SEQ ID NO: 142~160 任一项所示的氨基酸序列。
41. 根据权利要求 24 所述的多特异性抗体，其特征在于，所述第一抗原结合区具有如 SEQ ID NO: 49~52、54~68 任一项所示的氨基酸序列。
42. 根据权利要求 28 所述的多特异性抗体，其特征在于，所述生物分子为 Trop2 或 PDL1。
43. 根据权利要求 42 所述的多特异性抗体，其特征在于，所述第二抗原结合区包含第一抗 Trop2 抗体或其抗原结合片段或第一抗 PDL1 抗体或其抗原结合片段。
44. 根据权利要求 43 所述的多特异性抗体，其特征在于，所述第一抗 Trop2 抗体或其抗原结合片段为抗 Trop2 的第二 scFab 片段或第二 Fab 片段；或者，
所述第一抗 PDL1 抗体或其抗原结合片段为抗 PDL1 的第三 scFab 片段或第三 Fab 片段。
45. 根据权利要求 44 所述的多特异性抗体，其特征在于，所述第二 scFab 片段具有如 SEQ ID NO: 161 所示的氨基酸序列；或者，
所述第二 Fab 片段具有如 SEQ ID NO: 162 和 70 所示的氨基酸序列；或者，
所述第三 scFab 片段具有如 SEQ ID NO: 163 所示的氨基酸序列；或者，
所述第三 Fab 片段具有如 SEQ ID NO: 164 和 72 所示的氨基酸序列。
46. 根据权利要求 44 所述的多特异性抗体，其特征在于，所述第二抗原结合区进一步包括第二 Fc 片段；
其中，所述第二 Fc 片段的 N 端和所述第二 scFab 片段、第二 Fab 片段、第三 scFab 片段或第三 Fab 片段的 CH1 的 C 端相连。
47. 根据权利要求 46 所述的多特异性抗体，其特征在于，所述第二 Fc 肽段选自人 Fc 肽段。
48. 根据权利要求 47 所述的多特异性抗体，其特征在于，所述第二 Fc 肽段为人 IgG1 Fc 肽段。
49. 根据权利要求 46 所述的多特异性抗体，其特征在于，所述第二 Fc 肽段具有如 SEQ ID NO: 165 所示的氨基酸序列。
50. 根据权利要求 46 所述的多特异性抗体，其特征在于，所述第一 Fc 肽段和所述第二 Fc 肽段是通过 knob-into-hole 结构进行连接的。

51. 根据权利要求 43 所述的多特异性抗体, 其特征在于, 所述第二抗原结合区具有如 SEQ ID NO: 161 或 163 所示的氨基酸序列; 或者,

所述第二抗原结合区具有如 SEQ ID NO: 162 和 70 所示的氨基酸序列; 或者,

所述第二抗原结合区具有如 SEQ ID NO: 164 和 72 所示的氨基酸序列。

52. 一种缀合物, 其特征在于, 包括:

权利要求 1~23 任一项所述的抗体或其抗原结合片段或权利要求 24~51 任一项所述的多特异性抗体;

缀合部分, 所述缀合部分与所述抗体或其抗原结合片段、或者多特异性抗体相连。

53. 根据权利要求 52 所述的缀合物, 其特征在于, 所述偶联部分包括选自为载体、药物、毒素、细胞因子、蛋白标签、修饰物、治疗剂和化疗剂中的至少之一。

54. 一种核酸, 其特征在于, 编码权利要求 1~23 任一项所述的抗体或其抗原结合片段或权利要求 24~51 任一项所述的多特异性抗体。

55. 一种载体或转化子, 其特征在于, 含有权利要求 54 所述的核酸。

56. 根据权利要求 55 所述的载体或转化子, 其特征在于, 所述载体为真核载体或原核载体。

57. 根据权利要求 55 所述的载体或转化子, 其特征在于, 所述载体包括选自质粒载体、腺病毒载体、慢病毒载体和腺相关病毒载体中的至少之一。

58. 一种细胞, 其特征在于, 携带有权利要求 54 所述的核酸、权利要求 55~57 任一项所述的载体或转化子; 或表达权利要求 1~23 任一项所述的抗体或其抗原结合片段或权利要求 24~51 任一项所述的多特异性抗体。

59. 根据权利要求 58 所述的细胞, 其特征在于, 所述细胞为原核细胞、真核细胞或噬菌体。

60. 一种药物组合物, 其特征在于, 包含: 权利要求 1~23 任一项所述的抗体或其抗原结合片段、权利要求 24~51 任一项所述的多特异性抗体、权利要求 52~53 任一项所述的缀合物、权利要求 54 所述的核酸或权利要求 55~57 任一项所述的载体或转化子。

61. 根据权利要求 60 所述的药物组合物, 其特征在于, 进一步包括药学上可接受的辅料。

62. 根据权利要求 61 所述的药物组合物, 其特征在于, 所述辅料包括: 药学上可接受的一种或多种赋形剂、稀释剂、稳定剂或载体。

63. 根据权利要求 60 所述的药物组合物, 其特征在于, 所述药物组合物为注射剂。

64. 一种试剂盒, 其特征在于, 包含权利要求 1~23 任一项所述的抗体或其抗原结合片段或权利要求 24~51 任一项所述的多特异性抗体。

65. 权利要求 1~23 任一项所述的抗体或其抗原结合片段或权利要求 24~51 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 CD3。

66. 权利要求 1~23 任一项所述的抗体或其抗原结合片段、权利要求 24~51 任一项所述的多特异性抗体、权利要求 52~53 任一项所述的缀合物、权利要求 54 所述的核酸、权利要求 55~57 任一项所述的载体或转化子或权利要求 60~63 任一项所述的药物组合物在制备药物中的用途, 所述药物用于调节免疫应答和/或抑制肿瘤生长, 或所述药物用于预防和/或治疗 CD3 相关疾病和/或癌症或肿瘤或感染或自身免疫疾病。

67. 根据权利要求 66 所述的用途, 其特征在于, 所述癌症或肿瘤或感染或自身免疫疾病为 Trop2 或 PDL1 相关疾病。

68. 根据权利要求 67 所述的用途, 其特征在于, 所述癌症或肿瘤为肺癌、肝癌、卵巢癌、宫颈癌、皮肤癌、膀胱癌、结肠癌、直肠癌、乳腺癌、胰腺癌、前列腺癌、神经胶质瘤、肾癌、胃癌、食道癌、口腔鳞状细胞癌或头颈癌中的至少一种; 和/或

所述癌症或肿瘤为非小细胞肺癌、恶性黑色素瘤、肾细胞癌、头颈部鳞癌、尿路上皮癌、结直肠癌、肝癌或经典霍奇金淋巴瘤中的至少一种。

69. 一种调节免疫应答和/或抑制肿瘤生长或预防和/或治疗 CD3 相关疾病和/或癌症或肿瘤或感染或自身免疫疾病的

方法，其特征在于，所述方法包括：向受试者施用药学上可接受量的权利要求 1~23 任一项所述的抗体或其抗原结合片段、权利要求 24~51 任一项所述的多特异性抗体、权利要求 52~53 任一项所述的缀合物、权利要求 54 所述的核酸、权利要求 55~57 任一项所述的载体或转化子或权利要求 60~63 任一项所述的药物组合物。

70. 根据权利要求 69 所述的方法，其特征在于，所述癌症或肿瘤或感染或自身免疫疾病为 Trop2 或 PDL1 相关疾病。

71. 根据权利要求 70 所述的方法，其特征在于，所述癌症或肿瘤为肺癌、肝癌、卵巢癌、宫颈癌、皮肤癌、膀胱癌、结肠癌、直肠癌、乳腺癌、胰腺癌、前列腺癌、神经胶质瘤、肾癌、胃癌、食道癌、口腔鳞状细胞癌或头颈癌中的至少一种；和/或

所述癌症或肿瘤为非小细胞肺癌、恶性黑色素瘤、肾细胞癌、头颈部鳞癌、尿路上皮癌、结直肠癌、肝癌或经典型霍奇金淋巴瘤中的至少一种。