靶向 c-Met 的多特异性抗体

技术领域

本公开涉及多特异性抗体，尤其涉及靶向 EGFR 和 c-Met 的多特异性抗体。本公开还涉及所述多特异性抗体的制备方法及用途。

背景技术

表皮生长因子受体（epidermal growth factor receptor，EGFR，又称为 ErbB1 或 HER1）是由原癌基因 c-erbB1 编码的 170 kDa I 型跨膜糖蛋白，属于受体酪氨酸激酶（RTK）。EGFR 是人表皮生长因子受体（HER）家族的成员，该家族包括 HER2（ErbB2）、HER3（ErbB3）和 HER4（ErbB4）。EGFR 的表达或激酶活性的增加与一系列人肿瘤有关，从而使 EGFR 成为肿瘤治疗中有吸引力的靶标。

间质表皮转化因子（c-Mesenchymal-epithelial transition factor，c-Met）是受体酪氨酸激酶的一种，其是由 50 kDa 的胞外链（α 链）与 145 kDa 的跨膜链（β 链）连结而成的约 190 kDa 的异二聚体。跨膜链（β 链）包括 SEMA 结构域（sema homology region，SEMA）、PSI 结构域（plexin semaphorin-integrin，PSI）、4 个免疫球蛋白样重复结构域（immunoglobulin-like regions in plexins and transcription factors，IPT）、一个跨膜域、一个近膜域（juxtamembrane domain，JM）、酪氨酸激酶结构域（tyrosine kinase，TK）和一个羧基末端的尾部区域（Carboxyl terminal，CT）。c-Met 是表达在细胞表面的受体，其中 SEMA 结构域是配体结合的重要元素之一，被认为是其配体肝细胞生长因子（hepatocyte growth factor，HGF）的结合位点，HGF 由间充质细胞、成纤维细胞和平滑肌细胞合成，通过旁分泌机制激活 HGF/c-Met 信号，发挥其生物学功能。

在多种肿瘤中，由于 c-Met 和 HGF 的过表达，且 HGF 和 c-Met 形成的旁分泌和自分泌正反馈回路，造成 HGF/c-Met 信号通路异常活化，促进了肿瘤细胞的生长、侵袭、迁移和血管新生。许多癌种类型中都存在 c-Met 基因的异常表达，诸如脑癌、乳腺癌、结直肠癌、胃癌、头颈癌、肺癌、肝癌等。免疫治疗剂如与 c-Met 结合的抗体可阻断 HGF 和 c-Met 之间的结合。

骆驼科动物体内的 IgG 抗体，除传统四链结构的 IgG1 外，还天然存在不含有轻链的仅重链抗体（HcAb）IgG2 和 IgG3。仅重链抗体中的单个可变区结构域（V_HH）能特异性结合抗原，且对抗原具有较高的亲和力。基于其独特性，使用 V_HH 结构域作为抗体或抗原结合片段的一部分，具有比常规抗体片段（如 scFv、Fab 等）更加显著的优势，例如仅需要单一结构域以高亲和力特异结合抗原、易于改造成多价及多特异性形式、V_HH 结构域高度可溶且无聚集趋势、V_HH 分子小从而具有较高的组织渗透性、V_HH 不需要与轻链配对、在组成双特异性抗体或多特异性抗体时不存在轻重链错配问题，等等。

对 EGFR 酪氨酸激酶抑制剂存在抗性的所有肿瘤患者中，有大约 60%存在 c-Met 表达增加、c-Met 扩增或 HGF 增加，表明在 EGFR 被抑制的情况下，c-Met 会作为补偿途径被激活。

因此，存在开发靶向 EGFR 和 c-Met 的多特异性抗体的需求。

发明简述

本公开提供了靶向 EGFR 和 c-Met 的多特异性抗体，还提供了能够编码所提供的抗体的相关核酸、载体、细胞、药物组合物、制备方法及用途。

在一方面，本公开提供了多特异性抗体，其包含

(i)结合第一抗原的第一抗原结合模块；

(ii)结合第二抗原的第二抗原结合模块；和

(iii)结合第一抗原的第三抗原结合模块；

其中所述第一抗原为 c-Met 且所述第二抗原为 EGFR，所述第一抗原结合模块和第三抗原结合模块均为单可变结构域并且各自独立地包含以下任一项：

(1)包含 SEQ ID NO: 1 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 2 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 3 所示氨基酸序列的 CDR3；

(2)包含 SEQ ID NO: 4 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 5 所示氨基酸序列的 CDR2，和包

含 SEQ ID NO: 6 所示氨基酸序列的 CDR3，其中，X_1 为 S 或 T；

(3)包含 SEQ ID NO: 7 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 8 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 9 所示氨基酸序列的 CDR3；

(4)包含 SEQ ID NO: 10 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 11 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 12 所示氨基酸序列的 CDR3；

(5)包含 SEQ ID NO: 13 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 14 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 15 所示氨基酸序列的 CDR3；

(6)包含 SEQ ID NO: 16 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 17 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 18 所示氨基酸序列的 CDR3；

(7)包含 SEQ ID NO: 19 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 20 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 21 所示氨基酸序列的 CDR3；或

(8)包含 SEQ ID NO: 22 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 23 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 24 所示氨基酸序列的 CDR3。

在一些实施方案中，所述第一抗原结合模块和第三抗原结合模块各自独立地包含以下任一项：

(2)包含 SEQ ID NO: 4 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 5 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 6 所示氨基酸序列的 CDR3，其中，X_1 为 S 或 T；

(3)包含 SEQ ID NO: 7 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 8 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 9 所示氨基酸序列的 CDR3；或

(8)包含 SEQ ID NO: 22 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 23 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 24 所示氨基酸序列的 CDR3。

在一些实施方案中，所述第一抗原结合模块和第三抗原结合模块各自独立地包含以下任一项：

(2)包含 SEQ ID NO: 4 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 5 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 6 所示氨基酸序列的 CDR3，其中，X_1 为 S 或 T；或

(3)包含 SEQ ID NO: 7 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 8 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 9 所示氨基酸序列的 CDR3。

在一些实施方案中，所述第一抗原结合模块和第三抗原结合模块各自独立地包含以下任一项：

(3)包含 SEQ ID NO: 7 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 8 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 9 所示氨基酸序列的 CDR3；或

(8)包含 SEQ ID NO: 22 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 23 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 24 所示氨基酸序列的 CDR3。

在一些实施方案中，所述第一抗原结合模块和第三抗原结合模块各自独立地包含氨基酸序列如 SEQ ID NO: 25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38 或 39 所示的单可变结构域的 CDR1、CDR2 和 CDR3。在一些实施方案中，所述第一抗原结合模块和第三抗原结合模块各自独立地包含氨基酸序列如 SEQ ID NO: 35、36 或 38 所示的单可变结构域的 CDR1、CDR2 和 CDR3。

在一些实施方案中，所述第一抗原结合模块和第三抗原结合模块各自独立地包含氨基酸序列如 SEQ ID NO: 35 或 36 所示的单可变结构域的 CDR1、CDR2 和 CDR3。在另一些实施方案中，所述第一抗原结合模块和第三抗原结合模块各自独立地包含氨基酸序列如 SEQ ID NO: 36 或 38 所示的单可变结构域的 CDR1、CDR2 和 CDR3。

在一些具体的实施方案中，所述第一抗原结合模块包含氨基酸序列如 SEQ ID NO: 36 所示的单可变结构域的 CDR1、CDR2 和 CDR3，并且所述第三抗原结合模块包含氨基酸序列如 SEQ ID NO: 35 所示的单可变结构域的 CDR1、CDR2 和 CDR3。在另一些具体的实施方案中，所述第一抗原结合模块包含氨基酸序列如 SEQ ID NO: 36 所示的单可变结构域的 CDR1、CDR2 和 CDR3，并且所述第三抗原结合模块包含氨基酸序列如 SEQ ID NO: 38 所示的单可变结构域的 CDR1、CDR2 和 CDR3。

在一些实施方案中，所述第一抗原结合模块包含：包含 SEQ ID NO: 7 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 8 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 9 所示氨基酸序列的 CDR3；并且，所述第三抗原结合模块包含：包含 SEQ ID NO: 4 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 5 所示氨基酸序列的

CDR2，和包含 SEQ ID NO: 6 所示氨基酸序列的 CDR3，其中，X_1 为 S 或 T。进一步地，在一些实施方案中，所述第一抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 41 所示的氨基酸序列，所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 40 所示的氨基酸序列。在一些实施方案中，所述第一抗原结合模块包含与 SEQ ID NO: 36 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列，所述第三抗原结合模块包含与 SEQ ID NO: 35 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列。在一些具体的实施方案中，所述第一抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 36 所示的氨基酸序列，所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 35 所示的氨基酸序列。

在另一些实施方案中，所述第一抗原结合模块包含：包含 SEQ ID NO: 7 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 8 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 9 所示氨基酸序列的 CDR3；并且，所述第三抗原结合模块包含：包含 SEQ ID NO: 22 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 23 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 24 所示氨基酸序列的 CDR3。进一步地，在一些实施方案中，所述第一抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 41 所示的氨基酸序列，所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 42 所示的氨基酸序列。在一些实施方案中，所述第一抗原结合模块包含与 SEQ ID NO: 36 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列，所述第三抗原结合模块包含与 SEQ ID NO: 38 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列。在一些具体的实施方案中，所述第一抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 36 所示的氨基酸序列，所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 38 所示的氨基酸序列。

在一些实施方案中，所述第一抗原结合模块和第三抗原结合模块结合 c-Met 不同表位。

所述第二抗原结合模块提供与 EGFR 结合的能力，在一些实施方案中，所述第二抗原结合模块包含重链可变区和轻链可变区，所述重链可变区包含：包含 SEQ ID NO: 63 所示氨基酸序列的 HCDR1，包含 SEQ ID NO: 64 所示氨基酸序列的 HCDR2，和包含 SEQ ID NO: 65 所示氨基酸序列的 HCDR3；所述轻链可变区包含：包含 SEQ ID NO: 66 所示氨基酸序列的 LCDR1，包含 SEQ ID NO: 67 所示氨基酸序列的 LCDR2，和包含 SEQ ID NO: 68 所示氨基酸序列的 LCDR3。进一步地，在一些实施方案中，所述第二抗原结合模块包含与 SEQ ID NO: 69 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列的重链可变区，和包含与 SEQ ID NO: 70 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列的轻链可变区。在一些具体的实施方案中，所述第二抗原结合模块包含重链可变区和轻链可变区，所述重链可变区包含 SEQ ID NO: 69 所示的氨基酸序列，并且所述轻链可变区包含 SEQ ID NO: 70 所示的氨基酸序列。

在一些实施方案中，所述的多特异性抗体，其还包含由两个 Fc 多肽构成的 Fc 域。

在一些具体的实施方案中，多特异性抗体中，所述第一抗原结合模块包含：包含 SEQ ID NO: 7 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 8 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 9 所示氨基酸序列的 CDR3；所述第三抗原结合模块包含：包含 SEQ ID NO: 4 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 5 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 6 所示氨基酸序列的 CDR3；以及，所述第二抗原结合模块包含重链可变区和轻链可变区，所述重链可变区包含：包含 SEQ ID NO: 63 所示氨基酸序列的 HCDR1，包含 SEQ ID NO: 64 所示氨基酸序列的 HCDR2，和包含 SEQ ID NO: 65 所示氨基酸序列的 HCDR3；所述轻链可变区包含：包含 SEQ ID NO: 66 所示氨基酸序列的 LCDR1，包含 SEQ ID NO: 67 所示氨基酸序列的 LCDR2，和包含 SEQ ID NO: 68 所示氨基酸序列的 LCDR3；其中，X_1 为 S 或 T。进一步具体的实施方案，所述第一抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 41 所示的氨基酸序列，所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 40 所示的氨基酸序列；并且所述第二抗原结合模块的重链可变区包含 SEQ ID NO: 69 所示的氨基酸序列，轻链可变区包含 SEQ ID NO: 70 所示的氨基酸序列。进一步具体的实施方案，所述第一抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 36 所示的氨基酸序列，所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 35 所示的氨基酸序列；并且所述第二抗原结合模块的重链可变区包含 SEQ ID NO: 69 所示的氨基酸序列，轻链可变区包含 SEQ ID NO: 70 所示的氨基酸序列。

在另一些具体的实施方案中，多特异性抗体中，所述第一抗原结合模块包含：包含 SEQ ID NO: 7 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 8 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 9 所示氨基酸序列的 CDR3；所述第三抗原结合模块包含：包含 SEQ ID NO: 22 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 23 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 24 所示氨基酸序列的 CDR3；以及，所述第二抗原结合模块包含重链可变区和轻链可变区，所述重链可变区包含：包含 SEQ ID NO: 63 所示氨基酸序列的 HCDR1，包含 SEQ ID NO: 64 所示氨基酸序列的 HCDR2，和包含 SEQ ID NO: 65 所示氨基酸序列的 HCDR3；所述轻链可变区包含：包含 SEQ ID NO: 66 所示氨基酸序列的 LCDR1，包含 SEQ ID NO: 67 所示氨基酸序列的 LCDR2，和包含 SEQ ID NO: 68 所示氨基酸序列的 LCDR3。进一步具体的实施方案，所述第一抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 41 所示的氨基酸序列，所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 42 所示的氨基酸序列；并且所述第二抗原结合模块的重链可变区包含 SEQ ID NO: 69 所示的氨基酸序列，轻链可变区包含 SEQ ID NO: 70 所示的氨基酸序列。进一步具体的实施方案，所述第一抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 36 所示的氨基酸序列，所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 38 所示的氨基酸序列；并且所述第二抗原结合模块的重链可变区包含 SEQ ID NO: 69 所示的氨基酸序列，轻链可变区包含 SEQ ID NO: 70 所示的氨基酸序列。

在这些实施方案中，一种可选择的构型方式，所述第一抗原结合模块和第三抗原结合模块均为单可变结构域，所述第二抗原结合模块为 Fab，所述第一抗原结合模块在其 C 端融合至所述 Fc 域的其中一个 Fc 多肽的 N 端，所述第二抗原结合模块在其 Fab 重链或 Fab 轻链的 C 端融合至所述 Fc 域的另一个 Fc 多肽的 N 端，所述第三抗原结合模块在其 C 端融合至所述第一抗原结合模块的 N 端。对于此实施方案，进一步更具体的方案，多特异性抗体由三条多肽链组成，其中第一条多肽链含有上述的第一抗原结合模块、第三抗原结合模块和 Fc 域的其中一个 Fc 多肽，第二条多肽链含有上述第二抗原结合模块的 Fab 重链和 Fc 域的另一个 Fc 多肽，第三条多肽链为上述第二抗原结合模块的 Fab 轻链。

在一些实施方案中，所述多特异性抗体是三价的。

在一方面，本公开提供了分离的核酸，其包含编码本公开所述的多特异性抗体的核苷酸序列。

在一方面，本公开提供了载体，其包含本公开所述的核酸。

在一方面，本公开提供了宿主细胞，其包含本公开所述的核酸，或所述的载体。

另一方面，本公开提供了制备本公开所述的多特异性抗体的方法，其包括培养所述的宿主细胞，使其表达所述的多特异性抗体，并且在体系中分离纯化所述多特异性抗体。

另一方面，本公开提供了药物组合物，其包含所述的多特异性抗体和药学上可接受的辅料。

另一方面，本公开提供了所述的多特异性抗体或所述的药物组合物在制备用于治疗表达 c-Met 或/和 EGFR 的疾病的药物中的用途。

另一方面，本公开提供了治疗表达 c-Met 或/和 EGFR 的肿瘤的方法，其包括对所述受试者施用治疗有效量的所述的多特异性抗体或所述的药物组合物。

又一方面，本公开提供了一种结合 c-Met 的抗体，其包含单可变结构域，所述单可变结构域包含：

(1)包含 SEQ ID NO: 1 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 2 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 3 所示氨基酸序列的 CDR3；

(2)包含 SEQ ID NO: 4 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 5 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 6 所示氨基酸序列的 CDR3，其中，X_1 为 S 或 T；

(3)包含 SEQ ID NO: 7 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 8 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 9 所示氨基酸序列的 CDR3；

(4)包含 SEQ ID NO: 10 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 11 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 12 所示氨基酸序列的 CDR3；

(5)包含 SEQ ID NO: 13 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 14 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 15 所示氨基酸序列的 CDR3；

(6)包含 SEQ ID NO: 16 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 17 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 18 所示氨基酸序列的 CDR3；

(7)包含 SEQ ID NO: 19 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 20 所示氨基酸序列的 CDR2，和

包含 SEQ ID NO: 21 所示氨基酸序列的 CDR3；或

(8)包含 SEQ ID NO: 22 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 23 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 24 所示氨基酸序列的 CDR3。

在一些实施方案中，所述单可变结构域包含 SEQ ID NO: 40、41 或 42 所示的氨基酸序列，同时所述单可变结构域不包含 SEQ ID NO: 29、30 或 31 所示的氨基酸序列。

本公开提供的靶向 EGFR 和 c-Met 的多特异性抗体，展现出良好的抗肿瘤效果和/或安全性。

附图说明

图 1A-1G 为流式细胞术检测的不同抗人 c-Met V_HH-Fc 嵌合抗体与不同 c-Met 表达水平的靶细胞的结合曲线；

图 2 为本公开示例性的多特异性抗体的结构示意图；

图 3A-3C 为流式细胞术检测的抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体对表达 EGFR 和 c-Met 的细胞的结合曲线；

图 4 为利用 Wstern Bloting 检测的抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体对 c-Met 磷酸化及下游信号通路的抑制，其中最左侧的泳道为 marker，BM 为 Amivantamab，阴性为 hIgG1，空白为无抗体，HGF “-” 或 “+” 分别代表未加 HGF 或加入 HGF，p-cMet、p-Akt、p-Erk 和 p-EGFR 分别为磷酸化的 c-Met、磷酸化的 Akt、磷酸化的 Erk 和磷酸化的 EGFR；

图 5 为利用 Wstern Bloting 检测的抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体对 EGFR 磷酸化及下游信号通路的抑制，其中最左侧的泳道为 marker，BM 为 Amivantamab，阴性为 hIgG1，空白为无抗体，EGF “-” 或 “+” 分别代表未加 EGF 或加入 EGF，p-cMet、p-Akt、p-Erk 和 p-EGFR 分别为磷酸化的 c-Met、磷酸化的 Akt、磷酸化的 Erk 和磷酸化的 EGFR；

图 6A-6C 为 ELISA 检测的抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体与不同浓度的 HGF 配体竞争结合 c-Met 的曲线；

图 7A-7B 为抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体对表达 EGFR 和 c-Met 的肿瘤细胞的增殖抑制；

图 8A-8B 为抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体对表达 EGFR 和 c-Met 的肿瘤细胞的杀伤作用；

图 9A-9C 为流式细胞术检测的抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体对表达 EGFR 和 c-Met 的细胞的内吞活性。

发明详述

定义与说明

除非另有说明，本公开中所用的下列术语具有下列含义。一个特定的术语在没有特别定义的情况下不应该被认为是不确定的或不清楚的，而应该按照本领域普通的含义去理解。当本文中出现商品名时，意在指代其对应的商品或其活性成分。

术语“抗体”以最广泛的含义使用，涵盖各种结构的天然抗体和人工抗体，包括但不限于单克隆抗体、多克隆抗体和多特异性抗体（例如双特异性抗体、三特异性抗体）、单链抗体的多种抗体结构，只要它们显示希望的抗原结合活性。

术语“多特异性”意指抗体能够特异性结合多种不同的抗原决定簇，例如能够特异性结合两种或两种以上不同的抗原决定簇。本文中的抗原决定簇与抗原表位同义。通常，双特异性抗体包含两种抗原结合位点，其中每种特异于不同的抗原性决定簇。不同的抗原决定簇可以在相同或不同的细胞上表达。不同的抗原决定簇可以因抗原种类不同而不同（例如结合抗原 EGFR 和 c-Met），也可以存在同一种抗原上。抗原决定簇是抗原物质分子表面或其他部位，具有一定组成和结构的特殊化学基团，能与其相应抗体或致敏淋巴细胞发生特异性结合的结构。抗原决定簇一个例子是，c-Met 作为一种抗原物质，其具有多种结构已确定或结构未确定的抗原决定簇，在本文中，只要能结合抗原上的两种不同抗原决定簇的抗体即被称为双特异性抗体。一个具体的双特异性抗体例如可以结合 EGFR 和 c-Met。

术语“N 价抗体”意在说明抗体中存在 N 个抗原结合位点。例如“二价抗体”或“抗体是二价的”指抗体存在两个抗原结合位点，“三价抗体”或“抗体是三价的”指抗体存在三个抗原结合位点。天然的人免

疫球蛋白分子通常具有两个抗原结合位点，Fab 通常具有单个抗原结合位点，单可变结构域、scFv 通常具有单个抗原结合位点。

术语“抗原结合模块”指特异性结合抗原决定簇的多肽分子。具体的抗原结合模块可是 Fab、scFv 或单可变结构域。

本公开中关于抗原结合模块、抗原、Fc 多肽、肽接头、多肽链等所用的术语“第一”、“第二”或“第三”是为了在存在一个以上各类型的部分时方便区分而使用。除非明确说明，这些术语的使用并非旨在赋予具体顺序或取向。

术语“融合”意指组分（例如抗原结合模块、Fc 多肽等）直接或经一个或多个肽接头通过肽键连接。例如一些肽接头由通过肽键连接的 1 到 50 个氨基酸组成，其中所述氨基酸可以选自 20 个天然存在的氨基酸；在更优选的实施方案中，1 到 50 个氨基酸选自甘氨酸、丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺和赖氨酸。

术语“可变结构域”或“可变区”是指抗体的涉及该抗体与抗原结合的结构域。例如天然四链抗体（例如来源于人、鼠等）具有重链可变区（也可称为重链可变结构域、VH 或 VH 结构域）和轻链可变区（也可称为轻链可变结构域、VL 或 VL 结构域），来源于骆驼科或鲨鱼等动物的仅重链抗体具有单可变结构域。大多数情况下，天然抗体的每个可变结构域基本上由四个“框架区（FR）”和三个“互补决定区（CDR）”组成。四个框架区分别称为框架区 1（或 FR1）、框架区 2（或 FR2）、框架区 3（或 FR3）、及框架区 4（或 FR4）；所述框架区由本领域及下文中分别称为互补决定区 1（或 CDR1）、互补决定区 2（或 CDR2）、及互补决定区 3（或 CDR3）的三个互补决定区间隔开。因此，可变结构域的一般结构可如下表示为：FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4。可变结构域因具有抗原结合位点而赋予抗体对抗原的特异性。

术语“单可变结构域”是指能够在不与其他可变结构域配对的情况下特异性结合抗原表位的可变结构域。单可变结构域通常有三个 CDR（CDR1、CDR2 和 CDR3），存在于单个结构域上。在一些情况下，单可变结构域可以是重链可变结构域（例如 VH）；只要它能够形成单个抗原结合单元（即基本上由单可变结构域组成的功能性抗原结合单元，这样单抗原结合结构域就不需要与另一个可变结构域相互作用即可形成功能性抗原结合单元）。单可变结构域的另一个实例为骆驼科的“V_HH 结构域”（或简称为“V_HH”或“VHH”）。

使用术语“V_HH 结构域”以将这些可变结构域与存在于常规四链抗体中的重链可变结构域以及存在于常规四链抗体中的轻链可变结构域进行区分。V_HH 结构域特异性结合表位而无需其他抗原结合结构域（此与常规四链抗体中的 VH 或 VL 结构域不同，在该情况下表位由 VL 结构域与 VH 结构域一起识别）。V_HH 结构域为由单一结构域形成的小型稳定及高效的抗原识别单元。

术语“互补决定区”（CDR），也称为“高变区”（HVR）。天然四链抗体通常包含六个 CDR，三个在重链可变区中，即重链 CDR1（HCDR1）、重链 CDR2（HCDR2）和重链 CDR3（HCDR3）；三个在轻链可变区中，即轻链 CDR1（LCDR1）、轻链 CDR2（LCDR2）和轻链 CDR3（LCDR3）。仅重链抗体或单可变结构域通常具有三个 CDR（CDR1、CDR2 和 CDR3）。

当前有许多方法来划分定义 CDR。其中，Kabat 定义基于序列可变性划分 CDR，并且是最常用的（Elvin A.Kabat, et al, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第 5 版, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)）；而 Chothia 定义则基于结构环的位置（Cyrus Chothia, et al, Canonical Structures for the Hypervariable Regions of Immunoglobulins, J. Mol. Biol. 196:901-917(1987)）。AbM 定义是 Kabat 定义和 Chothia 定义之间的折衷方案，并且被 Oxford Molecular 的 AbM 抗体建模软件使用。“接触（contact）”定义 CDR 的基础是对可用的复合物晶体结构的分析。此外，还有 CCG 定义。然而，应当注意的是，基于不同的方法划分定义获得的同一抗体可变区的 CDR 的边界可能有所差异，即不同方法划分定义的同一抗体可变区的 CDR 序列可能有所不同。因此，在涉及用具体 CDR 序列限定抗体时，所述抗体的范围还涵盖了其他任意定义（例如 Kabat、IMGT、Chothia、Contact、AbM、CCG 等定义中的一种或几种的结合）的 CDR 序列限定的抗体。

术语“Fab”指由免疫球蛋白的重链的 VH 和 CH1 以及轻链的 VL 和 CL 域组成的蛋白。本文中 Fab 意指处于它的天然型式的或经修饰的 Fab 分子，即包含由重链可变区 VH 和恒定区 CH1 构成的 Fab 重链（VH-CH1，N 至 C 端方向），和由轻链可变区和恒定区 CL 构成的 Fab 轻链（VL-CL，N 至 C 端方向）。经修饰的 Fab 例如可以是在 CH1/CL 结构域或/和 VH/VL 结构域引入氨基酸取代的 Fab，一个具体的实例，经修

饰的 Fab 可以是在 CL 结构域引入氨基酸取代的 Fab。

术语“scFv”包括免疫球蛋白的 VH 和 VL 结构域，其中这些结构域存在于单一多肽链中。在一些实施方案中，scFv 还包含介于 VH 和 VL 结构域之间的肽接头，其使得 scFv 能够形成抗原结合所需的结构。

术语“Fc 结构域”、“Fc”或“Fc 域”在本文中用来定义免疫球蛋白重链的 C 端区域，其包含至少部分恒定区。该术语包括天然序列 Fc 和变体 Fc。Fc 的 C 末端赖氨酸（Lys447）可存在或不存在。除非另有说明，Fc 或恒定区中氨基酸残基的编号是根据 EU 编号系统，也称为 EU 索引，描述于 Kabat，E.A 等人，Sequences of Proteins of Immunological Interest，第 5 版，Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991), NIH Publication 91-3242。本文所用的 Fc 域的其中一个“Fc 多肽”指形成二聚体 Fc 结构域的两条多肽之一。例如，IgG Fc 域的 Fc 多肽包含 IgG CH2 和 IgG CH3。

术语“治疗”意为将本公开所述化合物或药物组合物进行给药以预防、改善或消除疾病或与所述疾病相关的一个或多个症状，且包括但不限于：(i) 预防疾病或疾病状态在哺乳动物中出现，特别是当这类哺乳动物易患有该疾病状态，但尚未被诊断为已患有该疾病状态时；(ii) 抑制疾病或疾病状态，即遏制其发展；(iii) 缓解疾病或疾病状态，即使该疾病或疾病状态消退；(iv) 降低疾病或疾病状态的任何直接或间接病理学后果。

术语“治疗有效量”意指(i) 治疗或预防特定疾病、病况或障碍，(ii) 减轻、改善或消除特定疾病、病况或障碍的一种或多种症状，或(iii) 预防或延迟本文中所述的特定疾病、病况或障碍的一种或多种症状发作的本公开化合物的用量。构成“治疗有效量”的本公开多特异性抗体、抗体药物偶联物或药物组合物的量可根据一些因素而变化，例如取决于该化合物或药物组合物及其在个体中引发所需应答的能力，疾病状态及其严重性，给药方式以及待被治疗的哺乳动物的年龄、性别和体重。治疗有效量也可例行性地由本领域技术人员根据其自身的知识及本公开内容而确定。

术语“药学上可接受的”，是针对那些化合物、材料、组合物和/或剂型而言，它们在可靠的医学判断的范围之内，适用于与人类和动物的组织接触使用，而没有过多的毒性、刺激性、过敏性反应或其它问题或并发症，与合理的利益/风险比相称。

术语“辅料（excipient）”指活性成分（例如，本公开的抗体）以外的任何成分。辅料的选择，在很大程度上将取决于诸如特定的施用方式、赋形剂对溶解度和稳定性的功效以及剂型的性质等因素。

术语“分离的”是指已经从其天然环境中分离的目标化合物，例如抗体或其抗原结合片段、V_HH 或核酸。

术语“Xn”和“Xaa”等同，是指未指定的氨基酸（Unspecified Amino Acid），通过相关表述中的后续定义来指定其涵盖的范围。

如本文所用，术语“EC_{50}”是指有效浓度，引起抗体的 50%最大应答。EC_{50} 可以通过 ELISA 或 FACS 分析或本领域已知的任何其它方法进行测量。

“K_D”指平衡解离常数，其获自解离速率常数（k_d）比结合速率常数（k_a）（即，k_d/k_a）的比率并且表示为摩尔浓度（M）。抗体的 K_D 值可以使用本领域充分建立的方法来测定。用于测定抗体的 K_D 的优选方法是通过使用表面等离子共振（SPR）技术，优选使用生物传感器系统诸如 Biacore 表面等离子共振系统分析。

术语“同一性”，也称一致性。氨基酸序列的“同一性百分数（%）”是指将待比对序列与本文中所示的具体氨基酸序列进行比对并且如有必要的话为达到最大序列同一性百分数而引入空位后，并且不考虑任何保守置换作为序列同一性的一部分时，待比对序列中与本文中所示的具体氨基酸序列的氨基酸残基相同的氨基酸残基百分数。同一性的氨基酸序列比对可以采用本领域范围内的多种方式进行，例如 BLAST、BLAST-2、ALIGN 或 Megalign（DNASTAR）软件。本领域技术人员可决定用于比对序列的适宜参数，包括在比较序列的全长里获得最大比对需要的任何算法。

术语“受试者”包括任何人类或非人动物。术语“非人动物”包括所有的脊椎动物，例如哺乳动物和非哺乳动物，诸如非人灵长类、绵羊、犬、猫、马、牛、鸡、两栖动物、爬行动物等。优选地，根据本公开的受试者是人。除非标明，术语“患者”或“受试者”可以互换使用。“有需要的受试者”包括那些已经患有疾病或病状的受试者，处于发展出疾病或病状的风险中的受试者，以及可能患疾病或病状并且其目的是预防、延迟或减弱疾病或病状的受试者。

如本文所用，“约”表示在本领域普通技术人员判定的对特定值可以接受的误差范围内，其部分取决于如何测量或测定该值，即测量系统的限制。例如，“约”按照本领域实践可表示 1 倍或超过 1 倍标准偏差以内。或者，“约”可以表示多至±5%的范围，例如在所给定的具体数值范围±2%范围内、±1%范围内或±0.5%范围内波动。当本公开范围中给出特定值时，除非另有说明，“约”的含义应认为是在该特定值的可接受的误差范围内。在本文中，除非另有说明，步骤参数或条件的值默认均由“约”修饰。

术语“包括”、“含有”和“包含”（comprise、comprises 或 comprising）及其等同物（例如，contain、contains、containing、include、includes 和 including）应理解为“包括但不限于”，意味着除所列出的要素、组分和步骤外，还可涵盖其它未指明的要素、组分和步骤。

在本文中，除非上下文另有明确规定，否则单数术语涵盖复数指代物，反之亦然。

单可变结构域

本公开提供结合至 c-Met（例如，人 c-Met）的单可变结构域。单可变结构域为靶向 c-Met 药物的开发或药物构建提供了更多可用的选择。所述单可变结构域对人 c-Met 具有良好的亲和力，可提供靶向性。在某些情况下，所述单可变结构域能够提供阻断配体 HGF 与 c-Met 的结合能力。特别地，在一些实施方案中，所述单可变结构域与猴 c-Met 有交叉反应，由于猴是药物毒理实验中的理想实验动物，与猴的交叉反应将利于药物毒理实验的开展。

本公开提供了结合 c-Met 的单可变结构域，其包含：

(1)包含 SEQ ID NO: 1 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 2 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 3 所示氨基酸序列的 CDR3；

(2)包含 SEQ ID NO: 4 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 5 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 6 所示氨基酸序列的 CDR3，其中，X_1 为 S 或 T；

(3)包含 SEQ ID NO: 7 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 8 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 9 所示氨基酸序列的 CDR3；

(4)包含 SEQ ID NO: 10 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 11 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 12 所示氨基酸序列的 CDR3；

(5)包含 SEQ ID NO: 13 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 14 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 15 所示氨基酸序列的 CDR3；

(6)包含 SEQ ID NO: 16 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 17 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 18 所示氨基酸序列的 CDR3；

(7)包含 SEQ ID NO: 19 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 20 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 21 所示氨基酸序列的 CDR3；或

(8)包含 SEQ ID NO: 22 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 23 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 24 所示氨基酸序列的 CDR3。

在一些实施方案中，所述单可变结构域包含：如 SEQ ID NO: 1 所示氨基酸序列的 CDR1，如 SEQ ID NO: 2 所示氨基酸序列的 CDR2，和如 SEQ ID NO: 3 所示氨基酸序列的 CDR3。在一些实施方案中，所述单可变结构域包含：如 SEQ ID NO: 4 所示氨基酸序列的 CDR1，如 SEQ ID NO: 5 所示氨基酸序列的 CDR2，和如 SEQ ID NO: 6 所示氨基酸序列的 CDR3，其中，X_1 为 S 或 T。在一些实施方案中，所述单可变结构域包含：如 SEQ ID NO: 4 所示氨基酸序列的 CDR1，如 SEQ ID NO: 5 所示氨基酸序列的 CDR2，和如 SEQ ID NO: 6 所示氨基酸序列的 CDR3，其中 X_1 为 S。在一些实施方案中，所述单可变结构域包含：如 SEQ ID NO: 4 所示氨基酸序列的 CDR1，如 SEQ ID NO: 5 所示氨基酸序列的 CDR2，和如 SEQ ID NO: 6 所示氨基酸序列的 CDR3，其中 X_1 为 T。在一些实施方案中，所述单可变结构域包含：如 SEQ ID NO: 7 所示氨基酸序列的 CDR1，如 SEQ ID NO: 8 所示氨基酸序列的 CDR2，和如 SEQ ID NO: 9 所示氨基酸序列的 CDR3。在一些实施方案中，所述单可变结构域包含：如 SEQ ID NO: 10 所示氨基酸序列的 CDR1，如 SEQ ID NO: 11 所示氨基酸序列的 CDR2，和如 SEQ ID NO: 12 所示氨基酸序列的 CDR3。在一些实施方案中，所述单可变结构域包含：如 SEQ ID NO: 13 所示氨基酸序列的 CDR1，如 SEQ ID NO: 14 所示氨基酸序列的 CDR2，和如 SEQ ID NO: 15 所示氨基酸序列的 CDR3。在一些实施方案中，所述单可变结构域包含：如 SEQ ID NO: 16 所示氨基酸序列的 CDR1，如 SEQ ID NO: 17 所示氨基酸序列的 CDR2，和如 SEQ ID NO: 18 所示

氨基酸序列的 CDR3。在一些实施方案中，所述单可变结构域是骆驼科动物的。在一些实施方案中，所述单可变结构域是人源化的。在一些实施方案中，所述单可变结构域包含：如 SEQ ID NO: 19 所示氨基酸序列的 CDR1，如 SEQ ID NO: 20 所示氨基酸序列的 CDR2，和如 SEQ ID NO: 21 所示氨基酸序列的 CDR3。在一些实施方案中，所述单可变结构域包含：如 SEQ ID NO: 22 所示氨基酸序列的 CDR1，如 SEQ ID NO: 23 所示氨基酸序列的 CDR2，和如 SEQ ID NO: 24 所示氨基酸序列的 CDR3。

在一些实施方案中，所述单可变结构域包含与 SEQ ID NO: 25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41 或 42 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%同一性的氨基酸序列。

在一些具体的实施方案中，所述单可变结构域包含与 SEQ ID NO: 25 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%同一性的氨基酸序列，并且包含：包含 SEQ ID NO: 1 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 2 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 3 所示氨基酸序列的 CDR3。

在一些具体的实施方案中，所述单可变结构域包含与 SEQ ID NO: 40 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%同一性的氨基酸序列，并且包含：包含 SEQ ID NO: 4 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 5 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 6 所示氨基酸序列的 CDR3，其中，X_1 为 S 或 T。

在一些更具体的实施方案中，所述单可变结构域包含与 SEQ ID NO: 26、33 或 34 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%同一性的氨基酸序列，并且包含：包含 SEQ ID NO: 4 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 5 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 6 所示氨基酸序列的 CDR3，其中，X_1 为 S。

在一些更具体的实施方案中，所述单可变结构域包含与 SEQ ID NO: 35 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%同一性的氨基酸序列，并且包含：包含 SEQ ID NO: 4 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 5 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 6 所示氨基酸序列的 CDR3，其中，X_1 为 T。

在一些具体的实施方案中，所述单可变结构域包含与 SEQ ID NO: 41 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%同一性的氨基酸序列，并且包含：包含 SEQ ID NO: 7 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 8 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 9 所示氨基酸序列的 CDR3。

在一些更具体的实施方案中，所述单可变结构域包含与 SEQ ID NO: 27、36 或 37 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%同一性的氨基酸序列，并且包含：包含 SEQ ID NO: 7 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 8 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 9 所示氨基酸序列的 CDR3。

在一些具体的实施方案中，所述单可变结构域包含与 SEQ ID NO: 28 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%同一性的氨基酸序列，并且包含：包含 SEQ ID NO: 10 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 11 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 12 所示氨基酸序列的 CDR3。

在一些具体的实施方案中，所述单可变结构域包含与 SEQ ID NO: 29 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%同一性的氨基酸序列，并且包含：包含 SEQ ID NO: 13 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 14 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 15 所示氨基酸序列的 CDR3。

在一些具体的实施方案中，所述单可变结构域包含与 SEQ ID NO: 30 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%同一性的氨基酸序列，并且包含：包含 SEQ ID NO: 16 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 17 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 18 所示氨基酸序列的 CDR3。

在一些具体的实施方案中，所述单可变结构域包含与 SEQ ID NO: 31 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%同一性的

氨基酸序列，并且包含：包含 SEQ ID NO: 19 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 20 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 21 所示氨基酸序列的 CDR3。

在一些具体的实施方案中，所述单可变结构域包含与 SEQ ID NO: 42 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%同一性的氨基酸序列，并且包含：包含 SEQ ID NO: 22 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 23 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 24 所示氨基酸序列的 CDR3。

在一些更具体的实施方案中，所述单可变结构域包含与 SEQ ID NO: 32、38 或 39 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%同一性的氨基酸序列，并且包含：包含 SEQ ID NO: 22 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 23 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 24 所示氨基酸序列的 CDR3。

在一些实施方案中，具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%的同一性的氨基酸序列相对于参考序列含有取代（例如，保守取代）、插入或缺失，但包含该序列的单可变结构域保留了结合至 c-Met 的能力。在一些实施方案中，在选自 SEQ ID NO: 25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41 和 42 的氨基酸序列中总共 1-18、1-16、1-14、1-13、1-12、1-11、1-10、1-9、1-8、1-7、1-6、1-5、1-4、1-3 或 1-2 个氨基酸被取代、插入和/或缺失。在一些实施方案中，取代、插入或缺失发生在 CDR 之外的区域中（即，FR 中）。在一些实施方案中，取代、插入或缺失发生在 CDR 区域，例如发生 CDR1、CDR2、CDR3 中的一个、两个或三个。在一些实施方案中，取代、插入或缺失发生在 CDR 区域和非 CDR 区域。

在一些实施方案中，所述单可变结构域的氨基酸序列包含 SEQ ID NO: 25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41 或 42 所示的氨基酸序列。

在一些实施方案中，所述单可变结构域的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41 或 42 所示。

在一些实施方案中，所述单可变结构域是 V_HH。在一些实施方案中，V_HH 是人源化的。源自非人的单可变结构域可通过以人抗体 VH 结构域中相应位置处存在的一个或多个氨基酸残基置换原始单可变结构域序列的氨基酸序列中的一个或多个氨基酸残基而经“人源化”。人源化可以期望的降低免疫原性。通常单可变结构域从 N 端至 C 端具有以下结构：FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4。

在一些实施方案中，本公开提供了与本公开所述的单可变结构域中的任一者结合相同表位的单可变结构域。在一些具体的实施方案中，本公开提供与包含 SEQ ID NO: 25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41 或 42 的氨基酸序列的单可变结构域结合相同的表位的单可变结构域。在一些实施方案中，所述结合相同表位的单可变结构域是骆驼科动物的、或人源化的。

可使用本领域技术人员已知的常规技术，就与相同表位的结合竞争性筛选单可变结构域。因此，在一些实施方案中，本公开提供了与本公开所述的单可变结构域中的任一者竞争结合至 c-Met 的单可变结构域。在一些具体的实施方案中，提供与包含 SEQ ID NO: 25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41 或 42 的氨基酸序列的单可变结构域竞争结合至 c-Met 的单可变结构域。可以通过 ELISA、流式细胞术、表面等离子体共振（SPR）测定或本领域已知的任何其他方法测量与 c-Met 的结合。在一些实施方案中，所述竞争结合至 c-Met 的单可变结构域是骆驼科动物的或人源化的。

本公开提供了一些示例性的结合 c-Met 的单可变结构域。本公开提供的示例性的单可变结构域的 CDR（CDR1、CDR2 和 CDR3）和全长的氨基酸序列提供于下表 S1 中。

表 S1. 单可变结构域的 CDR 和全长的氨基酸序列（SEQ ID NO.）

名称	CDR1	CDR2	CDR3	全长
1B-3B11 单可变结构域	1	2	3	25
1B-1B6 单可变结构域	4	5，X_1 为 S	6	26
1B-1B6-V1 单可变结构域				33
1B-1B6-V2 单可变结构域				34
1B-1B6-V3 单可变结构域	4	5，X_1 为 T	6	35
1B-1C7 单可变结构域	7	8	9	27

1B-1C7-V1 单可变结构域				36
1B-1C7-V2 单可变结构域				37
1B-1A8 单可变结构域	10	11	12	28
1B-1B2 单可变结构域	13	14	15	29
3B-1C7 单可变结构域	16	17	18	30
4&5B-2F01 单可变结构域	19	20	21	31
4&5C-12B04 单可变结构域				32
12B04-V1 单可变结构域	22	23	24	38
12B04-V2 单可变结构域				39

本公开提供了结合 c-Met 的抗体，其包含所述的单可变结构域。

在一些实施方案中，所述结合 c-Met 的抗体可以是单特异性抗体或多特异性抗体。

在一个实施方案中，所述单特异性抗体包含 Fc 结构域；优选地，所述 Fc 为人 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 的 Fc。

在一些实施方案中，上述结合 c-Met 的抗体中，所述单可变结构域包含与 SEQ ID NO: 25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41 或 42 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列。

在一些实施方案中，所述结合 c-Met 的抗体包含与 SEQ ID NO: 38、39、43、44、45、46、47、48、49、50、51、53、55、57 或 59 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列。

本公开提供了示例性的单特异性抗体（例如 1B-1B6-V1、1B-1B6-V2、1B-1B6-V3、1B-1C7-V1、1B-1C7-V2、12B04-V1、12B04-V2 等），将单可变结构域与人 IgG1 的 Fc 融合，通过 Fc 形成同二聚体。

本公开提供了分离的核酸，其包含编码本公开所述的结合 c-Met 的抗体的多核苷酸。

本公开提供了载体，其包含本公开所述的核酸。

本公开提供了宿主细胞，其包含本公开所述的核酸或本公开所述的载体。

本公开提供了制备本公开所述的结合 c-Met 的抗体的方法，其包括培养本公开所述的宿主细胞，使其表达所述的结合 c-Met 的抗体，并且在体系中分离纯化所述结合 c-Met 的抗体。

本公开提供了药物组合物，其包含本公开所述的结合 c-Met 的抗体和药学上可接受的辅料。

本公开提供了治疗 c-Met 表达相关的疾病的方法，其包括对有需要的受试者施用本公开所述的结合 c-Met 的抗体或所述的药物组合物。

本公开提供了治疗 c-Met 表达相关的疾病的方法，其包括对有需要的受试者施用治疗有效量的本公开所述的结合 c-Met 的抗体或所述的药物组合物。

多特异性抗体

本公开提供了包含单可变结构域的多特异性抗体，其可以靶向肿瘤细胞表面表达的 c-Met 和 EGFR，具有肿瘤杀伤活性。

采用单可变结构域，相较于采用多个（例如两个）Fab 的形式，可降低或避免轻链和重链的错配。

本公开的多特异性抗体展现了优异的抗肿瘤性能例如裂解肿瘤细胞或抑制肿瘤细胞增殖。在一些实施方案中，本公开的多特异性抗体能够通过 ADCC 和/或 CDC 作用诱导杀伤多种肿瘤细胞。本公开的多特异性抗体对不同 c-Met 表达水平和/或不同 EGFR 表达水平的肿瘤细胞展现了良好的肿瘤杀伤活性。

本公开的多特异性抗体可以抑制 c-Met 或/和 EGFR 的下游信号传导。

本公开的多特异性抗体展现了优异的抗原内吞或/和抗原降解作用。在一些实施方案中，本公开的多特异性抗体与 c-Met 和/或 EGFR 结合后，介导 c-Met 和/或 EGFR 内吞，降低 c-Met 和/或 EGFR 在肿瘤细胞表面的表达。

可以采用“单可变结构域”中描述的任一种单可变结构域构建多特异性抗体。因此，本公开提供了多特异性抗体，其包含

(i)结合第一抗原的第一抗原结合模块；

(ii)结合第二抗原的第二抗原结合模块；和

(iii)结合第一抗原的第三抗原结合模块；

其中所述第一抗原为 c-Met 且所述第二抗原为 EGFR，所述第一抗原结合模块和第三抗原结合模块均为单可变结构域并且各自独立地包含以下任一项：

(1)包含 SEQ ID NO: 1 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 2 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 3 所示氨基酸序列的 CDR3；

(2)包含 SEQ ID NO: 4 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 5 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 6 所示氨基酸序列的 CDR3，其中，X1 为 S 或 T；

(3)包含 SEQ ID NO: 7 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 8 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 9 所示氨基酸序列的 CDR3；

(4)包含 SEQ ID NO: 10 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 11 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 12 所示氨基酸序列的 CDR3；

(5)包含 SEQ ID NO: 13 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 14 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 15 所示氨基酸序列的 CDR3；

(6)包含 SEQ ID NO: 16 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 17 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 18 所示氨基酸序列的 CDR3；

(7)包含 SEQ ID NO: 19 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 20 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 21 所示氨基酸序列的 CDR3；或

(8)包含 SEQ ID NO: 22 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 23 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 24 所示氨基酸序列的 CDR3。

本公开中，所述第一抗原结合模块和第三抗原结合模块均为结合 c-Met 的单可变结构域。在一些实施方案中，所述第一抗原结合模块包含上文(1)-(8)中任一项所述的互补决定区。在一些实施方案中，所述第三抗原结合模块包含上文(1)-(8)中任一项所述的互补决定区。在所述多特异性抗体中，所述第一抗原结合模块与第三抗原结合模块可以相同或不同，可以独立地选择任意本公开所述的单可变结构域进行组合。在一些具体的实施方案中，所述第一抗原结合模块与第三抗原结合模块是相同的。在另一些具体的实施方案中，所述第一抗原结合模块与第三抗原结合模块是不同的。

表 S2 示例性的列举了限定 CDR 特征的第一抗原结合模块与第三抗原结合模块不同组合方式构建的多特异性抗体。在一些实施方案中，所述第一抗原结合模块包含上文(3)所述的互补决定区，并且所述第三抗原结合模块包含上文(2)所述的互补决定区，即所述第一抗原结合模块包含：包含 SEQ ID NO: 7 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 8 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 9 所示氨基酸序列的 CDR3；并且所述第三抗原结合模块包含：包含 SEQ ID NO: 4 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 5 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 6 所示氨基酸序列的 CDR3；其中，X_1 为 S 或 T。在一些具体的实施方案中，所述第一抗原结合模块包含：包含 SEQ ID NO: 7 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 8 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 9 所示氨基酸序列的 CDR3；并且所述第三抗原结合模块包含：包含 SEQ ID NO: 4 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 5 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 6 所示氨基酸序列的 CDR3，其中，X_1 为 T。更具体的一个方案，所述第一抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 7 所示的 CDR1，SEQ ID NO: 8 所示的 CDR2，和 SEQ ID NO: 9 所示的 CDR3；并且所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 4 所示的 CDR1，SEQ ID NO: 5 所示的 CDR2，和 SEQ ID NO: 6 所示的 CDR3，其中 X_1 为 T。在另一些实施方案中，所述第一抗原结合模块包含上文(3)所述的互补决定区，并且所述第三抗原结合模块包含上文(8)所述的互补决定区，即所述第一抗原结合模块包含：包含 SEQ ID NO: 7 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 8 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 9 所示氨基酸序列的 CDR3；并且所述第三抗原结合模块包含：包含 SEQ ID NO: 22 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 23 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 24 所示氨基酸序列的 CDR3。更具体的一个方案，所述第一抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 7 所示的 CDR1，SEQ ID NO: 8 所示的 CDR2，和 SEQ ID NO: 9 所示的 CDR3；并且所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 22 所示的 CDR1，SEQ ID NO: 23 所示的 CDR2，和 SEQ ID NO: 24 所示的 CDR3。

表 S2. 示例性的限定第一抗原结合模块和第三抗原结合模块的 CDR 特征的多特异性抗体

第一抗原结模块 / 第三原结合模块	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
(1)	(1)+(1)	(1)+(2)	(1)+(3)	(1)+(4)	(1)+(5)	(1)+(6)	(1)+(7)	(1)+(8)
(2)	(2)+(1)	(2)+(2)	(2)+(3)	(2)+(4)	(2)+(5)	(2)+(6)	(2)+(7)	(2)+(8)
(3)	(3)+(1)	(3)+(2)	(3)+(3)	(3)+(4)	(3)+(5)	(3)+(6)	(3)+(7)	(3)+(8)
(4)	(4)+(1)	(4)+(2)	(4)+(3)	(4)+(4)	(4)+(5)	(4)+(6)	(4)+(7)	(4)+(8)
(5)	(5)+(1)	(5)+(2)	(5)+(3)	(5)+(4)	(5)+(5)	(5)+(6)	(5)+(7)	(5)+(8)
(6)	(6)+(1)	(6)+(2)	(6)+(3)	(6)+(4)	(6)+(5)	(6)+(6)	(6)+(7)	(6)+(8)
(7)	(7)+(1)	(7)+(2)	(7)+(3)	(7)+(4)	(7)+(5)	(7)+(6)	(7)+(7)	(7)+(8)
(8)	(8)+(1)	(8)+(2)	(8)+(3)	(8)+(4)	(8)+(5)	(8)+(6)	(8)+(7)	(8)+(8)

注：表中(X)+(Y)表示多特异性抗体中第三抗原结合模块和第一抗原结合模块的组合方式，例如(2) +(1)表示多特异性抗体中第三抗原结合模块包含上文(2)中所述的互补决定区，同时第一抗原结合模块包含上文(1)中所述的互补决定区。

进一步地，在一些实施方案中，所述第一抗原结合模块和第三抗原结合模块各自独立地包含与 SEQ ID NO: 25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41 或 42 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中，所述第一抗原结合模块和第三抗原结合模块各自独立地包含与 SEQ ID NO: 25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38 或 39 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%同一性的氨基酸序列。

在一些实施方案中，所述第一抗原结合模块包含与 SEQ ID NO: 25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41 或 42 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中，所述第一抗原结合模块包含与 SEQ ID NO: 25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38 或 39 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%同一性的氨基酸序列。在一些具体的实施方案中，所述第一抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41 或 42 所示的氨基酸序列。在一些更具体的实施方案中，所述第一抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38 或 39 所示的氨基酸序列。

在一些实施方案中，所述第三抗原结合模块包含与 SEQ ID NO: 25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41 或 42 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中，所述第三抗原结合模块包含与 SEQ ID NO: 25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38 或 39 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%同一性的氨基酸序列。在一些具体的实施方案中，所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41 或 42 所示的氨基酸序列。在一些更具体的实施方案中，所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38 或 39 所示的氨基酸序列。

在一些实施方案中，所述第一抗原结合模块包含与 SEQ ID NO: 41 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列；并且所述第三抗原结合模块包含与 SEQ ID NO: 40 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列。在一些具体的实施方案中，所述第一抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 41 所示的氨基酸序列，并且所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 40 所示的氨基酸序列。一些更具体的方案，所述第一抗原结合模块包含 SEQ ID NO:27、36 或 37 所示的氨基酸序列，所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 26、33、34 或 35 所示的氨基酸序列。

在一些实施方案中，所述第一抗原结合模块包含与 SEQ ID NO: 41 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列，并且所述第三抗原结合模块包含与 SEQ ID NO: 42 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列。在一些具体的实施方案中，所述第一抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 41 所示的氨基酸序列，并且所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 42 所示的氨基酸序列。一些更具体的方案，所述第一抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 27、36 或 37 所示的氨基酸序列，所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 32、38 或 39 所示的氨基酸序列。

一个实例，所述第一抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 27 所示的氨基酸序列，并且所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 26、32、33、34、35、38 或 39 所示的氨基酸序列。

一个实例，所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 27 所示的氨基酸序列，并且所述第一抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 26、32、33、34、35、38 或 39 所示的氨基酸序列。

一个实例，所述第一抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 36 所示的氨基酸序列，并且所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 26、32、33、34、35、38 或 39 所示的氨基酸序列。

一个实例，所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 36 所示的氨基酸序列，并且所述第一抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 26、32、33、34、35、38 或 39 所示的氨基酸序列。

一个实例，所述第一抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 37 所示的氨基酸序列，并且所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 26、32、33、34、35、38 或 39 所示的氨基酸序列。

一个实例，所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 37 所示的氨基酸序列，并且所述第一抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 26、32、33、34、35、38 或 39 所示的氨基酸序列。

一个实例，所述第一抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 27 所示的氨基酸序列，并且所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 26 所示的氨基酸序列。

一个实例，所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 27 所示的氨基酸序列，并且所述第一抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 26 所示的氨基酸序列。

一个实例，所述第一抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 36 所示的氨基酸序列，并且所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 33 所示的氨基酸序列。

一个实例，所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 36 所示的氨基酸序列，并且所述第一抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 33 所示的氨基酸序列。

一个实例，所述第一抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 36 所示的氨基酸序列，并且所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 34 所示的氨基酸序列。

一个实例，所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 36 所示的氨基酸序列，并且所述第一抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 34 所示的氨基酸序列。

一个实例，所述第一抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 36 所示的氨基酸序列，并且所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 35 所示的氨基酸序列。

一个实例，所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 36 所示的氨基酸序列，并且所述第一抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 35 所示的氨基酸序列。

一个实例，所述第一抗原结合模块包含 SEQ ID NO:36 所示的氨基酸序列，并且所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 32 所示的氨基酸序列。

一个实例，所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO:36 所示的氨基酸序列，并且所述第一抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 32 所示的氨基酸序列。

一个实例，所述第一抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 36 所示的氨基酸序列，并且所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 38 所示的氨基酸序列。

一个实例，所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 36 所示的氨基酸序列，并且所述第一抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 38 所示的氨基酸序列。

一个实例，所述第一抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 36 所示的氨基酸序列，并且所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 39 所示的氨基酸序列。

一个实例，所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 36 所示的氨基酸序列，并且所述第一抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 39 所示的氨基酸序列。

一个实例，所述第一抗原结合模块和第三抗原结合模块均包含 SEQ ID NO: 25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38 或 39 所示的氨基酸序列。

表 S3 示例性地列举了全长氨基酸序列特征的第一抗原结合模块与第三抗原结合模块不同组合方式构建的多特异性抗体。

表 S3. 示例性的限定第一抗原结合模块和第三抗原结合模块氨基酸序列的多特异性抗体

第一抗原结合模块 / 第三抗原结合模块	1B-1B6-V1 单可变结构域	1B-1B6-V2 单可变结构域	1B-1B6-V3 单可变结构域	1B-1C7-V1 单可变结构域	1B-1C7-V2 单可变结构域	12B04-V1 单可变结构域	12B04-V2 单可变结构域
1B-1B6-V1 单可变结构域	1B-1B6-V1+1B-1B6-V1 单可变结构域	1B-1B6-V1+1B-1B6-V2 单可变结构域	1B-1B6-V1+1B-1B6-V3 单可变结构域	1B-1B6-V1+1B-1C7-V1 单可变结构域	1B-1B6-V1+1B-1C7-V2 单可变结构域	1B-1B6-V1+12B04-V1 单可变结构域	1B-1B6-V1+12B04-V2 单可变结构域
1B-1B6-V2 单可变结构域	1B-1B6-V2+1B-1B6-V1 单可变结构域	1B-1B6-V2+1B-1B6-V2 单可变结构域	1B-1B6-V2+1B-1B6-V3 单可变结构域	1B-1B6-V2+1B-1C7-V1 单可变结构域	1B-1B6-V2+1B-1C7-V2 单可变结构域	1B-1B6-V2+12B04-V1 单可变结构域	1B-1B6-V2+12B04-V2 单可变结构域
1B-1B6-V3 单可变结构域	1B-1B6-V3+1B-1B6-V1 单可变结构域	1B-1B6-V3+1B-1B6-V2 单可变结构域	1B-1B6-V3+1B-1B6-V3 单可变结构域	1B-1B6-V3+1B-1C7-V1 单可变结构域	1B-1B6-V3+1B-1C7-V2 单可变结构域	1B-1B6-V3+12B04-V1 单可变结构域	1B-1B6-V3+12B04-V2 单可变结构域
1B-1C7-V1 单可变结构域	1B-1C7-V1+1B-1B6-V1 单可变结构域	1B-1C7-V1+1B-1B6-V2 单可变结构域	1B-1C7-V1+1B-1B6-V3 单可变结构域	1B-1C7-V1+1B-1C7-V1 单可变结构域	1B-1C7-V1+1B-1C7-V2 单可变结构域	1B-1C7-V1+12B04-V1 单可变结构域	1B-1C7-V1+12B04-V2 单可变结构域
1B-1C7-V2 单可变结构域	1B-1C7-V2+1B-1B6-V1 单可变结构域	1B-1C7-V2+1B-1B6-V2 单可变结构域	1B-1C7-V2+1B-1B6-V3 单可变结构域	1B-1C7-V2+1B-1C7-V1 单可变结构域	1B-1C7-V2+1B-1C7-V2 单可变结构域	1B-1C7-V2+12B04-V1 单可变结构域	1B-1C7-V2+12B04-V2 单可变结构域
12B04-V1 单可变结构域	12B04-V1+1B-1B6-V1 单可变结构域	12B04-V1+1B-1B6-V2 单可变结构域	12B04-V1+1B-1B6-V3 单可变结构域	12B04-V1+1B-1C7-V1 单可变结构域	12B04-V1+1B-1C7-V2 单可变结构域	12B04-V1+12B04-V1 单可变结构域	12B04-V1+12B04-V2 单可变结构域
12B04-V2 单可变结构域	12B04-V2+1B-1B6-V1 单可变结构域	12B04-V2+1B-1B6-V2 单可变结构域	12B04-V2+1B-1B6-V3 单可变结构域	12B04-V2+1B-1C7-V1 单可变结构域	12B04-V2+1B-1C7-V2 单可变结构域	12B04-V2+12B04-V1 单可变结构域	12B04-V2+12B04-V2 单可变结构域

注：表中(X)+(Y)表示多特异性抗体中第三抗原结合模块和第一抗原结合模块的组合，例如“1B-1B6-V1+1B-1C7-V1 单可变结构域”表示多特异性抗体中第三抗原结合模块为 1B-1B6-V1 单可变结构域的氨基酸序列，同时第一抗原结合模块为 1B-1C7-V1 单可变结构域的氨基酸序列；该表中涉及的单可变结构域的

氨基酸序列参见表 S1。

本公开中，所述的第一抗原结合模块可以是骆驼科动物的或人源化的。所述的第三抗原结合模块可以是骆驼科动物的、或人源化。人源化可降低免疫原性，在一些实施方案中，所示第一抗原结合模块和第三抗原结合模块都是人源化的。在一些实施方案中，所述第一抗原结合模块和第三抗原结合模块都是骆驼科动物的。

本公开的多特异性抗体中，所述第二抗原结合模块提供靶向 EGFR 的能力。所述第二抗原结合模块可以为 Fab、scFv 或 ScFab（单链 Fab）。在一些实施方案中，所述第二抗原结合模块为结合 EGFR 的 Fab。

在一些实施方案中，所述第二抗原结合模块是鼠源的、嵌合的或人源化的。

在一些实施方案中，所述第二抗原结合模块包含重链可变区和轻链可变区，所述重链可变区包含：包含 SEQ ID NO: 63 所示氨基酸序列的 HCDR1，包含 SEQ ID NO: 64 所示氨基酸序列的 HCDR2，和包含 SEQ ID NO: 65 所示氨基酸序列的 HCDR3；并且所述轻链可变区包含：包含 SEQ ID NO: 66 所示氨基酸序列的 LCDR1，包含 SEQ ID NO: 67 所示氨基酸序列的 LCDR2，和包含 SEQ ID NO: 68 所示氨基酸序列的 LCDR3。

一个具体的方案，所述重链可变区包含 SEQ ID NO: 69 所示的可变区的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；所述轻链可变区包含 SEQ ID NO: 70 所示的可变区的 LCDR1、HCDR2 和 LCDR3。

在一些实施方案中，所述第二抗原结合模块包含与 SEQ ID NO: 69 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列的重链可变区，和与 SEQ ID NO: 70 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列的轻链可变区。在一些实施方案中，所述第二抗原结合模块的重链可变区包含 SEQ ID NO: 69 所示的氨基酸序列，并且其轻链可变区包含 SEQ ID NO: 70 所示的氨基酸序列。在一些实施方案中，所述第二抗原结合模块的重链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 69 所示，并且其轻链可变区的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 70 所示。

本公开的多特异性抗体可以是无 Fc 域的，第一抗原结合模块、第二抗原结合模块、第三抗原结合模块通过合适的接头融合。

本公开的多特异性抗体可以是有 Fc 域的，Fc 域可以延长半衰期、提供 Fc 域相关的效应子等功能。

多特异性抗体构型

本公开多特异性抗体中的各抗原结合模块可以以多种构造彼此融合。在一些实施方案中，所述的多特异性抗体，其还包含(iv)由两个 Fc 多肽构成的 Fc 域。

在一些实施方案中，所述第三抗原结合模块与所述第一抗原结合模块彼此融合，任选经由肽接头彼此融合。一些更具体的方案，所述第三抗原结合模块在其 C 端融合至第一抗原结合模块的 N 端。进一步地，在一些实施方案中，所述第一抗原结合模块在其 C 端融合至所述 Fc 域的其中一个 Fc 多肽的 N 端，所述第二抗原结合模块为 Fab 且所述第二抗原结合模块在其 Fab 重链或 Fab 轻链的 C 端融合至所述 Fc 域的另一个 Fc 多肽的 N 端。

在一个具体的实施方案中，所述第一抗原结合模块和第三抗原结合模块均为单可变结构域，所述第二抗原结合模块为 Fab，所述第一抗原结合模块在其 C 端融合至所述 Fc 域的其中一个 Fc 多肽的 N 端，所述第二抗原结合模块在其 Fab 重链的 C 端融合至所述 Fc 域的另一个 Fc 多肽的 N 端，所述第三抗原结合模块在其 C 端融合至所述第一抗原结合模块的 N 端。此类构造示意性的描述于图 2 中。对于此实施方案，进一步更具体的方案，多特异性抗体具有三条多肽链，其中第一条多肽链含有上述的第一抗原结合模块、第三抗原结合模块和 Fc 域的其中一个 Fc 多肽，第二条多肽链含有上述第二抗原结合模块的 Fab 重链和 Fc 域的另一个 Fc 多肽，第三条多肽链为上述第二抗原结合模块的 Fab 轻链。

上述的实施方案中，多特异性抗体的各抗原结合模块可操作性的连接，如直接地或经由本文中描述或本领域已知的各种肽接头（例如是包含一个或多个氨基酸，通常约 1-50 个氨基酸的肽接头）、铰链融合，本领域技术人员可以合理选择。

所述第三抗原结合模块可以直接或经由肽接头与第一抗原结合模块融合。一种实施方案，所述第三抗原结合模块经由肽接头与第一抗原结合模块融合。

各肽接头均可以各自独立地采用任何适宜的，例如可以使用带电的和/或柔性的接头多肽。在具体的实

施方案中，肽接头由通过肽键连接的 1 到 50 个氨基酸组成，其中所述氨基酸可以选自 20 个天然存在的氨基酸；在更优选的实施方案中，1 到 50 个氨基酸选自甘氨酸、丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺和赖氨酸。因此，示例性的肽接头可以是聚甘氨酸（尤其是$(Gly)_4$、$(Gly)_5$）、聚（Gly-Ser）、$(Gly)_3AsnGlySer(Gly)_2$、$(Gly)_3Cys(Gly)_4$、GlyProAsnGlyGly，或者专利申请 WO2019195535 中的表 4 所公开的那些，等等。

在一些实施方案中，所述肽接头可以是由甘氨酸和丝氨酸组成的肽接头。在一些实施方案中，所述肽接头包含的氨基酸数目可以是 0 个、1 个、2 个、3 个、4 个、5 个、6 个、7 个、8 个、9 个、10 个、11 个、12 个、13 个、14 个、15 个、16 个、17 个、18 个、19 个、20 个、或 20 个以上。在一些实施方案中，所述肽接头为包含以 GGGGS 为单位的肽接头。在一些实施方案中，所述以 GGGGS 为单位的肽接头为$(GGGGS)_n$，其中 n 是 1-10 之间的任意数，即 1、2、3、4、5、6、7、8、9 和 10，或由前述数字中的任意两个限定的任何范围，例如 1-5、2-5、3-6、2-4、1-4 等等。在一些具体的实施方案中，所述的肽接头为包含 GGGGS（SEQ ID NO: 91）、$(GGGGS)_2$、$(GGGGS)_3$或$(GGGGS)_4$的接头多肽。在一些具体的实施方案中，所述第三抗原结合模块经由肽接头 GGGGS（SEQ ID NO: 91）或$(GGGGS)_2$与第一抗原结合模块融合。

当与 Fc 融合时，典型的是通过铰链区融合。一种实施方案，所述第一抗原结合模块经第一铰链与 Fc 域的其中一个 Fc 多肽融合，所述第二抗原结合模块经第二铰链与 Fc 域的另一个 Fc 多肽融合。在一些实施方案中，所述第一铰链和第二铰链能够相互形成共价键，例如二硫键。第一铰链或/和第二铰链可以包含人 IgG 的铰链区的氨基酸，人 IgG 的铰链区包含天然的铰链区或其变体。在一些实施方案中，第一铰链或/和第二铰链包含人 IgG1 的铰链区的氨基酸。在一些实施方案中，第一铰链或/和第二铰链包含人 IgG4 的铰链区的氨基酸。在一些具体的实施方案中，第一铰链包含 GEPKSSDKTHTCPPCP（SEQ ID NO: 89），第二铰链包含 EPKSCDKTHTCPPCP（SEQ ID NO: 90）。

Fc 域

多特异性抗体的 Fc 域由一对包含免疫球蛋白分子重链结构域的多肽链组成。例如，免疫球蛋白 G（IgG）分子的 Fc 域是二聚体，其每个 Fc 多肽包含 IgG 重链恒定区的 CH2 和 CH3。Fc 域的两个 Fc 多肽能够彼此稳定缔合。在一个实施方案中，本公开的多特异性抗体包含一个 Fc 域。

在一些实施方案中，多特异性抗体的 Fc 域是 IgG Fc 域。在一些实施方案中，Fc 域是 IgG1 Fc 域。在一些实施方案中，Fc 域是人 Fc 域。在一些具体的实施方案中，Fc 域是人 IgG1 Fc 域。

在一些实施方案中，所述 Fc 域包含修饰，例如氨基酸取代。所述修饰例如可以是促进异二聚化的修饰或改变与蛋白 A 结合能力的修饰等。

在一些实施方案中，所述 Fc 包含促进异二聚化的修饰。

本公开的多特异性抗体包含与 Fc 域中的两个 Fc 多肽中的一个或另一个融合的不同抗原结合模块，因此，两个 Fc 多肽通常包含在两条不同的多肽链中。这些多肽的重组共表达和随后的二聚化产生两种多肽的几种可能的组合。为了提高重组产生中多特异性抗体的产率和纯度，在该多特异性抗体的 Fc 域中引入促进希望的多肽结合的修饰将是有利的。因此，在具体实施方案中，所述 Fc 域包含促进所述 Fc 域的两个 Fc 多肽相缔合的氨基酸取代。

人 IgG Fc 域的两条 Fc 多肽之间最广泛的蛋白质-蛋白质相互作用的部位在 Fc 域的 CH3 结构域中。因此，在一个实施方案中，该修饰在 Fc 域的 CH3 结构域中。

在具体实施方案中，该修饰是所谓的“杵入臼（knob-into-hole）”修饰，其包含 Fc 域的两个 Fc 多肽之一中的“杵”修饰和 Fc 域的两个 Fc 多肽的另一个中的“臼”修饰。通常，该方法涉及在一条 Fc 多肽的界面引入凸起（“杵”），而在另一条 Fc 多肽的界面引入对应的凹陷（“臼”），使得该凸起可以定位在该凹陷中，以促进异二聚体形成和妨碍同二聚体形成。通过用更大的侧链（例如酪氨酸或色氨酸等）取代来自一条 Fc 多肽的界面的小的氨基酸侧链来构建凸起。通过用更小的氨基酸侧链（例如丙氨酸或苏氨酸等）取代大的氨基酸侧链来在另一条 Fc 多肽的界面中产生具有与凸起相同或相似的大小的互补凹陷。

因此，在具体实施方案中，在该多特异性抗体的一个 Fc 多肽的 CH3 结构域中，用具有更大侧链体积的氨基酸残基取代氨基酸残基，从而在该 Fc 多肽的 CH3 结构域内产生可定位在另一个 Fc 多肽的 CH3 结构域内的凹陷中的凸起，在另一个 Fc 多肽的 CH3 结构域中，用具有更小侧链体积的氨基酸残基取代氨基酸残基，从而在该 Fc 多肽的 CH3 结构域内产生凹陷。

在一些实施方案中，根据 EU 编号，Fc 域的一个 Fc 多肽包含氨基酸取代 354C 或/和 366Y/W，且另一个 Fc 多肽包含氨基酸取代 349C、366S、368A 或/和 407T/V。在一些具体的实施方案中，根据 EU 编号，所述 Fc 域的其中一个 Fc 多肽包含氨基酸取代 354C 和 366Y/W，另一个 Fc 多肽包含氨基酸取代 349C、366S、368A 和 407T/V。在一些更具体的实施方案中，根据 EU 编号，所述 Fc 域的其中一个 Fc 多肽包含氨基酸取代 354C 和 366W，另一个 Fc 多肽包含氨基酸取代 349C、366S、368A 和 407V。在上述的实施方案中，Fc 可以是人 IgG1 的 Fc。在一个具体的实施方案中，根据 EU 编号，所述 Fc 域的其中一个 Fc 多肽包含氨基酸取代 S354C 和 T366W，另一个 Fc 多肽包含氨基酸取代 Y349C、T366S、L368A 和 Y407V。

在一些实施方案中，所述 Fc 域包含减少或消除 Fc 域中的一个 Fc 多肽的 CH3 区与蛋白 A（Protein A from Staphylococcus aureus）的结合的修饰。在一些实施方案中，所述 Fc 域包含减少或消除 Fc 域中的一个 Fc 多肽的 CH3 区与蛋白 A 的结合的氨基酸取代。在一些实施方案中，根据 EU 编号，所述 Fc 域包含氨基酸取代(a)435R 或(b)435R 和 436F，该氨基酸取代仅发生在一个 Fc 多肽上，而不发生在另一个 Fc 多肽上。在一些实施方案中，根据 EU 编号，所述 Fc 域包含仅发生在其中一个 Fc 多肽的氨基酸取代(a)435R 或(b)435R 和 436F。在一些具体的实施方案中，根据 EU 编号，所述 Fc 域包含仅发生在其中一个 Fc 多肽的氨基酸取代 H435R 和 Y436F。在一些具体的实施方案中，根据 EU 编号，所述 Fc 域包含仅发生在其中一个 Fc 多肽的氨基酸取代 H435R。在上述实施方案中，该 Fc 是 IgG1 Fc，尤其是人 IgG1 Fc。

本公开的多特异性抗体中，所述 Fc 域可以包含(i)促进异二聚化的修饰和/或(ii)减少或消除 Fc 域中的一个 Fc 多肽的 CH3 区与蛋白 A 的结合的修饰。在一些实施方案中，所述 Fc 包含(i)促进异二聚化的修饰和(ii)减少或消除 Fc 域中的一个 Fc 多肽的 CH3 区与蛋白 A 的结合的修饰。例如，一个具体的实施方案，根据 EU 编号，所述 Fc 域包含下组的氨基酸取代：

i.349C、366S、368A、407T/V、354C 和 366Y/W；其中，氨基酸取代 354C 和 366Y/W 在同一个 Fc 多肽上，且与(i)中的其他氨基酸取代均不在同一个 Fc 多肽上；以及

ii. (a)435R 或(b)435R 和 436F，仅发生在其中一个 Fc 多肽上。

一个更具体的实施方案中，根据 EU 编号，所述 Fc 域的其中一个 Fc 多肽包含氨基酸取代：Y349C、T366S、L368A、Y407V、H435R 和 Y436F，另一个 Fc 多肽包含氨基酸取代：S354C 和 T366W。在这个这种具体的实施方案中，该 Fc 是 IgG1 Fc，尤其是人 IgG1 Fc。

另一个更具体的实施方案中，根据 EU 编号，所述 Fc 域的其中一个 Fc 多肽包含氨基酸取代：Y349C、T366S、L368A、Y407V 和 H435R，另一个 Fc 多肽包含氨基酸取代：S354C 和 T366W。在这个这种具体的实施方案中，该 Fc 是 IgG1 Fc，尤其是人 IgG1 Fc。

本公开上下文中，氨基酸取代表示为：原氨基酸-位置-取代的氨基酸，使用三字母码（Xaa）或单字母码（X）来表示氨基酸残基，原氨基酸可以省略。因此，例如“H435R”或“435R”意为将位置 435 处的氨基酸 H 或原氨基酸取代为氨基酸 R；对于取代的氨基酸可以包含多于 1 个，例如“T366Y/W”意为将位置 366 处的氨基酸 T 取代为氨基酸 Y 或 W。

在一些实施方案中，所述 Fc 域不含岩藻糖。

在一些实施方案中，本公开的多特异性抗体是无岩藻糖基化的。通过去岩藻糖基化可以提高所述多特异性抗体与 FcγRIIIa 的相互作用，进而增强抗体的 ADCC 作用。生成在 Fc 域糖基化位点上具有很少或没有岩藻糖的多特异性抗体，而不改变氨基酸序列的方法在本领域是已知的，例如调整表达细胞所处培养基的成分，或者敲除表达细胞的岩藻糖表达相关基因如 FUT8。

在一些实施方案中，本公开所述的多特异性抗体是三价的，即第一抗原结合模块、第二抗原结合模块、第三抗原结合模块均各自提供与相应抗原的单价结合。

在一些实施方案中，所述多特异性抗体由三条多肽链组成，其中一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 71 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列，另一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 85 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列，还有一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 87 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列。

在一些实施方案中，所述多特异性抗体由三条多肽链组成，其中一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 73 所

示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列，另一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 85 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列，还有一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 87 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列。

在一些实施方案中，所述多特异性抗体由三条多肽链组成，其中一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 75 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列，另一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 85 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列，还有一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 87 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列。

在一些实施方案中，所述多特异性抗体由三条多肽链组成，其中一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 77 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列，另一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 85 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列，还有一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 87 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列。

在一些实施方案中，所述多特异性抗体由三条多肽链组成，其中一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 79 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列，另一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 85 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列，还有一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 87 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列。

在一些实施方案中，所述多特异性抗体由三条多肽链组成，其中一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 81 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列，另一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 85 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列，还有一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 87 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列。

在一些实施方案中，所述多特异性抗体由三条多肽链组成，其中一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 83 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列，另一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 85 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列，还有一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 87 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列。

在一些实施方案中，所述多特异性抗体由三条多肽链组成，其中一条多肽链包含 SEQ ID NO: 71 所示的氨基酸序列，另一条多肽链包含 SEQ ID NO: 85 所示的氨基酸序列，还有一条多肽链包含 SEQ ID NO: 87 所示的氨基酸序列。

在一些实施方案中，所述多特异性抗体由三条多肽链组成，其中一条多肽链包含 SEQ ID NO: 73 所示的氨基酸序列，另一条多肽链包含 SEQ ID NO: 85 所示的氨基酸序列，还有一条多肽链包含 SEQ ID NO: 87 所示的氨基酸序列。

在一些实施方案中，所述多特异性抗体由三条多肽链组成，其中一条多肽链包含 SEQ ID NO: 75 所示的氨基酸序列，另一条多肽链包含 SEQ ID NO: 85 所示的氨基酸序列，还有一条多肽链包含 SEQ ID NO: 87 所示的氨基酸序列。

在一些实施方案中，所述多特异性抗体由三条多肽链组成，其中一条多肽链包含 SEQ ID NO: 77 所示的氨基酸序列，另一条多肽链包含 SEQ ID NO: 85 所示的氨基酸序列，还有一条多肽链包含 SEQ ID NO:

87 所示的氨基酸序列。

在一些实施方案中，所述多特异性抗体由三条多肽链组成，其中一条多肽链包含 SEQ ID NO: 79 所示的氨基酸序列，另一条多肽链包含 SEQ ID NO: 85 所示的氨基酸序列，还有一条多肽链包含 SEQ ID NO: 87 所示的氨基酸序列。

在一些实施方案中，所述多特异性抗体由三条多肽链组成，其中一条多肽链包含 SEQ ID NO: 81 所示的氨基酸序列，另一条多肽链包含 SEQ ID NO: 85 所示的氨基酸序列，还有一条多肽链包含 SEQ ID NO: 87 所示的氨基酸序列。

在一些实施方案中，所述多特异性抗体由三条多肽链组成，其中一条多肽链包含 SEQ ID NO: 83 所示的氨基酸序列，另一条多肽链包含 SEQ ID NO: 85 所示的氨基酸序列，还有一条多肽链包含 SEQ ID NO: 87 所示的氨基酸序列。

本公开提供了示例性的三价多特异性抗体。

一个实例，多特异性抗体由三条多肽链组成，三条多肽链的氨基酸序列分别如 SEQ ID NO: 71、SEQ ID NO: 85 和 SEQ ID NO: 87 所示。在一些实施方案中，编码三条多肽链的核苷酸序列分别如 SEQ ID NO: 72、SEQ ID NO: 86 和 SEQ ID NO: 88 所示。

一个实例，多特异性抗体由三条多肽链组成，三条多肽链的氨基酸序列分别如 SEQ ID NO: 73、SEQ ID NO: 85 和 SEQ ID NO: 87 所示。在一些实施方案中，编码三条多肽链的核苷酸序列分别如 SEQ ID NO: 74、SEQ ID NO: 86 和 SEQ ID NO: 88 所示。

一个实例，多特异性抗体由三条多肽链组成，三条多肽链的氨基酸序列分别如 SEQ ID NO: 75、SEQ ID NO: 85 和 SEQ ID NO: 87 所示。在一些实施方案中，编码三条多肽链的核苷酸序列分别如 SEQ ID NO: 76、SEQ ID NO: 86 和 SEQ ID NO: 88 所示。

一个实例，多特异性抗体由三条多肽链组成，三条多肽链的氨基酸序列分别如 SEQ ID NO: 77、SEQ ID NO: 85 和 SEQ ID NO: 87 所示。在一些实施方案中，编码三条多肽链的核苷酸序列分别如 SEQ ID NO: 78、SEQ ID NO: 86 和 SEQ ID NO: 88 所示。

一个实例，多特异性抗体由三条多肽链组成，三条多肽链的氨基酸序列分别如 SEQ ID NO: 79、SEQ ID NO: 85 和 SEQ ID NO: 87 所示。在一些实施方案中，编码三条多肽链的核苷酸序列分别如 SEQ ID NO: 80、SEQ ID NO: 86 和 SEQ ID NO: 88 所示。

一个实例，多特异性抗体由三条多肽链组成，三条多肽链的氨基酸序列分别如 SEQ ID NO: 81、SEQ ID NO: 85 和 SEQ ID NO: 87 所示。在一些实施方案中，编码三条多肽链的核苷酸序列分别如 SEQ ID NO: 82、SEQ ID NO: 86 和 SEQ ID NO: 88 所示。

一个实例，多特异性抗体由三条多肽链组成，三条多肽链的氨基酸序列分别如 SEQ ID NO: 83、SEQ ID NO: 85 和 SEQ ID NO: 87 所示。在一些实施方案中，编码三条多肽链的核苷酸序列分别如 SEQ ID NO: 84、SEQ ID NO: 86 和 SEQ ID NO: 88 所示。

分离的核酸

本公开提供了分离的核酸，其包含编码本公开所述的多特异性抗体的核苷酸序列。序列表中示例性的列举了一些编码多特异性抗体的核苷酸序列。

载体

本公开提供了包含所述的核酸的载体。在一些实施方案中，所述的载体为克隆载体；在另一些实施方案中，所述的载体为表达载体，一个具体的例子，表达载体为 pcDNA3.1(+)。所述表达载体可选的能够表达本文所述多特异性抗体的任意表达载体。

宿主细胞

本公开提供了包含本公开的核酸或本公开的载体的宿主细胞。在一些实施方案中，所述宿主细胞为用于克隆或表达多特异性抗体的适当宿主细胞。在一些实施方案中，宿主细胞为原核细胞。在另一些实施方案中，宿主细胞为真核细胞。在一些实施方案中，宿主细胞选自酵母细胞、哺乳动物细胞或适用于制备多特异性抗体的其他细胞。哺乳动物细胞例如为中国仓鼠卵巢（CHO）细胞、CHO-S 细胞。

抗体药物偶联物（ADC）

本公开提供了包含本公开的多特异性抗体的抗体药物偶联物。在一些实施方案中，所述抗体药物偶联

物包含所述多特异性抗体和细胞毒药物。所述多特异性抗体和细胞毒药物优选地通过接头连接，所述接头为可裂解的接头或不可裂解的接头。

药物组合物

本公开提供了药物组合物，所述药物组合物包含本公开的多特异性抗体，并且还包含一种或多种药学上可接受的辅料。本公开还提供了药物组合物，所述药物组合物包含本公开的抗体药物偶联物，并且还包含一种或多种药学上可接受的辅料。药学上可接受的辅料包括，例如，赋形剂、稀释剂、包封材料、填充剂、缓冲剂或其他试剂。

在本公开的药物组合物中，所述多特异性抗体可以是完全无岩藻糖基化的（即不含可检测的岩藻糖）或可以是部分无岩藻糖基化的。

制备多特异性抗体的方法

在一些实施方案中，本公开提供了制备多特异性抗体的方法，所述方法包括：培养所述的宿主细胞，使其表达所述的多特异性抗体，并且任选地在体系中分离纯化所述多特异性抗体。为了产生所述的多特异性抗体，分离编码所述多特异性抗体的核酸，并插入一个或多个载体，用于在宿主细胞中进一步克隆或/和表达。所述核酸可以采用基因拼接、化学合成等多种本领域所熟知的方法获取。

可以通过本领域已知的技术来纯化所制备的多特异性抗体，所述技术如高效液相色谱、离子交换层析、凝胶层析、亲和层析、大小排阻层析、陶瓷羟基磷灰石（CHT）层析等。用来纯化特定蛋白质的实际条件部分取决于如净电荷、疏水性、亲水性等因素，并且这些对于本领域技术人员是显而易见的。对于亲和层析，可以使用与多特异性抗体结合的抗体、配体、受体或抗原进行纯化。例如，对于本公开的多特异性抗体的亲和层析，可以使用具有蛋白 A 或蛋白 G 的基质（Matrix）进行纯化。可以连续使用亲和层析、离子交换层析、凝胶层析或/和 CHT 层析纯化本公开的多特异性抗体。

可以通过多种熟知的分析方法中的任何一种确定多特异性抗体的纯度，例如凝胶电泳、高效液相色谱、大小排阻层析等。

可以通过本领域已知的多种测定方法鉴定、筛选或表征本文的多特异性抗体的理化性质或/和生物学活性。

用途

本公开提供了本公开的多特异性抗体的用途。在一些具体的实施方案中，使用的多特异性抗体可以为 V12、V41、V35、V42、V67、V73 和/或 V74。

本公开提供了所述多特异性抗体、所述抗体药物偶联物或所述药物组合物在制备用于治疗表达 c-Met 或/和 EGFR 的疾病的药物中的用途。在一些实施方案中，所述多特异性抗体、所述抗体药物偶联物或所述药物组合物与一种或多种另外的治疗剂制备所述的药物。所述另外的治疗剂可以是本领域已知的肿瘤治疗剂。

本公开提供了治疗表达 c-Met 或/和 EGFR 的疾病的方法，其包括对有需要的受试者施用所述多特异性抗体、所述抗体药物偶联物或所述药物组合物。本公开提供了治疗表达 c-Met 或/和 EGFR 的疾病的方法，其包括对有需要的受试者施用治疗有效量所述多特异性抗体、所述抗体药物偶联物或所述药物组合物。在一些实施方案中，所述方法还包括对有需要的受试者进一步施用一种或多种另外的治疗剂。所述另外的治疗剂可以是本领域已知的肿瘤治疗剂。在一些实施方案中，所述疾病为肿瘤。

在一些实施方案中，所述肿瘤为上皮细胞癌、乳腺癌、卵巢癌、肺癌、肺腺癌、结直肠癌、肛门癌、前列腺癌、肾癌、肝癌、膀胱癌、头颈癌、胃癌、胰腺癌、皮肤癌、口腔癌、咽癌、鼻癌、舌癌、食道癌、睾丸癌、阴道癌、宫颈癌、脾癌、睾丸癌、甲状腺癌、唾液腺癌和/或胸腺癌。在一些实施方案中，所述肺癌包括非小细胞肺癌（NSCLC）和小细胞肺癌（SCLC）。

具体实施方式

本公开还提供了以下一些具体的实施方案，但本公开的保护范围不限于此：

实施方案1. 一种多特异性抗体，其包含

(i)结合第一抗原的第一抗原结合模块；

(ii)结合第二抗原的第二抗原结合模块；和

(iii)结合第一抗原的第三抗原结合模块；

其中，所述第一抗原为 c-Met 且所述第二抗原为 EGFR，所述第一抗原结合模块和第三抗原结合模块均为单可变结构域并且各自独立地包含以下任一项：

(1)包含 SEQ ID NO: 4 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 5 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 6 所示氨基酸序列的 CDR3，其中，X_1 选自 S 或 T，优选为 T；

(2)包含 SEQ ID NO: 7 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 8 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 9 所示氨基酸序列的 CDR3；

(3)包含 SEQ ID NO: 1 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 2 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 3 所示氨基酸序列的 CDR3；

(4)包含 SEQ ID NO: 10 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 11 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 12 所示氨基酸序列的 CDR3；

(5)包含 SEQ ID NO: 13 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 14 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 15 所示氨基酸序列的 CDR3；

(6)包含 SEQ ID NO: 16 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 17 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 18 所示氨基酸序列的 CDR3；

(7)包含 SEQ ID NO: 19 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 20 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 21 所示氨基酸序列的 CDR3；或

(8)包含 SEQ ID NO: 22 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 23 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 24 所示氨基酸序列的 CDR3。

实施方案2. 根据实施方案 1 所述的多特异性抗体，其中，所述第一抗原结合模块和第三抗原结合模块各自独立地包含以下任一项：

(1)包含 SEQ ID NO: 4 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 5 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 6 所示氨基酸序列的 CDR3，其中，X_1 选自 S 或 T，优选为 T；

(2)包含 SEQ ID NO: 7 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 8 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 9 所示氨基酸序列的 CDR3；或

(8)包含 SEQ ID NO: 22 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 23 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 24 所示氨基酸序列的 CDR3。

实施方案3. 根据实施方案 2 所述的多特异性抗体，其中，所述第一抗原结合模块包含：包含 SEQ ID NO: 7 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 8 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 9 所示氨基酸序列的 CDR3；并且，所述第三抗原结合模块包含：包含 SEQ ID NO: 4 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 5 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 6 所示氨基酸序列的 CDR3，其中，X_1 选自 S 或 T；优选地，所述 X_1 为 T。

实施方案4. 根据实施方案 2 所述的多特异性抗体，其中，所述第一抗原结合模块包含：包含 SEQ ID NO: 7 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 8 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 9 所示氨基酸序列的 CDR3；并且，所述第三抗原结合模块包含：包含 SEQ ID NO: 22 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 23 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 24 所示氨基酸序列的 CDR3。

实施方案5. 一种多特异性抗体，其包含

(i)结合第一抗原的第一抗原结合模块；

(ii)结合第二抗原的第二抗原结合模块；和

(iii)结合第一抗原的第三抗原结合模块；

其中，所述第一抗原为 c-Met 且所述第二抗原为 EGFR，所述第一抗原结合模块和第三抗原结合模块均为单可变结构域并且各自独立地包含氨基酸序列如 SEQ ID NO: 35、36、26、27、25、28、29、30、31、32、33、34、37、38 或 39 所示的单可变结构域的 CDR1、CDR2 和 CDR3。

实施方案6. 根据实施方案 5 所述的多特异性抗体，其中，所述第一抗原结合模块和第三抗原结合模块各自独立地包含氨基酸序列如 SEQ ID NO: 35、36 或 38 所示的单可变结构域的 CDR1、CDR2 和 CDR3。

实施方案7. 根据实施方案 6 所述的多特异性抗体，其中，所述第一抗原结合模块包含氨基酸序列如

SEQ ID NO: 36 所示的单可变结构域的 CDR1、CDR2 和 CDR3，并且所述第三抗原结合模块包含氨基酸序列如 SEQ ID NO: 35 所示的单可变结构域的 CDR1、CDR2 和 CDR3。

实施方案8. 根据实施方案 6 所述的多特异性抗体，其中，所述第一抗原结合模块包含氨基酸序列如 SEQ ID NO: 36 所示的单可变结构域的 CDR1、CDR2 和 CDR3，并且所述第三抗原结合模块包含氨基酸序列如 SEQ ID NO: 38 所示的单可变结构域的 CDR1、CDR2 和 CDR3。

实施方案9. 根据实施方案 1-8 中任一项所述的多特异性抗体，其中，所述第一抗原结合模块和第三抗原结合模块各自独立地包含与 SEQ ID NO: 40、41、35、36、26、27、25、28、29、30、31、32、33、34、37、38、39 或 42 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列。

实施方案10. 根据实施方案 1-9 中任一项所述的多特异性抗体，其中，所述第一抗原结合模块包含与 SEQ ID NO: 41 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列。

实施方案11. 根据实施方案 10 所述的多特异性抗体，其中，所述第一抗原结合模块包含与 SEQ ID NO: 27、36 或 37 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列；优选地，所述第一抗原结合模块包含与 SEQ ID NO: 36 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列。

实施方案12. 根据实施方案 1-11 中任一项所述的多特异性抗体，其中，所述第三抗原结合模块包含与 SEQ ID NO: 40 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列。

实施方案13. 根据实施方案 12 所述的多特异性抗体，其中，所述第三抗原结合模块包含与 SEQ ID NO: 26、33、34 或 35 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列；优选地，所述第三抗原结合模块包含与 SEQ ID NO: 35 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列。

实施方案14. 根据实施方案 1-11 中任一项所述的多特异性抗体，其中，所述第三抗原结合模块包含与 SEQ ID NO: 42 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列。

实施方案15. 根据实施方案 14 所述的多特异性抗体，其中，所述第三抗原结合模块包含与 SEQ ID NO: 32、38 或 39 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列；优选地，所述第三抗原结合模块包含与 SEQ ID NO: 38 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列。

实施方案16. 根据实施方案 1-8 中任一项所述的多特异性抗体，其中，所述第一抗原结合模块和第三抗原结合模块选自以下任一项：

(1)所述第一抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 36 所示的氨基酸序列，并且所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 35 所示的氨基酸序列；

(2)所述第一抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 27 所示的氨基酸序列，并且所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 26 所示的氨基酸序列；

(3)所述第一抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 36 所示的氨基酸序列，并且所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 33 所示的氨基酸序列；

(4)所述第一抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 36 所示的氨基酸序列，并且所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 34 所示的氨基酸序列；

(5)所述第一抗原结合模块包含 SEQ ID NO:36 所示的氨基酸序列，并且所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 32 所示的氨基酸序列；

(6)所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 36 所示的氨基酸序列，并且所述第一抗原结合模块包含 SEQ

ID NO: 38 所示的氨基酸序列；或

(7)所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 36 所示的氨基酸序列，并且所述第一抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 39 所示的氨基酸序列。

实施方案17. 根据实施方案 1-16 中任一项所述的多特异性抗体，其中，所述单可变结构域是骆驼科动物的或人源化的。

实施方案18. 根据实施方案 1-17 中任一项所述的多特异性抗体，其中，所述第二抗原结合模块为 Fab、scFv 或 scFab。

实施方案19. 根据实施方案 1-18 中任一项所述的多特异性抗体，其中，所述第二抗原结合模块包含重链可变区和轻链可变区，所述重链可变区包含：包含 SEQ ID NO: 63 所示氨基酸序列的 HCDR1，包含 SEQ ID NO: 64 所示氨基酸序列的 HCDR2，和包含 SEQ ID NO: 65 所示氨基酸序列的 HCDR3；并且所述轻链可变区包含：包含 SEQ ID NO: 66 所示氨基酸序列的 LCDR1，包含 SEQ ID NO: 67 所示氨基酸序列的 LCDR2，和包含 SEQ ID NO: 68 所示氨基酸序列的 LCDR3。

实施方案20. 根据实施方案 1-18 中任一项所述的多特异性抗体，其中，所述第二抗原结合模块包含重链可变区和轻链可变区，所述重链可变区包含 SEQ ID NO: 69 所示的可变区的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；所述轻链可变区包含 SEQ ID NO: 70 所示的可变区的 LCDR1、HCDR2 和 LCDR3。

实施方案21. 根据实施方案 1-20 中任一项所述的多特异性抗体，其中，所述第二抗原结合模块包含与 SEQ ID NO: 69 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列的重链可变区，和与 SEQ ID NO: 70 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列的轻链可变区。

实施方案22. 根据实施方案 21 所述的多特异性抗体，其中，所述第二抗原结合模块的重链可变区包含 SEQ ID NO: 69 所示的氨基酸序列，并且其轻链可变区包含 SEQ ID NO: 70 所示的氨基酸序列。

实施方案23. 根据实施方案 1-22 中任一项所述的多特异性抗体，其中，所述第二抗原结合模块是鼠源的、嵌合的或人源化的。

实施方案24. 根据实施方案 1-23 中任一项所述的多特异性抗体，其中，所述第三抗原结合模块和所述第一抗原结合模块彼此融合，任选经由肽接头彼此融合。

实施方案25. 根据实施方案 24 所述的多特异性抗体，其中，所述第三抗原结合模块在其 C 端融合至第一抗原结合模块的 N 端。

实施方案26. 根据实施方案 1-25 中任一项所述的多特异性抗体，所述多特异性抗体还包含

(iv)由两个 Fc 多肽构成的 Fc 域。

实施方案27. 根据实施方案 26 所述的多特异性抗体，其中，所述第一抗原结合模块在其 C 端融合至所述 Fc 域的其中一个 Fc 多肽的 N 端，所述第二抗原结合模块为 Fab 且所述第二抗原结合模块在其 Fab 重链的 C 端融合至所述 Fc 域的另一个 Fc 多肽的 N 端。

实施方案28. 根据实施方案 26 或 27 所述的多特异性抗体，其中，所述 Fc 域是 IgG Fc 域，优选为 IgG1 Fc 域。

实施方案29. 根据实施方案 28 所述的多特异性抗体，其中，所述 IgG Fc 域是人 IgG Fc 域，优选为人 IgG1 Fc 域。

实施方案30. 根据实施方案 26-29 中任一项所述的多特异性抗体，其中，所述 Fc 域包含促进所述 Fc 域的两个 Fc 多肽相缔合的氨基酸取代。

实施方案31. 根据实施方案 30 所述的多特异性抗体，其中，根据 EU 编号，所述 Fc 域的其中一个 Fc 多肽包含氨基酸取代 354C 和 366Y/W，另一个 Fc 多肽包含氨基酸取代 349C、366S、368A 和 407T/V。

实施方案32. 根据实施方案 26-31 中任一项所述的多特异性抗体，其中，所述 Fc 域包含减少或消除 Fc 域中的一个 Fc 多肽的 CH3 区与蛋白 A 的结合的氨基酸取代。

实施方案33. 根据实施方案 32 所述的多特异性抗体，其中，根据 EU 编号，所述 Fc 域包含仅发生在其中一个 Fc 多肽的氨基酸取代(a)435R 或(b)435R 和 436F。

实施方案34. 根据实施方案 26-29 中任一项所述的多特异性抗体，其中，根据 EU 编号，所述 Fc 域的

其中一个 Fc 多肽包含氨基酸取代：349C、366S、368A、407V、435R 和 436F，另一个 Fc 多肽包含氨基酸取代：354C 和 366W。

实施方案35. 根据实施方案 26-29 中任一项所述的多特异性抗体，其中，根据 EU 编号，所述 Fc 域的其中一个 Fc 多肽包含氨基酸取代：349C、366S、368A、407V 和 435R，另一个 Fc 多肽包含氨基酸取代：354C 和 366W。

实施方案36. 根据实施方案 1-35 中任一项所述的多特异性抗体，所述多特异性抗体为三价的。

实施方案37. 根据实施方案 1-36 中任一项所述的多特异性抗体，所述多特异性抗体由三条多肽链组成，其中：

(1)一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 77 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列，另一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 85 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列，还有一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 87 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列；

(2)一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 71 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列，另一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 85 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列，还有一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 87 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列；

(3)一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 73 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列，另一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 85 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列，还有一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 87 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列；

(4)一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 75 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列，另一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 85 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列，还有一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 87 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列；

(5)一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 79 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列，另一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 85 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列，还有一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 87 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列；

(6)一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 81 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列，另一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 85 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列，还有一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 87 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列；或

(7)一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 83 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列，另一条多肽链包含与 SEQ

ID NO: 85 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列，还有一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 87 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列。

实施方案38. 一种多特异性抗体，所述多特异性抗体由三条多肽链组成，其中：
(1)一条多肽链包含 SEQ ID NO: 77 所示的氨基酸序列，另一条多肽链包含 SEQ ID NO: 85 所示的氨基酸序列，还有一条多肽链包含 SEQ ID NO: 87 所示的氨基酸序列；
(2)一条多肽链包含 SEQ ID NO: 71 所示的氨基酸序列，另一条多肽链包含 SEQ ID NO: 85 所示的氨基酸序列，还有一条多肽链包含 SEQ ID NO: 87 所示的氨基酸序列；
(3)一条多肽链包含 SEQ ID NO: 73 所示的氨基酸序列，另一条多肽链包含 SEQ ID NO: 85 所示的氨基酸序列，还有一条多肽链包含 SEQ ID NO: 87 所示的氨基酸序列；
(4)一条多肽链包含 SEQ ID NO: 75 所示的氨基酸序列，另一条多肽链包含 SEQ ID NO: 85 所示的氨基酸序列，还有一条多肽链包含 SEQ ID NO: 87 所示的氨基酸序列；
(5)一条多肽链包含 SEQ ID NO: 79 所示的氨基酸序列，另一条多肽链包含 SEQ ID NO: 85 所示的氨基酸序列，还有一条多肽链包含 SEQ ID NO: 87 所示的氨基酸序列；
(6)一条多肽链包含 SEQ ID NO: 81 所示的氨基酸序列，另一条多肽链包含 SEQ ID NO: 85 所示的氨基酸序列，还有一条多肽链包含 SEQ ID NO: 87 所示的氨基酸序列；或
(7)一条多肽链包含 SEQ ID NO: 83 所示的氨基酸序列，另一条多肽链包含 SEQ ID NO: 85 所示的氨基酸序列，还有一条多肽链包含 SEQ ID NO: 87 所示的氨基酸序列。

实施方案39. 根据实施方案 1-38 中任一项所述的多特异性抗体，所述多特异性抗体是无岩藻糖基化的。

实施方案40. 一种分离的核酸，其包含编码根据实施方案 1-39 中任一项所述的多特异性抗体的核苷酸序列。

实施方案41. 一种载体，其包含根据实施方案 40 所述的核酸。

实施方案42. 一种宿主细胞，其包含根据实施方案 40 所述的核酸，或根据实施方案 41 所述的载体。

实施方案43. 一种制备根据实施方案 1-39 中任一项所述的多特异性抗体的方法，其包括培养根据实施方案 42 所述的宿主细胞，使其表达所述的多特异性抗体，并且在体系中分离纯化所述多特异性抗体。

实施方案44. 一种抗体药物偶联物，其包含根据实施方案 1-39 中任一项所述的多特异性抗体，以及细胞毒药物。

实施方案45. 一种药物组合物，其包含根据实施方案 1-39 中任一项所述的多特异性抗体或实施方案 44 所述的抗体药物偶联物，以及药学上可接受的辅料。

实施方案46. 根据实施方案 1-39 中任一项所述的多特异性抗体、实施方案 44 所述的抗体药物偶联物或实施方案 45 所述的药物组合物在制备用于治疗表达 c-Met 或/和 EGFR 的疾病的药物中的用途。

实施方案47. 根据实施方案 46 所述的用途，其中，所述疾病为肿瘤。

实施方案48. 根据实施方案 47 所述的用途，其中，所述肿瘤为上皮细胞癌、乳腺癌、卵巢癌、肺癌、肺腺癌、结直肠癌、肛门癌、前列腺癌、肾癌、肝癌、膀胱癌、头颈癌、胃癌、胰腺癌、皮肤癌、口腔癌、咽癌、鼻癌、舌癌、食道癌、睾丸癌、阴道癌、宫颈癌、脾癌、睾丸癌、甲状腺癌、唾液腺癌或胸腺癌。

实施方案49. 根据实施方案 48 所述的用途，其中，所述肺癌为非小细胞肺癌或小细胞肺癌。

实施方案50. 根据实施方案 46-49 中任一项所述的用途，其中所述多特异性抗体、所述抗体药物偶联物或所述药物组合物与一种或多种另外的治疗剂制备所述的药物。

实施方案51. 一种治疗表达 c-Met 或/和 EGFR 的疾病的方法，其包括对有需要的受试者施用治疗有效量的根据实施方案 1-39 中任一项所述的多特异性抗体、实施方案 44 所述的抗体药物偶联物或实施方案 45 所述的药物组合物。

实施方案52. 根据实施方案 51 所述的方法，其中，所述疾病为肿瘤。

实施方案53. 根据实施方案 52 所述的方法，其中，所述肿瘤为上皮细胞癌、乳腺癌、卵巢癌、肺癌、肺腺癌、结直肠癌、肛门癌、前列腺癌、肾癌、肝癌、膀胱癌、头颈癌、胃癌、胰腺癌、皮肤癌、口腔癌、

咽癌、鼻癌、舌癌、食道癌、睾丸癌、阴道癌、宫颈癌、脾癌、睾丸癌、甲状腺癌、唾液腺癌或胸腺癌。

实施方案54. 根据实施方案 53 所述的方法，其中，所述肺癌为非小细胞肺癌或小细胞肺癌。

实施方案55. 一种结合 c-Met 的抗体，其包含单可变结构域，所述单可变结构域包含：

(1)包含 SEQ ID NO: 4 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 5 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 6 所示氨基酸序列的 CDR3，其中，X_1 为 S 或 T；

(2)包含 SEQ ID NO: 7 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 8 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 9 所示氨基酸序列的 CDR3；

(3)包含 SEQ ID NO: 1 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 2 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 3 所示氨基酸序列的 CDR3；

(4)包含 SEQ ID NO: 10 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 11 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 12 所示氨基酸序列的 CDR3；

(5)包含 SEQ ID NO: 13 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 14 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 15 所示氨基酸序列的 CDR3；

(6)包含 SEQ ID NO: 16 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 17 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 18 所示氨基酸序列的 CDR3；

(7)包含 SEQ ID NO: 19 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 20 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 21 所示氨基酸序列的 CDR3；或

(8)包含 SEQ ID NO: 22 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 23 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 24 所示氨基酸序列的 CDR3。

实施方案56. 根据实施方案 55 所述的结合 c-Met 的抗体，其中，所述单可变结构域包含与 SEQ ID NO: 40、41、35、36、26、27、25、28、29、30、31、32、33、34、37、38、39 或 42 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列。

实施方案57. 根据实施方案 56 所述的结合 c-Met 的抗体，其中，所述单可变结构域包含 SEQ ID NO: 33、34、35、36、37、38 或 39 所示的氨基酸序列。

实施方案58. 根据实施方案 56 所述的结合 c-Met 的抗体，其中，所述单可变结构域包含 SEQ ID NO: 40、41 或 42 所示的氨基酸序列，同时所述单可变结构域不包含 SEQ ID NO: 29、30 或 31 所示的氨基酸序列。

实施方案59. 根据实施方案 55-58 中任一项所述的结合 c-Met 的抗体，其中，所述的单可变结构域是骆驼科动物的或人源化的。

实施方案60. 根据实施方案 55-59 中任一项所述的结合 c-Met 的抗体，其中，所述结合 c-Met 的抗体包含与 SEQ ID NO: 44、45、43、46、47、48、49、50、51、53、55、57 或 59 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列。

为清楚起见，进一步用实施例来阐述本公开，但是实施例并非限制本公开的范围。本公开所使用的试剂通常是市售的，无需进一步纯化即可使用。实施例中采用的 Amivantamab 来自 Janssen 公司，NDC 号为 57894-501-01。

实施例 1：抗人 c-Met V_HH 噬菌体展示文库构建

将重组人 c-Met-Fc 融合蛋白（SinoBiological，目录号 10692-H02H）与完全弗氏佐剂按照体积比 1:1 混合乳化，对双峰驼进行首次皮下多点注射免疫；之后每间隔 2 周，将重组人 c-Met-Fc 融合蛋白与不完全弗氏佐剂按照体积比 1:1 混合乳化后进行加强免疫。在第 4 或第 5 次免疫之后取血清检测抗人 c-Met 抗体的滴度。在多轮免疫后取双峰驼外周血，分离外周血单个核细胞（PBMC）。提取 PBMC 的总 RNA 后逆转为 cDNA，使用巢式 PCR 法扩增骆驼抗体的可变区（V_HH）序列。

将扩增得到的 V_HH 编码片段经 PstI/NotI 内切酶酶切后，插入噬菌粒载体 pMECS（NTCC 质粒载体菌种细胞基因保藏中心，目录号 No. pMECS）中，构建成重组载体，并电转入大肠杆菌 TG1（Lucigen，目录

号 No. 60502-1）中，构建得到文库原种。将文库原种扩增到对数生长期，加入 M13KO7 辅助噬菌体（New England Biolabs，目录号 No. N0315S）进行文库扩增，28℃、200 rpm 振摇过夜。将菌液离心取上清，加入上清 1/4 体积的 PEG6000/NaCl 溶液（20% PEG6000（w/v），2.5 M NaCl），冰上孵育 1-2 小时沉淀噬菌体，离心收取噬菌体沉淀，用 PBS 重悬后加 20%甘油保存于-80℃作为 V_HH 噬菌体展示文库。

实施例 2：抗人 c-Met V_HH 筛选

采用固相淘选的方式对 V_HH 噬菌体展示文库进行淘选，将淘选得到的单克隆进行培养，异丙基-β-D-硫代半乳糖苷（IPTG）诱导表达制备上清。

通过针对人 c-Met-His（SinoBiological，目录号 10692-H08H）的间接 ELISA 方法对挑选的克隆进行阳性鉴定。挑选仅结合人 c-Met-His 且信号值比较高的阳性克隆进行保种并测序。筛选获得阳性克隆 1B-1B2、1B-3B11、1B-1C7、1B-1B6、1B-1A8、3B-1C7、4&5B-2F01 和 4&5C-12B04。经序列分析，1B-3B11 的 V_HH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 25 所示，1B-1B6 的 V_HH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 26 所示，1B-1C7 的 V_HH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 27 所示；1B-1A8 的 V_HH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 28 所示；1B-1B2 的 V_HH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 29 所示；3B-1C7 的 V_HH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 30 所示，4&5B-2F01 的 V_HH 氨基酸序列如 SEQ ID NO: 31 所示；4&5C-12B04 的 V_HH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 32 所示。

实施例 3：抗人 c-Met V_HH-Fc 嵌合抗体的制备

将筛选的阳性克隆的 V_HH 序列与人 Fc 区连接，构建 V_HH-Fc 嵌合抗体。具体地，将实施例 2 中测序获得的 V_HH 序列插入含有人 IgG1 Fc 区的 pcDNA3.1(+)真核表达载体中，使用 Expifectamine™ CHO Transfection Kit 瞬转表达系统（Thermo Fisher Scientific Inc.，目录号 No. A29129）表达这些 V_HH-Fc 嵌合抗体。同时，将专利申请 US20200079872A1 中 VL1016-069 和 VH1016-069 的序列分别插入含有人 IgG1 恒定区（氨基酸序列为 SEQ ID NO: 92）的 pcDNA3.1(+)真核表达载体中，使用同样的方法表达嵌合抗体 1016-069 作为对照。

经序列分析，1B-3B11-Fc 的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 43 所示，1B-1B6-Fc 的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 44 所示，1B-1C7-Fc 的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 45 所示，1B-1A8-Fc 的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 46 所示，1B-1B2-Fc 的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 47 所示，3B-1C7-Fc 的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 48 所示，嵌合抗体 4&5B-2F01-Fc 的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 49 所示，嵌合抗体 4&5C-12B04-Fc 的氨基酸序列如 SEQ ID NO: 50 所示。

实施例 4：抗人 V_HH-Fc 嵌合抗体与人、食蟹猴 c-Met 的亲和力

4.1 表面等离子共振技术测定抗体与人、食蟹猴 c-Met 的亲和力

使用生物分子相互作用分析系统（GE，Biacore T200 或 Biacore 8K）进行抗人 c-Met V_HH-Fc 嵌合抗体的亲和力检测。氨基偶联 Anti-hIgG(Fc)抗体（GE，目录号 No. BR-1008-39）至 CM5 传感芯片，使用运行缓冲液（137 mM NaCl，2.7 mM KCl，10 mM $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$，1.8 mM KH_2PO_4，0.05% surfactant P-20（w/v），pH 7.4）稀释抗人 c-Met V_HH-Fc 嵌合抗体至 1 μg/mL，30 μL/min 流速通过实验通道进行捕获。使用运行缓冲液稀释人 c-Met-His（SinoBiological，目录号 10692-H08H）或食蟹猴 c-Met-His（SinoBiological，目录号 90304-C08H）至 100 nM、50 nM、25 nM、12.5 nM、6.25 nM 和 3.125 nM，50 μL/min 流速结合，结合时间设置为 200 s，之后停止进样进行解离，解离时间设置为 600~1400 s。软件 BiaControl Software 2.0 或 Biacore 8K Control Software 3.0 实时采集数据信号，软件 BiaEvaluation Software 2.0 或 Biacore Insight Evaluation Software 3.0 数据分析，用 Langmuir 1:1 模型拟合，计算结合速率常数 k_a（1/Ms）、解离速率常数 k_d（1/s）、平衡解离常数 K_D（M）值。检测结果如表 1-1 和表 1-2 所示，1B-1B2-Fc、1B-3B11-Fc、1B-1C7-Fc、1B-1B6-Fc、1B-1A8-Fc、3B-1C7-Fc、4&5B-2F01-Fc 和 4&5C-12B04-Fc 与人 c-Met 蛋白均有较高的亲和力，且均与食蟹猴 c-Met 蛋白有交叉反应。

表 1-1. V_HH-Fc 嵌合抗体与人、食蟹猴 c-Met 的亲和力

V_HH-Fc 嵌合抗体	人 c-Met-His			食蟹猴 c-Met-His		
	k_a（1/Ms）	k_d（1/s）	K_D（M）	k_a（1/Ms）	k_d（1/s）	K_D（M）
1B-3B11-Fc	5.03E+04	6.81E-05	1.35E-09	4.35E+04	2.88E-05	6.64E-10
1B-1B2-Fc	1.41E+05	5.60E-04	3.99E-09	7.84E+04	2.15E-04	2.74E-09
1B-1C7-Fc	2.21E+05	4.43E-05	2.00E-10	2.12E+05	3.99E-05	1.88E-10
1B-1B6-Fc	8.44E+04	6.96E-04	8.25E-09	5.07E+04	3.47E-04	6.85E-09
1B-1A8-Fc	1.73E+05	1.12E-04	6.48E-10	1.30E+05	8.80E-05	6.77E-10
3B-1C7-Fc	1.76E+05	5.56E-05	3.17E-10	2.89E+05	7.35E-05	2.54E-10

表 1-2. V_HH-Fc 嵌合抗体与人、食蟹猴 c-Met 的亲和力

V_HH-Fc 嵌合抗体	人 c-Met-His			食蟹猴 c-Met-His		
	k_a（1/Ms）	k_d（1/s）	K_D（M）	k_a（1/Ms）	k_d（1/s）	K_D（M）
4&5B-2F01-Fc	9.51E+04	6.44E-05	6.76E-10	5.21E+04	5.44E-04	1.04E-08
4&5C-12B04-Fc	1.74E+05	8.96E-05	5.16E-10	1.45E+05	7.22E-05	4.98E-10
1016-069	2.83E+05	2.52E-04	8.91E-10	4.30E+05	1.97E-04	4.59E-10

4.2 流式细胞术测定抗体与细胞的结合

采用流式细胞术检测抗人 c-Met V_HH-Fc 嵌合抗体与不同 c-Met 表达水平的靶细胞的结合，其中 NCI-H1993 细胞（北纳生物，目录号 BNCC342186）为 c-Met 高表达水平的人肺腺癌细胞系，MKN45 细胞（南京科佰生物科技有限公司，目录号 CBP60541）为 c-Met 中等表达水平的人胃癌细胞系，KP4 细胞（南京科佰生物科技有限公司，目录号 CBP60541）为 c-Met 低表达水平的人胰腺癌细胞系，NCI-H1975 细胞（北纳生物，目录号 BNCC100690）为 c-Met 中低表达水平的人非小细胞肺腺癌细胞系，NCI-H292 细胞（北纳生物，目录号 BNCC100671）为 c-Met 中低表达水平的人表皮肺癌细胞系。用梯度稀释（初始浓度 100 nM，5 倍梯度稀释，7 个浓度）的抗人 c-Met V_HH-Fc 嵌合抗体孵育 2×10^5 个靶细胞，冰上孵育 1 小时后清洗细胞，加 PE 标记的抗人 IgG Fc 抗体（Jackson Immuno Research，目录号 No. 109-116-170），冰上孵育 0.5 小时，清洗细胞后使用流式细胞仪（Thermo Fisher Scientific Inc.，Attune NXT）检测。结果如图 1A-1G、表 2-1 和表 2-2 所示，1B-1B2-Fc、1B-3B11-Fc、1B-1C7-Fc、1B-1B6-Fc、1B-1A8-Fc、3B-1C7-Fc、4&5B-2F01-Fc 和 4&5C-12B04-Fc 与不同 c-Met 表达水平的靶细胞均有较高的结合能力，4&5B-2F01-Fc 和 4&5C-12B04-Fc 优于对照 1016-069。

表 2-1. 抗人 c-Met V_HH-Fc 嵌合抗体与靶细胞的结合

V_HH-Fc 嵌合抗体	NCI-H1993 细胞	MKN45 细胞	KP4 细胞
	EC_{50}（nM）	EC_{50}（nM）	EC_{50}（nM）
1B-3B11-Fc	1.333	1.615	1.049
1B-1B2-Fc	0.910	1.034	0.526
1B-1C7-Fc	0.407	0.421	0.019
1B-1B6-Fc	0.854	1.056	0.471
1B-1A8-Fc	0.477	0.345	0.143
3B-1C7-Fc	1.352	0.592	0.375

表 2-2. 抗人 c-Met V_HH-Fc 嵌合抗体与靶细胞的结合

V_HH-Fc 嵌合抗体	NCI-H1993 细胞 EC_{50}（nM）	MKN45 细胞 EC_{50}（nM）	NCI-H1975 细胞 EC_{50}（nM）	NCI-H292 细胞 EC_{50}（nM）
4&5B-2F01-Fc	0.924	0.988	0.166	0.292
4&5C-12B04-Fc	0.574	0.809	0.144	0.236
1016-069	1.217	3.950	0.185	0.550

实施例 5：抗人 c-Met V_HH 不同克隆间的表位差异分析

使用生物分子相互作用系统（Fortebio，目录号 Octet RED96）进行表位竞争关系分析。使用 Anti-Penta-HIS（HIS1K）传感器（Fortebio，目录号 No. 18-5120），使用运行缓冲液稀释 c-Met-His 蛋白（SinoBiological，目录号 10692-H08H）至 5 μg/mL 左右，将传感器浸入稀释后的抗原样品中，通过调整结合时间将固化高

度控制在 1 nm 左右。然后依次与第一个抗体 A 和第二个抗体 B 相互作用，检测 B 抗体结合信号以判定两个抗体是否识别同一表位。结果如表 3-1、表 3-2 和表 3-3 所示，判定标准为：数值>60%表示 2 个抗体完全不竞争；数值在 20%-60%之间表示 2 个抗体部分竞争（可能表位有交叉）；数值<20%表示 2 个抗体完全竞争。自反应信号（加下划线部分）<20%，判定数据有效。

从表 3-1 中数据可得出，1B-3B11-Fc 与 1B-1A8-Fc 两个抗体完全竞争；1B-3B11-Fc 和 1B-1A8-Fc 与其他三个候选抗体之间没有明显的竞争关系，分别属于不同的表位。因此，抗体 1B-3B11-Fc 和 1B-1B2-Fc、1B-3B11-Fc 和 1B-1C7-Fc、1B-3B11-Fc 和 1B-1B6-Fc、1B-1A8-Fc 和 1B-1B2-Fc、1B-1A8-Fc 和 1B-1C7-Fc、1B-1A8-Fc 和 1B-1B6-Fc、1B-1B2-Fc 和 1B-1C7-Fc、1B-1B2-Fc 和 1B-1B6-Fc、1B-1C7-Fc 和 1B-1B6-Fc 可同时结合 c-Met 抗原的不同表位。从表 3-2 中数据可得出，3B-1C7-Fc 与 1B-1B2-Fc 两个抗体完全竞争。因此，结合表 3-1 数据结果，可得出：抗体 1B-1A8-Fc 和 3B-1C7-Fc、3B-1C7-Fc 和 1B-1C7-Fc、3B-1C7-Fc 和 1B-1B6-Fc 可同时结合 c-Met 抗原的不同表位。

从表 3-3 中数据可得出，4&5B-2F01-Fc 和 4&5C-12B04-Fc 与 1016-069 完全竞争。

表 3-1. 表位差异分析

AB#	1B-3B11-Fc	1B-1B2-Fc	1B-1C7-Fc	1B-1B6-Fc	1B-1A8-Fc
1B-3B11-Fc	9.83%	132.28%	118.99%	126.72%	8.16%
1B-1B2-Fc	120.47%	7.44%	120.97%	122.01%	117.16%
1B-1C7-Fc	91.78%	87.01%	0.00%	97.85%	91.06%
1B-1B6-Fc	125.54%	119.93%	118.44%	13.35%	125.90%
1B-1A8-Fc	20.31%	122.78%	116.44%	122.38%	17.76%

表 3-2. 表位差异分析

AB#	1B-3B11-Fc	1B-1B2-Fc	1B-1C7-Fc	1B-1B6-Fc	3B-1C7-Fc
1B-3B11-Fc	8.85%	100.96%	94.39%	136.09%	135.70%
1B-1B2-Fc	126.48%	0.12%	91.08%	120.10%	7.11%
1B-1C7-Fc	126.48%	95.31%	7.51%	126.45%	122.76%
1B-1B6-Fc	133.73%	122.60%	121.83%	5.41%	117.22%
3B-1C7-Fc	137.10%	12.03%	141.34%	161.78%	13.40%

表 3-3. 表位差异分析

AB#	4&5B-2F01-Fc	4&5C-12B04-Fc	1016-069
4&5B-2F01-Fc	-4.7%	-3.6%	0.8%
4&5C-12B04-Fc	4.4%	-1.0%	3.0%
1016-069	-1.9%	1.5%	1.2%

实施例 6：抗人 c-Met V_HH-Fc 人源化抗体的构建、表达、纯化和亲和力检测

分别对抗人 c-Met V_HH-Fc 嵌合抗体 1B-1B6-Fc、1B-1C7-Fc 和 4&5C-12B04-Fc 进行人源化改造。将人源化的 V_HH 序列插入含有人 IgG1 恒定区的 pcDNA3.1(+)真核表达载体中，使用 Expifectamine™ CHO Transfection Kit 瞬转表达系统（Thermo Fisher Scientific Inc.，目录号 No. A29129）表达这些 V_HH-Fc 人源化抗体。其中，对嵌合抗体 1B-1B6-Fc 进行人源化改造后获得三种人源化抗体，分别为 1B-1B6-V1、1B-1B6-V2 和 1B-1B6-V3，全长氨基酸序列分别如 SEQ ID NO: 51、53 和 55 所示，全长核苷酸序列分别如 SEQ ID NO: 52、54 和 56 所示；对嵌合抗体 1B-1C7-Fc 进行人源化改造后获得两种人源化抗体，分别为 1B-1C7-V1 和 1B-1C7-V2，全长氨基酸序列分别如 SEQ ID NO: 57 和 59 所示，全长核苷酸序列分别如 SEQ ID NO: 58 和 60 所示；对嵌合抗体 4&5C-12B04-Fc 进行人源化改造后获得两种人源化 V_HH，分别为 12B04-V1 和 12B04-V2，氨基酸序列分别如 SEQ ID NO: 38 和 39 所示。

采用表面等离子共振技术，使用生物分子相互作用分析系统（GE，Biacore 8K）检测得到的人源化抗体和嵌合抗体与人 c-Met 蛋白的亲和力。氨基偶联 Anti-hIgG(Fc)抗体（GE，目录号 No. BR-1008-39）至 CM5 传感芯片，使用运行缓冲液（137 mM NaCl，2.7 mM KCl，10 mM $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$，1.8 mM KH_2PO_4，0.05% surfactant P-20（w/v），pH 7.4）稀释抗人 c-Met V_HH-Fc 嵌合抗体至 2 μg/mL，30 μL/min 流速通过实验通道进行捕获 90 s。使用运行缓冲液稀释人 c-Met-His 蛋白（SinoBiological，目录号 10692-H08H）至 100

nM、50 nM、25 nM、12.5 nM、6.25 nM 和 3.125 nM，50 μL/min 流速结合，观察结合信号曲线。

人源化抗体（1B-1B6-V1、1B-1B6-V2、1B-1B6-V3、1B-1C7-V1 和 1B-1C7-V2），以及嵌合抗体（1B-1B6-Fc 和 1B-1C7-Fc）与人 c-Met 蛋白的亲和力数据如表 4 所示。

表 4. 抗人 c-Met V_HH-Fc 嵌合抗体及人源化抗体与人 c-Met-His 的结合亲和力

	k_a（1/Ms）	k_d（1/s）	K_D（M）
1B-1C7-Fc	1.39E+05	3.11E-05	2.24E-10
1B-1C7-V1	3.68E+05	1.30E-02	3.54E-08
1B-1C7-V2	3.36E+05	1.52E-03	4.51E-09
1B-1B6-Fc	6.72E+04	7.91E-04	1.18E-08
1B-1B6-V1	4.83E+05	1.11E-02	2.31E-08
1B-1B6-V2	1.18E+05	2.05E-03	1.74E-08
1B-1B6-V3	1.11E+05	2.03E-03	1.82E-08

经检测 1B-1B6-Fc 及其人源化抗体、1B-1C7-Fc 及其人源化抗体均可特异性结合 c-Met-His 蛋白。

实施例 7：抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体的构建、表达、纯化

抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体采用 2 个靶向 c-Met 的人源化 V_HH 串联。多特异性抗体的 Fc 域的改造：knob-into-hole（根据 EU 编号，其中一个 Fc 多肽采用 Y349C、T366S、L368A、Y407V 突变；另一个 Fc 多肽采用 S354C、T366W 突变），Fc 域的其中一个 Fc 多肽还含有不结合蛋白 A 的突变（根据 EU 编号，H435R 和 Y436F；或 H435R）。

按照图 2 所示的构型构建抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体，分别命名为 V12、V41、V35、V42、V67、V73 和 V74，其中第二抗原结合模块为 Fab 形式的结合 EGFR 的抗原结合结构域。具体地，抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体具有三条多肽链，其中一条多肽链（命名为 anti-c-Met-V_HH-Fc）包含两个串联的结合 c-Met 的抗原结合结构域（来源于 1B-1B6-Fc、1B-1C7-Fc 和 4&5C-12B04-Fc 嵌合抗体及其人源化抗体，如表 5 所示），V12、V41、V35、V42、V67、V73 和 V74 的这条多肽链的氨基酸序列分别如 SEQ ID NO: 71、73、75、77、79、81 和 83 所示，核苷酸序列分别如 SEQ ID NO: 72、74、76、78、80、82 和 84 所示；另外两条多肽链形成包含 Fab 形式的结合 EGFR 的抗原结合结构域（结合 EGFR 的可变区序列来源于专利文件 CN100497389C），其中一条多肽链命名为 anti-EGFR-HC-Fc（氨基酸序列如 SEQ ID NO: 85 所示，核苷酸序列如 SEQ ID NO: 86 所示），另一条多肽链命名为 anti-EGFR-LC（氨基酸序列如 SEQ ID NO: 87 所示，核苷酸序列如 SEQ ID NO: 88 所示）。将编码 anti-c-Met-V_HH-Fc、anti-EGFR-HC-Fc、anti-EGFR-LC 的核苷酸序列分别插入 pcDNA3.1(+)真核表达载体中，获得表达相应多肽链的表达载体。通过 CHOgro®高产表达系统（货号：MIR 6270）将上述表达载体按载体 anti-c-Met-V_HH-Fc:载体 anti-EGFR-HC-Fc:载体 anti-EGFR-LC = 1.5:1:1.5 的转染比率共转染到敲除 FUT8 基因的 CHO-S 细胞（命名为 CHO $FUT8^{-/-}$细胞）中，转染的细胞密度为 4×10^6 个/mL。连续培养至转染后第 10 天离心收集细胞培养上清。采用 ÄKTA pure 蛋白纯化系统（GE Healthcare），经蛋白 A 亲和层析、CHT 层析和凝胶层析进行蛋白纯化。通过 UV-Vis 分光光度计（NanoDrop One C，Thermo Scientific）测量蛋白浓度。经电泳（还原性 SDS-PAGE）检测、分子量（TOF MS）、序列检测分析，确认获得预期结构和序列的上述多特异性抗体。

表 5. 抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体中的结合 c-Met 的抗原结合结构域的组成来源

名称	第三抗原结合模块	第一抗原结合模块
V12	1B-1B6	1B-1C7
V41	1B-1B6-V1	1B-1C7-V1
V35	1B-1B6-V2	1B-1C7-V1
V42	1B-1B6-V3	1B-1C7-V1
V67	4&5C-12B04	1B-1C7-V1
V73	12B04-V1	1B-1C7-V1
V74	12B04-V2	1B-1C7-V1

实施例 8：抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体与人 c-Met 的亲和力

参照实施例 6 中的方法，采用表面等离子共振技术检测嵌合多特异性抗体 V12、V67，和人源化多特异性抗体 V35、V41、V42、V73、V74 与人 c-Met 蛋白的结合情况。经检测，如表 6 所示，所有抗体均可特异性结合人 c-Met-His 蛋白，且人源化多特异性抗体的亲和力与嵌合多特异性抗体相当。

表 6. 抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体与人 c-Met-His 的结合亲和力

	k_a（1/Ms）	k_d（1/s）	K_D（M）
V12	1.42E+05	4.62E-05	3.25E-10
V41	9.70E+04	3.57E-05	3.68E-10
V35	1.05E+05	3.34E-05	3.18E-10
V42	1.00E+05	4.39E-05	4.38E-10
V67	2.54E+05	7.01E-05	2.76E-10
V73	1.97E+05	9.03E-05	4.58E-10
V74	2.34E+05	1.28E-04	5.48E-10

实施例 9：抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体与表达 EGFR 和 c-Met 的肿瘤细胞的结合

通过流式细胞术分析抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体（包括：Amivantamab、V42、V73）与表达 EGFR 和 c-Met 的 A431 细胞（EGFR 高表达、c-Met 低表达，来源：上海细胞所）、NCI-H1975 细胞（EGFR 中表达、c-Met 中低表达，来源：北纳生物）和 NCI-H1993 细胞（EGFR 中表达、c-Met 高表达，来源：北纳生物）的结合，阴性对照为 hIgG1（百英生物，目录号 B117901）。

取对数生长期的 A431 细胞、NCI-H1975 细胞和 NCI-H1993 细胞分别使用含 2%胎牛血清的 RPMI 培养基（Hyclon，目录号 SH30809.01）调整活细胞密度至 $5\times10^6\sim1\times10^7$ 个/mL，50 μL/孔接种于 96 孔 U 型细胞培养板（Costar，目录号 3799）。使用上述培养基配制不同浓度的抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体，最高浓度为 500 nM，5 倍梯度稀释、共 10 个浓度梯度。将不同浓度的抗体加入上述 96 孔细胞培养板中，50 μL/孔，混匀后 4℃孵育 1 小时。加入预冷的 Running buffer（MACS，目录号 130-091-221）洗涤细胞后弃上清，加入预冷的荧光标记羊抗人 IgG 抗体（Jackson，目录号 109-116-170），100 μL/孔重悬，混匀后 4℃孵育 30 分钟。洗涤后加入预冷的 Running buffer 40μL/孔重悬细胞，混匀后在 iQue3 流式细胞仪器上进行流动采集，并使用软件进行数据分析。

表 7 和图 3A-3C 显示抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体对 A431 细胞、NCI-H1975 细胞和 NCI-H1993 细胞的结合能力。结果显示 V42 和 V73 对三株细胞的结合能力与 Amivantamab 基本相当。

表 7. 抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体对肿瘤细胞表面 EGFR 和 c-Met 的结合 EC_{50} 值和最大结合量

	A431		NCI-H1975		NCI-H1993	
	EC_{50}（nM）	Top（MFI）	EC_{50}（nM）	Top（MFI）	EC_{50}（nM）	Top（MFI）
V42	1.852	4423651	0.755	600865	1.029	557298
V73	1.905	4467149	0.7941	554727	1.018	520132
Amivantamab	1.62	4461530	0.3776	550125	0.5957	518725
阴性对照	/	168103	/	38741	/	31204

“/”表示曲线无法拟合出数值。

实施例 10：抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体对 HGF 刺激的 c-Met 磷酸化及下游信号通路的抑制

通过 Western Bloting 分析抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体（包括：Amivantamab、V42、V73）对 HGF 刺激引起的 c-Met 磷酸化及下游信号通路的抑制，阴性对照为 hIgG1（百英生物，目录号 B117901）。

分别将 HGF-α（氨基酸序列如 SEQ ID NO: 61 所示）和 HGF-β（氨基酸序列如 SEQ ID NO: 62 所示）的编码序列插入 pcDNA3.1(+)真核表达载体中，使用 Expifectamine™ CHO Transfection Kit 瞬转表达系统（Thermo Fisher Scientific Inc.，目录号 No. A29129）表达并使用 Ni Sepharose excel 镍柱（GE，目录号 17-3712-01）进行纯化，得到 HGF。

取对数生长期细胞 A549（EGFR 中表达、c-Met 中表达，非小细胞肺癌，来源：中国医学科学院基础医学研究所基础医学细胞中心），计数后用含 10%胎牛血清的 RPMI 培养基（Hyclon，目录号 SH30809.01）调整活细胞密度至 4×10^5 个/mL，2 mL/孔加入 6 孔细胞培养板，放入 37℃、5% CO_2 细胞培养箱中培养 6

小时后弃去培养基，加入 1 mL/孔 RPMI 培养基，饥饿过夜。取出过夜饥饿的 6 孔细胞培养板，弃去原有培养基，加入终浓度为 100 nM 的抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体，或同时加入终浓度为 100 ng/mL 的 HGF 和终浓度为 100 nM 的抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体，放入 37°C、5% CO_2 细胞培养箱中培养 15 分钟。将细胞培养板置于冰上，用预冷的 PBS 洗涤后，加入含蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂的裂解液裂解 30 分钟，收集蛋白并用 BCA 法定量，Western Bloting 检测 c-Met 磷酸化及下游信号通路。

图 4 显示抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体对 c-Met 磷酸化及下游信号通路的抑制效果。结果显示，V42 和 V73 对 HGF 刺激的 c-Met 磷酸化及下游信号通路的抑制效果与 Amivantamab（图 4 中的 BM）相当。

实施例 11：抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体对 EGF 刺激的 EGFR 磷酸化及下游信号通路的抑制

通过 Western Bloting 分析抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体（包括：Amivantamab、V42、V73）对 EGF 刺激引起的 EGFR 磷酸化及下游信号通路的抑制，阴性对照为 hIgG1（百英生物，目录号 B117901）。

取对数生长期细胞 A549，计数后用完全培养基调整活细胞密度至 4×10^5 个/mL，2 mL/孔加入 6 孔细胞培养板，放入 37°C、5% CO_2 细胞培养箱中培养 6 小时后弃去完全培养基，加入 1 mL/孔 RPMI 培养基（Hyclon，目录号 SH30809.01），饥饿过夜。取出过夜饥饿的 6 孔细胞培养板，弃去原有培养基，加入终浓度为 200 nM 的抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体，或同时加入终浓度为 40 ng/mL 的 EGF（R&D，目录号 236-EG）和终浓度为 200 nM 的抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体，放入 37°C、5% CO_2 细胞培养箱中培养 15 分钟。将细胞培养板置于冰上，用预冷的 PBS 洗涤后，加入含蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂的裂解液裂解 30 分钟，收集蛋白并用 BCA 法定量，Western Bloting 检测 EGFR 磷酸化及下游信号通路。

图 5 显示抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体对 EGFR 磷酸化及下游信号通路的抑制效果。结果显示，V42 和 V73 对 EGF 刺激的 EGFR 磷酸化及下游信号通路的抑制效果与 Amivantamab（图 5 中的 BM）相当。

实施例 12：抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体与 HGF 配体竞争结合 c-Met 的活性

通过 ELISA 分析抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体（包括：Amivantamab、V42、V73）与 HGF 配体竞争结合 c-Met 的活性，阴性对照为 hIgG1（百英生物，目录号 B117901）。

称取生物素 2.0 mg（Thermo，目录号 20217），加入 590 μL DMSO（sigma，货号 D2650），溶解混匀。按每 100 μL HGF 蛋白（参照实施例 10 制备，浓度为 2 mg/mL）加入 2.7 μL 生物素溶液的比例加入生物素溶液并混合，室温孵育 40 min，制备得到生物素标记的 HGF。取出 4°C孵育过夜的包被有 c-Met-His 的高吸附 96 孔板（Corning，目录号 9018），甩去板内溶液，PBST 洗板 3 次，3% BSA 室温封闭 2 小时后 PBST 洗板 3 次，加入生物素标记的 HGF 与抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体等体积混合液（抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体终浓度为 100 nM、HGF 蛋白终浓度为 50 ng/mL、10 ng/mL、或 1 ng/mL）室温孵育 2 小时。PBST 洗板 3 次，加入 HRP-Avidin 抗体（Invitrogen，目录号 18-4100-51）室温孵育 1 小时。PBST 洗板 5 次，加入 TMB（Thermo，00-4201-56）室温避光孵育 10 分钟，加入 1 M 硫酸终止液，室温放置 5 分钟，酶标仪以 630 nm 为参比波长，读取波长 450 nm 下的吸光度值。

图 6A-6C 显示抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体与 HGF 配体竞争结合 c-Met 的活性。结果显示 V42 和 V73 与 HGF 配体竞争结合 c-Met 的活性与 Amivantamab 基本相当。

实施例 13：抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体对肿瘤细胞的增殖抑制活性

通过酶标仪分析抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体（包括：Amivantamab、V42、V73）对肿瘤细胞的增殖抑制活性，阴性对照为 hIgG1（百英生物，目录号 B117901）。

取对数生长期细胞 NCI-H292（EGFR 中表达、c-Met 中低表达，来源：北纳生物）和 KP4（EGFR 中表达、c-Met 低表达，来源：科佰生物），用含 2%胎牛血清的 RPMI 培养基（Hyclon，目录号 SH30809.01）调整活细胞密度至 $1.5 \times 10^4 \sim 2 \times 10^4$ 个/mL，以 100 μL/孔加入 96 孔板（Costar，目录号 3599）。使用 RPMI 培养基配制抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体，对于 NCI-H292 细胞最高浓度为 2500 nM，5 倍梯度稀释、共 10 个浓度梯度，对于 KP4 最高浓度为 555 nM，3 倍梯度稀释、共 8 个浓度梯度。将不同浓度的抗体加入上述 96 孔细胞培养板中，100 μL 孔，37°C、5% CO_2 恒温培养箱中，对于 NCI-H292，培养基中加入 50 μL

终浓度为 1 ng/mL 的 HGF，培养 144 小时；对于 KP4，培养 120 小时。将 CCK8 工作液以 20 μL/孔加入细胞培养板中，37℃、5% CO_2 恒温培养箱中培养 2 小时。酶标仪以 630 nm 为参比波长，读取波长 450 nm 下的吸光度值。

图 7A-7B 和表 8 显示抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体对肿瘤细胞的增殖抑制活性。结果显示，NCI-H292 细胞和 KP4 细胞中，V73 和 V42 对肿瘤细胞的增殖抑制活性优于 Amivantamab。

表 8. 各抗体对 NCI-H292 和 KP4 细胞增殖抑制的 IC_{50} 值

	NCI-H292	KP4
	IC_{50}（nM）	IC_{50}（nM）
V42	13.72	13.09
V73	5.356	7.985
Amivantamab	45.78	28.96

实施例 14：抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体对肿瘤细胞的 ADCC 作用

通过人 PBMC（外周血单个核细胞）细胞来研究抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体（包括：Amivantamab、V42、V73）对肿瘤细胞的抗体依赖细胞介导的细胞毒（ADCC）作用，阴性对照为 hIgG1（百英生物，目录号 B117901）。

取对数生长期细胞 NCI-H292 和 KP4，用含 2%胎牛血清的 RPMI 培养基（Hyclon，目录号 SH30809.01）调整活细胞密度至 3×10^5 个/mL，作为靶细胞。用 RPMI 培养基配制抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体，使最高浓度为 8 nM～200 nM，5 倍梯度稀释、共 8~10 个浓度梯度。取 PBMC 细胞复苏后计数，用 RPMI 培养基调整 PBMC 活细胞密度至 1.5×10^6 个/mL，作为效应细胞。设置给药组（靶细胞 50 μL+效应细胞 100 μL +抗体 50 μL），靶细胞组（靶细胞 50 μL +培养基 150 μL），效应细胞组（效应细胞 100 μL +培养基 100 μL），靶细胞+效应细胞组（靶细胞 50 μL +效应细胞 100 μL +培养基 50 μL），空白对照组（培养基 200 μL），裂解液对照组（培养基 200 μL +裂解液 20 μL）和靶细胞最大释放组（靶细胞 50 μL +培养基 150 μL +裂解液 20 μL），加入 96 孔板（Costar，目录号 3599），使效靶比为 10:1。37℃、5% CO_2 恒温培养箱中培养 24 小时。使用 CytoTox96®非放射性细胞毒性检测试剂盒（Promega，目录号 G1780）检测。最后于酶标仪中检测 490 nm 波长处的吸光度值。

$$细胞裂解率(\%) = \frac{OD_{给药组} - OD_{靶细胞+效应细胞组}}{OD_{靶细胞最大释放组} - OD_{靶细胞组}} \times 100\%$$

图 8A-8B 和表 9 显示抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体对肿瘤细胞的 ADCC 作用。

表 9. 各抗体对 NCI-H292 和 KP4 细胞的裂解 EC_{50} 值和最大裂解率

	NCI-H292		KP4	
	EC_{50}（nM）	最大裂解率	EC_{50}（nM）	最大裂解率
V42	0.01346	30%	0.01166	11%
V73	0.01813	31%	0.02699	11%
Amivantamab	0.02105	33%	0.01708	13%

实施例 15：抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体对肿瘤细胞的内吞活性

通过流式细胞术分析抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体（包括：Amivantamab、V42、V73）对表达 EGFR 和 c-Met 的 A431 细胞、NCI-H1975 细胞和 NCI-H441 细胞（EGFR 中表达、c-Met 中表达，来源：北纳生物）的内吞活性，阴性对照为 hIgG1（百英生物，目录号 B117901）。

取对数生长期的 A431 细胞、NCI-H1975 细胞和 NCI-H441 细胞，分别使用完全培养基调整活细胞密度至 2×10^6 个/mL，20 μL/孔接种于 96 孔 V 型细胞培养板（Costar，目录号 3894）。按照 Antibody Internalization Human Reagent（Sartorius，目录号 90564）说明书配制抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体与 Antibody Internalization Human Reagent 复合物，使抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体的终浓度为 100~167 nM，37℃孵育 15 分钟。其后按 5 倍稀释，共 10 个浓度梯度。将复合物溶液加入细胞培养板，20 μL/孔，混匀后置于

37℃、5% CO_2 恒温培养箱中培养 2 小时。iQue3 流式细胞仪 RL1 通道检测荧光值的变化，并使用软件进行数据分析。

图 9A-9C 和表 10 显示抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体对 A431 细胞、NCI-H1975 细胞和 NCI-H441 细胞的内吞活性。

表 10. 抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体对 A431 细胞、NCI-H1975 细胞和 NCI-H441 细胞的内吞活性

	NCI-H441		A431		NCI-H1975	
	EC_{50}（nM）	Top（MFI）	EC_{50}（nM）	Top（MFI）	EC_{50}（nM）	Top（MFI）
V42	11.81	629221	10.54	2797694	9.662	1356725
V73	16.72	638113.5	8.333	2745828	12.43	1376844
Amivantamab	35.63	815804	15.06	2799466.5	15.16	1290047
阴性对照	/	97506	/	117841.5	/	110471

实施例 16：抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体在 U-87 MG 人神经胶质瘤裸小鼠皮下移植瘤模型中的药效学评价

SPF 级雌性 BALB/c-nu 裸小鼠（购自北京华阜康生物科技股份有限公司）皮下接种 U-87 MG 细胞（ATCC HTB-14™），待肿瘤长到 100-150 mm^3 后，将小鼠分为模型组（生理盐水）、V42 组、V73 组，每组 8 只。

第一次给药当天为第 0 天（D0），静脉注射（i.v.）药物（0.25 mg/kg 或 0.75 mg/kg），每周 2 次，共给药 6 次，注射体积 0.1 mL/10 g 小鼠体重。每周二次用游标卡尺测量肿瘤。根据肿瘤生长抑制率（TGI）进行疗效评价。

检测指标计算公式如下：

肿瘤体积（mm^3）= 1/2 × (a × b^2)，其中 a 表示肿瘤长径，b 表示肿瘤短径。

相对肿瘤增殖率 T/C（%）= $(T-T_0)/(C-C_0)$ × 100%，

TGI（%）=100% - T/C；其中 T 和 C 分别为实验结束时治疗组和模型组的肿瘤体积；T_0 和 C_0 分别为实验开始时治疗组和模型组的肿瘤体积。

如果肿瘤比实验开始时的肿瘤体积小，即 $T < T_0$ 或 $C < C_0$ 时，即定义为肿瘤部分消退（PR），当肿瘤出现消退时，TGI（%）=100 - $(T- T_0)/T_0$×100%。

检测指标的结果如表 11 所示。在 U-87 MG 人神经胶质瘤裸小鼠皮下移植瘤模型中，V42 和 V73 均有显著的抑瘤作用。

表 11. 抗 EGFR/抗 c-Met 多特异性抗体对 U-87 MG 人神经胶质瘤裸小鼠皮下移植瘤的影响

组别	D0 肿瘤体积（mm^3）（Mean±SEM）	D20 肿瘤体积（mm^3）（Mean±SEM）	D20 T/C	D20 TGI	P 值
模型组	115.4±1.7	2014±234.4	-	-	-
V42 组（0.25 mg/kg）	115.7±1.5	1352.6±228.4	65%	35%	0.062
V42 组（0.75 mg/kg）	115.8±1.4	210.9±38.4	5%	95%	＜0.001
V73 组（0.25 mg/kg）	116.1±1.5	1774.3±134.4	87%	13%	0.388
V73 组（0.75 mg/kg）	116.6±1.2	207.7±69	5%	95%	＜0.001

P 值为与模型组比较。

本公开的序列信息总结于下表 S4 中。

表 S4. 序列信息

描述 序列（SEQ ID NO:）
1B-3B11 的 CDR1 SVA（SEQ ID NO: 1）
1B-3B11 的 CDR2

VINPGGDNTDYTYAVKG（SEQ ID NO: 2）
1B-3B11 的 CDR3 GRTFGGTWMDRNKWKY（SEQ ID NO: 3）
1B-1B6、1B-1B6-V1、1B-1B6-V2 和 1B-1B6-V3 的 CDR1 SGCMG（SEQ ID NO: 4）
1B-1B6、1B-1B6-V1、1B-1B6-V2 和 1B-1B6-V3 的 CDR2 TIYTRNDFTYYSDX$_1$VKG（SEQ ID NO: 5，X$_1$ 选自 S 或 T）
1B-1B6、1B-1B6-V1、1B-1B6-V2 的 CDR2 TIYTRNDFTYYSDX$_1$VKG（SEQ ID NO: 5，X$_1$ 为 S），即 TIYTRNDFTYYSDSVKG
1B-1B6-V3 的 CDR2 TIYTRNDFTYYSDX$_1$VKG（SEQ ID NO: 5，X$_1$ 为 T），即 TIYTRNDFTYYSDTVKG
1B-1B6、1B-1B6-V1、1B-1B6-V2 和 1B-1B6-V3 的 CDR3 GSPFRYAGAWNVCGLKEEDYNY（SEQ ID NO: 6）
1B-1C7、1B-1C7-V1 和 1B-1C7-V2 的 CDR1 ANCVG（SEQ ID NO: 7）
1B-1C7、1B-1C7-V1 和 1B-1C7-V2 的 CDR2 AINTGGETATYADFVKG（SEQ ID NO: 8）
1B-1C7、1B-1C7-V1 和 1B-1C7-V2 的 CDR3 VGTRKYWDECSLSQHAYKN（SEQ ID NO: 9）
1B-1A8 的 CDR1 SYAMD（SEQ ID NO: 10）
1B-1A8 的 CDR2 GINSAGSPSYEASVKG（SEQ ID NO: 11）
1B-1A8 的 CDR3 CRDFRSPYCR（SEQ ID NO: 12）
1B-1B2 的 CDR1 MG（SEQ ID NO: 13）
1B-1B2 的 CDR2 SISSDGNSDYLDSVKG（SEQ ID NO: 14）
1B-1B2 的 CDR3 NGAGHLVLRPLCGSNAVDA（SEQ ID NO: 15）
3B-1C7 的 CDR1 GTTMG（SEQ ID NO: 16）
3B-1C7 的 CDR2 DISSDGNTYYSDSVKG（SEQ ID NO: 17）
3B-1C7 的 CDR3 AEFRLLLRPLCRQDDYGY（SEQ ID NO: 18）
4&5B-2F01 的 CDR1 YKYLA（SEQ ID NO: 19）
4&5B-2F01 的 CDR2 GLNTGGGSAYYADSVKG（SEQ ID NO: 20）
4&5B-2F01 的 CDR3 RRDYIHMTNIQALGLRPQWFSD（SEQ ID NO: 21）
4&5C-12B04、12B04-V1 和 12B04-V2 的 CDR1 SNFMA（SEQ ID NO: 22）
4&5C-12B04、12B04-V1 和 12B04-V2 的 CDR2 TITTGAGNTAYADSVKG（SEQ ID NO: 23）
4&5C-12B04、12B04-V1 和 12B04-V2 的 CDR3 GRGGFWRPAEYDF（SEQ ID NO: 24）
1B-3B11 的 V_HH

QVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCVVSGYTYSSVAWFRQTPGKEREGVAVINPGGDNTDYTYAVKGR FTISRDSAKSTVFLQMNNLESEDTAMYYCAAGRTFGGTWMDRNKWKYWGQGTLVTVSS（SEQ ID NO: 25）
1B-1B6 的 V_HH QVQLVESGGDSVQAGGSLRLSCAASAHAYSSGCMGWFRQAPGKGREGVATIYTRNDFTYYSDSVK GRFTISRDDAKNTVYLQVNSLKAEDTAMYYCAAGSPFRYAGAWNVCGLKEEDYNYWGQGTLVT VSS（SEQ ID NO: 26）
1B-1C7 的 V_HH QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSYSANCVGWFYQAPGKEREGVAAINTGGETATYADFVK GRFTISQDYAKNTVYLQMNSLKSEDTGMYYCAAVGTRKYWDECSLSQHAYKNWGQGTLVTVSS （SEQ ID NO: 27）
1B-1A8 的 V_HH EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFKSYAMDWVRQAPGKGLEWIAGINSAGSPSYEASVKG RFTISRDNAENTLYLQLNSLKTEDTAMYYCTKCRDFRSPYCRPGQGTLVTVSS（SEQ ID NO: 28）
1B-1B2 的 V_HH EVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCTASGFTFDMGWYRQAPGDECELVSSISSDGNSDYLDSVKGRFTI SQDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAANGAGHLVLRPLCGSNAVDAWGQGTLVTVSS（SEQ ID NO: 29）
3B-1C7 的 V_HH QVQLVESGGDSVQAGGSLRLSCIASGFTFDGTTMGWYRQAPGDECELVSDISSDGNTYYSDSVKG RFTISQGNAKNTVYLQMNSLTPEDTAVYYCAAAEFRLLLRPLCRQDDYGYWGQGTLVTVSS（SEQ ID NO: 30）
4&5B-2F01 的 V_HH QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGTTGDYKYLAWFRQGPGKEREGIAGLNTGGGSAYYADSVK GRFTISQDNVKRLLYLQLNNLKPEDTAMYYCAARRDYIHMTNIQALGLRPQWFSDWGQGTQVTV SS（SEQ ID NO: 31）
4&5C-12B04 的 V_HH EVQLVESGGGSVQAQGSLRLSCTVSGSTYSSNFMAWFRQAPGKEREWVATITTGAGNTAYADSVK GRFTISEDNAKRTAYLQMNSLKPEDTAVYYCAAGRGGFWRPAEYDFWGQGTQVTVSS（SEQ ID NO: 32）
1B-1B6-V1 的 V_HH QVQLLESGGGSVQAGGSLRLSCAASGFTFSSGCMGWFRQAPGKGREGVATIYTRNDFTYYSDSVK GRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAAGSPFRYAGAWNVCGLKEEDYNYWGQGTLVT VSS（SEQ ID NO: 33）
1B-1B6-V2 的 V_HH QVQLLESGGGSVQAGGSLRLSCAASGHTYSSGCMGWFRQAPGKGREGVATIYTRNDFTYYSDSVK GRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAAGSPFRYAGAWNVCGLKEEDYNYWGQGTLVTV SS（SEQ ID NO: 34）
1B-1B6-V3 的 V_HH QVQLLESGGGSVQAGGSLRLSCAASGHTYSSGCMGWFRQAPGKGREGVATIYTRNDFTYYSDTVK GRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAAGSPFRYAGAWNVCGLKEEDYNYWGQGTLVTV SS（SEQ ID NO: 35）
1B-1C7-V1 的 V_HH QVQLVESGGGSVQPGGSLRLSCAASGYSYSANCVGWFRQAPGKGREGVSAINTGGETATYADFVK GRFTISRDNAKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAAVGTRKYWDECSLSQHAYKNWGQGTLVTVSS （SEQ ID NO: 36）
1B-1C7-V2 的 V_HH QVQLVESGGGSVQPGGSLRLSCAASGFTFSANCVGWFRQAPGKGREGVSAINTGGETATYADFVK GRFTISRDNAKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAAVGTRKYWDECSLSQHAYKNWGQGTLVTVSS （SEQ ID NO: 37）
12B04-V1 EVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAVSGFTVSSNFMAWFRQAPGKGREWVSTITTGAGNTAYADSVK GRFTISEDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAGRGGFWRPAEYDFWGQGTTVTVSS（SEQ ID NO: 38）

12B04-V2 EVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAVSGFTVSSNFMAWFRQAPGKGREWVSTITTGAGNTAYADSVK GRFTISEDNSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAAGRGGFWRPAEYDFWGQGTTVTVSS （SEQ ID NO: 39）
骆驼和人源化 1B-1B6 的 V_HH QVQLX$_2$ESGGX$_3$SVQAGGSLRLSCAASX$_4$X$_5$X$_6$X$_7$SSGCMGWFRQAPGKGREGVATIYTRNDFTYYS DX$_8$VKGRFTISRDX$_9$X$_{10}$KNTVYLQX$_{11}$NSLX$_{12}$AEDTAX$_{13}$YYCAAGSPFRYAGAWNVCGLKEEDYNY WGQGTLVTVSS（SEQ ID NO: 40，X$_2$选自 V 或 L，X$_3$选自 D 或 G，X$_4$选自 A 或 G，X$_5$选自 H 或 F，X$_6$选自 A 或 T，X$_7$选自 Y 或 F，X$_8$选自 S 或 T，X$_9$选自 D 或 N，X$_{10}$选自 A 或 S，X$_{11}$选自 V 或 M，X$_{12}$选自 K 或 R，X$_{13}$选自 M 或 V）
骆驼和人源化 1B-1C7 的 V_HH QVQLVESGGGX$_{14}$VQPGGSLRLSCAASGX$_{15}$X$_{16}$X$_{17}$SANCVGWFX$_{18}$QAPGKX$_{19}$REGVX$_{20}$AINTGGET ATYADFVKGRFTISX$_{21}$DX$_{22}$AKNTVYLQMNSLX$_{23}$X$_{24}$EDTX$_{25}$X$_{26}$YYCAAVGTRKYWDECSLSQHAY KNWGQGTLVTVSS（SEQ ID NO: 41，X$_{14}$选自 L 或 S，X$_{15}$选自 Y 或 F，X$_{16}$选自 S 或 T，X$_{17}$选自 Y 或 F，X$_{18}$选自 Y 或 R，X$_{19}$选自 E 或 G，X$_{20}$选自 A 或 S，X$_{21}$选自 Q 或 R，X$_{22}$选自 Y 或 N，X$_{23}$选自 K 或 R，X$_{24}$选自 S 或 A，X$_{25}$选自 G 或 A，X$_{26}$选自 M 或 V）
骆驼和人源化 4&5C-12B04 的 V_HH EVQLVESGGGSVQAX$_{27}$GSLRLSCX$_{28}$VSGX$_{29}$TX$_{30}$SSNFMAWFRQAPGKX$_{31}$REWVX$_{32}$TITTGAGNT AYADSVKGRFTISEDNX$_{33}$KX$_{34}$TX$_{35}$YLQMNSLX$_{36}$X$_{37}$EDTAVYYCAAGRGGFWRPAEYDFWGQGTX $_{38}$VTVSS（SEQ ID NO: 42，X$_{27}$选自 Q 或 G，X$_{28}$选自 T 或 A，X$_{29}$选自 S 或 F，X$_{30}$选自 Y 或 V，X$_{31}$选自 E 或 G，X$_{32}$选自 A 或 S，X$_{33}$选自 A 或 S，X$_{34}$选自 R 或 N，X$_{35}$选自 A 或 L，X$_{36}$选自 K 或 R，X$_{37}$选自 P 或 A，X$_{38}$选自 Q 或 T）
1B-3B11-Fc QVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCVVSGYTYSSVAWFRQTPGKEREGVAVINPGGDNTDYTYAVKGR FTISRDSAKSTVFLQMNNLESEDTAMYYCAAGRTFGGTWMDRNKWKYWGQGTLVTVSSEPKIPQ PQPKPQPQPQPQPKPQPKPEPECTCPKCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK（SEQ ID NO: 43）
1B-1B6-Fc QVQLVESGGDSVQAGGSLRLSCAASAHAYSSGCMGWFRQAPGKGREGVATIYTRNDFTYYSDSVK GRFTISRDDAKNTVYLQVNSLKAEDTAMYYCAAGSPFRYAGAWNVCGLKEEDYNYWGQGTLVT VSSEPKIPQPQPKPQPQPQPQPKPQPKPEPECTCPKCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK（SEQ ID NO: 44）
1B-1C7-Fc QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSYSANCVGWFYQAPGKEREGVAAINTGGETATYADFVK GRFTISQDYAKNTVYLQMNSLKSEDTGMYYCAAVGTRKYWDECSLSQHAYKNWGQGTLVTVSSE PKIPQPQPKPQPQPQPQPKPQPKPEPECTCPKCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK（SEQ ID NO: 45）
1B-1A8-Fc EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFKSYAMDWVRQAPGKGLEWIAGINSAGSPSYEASVKG RFTISRDNAENTLYLQLNSLKTEDTAMYYCTKCRDFRSPYCRPGQGTLVTVSSEPKIPQPQPKPQPQ PQPQPKPQPKPEPECTCPKCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK（SEQ ID NO: 46）
1B-1B2-Fc EVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCTASGFTFDMGWYRQAPGDECELVSSISSDGNSDYLDSVKGRFTI SQDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAANGAGHLVLRPLCGSNAVDAWGQGTLVTVSSEPKIPQP QPKPQPQPQPQPKPQPKPEPECTCPKCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK

TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK（SEQ ID NO: 47）
3B-1C7-Fc QVQLVESGGDSVQAGGSLRLSCIASGFTFDGTTMGWYRQAPGDECELVSDISSDGNTYYSDSVKG RFTISQGNAKNTVYLQMNSLTPEDTAVYYCAAAEFRLLLRPLCRQDDYGYWGQGTLVTVSSEPKIP QPQPKPQPQPQPQPKPQPKPEPECTCPKCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK （SEQ ID NO: 48）
4&5B-2F01-Fc QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGTTGDYKYLAWFRQGPGKEREGIAGLNTGGGSAYYADSVK GRFTISQDNVKRLLYLQLNNLKPEDTAMYYCAARRDYIHMTNIQALGLRPQWFSDWGQGTQVTV SSEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK（SEQ ID NO: 49）
4&5C-12B04-Fc EVQLVESGGGSVQAQGSLRLSCTVSGSTYSSNFMAWFRQAPGKEREWVATITTGAGNTAYADSVK GRFTISEDNAKRTAYLQMNSLKPEDTAVYYCAAGRGGFWRPAEYDFWGQGTQVTVSSEPKSSDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK（SEQ ID NO: 50）
1B-1B6-V1 QVQLLESGGGSVQAGGSLRLSCAASGFTFSSGCMGWFRQAPGKGREGVATIYTRNDFTYYSDSVK GRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAAGSPFRYAGAWNVCGLKEEDYNYWGQGTLVTV SSGEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK（SEQ ID NO: 51） caggtgcagctgctggagagcggcggcggaagcgtgcaggctggaggatccctgcggctgagctgtgctgcctccggcttcaccttcagctccggctgc atgggctggttcaggcaggcccctggcaagggccgggagggagttgctaccatctacacccggaatgacttcacctattactccgacagcgtgaagggca ggttcaccatcagccgggacaactccaagaacaccgtgtatctgcagatgaatagcctgcgggccgaggacaccgccgtgtactattgcgctgccggcag ccccttcaggtacgctggcgcttggaatgtgtggcctgaaggaggaggattacaattattggggccagggcaccctggtgaccgtgagcagcggagag ccaaagtccagcgataagacccacacctgccccccttgccctgctcccgagctgctgggaggccctagcgtgttcctgttcccccctaagcctaaggacac cctgatgatcagccggaccccgaggtgacctgtgtggtggtggatgtgagccacgaggatcctgaggtgaagttcaactggtatgtggacggcgtggag gtgcacaacgccaagaccaagcctagggaggagcagtataactccacctatagggtggtgagcgtgctgaccgtgctgcaccaggattggctgaatggca aggagtacaagtgcaaggtgagcaataaggctctgcctgctcctatcgagaagaccatctccaaggctaagggccagcccagggagcctcaggtgtacac cctgcctcccagcagggacgagctgaccaagaatcaggtgagcctgacctgcctggtgaagggcttctacccctccgatatcgctgtggagtgggagagc aacggccagcctgagaacaactacaagaccacccccccccgtgctggattccgatggctccttcttcctgtacagcaagctgaccgtggataagagccggtg gcagcagggcaacgtgttcagctgctccgtgatgcacgaggccctgcacaaccactacacccagaagagcctgagcctgagccctggcaag（SEQ ID NO: 52）
1B-1B6-V2 QVQLLESGGGSVQAGGSLRLSCAASGHTYSSGCMGWFRQAPGKGREGVATIYTRNDFTYYSDSVK GRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAAGSPFRYAGAWNVCGLKEEDYNYWGQGTLVTV SSGEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK（SEQ ID NO: 53） caggtgcagctgctggagtccggcggcggatccgtgcaggctggaggatccctgcggctgagctgcgctgcttccggccacacctactcctccggctgca tgggctggttcaggcaggctcctggcaagggccgggagggagtggctaccatctataccaggaacgacttcacctactattccgattccgtgaagggcag gttcaccatcagcagggataactccaagaacaccgtgtatctgcagatgaatagcctgcgggccgaggataccgccgtgtactactgcgccgccggcagc cccttccggtacgctggagcttggaacgtgtgcggcctgaaggaggaggactacaactattggggccagggcaccctggtgaccgtgagctccggagag ccaaagtccagcgataagacccacacctgccccccttgccctgctcccgagctgctgggaggccctagcgtgttcctgttcccccctaagcctaaggacac cctgatgatcagccggaccccgaggtgacctgtgtggtggtggatgtgagccacgaggatcctgaggtgaagttcaactggtatgtggacggcgtggag gtgcacaacgccaagaccaagcctagggaggagcagtataactccacctatagggtggtgagcgtgctgaccgtgctgcaccaggattggctgaatggca aggagtacaagtgcaaggtgagcaataaggctctgcctgctcctatcgagaagaccatctccaaggctaagggccagcccagggagcctcaggtgtacac

cctgcctcccagcagggacgagctgaccaagaatcaggtgagcctgacctgcctggtgaagggcttctacccctccgatatcgctgtggagtgggagagc aacggccagcctgagaacaactacaagaccacccccccccgtgctggattccgatggctccttcttcctgtacagcaagctgaccgtggataagagccggtg gcagcagggcaacgtgttcagctgctccgtgatgcacgaggccctgcacaaccactacacccagaagagcctgagcctgagccctggcaag（SEQ ID NO: 54）
1B-1B6-V3 QVQLLESGGGSVQAGGSLRLSCAASGHTYSSGCMGWFRQAPGKGREGVATIYTRNDFTYYSDTVK GRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAAGSPFRYAGAWNVCGLKEEDYNYWGQGTLVTV SSGEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK（SEQ ID NO: 55） caggtgcagctgctggagagcggcggcggaagcgtgcaggctggaggaagcctgaggctgagctgcgccgccagcggacacacctacagctccggc tgtatgggctggttcaggcaggcccccggcaagggacgggagggagttgctaccatctacacccggaatgacttcacctactattccgataccgtgaaggg caggttcaccatcagcagggacaactccaagaataccgtgtacctgcagatgaactccctgcgggccgaggacaccgccgtgtattactgtgctgctggct ccccccttcaggtatgccggcgcttggaatgtgtgcggcctgaaggaggaggactataattattggggccagggcaccctggtgaccgtgagcagcggaga gccaaagtccagcgataagacccacacctgccccccttgccctgctcccgagctgctgggaggccctagcgtgttcctgttcccccctaagcctaaggaca ccctgatgatcagccggaccccccgaggtgacctgtgtggtggtggatgtgagccacgaggatcctgaggtgaagttcaactggtatgtggacggcgtgga ggtgcacaacgccaagaccaagcctagggaggagcagtataactccacctatagggtggtgagcgtgctgaccgtgctgcaccaggattggctgaatgg caaggagtacaagtgcaaggtgagcaataaggctctgcctgctcctatcgagaagaccatctccaaggctaagggccagcccagggagcctcaggtgtac accctgcctcccagcagggacgagctgaccaagaatcaggtgagcctgacctgcctggtgaagggcttctacccctccgatatcgctgtggagtgggaga gcaacggccagcctgagaacaactacaagaccacccccccccgtgctggattccgatggctccttcttcctgtacagcaagctgaccgtggataagagccg gtggcagcagggcaacgtgttcagctgctccgtgatgcacgaggccctgcacaaccactacacccagaagagcctgagcctgagccctggcaag（SEQ ID NO: 56）
1B-1C7-V1 QVQLVESGGGSVQPGGSLRLSCAASGYSYSANCVGWFRQAPGKGREGVSAINTGGETATYADFVK GRFTISRDNAKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAAVGTRKYWDECSLSQHAYKNWGQGTLVTVSSG EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK（SEQ ID NO: 57） caggtgcagctggtggagtccggcggcggaagcgtgcagcctggaggaagcctgaggctgtcctgcgctgcctccggctatagctacagcgctaactgc gtgggctggttccggcaggctcctggcaagggccgggagggagtgtccgctatcaacaccggcggcgagaccgctacctacgccgacttcgtgaaggg ccggttcaccatctcccgggataacgctaagaataccgtgtacctgcagatgaatagcctgcgggctgaggataccgccgtgtattattgtgctgccgtggg cacccggaagtactgggacgagtgcagcctgagccagcacgcctacaagaattggggccagggcaccctggtgaccgtgtccagcggagagccaaagt ccagcgataagacccacacctgccccccttgccctgctcccgagctgctgggaggccctagcgtgttcctgttcccccctaagcctaaggacaccctgatg atcagccggaccccgaggtgacctgtgtggtggtggatgtgagccacgaggatcctgaggtgaagttcaactggtatgtggacggcgtggaggtgcaca acgccaagaccaagcctagggaggagcagtataactccacctatagggtggtgagcgtgctgaccgtgctgcaccaggattggctgaatggcaaggagt acaagtgcaaggtgagcaataaggctctgcctgctcctatcgagaagaccatctccaaggctaagggccagcccagggagcctcaggtgtacaccctgcc tcccagcagggacgagctgaccaagaatcaggtgagcctgacctgcctggtgaagggcttctacccctccgatatcgctgtggagtgggagagcaacgg ccagcctgagaacaactacaagaccacccccccccgtgctggattccgatggctccttcttcctgtacagcaagctgaccgtggataagagccggtggcagc agggcaacgtgttcagctgctccgtgatgcacgaggccctgcacaaccactacacccagaagagcctgagcctgagccctggcaag（SEQ ID NO: 58）
1B-1C7-V2 QVQLVESGGGSVQPGGSLRLSCAASGFTFSANCVGWFRQAPGKGREGVSAINTGGETATYADFVK GRFTISRDNAKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAAVGTRKYWDECSLSQHAYKNWGQGTLVTVSSG EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK（SEQ ID NO: 59） caggtgcagctggtggagtccggcggcggatccgtgcagcctggaggatccctgaggctgagctgcgccgccagcggattcaccttcagcgccaactgc gtgggctggttccggcaggctcctggcaagggccgggagggagtgagcgctatcaacaccggcggcgagaccgccacctatgccgacttcgtgaagg gccggttcaccatctccagggataatgctaagaacaccgtgtacctgcagatgaatagcctgagggccgaggataccgccgtgtattactgtgccgccgtg ggcaccaggaagtattgggacgagtgctccctgtcccagcacgcttacaagaactggggccagggcaccctggtgaccgtgagcagcggagagccaaa gtccagcgataagacccacacctgccccccttgccctgctcccgagctgctgggaggccctagcgtgttcctgttcccccctaagcctaaggacaccctgat gatcagccggaccccgaggtgacctgtgtggtggtggatgtgagccacgaggatcctgaggtgaagttcaactggtatgtggacggcgtggaggtgcac aacgccaagaccaagcctagggaggagcagtataactccacctatagggtggtgagcgtgctgaccgtgctgcaccaggattggctgaatggcaaggag tacaagtgcaaggtgagcaataaggctctgcctgctcctatcgagaagaccatctccaaggctaagggccagcccagggagcctcaggtgtacaccctgc ctcccagcagggacgagctgaccaagaatcaggtgagcctgacctgcctggtgaagggcttctacccctccgatatcgctgtggagtgggagagcaacg

gccagcctgagaacaactacaagaccaccccccccgtgctggattccgatggctccttcttcctgtacagcaagctgaccgtggataagagccggtggcag cagggcaacgtgttcagctgctccgtgatgcacgaggccctgcacaaccactacacccagaagagcctgagcctgagccctggcaag（SEQ ID NO: 60）
HGF-α QRKRRNTIHEFKKSAKTTLIKIDPALKIKTKKVNTADQCANRCTRNKGLPFTCKAFVFDKARKQCL WFPFNSMSSGVKKEFGHEFDLYENKDYIRNCIIGKGRSYKGTVSITKSGIKCQPWSSMIPHEHSFLPS SYRGKDLQENYCRNPRGEEGGPWCFTSNPEVRYEVCDIPQCSEVECMTCNGESYRGLMDHTESGK ICQRWDHQTPHRHKFLPERYPDKGFDDNYCRNPDGQPRPWCYTLDPHTRWEYCAIKTCADNTMN DTDVPLETTECIQGQGEGYRGTVNTIWNGIPCQRWDSQYPHEHDMTPENFKCKDLRENYCRNPDG SESPWCFTTDPNIRVGYCSQIPNCDMSHGQDCYRGNGKNYMGNLSQTRSGLTCSMWDKNMEDLH RHIFWEPDASKLNENYCRNPDDDAHGPWCYTGNPLIPWDYCPISRCEGDTTPTIVNLDHPVISCAK TKQLR（SEQ ID NO: 61）
HGF-β VVNGIPTRTNIGWMVSLRYRNKHICGGSLIKESWVLTARQCFPSRDLKDYEAWLGIHDVHGRGDEK CKQVLNVSQLVYGPEGSDLVLMKLARPAVLDDFVSTIDLPNYGCTIPEKTSCSVYGWGYTGLINYD GLLRVAHLYIMGNEKCSQHHRGKVTLNESEICAGAEKIGSGPCEGDYGGPLVCEQHKMRMVLGVI VPGRGCAIPNRPGIFVRVAYYAKWIHKIILTYKVPQS（SEQ ID NO: 62）
抗 EGFR 抗体的 HCDR1 TYGMH（SEQ ID NO: 63）
抗 EGFR 抗体的 HCDR2 VIWDDGSYKYYGDSVKG（SEQ ID NO: 64）
抗 EGFR 抗体的 HCDR3 DGITMVRGVMKDYFDY（SEQ ID NO: 65）
抗 EGFR 抗体的 LCDR1 RASQDISSALV（SEQ ID NO: 66）
抗 EGFR 抗体的 LCDR2 DASSLES（SEQ ID NO: 67）
抗 EGFR 抗体的 LCDR3 QQFNSYPLT（SEQ ID NO: 68）
抗 EGFR 抗体的 VH QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDDGSYKYYGDS VKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGITMVRGVMKDYFDYWGQGTLVTVSS （SEQ ID NO: 69）
抗 EGFR 抗体的 VL AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISSALVWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSESGT DFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIK（SEQ ID NO: 70）
V12 的抗 c-Met 多肽链 anti-c-Met-V_HH-Fc QVQLVESGGDSVQAGGSLRLSCAASAHAYSSGCMGWFRQAPGKGREGVATIYTRNDFTYYSDSVK GRFTISRDDAKNTVYLQVNSLKAEDTAMYYCAAGSPFRYAGAWNVCGLKEEDYNYWGQGTLVT VSSGGGGSGGGGSQVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSYSANCVGWFYQAPGKEREGVAAIN TGGETATYADFVKGRFTISQDYAKNTVYLQMNSLKSEDTGMYYCAAVGTRKYWDECSLSQHAYK NWGQGTLVTVSSGEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNRFTQKSLSLSPGK（SEQ ID NO: 71） caagtgcagctggtcgagtccggcggcgactccgtgcaggctggcggatctctgagactgtcttgcgctgcttctgcccacgcttactccagcggctgcatg ggctggttcagacaggcccctggcaagggcagagaaggagtggctaccatctacaccagaaacgactttacctattactccgattctgtcaagggcaggttc accatctcccgggacgacgccaagaacaccgtgtacctgcaggtgaacagcctgaaggccgaggataccgccatgtactactgcgccgctggctcccctt tccggtatgccggcgcctggaacgtgtgcggcctgaaagaagaagactacaactactggggccagggaaccttggtgaccgtctcatccgggggcggcg gtagcggtggcggaggctctcaagtgcagctggtggaatctggcggaggactggttcagcctggcggctctctccggctgtcctgcgccgcctctggctac tcctactctgccaactgcgtgggctggttctaccaggcccccggcaaggagagagagggcgtggccgccatcaacaccggcggcgagacagcaaccta cgccgacttcgtgaaaggccggtttacaatctctcaggattatgctaagaataccgtgtacctgcagatgaactccctgaagtccgaggacacaggcatgtac tactgtgctgctgtgggcacccggaagtactgggacgagtgctctctgagccagcacgcctacaaaaattggggccaaggcaccctggtgaccgtgtcca gtggcgaacccaagtcctccgacaagacccacacctgccccccctgtcctgctccagagctgctgggcggcccttctgtgtttctgttccctcctaagcccaa ggacaccctgatgatctccagaaccctgaggtgacctgtgtggtggtggacgtgtctcacgaggatcctgaagtgaagttcaactggtacgtggacggcg tggaagtgcataacgccaagacaaagcctagagaggaacagtacaactctacctacagagtggtgtccgtgctgaccgtgctgcaccaggactggctgaa

cggcaaagagtacaagtgcaaggtgtccaacaaggctctgcctgcccctatcgagaagaccatcagcaaggccaagggccagccccgcgagcctcagg tctgcaccctgcctccatccagagaagagatgaccaagaaccaggtttccctgtcttgtgctgtgaagggcttctaccctagcgacatcgccgtggaatggg agtctaatggccagcctgagaacaactacaagaccacacctcctgtgctcgactccgatggctccttcttcctggtgtccaagctgacggtggataagtctag atggcagcagggcaacgtgttctcctgctccgtgatgcacgaggccctgcataaccggttcacccagaagagcctgtccctgtctccaggaaaa （ SEQ ID NO: 72）
V41 的抗 c-Met 多肽链 anti-c-Met-V_HH-Fc QVQLLESGGGSVQAGGSLRLSCAASGFTFSSGCMGWFRQAPGKGREGVATIYTRNDFTYYSDSVK GRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAAGSPFRYAGAWNVCGLKEEDYNYWGQGTLVTV SSGGGGSGGGGSQVQLVESGGGSVQPGGSLRLSCAASGYSYSANCVGWFRQAPGKGREGVSAINT GGETATYADFVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAAVGTRKYWDECSLSQHAYKN WGQGTLVTVSSGEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNRFTQKSLSLSPGK（SEQ ID NO: 73） caggtgcagctgctggaatctggcggcggctctgtgcaggctggtggatccctgagactgtcttgtgctgcctccggctttaccttcagcagtggctgcatgg gctggtttagacaggcccccggcaaaggcagagaaggcgtggccaccatctacaccagaaacgacttcacctattattccgattccgtgaaaggcagattc accatcagccgcgacaactccaaaaacaccgtgtacctgcagatgaactccctgagagccgaggataccgctgtgtactactgcgccgccggctctcctttc cggtacgccggagcttggaacgtgtgtggcctgaaggaagaggactacaactactggggacaaggcaccctggtgaccgtgtctagcggcggaggtgg ctcgggcggaggcggctctcaagtgcagctggtggaatccggcggcggctccgtgcaacccggaggctccctgcggttgtcctgtgctgcctctggctac tcctactccgccaactgcgtaggatggttcagacaggccccctggcaagggcagagagggcgtgtccgctatcaacaccggcggcgagacagccacctac gccgacttcgtgaagggccggttcaccatctctcgggacaacgccaagaacactgtctatctgcagatgaactccctgagagcagaagataccgccgtgta ctactgtgctgctgtgggcacccggaagtactgggacgagtgctctctgtcccagcacgcctacaagaattggggccagggcacactagtcaccgtctcct ctggcgagcctaagtcctctgataagacccacacctgtcctccttgccctgctcctgagctgctgggcggcccttccgtcttcctgttcccctccaaagcccaag gacacactgatgatctccaggacacctgaagtgacctgcgtggtggtggacgtgtctcatgaggaccccgaggtgaagttcaactggtacgtggatggcgt ggaagtgcacaatgccaagaccaagcctcgggaggaacagtacaactctacctacagagtggtgtccgtgctgaccgtcctgcaccaggactggctgaac ggcaaagagtacaagtgcaaggtgtccaacaaggccctgccagctcctatcgagaagacaatcagcaaggccaagggccagcctagagagcctcaggt gtgcaccctgcctcctttctcgggaagagatgaccaagaaccaggtgagcctgtcctgcgccgtgaaaggcttctacccctccgacatcgccgtcgagtggg agtctaatggacagcccgagaacaactacaagaccaccctcctgtgctggactccgacggctctttcttcctggtttctaagctgaccgtggacaagtccag atggcagcagggcaacgtgttctcctgctccgtgatgcacgaagctctgcacaaccggtttacccagaagtctctgtctctcagcccaggcaag （ SEQ ID NO: 74）
V35 的抗 c-Met 多肽链 anti-c-Met-V_HH-Fc QVQLLESGGGSVQAGGSLRLSCAASGHTYSSGCMGWFRQAPGKGREGVATIYTRNDFTYYSDSVK GRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAAGSPFRYAGAWNVCGLKEEDYNYWGQGTLVTV SSGGGGSGGGGSQVQLVESGGGSVQPGGSLRLSCAASGYSYSANCVGWFRQAPGKGREGVSAINT GGETATYADFVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAAVGTRKYWDECSLSQHAYKN WGQGTLVTVSSGEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNRFTQKSLSLSPGK（SEQ ID NO: 75） caggttcagctgttggaatctggcggcggatctgttcaggctggcggatctctgagactgtcttgtgctgcttccggccacacctactcctctggctgtatggg atggttcagacaggcccctggcaagggaagagaaggcgtggccaccatctacacccggaacgacttcacctactactccgactccgtgaagggcagattc accatcagccgggacaactccaagaacaccgtgtacctgcagatgaactccctgagagccgaggacaccgccgtgtactattgtgccgctggcagcccct ttagatacgctggcgcttggaacgtgtgcggcctgaaagaagaggactacaactactggggccagggcaccctggtcacagtttctagcggaggcggag gatcaggtggcggtggatctcaggtgcagttggttgaaagtggcggaggctctgtgcaaccaggcggaagcctcagattgtcttgcgccgcttctggctact cctacagcgccaattgtgtcggctggtttaggcaggctcccggaaaaggcagagaaggggtgtccgctatcaacaccggcggagagacagccacctacg ccgatttcgtgaaaggccggtttaccatctctcgcgataacgctaagaacacagtctatctccaaatgaacagcctgcgcgctgaggataccgctgtgtattac tgcgctgccgtgggcaccagaaagtactgggacgagtgctccctgagccagcacgcctataagaattggggacagggaaccctcgtgaccgtgtcctctg gcgaacctaagtcctccgacaagacccacacctgtcctccatgtcctgctccagaactgctcggcggaccttccgtgttcctgtttcctccaaagcctaagga caccctgatgatctctcggacccctgaagtgacctgcgtggtggtggatgtgtctcacgaggatcccgaagtgaagttcaattggtacgtggacggcgtgga agtgcacaacgccaagaccaagcctagagaggaacagtacaactccacctacagagtggtgtccgtgctgaccgtgctgcaccaggattggctgaacgg caaagagtacaagtgcaaggtgtccaacaaggccctgcctgctcctatcgaaaagaccatctccaaggccaagggccagcctcgggaacctcaagtctgt accctgcctcctagccgggaagagatgaccaagaaccaggtgtccctgtcctgcgctgtgaagggcttctacccttccgatatcgccgtggaatgggagag caatggccagccagagaacaactacaagacaacccctcctgtgctggactccgacggctcattcttcctggtgtccaagctgacagtggacaagtccagat ggcagcagggcaacgtgttctcctgctccgtgatgcacgaggccctgcacaacaggttcacccagaagtccctgtctctgagcccaggcaaa（SEQ ID NO: 76）
V42 的抗 c-Met 多肽链 anti-c-Met-V_HH-Fc QVQLLESGGGSVQAGGSLRLSCAASGHTYSSGCMGWFRQAPGKGREGVATIYTRNDFTYYSDTVK

GRFTISRDNSKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAAGSPFRYAGAWNVCGLKEEDYNYWGQGTLVTV
SSGGGGSGGGGSQVQLVESGGGSVQPGGSLRLSCAASGYSYSANCVGWFRQAPGKGREGVSAINT
GGETATYADFVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAAVGTRKYWDECSLSQHAYKN
WGQGTLVTVSSGEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED
PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK
TISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD
GSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNRFTQKSLSLSPGK（SEQ ID NO: 77）

caggttcagctgctggaatctggcggaggctccgtgcaggccggcggaagcctgagactgtcctgcgccgcctctggccatacatattcttccggctgcat
gggctggttccggcaggctcctggcaagggcagggagggcgtggccacaatctacaccagaaacgacttcacctattattctgataccgtcaaaggcagat
tcaccatctctcgggacaactccaagaacaccgtgtacctgcagatgaactccctgcgggctgaggacaccgccgtctactactgcgccgctggctctccttt
tagatacgctggcgcctggaacgtgtgtggcctgaaggaagaagactacaactactggggccaaggcaccctggtgaccgtgtcctccggcggcggagg
ctctggaggcggcggcagccaagtgcagctggtggaaagcggcggtggctccgtgcagccaggcggctctctgcggctgtcctgtgccgcttctggcta
ctcctactccgccaactgcgtgggctggttcagacaggcccccggcaagggccgggaaggcgtgtctgccatcaacaccggcggcgagacagctaccta
cgccgacttcgtgaagggcagatttaccatctccagagataacgctaagaataccgtgtacctgcagatgaacagcctgcgggccgaggacaccgctgtgt
actactgtgctgccgtgggcacccggaagtactgggacgagtgcagtctgagccagcacgcctacaagaattggggccagggaacactggtcaccgtgt
ccagtggagaacctaagtcgtctgacaagacccacacctgtcctccatgccccgctcccgagctgctgggcggcccttctgtgttcctgttcccctcctaagcc
caaggacacactgatgatcagcagaaccccctgaagtgacctgcgtggtggtggacgtgtcccacgaggatcctgaggtgaagttcaactggtacgtggac
ggcgtggaagtgcacaacgccaagaccaagcctcgcgaggagcagtacaactccacctacagagtggtctctgtactgaccgtgctgcaccaggactgg
ctgaacggaaaagagtacaagtgcaaggtgtccaacaaggctctgcctgcccctatcgagaagaccatctccaaggccaaaggacagcctagagagcct
caagtgtgcaccctgcctccatctcgggaagagatgactaagaaccaggtctccctgtcctgtgccgtcaagggcttctaccccctccgacatcgccgtggag
tgggagtccaacggccagcctgagaacaactacaaaaccacacctcctgtgctggacagcgatggctccttcttcctctgtgtccaagctgaccgttgataag
tccagatggcagcagggcaacgtgttctcttgctccgtgatgcacgaggccctgcataatagatttacccagaagtctctgtcgctctctcccggcaaa
（SEQ ID NO: 78）

V67 的抗 c-Met 多肽链 anti-c-Met-V_HH-Fc

EVQLVESGGGSVQAQGSLRLSCTVSGSTYSSNFMAWFRQAPGKEREWVATITTGAGNTAYADSVK
GRFTISEDNAKRTAYLQMNSLKPEDTAVYYCAAGRGGFWRPAEYDFWGQGTQVTVSSGGGGSQV
QLVESGGGSVQPGGSLRLSCAASGYSYSANCVGWFRQAPGKGREGVSAINTGGETATYADFVKGR
FTISRDNAKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAAVGTRKYWDECSLSQHAYKNWGQGTLVTVSSGEP
KSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV
CTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKS
RWQQGNVFSCSVMHEALHNRYTQKSLSLSPGK（SEQ ID NO: 79）

gaagtgcagctggtcgagtctggcggcggctctgtgcaggctcagggctccctgcggctgtcttgtaccgtttccgggtccacctactcttccaacttcatgg
cctggttccggcaggcccctggaaaagagagagaatgggtggctaccatcaccacaggcgctggcaacaccgcttatgccgactccgtcaagggcagat
tcaccatctctgaggacaacgccaagcggaccgcctacctgcagatgaacagcctgaagcctgaagataccgccgtgtactactgtgctgccggcagagg
cggcttttggcggcccgctgagtacgacttctggggccaaggcactcaagtgacagtgtcctctggaggaggaggctctcaggtgcagctggtggaatctg
gcggcggctccgtgcaaccaggcggatctctgagactgtcctgcgctgcttccggctactcctactccgccaactgcgtgggctggttcagacaggccct
ggcaaaggccgcgagggcgtctctgccatcaacaccggcggagagacagctacctacgccgattttgttaagggccggttcactatctccagagacaatg
ctaagaacaccgtgtacctgcagatgaactctctgagagccgaggacaccgctgtgtactactgcgccgctgtgggcacccggaagtactgggacgagtg
ctctctgtcccagcacgcctataagaattggggccagggcaccctcgtgaccgtgtcttcaggcgagcctaaaagcagcgataagacccacacctgccctc
cttgccccgctcctgagctgctgggcggaccttctgtctttctgttcccacctaagcccaaggacaccctgatgatcagccggacacctgaggtgacctgtgt
ggtggtggacgtgtctcatgaggatcctgaggtgaagttcaactggtacgtggatggcgtggaagtgcacaatgccaagaccaagcctagagaagagcag
tacaactccacatacagagtggtctcggtgctgaccgtgctgcaccaggactggctgaacggcaaagaatacaagtgcaaggtgtccaacaaggctctgcc
tgccccccatcgagaagacaatctccaaggccaagggccagcctcgggaacctcaggtgtgcaccctgccccctccagggaagaaatgacaaagaacc
aggtgtccctatcctgtgccgtgaaaggcttctaccctccgacatcgccgtggagtgggagtccaacggccagcccgagaacaactacaaaaccacccct
ccagtgctggactctgacggctccttcttcctggtgagcaagctgaccgtggacaagtctagatggcaacagggaaacgtgttcagctgctccgtcatgcac
gaggccctgcacaacagatacacccagaagtccctgagcctgtctcctggcaag（SEQ ID NO: 80）

V73 的抗 c-Met 多肽链 anti-c-Met-V_HH-Fc

EVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAVSGFTVSSNFMAWFRQAPGKGREWVSTITTGAGNTAYADSVK
GRFTISEDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAAGRGGFWRPAEYDFWGQGTTVTVSSGGGGSQV
QLVESGGGSVQPGGSLRLSCAASGYSYSANCVGWFRQAPGKGREGVSAINTGGETATYADFVKGR
FTISRDNAKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAAVGTRKYWDECSLSQHAYKNWGQGTLVTVSSGEP
KSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV
CTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKS
RWQQGNVFSCSVMHEALHNRYTQKSLSLSPGK（SEQ ID NO: 81）

gaggtgcagctggtggaatcaggcggaggctccgtgcaggccggcggctctttgagactgtcttgtgccgtgtccggcttcaccgtgtcttctaacttcatgg
cctggttcagacaggctcctggcaagggcagagagtgggtcagcaccatcaccaccggcgctggaaacaccgcctacgccgactccgtgaaagggcgc

tttacaatcagcgaggacaactccaagaataccctgtacctgcagatgaactctctgcgggccgaggataccgccgtgtactactgtgctgctggcagaggc
ggcttttggcggccagctgagtacgacttctggggccaaggcaccacagtcaccgtgtcctctggcggaggtggcagccaagtgcagctggtcgaatctg
gaggtggctccgttcagcctggcggctctctgagactgtcttgcgccgcttccggctactcttactccgccaactgcgtgggctggttccggcaggcccccg
gcaaaggcagagaaggcgtgagcgccatcaacaccggcggcgaaaccgctacctatgccgatttcgtgaagggaagattcaccatctctcgggacaacg
ccaagaacaccgtgtatctgcagatgaactctctgagagccgaggatacagctgtgtactactgcgctgctgtgggcaccagaaagtactgggacgagtgc
tccctgtcccagcacgcctataagaactggggacagggcacactcgtgaccgtgtctagcggcgagcctaaaagctctgacaaaacccacacctgtcctcc
ttgccccgctcctgagctgctgggcggcccttccgtgtttctgttcctcccaagcccaaggacacactgatgatctccagaaccccggaagtgacctgcgtg
gtggtggacgtgtctcacgaggaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggatggcgtggaagtgcataatgctaagaccaagcctcgggaggaacagt
acaactccacctacagagtggtttccgtgctgaccgtgctgcaccaagactggctgaacggcaaagagtacaagtgcaaggtgtccaacaaggctctgcct
gccccatcgagaagacgatctccaaggccaagggccagcctagggaacctcaggtgtgcaccctgcctccttcccgggaagagatgaccaaaaacca
ggtcagcctgtcttgcgccgtgaagggcttctaccctccgacatcgccgtggaatgggagtccaacggccagcccgagaataactacaagaccaccccct
cctgtgctcgatagcgacggctccttcttcctggtgtctaagctgacagtggacaagtctagatggcagcagggcaacgtgttctcctgttccgtgatgcacg
aggccctgcacaaccggtacacccagaagtccctgagcctgtctccaggcaag（SEQ ID NO: 82）

V74 的抗 c-Met 多肽链 anti-c-Met-V_HH-Fc
EVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAVSGFTVSSNFMAWFRQAPGKGREWVSTITTGAGNTAYADSVK
GRFTISEDNSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAAGRGGFWRPAEYDFWGQGTTVTVSSGGGGSQV
QLVESGGGSVQPGGSLRLSCAASGYSYSANCVGWFRQAPGKGREGVSAINTGGETATYADFVKGR
FTISRDNAKNTVYLQMNSLRAEDTAVYYCAAVGTRKYWDECSLSQHAYKNWGQGTLVTVSSGEP
KSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV
CTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKS
RWQQGNVFSCSVMHEALHNRYTQKSLSLSPGK（SEQ ID NO: 83）
gaagtgcagctggtggaatccggcggcggatctgtgcaggccgggggctccctgagactgtcttgcgccgtgtccggcttcaccgtgtcttctaacttcatg
gcctggtttcgccaggcacctggcaagggcagagagtgggtgtctaccatcaccaccggcgctgggaacaccgcttacgccgattctgtgaaaggccggt
tcaccatctccgaggataattccaagaacacagcttatctgcagatgaacagcctgagagccgaggacaccgccgtatactactgtgctgctggcagaggc
ggcttttggcggcctgctgagtacgacttctggggccagggcaccacagtcacagtttcctctggaggcggtggctctcaagtgcagctggtggagtctgg
gggaggctctgtccaacctggaggatctctgcggctgagctgcgccgcctctggctactcctacagcgccaactgcgtgggctggttcagacaggccctg
gaaagggcagagaaggcgtttctgccatcaacaccggcggcgagacagccacatacgccgacttcgtgaagggcagattcaccatcagtcgggacaac
gccaaaaacaccgtgtacctgcagatgaactccctccgggccgaggacaccgctgtgtactactgcgctgctgtcggcaccagaaagtactgggacgagt
gctctctgagccagcacgcctacaaaaattggggccaaggcaccctcgtgacagtgagcagcggcgaacccaagtccagcgacaagacccacacctgc
cctccttgtcctgccccagagctgctgggcggcccttccgtgtttctgttcccacccaagcctaaggacactctgatgatcagcagaaccccctgaggtgacct
gtgtggtggtggacgtgtctcacgaagatcctgaagtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaagtgcacaacgctaagaccaagcccagagaaga
gcagtacaacagcacctacagagtggtctccgtgctgaccgtgctgcaccaggactggctgaacggcaaagagtataagtgcaaggtgtccaacaaggct
ctgcccgctcctatcgagaagaccatctccaaggccaagggccagcctcgggagcctcaggtgtgcaccctgcctccctcccgggaagagatgaccaag
aaccaggtgtccttgtcttgtgctgtgaagggcttctaccctccggacatcgccgtggaatgggagtccaatggacagcccgagaacaactacaagacaacc
cctcctgtgctggactccgatggctccttcttcctggtgtccaagctgaccgtggataagtctaggtggcagcagggcaacgtgttctcctgctccgtgatgca
cgaggccctgcataacagatacacccagaagtccctgtccctgtctcctggcaaa（SEQ ID NO: 84）

抗 EGFR 抗体的重链 anti-EGFR-HC-Fc
QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDDGSYKYYGDS
VKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGITMVRGVMKDYFDYWGQGTLVTVSSAS
TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV
TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS
RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK
EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
（SEQ ID NO: 85）
caggtgcagctggtggagtccggcggcggagtggtgcagccaggaagatccctgcggctgagctgtgccgcttccggcttcaccttctccacctacggca
tgcactgggtgcggcaggccccggaaagggactggagtgggtggctgtgatctgggacgacggctcctacaagtattacggcgattccgtgaagggcc
ggttcaccatctcccgggacaactccaagaacaccctgtacctgcagatgaatagcctgagggccgaggacaccgctgtgtactactgtgcccgggacgg
catcaccatggtgcggggagtgatgaaggattacttcgactactggggccagggcaccctggtgaccgtgagctccgccagtaccaaaggcccttccgtgt
ttcctctggccccatcctccaagagtacatctggaggcaccgctgctctgggctgcctggtgaaggactacttccccgagcccgtgaccgtcagctggaact
ccggcgccctgacctctggcgttcatacctttcccgccgttctgcagagctctggcctgtacagcctgtcttccgtcgtgaccgtgccttctagctctctgggaa
cacagacctacatctgcaacgtgaaccacaagcccagcaacaccaaggtggacaagcgggtggaacccaagtcctgcgacaaaacccacacctgtcctc
cttgtccagcccctgagctgctgggcggcccttctgtctttctgttccctcctaagcctaaggacacgctcatgatctcccggacacctgaagtgacctgcgtg
gtggtggatgtgtctcacgaggaccctgaggtgaagttcaactggtacgtggacggcgtggaagtccataacgccaagaccaagcctagagaggagcagt
acaattccacctatagggtggtgagcgtgctgaccgtgctgcaccaggattggctgaatggcaaggagtacaagtgcaaggtgagcaataaggctctgcct
gctcccatcgagaagaccatctccaaggctaagggccagcctagggagccccaggtgtataccctgcctccctgccgggaggagatgaccaagaaccag
gtgtccctgtggtgcctggtgaagggcttctaccccttccgacatcgctgtggagtgggagtccaatggccagcccgagaataattacaagaccacccctccc

gtgctggattccgacggctccttcttcctgtactccaagctgaccgtggacaagagcaggtggcagcagggcaacgtgttcagctgtagcgtgatgcacga ggccctgcacaaccactacacccagaagtccctgagcctgagccccggcaag（SEQ ID NO: 86）
抗 EGFR 抗体的轻链 anti-EGFR-LC AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISSALVWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSESGT DFTLTISSLQPEDFATYYCQQFNSYPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC（SEQ ID NO: 87） gctatccagctgacccagtccctagctccctgagcgcctccgtgggcgacagggtgaccatcacctgcagggccagccaggatatctcctccgccctggt gtggtaccagcagaagcccggcaaggccccaagctgctgatctatgacgctagctccctggagtccggcgtgccctccaggttcagcggctccgagtcc ggcaccgacttcaccctgaccatctccagcctgcagcccgaggacttcgccacctattattgtcagcagttcaatagctacccccctgaccttcggcggcggc accaaggtggagatcaagaggaccgtggccgcccctagcgtgttcatcttcctcctagcgacgagcagctgaagagcggcaccgcctccgtggtgtgcc tgctgaacaacttctatcccagggaggctaaggtgcagtggaaggtggataacgccctgcagtccggcaatagccaggagagcgtgaccgagcaggatt ccaaggattccacctactccctgagcagcaccctgaccctgagcaaggctgattacgagaagcacaaggtgtatgcttgtgaggtgacccaccagggcctg agcagccccgtgaccaagtccttcaacaggggcgagtgt（SEQ ID NO: 88）
第一铰链 GEPKSSDKTHTCPPCP（SEQ ID NO: 89）
第二铰链 EPKSCDKTHTCPPCP（SEQ ID NO: 90）
肽接头 GGGGS（SEQ ID NO: 91）
人 IgG1 的重链恒定区 ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK （SEQ ID NO: 92）

为了描述和公开的目的，以引用的方式将所有的专利、专利申请和其它已确定的出版物在此明确地并入本文。这些出版物仅因为它们的公开早于本公开的申请日而提供。所有关于这些文件的日期的声明或这些文件的内容的表述是基于申请者可得的信息，并且不构成任何关于这些文件的日期或这些文件的内容的正确性的承认。而且，在任何国家，在本文中对这些出版物的任何引用并不构成关于该出版物成为本领域的公知常识的一部分的认可。

虽然，上文中已经用一般性说明及具体实施方案对本公开作了详尽的描述，但在本公开基础上，可以对之作一些修改或改进，这对本领域技术人员而言是显而易见的。因此，在不偏离本公开精神的基础上所做的这些修改或改进，均属于本公开要求保护的范围。

权利要求书

1、一种多特异性抗体，其包含

(i)结合第一抗原的第一抗原结合模块；

(ii)结合第二抗原的第二抗原结合模块；和

(iii)结合第一抗原的第三抗原结合模块；

其中，所述第一抗原为 c-Met 且所述第二抗原为 EGFR，所述第一抗原结合模块和第三抗原结合模块均为单可变结构域并且各自独立地包含以下任一项：

(1)包含 SEQ ID NO: 4 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 5 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 6 所示氨基酸序列的 CDR3，其中，X_1 选自 S 或 T，优选为 T；

(2)包含 SEQ ID NO: 7 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 8 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 9 所示氨基酸序列的 CDR3；

(3)包含 SEQ ID NO: 1 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 2 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 3 所示氨基酸序列的 CDR3；

(4)包含 SEQ ID NO: 10 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 11 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 12 所示氨基酸序列的 CDR3；

(5)包含 SEQ ID NO: 13 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 14 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 15 所示氨基酸序列的 CDR3；

(6)包含 SEQ ID NO: 16 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 17 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 18 所示氨基酸序列的 CDR3；

(7)包含 SEQ ID NO: 19 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 20 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 21 所示氨基酸序列的 CDR3；或

(8)包含 SEQ ID NO: 22 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 23 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 24 所示氨基酸序列的 CDR3。

2、根据权利要求 1 所述的多特异性抗体，其中，所述第一抗原结合模块和第三抗原结合模块各自独立地包含以下任一项：

(1)包含 SEQ ID NO: 4 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 5 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 6 所示氨基酸序列的 CDR3，其中，X_1 选自 S 或 T，优选为 T；

(2)包含 SEQ ID NO: 7 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 8 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 9 所示氨基酸序列的 CDR3；或

(8)包含 SEQ ID NO: 22 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 23 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 24 所示氨基酸序列的 CDR3；

优选地，所述第一抗原结合模块包含：包含 SEQ ID NO: 7 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 8 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 9 所示氨基酸序列的 CDR3；并且，所述第三抗原结合模块包含：包含 SEQ ID NO: 4 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 5 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 6 所示氨基酸序列的 CDR3，其中，X_1 选自 S 或 T；优选地，所述 X_1 为 T；或

优选地，所述第一抗原结合模块包含：包含 SEQ ID NO: 7 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 8 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 9 所示氨基酸序列的 CDR3；并且，所述第三抗原结合模块包含：包含 SEQ ID NO: 22 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 23 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 24 所示氨基酸序列的 CDR3。

3、根据权利要求 1 或 2 所述的多特异性抗体，其中，所述第一抗原结合模块和第三抗原结合模块各自独立地包含与 SEQ ID NO: 40、41、35、36、26、27、25、28、29、30、31、32、33、34、37、38、39 或 42 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列。

4、根据权利要求 1-3 中任一项所述的多特异性抗体，其中，所述第一抗原结合模块包含与 SEQ ID NO: 41 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列；

优选地，所述第一抗原结合模块包含与 SEQ ID NO: 27、36 或 37 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列；

更优选地，所述第一抗原结合模块包含与 SEQ ID NO: 36 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列。

5、根据权利要求 1-4 中任一项所述的多特异性抗体，其中，所述第三抗原结合模块包含与 SEQ ID NO: 40 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列；

优选地，所述第三抗原结合模块包含与 SEQ ID NO: 26、33、34 或 35 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列；更优选地，所述第三抗原结合模块包含与 SEQ ID NO: 35 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列；或

优选地，所述第三抗原结合模块包含与 SEQ ID NO: 42 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列；更优选地，所述第三抗原结合模块包含与 SEQ ID NO: 32、38 或 39 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列；更优选地，所述第三抗原结合模块包含与 SEQ ID NO: 38 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列。

6、根据权利要求 1-5 中任一项所述的多特异性抗体，其中，所述第一抗原结合模块和第三抗原结合模块选自以下任一项：

(1)所述第一抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 36 所示的氨基酸序列，并且所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 35 所示的氨基酸序列；

(2)所述第一抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 27 所示的氨基酸序列，并且所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 26 所示的氨基酸序列；

(3)所述第一抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 36 所示的氨基酸序列，并且所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 33 所示的氨基酸序列；

(4)所述第一抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 36 所示的氨基酸序列，并且所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 34 所示的氨基酸序列；

(5)所述第一抗原结合模块包含 SEQ ID NO:36 所示的氨基酸序列，并且所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 32 所示的氨基酸序列；

(6)所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 36 所示的氨基酸序列，并且所述第一抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 38 所示的氨基酸序列；或

(7)所述第三抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 36 所示的氨基酸序列，并且所述第一抗原结合模块包含 SEQ ID NO: 39 所示的氨基酸序列。

7、根据权利要求 1-6 中任一项所述的多特异性抗体，其中，所述单可变结构域是骆驼科动物的或人源化的。

8、根据权利要求 1-7 中任一项所述的多特异性抗体，其中，所述第二抗原结合模块包含重链可变区和轻链可变区，所述重链可变区包含：包含 SEQ ID NO: 63 所示氨基酸序列的 HCDR1，包含 SEQ ID NO: 64 所示氨基酸序列的 HCDR2，和包含 SEQ ID NO: 65 所示氨基酸序列的 HCDR3；并且所述轻链可变区包含：包含 SEQ ID NO: 66 所示氨基酸序列的 LCDR1，包含 SEQ ID NO: 67 所示氨基酸序列的 LCDR2，和包含 SEQ ID NO: 68 所示氨基酸序列的 LCDR3。

9、根据权利要求 1-8 中任一项所述的多特异性抗体，其中，所述第二抗原结合模块包含与 SEQ ID NO: 69 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列的重链可变区，和与 SEQ ID NO: 70 所示氨基酸序列具有

至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列的轻链可变区；

优选地，所述第二抗原结合模块的重链可变区包含 SEQ ID NO: 69 所示的氨基酸序列，并且其轻链可变区包含 SEQ ID NO: 70 所示的氨基酸序列。

10、根据权利要求 1-9 中任一项所述的多特异性抗体，其中，所述第二抗原结合模块是鼠源的、嵌合的或人源化的。

11、根据权利要求 1-10 中任一项所述的多特异性抗体，所述多特异性抗体还包含
(iv)由两个 Fc 多肽构成的 Fc 域；

优选地，所述 Fc 域是 IgG Fc 域，更优选为 IgG1 Fc 域；

优选地，所述 IgG Fc 域是人 IgG Fc 域，更优选为人 IgG1 Fc 域。

12、根据权利要求 1-11 中任一项所述的多特异性抗体，其中，所述 Fc 域包含促进所述 Fc 域的两个 Fc 多肽相缔合的氨基酸取代和/或减少或消除 Fc 域中的一个 Fc 多肽的 CH3 区与蛋白 A 的结合的氨基酸取代；

优选地，根据 EU 编号，所述 Fc 域的其中一个 Fc 多肽包含氨基酸取代：349C、366S、368A、407V、435R 和 436F，另一个 Fc 多肽包含氨基酸取代：354C 和 366W；或

优选地，根据 EU 编号，所述 Fc 域的其中一个 Fc 多肽包含氨基酸取代：349C、366S、368A、407V 和 435R，另一个 Fc 多肽包含氨基酸取代：354C 和 366W。

13、根据权利要求 1-12 中任一项所述的多特异性抗体，其中，所述第三抗原结合模块和所述第一抗原结合模块彼此融合，任选经由肽接头彼此融合；

优选地，所述第三抗原结合模块在其 C 端融合至第一抗原结合模块的 N 端；

优选地，所述第一抗原结合模块在其 C 端融合至所述 Fc 域的其中一个 Fc 多肽的 N 端，所述第二抗原结合模块为 Fab 且所述第二抗原结合模块在其 Fab 重链的 C 端融合至所述 Fc 域的另一个 Fc 多肽的 N 端。

14、根据权利要求 1-13 中任一项所述的多特异性抗体，其中，所述多特异性抗体由三条多肽链组成，其中：

(1)一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 77 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列，另一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 85 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列，还有一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 87 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列；

(2)一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 71 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列，另一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 85 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列，还有一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 87 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列；

(3)一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 73 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列，另一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 85 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列，还有一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 87 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列；

(4)一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 75 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列，另一条多肽链包含与 SEQ ID NO: 85 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、

96%、97%、98%、99%或100%的同一性的氨基酸序列，还有一条多肽链包含与SEQ ID NO: 87所示氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的同一性的氨基酸序列；

(5)一条多肽链包含与SEQ ID NO: 79所示氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的同一性的氨基酸序列，另一条多肽链包含与SEQ ID NO: 85所示氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的同一性的氨基酸序列，还有一条多肽链包含与SEQ ID NO: 87所示氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的同一性的氨基酸序列；

(6)一条多肽链包含与SEQ ID NO: 81所示氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的同一性的氨基酸序列，另一条多肽链包含与SEQ ID NO: 85所示氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的同一性的氨基酸序列，还有一条多肽链包含与SEQ ID NO: 87所示氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的同一性的氨基酸序列；或

(7)一条多肽链包含与SEQ ID NO: 83所示氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的同一性的氨基酸序列，另一条多肽链包含与SEQ ID NO: 85所示氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的同一性的氨基酸序列，还有一条多肽链包含与SEQ ID NO: 87所示氨基酸序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的同一性的氨基酸序列；

更优选地，所述多特异性抗体由三条多肽链组成，其中：

(1)一条多肽链包含SEQ ID NO: 77所示的氨基酸序列，另一条多肽链包含SEQ ID NO: 85所示的氨基酸序列，还有一条多肽链包含SEQ ID NO: 87所示的氨基酸序列；

(2)一条多肽链包含SEQ ID NO: 71所示的氨基酸序列，另一条多肽链包含SEQ ID NO: 85所示的氨基酸序列，还有一条多肽链包含SEQ ID NO: 87所示的氨基酸序列；

(3)一条多肽链包含SEQ ID NO: 73所示的氨基酸序列，另一条多肽链包含SEQ ID NO: 85所示的氨基酸序列，还有一条多肽链包含SEQ ID NO: 87所示的氨基酸序列；

(4)一条多肽链包含SEQ ID NO: 75所示的氨基酸序列，另一条多肽链包含SEQ ID NO: 85所示的氨基酸序列，还有一条多肽链包含SEQ ID NO: 87所示的氨基酸序列；

(5)一条多肽链包含SEQ ID NO: 79所示的氨基酸序列，另一条多肽链包含SEQ ID NO: 85所示的氨基酸序列，还有一条多肽链包含SEQ ID NO: 87所示的氨基酸序列；

(6)一条多肽链包含SEQ ID NO: 81所示的氨基酸序列，另一条多肽链包含SEQ ID NO: 85所示的氨基酸序列，还有一条多肽链包含SEQ ID NO: 87所示的氨基酸序列；或

(7)一条多肽链包含SEQ ID NO: 83所示的氨基酸序列，另一条多肽链包含SEQ ID NO: 85所示的氨基酸序列，还有一条多肽链包含SEQ ID NO: 87所示的氨基酸序列；

优选地，所述多特异性抗体是无岩藻糖基化的。

15、一种分离的核酸，其包含编码根据权利要求1-14中任一项所述的多特异性抗体的核苷酸序列。

16、一种制备根据权利要求1-14中任一项所述的多特异性抗体的方法，其包括培养包含根据权利要求15所述核酸的宿主细胞，使其表达所述的多特异性抗体，并且在体系中分离纯化所述多特异性抗体。

17、一种抗体药物偶联物，其包含根据权利要求1-14中任一项所述的多特异性抗体，以及细胞毒药物。

18、一种药物组合物，其包含根据权利要求1-14中任一项所述的多特异性抗体或权利要求17所述的抗体药物偶联物，以及药学上可接受的辅料。

19、一种治疗表达c-Met或/和EGFR的疾病的方法，其包括对有需要的受试者施用治疗有效量的根据权利要求1-14中任一项所述的多特异性抗体、权利要求17所述的抗体药物偶联物或权利要求18所述的

药物组合物；

优选地，所述疾病为肿瘤；

优选地，所述肿瘤为上皮细胞癌、乳腺癌、卵巢癌、肺癌、肺腺癌、结直肠癌、肛门癌、前列腺癌、肾癌、肝癌、膀胱癌、头颈癌、胃癌、胰腺癌、皮肤癌、口腔癌、咽癌、鼻癌、舌癌、食道癌、睾丸癌、阴道癌、宫颈癌、脾癌、睾丸癌、甲状腺癌、唾液腺癌或胸腺癌；

优选地，所述肺癌为非小细胞肺癌或小细胞肺癌；

任选地，所述方法还包括对有需要的受试者进一步施用一种或多种另外的治疗剂。

20、一种结合 c-Met 的抗体，其包含单可变结构域，所述单可变结构域包含：

(1)包含 SEQ ID NO: 4 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 5 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 6 所示氨基酸序列的 CDR3，其中，X_1 为 S 或 T；

(2)包含 SEQ ID NO: 7 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 8 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 9 所示氨基酸序列的 CDR3；

(3)包含 SEQ ID NO: 1 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 2 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 3 所示氨基酸序列的 CDR3；

(4)包含 SEQ ID NO: 10 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 11 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 12 所示氨基酸序列的 CDR3；

(5)包含 SEQ ID NO: 13 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 14 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 15 所示氨基酸序列的 CDR3；

(6)包含 SEQ ID NO: 16 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 17 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 18 所示氨基酸序列的 CDR3；

(7)包含 SEQ ID NO: 19 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 20 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 21 所示氨基酸序列的 CDR3；或

(8)包含 SEQ ID NO: 22 所示氨基酸序列的 CDR1，包含 SEQ ID NO: 23 所示氨基酸序列的 CDR2，和包含 SEQ ID NO: 24 所示氨基酸序列的 CDR3；

优选地，所述单可变结构域包含与 SEQ ID NO: 40、41、35、36、26、27、25、28、29、30、31、32、33、34、37、38、39 或 42 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列；

更优选地，所述单可变结构域包含 SEQ ID NO: 35、36、33、34、37、38 或 39 所示的氨基酸序列；

进一步优选地，所述单可变结构域包含 SEQ ID NO: 40、41 或 42 所示的氨基酸序列，同时所述单可变结构域不包含 SEQ ID NO: 29、30 或 31 所示的氨基酸序列；

进一步优选地，所述的单可变结构域是骆驼科动物的或人源化的；

进一步优选地，所述结合 c-Met 的抗体包含与 SEQ ID NO: 44、45、43、46、47、48、49、50、51、53、55、57 或 59 所示氨基酸序列具有至少 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%的同一性的氨基酸序列。