

双特异性抗体及其应用

优先权信息

5 本申请请求 2021 年 12 月 07 日向中国国家知识产权局提交的、专利申请号为 202111485404.0 的专利申请的优先权和权益，并且通过参照将其全文并入此处。

技术领域

10 本发明属于生物医药领域，具体地，涉及双特异性抗体及其应用，更具体地，涉及重组抗体、免疫细胞、核酸、表达载体、重组细胞、组合物、上述物质在制备药物中的用途、试剂盒。

背景技术

15 双特异性抗体是可同时特异性结合两个抗原位点的抗体。用于肿瘤治疗的双特异性抗体按照其作用机制可以分为三类：再导向效应细胞；免疫调节；靶向肿瘤细胞受体双重结合。其中，用于再导向功能的抗体在其中占据大多数，目前已经上市的两个用于肿瘤治疗的抗体也是基于 T 细胞再导向。根据双特异性抗体的特性，它也可以很好的运用于其他治疗体系中，例如双重免疫调节或者靶向同一细胞膜的两个分子。

20 B7H6 是属于 B7 家族的 I 型跨膜蛋白，它包含了 2 个免疫球蛋白结构域。B7H6 也是 NK 细胞活化性受体 NKp30 的配体。B7H6 在多种肿瘤细胞上均有表达，但是在人的正常组织和健康外周血单核细胞并没有检测到 B7H6 的 mRNA。在炎症环境中，一些促炎性细胞因子如 IL-1 β 和 TNF 可以刺激 CD14⁺ 和 CD16⁺ 单核细胞和中性粒细胞上调表达 B7H6。B7H6 的肿瘤表达谱非常广泛，这包括白血病、淋巴瘤、结直肠癌、非小细胞肺癌、乳腺癌、卵巢癌、胃癌和肝癌等。B7H6 的表达与一些癌症的转移也存在关联，但是在多数肿瘤中 B7H6 的作用目前还不清楚。目前，尽管 B7H6 在多种肿瘤中表达，但是针对这一分子的肿瘤治疗手段并不多。有研究者开发了针对 B7H6 的双特异性抗体，它的构建形式是 BiTE，这种形式不含有天然抗体的恒定区，因此也决定了这种分子在体内的半衰期很短，很大程度上限制了其使用。

25 在基于 T 细胞再导向的双特异性抗体中，CD3 这个靶点非常重要。与免疫卡控点阻断抗体不同的是，CD3 相关的双特异性抗体可以越过 TCR 和肽-主要组织相容性复合物 (pMHC) 来介导 T 细胞活化，但在突触中的分子发挥作用过程与经典 TCR-pMHC 相互作用很相似。双特异性抗体的活性受 CD3 亲和力的影响，CD3 高亲和力双特异性抗体在体外实验中有更好的促杀伤效果，但是在体内存在致命的细胞因子释放综合征毒性，这与嵌合抗原受体 (CAR) T 细胞毒性非常相似。同时有研究发现非常低亲和力的 CD3 抗体序列在构建双特异性抗体后也可以有效地刺激 T 细胞活化。当 CD3 抗体亲和力和在合适范围 (200 $\pm$ 78nM) 且肿瘤靶点相关抗体是高亲和力时，双特异性抗体会促使 T 细胞选择性地定位到肿瘤局部而不是在外周循环，避免全身活化。因此，开发靶向性强的双特异性抗体对肿瘤的预防及治疗具有极大的价值。

发明内容

30 本申请是基于发明人对以下事实和问题的发现和认识作出的：

35 本发明中，发明人对 CD3、B7H6 抗原结合片段进行多种组合和筛选，设计了重组双特异性抗体，所述重组双特异性重组抗体可以特异性结合 CD3 和特异性结合 B7H6，进而靶向性地将 B7H6 分子带入到肿瘤细胞附近，通过与肿瘤细胞上的 B7H6 分子结合促使 CD3⁺ 的淋巴细胞与肿瘤细胞形成免疫突触，从而使淋巴细胞活化杀伤 B7H6⁺ 的肿瘤细胞，所述重组双特异性抗体具有较高的 CD3 和 B7H6 结合活性，且抗肿瘤活性较高。

40 因此，在本发明的第一方面，本发明提出了一种重组抗体。根据本发明的实施例，所述重组抗体含有选自下列至少之一的 CDR 序列或与其具有至少 95% 同一性的氨基酸序列：CD3 抗体可变区 CDR 序列：SEQ ID NO: 1~6；B7H6 抗体可变区 CDR 序列：SEQ ID NO: 7~12。根据本发明实施例的重组抗体可以有效与 CD3、B7H6 进行结合，具有较强的体内、外结合活性，以及较长的体内半衰期，抗肿瘤效果显著。

45 RASQDIRNYLN (SEQ ID NO: 1)。
YTSRLES (SEQ ID NO: 2)。
QQGNTLPWT (SEQ ID NO: 3)。
GYTMN (SEQ ID NO: 4)。
LINPYKGVSTYNQKFKD (SEQ ID NO: 5)。
SGYYGDSDWYFDV (SEQ ID NO: 6)。
KASQSVDYDGD SYMN (SEQ ID NO: 7)。
AAS TLHS (SEQ ID NO: 8)。
QQSKEDPRT (SEQ ID NO: 9)。

DYNMD (SEQ ID NO: 10)。

DINPNNGGTLYNQKFRG (SEQ ID NO: 11)。

SEVFYGNADY (SEQ ID NO: 12)。

5 在本发明的第二方面，本发明提出了一种重组抗体。根据本发明的实施例，具有 SEQ ID NO: 49 和 63 所示的氨基酸序列。根据本发明实施例的重组抗体可以有效与 CD3、B7H6 进行结合，具有较强的体内、外结合活性，以及较长的体内半衰期，抗肿瘤效果显著。

MDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDIRNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL
QPEDFATYYCQQGNTLPWTFGQGTKVEIKGGGSGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFTGYTMN
WVRQAPGKGLEWVALINPYKGSTYNQKFKDRFTISVDKSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGYYGDSWDYFDVW
10 GQGTLVTSSEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH
NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSL
WCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
GK (SEQ ID NO: 49)。

DIVLTQTPSLSVTPGQPASISCKASQSVDDYDGSYMNWYLQKPGQPPQLLIYAASLTHSGIPDRFSGSGSGTDFTLKI
15 SRVEAEDVGVYYCQQSKEDPRIFGQGTKLEIKGGGSGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTD
YNMDWVRQAPGQGLEWIGDINPNNGGTLYNQKFRGRVTLTVDTSISTAYMELSRSDDTAVYYCARSEVFYGNADY
WGQGTITVTSSEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV
HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSSRDELTKNQVS
LSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLS
20 PGK (SEQ ID NO: 63)。

在本发明的第三方面，本发明提出了一种核酸。根据本发明的实施例，所述核酸编码第一方面所述的重组抗体。根据本发明实施例的核酸编码的重组抗体可以有效与 CD3、B7H6 进行结合，具有较强的体内、外结合活性，以及较长的体内半衰期，抗肿瘤效果显著。

25 在本发明的第四方面，本发明提出了一种表达载体。根据本发明的实施例，所述表达载体携带第三方面所述的核酸分子。所述表达载体可包括可选的控制序列，所述控制序列与所述核酸分子可操作地连接。其中，所述控制序列为可指导所述核酸分子在宿主中表达的一个或多个控制序列。本发明实施例所提出的表达载体可在适合的宿主细胞中高效大量表达所述重组抗体，进而可有效用于对肿瘤，特别是表达 B7H6 的肿瘤的特异性治疗或预防。

30 在本发明的第五方面，本发明提出了一种重组细胞。根据本发明的实施例，所述重组细胞携带第三方面所述的核酸分子、第四方面所述的表达载体或第一方面所述的重组抗体。所述重组细胞是通过转染或者转化所述表达载体获得的。根据本发明的实施例，所述重组细胞在合适条件下可高效大量表达上述重组抗体，所述重组细胞可有效用于对肿瘤，特别是表达 B7H6 的肿瘤的特异性治疗或预防。

35 在本发明的第六方面，本发明提出了一种组合物。根据本发明的实施例，包括第一方面或第二方面所述的重组抗体、第三方面所述的核酸分子、第四方面所述的表达载体或第五方面所述的重组细胞。如前所述，本发明实施例的重组抗体可以有效与 CD3 或 B7H6 蛋白分子结合，进而可特异性识别高表达所述 B7H6 的肿瘤细胞，并促使 T 细胞选择性地定位到肿瘤局部而不是在外周循环，避免全身活化，包含所述重组抗体的药物同样具有显著的治疗或预防表达 B7H6 的肿瘤的作用，其安全性更高、副作用更小。

40 在本发明的第七方面，本发明提出了第一方面或第二方面所述的重组抗体、第三方面所述的核酸分子、第四方面所述的表达载体、第五方面所述的重组细胞或第六方面所述的组合物在制备药物中的用途。根据本发明的实施例，所述药物用于治疗或预防癌症。如前所述，本发明实施例的重组抗体可以有效与 CD3 和 B7H6 蛋白结合，进而可特异性识别高表达所述 B7H6 的肿瘤细胞，利用所述重组抗体及其相应的一系列物质制备的药物同样具有显著的治疗或预防表达 B7H6 的肿瘤的作用，其安全性更高、副作用更小。

45 在本发明的第八方面，本发明提出了一种药物。根据本发明的实施例，包括：第一方面或第二方面所述的重组抗体、第三方面所述的核酸分子、第四方面所述的表达载体、第五方面所述的重组细胞或第六方面所述的组合物，所述药物用于治疗或预防癌症。如前所述，本发明实施例的重组抗体可以有效与 CD3 和 B7H6 蛋白结合，进而可特异性识别高表达所述 B7H6 的肿瘤细胞，利用所述重组抗体及其相应的一系列物质制备的药物同样具有显著的治疗或预防表达 B7H6 的肿瘤的作用，其安全性更高、副作用更小。

50 在本发明的第九方面，本发明提出了一种试剂盒。根据本发明的实施例，包括：第一方面或第二方面所述的重组抗体。根据本发明实施例的抗体可以有效与 CD3 和 B7H6 蛋白分子结合，进而可特异性识别特异性高表达所述 B7H6 的肿瘤细胞因此，所述重组抗体可用于制备诊断或检测直肠癌、非小细胞肺癌、乳腺癌和肝癌中的至少之一的试剂盒，所述试剂盒可用科学研究，如定性或定量检测生物样本中的 CD3 和/或 B7H6 蛋白分子。

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

附图说明

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

图 1 是根据本发明实施例的重组双特异性抗体的结构示意图；

图 2A 是根据本发明实施例的 CD3×B7H6 重组双特异性抗体与人 B7H6 蛋白结合分析结果图；

5 图 2B 是根据本发明实施例的 CD3×B7H6 重组双特异性抗体与人 CD3 蛋白结合分析结果图；

图 2C 是根据本发明实施例的 CD3×B7H6 重组双特异性抗体与 B7H6 和人 CD3 双抗原 ELISA 检测结果图；

图 3A 是根据本发明实施例的 CD3×B7H6 重组双特异性抗体与 T 细胞对 HCT-15 细胞的体外细胞毒性实验分析结果图；

图 3B 是根据本发明实施例的 CD3×B7H6 重组双特异性抗体与 T 细胞对 LoVo 细胞的体外细胞毒性实验分析结果图；

图 3C 是根据本发明实施例的 CD3×B7H6 重组双特异性抗体与 T 细胞对 Hep G2 细胞的体外细胞毒性实验结果图；

10 图 3D 是根据本发明实施例的 CD3×B7H6 重组双特异性抗体与 T 细胞对 SK-BR-3 细胞的体外细胞毒性实验结果图；

图 4A 是根据本发明实施例的 T 细胞与过表达荧光素酶的 Ho8910 细胞混合后加入梯度浓度的 CD3×B7H6 重组双特异性抗体分子，24 小时后加入底物反应后检测到的化学发光值的分析结果图；

图 4B 是根据本发明实施例的 T 细胞与过表达荧光素酶的 K562 细胞混合后加入梯度浓度的 CD3×B7H6 双特异性抗体分子，24 小时后加入底物反应后检测到的化学发光值的分析结果图；

15 图 5A 是根据本发明实施例的 HCT-15 细胞存在下 CD3×B7H6 重组双特异性抗体分子对 T 细胞增殖影响的结果图；

图 5B 是根据本发明实施例的 HCT-15 细胞存在下 CD3×B7H6 重组双特异性抗体分子对 T 细胞增殖影响的统计分析图；

以及

图 6A 是根据本发明实施例的 HCT-15 细胞存在下 CD3×B7H6 重组双特异性抗体分子对 CD4⁺和 CD8⁺T 细胞活化的影响结果图；

20 图 6B 是根据本发明实施例的 HCT-15 细胞存在下 CD3×B7H6 重组双特异性抗体分子对 CD4⁺和 CD8⁺T 细胞脱颗粒水平的影响结果图；

图 7A 是根据本发明实施例的 HCT-15 细胞存在下 CD3×B7H6 重组双特异性抗体分子对 T 细胞分泌 IFN- γ 的影响结果图；

25 图 7B 是根据本发明实施例的 HCT-15 细胞存在下 CD3×B7H6 重组双特异性抗体分子对 T 细胞分泌 IL-2 的影响结果图；

图 7C 是根据本发明实施例的 HCT-15 细胞存在下 CD3×B7H6 重组双特异性抗体分子对 T 细胞分泌 IL-10 的影响结果图；

图 7D 是根据本发明实施例的 HCT-15 细胞存在下 CD3×B7H6 重组双特异性抗体分子对 T 细胞分泌 IL-17A 的影响结果图；以及

30 图 8 是根据本发明实施例的 CD3×B7H6 重组双特异性抗体分子对于 HCT-15 细胞的体内抗肿瘤活性结果图。

具体实施方式

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

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

重组抗体

40 在本发明的第一方面，本发明提出了一种重组抗体。根据本发明的一些具体实施例，所述重组抗体包含与 CD3 结合的第一抗原结合区以及与 B7H6 特异性结合的第二抗原结合区。根据本发明实施例的重组抗体可以有效与 T 细胞上的 CD3 以及肿瘤细胞上的 B7H6 进行结合，具有较强的体内、外结合活性，以及较长的体内半衰期，通过与 T 细胞以及肿瘤细胞同时结合使得两种细胞形成细胞突触，抗肿瘤效果显著。

根据本发明的一些具体实施例，上述重组抗体还可以进一步包括如下附加技术特征至少之一：

45 根据本发明的一些具体实施例，所述重组抗体含有选自下列至少之一的 CDR 序列或与其具有至少 95%同一性的氨基酸序列：CD3 抗体可变区 CDR 序列：SEQ ID NO: 1~6；B7H6 抗体可变区 CDR 序列：SEQ ID NO: 7~12。根据本发明实施例的重组抗体可以有效与 CD3、B7H6 进行结合，具有较强的体内、外结合活性，以及较长的体内半衰期，抗肿瘤效果

显著。

RASQDIRNYLN (SEQ ID NO: 1)。

YTSRLES (SEQ ID NO: 2)。

QQGNTLPWT (SEQ ID NO: 3)。

5 GYTMN (SEQ ID NO: 4)。

LINPYKGVSTYNQKFKD (SEQ ID NO: 5)。

SGYYGDSWDYFDV (SEQ ID NO: 6)。

KASQSVDDYDGSYMN (SEQ ID NO: 7)。

AASTLHS (SEQ ID NO: 8)。

10 QQSKEDPRT (SEQ ID NO: 9)。

DYNMD (SEQ ID NO: 10)。

DINPNNGGTLYNQKFRG (SEQ ID NO: 11)。

SEVFGNYADY (SEQ ID NO: 12)。

根据本发明的一些具体实施例，含有 CD3 抗体的可变区，所述 CD3 抗体的可变区具有如 SEQ ID NO: 13 所示的轻链可变区，和 SEQ ID NO: 14 所示的重链可变区，或者与 SEQ ID NO: 13 和 SEQ ID NO: 14 所示的氨基酸序列具有至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 99% 同一性的氨基酸序列。

MDIQMTQSPSSLASVGDRTITCRASQDIRNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL
QPEDFATYYCQQGNTLPWTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 13)。

20 EVQLVESGGGLVPGGSLRLSCAASGYSFTGYTMNWVRQAPGKGLEWVALINPYKGVSTYNQKFKDRFTISVDKSK
NTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGYYGDSWYFDVWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 14)。

根据本发明的一些具体实施例，所述抗体含有 B7H6 抗体的可变区，所述 B7H6 抗体的可变区具有如 SEQ ID NO: 20 所示的轻链可变区，和 SEQ ID NO: 23 所示氨基酸序列的重链可变区，或者与 SEQ ID NO: 20 和 SEQ ID NO: 23 所示的氨基酸序列具有至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 99% 同一性的氨基酸序列。

25 DIVLTQTPLSLSVTPGQPASISCKASQSVDDYDGSYMNWYLQKPGQPPQLLIYAASSTLHSGIPDRFSGSGSGTDFTLKI
SRVEAEDVGVYYCQQSKEDPRTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 20)。

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYNMDWVRQAPGQGLEWIGDINPNNGGTLYNQKFRGRVTLTVDTST
ISTAYMELSRSLRSDDTAVYYCARSEVFGNYADYWGQGTITVTVSS (SEQ ID NO: 23)。

30 根据本发明的一些具体实施例，所述 B7H6 抗体的可变区具有如 SEQ ID NO: 16 所示的轻链可变区，和 SEQ ID NO: 22 所示氨基酸序列的重链可变区，或者与 SEQ ID NO: 16 和 SEQ ID NO: 22 所示的氨基酸序列具有至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 99% 同一性的氨基酸序列。

根据本发明的一些具体实施例，所述 B7H6 抗体的可变区具有如 SEQ ID NO: 16 所示的轻链可变区，和 SEQ ID NO: 23 所示氨基酸序列的重链可变区，或者与 SEQ ID NO: 16 和 SEQ ID NO: 23 所示的氨基酸序列具有至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 99% 同一性的氨基酸序列。

35 根据本发明的一些具体实施例，所述 B7H6 抗体的可变区具有如 SEQ ID NO: 16 所示的轻链可变区，和 SEQ ID NO: 24 所示氨基酸序列的重链可变区，或者与 SEQ ID NO: 16 和 SEQ ID NO: 24 所示的氨基酸序列具有至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 99% 同一性的氨基酸序列。

根据本发明的一些具体实施例，所述 B7H6 抗体的可变区具有如 SEQ ID NO: 16 所示的轻链可变区，和 SEQ ID NO: 25 所示氨基酸序列的重链可变区，或者与 SEQ ID NO: 16 和 SEQ ID NO: 25 所示的氨基酸序列具有至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 99% 同一性的氨基酸序列。

40 根据本发明的一些具体实施例，所述 B7H6 抗体的可变区具有如 SEQ ID NO: 17 所示的轻链可变区，和 SEQ ID NO: 22 所示氨基酸序列的重链可变区，或者与 SEQ ID NO: 17 和 SEQ ID NO: 22 所示的氨基酸序列具有至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 99% 同一性的氨基酸序列。

45 根据本发明的一些具体实施例，所述 B7H6 抗体的可变区具有如 SEQ ID NO: 17 所示的轻链可变区，和 SEQ ID NO: 23 所示氨基酸序列的重链可变区，或者与 SEQ ID NO: 17 和 SEQ ID NO: 23 所示的氨基酸序列具有至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 99% 同一性的氨基酸序列。

根据本发明的一些具体实施例，所述 B7H6 抗体的可变区具有如 SEQ ID NO: 17 所示的轻链可变区，和 SEQ ID NO: 24

所示氨基酸序列的重链可变区，或者与 SEQ ID NO: 17 和 SEQ ID NO: 24 所示的氨基酸序列具有至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 99% 同一性的氨基酸序列。

根据本发明的一些具体实施例，所述 B7H6 抗体的可变区具有如 SEQ ID NO: 17 所示的轻链可变区，和 SEQ ID NO: 25 所示氨基酸序列的重链可变区，或者与 SEQ ID NO: 17 和 SEQ ID NO: 25 所示的氨基酸序列具有至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 99% 同一性的氨基酸序列。

根据本发明的一些具体实施例，所述 B7H6 抗体的可变区具有如 SEQ ID NO: 19 所示的轻链可变区，和 SEQ ID NO: 22 所示氨基酸序列的重链可变区，或者与 SEQ ID NO: 19 和 SEQ ID NO: 22 所示的氨基酸序列具有至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 99% 同一性的氨基酸序列。

根据本发明的一些具体实施例，所述 B7H6 抗体的可变区具有如 SEQ ID NO: 19 所示的轻链可变区，和 SEQ ID NO: 23 所示氨基酸序列的重链可变区，或者与 SEQ ID NO: 19 和 SEQ ID NO: 23 所示的氨基酸序列具有至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 99% 同一性的氨基酸序列。

根据本发明的一些具体实施例，所述 B7H6 抗体的可变区具有如 SEQ ID NO: 19 所示的轻链可变区，和 SEQ ID NO: 24 所示氨基酸序列的重链可变区，或者与 SEQ ID NO: 19 和 SEQ ID NO: 24 所示的氨基酸序列具有至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 99% 同一性的氨基酸序列。

根据本发明的一些具体实施例，所述 B7H6 抗体的可变区具有如 SEQ ID NO: 19 所示的轻链可变区，和 SEQ ID NO: 25 所示氨基酸序列的重链可变区，或者与 SEQ ID NO: 19 和 SEQ ID NO: 25 所示的氨基酸序列具有至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 99% 同一性的氨基酸序列。

根据本发明的一些具体实施例，所述 B7H6 抗体的可变区具有如 SEQ ID NO: 20 所示的轻链可变区，和 SEQ ID NO: 22 所示氨基酸序列的重链可变区，或者与 SEQ ID NO: 20 和 SEQ ID NO: 22 所示的氨基酸序列具有至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 99% 同一性的氨基酸序列。

根据本发明的一些具体实施例，所述 B7H6 抗体的可变区具有如 SEQ ID NO: 20 所示的轻链可变区，和 SEQ ID NO: 24 所示氨基酸序列的重链可变区，或者与 SEQ ID NO: 20 和 SEQ ID NO: 24 所示的氨基酸序列具有至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 99% 同一性的氨基酸序列。

根据本发明的一些具体实施例，所述 B7H6 抗体的可变区具有如 SEQ ID NO: 20 所示的轻链可变区，和 SEQ ID NO: 25 所示氨基酸序列的重链可变区，或者与 SEQ ID NO: 20 和 SEQ ID NO: 25 所示的氨基酸序列具有至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 99% 同一性的氨基酸序列。

根据本发明的一些具体实施例，所述 B7H6 抗体的可变区具有如 SEQ ID NO: 15 所示的轻链可变区，和 SEQ ID NO: 26 所示氨基酸序列的重链可变区，或者与 SEQ ID NO: 15 和 SEQ ID NO: 26 所示的氨基酸序列具有至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 99% 同一性的氨基酸序列。

根据本发明的一些具体实施例，所述 B7H6 抗体的可变区具有如 SEQ ID NO: 18 所示的轻链可变区，和 SEQ ID NO: 21 所示氨基酸序列的重链可变区，或者与 SEQ ID NO: 18 和 SEQ ID NO: 21 所示的氨基酸序列具有至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 99% 同一性的氨基酸序列。

DIVLTQSPVSLAVPLGQRATISCKASQSVDDYDGDSYMNWYQKPGQPPKLLIYAASLTLSGIPVRFSGSGSGTDFLTNI
HPVEEEDAASYCQQSKDPRTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 15)。

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSVDDYDGDSYMNWYQKPGQPPKLLIYAASLTLSGVPDRFSGSGSGTDFLT
ISSLQAEDVAVYYCQQSKDPRTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 16)。

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSVDDYDGDSYMNWYQKPGQPPKLLIYAASLTLSGIPDRFSGSGSGTDFLT
SSLQAEDVAVYYCQQSKDPRTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 17)。

DIVLTQSPVSLAVPLGQRATISCKASQSVDDYDADSYMNWYQKPGQPPKLLIYAASLTLSGIPVRFSGSGSGTDFLTNI
HPVEEEDAASYCQQSKDPRTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 18)。

DIVLTQTPLSLSVTPGQPASISCKASQSVDDYDGDSYMNWYQKPGQPPKLLIYAASLTLSGVPDRFSGSGSGTDFLT
SRVEAEDVGVYYCQQSKDPRTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 19)。

EVLLQSQSGPEVVKPGASVKITCKASGYTFTDYNMDWVKQSHGKSLEWIGDINPNNGGTLNQNKFRGRVTLIVDKSS
STAYMELRSLTSDDTAVYYCARSEVFGYNYADYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 21)。

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTDYNMDWVRQAPGQGLEWMGDINPNNGGTLNQNKFRGRVTMTVD
TSISTAYMELSRSLTSDDTAVYYCARSEVFGYNYADYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 22)。

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYNMDWVRQAPGKGLEWIGDINPNNGGTLYNQKFRGRVTLTVDKS
ISTAYMEI SRI RSDDTAVYYCARSEVFYGYADYWGOGTTTVSS (SEQ ID NO: 25)。

根据本发明的一些具体实施例, 所述连接肽具有 SEQ ID NO: 46 所示的氨基酸序列。

GGGGS GGGGS GGGGS (SEO ID NO: 46).

根据本发明的一些具体实施例, 所述所述连接肽的 N 端与所述 B7H6 轻链可变区的 C 端相连, 所述连接肽的 C 端与所述 B7H6 重链可变区的 N 端相连。

根据本发明的一些具体实施例，所述第一 Fc 区和第二 Fc 区的至少一部分来自人源 IgG1 或其突变体。

根据本发明的一些具体实施例,所述第一Fc区与野生型IgG1 Fc区相比具有S384C突变和T396W突变中的至少之一。

根据本发明的一些具体实施例, 所述第一抗体 Fc 区具有如 SEQ ID NO:47 所示的氨基酸序列, 所述第二抗体 Fc 区具有如 SEQ ID NO:48 所示的氨基酸序列。

EPKSCDKTHTCPCPAPEAAGGSPVFLPPPKDKTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
EEQYNSTYRVVSVLTVLHODWLNKGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPOVCTLPPSRDELTKNQVSLTCAVKG

在本发明的第二方面，本发明提出了一种重组抗体。根据本发明的实施例，具有 SEQ ID NO: 49 和 63 所示的氨基酸序列。根据本发明实施例的重组抗体可以有效与 CD3、B7H6 进行结合，具有较强的体内、外结合活性，以及较长的体内半衰期，抗肿瘤效果显著。

DIVLTQTPLSLSVTPGQPASISCKASQSVDDYDGDSDYMNWYLQKPGQPPQLLIYAASLHSGIPDRFSGSGSGDTFTLKI
SRVEAEDVGYYCQQSKEDPRFTGGQTKLEIKGGGSGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTD
YNMDWVRQAPGGGLEWIGDINPNNGGTLYNQKFRGRVTLTVDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARSEVFGNYADY
WGOGTTVTVSSEPKSCDKTHTCPPCPAEPAAAGGPSVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV

6

LSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 63)。

预防或治疗组合物

5 在本发明的第三方面，本发明提出了一种核酸，所述核酸编码前面所述的重组抗体。根据本发明一些具体实施列的核酸编码的重组抗体可以有效与 CD3、B7H6 进行结合，具有较强的体内、外结合活性，以及较长的体内半衰期，抗肿瘤效果显著。

根据本发明的一些具体实施列，所述核酸具有 SEQ ID NO: 69 所示的核苷酸序列，以及 SEQ ID NO: 70-87 所示的核苷酸序列中的至少之一。

编码 CD3 抗体的核苷酸序列

10 CAGGCCGTGGTGACCCAGGAGCCCTCCCTGACCGTGTCCCCGGCGGCACCGTGACCCTGACCTGCAGGTCCTC
CACCGGCGCCGTGACCACTCCAACCTACGCCAAGTGGGTGCAGCAGAAGCCCGGCCAGGCCCCAGGGGCCTGATC
GGCGGCACCAACAAGAGGGCCCCCTGGACCCCCGCCAGGTTCTCCGGCTCCCTGCTGGGCGGCAAGGCCGCCCTGA
CCATCACCGGCGCCAGGCCGAGGACGAGGCCGACTACTACTGCGCCCTGTGGTACTCCAACCTGTGGGTGTTTCGGC
GGCGGCACCAAGCTGACCGTGTGGGCGGAGGCGGTGGATCAGGCGGAGGTGGCTCAGGTGGAGGCGGTTCTGAG
15 GTGCAGCTGGTGGAGTCCGGCGGCGGCCCTGGTGCAGCCCGGCGGCTCCCTGAGGCTGTCTGCGCCGCTCCGGCTT
CACCTTCAACACCTACGCCATGAACCTGGGTGAGGCAAGCCCCGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGGCCAGGATCAGG
TCCAAGTACAACAACCTACGCCACCTACTACGCCGACTCCGTGAAGGACAGGTTACCATCTCCAGGGACGACTCCAA
GAACTCCCTGTACCTGCAGATGAACCTCCCTGAAGACCGAGGACACCGCCGTGTAATACTGCGTGAGGCACGGCAACT
TCGGCAACTCCTACGTGTCTGGTTCGCCTACTGGGGCCAGGGCACCTGGTGACCGTGTCTCCGAGCCCAAGTCC
20 TCGCACAAGACCCACACCTGCCCCCCCTGCCCGCCCCGAGGCCGCCGGCGGCCCTCCGTGTTCTGTTCCTGTTCCCCC
CAAGCCCAAGGACACCTGATGATCTCCAGGACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCACGAGGAC
CCCAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCAGGGAGGAGCAG
TACAACTCCACCTACAGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGCACCGAGGACTGGGTGAACGGCAAGGAGTACAAGT
GCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCCGCCCCATCGAGAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCAGGGAGCC
25 CCAGGTGTACACCTGCCCCCTGCAGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGTGGTGCCTGGTGAAGGGC
TTCTACCCCTCCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGTCCAACGCCAGCCGAGAACAATAACAAGACCACCCCCCTGT
GCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTGTACTCCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGT
TCTCTGTCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCCCCCGCAAGTAA
(SEQ ID NO: 69)。

30 编码 B7H6-1 抗体的核苷酸序列

GACATCGTGCTGACCCAGTCCCCGACTCCCTGGCCGTGTCCCTGGGCGAGAGGGCCACCATCAACTGCAAGGC
CTCCAGTCCGTGGACTACGACGGCGACTCCTACATGAAGTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCCAGCCCCCAAGCTGC
TGATCTACGCCGCTCCACCTGCACTCCGGCGTGCCCGACAGGTTCTCCGGCTCCGGCTCCGGCACCGACTTACCC
TGACCATCTCTCCCTGCAGGCCGAGGACGTGGCCGTGTAATACTGCCAGCAGTCCAAGGAGGACCCAGGACCTTC
35 GGCCAGGGCACCAGCTGGAGATCAAGGGAGGCGGTGGATCAGGCGGAGGTGGCTCAGGTGGAGGCGGTTCTGAG
GTGCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCCGAGGTGAAGAAGCCCGGCGCCTCCGTGAAGGTGTCTGCAAGGCCCTCCGGCT
ACACCTTACCGACTACAACATGGACTGGGTGAGGCAGGCCCCCGGCCAGGGCCTGGAGTGGATGGGCGACATCAA
CCCCAACACGGCGGCACCTGTACAACCAGAAGTTACGGGGCAGGGTGACCATGACCGTGGACACCTCCATCTCC
ACCGCTACATGGAGCTGTCCAGGCTGAGGTCCGACGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGTCCGAGGTGTTCTA
40 CGGCAACTACGCCGACTACTGGGGCCAGGGCACCACTGACCGTGTCTCCGAGCCCAAGTCTGCGACAAGACC
CACACCTGCCCCCTGCCCGCCCCGAGGCCGCCGGCGGCCCTCCGTGTTCTGTTCCCCCAAGCCCAAGGA
CACCTGATGATCTCCAGGACCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCCGAGGTGAAG
TTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAGCCAGGGAGGAGCAGTACAACCTCCACCT
ACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGCACAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTGTCCAA
45 CAAGGCCCTGCCCGCCCCATCGAGAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCAGGGAGCCCCAGGTGTGCACC
CTGCCCCCTCCAGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGTCTGCGCCGTGAAGGGCTTCTACCCCTCCGA

CATCGCCGTGGAGTGGGAGTCCAACGGCCAGCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCGTGTGGACTCCGAC
GGCTCCTTCTCTCTGGTGTCCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCGT
GATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCCCCGGCAAGTAA (SEQ ID NO: 70)。

编码 B7H6-2 抗体的核苷酸序列

5 GACATCGTGTGACCCAGTCCCCGACTCCCTGGCCGTGTCCCTGGGCGAGAGGGCCACCATCAACTGCAAGGC
CTCCCAGTCCGTGGACTACGACGGCGACTCCTACATGAAGTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCCAGCCCCCAAGCTGC
TGATCTACGCCGCTCCACCCTGCACTCCGGCGTGCCGACAGGTTCTCCGGCTCCGGCTCCGGCACCAGACTTCACCC
TGACCATCTCTCCCTGCAGGCCGAGGACGTGGCCGTGTACTACTGCCAGCAGTCCAAGGAGGACCCAGGACCTTC
GGCCAGGGACCAAGCTGGAGATCAAGGGAGGCGGTGGATCAGGCGGAGGTGGCTCAGGTGGAGGCGGTTCTGAG
10 GTGCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCCGAGGTGAAGAAGCCCGGCGCCTCCGTGAAGGTGTCTGCAAGGCCTCCGGCT
ACACCTTCACCGACTACAACATGGACTGGGTGAGGACAGGCCCCCGGCCAGGGCTGGAGTGGATCGGCGACATCAA
CCCCAACAAACGGCGGCACCCTGTACAACCAGAAGTTAGGGGCGAGGTGACCTGACCGTGGACACCTCCATCTCC
ACCGCTACATGGAGCTGTCCAGGCTGAGGTCCGACGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGTCCGAGGTGTTCTA
CGGCAACTACGCCGACTACTGGGGCCAGGGCACCACCGTGACCGTGTCTCCGAGCCCAAGTCTGCGACAAGACC
15 CACACCTGCCCCCTGCCCCGCCCCGAGGCCGCGGCGGCCCTCCGTGTTCTGTTCCCCCAAGCCCAAGGA
CACCCTGATGATCTCCAGGACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCCGAGGTGAAG
TTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTACAACCTCCACCT
ACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTGTCCAA
CAAGGCCCTGCCCCCCCCATCGAGAAGACCATCTCAAGGCCAAGGGCCAGCCAGGGAGCCCCAGGTGTGCACC
20 CTGCCCCCTCCAGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGTCTGCGCCGTGAAGGGCTTCTACCCCTCCGA
CATCGCCGTGGAGTGGGAGTCCAACGGCCAGCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCGTGTGGACTCCGAC
GGCTCCTTCTCTCTGGTGTCCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCGT
GATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCCCCGGCAAGTAA (SEQ ID NO: 71)。

编码 B7H6-3 抗体的核苷酸序列

25 GACATCGTGTGACCCAGTCCCCGACTCCCTGGCCGTGTCCCTGGGCGAGAGGGCCACCATCAACTGCAAGGC
CTCCCAGTCCGTGGACTACGACGGCGACTCCTACATGAAGTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCCAGCCCCCAAGCTGC
TGATCTACGCCGCTCCACCCTGCACTCCGGCGTGCCGACAGGTTCTCCGGCTCCGGCTCCGGCACCAGACTTCACCC
TGACCATCTCTCTCCCTGCAGGCCGAGGACGTGGCCGTGTACTACTGCCAGCAGTCCAAGGAGGACCCAGGACCTTC
GGCCAGGGACCAAGCTGGAGATCAAGGGAGGCGGTGGATCAGGCGGAGGTGGCTCAGGTGGAGGCGGTTCTGAG
30 GTGCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCCGAGGTGAAGAAGCCCGGCGCCTCCGTGAAGGTGTCTGCAAGGCCTCCGGCT
ACACCTTCACCGACTACAACATGGACTGGGTGAGGACAGGCCCCCGGCCAGGGCTGGAGTGGATCGGCGACATCAA
CCCCAACAAACGGCGGCACCCTGTACAACCAGAAGTTAGGGGCGAGGTGACCTGACCGTGGACAAGTCCATCTCC
ACCGCTACATGGAGCTGTCCAGGCTGAGGTCCGACGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGTCCGAGGTGTTCTA
CGGCAACTACGCCGACTACTGGGGCCAGGGCACCACCGTGACCGTGTCTCCGAGCCCAAGTCTGCGACAAGACC
35 CACACCTGCCCCCTGCCCCGCCCCGAGGCCGCGGCGGCCCTCCGTGTTCTGTTCCCCCAAGCCCAAGGA
CACCCTGATGATCTCCAGGACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCCGAGGTGAAG
TTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTACAACCTCCACCT
ACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTGTCCAA
CAAGGCCCTGCCCCCCCCATCGAGAAGACCATCTCAAGGCCAAGGGCCAGCCAGGGAGCCCCAGGTGTGCACC
40 CTGCCCCCTCCAGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGTCTGCGCCGTGAAGGGCTTCTACCCCTCCGA
CATCGCCGTGGAGTGGGAGTCCAACGGCCAGCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCGTGTGGACTCCGAC
GGCTCCTTCTCTCTGGTGTCCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCGT
GATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCCCCGGCAAGTAA (SEQ ID NO: 72)。

编码 B7H6-4 抗体的核苷酸序列

45 GACATCGTGTGACCCAGTCCCCGACTCCCTGGCCGTGTCCCTGGGCGAGAGGGCCACCATCAACTGCAAGGC
CTCCCAGTCCGTGGACTACGACGGCGACTCCTACATGAAGTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCCAGCCCCCAAGCTGC

- TGATCTACGCCGCTCCACCCTGCACTCCGGCGTGCCCGACAGGTTCTCCGGCTCCGGCTCCGGCACCGACTTCACCC
TGACCATCTCCTCCCTGCAGGCCGAGGACGTGGCCGTGTACTACTGCCAGCAGTCCAAGGAGGACCCAGGACCTTC
GGCCAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAGGGAGGCGGTGGATCAGGCGGAGGTGGCTCAGGTGGAGGCGGTTCTGAG
GTGCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCCGAGGTGAAGAAGCCCCGGCGCCTCCGTGAAGGTGTCTGCAAGGCCCTCCGGCT
5 ACACCTTCACCGACTACAACATGGACTGGGTGAGGCAGGCCCCCGCAAGGGCTGGAGTGGATCGGCGACATCAA
CCCCAACACGGCGGCACCTGTACAACCAGAAAGTTCAGGGGCAGGGTGACCTGACCGTGGACAAGTCCATCTCC
ACCGCTACATGGAGCTGTCCAGGCTGAGGTCCGACGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGTCCGAGGTGTTCTA
CGGCAACTACGCCGACTACTGGGGCCAGGGCACACCGTGACCGTGTCTCCGAGCCCAAGTCTGCGACAAGACC
CACACCTGCCCCCTGCCCCGCCCCGAGGCGCGCGGCCCTCCGTGTTCTGTTCCCCCAAGCCCAAGGA
10 CACCCTGATGATCTCCAGGACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCCGAGGTGAAG
TTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTACAACCTCCACCT
ACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGTCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTGTCCAA
CAAGGCCCTGCCCCCCCCATCGAGAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCAGGGAGCCCCAGGTGTGCACC
CTGCCCCCTCCAGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGTCTGCGCCGTGAAGGGCTTCTACCCCTCCGA
15 CATCGCCGTGGAGTGGGAGTCCAACGGCCAGCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCGTGTGGACTCCGAC
GGCTCCTTCTCTGTTGTCCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCTGCTCCGT
GATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCCCCCGCAAGTAA (SEQ ID NO: 73)。
编码 B7H6-5 抗体的核苷酸序列
GACATCGTGTGACCCAGTCCCCGACTCCCTGGCCGTGTCCCTGGGCGAGAGGGCCACCATCAACTGCAAGGC
20 CTCCCAGTCCGTGGACTACGACGGCGACTCTACATGAAGTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCCAGCCCCCAAGCTGC
TGATCTACGCCGCTCCACCCTGCACTCCGGCATCCCGACAGGTTCTCCGGCTCCGGCTCCGGCACCGACTTCACCC
TGACCATCTCCTCCCTGCAGGCCGAGGACGTGGCCGTGTACTACTGCCAGCAGTCCAAGGAGGACCCAGGACCTTC
GGCCAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAGGGAGGCGGTGGATCAGGCGGAGGTGGCTCAGGTGGAGGCGGTTCTGAG
GTGCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCCGAGGTGAAGAAGCCCCGGCGCCTCCGTGAAGGTGTCTGCAAGGCCCTCCGGCT
25 ACACCTTCACCGACTACAACATGGACTGGGTGAGGCAGGCCCCCGGCCAGGGCTGGAGTGGATGGCGACATCAA
CCCCAACACGGCGGCACCTGTACAACCAGAAAGTTCAGGGGCAGGGTGACCATGACCGTGGACACCTCCATCTCC
ACCGCTACATGGAGCTGTCCAGGCTGAGGTCCGACGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGTCCGAGGTGTTCTA
CGGCAACTACGCCGACTACTGGGGCCAGGGCACACCGTGACCGTGTCTCCGAGCCCAAGTCTGCGACAAGACC
CACACCTGCCCCCTGCCCCGCCCCGAGGCGCGCGGCCCTCCGTGTTCTGTTCCCCCAAGCCCAAGGA
30 CACCCTGATGATCTCCAGGACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCCGAGGTGAAG
TTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTACAACCTCCACCT
ACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGTCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTGTCCAA
CAAGGCCCTGCCCCCCCCATCGAGAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCAGGGAGCCCCAGGTGTGCACC
CTGCCCCCTCCAGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGTCTGCGCCGTGAAGGGCTTCTACCCCTCCGA
35 CATCGCCGTGGAGTGGGAGTCCAACGGCCAGCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCGTGTGGACTCCGAC
GGCTCCTTCTCTGTTGTCCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCTGCTCCGT
GATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCCCCCGCAAGTAA (SEQ ID NO: 74)。
编码 B7H6-6 抗体的核苷酸序列
GACATCGTGTGACCCAGTCCCCGACTCCCTGGCCGTGTCCCTGGGCGAGAGGGCCACCATCAACTGCAAGGC
40 CTCCCAGTCCGTGGACTACGACGGCGACTCTACATGAAGTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCCAGCCCCCAAGCTGC
TGATCTACGCCGCTCCACCCTGCACTCCGGCATCCCGACAGGTTCTCCGGCTCCGGCTCCGGCACCGACTTCACCC
TGACCATCTCCTCCCTGCAGGCCGAGGACGTGGCCGTGTACTACTGCCAGCAGTCCAAGGAGGACCCAGGACCTTC
GGCCAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAGGGAGGCGGTGGATCAGGCGGAGGTGGCTCAGGTGGAGGCGGTTCTGAG
GTGCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCCGAGGTGAAGAAGCCCCGGCGCCTCCGTGAAGGTGTCTGCAAGGCCCTCCGGCT
45 ACACCTTCACCGACTACAACATGGACTGGGTGAGGCAGGCCCCCGGCCAGGGCTGGAGTGGATCGGCGACATCAA
CCCCAACACGGCGGCACCTGTACAACCAGAAAGTTCAGGGGCAGGGTGACCTGACCGTGGACACCTCCATCTCC

ACCGCCTACATGGAGCTGTCCAGGCTGAGGTCCGACGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGTCCGAGGTGTTCTA
CGGCAACTACGCCGACTACTGGGGCCAGGGCACCACCGTGACCGTGTCTCCGAGCCCAAGTCCTGCGACAAGACC
CACACCTGCCCCCCTGCCCCGCCCCGAGGCCGCCGGCGGCCCTCCGTGTTCTGTTCCCCCAAGCCCAAGGA
CACCTGATGATCTCCAGGACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCCCGAGGTGAAG
5 TTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTACAACCTCCACCT
ACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTGTCCAA
CAAGGCCCTGCCCCCCCCATCGAGAAGACCATCTCAAGGCCAAGGGCCAGCCAGGGAGCCCCAGGTGTGCACC
CTGCCCCCTCCAGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGTCTGCGCCGTGAAGGGCTTCTACCCCTCCGA
CATCGCCGTGGAGTGGGAGTCCAACGGCCAGCCGAGAACAACACTACAAGACCACCCCCCGTGTGGACTCCGAC
10 GGCTCTTCTCTCTGTTGTTCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCTGCTCCGT
GATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCCCCCGCAAGTAA (SEQ ID NO: 75).

编码 B7H6-7 抗体的核苷酸序列

GACATCGTGTGACCCAGTCCCCGACTCCCTGGCCGTGTCCCTGGGCGAGAGGGCCACCATCAACTGCAAGGC
CTCCAGTCCGTGGACTACGACGGCGACTCCTACATGAAGTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCCAGCCCCCAAGCTGC
15 TGATCTACGCCGCTCCACCCTGCACTCCGGCATCCCGACAGGTTCTCCGGCTCCGGCTCCGGCACCGACTTCACCC
TGACCATCTCTCCCTGCAGGCCGAGGACGTGGCCGTGTACTACTGCCAGCAGTCCAAGGAGGACCCAGGACCTTC
GGCCAGGGCACCAGCTGGAGATCAAGGGAGGCGGTGGATCAGGCGGAGGTGGCTCAGGTGGAGGCGGTTCTGAG
GTGCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCCGAGGTGAAGAAGCCCGGCGCCTCCGTGAAGGTGTCTGCAAGGCCCTCCGGCT
ACACCTTCACCGACTACAACATGGACTGGGTGAGGCAGGCCCCCGGCCAGGGCCTGGAGTGGATCGGCGACATCAA
20 CCCCCAACAGGGCGGCACCCTGTACAACCAGAAGTTCAGGGGCAGGGTGACCTGACCGTGGACAAGTCCATCTCC
ACCGCCTACATGGAGCTGTCCAGGCTGAGGTCCGACGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGTCCGAGGTGTTCTA
CGGCAACTACGCCGACTACTGGGGCCAGGGCACCACCGTGACCGTGTCTCCGAGCCCAAGTCCTGCGACAAGACC
CACACCTGCCCCCCTGCCCCGCCCCGAGGCCGCCGGCGGCCCTCCGTGTTCTGTTCCCCCAAGCCCAAGGA
CACCTGATGATCTCCAGGACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCCCGAGGTGAAG
25 TTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTACAACCTCCACCT
ACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTGTCCAA
CAAGGCCCTGCCCCCCCCATCGAGAAGACCATCTCAAGGCCAAGGGCCAGCCAGGGAGCCCCAGGTGTGCACC
CTGCCCCCTCCAGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGTCTGCGCCGTGAAGGGCTTCTACCCCTCCGA
CATCGCCGTGGAGTGGGAGTCCAACGGCCAGCCGAGAACAACACTACAAGACCACCCCCCGTGTGGACTCCGAC
30 GGCTCTTCTCTCTGTTGTTCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCTGCTCCGT
GATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCCCCCGCAAGTAA (SEQ ID NO: 76).

编码 B7H6-8 抗体的核苷酸序列

GACATCGTGTGACCCAGTCCCCGACTCCCTGGCCGTGTCCCTGGGCGAGAGGGCCACCATCAACTGCAAGGC
CTCCAGTCCGTGGACTACGACGGCGACTCCTACATGAAGTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCCAGCCCCCAAGCTGC
35 TGATCTACGCCGCTCCACCCTGCACTCCGGCATCCCGACAGGTTCTCCGGCTCCGGCTCCGGCACCGACTTCACCC
TGACCATCTCTCCCTGCAGGCCGAGGACGTGGCCGTGTACTACTGCCAGCAGTCCAAGGAGGACCCAGGACCTTC
GGCCAGGGCACCAGCTGGAGATCAAGGGAGGCGGTGGATCAGGCGGAGGTGGCTCAGGTGGAGGCGGTTCTGAG
GTGCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCCGAGGTGAAGAAGCCCGGCGCCTCCGTGAAGGTGTCTGCAAGGCCCTCCGGCT
ACACCTTCACCGACTACAACATGGACTGGGTGAGGCAGGCCCCCGCAAGGGCCTGGAGTGGATCGGCGACATCAA
40 CCCCCAACAGGGCGGCACCCTGTACAACCAGAAGTTCAGGGGCAGGGTGACCTGACCGTGGACAAGTCCATCTCC
ACCGCCTACATGGAGCTGTCCAGGCTGAGGTCCGACGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGTCCGAGGTGTTCTA
CGGCAACTACGCCGACTACTGGGGCCAGGGCACCACCGTGACCGTGTCTCCGAGCCCAAGTCCTGCGACAAGACC
CACACCTGCCCCCCTGCCCCGCCCCGAGGCCGCCGGCGGCCCTCCGTGTTCTGTTCCCCCAAGCCCAAGGA
CACCTGATGATCTCCAGGACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCCCGAGGTGAAG
45 TTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTACAACCTCCACCT
ACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTGTCCAA

CAAGGCCCTGCCGCCCCATCGAGAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCCAGGGAGCCCCAGGTGTGCACC
CTGCCCCCTCCAGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGTCTGCGCCGTGAAGGGCTTCTACCCCTCCGA
CATCGCCGTGGAGTGGGAGTCCAACGGCCAGCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCGTGTGGACTCCGAC
GGCTCCTTCTCCTGGTGTCCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCGT
5 GATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCCCCGGCAAGTAA (SEQ ID NO: 77)。

编码 B7H6-9 抗体的核苷酸序列

GACATCGTGTGACCCAGACCCCCCTGTCCCTGTCCGTGACCCCCGGCCAGCCCGCCTCCATCTCCTGCAAGGCC
TCCCAGTCCGTGGACTACGACGGCGACTCCTACATGAACGGTACCTGCAGAAGCCCGGCCAGCCCCCAGCTGCT
GATCTACGCCGCTCCACCCTGCACTCCGGCGTGCCGACAGGTTCTCCGGCTCCGGCTCCGGCACCGACTTACCCCT
10 GAAGATCTCCAGGTGGAGGCCGAGGACGTGGCGGTGTAATACTGCCAGCAGTCCAAGGAGGACCCAGGACCTTC
GGCCAGGGACCAAGCTGGAGATCAAGGGAGGCGGTGATCAGGCGGAGGTGGCTCAGGTGGAGGCGGTTCTGAG
GTGCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCCGAGGTGAAGAAGCCCGGCGCTCCGTGAAGGTGTCTGCAAGGCCCTCCGGCT
ACACCTTACCGACTACAACATGGACTGGGTGAGGCAGGCCCCGGCCAGGGCTGGAGTGGATGGCGACATCAA
CCCCAACACGGCGGCACCCTGTACAACCAGAAGTTAGGGGAGGGTGACCATGACCGTGGACACCTCCATCTCC
15 ACCGCCTACATGGAGCTGTCCAGGCTGAGGTCCGACGACACCGCCGTGTAATACTGCCAGGTCCGAGGTGTTCTA
CGGCAACTACGCCGACTACTGGGGCCAGGGCACCACCGTGACCGTGTCTCCGAGCCCAAGTCTGCGACAAGACC
CACACCTGCCCCCTGCCCCGCCCCGAGGCCGCCGGCGGCCCTCCGTGTTCTGTTCCCCCAAGCCCAAGGA
CACCTTGATGATCTCCAGGACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCCGAGGTGAAG
TTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTACAACCTCCACCT
20 ACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGCAACAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTGTCCAA
CAAGGCCCTGCCGCCCCATCGAGAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCCAGGGAGCCCCAGGTGTGCACC
CTGCCCCCTCCAGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGTCTGCGCCGTGAAGGGCTTCTACCCCTCCGA
CATCGCCGTGGAGTGGGAGTCCAACGGCCAGCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCGTGTGGACTCCGAC
GGCTCCTTCTCCTGGTGTCCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCGT
25 GATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCCCCGGCAAGTAA (SEQ ID NO: 78)。

编码 B7H6-10 抗体的核苷酸序列

GACATCGTGTGACCCAGACCCCCCTGTCCCTGTCCGTGACCCCCGGCCAGCCCGCCTCCATCTCCTGCAAGGCC
TCCCAGTCCGTGGACTACGACGGCGACTCCTACATGAACGGTACCTGCAGAAGCCCGGCCAGCCCCCAGCTGCT
GATCTACGCCGCTCCACCCTGCACTCCGGCGTGCCGACAGGTTCTCCGGCTCCGGCTCCGGCACCGACTTACCCCT
30 GAAGATCTCCAGGTGGAGGCCGAGGACGTGGCGGTGTAATACTGCCAGCAGTCCAAGGAGGACCCAGGACCTTC
GGCCAGGGACCAAGCTGGAGATCAAGGGAGGCGGTGATCAGGCGGAGGTGGCTCAGGTGGAGGCGGTTCTGAG
GTGCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCCGAGGTGAAGAAGCCCGGCGCTCCGTGAAGGTGTCTGCAAGGCCCTCCGGCT
ACACCTTACCGACTACAACATGGACTGGGTGAGGCAGGCCCCGGCCAGGGCTGGAGTGGATCGCGACATCAA
CCCCAACACGGCGGCACCCTGTACAACCAGAAGTTAGGGGAGGGTGACCTGACCGTGGACACCTCCATCTCC
35 ACCGCCTACATGGAGCTGTCCAGGCTGAGGTCCGACGACACCGCCGTGTAATACTGCCAGGTCCGAGGTGTTCTA
CGGCAACTACGCCGACTACTGGGGCCAGGGCACCACCGTGACCGTGTCTCCGAGCCCAAGTCTGCGACAAGACC
CACACCTGCCCCCTGCCCCGCCCCGAGGCCGCCGGCGGCCCTCCGTGTTCTGTTCCCCCAAGCCCAAGGA
CACCTTGATGATCTCCAGGACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCCGAGGTGAAG
TTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTACAACCTCCACCT
40 ACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGCAACAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTGTCCAA
CAAGGCCCTGCCGCCCCATCGAGAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCCAGGGAGCCCCAGGTGTGCACC
CTGCCCCCTCCAGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGTCTGCGCCGTGAAGGGCTTCTACCCCTCCGA
CATCGCCGTGGAGTGGGAGTCCAACGGCCAGCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCGTGTGGACTCCGAC
GGCTCCTTCTCCTGGTGTCCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCGT
45 GATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCCCCGGCAAGTAA (SEQ ID NO: 79)。

编码 B7H6-11 抗体的核苷酸序列

- GACATCGTGCTGACCCAGACCCCCCTGTCCCTGTCCGTGACCCCCGGCCAGCCCGCCTCCATCTCCTGCAAGGCC
TCCCAGTCCGTGGACTACGACGGCGACTCCTACATGAAC TGGTACCTGCAGAAGCCCGGCCAGCCCCCAGCTGCT
GATCTACGCCGCTCCACCCTGCACTCCGGCGTGCCCGACAGGTTCTCCGGCTCCGGCTCCGGCACCGACTTCACCTT
GAAGATCTCCAGGGTGGAGGCCGAGGACGTGGGCGTGTA TACTGCCAGCAGTCCAAGGAGGACCCAGGACCTTC
5 GGCCAGGGCACC AAGCTGGAGATCAAGGGAGGCGGTGGATCAGGCGGAGGTGGCTCAGGTGGAGGCGGTTCTGAG
GTGCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCCGAGGTGAAGAAGCCCGGCGCCTCCGTGAAGGTGTCTGCAAGGCCTCCGGCT
ACACCTTACCGACTACAACATGGACTGGGTGAGGCAGGCCCCCGGCCAGGGCTGGAGTGGATCGGCGACATCAA
CCCCAACACGGCGGCACCTGTACAACCAGAA GTTCAGGGGCAGGGTGACCCTGACCGTGGACAAGTCCATCTCC
ACCGCTACATGGAGCTGTCCAGGCTGAGGTCCGACGACACCGCCGTGTA TACTGCGCCAGGTCCGAGGTGTTCTA
10 CGGCAACTACGCCGACTACTGGGGCCAGGGCACCACCTGACCGTGTCTCCGAGCCCAAGTCTGCGACAAGACC
CACACCTGCCCCCCTGCCCCGCCCCGAGGCCGCGGCGGCCCTCCGTGTTCTGTTC CCCCCCAAGCCCAAGGA
CACCTGTATGATCTCCAGGACCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCCCGAGGTGAAG
TTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTACA ACTCCACCT
ACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGCAACGAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTGTCCAA
15 CAAGGCCCTGCCCCGCCCCATCGAGAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCAGGGAGCCCCAGGTGTGCACC
CTGCCCCCTCCAGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGTCTGCGCCGTGAAGGGCTTCTACCCCTCCGA
CATCGCCGTGGAGTGGGAGTCCAACGGCCAGCCGAGAACAACTACAAGACCAC CCCCCCGTGTGGACTCCGAC
GGCTCCTTCTTCTGTGTCCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCGT
GATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAA GTTCCCTGTCCCTGTCCCCCGCAAGTAA (SEQ ID NO: 80)。
20 编码 B7H6-12 抗体的核苷酸序列
GACATCGTGCTGACCCAGACCCCCCTGTCCCTGTCCGTGACCCCCGGCCAGCCCGCCTCCATCTCCTGCAAGGCC
TCCCAGTCCGTGGACTACGACGGCGACTCCTACATGAAC TGGTACCTGCAGAAGCCCGGCCAGCCCCCAGCTGCT
GATCTACGCCGCTCCACCCTGCACTCCGGCGTGCCCGACAGGTTCTCCGGCTCCGGCTCCGGCACCGACTTCACCTT
GAAGATCTCCAGGGTGGAGGCCGAGGACGTGGGCGTGTA TACTGCCAGCAGTCCAAGGAGGACCCAGGACCTTC
25 GGCCAGGGCACC AAGCTGGAGATCAAGGGAGGCGGTGGATCAGGCGGAGGTGGCTCAGGTGGAGGCGGTTCTGAG
GTGCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCCGAGGTGAAGAAGCCCGGCGCCTCCGTGAAGGTGTCTGCAAGGCCTCCGGCT
ACACCTTACCGACTACAACATGGACTGGGTGAGGCAGGCCCCCGGCAAGGGCTGGAGTGGATCGGCGACATCAA
CCCCAACACGGCGGCACCTGTACAACCAGAA GTTCAGGGGCAGGGTGACCCTGACCGTGGACAAGTCCATCTCC
ACCGCTACATGGAGCTGTCCAGGCTGAGGTCCGACGACACCGCCGTGTA TACTGCGCCAGGTCCGAGGTGTTCTA
30 CGGCAACTACGCCGACTACTGGGGCCAGGGCACCACCTGACCGTGTCTCCGAGCCCAAGTCTGCGACAAGACC
CACACCTGCCCCCCTGCCCCGCCCCGAGGCCGCGGCGGCCCTCCGTGTTCTGTTC CCCCCCAAGCCCAAGGA
CACCTGTATGATCTCCAGGACCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCCCGAGGTGAAG
TTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTACA ACTCCACCT
ACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGCAACGAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTGTCCAA
35 CAAGGCCCTGCCCCGCCCCATCGAGAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCAGGGAGCCCCAGGTGTGCACC
CTGCCCCCTCCAGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGTCTGCGCCGTGAAGGGCTTCTACCCCTCCGA
CATCGCCGTGGAGTGGGAGTCCAACGGCCAGCCGAGAACAACTACAAGACCAC CCCCCCGTGTGGACTCCGAC
GGCTCCTTCTTCTGTGTCCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCGT
GATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAA GTTCCCTGTCCCTGTCCCCCGCAAGTAA (SEQ ID NO: 81)。
40 编码 B7H6-13 抗体的核苷酸序列
GACATCGTGCTGACCCAGACCCCCCTGTCCCTGTCCGTGACCCCCGGCCAGCCCGCCTCCATCTCCTGCAAGGCC
TCCCAGTCCGTGGACTACGACGGCGACTCCTACATGAAC TGGTACCTGCAGAAGCCCGGCCAGCCCCCAGCTGCT
GATCTACGCCGCTCCACCCTGCACTCCGGCATCCCCGACAGGTTCTCCGGCTCCGGCTCCGGCACCGACTTCACCTT
GAAGATCTCCAGGGTGGAGGCCGAGGACGTGGGCGTGTA TACTGCCAGCAGTCCAAGGAGGACCCAGGACCTTC
45 GGCCAGGGCACC AAGCTGGAGATCAAGGGAGGCGGTGGATCAGGCGGAGGTGGCTCAGGTGGAGGCGGTTCTGAG
GTGCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCCGAGGTGAAGAAGCCCGGCGCCTCCGTGAAGGTGTCTGCAAGGCCTCCGGCT

- ACACCTTCACCGACTACAACATGGACTGGGTGAGGCAGGCCCCCGGCCAGGGCCTGGAGTGGATGGGCGACATCAA
CCCCAACAAACGGCGGCACCCTGTACAACCAGAAGTTACAGGGGAGGGTGACCATGACCGTGGACACCTCCATCTCC
ACCGCTACATGGAGCTGTCCAGGCTGAGGTCCGACGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGTCCGAGGTGTTCTA
CGGCAACTACGCCGACTACTGGGGCCAGGGCACCACCGTGACCGTGTCTCCGAGCCCAAGTCCTGCGACAAGACC
5 CACACCTGCCCCCCTGCCCCGCCCCGAGGCCGCCGGCGGCCCTCCGTGTTCTGTCCCCCCCCAAGCCCAAGGA
CACCTTGATGATCTCCAGGACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCCCGAGGTGAAG
TTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTACAACCTCCACCT
ACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGCAACAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTGTCCAA
CAAGGCCCTGCCCCCCCCATCGAGAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCAGGGAGCCCCAGGTGTGCACC
10 CTGCCCCCCTCCAGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGTCTGCGCCGTGAAGGGCTTCTACCCCTCCGA
CATCGCCGTGGAGTGGGAGTCCAACGGCCAGCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCGTGTGACTCCGAC
GGCTCCTTCTCTGTTGTTCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCTGCTCCGT
GATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCCCCCGCAAGTAA (SEQ ID NO: 82)。
编码 B7H6-14 抗体的核苷酸序列
- 15 GACATCGTGCTGACCCAGACCCCCCTGTCCCTGTCCGTGACCCCCGGCCAGCCCGCCTCCATCTCTGCAAGGCC
TCCCAGTCCGTGGACTACGACGGCGACTCCTACATGAAGTGGTACCTGCAGAAGCCCGGCCAGCCCCCAGCTGCT
GATCTACGCCGCCTCCACCCTGCACTCCGGCATCCCCGACAGGTTCTCCGGCTCCGGCTCCGGCACCGACTTCACCT
GAAGATCTCCAGGGTGGAGGCCGAGGACGTGGCGTGTACTACTGCCAGCAGTCCAAGGAGGACCCAGGACCTTC
GGCCAGGGCACCAGCTGGAGATCAAGGGAGGCGGTGGATCAGGCGGAGGTGGCTCAGGTGGAGGCGGTTCTGAG
20 GTGCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCCGAGGTGAAGAAGCCCGGCGCCTCCGTGAAGGTGTCTGCAAGGCCCTCCGGCT
ACACCTTCACCGACTACAACATGGACTGGGTGAGGCAGGCCCCCGGCCAGGGCCTGGAGTGGATCGGCGACATCAA
CCCCAACAAACGGCGGCACCCTGTACAACCAGAAGTTACAGGGGAGGGTGACCTGACCGTGGACACCTCCATCTCC
ACCGCTACATGGAGCTGTCCAGGCTGAGGTCCGACGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGTCCGAGGTGTTCTA
CGGCAACTACGCCGACTACTGGGGCCAGGGCACCACCGTGACCGTGTCTCCGAGCCCAAGTCCTGCGACAAGACC
25 CACACCTGCCCCCCTGCCCCGCCCCGAGGCCGCCGGCGGCCCTCCGTGTTCTGTCCCCCCCCAAGCCCAAGGA
CACCTTGATGATCTCCAGGACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCCCGAGGTGAAG
TTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTACAACCTCCACCT
ACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGCAACAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTGTCCAA
CAAGGCCCTGCCCCCCCCATCGAGAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCAGGGAGCCCCAGGTGTGCACC
30 CTGCCCCCCTCCAGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGTCTGCGCCGTGAAGGGCTTCTACCCCTCCGA
CATCGCCGTGGAGTGGGAGTCCAACGGCCAGCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCGTGTGACTCCGAC
GGCTCCTTCTCTGTTGTTCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCTGCTCCGT
GATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCCCCCGCAAGTAA (SEQ ID NO: 83)。
编码 B7H6-15 的核苷酸序列
- 35 GACATCGTGCTGACCCAGACCCCCCTGTCCCTGTCCGTGACCCCCGGCCAGCCCGCCTCCATCTCTGCAAGGCC
TCCCAGTCCGTGGACTACGACGGCGACTCCTACATGAAGTGGTACCTGCAGAAGCCCGGCCAGCCCCCAGCTGCT
GATCTACGCCGCCTCCACCCTGCACTCCGGCATCCCCGACAGGTTCTCCGGCTCCGGCTCCGGCACCGACTTCACCT
GAAGATCTCCAGGGTGGAGGCCGAGGACGTGGCGTGTACTACTGCCAGCAGTCCAAGGAGGACCCAGGACCTTC
GGCCAGGGCACCAGCTGGAGATCAAGGGAGGCGGTGGATCAGGCGGAGGTGGCTCAGGTGGAGGCGGTTCTGAG
40 GTGCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCCGAGGTGAAGAAGCCCGGCGCCTCCGTGAAGGTGTCTGCAAGGCCCTCCGGCT
ACACCTTCACCGACTACAACATGGACTGGGTGAGGCAGGCCCCCGGCCAGGGCCTGGAGTGGATCGGCGACATCAA
CCCCAACAAACGGCGGCACCCTGTACAACCAGAAGTTACAGGGGAGGGTGACCTGACCGTGGACAAGTCCATCTCC
ACCGCTACATGGAGCTGTCCAGGCTGAGGTCCGACGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGTCCGAGGTGTTCTA
CGGCAACTACGCCGACTACTGGGGCCAGGGCACCACCGTGACCGTGTCTCCGAGCCCAAGTCCTGCGACAAGACC
45 CACACCTGCCCCCCTGCCCCGCCCCGAGGCCGCCGGCGGCCCTCCGTGTTCTGTCCCCCCCCAAGCCCAAGGA
CACCTTGATGATCTCCAGGACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCCCGAGGTGAAG

TTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTACAACCTCCACCT
ACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAA
CAAGGCCCTGCCCGCCCCATCGAGAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCCAGGGAGCCCCAGGTGTGCACC
CTGCCCCCTCCAGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGTCTGCGCCGTGAAGGGCTTCTACCCCTCCGA
5 CATCGCCGTGGAGTGGGAGTCCAACGGCCAGCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCGTGTGGACTCCGAC
GGCTCCTTCTTCTGCTGTTCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCTGCTCCGT
GATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCCCCCGCAAGTAA (SEQ ID NO: 84)。

编码 B7H6-16 抗体的核苷酸序列

GACATCGTGCTGACCCAGACCCCCCTGTCCCTGTCCGTGACCCCCGGCCAGCCCGCTCCATCTCTGCAAGGCC
10 TCCCAGTCCGTGGACTACGACGGCGACTCCTACATGAAGTGGTACCTGCAGAAGCCCGGCCAGCCCCCGAGCTGCT
GATCTACGCCGCTCCACCCTGCACTCCGGCATCCCCGACAGGTTCTCCGGTCCGGCTCCGGCACCGACTTACCCCT
GAAGATCTCCAGGTGGAGGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTACTGCCAGCAGTCCAAGGAGGACCCAGGACCTTC
GGCCAGGGCACCAGCTGGAGATCAAGGGAGGCGGTGGATCAGGCGGAGGTGGTCAAGGTGGAGGCGGTTCTGAG
GTGCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCCGAGGTGAAGAAGCCCGGCGCTCCGTGAAGGTGTCTGCAAGGCCCTCCGGCT
15 ACACCTTACCGACTACAACATGGACTGGGTGAGGCAGGCCCCCGCAAGGGCTGGAGTGGATCGGCGACATCAA
CCCCAACACGGCGGCACCCTGTACAACCAGAAGTTCAGGGGCAGGTGACCCCTGACCGTGGACAAGTCCATCTCC
ACCGCTACATGGAGCTGTCCAGGTGAGGTCCGACGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGTCCGAGGTGTTCTA
CGGCAACTACGCCGACTACTGGGGCCAGGGCACACCGTGACCGTGTCTCCGAGCCCAAGTCTGCGACAAGACC
CACACCTGCCCCCTGCCCCGCCCCGAGGCCGCCGGCGGCCCTCCGTGTTCTGTTCCTGTTCCCCCAAGCCCAAGGA
20 CACCCTGATGATCTCCAGGACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCCGAGGTGAAG
TTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTACAACCTCCACCT
ACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAA
CAAGGCCCTGCCCGCCCCATCGAGAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCCAGGGAGCCCCAGGTGTGCACC
CTGCCCCCTCCAGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGTCTGCGCCGTGAAGGGCTTCTACCCCTCCGA
25 CATCGCCGTGGAGTGGGAGTCCAACGGCCAGCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCGTGTGGACTCCGAC
GGCTCCTTCTTCTGCTGTTCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCTGCTCCGT
GATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCCCCCGCAAGTAA (SEQ ID NO: 85)。

编码 B7H6-17 抗体的核苷酸序列

GACATCGTGCTGACCCAGTCCCCCGTGTCCCTGGCCGTGCCCCGGGCCAGAGGGCCACCATCTCTGCAAGGC
30 CTCCCAGTCCGTGGACTACGACGGCGACTCCTACATGAAGTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCCAGCCCCCAAGCTGC
TGATCTACGCCGCTCCACCCTGCACTCCGGCATCCCCGTGAGGTTCTCCGGTCCGGCTCCGGCACCGACTTACCC
TGAACATCCACCCGTGGAGGAGGAGGACGCCGCTCTACTACTGCCAGCAGTCCAAGGAGGACCCAGGACCTT
CGGCGCGGCACCAAGCTGGAGATCAAGGGAGGCGGTGGATCAGGCGGAGGTGGCTCAGGTGGAGGCGGTTCTGA
GGTGTCTGTCAGCAGTCCGGCCCCGAGGTGGTGAAGCCCGGCGCTCCGTGAAGATCACCTGCAAGGCCTCCGGCT
35 ACACCTTACCGACTACAACATGGACTGGGTGAAGCAGTCCCACGGCAAGTCCCTGGAGTGGATCGGCGACATCAAC
CCCCAACACGCCGGCACCTGTACAACCAGAAGTTCAGGGGCAGGTGACCCCTGATCGTGGACAAGTCTCTCCA
CCGCTACATGGAGCTGAGGTCCCTGACCTCCGACGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGTCCGAGGTGTTCTAC
GGCAACTACGCCGACTACTGGGGCCAGGGCACACCCCTGACCGTGTCTCCGAGCCCAAGTCTGCGACAAGACCC
ACACCTGCCCCCTGCCCCGCCCCGAGGCCGCCGGCGGCCCTCCGTGTTCTGTTCCTGTTCCCCCAAGCCCAAGGAC
40 ACCCTGATGATCTCCAGGACCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCCCGAGGTGAAGTT
CAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTACAACCTCCACCTAC
AGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACA
AGGCCCTGCCCGCCCCATCGAGAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCCAGGGAGCCCCAGGTGTGCACCT
GCCCCCTCCAGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGTCTGCGCCGTGAAGGGCTTCTACCCCTCCGACA
45 TCGCCGTGGAGTGGGAGTCCAACGGCCAGCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCGTGTGGACTCCGACGG

CTCCTTCTTCTGCTGTCCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCGTGA
TGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCCCCCGCAAGTAA (SEQ ID NO: 86)。

编码 B7H6-18 抗体的核苷酸序列

GACATCGTGTGACCCAGTCCCCGTGTCCCTGGCCGTGCCCTGGGCCAGAGGGCCACCATCTCCTGCAAGGC
5 CTCCAGTCCGTGGACTACGACGCCGACTCCTACATGAAGTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCCAGCCCCCAAGCTGC
TGATCTACGCCGCTCCACCCTGCACTCCGGCATCCCGTGAGGTCTCCGGCTCCGGCTCCGGCACCAGCTTCACCC
TGAACATCCACCCGTGGAGGAGGAGGACGCCGCTCTACTACTGCCAGCAGTCCAAGGAGGACCCAGGACCTT
CGGCGGCGGCACCAAGTGGAGATCAAGGGAGGCGGTGGATCAGGCGGAGGTGGCTCAGGTGGAGGCGGTTCTGA
GGTGTCTGCTGACGAGTCCGGCCCCGAGGTGGTGAAGCCCGGCGCTCCGTGAAGATCACCTGCAAGGCCCTCCGGCT
10 ACACCTTCACCGACTACAACATGGACTGGGTGAAGCAGTCCCACGGCAAGTCCCTGGAGTGGATCGGCGACATCAAC
CCCAACAACGGCGGCACCTGTACAACAGAAAGTTCAGGGGCAGGGTGACCCTGATCGTGGACAAGTCTCTCTCA
CCGCTACATGGAGCTGAGGTCCCTGACCTCCGACGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGTCCGAGGTGTTCTAC
GGCAACTACGCCGACTACTGGGGCCAGGGCACCAACCTGACCGTGTCTCCGAGCCCAAGTCTGCGACAAGACCC
ACACCTGCCCCCTGCCCGCCCCGAGGCCGCGCGGCCCTCCGTGTTCTGTTCCTGTTCCCCCAAGCCCAAGGAC
15 ACCCTGATGATCTCCAGGACCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCCCGAGGTGAAGTT
CAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCAGGGAGGAGCAGTACAACCTCCACCTAC
AGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGCACCAGGACTGGGTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTGTCCAACA
AGGCCCTGCCCGCCCCATCGAGAAGACCATCTCAAGGCCAAGGGCCAGCCAGGGAGCCCCAGGTGTGCACCTT
GCCCCCTCCAGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGTCTGCGCCGTGAAGGGCTTCTACCCCTCCGACA
20 TCGCCGTGGAGTGGGAGTCCAACGGCCAGCCCGAGAACAACCTACAAGACCACCCCCCGTGTGGACTCCGACGG
CTCCTTCTTCTGCTGTCCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCGTGA
TGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGTCCCCCGCAAGTAA (SEQ ID NO: 87)。

需要说明的是，对于本发明说明书和权利要求书中所提及的核酸，本领域技术人员应当理解，实际包括互补双链的任
意一条，或者两条。为了方便，在本说明书和权利要求书中，虽然多数情况下只给出了一条链，但实际上也公开了与之互
补的另一条链。另外，本申请中的核酸序列包括 DNA 形式或 RNA 形式，公开其中一种，意味着另一种也被公开。

在本发明的第四方面，本发明提出了一种表达载体，所述表达载体携带前面所述的核酸分子。所述表达载体可包括可
选的控制序列，所述控制序列与所述核酸分子可操作地连接。其中，所述控制序列为可指导所述核酸分子在宿主中表达的
一个或多个控制序列。本发明一些具体实施例所提出的表达载体可在适合的宿主细胞中高效表达所述重组抗体，进而可有
效用于对肿瘤，特别是表达 B7H6 的肿瘤的特异性治疗或预防。

在本发明的第五方面，本发明提出了一种重组细胞，所述重组细胞携带第三方面所述的核酸分子、第四方面所述的表
达载体或第一方面或第二方面所述的重组抗体。所述重组细胞是通过转染或者转化所述表达载体获得的。根据本发明的一
些具体实施例，所述重组细胞在合适条件下可高效表达上述重组抗体，所述重组细胞可有效用于对肿瘤，特别是表达 B7H6
的肿瘤的特异性治疗或预防。

需要说明的是，本申请说明书中所述的“适合条件”，是指适合本申请所述重组抗体表达的条件。本领域技术人员容易
理解的是，适合重组抗体表达的条件包括但不限于合适的转化或转染方式、合适的转化或转条件、健康的宿主细胞状态、
合适的宿主细胞密度、适宜的细胞培养环境、适宜的细胞培养时间。“适合条件”不受特别限制，本领域技术人员可根据实
验室的具体环境，优化最适的所述重组抗体表达的条件。

在本发明的第六方面，本发明提出了一种组合物，包括第一方面或第二方面所述的重组抗体、第三方面所述的核酸分
子、第四方面所述的表达载体或第五方面所述的重组细胞。如前所述，本发明实施例的重组抗体可以有效与 CD3 或 B7H6
蛋白分子结合，进而可特异性识别高表达所述 B7H6 的肿瘤细胞，并促使 T 细胞选择性地定位到肿瘤局部而不是在外周循
环，避免全身活化，包含所述重组抗体及相应一系列物质的组合物，如食品组合物或药物组合物，同样具有显著的治疗或
预防表达 B7H6 的肿瘤的作用，其安全性更高、副作用更小。

在本发明的第八方面，本发明提出了一种药物，包括：第一方面或第二方面所述的重组抗体、第三方面所述的核酸分
子、第四方面所述的表达载体、第五方面所述的重组细胞或第六方面所述的组合物，所述药物用于治疗或预防癌症。如前
所述，本发明实施例的重组抗体可以有效与 CD3 或 B7H6 蛋白分子结合，进而可特异性识别高表达所述 B7H6 的肿瘤细
胞，并促使 T 细胞选择性地定位到肿瘤局部而不是在外周循环，避免全身活化，包含所述重组抗体系列物质的药物同样
具有显著的治疗或预防表达 B7H6 的肿瘤的作用，其安全性更高、副作用更小。

根据本发明的一些具体实施例，所述癌症包括下列中的至少之一：直肠癌、非小细胞肺癌、乳腺癌和肝癌。

根据本发明的一些具体实施例提供的药物，包括药学上可接受的载体和有效量的所述抗体活性成分。

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

如本文所用,“药学上可接受的”的成分是适用于人和/或哺乳动物而无过度不良反应(如毒性、刺激和变态反应)的,即具有合理的效益/风险比的物质。术语“药学上可接受的载体”指用于治疗剂给药的载体,包括各种赋形剂和稀释剂。

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

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

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

用途

在本发明的第七方面,本发明提出了第一方面或第二方面所述的重组抗体、第三方面所述的核酸分子、第四方面所述的表达载体、第五方面所述的重组细胞或第六方面所述的组合物在制备药物中的用途,所述药物用于治疗或预防肿瘤。如前所述,本发明一些具体实施例提供的重组抗体可以有效与 CD3 和 B7H6 蛋白结合,进而可特异性识别特异性高表达所述 B7H6 的肿瘤细胞,利用所述重组抗体及其相应的一系列物质制备的药物同样具有显著的治疗或预防表达 B7H6 的肿瘤的作用,其安全性更高、副作用更小。

根据本发明的一些具体实施例,上述用途还可以进一步包括如下附加技术特征至少之一:

根据本发明的一些具体实施例,所述肿瘤包括下列中的至少之一:直肠癌、非小细胞肺癌、乳腺癌和肝癌。

试剂盒

在本发明的第九方面,本发明提出了一种试剂盒,包括:第一方面或第二方面所述的重组抗体。本发明的一些具体实施例提供的所述重组抗体可与 B7H6 蛋白进行结合,因此,包含所述重组抗体的试剂盒可用于有效诊断或检测高表达所述 B7H6 蛋白的肿瘤。

根据本发明的一些具体实施例,所述试剂盒用于诊断或检测直肠癌、非小细胞肺癌、乳腺癌和肝癌中的至少之一。本发明一些具体实施例提供的重组抗体可以有效与 CD3 和 B7H6 蛋白分子结合,进而可特异性识别特异性高表达所述 B7H6 的肿瘤细胞,因此,所述重组抗体可用于制备诊断或检测直肠癌、非小细胞肺癌、乳腺癌和肝癌中的至少之一的试剂盒,所述试剂盒可用于科学研究,如定性或定量检测生物样品中的 CD3 和/或 B7H6 蛋白分子。

疾病治疗用途和方法

在本发明的第十方面,本发明提出了前面所述的重组抗体、核酸分子、表达载体、重组细胞、组合物或药物在治疗或预防癌症中的用途。如前所述,所述重组抗体可以特异性识别上述 CD3 和/或 B7H6 蛋白,当 CD3 抗体亲和力在合适范围且肿瘤靶点相关抗体具有高亲和力时,双特异性抗体会促使 T 细胞选择性地定位到肿瘤局部而不是在外周循环,在有效治疗、预防癌症的同时避免全身活化,因此,根据本发明实施例的重组抗体、包含所述重组抗体的组合物、药物以及在合适条件下表达能够获得所述重组抗体的一系列物质,如上述核酸分子、表达载体、重组细胞等均可以用来治疗或预防癌症。

根据本发明的一些具体实施例,所述癌症包括下列中的至少之一:直肠癌、非小细胞肺癌、乳腺癌和肝癌。

在本发明的第十一方面,本发明提出了一种治疗或预防癌症的方法。根据本发明的一些具体实施例,包括向受试者施用以下中的至少之一:1)前面所述的重组抗体;2)前面所述的核酸分子;3)前面所述的表达载体;4)前面所述的重组细胞;或5)前面所述的组合物。如前所述,所述重组抗体可以特异性识别上述 CD3 和/或 B7H6 蛋白,当 CD3 抗体亲和力在合适范围且肿瘤靶点相关抗体具有高亲和力时,双特异性抗体会促使 T 细胞选择性地定位到肿瘤局部而不是在外周循环,在有效治疗、预防癌症的同时避免全身活化,因此,根据本发明实施例的方法可以有效治疗或预防癌症,并避免全身 T 细胞活化。

根据本发明的一些具体实施例,所述癌症包括下列中的至少之一:直肠癌、非小细胞肺癌、乳腺癌和肝癌。

下面将对实施例作具体介绍。实施例中未注明具体技术或条件的,按照本领域内的文献所描述的技术或条件或者按照产品说明书进行。所用试剂或仪器未注明生产厂商者,均为可以通过市购获得的常规产品。

实施例 1 CD3×B7H6 双特异性抗体分子的设计及构建

本实施例通过对多种构型进行筛选,发明人确定了以 scFv-Fc 构型的双特异性抗体,这个双特异性抗体被命名为 CD3×B7H6。所述抗体含有两个单价单元,其中一个单价单元为抗 CD3 的 ScFv-Fc 形式,另一个单价单元为抗 B7H6 的 ScFv-Fc 形式,采用一条连接肽将所述 CD3 抗体的轻链可变区和重链可变区相连,采用与前述相同的 1 条连接肽

将所述B7H6抗体的轻链可变区和重链可变区相连，所连接肽具有如SEQ ID NO: 46所示的氨基酸序列，所述CD3抗体具有如SEQ ID NO: 13所示的轻链可变区，和如SEQ ID NO: 14所示的重链可变区，所述B7H6抗体具有如SEQ ID NO: 15-20所示的轻链可变区，和如SEQ ID NO: 21-26所示的重链可变区。其中，发明人对不同的B7H6抗体可变区与CD3抗体的可变区的组合进行筛选，共构建了18个CD3×B7H6重组抗体分子；并且对单价单元的Fc均进行氨基酸突变改造，抗CD3的Fc区域氨基酸在位置384处变化为半胱氨酸（S384C）及在位置396处变化为色氨酸（T396W），抗B7H6的Fc区域氨基酸在位置380处变化为半胱氨酸（Y380C），在位置397处变化为丝氨酸（T397S），在位置399处变化为丙氨酸（L399A）及在位置408处变化为缬氨酸（Y408V），使其各自不容易形成同二聚体，而易于形成异二聚体，该异二聚体即为双特异性抗体CD3×B7H6，具体结构如图1所示，所述18个CD3×B7H6重组抗体分子具有如SEQ ID NO: 27所示的CD3单链抗体、如SEQ ID NO: 28-45所示的B7H6单链抗体、如SEQ ID NO: 47所示的第一抗体Fc区、如SEQ ID NO: 48所示的第二抗体Fc区，两者通过上述突变后以knob-into-hole结构进行连接。

使用常见的分子生物学技术，将编码CD3及B7H6（1-18）单价单元多肽链的核酸序列分别克隆于表达载体pTT5（优宝生物，货号VT2202）中，具体的核苷酸序列为SEQ ID NO: 69，以及SEQ ID NO: 70-87所示的核苷酸序列中的至少之一。同时为了使其在CHO细胞中高效表达并分泌到培养基中，选择了鼠源抗体kappa链的前导肽作为分泌信号肽插入到表达载体上，信号肽位于抗体可变区的N端，其氨基酸序列为：METDTLLLWVLLLVPGSTG（SEQ ID NO: 68），编码所述信号肽的核苷酸序列如SEQ ID NO: 88所示。

ATGGAGACCGACACCCTGCTGCTGTGGGTGCTGCTGCTGTGGGTGCCCGGCTCCACCGGC（SEQ ID NO: 88）。

CD3 单链抗体

MDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDIRNYLNWYQQKPGKAPKLLIYTSRLESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL
QPEDFATYYCQQGNTLPWTFGQGTKVEIKGGGSGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFTGYTMN
WVRQAPGKGLEWVALINPYKGVSTYNQKFKDRFTISVDKSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGYYGDSWDYFDVW
GQGTLLTVSS（SEQ ID NO: 27）。

B7H6-1单链抗体

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSVSDYDGDSYMNWYQQKPGQPPKLLIYAASLTLSGVPDRFSGSGSGT
DFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSKEDPRTFGQGTKLEIKGGGSGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC
KASGYTFTDYNMDWVRQAPGQGLEWMGDINPNNGGTLNQNKFRGRVTMTVDTISISTAYMELSLRSDDTAVYYC
CARSEVFYGNADYWGQGTITVTVSS（SEQ ID NO: 28）。

B7H6-2单链抗体

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSVSDYDGDSYMNWYQQKPGQPPKLLIYAASLTLSGVPDRFSGSGSGT
DFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSKEDPRTFGQGTKLEIKGGGSGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC
KASGYTFTDYNMDWVRQAPGQGLEWIGDINPNNGGTLNQNKFRGRVTMTVDTISISTAYMELSLRSDDTAVYYC
ARSEVFYGNADYWGQGTITVTVSS（SEQ ID NO: 29）。

B7H6-3单链抗体

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSVSDYDGDSYMNWYQQKPGQPPKLLIYAASLTLSGVPDRFSGSGSGT
DFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSKEDPRTFGQGTKLEIKGGGSGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC
KASGYTFTDYNMDWVRQAPGQGLEWIGDINPNNGGTLNQNKFRGRVTMTVDTISISTAYMELSLRSDDTAVYYC
ARSEVFYGNADYWGQGTITVTVSS（SEQ ID NO: 30）。

B7H6-4单链抗体

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSVSDYDGDSYMNWYQQKPGQPPKLLIYAASLTLSGVPDRFSGSGSGT
DFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSKEDPRTFGQGTKLEIKGGGSGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC
KASGYTFTDYNMDWVRQAPGKGLEWIGDINPNNGGTLNQNKFRGRVTMTVDTISISTAYMELSLRSDDTAVYYC
ARSEVFYGNADYWGQGTITVTVSS（SEQ ID NO: 31）。

B7H6-5单链抗体

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSVSDYDGDSYMNWYQQKPGQPPKLLIYAASLTLSGIPDRFSGSGSGT
DFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSKEDPRTFGQGTKLEIKGGGSGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC
KASGYTFTDYNMDWVRQAPGQGLEWMGDINPNNGGTLNQNKFRGRVTMTVDTISISTAYMELSLRSDDTAVYYC

CARSEVFYGNADYWGQGT TTVTVSS (SEQ ID NO: 32)。

B7H6-6单链抗体

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSV DYGDSYMNWYQQKPGQPPKLLIYAAS TLHSGIPDRFSGSGSGT
DFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSKEDPRTFGQGTKLEIKGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC
5 KASGYTFTDYNMDWVRQAPGQGLEWIGDINPNNGGTLYNQKFRGRVTLTVDT SISTA YMELSR LRSDDTAVYYC
ARSEVFYGNADYWGQGT TTVTVSS (SEQ ID NO: 33)。

B7H6-7单链抗体

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSV DYGDSYMNWYQQKPGQPPKLLIYAAS TLHSGIPDRFSGSGSGT
DFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSKEDPRTFGQGTKLEIKGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC
10 KASGYTFTDYNMDWVRQAPGQGLEWIGDINPNNGGTLYNQKFRGRVTLTVDKSISTA YMELSR LRSDDTAVYYC
ARSEVFYGNADYWGQGT TTVTVSS (SEQ ID NO: 34)。

B7H6-8单链抗体

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSV DYGDSYMNWYQQKPGQPPKLLIYAAS TLHSGIPDRFSGSGSGT
DFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSKEDPRTFGQGTKLEIKGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC
15 KASGYTFTDYNMDWVRQAPGQGLEWIGDINPNNGGTLYNQKFRGRVTLTVDKSISTA YMELSR LRSDDTAVYYC
ARSEVFYGNADYWGQGT TTVTVSS (SEQ ID NO: 35)。

B7H6-9单链抗体

DIVLTQTPLSLSVTPGQPASISCKASQSV DYGDSYMNWYLQKPGQPPQLLIYAAS TLHSGVPDRFSGSGSGTD
FTLKISRVEAEDVGVYYCQQSKEDPRTFGQGTKLEIKGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC
20 ASGYTFTDYNMDWVRQAPGQGLEWMGDINPNNGGTLYNQKFRGRVTMTVDT SISTA YMELSR LRSDDTAVYYC
ARSEVFYGNADYWGQGT TTVTVSS (SEQ ID NO: 36)。

B7H6-10单链抗体

DIVLTQTPLSLSVTPGQPASISCKASQSV DYGDSYMNWYLQKPGQPPQLLIYAAS TLHSGVPDRFSGSGSGTD
FTLKISRVEAEDVGVYYCQQSKEDPRTFGQGTKLEIKGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC
25 ASGYTFTDYNMDWVRQAPGQGLEWIGDINPNNGGTLYNQKFRGRVTLTVDT SISTA YMELSR LRSDDTAVYYCA
RSEVFYGNADYWGQGT TTVTVSS (SEQ ID NO: 37)。

B7H6-11单链抗体

DIVLTQTPLSLSVTPGQPASISCKASQSV DYGDSYMNWYLQKPGQPPQLLIYAAS TLHSGVPDRFSGSGSGTD
FTLKISRVEAEDVGVYYCQQSKEDPRTFGQGTKLEIKGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC
30 ASGYTFTDYNMDWVRQAPGQGLEWIGDINPNNGGTLYNQKFRGRVTLTVDKSISTA YMELSR LRSDDTAVYYCA
RSEVFYGNADYWGQGT TTVTVSS (SEQ ID NO: 38)。

B7H6-12单链抗体

DIVLTQTPLSLSVTPGQPASISCKASQSV DYGDSYMNWYLQKPGQPPQLLIYAAS TLHSGVPDRFSGSGSGTD
FTLKISRVEAEDVGVYYCQQSKEDPRTFGQGTKLEIKGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC
35 ASGYTFTDYNMDWVRQAPGQGLEWIGDINPNNGGTLYNQKFRGRVTLTVDKSISTA YMELSR LRSDDTAVYYCA
RSEVFYGNADYWGQGT TTVTVSS (SEQ ID NO: 39)。

B7H-13单链抗体

DIVLTQTPLSLSVTPGQPASISCKASQSV DYGDSYMNWYLQKPGQPPQLLIYAAS TLHSGIPDRFSGSGSGTD
FTLKISRVEAEDVGVYYCQQSKEDPRTFGQGTKLEIKGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC
40 ASGYTFTDYNMDWVRQAPGQGLEWMGDINPNNGGTLYNQKFRGRVTMTVDT SISTA YMELSR LRSDDTAVYYC
ARSEVFYGNADYWGQGT TTVTVSS (SEQ ID NO: 40)。

B7H6-14单链抗体

DIVLTQTPLSLSVTPGQPASISCKASQSV DYGDSYMNWYLQKPGQPPQLLIYAAS TLHSGIPDRFSGSGSGTD
FTLKISRVEAEDVGVYYCQQSKEDPRTFGQGTKLEIKGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC
45 ASGYTFTDYNMDWVRQAPGQGLEWIGDINPNNGGTLYNQKFRGRVTLTVDT SISTA YMELSR LRSDDTAVYYCA
RSEVFYGNADYWGQGT TTVTVSS (SEQ ID NO: 41)。

B7H6-15单链抗体

DIVLTQTPLSLSVTPGQPASISCKASQSVDDYDGDSYMNWYLQKPGQPPQLLIYAAS TLHSGIPDRFSGSGSGTD
FTLKISRVEAEDVGVYYCQQSKEDPRTFGGQTKLEIKGGGSGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSK
ASGYTFTDYNMDWVRQAPGQGLEWIGDINPNNGGTLYNQKFRGRVTLTVDKSISTAYMELSRLSDDTAVYYCA
5 RSEVFYGYADYWGQGT TTVSS (SEQ ID NO: 42)。

B7H6-16单链抗体

DIVLTQTPLSLSVTPGQPASISCKASQSVDDYDGDSYMNWYLQKPGQPPQLLIYAAS TLHSGIPDRFSGSGSGTD
FTLKISRVEAEDVGVYYCQQSKEDPRTFGGQTKLEIKGGGSGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSK
ASGYTFTDYNMDWVRQAPGQGLEWIGDINPNNGGTLYNQKFRGRVTLTVDKSISTAYMELSRLSDDTAVYYCA
10 RSEVFYGYADYWGQGT TTVSS (SEQ ID NO: 43)。

B7H6-17单链抗体

DIVLTQSPVSLAVPLGQRATISCKASQSVDDYDGDSYMNWYQKPGQPPKLLIYAAS TLHSGIPVRFSGSGSGT
DFTLNHPVEEEDAASYCQQSKEDPRTFGGQTKLEIKGGGSGGGSGGGGSEVLLQQSGPEVVKPGASVKITCK
ASGYTFTDYNMDWVKQSHGKSLEWIGDINPNAGTLYNQKFRGRVTLIVDKSSSTAYMELRSLTSDDTAVYYCA
15 RSEVFYGYADYWGQGT TTVSS (SEQ ID NO: 44)。

B7H6-18单链抗体

DIVLTQSPVSLAVPLGQRATISCKASQSVDDYDADSYMNWYQKPGQPPKLLIYAAS TLHSGIPVRFSGSGSGT
DFTLNHPVEEEDAASYCQQSKEDPRTFGGQTKLEIKGGGSGGGSGGGGSEVLLQQSGPEVVKPGASVKITCK
ASGYTFTDYNMDWVKQSHGKSLEWIGDINPNNGGTLYNQKFRGRVTLIVDKSSSTAYMELRSLTSDDTAVYYCA
20 RSEVFYGYADYWGQGT TTVSS (SEQ ID NO: 45)。

第一Fc区氨基酸序列

EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLVCLVKGF
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ
25 ID NO: 47)。

第二Fc区氨基酸序列

EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKISKAKGQPREPQVCTLPSPRDELTKNQVSLCAVKGF
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ
30 ID NO: 48)。

实施例2 CD3×B7H6 双特异性抗体的表达及纯化

2.1 CD3×B7H6 双特异性抗体分子表达

通过用携带有 CD3×B7H6 链编码基因的 pTT5 载体瞬时转染 ExpiCHO-S 细胞 (Gibco, 货号 A29127) 来制备结合 CD3
35 和 B7H6 的双特异性分子, 其中, 18 个 CD3×B7H6 链编码基因分别具有如 SEQ ID NO: 49 所示的抗 CD3 的 ScFv-Fc, 以
及如 SEQ ID NO: 50-67 所示的抗 B7H6 的 ScFv-Fc。具体的实验操作如下: 转染前一天, 将 ExpiCHO-S 细胞调整细胞密
度为 (3-4) × 10⁶/mL, 37°C, 8% CO₂, 120 rpm 摇动培养过夜。转染当天, 细胞生长到 7×10⁶-1×10⁷/mL, 活率大于 95%
时准备转染, 使用新鲜预热的 ExpiCHO 培养基 (Gibco, 货号 A2910002) 将细胞稀释到 6×10⁶/mL, 再取含有 CD3 多肽
40 链和 B7H6 多肽链的质粒以 1: 1 的质量比, 利用 ExpiFectamine CHO 转染试剂 (Gibco, 货号 A29129) 转染到 ExpiCHO-S
细胞中, 于 37°C, 8% CO₂, 120 rpm 摇动培养。转染后 18-22 h, 将 ExpiFectamine CHO Enhancer 和 ExpiCHO Feed 混匀
后立即加入转染后细胞, 混匀, 于 32°C, 5%CO₂, 120 rpm 摇动培养。转染后第 5 天, 向细胞中再补加 8 mL ExpiCHO Feed,
混匀后继续培养。每日观察细胞数和细胞活率变化, 待细胞活率下降至 80%以下或培养 10-14 天后离心收获细胞, 取上清
纯化或冻于-80°C 备用。

2.2 CD3×B7H6 双特异性抗体分子纯化

2.1 实验获得的上清用 0.22μm 滤膜过滤, 利用 Mabselect prism A 亲和层析柱 (GE 公司, 货号 17549854) 从表达上清
45 中捕获带有 Fc 结构域的抗体, 用 pH7.2 的磷酸盐缓冲液平衡层析柱后, 上清过亲和层析柱, 用洗脱缓冲液 (100mM 柠

柠檬, pH2.7) 洗脱, 最后用 PBS 缓冲液浓缩置换, 纯化后的抗体通过 SDS-PAGE 鉴定纯度在 95%以上。

CD3 ScFv-Fc 氨基酸序列

MDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIRNYLNWYQQKPGKAPKLLIYTSRLESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL
QPEDFATYYCQQGNTLPWTFGQGTKVEIKGGGSGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFTGYTMN
5 WVRQAPGKGLEWVALINPYKGVSTYNQKFKDRFTISVDKSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGYYGSDWYFDVW
GQGTLTVTSSEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH
NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSL
WCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCFVMSVMEALHNHYTQKSLSLSP
GK (SEQ ID NO: 49)。

10 B7H6-1 ScFv-Fc 氨基酸序列

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSVSDYDGDSYMNWYQQKPGQPPKLLIYAASLTLSGVPDRFSGSGSGTDFTLT
ISSLQAEDVAVYYCQQSKEDPRTFGQGTKLEIKGGGSGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTD
YNMDWVRQAPGQGLEWMGDINPNNGGTLYNQKFRGRVTMTVDTISISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARSEVFYGNAD
YWGQGTITVTSSEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
15 VHNKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSSRDELTKNQV
SLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVSCFVMSVMEALHNHYTQKSLSL
SPGK (SEQ ID NO: 50)。

B7H6-2 ScFv-Fc 氨基酸序列

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSVSDYDGDSYMNWYQQKPGQPPKLLIYAASLTLSGVPDRFSGSGSGTDFTLT
20 ISSLQAEDVAVYYCQQSKEDPRTFGQGTKLEIKGGGSGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTD
YNMDWVRQAPGQGLEWIGDINPNNGGTLYNQKFRGRVTLTVDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARSEVFYGNADY
WGQGTITVTSSEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV
HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSSRDELTKNQVS
LSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVSCFVMSVMEALHNHYTQKSLSL
25 PGK (SEQ ID NO: 51)。

B7H6-3 ScFv-Fc 氨基酸序列

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSVSDYDGDSYMNWYQQKPGQPPKLLIYAASLTLSGVPDRFSGSGSGTDFTLT
ISSLQAEDVAVYYCQQSKEDPRTFGQGTKLEIKGGGSGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTD
YNMDWVRQAPGQGLEWIGDINPNNGGTLYNQKFRGRVTLTVDKSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARSEVFYGNADY
30 WGQGTITVTSSEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV
HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSSRDELTKNQVS
LSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVSCFVMSVMEALHNHYTQKSLSL
PGK (SEQ ID NO: 52)。

B7H6-4 ScFv-Fc 氨基酸序列

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSVSDYDGDSYMNWYQQKPGQPPKLLIYAASLTLSGVPDRFSGSGSGTDFTLT
ISSLQAEDVAVYYCQQSKEDPRTFGQGTKLEIKGGGSGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTD
YNMDWVRQAPGKGLEWIGDINPNNGGTLYNQKFRGRVTLTVDKSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARSEVFYGNADY
WGQGTITVTSSEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV
HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSSRDELTKNQVS
40 LSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVSCFVMSVMEALHNHYTQKSLSL
PGK (SEQ ID NO: 53)。

B7H6-5 ScFv-Fc 氨基酸序列

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSVSDYDGDSYMNWYQQKPGQPPKLLIYAASLTLSGIPDRFSGSGSGTDFTLT
SSLQAEDVAVYYCQQSKEDPRTFGQGTKLEIKGGGSGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTDY
45 NMDWVRQAPGQGLEWMGDINPNNGGTLYNQKFRGRVTMTVDTISISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARSEVFYGNADY
WGQGTITVTSSEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV

HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSPRDELTKNQVSL
LSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSHEALHNHYTQKSLSLSP
PGK (SEQ ID NO: 54)。

B7H6-6 ScFv-Fc 氨基酸序列

5 DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSVSDYDGDSYMNWYQQKPGQPPKLLIYAASLHSGIPDRFSGSGSGTDFTLT
SSLQAEDVAVYYCQQSKEDPRTFGQGTKEIKGGGSGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDY
NMDWVRQAPGQGLEWIGDINPNNGGTLNQNKFRGRVTLTVDTSISTAYMELSRLSDDTAVYYCARSEVFYGNADYW
GQGTTVTVSSEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH
NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSPRDELTKNQVSL
10 SCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSHEALHNHYTQKSLSLSP
GK (SEQ ID NO: 55)。

B7H6-7 ScFv-Fc 氨基酸序列

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSVSDYDGDSYMNWYQQKPGQPPKLLIYAASLHSGIPDRFSGSGSGTDFTLT
SSLQAEDVAVYYCQQSKEDPRTFGQGTKEIKGGGSGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDY
15 NMDWVRQAPGQGLEWIGDINPNNGGTLNQNKFRGRVTLTVDKSISTAYMELSRLSDDTAVYYCARSEVFYGNADYW
GQGTTVTVSSEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH
NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSPRDELTKNQVSL
SCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSHEALHNHYTQKSLSLSP
20 GK (SEQ ID NO: 56)。

B7H6-8 ScFv-Fc 氨基酸序列

DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSVSDYDGDSYMNWYQQKPGQPPKLLIYAASLHSGIPDRFSGSGSGTDFTLT
SSLQAEDVAVYYCQQSKEDPRTFGQGTKEIKGGGSGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDY
NMDWVRQAPGQGLEWIGDINPNNGGTLNQNKFRGRVTLTVDKSISTAYMELSRLSDDTAVYYCARSEVFYGNADYW
GQGTTVTVSSEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH
25 NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSPRDELTKNQVSL
SCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSHEALHNHYTQKSLSLSP
GK (SEQ ID NO: 57)。

B7H6-9 ScFv-Fc 氨基酸序列

DIVLTQTPLSLSVTPGQPASISCKASQSVSDYDGDSYMNWYLQKPGQPPQLLIYAASLHSGVPDRFSGSGSGTDFTLKI
30 SRVEAEDVGYYCQQSKEDPRTFGQGTKEIKGGGSGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTD
YNMDWVRQAPGQGLEWMGDINPNNGGTLNQNKFRGRVTMTVDTSISTAYMELSRLSDDTAVYYCARSEVFYGNAD
YWQGTTVTVSSEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSPRDELTKNQV
SLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSHEALHNHYTQKSLSL
35 SPGK (SEQ ID NO: 58)。

B7H6-10 ScFv-Fc 氨基酸序列

DIVLTQTPLSLSVTPGQPASISCKASQSVSDYDGDSYMNWYLQKPGQPPQLLIYAASLHSGVPDRFSGSGSGTDFTLKI
SRVEAEDVGYYCQQSKEDPRTFGQGTKEIKGGGSGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTD
YNMDWVRQAPGQGLEWIGDINPNNGGTLNQNKFRGRVTLTVDTSISTAYMELSRLSDDTAVYYCARSEVFYGNADY
40 WGQTTVTVSSEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV
HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSPRDELTKNQV
LSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSHEALHNHYTQKSLSL
PGK (SEQ ID NO: 59)。

B7H6-11 ScFv-Fc 氨基酸序列

45 DIVLTQTPLSLSVTPGQPASISCKASQSVSDYDGDSYMNWYLQKPGQPPQLLIYAASLHSGVPDRFSGSGSGTDFTLKI
SRVEAEDVGYYCQQSKEDPRTFGQGTKEIKGGGSGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTD

- YNMDWVRQAPGQGLEWIGDINPNNGGTLYNQKFRGRVTLTVDKSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARSEVFGYNYADY
WGQGTITVTSSEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV
HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSSRDELTKNQVS
LSCAVKGFYPDSIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSVHEALHNHYTQKLSLS
5 PGK (SEQ ID NO: 60)。
B7H6-12 ScFv-Fc 氨基酸序列
DIVLTQTPLSLSVTPGQPASISCKASQSVDDYDGDSYMNWYLQKPGQPPQLLIYAASLHSGVPDRFSGSGSGTDFTLKI
SRVEAEDVGVYYCQQSKEDPRITFGQGTKLEIKGGGSGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTD
YNMDWVRQAPGQGLEWIGDINPNNGGTLYNQKFRGRVTLTVDKSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARSEVFGYNYADY
10 WGQGTITVTSSEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV
HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSSRDELTKNQVS
LSCAVKGFYPDSIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSVHEALHNHYTQKLSLS
PGK (SEQ ID NO: 61)。
B7H6-13 ScFv-Fc 氨基酸序列
15 DIVLTQTPLSLSVTPGQPASISCKASQSVDDYDGDSYMNWYLQKPGQPPQLLIYAASLHSGIPDRFSGSGSGTDFTLKI
SRVEAEDVGVYYCQQSKEDPRITFGQGTKLEIKGGGSGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTD
YNMDWVRQAPGQGLEWIGDINPNNGGTLYNQKFRGRVTMTVDTISISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARSEVFGYNYAD
YWGQGTITVTSSEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSSRDELTKNQV
20 SLSCAVKGFYPDSIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSVHEALHNHYTQKLSLS
SPGK (SEQ ID NO: 62)。
B7H6-14 ScFv-Fc 氨基酸序列
DIVLTQTPLSLSVTPGQPASISCKASQSVDDYDGDSYMNWYLQKPGQPPQLLIYAASLHSGIPDRFSGSGSGTDFTLKI
SRVEAEDVGVYYCQQSKEDPRITFGQGTKLEIKGGGSGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTD
25 YNMDWVRQAPGQGLEWIGDINPNNGGTLYNQKFRGRVTLTVDTISISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARSEVFGYNYADY
WGQGTITVTSSEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV
HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSSRDELTKNQVS
LSCAVKGFYPDSIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSVHEALHNHYTQKLSLS
PGK (SEQ ID NO: 63)。
B7H6-15 ScFv-Fc 氨基酸序列
30 DIVLTQTPLSLSVTPGQPASISCKASQSVDDYDGDSYMNWYLQKPGQPPQLLIYAASLHSGIPDRFSGSGSGTDFTLKI
SRVEAEDVGVYYCQQSKEDPRITFGQGTKLEIKGGGSGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTD
YNMDWVRQAPGQGLEWIGDINPNNGGTLYNQKFRGRVTLTVDKSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARSEVFGYNYADY
WGQGTITVTSSEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV
35 HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSSRDELTKNQVS
LSCAVKGFYPDSIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSVHEALHNHYTQKLSLS
PGK (SEQ ID NO: 64)。
B7H6-16 ScFv-Fc 氨基酸序列
DIVLTQTPLSLSVTPGQPASISCKASQSVDDYDGDSYMNWYLQKPGQPPQLLIYAASLHSGIPDRFSGSGSGTDFTLKI
40 SRVEAEDVGVYYCQQSKEDPRITFGQGTKLEIKGGGSGGGSGGGGSEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTD
YNMDWVRQAPGQGLEWIGDINPNNGGTLYNQKFRGRVTLTVDKSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARSEVFGYNYADY
WGQGTITVTSSEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV
HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSSRDELTKNQVS
LSCAVKGFYPDSIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSVHEALHNHYTQKLSLS
45 PGK (SEQ ID NO: 65)。
B7H6-17 ScFv-Fc 氨基酸序列

DIVLTQSPVSLAVPLGQRATISCKASQSVSDYDGSYMNWYQQKPGQPPKLLIYAASLTLSGIPVRFSGSGSGTDFTLNI
HPVEEEDAASYCQQSKEDPRTFGGGTKLEIKGGGSGGGGSGGGGSEVLLQQSGPEVVKPGASVKITCKASGYTFTDY
NMDWVKQSHGKSLEWIGDINPNAGTLYNQKFRGRVTLIVDKSSSTAYMELRSLTSDDTAVYYCARSEVFYGYADYWG
QGTTLTVSSEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN
5 AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSL
CAVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPG
K (SEQ ID NO: 66)。

B7H6-18 ScFv-Fc 氨基酸序列

DIVLTQSPVSLAVPLGQRATISCKASQSVSDYDADSYMNWYQQKPGQPPKLLIYAASLTLSGIPVRFSGSGSGTDFTLNI
10 HPVEEEDAASYCQQSKEDPRTFGGGTKLEIKGGGSGGGGSGGGGSEVLLQQSGPEVVKPGASVKITCKASGYTFTDY
NMDWVKQSHGKSLEWIGDINPNNGGTLNQKFRGRVTLIVDKSSSTAYMELRSLTSDDTAVYYCARSEVFYGYADYWG
QGTTLTVSSEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN
AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSL
CAVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPG
15 K (SEQ ID NO: 67)。

实施例3 CD3×B7H6 双特异性抗体与抗原的结合活性检测 (ELISA)

本实施例分别检测所述 CD3×B7H6 双特异性抗体与单抗原 (B7H6 抗原或 CD3 抗原) 的结合活性, 以及 CD3×B7H6 双特异性抗体与双抗原 (B7H6 抗原、CD3 抗原) 同时结合的活性, 具体实验操作如下:

20 3.1 CD3×B7H6 双特异性抗体与单抗原结合活性测定

将人 B7H6 (ACRO biosystems, 货号 B76-H52H8)、人 CD3 抗原 (ACRO biosystems, 货号 CDD-H52W1) 分别用包被缓冲液 (35 mM NaHCO₃, 15 mM Na₂CO₃, pH 9.6) 稀释至 2 μg/mL, 向酶联板中每孔加入 100 μL, 4℃ 过夜。之后用 PBST 清洗 3 遍 (0.05% Tween 20-PBS, pH 7.2)。向板中加入 300 μL 封闭缓冲液 (1% BSA, 0.05% Tween20-PBS, pH 7.2), 室温静置 2h。再用 PBST 清洗 3 遍。每孔加入相应双特异性抗体, 室温孵育 1 小时。再用 PBST 清洗 3 遍。每孔加入 100 μL
25 用封闭缓冲液稀释的 HRP-兔抗人 IgG 二抗 (booster, 货号 BA1070), 室温孵育 1 小时。用 PBST 清洗 3 遍, 每孔加入 TMB, 室温避光反应 2-5 分钟, 每孔再用 2M 硫酸终止反应, 最后用酶标仪读取 OD450 数值。

具体的实验结果如图 2A 所示, 图 2A 显示了不同的 B7H6 序列与 CD3 序列组成的 CD3×B7H6 双特异性抗体分子与 B7H6 抗原的结合情况, 可以看出这些双特异性抗体分子均可以结合 B7H6 抗原, 其中, CD3×B7H6-14 的结合活性最强, 因此, 后续实验主要围绕 CD3×B7H6-14 展开; 图 2B 展示了 CD3×B7H6-14 双特异性抗体分子可以结合 CD3 抗原。

30 3.2 CD3×B7H6 双特异性抗体与双抗原结合活性测定

将人 B7H6 (ACRO biosystems, 货号 B76-H82Wb) 用包被缓冲液 (35 mM NaHCO₃, 15 mM Na₂CO₃, pH 9.6) 稀释至 2 μg/mL, 向酶联板中每孔加入 100 μL, 4℃ 过夜。之后用 PBST 清洗 3 遍 (0.05% Tween 20-PBS, pH 7.2)。向板中加入 300 μL 封闭缓冲液 (1% BSA, 0.05% Tween20-PBS, pH 7.2), 室温静置 2h。再用 PBST 清洗 3 遍。每孔加入相应双特异性抗体, 室温孵育 1 小时。再用 PBST 清洗 3 遍。每孔加入 100 μL 用封闭缓冲液稀释的人 CD3 抗原 (ACRO biosystems, 货号 CDD-H52W1), 室温孵育 1 小时。再用 PBST 清洗 3 遍。每孔加入 100 μL 用封闭缓冲液稀释的 HRP-抗 His 标签二抗 (Genscript, 货号 A00612), 室温孵育 1 小时。用 PBST 清洗 3 遍, 每孔加入 TMB, 室温避光反应 2-5 分钟, 每孔再用 2M 硫酸终止反应, 最后用酶标仪读取 OD450 数值。具体结果如图 2C 所示, 结果显示, 随着 CD3×B7H6-14 双特异性抗体分子浓度增加, 其 OD450 读数逐渐增加, 说明该双特异性抗体分子可以同时结合人 CD3 和 B7H6。

40 实施例4 双特异性抗体分子的体外杀伤检测

4.1 人外周血单个核细胞 (PBMC) 的分离

将抗凝人外周血加入等体积的无菌 PBS 中, 取 50 mL 无菌离心管, 将 25 mL 稀释后的外周血轻轻加到 15 mL 淋巴分离液上 (GE healthcare, 货号 17144003), 整个过程保持界面清晰不晃动, 21℃, 400 g 离心 30 min, 离心机升速 1, 降速 0。离心后管内分为三层, 中间层为淋巴细胞层, 吸取中间的白膜层至新的 50 mL 离心管, 吸取完毕后用 PBS 加满至 50 mL,
45 500 g 离心 10 min。弃上清, 加入 1 mL PBS 轻轻吹匀, PBS 加满 40 mL, 250 g 离心 10 min。

离心后弃去上清, 用 1 mL MACS 缓冲液 (0.5% BSA, 2.5 mM EDTA-PBS) 重悬后稀释计数。

4.2 纯化 T 细胞分离

人 T 细胞使用磁珠分选 (Miltenyi 公司, 货号 130096535) 的方法将其从外周血中分离出来。将 PBMC 收集后弃尽上清, 每 10^7 个细胞加入 40 μ L MACS buffer 重悬细胞后再加入 10 μ L T Cell Biotin-Antibody Cocktail, 混匀, 4 $^{\circ}$ C 孵育 10min。每 10^7 个细胞再加入 30 μ L MACS buffer 和 20 μ L T Cell MicroBead Cocktail, 混匀, 4 $^{\circ}$ C 孵育 15 min。将 LS 分离柱放入磁场, 用 3 mL MACS buffer 润湿分离柱, 将细胞悬液加入分离柱, 1 mL MACS buffer 涮洗离心管后, 加入分离柱, 收集流出液。3 mL MACS buffer 洗分离柱, 收集流出液。混匀后, 细胞计数。将细胞悬液 300 g, 4 $^{\circ}$ C, 10 min 离心后用培养基重悬。

4.3 贴壁肿瘤细胞体外杀伤检测

将贴壁培养的肿瘤细胞消化后计数, 调整细胞密度为 2×10^5 /mL。打开 RTCA 仪器 (安捷伦), 选择仪器类型 DP, 选择实验模式, 填写细胞信息和药物信息。进入 schedule 设置实验步骤, 将板子加入 50 μ L 新鲜培养基 (89% RPMI 1640 培养基+10%胎牛血清+1%青链霉素) 后放入仪器中, 关好, 点击第一步开始。完成 Done 后取出板子, 加入 100 μ L 细胞悬液, 室温静置 15-30min 防止边缘效应, 放入仪器, 点击开始。待生长到对数期后, 暂停, 加入 50 μ L 纯化 T 细胞 (1×10^6 /mL), 并加入梯度浓度的双特异性抗体, 点击开始, 一段时间后分析。

具体实验结果如图所示, 其中, 随着 CD3 $\times$ B7H6-14 双特异性抗体浓度增加, T 细胞对 HCT-15 细胞 (图 3A)、LoVo 细胞 (图 3B)、Hep G2 细胞 (图 3C) 及 SK-BR-3 细胞 (图 3D) 的杀伤效率逐渐增加, 说明 CD3 $\times$ B7H6-14 可以很好地促进 T 细胞杀伤 B7H6+ 的肿瘤细胞。

实施例 5 荧光素酶反应法检测悬浮细胞体外杀伤实验

将过表达荧光素酶的肿瘤细胞收集后调整细胞密度为 2×10^5 /mL, 如实施例 4.1 和 4.2 所描述分离纯化、收集、纯化 T 细胞并调整细胞密度为 5×10^5 /mL。各取 50 μ L 肿瘤细胞和纯化 T 细胞于 96 孔平底板中, 并加入梯度浓度的双特异性抗体, 混匀。37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 孵育 4 小时后向每孔加入 100 μ L (15mg/mL) 荧光素钾盐溶液 (Goldbio 公司, 货号 LUCK-IG), 快速混匀, 用酶标仪检测化学发光值。

具体实验结果如图所示, 随着 CD3 $\times$ B7H6-14 双特异性抗体添加浓度增加, 其检测到 Ho8910 和 K562 的化学发光值逐渐下降, 说明存活的肿瘤细胞越少, 即 CD3 $\times$ B7H6-14 可以显著促进 T 细胞杀伤 Ho8910 细胞 (图 4A) 和 K562 细胞 (图 4B)。

实施例 6 在 B7H6 阳性肿瘤细胞存在下检测 T 细胞增殖情况

为了测定 T 细胞增殖, 本实施例设置为 2 $\times$ 2 双因素实验, 包括如下组: T 细胞+PBS 组、T 细胞+CD3 $\times$ B7H6-14 组、HCT-15+T 细胞+PBS 组、HCT-15+T 细胞+CD3 $\times$ B7H6-14 组, 如实施例 4.1 和 4.2 所描述分离纯化 T 细胞, 用 5 μ M 细胞 Trace CFSE (Invitrogen, 货号 C34554) 标记纯化 T 细胞。随后将标记后的 T 细胞与人结肠癌细胞 (HCT-15 细胞) 以效靶比 2: 1 混合, 再向其中加入 PBS 或者双特异性抗体, 3 天后收获细胞, 通过流式细胞仪检测 T 细胞增殖情况。

具体实验结果如图所示, 其中, CD3 $\times$ B7H6-14 双特异性抗体在 HCT-15 存在的情况下可以显著促进 T 细胞增殖 (图 5A), 并且随着双特异性抗体 CD3 $\times$ B7H6-14 浓度增加, 其促进 T 细胞增殖效果越明显 (图 5B)。

实施例 7 在 B7H6 阳性肿瘤细胞存在下检测 T 细胞活化和脱颗粒水平

如实施例 4.1 和 4.2 所描述分离纯化 T 细胞, 实验共设置 2 组, 其中, 对照组为 T 细胞组, 实验组将 T 细胞与 HCT-15 靶细胞按照效靶比 1: 1 加入至 96 孔板内, 再加入梯度浓度的 CD3 $\times$ B7H6 双特异性抗体, 混匀。37 $^{\circ}$ C 孵育 24 小时后离心收集细胞, 用 PBS 重悬细胞, 加入小鼠血清室温封闭 15 分钟, 再加入检测表面分子的流式抗体, 4 $^{\circ}$ C 避光孵育 30 分钟后用 PBS 清洗, 再加入固定穿膜液 (Invitrogen, 货号 00512343), 室温固定半小时以上。再加入穿膜缓冲液 (Invitrogen, 货号 00833356) 清洗, 加入小鼠血清室温封闭 15 分钟, 之后加入相应的细胞内分子标记抗体, 室温避光孵育 30 分钟, 再加入 PBS 清洗两次后用流式细胞仪检测。

具体实验结果如图 6A 和 6B 所示, 其中, 在 B7H6+ 细胞存在 (+HCT-15) 情况下, 随着 CD3 $\times$ B7H6-14 双特异性抗体浓度增加, CD4+T 细胞和 CD8+T 细胞表面表达 CD69 分子 (图 6A) 和细胞内表达 CD107a (图 6B) 的比例逐渐增多, 而不存在 B7H6+ 肿瘤细胞 (-HCT-15) 时, T 细胞在经过双特异性抗体孵育后活化和脱颗粒能力很有限, 说明该双特异性抗体可以特异性靶向 T 细胞和 B7H6+ 肿瘤细胞并且促进 T 细胞活化和脱颗粒。

实施例 8 在 B7H6 阳性肿瘤细胞存在下检测 T 细胞分泌细胞因子

如实施例 4.1 和 4.2 所描述分离纯化 T 细胞，对照组仅有 T 细胞，实验组含有 T 细胞和 HCT-15 细胞， 5×10^5 个 T 细胞、 5×10^5 个 T 细胞和 5×10^5 个 HCT-15 细胞分别加入至 24 孔板内，总体积为 500 μ L，再加入梯度浓度的 CD3 $\times$ B7H6 双特异性抗体（0、 10^0 、 10^1 、 10^2 、 10^3 ），混匀。37 $^{\circ}$ C 孵育 24 小时后离心收集上清液，用 CBA 人 Th1/Th2/Th17 细胞因子检测试剂盒（BD，货号 560484）检测上清中各种细胞因子的浓度，最后用流式细胞仪检测。

具体实验结果如图 7A-D 所示，其中，展示了细胞共孵育上清中 IFN- γ 、IL-2、IL-10 和 IL-17A 细胞因子的浓度，在 HCT-15 肿瘤细胞存在下，随着 CD3 $\times$ B7H6-14 抗体浓度增加，T 细胞分泌这 4 种细胞因子的水平也逐渐增强，说明该双特异性抗体可以促进 T 细胞活化并分泌细胞因子。

实施例 9 活体内异种移植功效研究

为了检测 CD3 $\times$ B7H6 双特异性抗体分子对于 HCT-15 肿瘤细胞的体内抗肿瘤活性，本实施例共设置 3 组进行实验，包括缓冲液组、人免疫球蛋白（IgG）组和 CD3 $\times$ B7H6-14 双特异性抗体分子组。如实施例 4.1 和 4.2 所描述分离纯化 T 细胞，再使用 T 细胞扩增试剂盒（gibco，货号 11131D）扩增 T 细胞 7 天。将 HCT-15 结肠癌细胞（ 1×10^6 ）与扩增 T 细胞（ 2×10^6 ）混合后皮下注射（s.c.）于雄性 NOD-Prkdcscid Il2rgem1/Smoc 小鼠的皮下，接种后每隔两天通过静脉注射 CD3 $\times$ B7H6 双特异性抗体（1mg/kg，溶于 PBS 中）、IgG 对照抗体（sigma，货号 I4506）或缓冲液（对照溶剂）到小鼠体内，共注射三次。通过外部卡尺测量检测肿瘤长和宽并用标准公式计算肿瘤体积。

图 8 展示了 CD3 $\times$ B7H6-14 双特异性抗体分子对于 HCT-15 细胞的体内抗肿瘤活性。通过 CD3 $\times$ B7H6-14 双特异性抗体治疗可以明显促使 HCT-15 肿瘤消退，而使用对照 IgG 或者对照溶剂则不能达到治疗效果，说明 CD3 $\times$ B7H6 双特异性抗体具有明显的体内抗肿瘤活性。

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

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

权利要求书

1、一种重组抗体，其特征在于，含有选自下列至少之一的 CDR 序列或与其具有至少 95% 同一性的氨基酸序列：

CD3 抗体可变区 CDR 序列：SEQ ID NO: 1-6；

5 B7H6 抗体可变区 CDR 序列：SEQ ID NO: 7~12。

2、根据权利要求 1 所述的重组抗体，其特征在于，含有 CD3 抗体的可变区，所述 CD3 抗体的可变区具有如 SEQ ID NO: 13 所示的轻链可变区，和 SEQ ID NO: 14 所示的重链可变区，或者与 SEQ ID NO: 13 和 SEQ ID NO: 14 所示的氨基酸序列具有至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 99% 同一性的氨基酸序列。

3、根据权利要求 1 所述的重组抗体，其特征在于，所述抗体含有 B7H6 抗体的可变区，所述 B7H6 抗体的可变区具有如 SEQ ID NO: 20 所示的轻链可变区，和 SEQ ID NO: 23 所示氨基酸序列的重链可变区，或者与 SEQ ID NO: 20 和 SEQ ID NO: 23 所示的氨基酸序列具有至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 99% 同一性的氨基酸序列；

10 所述 B7H6 抗体的可变区具有如 SEQ ID NO: 16 所示的轻链可变区，和 SEQ ID NO: 22 所示氨基酸序列的重链可变区，或者与 SEQ ID NO: 16 和 SEQ ID NO: 22 所示的氨基酸序列具有至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 99% 同一性的氨基酸序列；

15 所述 B7H6 抗体的可变区具有如 SEQ ID NO: 16 所示的轻链可变区，和 SEQ ID NO: 23 所示氨基酸序列的重链可变区，或者与 SEQ ID NO: 16 和 SEQ ID NO: 23 所示的氨基酸序列具有至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 99% 同一性的氨基酸序列；

20 所述 B7H6 抗体的可变区具有如 SEQ ID NO: 16 所示的轻链可变区，和 SEQ ID NO: 24 所示氨基酸序列的重链可变区，或者与 SEQ ID NO: 16 和 SEQ ID NO: 24 所示的氨基酸序列具有至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 99% 同一性的氨基酸序列；

25 所述 B7H6 抗体的可变区具有如 SEQ ID NO: 16 所示的轻链可变区，和 SEQ ID NO: 25 所示氨基酸序列的重链可变区，或者与 SEQ ID NO: 16 和 SEQ ID NO: 25 所示的氨基酸序列具有至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 99% 同一性的氨基酸序列；

30 所述 B7H6 抗体的可变区具有如 SEQ ID NO: 17 所示的轻链可变区，和 SEQ ID NO: 22 所示氨基酸序列的重链可变区，或者与 SEQ ID NO: 17 和 SEQ ID NO: 22 所示的氨基酸序列具有至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 99% 同一性的氨基酸序列；

35 所述 B7H6 抗体的可变区具有如 SEQ ID NO: 17 所示的轻链可变区，和 SEQ ID NO: 23 所示氨基酸序列的重链可变区，或者与 SEQ ID NO: 17 和 SEQ ID NO: 23 所示的氨基酸序列具有至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 99% 同一性的氨基酸序列；

40 所述 B7H6 抗体的可变区具有如 SEQ ID NO: 17 所示的轻链可变区，和 SEQ ID NO: 24 所示氨基酸序列的重链可变区，或者与 SEQ ID NO: 17 和 SEQ ID NO: 24 所示的氨基酸序列具有至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 99% 同一性的氨基酸序列；

45 所述 B7H6 抗体的可变区具有如 SEQ ID NO: 17 所示的轻链可变区，和 SEQ ID NO: 25 所示氨基酸序列的重链可变区，或者与 SEQ ID NO: 17 和 SEQ ID NO: 25 所示的氨基酸序列具有至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 99% 同一性的氨基酸序列；

所述 B7H6 抗体的可变区具有如 SEQ ID NO: 19 所示的轻链可变区，和 SEQ ID NO: 22 所示氨基酸序列的重链可变区，或者与 SEQ ID NO: 19 和 SEQ ID NO: 22 所示的氨基酸序列具有至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 99% 同一性的氨基酸序列；

40 所述 B7H6 抗体的可变区具有如 SEQ ID NO: 19 所示的轻链可变区，和 SEQ ID NO: 23 所示氨基酸序列的重链可变区，或者与 SEQ ID NO: 19 和 SEQ ID NO: 23 所示的氨基酸序列具有至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 99% 同一性的氨基酸序列；

45 所述 B7H6 抗体的可变区具有如 SEQ ID NO: 19 所示的轻链可变区，和 SEQ ID NO: 24 所示氨基酸序列的重链可变区，或者与 SEQ ID NO: 19 和 SEQ ID NO: 24 所示的氨基酸序列具有至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 99% 同一性的氨基酸序列；

所述 B7H6 抗体的可变区具有如 SEQ ID NO: 19 所示的轻链可变区，和 SEQ ID NO: 25 所示氨基酸序列的重链可变区，

- 或者与 SEQ ID NO: 19 和 SEQ ID NO: 25 所示的氨基酸序列具有至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 99% 同一性的氨基酸序列；
- 5 所述 B7H6 抗体的可变区具有如 SEQ ID NO: 20 所示的轻链可变区, 和 SEQ ID NO: 22 所示氨基酸序列的重链可变区, 或者与 SEQ ID NO: 20 和 SEQ ID NO: 22 所示的氨基酸序列具有至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 99% 同一性的氨基酸序列；
- 所述 B7H6 抗体的可变区具有如 SEQ ID NO: 20 所示的轻链可变区, 和 SEQ ID NO: 24 所示氨基酸序列的重链可变区, 或者与 SEQ ID NO: 20 和 SEQ ID NO: 24 所示的氨基酸序列具有至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 99% 同一性的氨基酸序列；
- 10 所述 B7H6 抗体的可变区具有如 SEQ ID NO: 20 所示的轻链可变区, 和 SEQ ID NO: 25 所示氨基酸序列的重链可变区, 或者与 SEQ ID NO: 20 和 SEQ ID NO: 25 所示的氨基酸序列具有至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 99% 同一性的氨基酸序列；
- 所述 B7H6 抗体的可变区具有如 SEQ ID NO: 15 所示的轻链可变区, 和 SEQ ID NO: 26 所示氨基酸序列的重链可变区, 或者与 SEQ ID NO: 15 和 SEQ ID NO: 26 所示的氨基酸序列具有至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 99% 同一性的氨基酸序列；
- 15 所述 B7H6 抗体的可变区具有如 SEQ ID NO: 18 所示的轻链可变区, 和 SEQ ID NO: 21 所示氨基酸序列的重链可变区, 或者与 SEQ ID NO: 18 和 SEQ ID NO: 21 所示的氨基酸序列具有至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 99% 同一性的氨基酸序列。
- 4、根据权利要求 1 所述的重组抗体, 其特征在于, 进一步包括连接肽；
- 任选地, 所述连接肽具有 SEQ ID NO: 46 所示的氨基酸序列。
- 20 5、根据权利要求 4 所述的重组抗体, 所述连接肽的 N 端与所述 CD3 抗体轻链可变区的 C 端相连, 所述连接肽的 C 端与所述 CD3 抗体重链可变区的 N 端相连。
- 6、根据权利要求 4 所述的重组抗体, 所述连接肽的 N 端与所述 B7H6 轻链可变区的 C 端相连, 所述连接肽的 C 端与所述 B7H6 重链可变区的 N 端相连。
- 7、根据权利要求 1 所述的重组抗体, 其特征在于, 还含有第一 Fc 区和第二 Fc 区, 所述第一 Fc 区和第二 Fc 区的至少一部分来自于鼠源抗体、人源抗体、灵长目源抗体或其突变体的至少之一。
- 25 8、根据权利要求 7 所述的重组抗体, 其特征在于, 所述第一 Fc 区和第二 Fc 区的至少一部分来自人源 IgG 或其突变体；
- 任选地, 所述第一 Fc 区和第二 Fc 区的至少一部分来自人源 IgG1 或其突变体。
- 9、根据权利要求 7 所述的重组抗体, 其特征在于, 所述第一 Fc 区与野生型 IgG1 Fc 区相比具有 S384C 突变和 T396W 突变中的至少之一。
- 30 10、根据权利要求 9 所述的重组抗体, 其特征在于, 所述第二 Fc 区与野生型 IgG1 Fc 区相比具有 Y380C 突变、T397S 突变、L399A 突变和 Y408V 突变中的至少之一。
- 11、根据权利要求 7-10 任一项所述的重组抗体, 其特征在于, 所述第一抗体 Fc 区具有如 SEQ ID NO:47 所示的氨基酸序列, 所述第二抗体 Fc 区具有如 SEQ ID NO:48 所示的氨基酸序列。
- 35 12、一种重组抗体, 其特征在于, 具有 SEQ ID NO: 49 和 63 所示的氨基酸序列。
- 13、一种核酸, 其特征在于, 所述核酸编码权利要求 1-12 任一项所述的重组抗体。
- 14、根据权利要求 13 所述的核酸, 其特征在于, 具有 SEQ ID NO: 69 所示的核苷酸序列, 以及 SEQ ID NO: 70-87 所示的核苷酸序列中的至少之一。
- 15、一种表达载体, 其特征在于, 所述表达载体携带权利要求 13 或 14 所述的核酸分子。
- 40 16、一种重组细胞, 其特征在于, 所述重组细胞携带权利要求 13 或 14 所述的核酸分子、权利要求 15 所述的表达载体或权利要求 1-12 任一项所述的重组抗体。
- 17、一种组合物, 其特征在于, 包括: 权利要求 1-12 任一项所述的重组抗体、权利要求 13 或 14 所述的核酸分子、权利要求 15 所述的表达载体或权利要求 16 所述的重组细胞。
- 18、权利要求 1-12 任一项所述的重组抗体、权利要求 13 或 14 所述的核酸分子、权利要求 15 所述的表达载体、权利要求 16 所述的重组细胞或权利要求 17 所述的组合物在制备药物中的用途, 所述药物用于治疗或预防癌症。
- 45 19、根据权利要求 18 所述的用途, 其特征在于, 所述癌症包括下列中的至少之一: 直肠癌、非小细胞肺癌、乳腺癌

和肝癌。

20、一种药物，其特征在于，包括：权利要求 1-12 任一项所述的重组抗体、权利要求 13 或 14 所述的核酸分子、权利要求 15 所述的表达载体、权利要求 16 所述的重组细胞或权利要求 17 所述的组合物，所述药物用于治疗或预防癌症。

5 21、根据权利要求 20 所述的药物，其特征在于，所述癌症包括下列中的至少之一：直肠癌、非小细胞肺癌、乳腺癌和肝癌。

22、一种试剂盒，其特征在于，包括：权利要求 1-12 任一项所述的重组抗体。

根据权利要求 20 所述的试剂盒，其特征在于，所述试剂盒用于诊断直肠癌、非小细胞肺癌、乳腺癌和肝癌中的至少之一。

10 23、权利要求 1-12 任一项所述的重组抗体、权利要求 13 或 14 所述的核酸分子、权利要求 15 所述的表达载体、权利要求 16 所述的重组细胞、权利要求 17 所述的组合物或权利要求 21-22 任一项所述的药物在治疗或预防癌症中的用途。

24、根据权利要求 24 所述的用途，其特征在于，所述癌症包括下列中的至少之一：直肠癌、非小细胞肺癌、乳腺癌和肝癌。

25、一种治疗或预防癌症的方法，其特征在于，包括向受试者施用以下中的至少之一：

- 15
- 1) 权利要求 1-12 任一项所述的重组抗体；
 - 2) 权利要求 13 或 14 所述的核酸分子；
 - 3) 权利要求 15 所述的表达载体；
 - 4) 权利要求 16 所述的重组细胞；
 - 5) 权利要求 17 所述的组合物；或
 - 6) 权利要求 21-22 任一项所述的药物。

20 26、根据权利要求 26 所述的方法，其特征在于，所述癌症包括下列中的至少之一：直肠癌、非小细胞肺癌、乳腺癌和肝癌。