

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2021年12月2日 (02.12.2021)



(10) 国际公布号
WO 2021/239026 A1

(51) 国际专利分类号:
C07K 16/30 (2006.01) *A61K 39/395* (2006.01)
C12N 15/13 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
C12N 15/63 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2021/096205

(22) 国际申请日: 2021年5月27日 (27.05.2021)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
202010474861.9 2020年5月29日 (29.05.2020) CN

(71) 申请人: 杭州邦顺制药有限公司 (HANGZHOU BANGSHUN PHARMACEUTICAL CO., LTD) [CN/CN]; 中国浙江省杭州市余杭区良渚街道金昌路2069号2幢101室专利事务部, Zhejiang 311112 (CN)。

(72) 发明人: 李朝辉 (LI, Zhaohui); 中国浙江省杭州市拱墅区莫干山路864号专利事务部, Zhejiang 310011 (CN)。吕裕斌 (LV, Yubin); 中国浙江省杭州市拱墅区莫干山路864号专利事务部, Zhejiang 310011 (CN)。吴敏 (WU, Min); 中国浙江省杭州市拱墅区莫干山路864号专利事务部, Zhejiang 310011 (CN)。张睿 (ZHANG, Qian); 中国浙江省杭州市拱墅区莫干山路864号专利事务部, Zhejiang 310011 (CN)。方和娣 (FANG, Hedi);

中国浙江省杭州市拱墅区莫干山路864号专利事务部, Zhejiang 310011 (CN)。方杰 (FANG, Jie); 中国浙江省杭州市拱墅区莫干山路864号专利事务部, Zhejiang 310011 (CN)。

(81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

(54) Title: ANTIBODY AGAINST CLAUDIN18.2 AND USE THEREOF

(54) 发明名称: 针对Claudin18.2的抗体及其用途

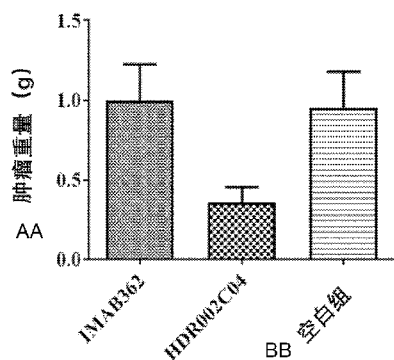


图 12

AA Tumor weight (g)
BB Blank group

(57) Abstract: The present application provides an isolated antigen-binding protein, having the ability to specifically bind to Claudin18.2 on a cell surface, showing a CDC effect on Claudin18.2 positive tumor cells, showing an ADCC effect on Claudin18.2 positive tumor cells, and having the effect of inhibiting the growth of Claudin18.2 positive tumors.

(57) 摘要: 本申请提供一种分离的抗原结合蛋白, 具有特异性结合细胞表面的Claudin18.2的能力、对Claudin18.2阳性肿瘤细胞显示CDC效应、对Claudin18.2阳性肿瘤细胞显示ADCC效应, 并具有抑制Claudin18.2阳性肿瘤的生长效果。

WO 2021/239026 A1

根据细则4.17的声明:

- 关于申请人有权申请并被授予专利(细则4.17(ii))
- 发明人资格(细则4.17(iv))

本国际公布:

- 包括国际检索报告(条约第21条(3))。
- 包括说明书序列表部分(细则5.2(a))。

针对 Claudin18.2 的抗体及其用途

技术领域

本申请涉及生物医药领域，具体涉及一种针对 Claudin18.2 的抗体及其用途。

背景技术

密蛋白（Claudin）是一类建立细胞旁屏障并控制细胞间分子流动的细胞表面蛋白家族。Claudin 是紧密结合的必要成分，在保持上皮细胞极性、控制细胞旁扩散以及调控细胞生长分化方面起到重要作用。不同的 Claudins 在不同组织中表达，其改变的功能与各组织的癌症形成有关。Claudin-1 表达已被证明在结肠癌，Claudin-18 在胃癌，Claudin-10 在肝细胞癌中具有预后价值。因此 claudins 也成为了一类有前景的治疗靶点。Claudin18 有 2 个变体，其中 Claudin18.1 在正常肺和胃的上皮中选择性表达，Claudin18.2 仅在正常胃上皮的分化短寿细胞中有微量表达，但在多种肿瘤中可发现 Claudin18.2 呈现强烈表达，如在胃癌患者中有 75%呈高表达，胰腺癌患者中 50%呈高表达，食管癌患者中 30%呈高表达，肺癌患者中也有一定程度的高表达。

CN103509114A 公开了用于治疗癌症的针对密蛋白-18 的单克隆抗体，其中公开的 175D10 抗体，即为 Astellas 公司目前用于临床试验的 IMAB362，该抗体表现出特异性结合 CLD18.2 并介导杀伤表达 CLD18.2 的细胞的活性。开发特异性针对 Claudin18.2 的抗体是对未被满足的医学需求的补充。并且还需要活性更好，包括结合活性、效应细胞活性、肿瘤杀伤活性、药效等方面性能更好的针对 Claudin18.2 的抗体，以满足本领域病人治疗，及治疗相关需求。

发明内容

本申请提供一种针对 Claudin18.2 的抗体及其用途，包括针对 Claudin18.2 特异性活性高的分离的抗原结合蛋白、核酸分子、载体、细胞，及其制备方法、药物组合物和用途。

本申请提供了一种分离的抗原结合蛋白，其具有下述性质中的一种或多种：

- 1) 在 FACS 测定中, 能够特异性结合细胞表面的 Claudin18.2;
- 2) 在 FACS 测定中, 不结合细胞表面的 Claudin18.1;
- 3) 对 Claudin18.2 阳性肿瘤细胞显示 CDC 效应;
- 4) 对 Claudin18.1 阳性肿瘤细胞不显示 CDC 效应;
- 5) 对 Claudin18.2 阳性肿瘤细胞诱导 ADCC 效应;
- 6) 抑制 Claudin18.2 阳性肿瘤的生长。

在某些实施方式中, 所述分离的抗原结合蛋白选自抗体或其抗原结合片段。

在某些实施方式中, 所述抗体选自嵌合抗体、人源化抗体或全人源抗体, 优选为全人源抗体。

在某些实施方式中, 所述抗原结合片段选自 Fab、Fab'、F(ab)₂、Fv 片段、F(ab')₂、scFv、di-scFv 或 dAb。

在某些实施方式中, 所述分离的抗原结合蛋白包含重链可变区 VH, 所述 VH 包含至少一个如下 HCDR:

HCDR1, 其氨基酸序列如 SEQ ID NO:2 或 SEQ ID NO: 12 所示, 或包含 SEQ ID NO:2 或 SEQ ID NO: 12 所示氨基酸序列;

HCDR2, 其氨基酸序列如 SEQ ID NO:3 或 SEQ ID NO: 13 所示, 或包含 SEQ ID NO: 3 或 SEQ ID NO: 13 所示氨基酸序列;

HCDR3, 其氨基酸序列如 SEQ ID NO:4 或 SEQ ID NO: 14 所示, 或包含 SEQ ID NO:4 或 SEQ ID NO: 14 所示氨基酸序列;

在某些实施方式中, 所述分离的抗原结合蛋白的包含轻链可变区 VL, 所述 VL 包含至少一个如下 LCDR:

LCDR1, 其氨基酸序列如 SEQ ID NO:7 或 SEQ ID NO: 17 所示, 或包含 SEQ ID NO:7 或 SEQ ID NO: 17 所示氨基酸序列;

LCDR2, 其氨基酸序列如 SEQ ID NO:8 或 SEQ ID NO: 18 所示, 或包含 SEQ ID NO:8 或 SEQ ID NO: 18 所示氨基酸序列;

LCDR3, 其氨基酸序列如 SEQ ID NO:9 或 SEQ ID NO: 19 所示, 或包含 SEQ ID NO:9 或 SEQ ID NO: 19 所示氨基酸序列。

在某些实施方式中, 所述 VH 包含分别如 SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3 和 SEQ ID NO:4 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3。

在某些实施方式中, 所述 VH 包含分别如 SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13 和 SEQ ID NO:14 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3。

在某些实施方式中，所述 VL 包含分别如 SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8 和 SEQ ID NO:9 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。

在某些实施方式中，所述 VL 包含分别如 SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18 和 SEQ ID NO:19 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。

在某些实施方式中，所述 VH 包含分别如 SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3 和 SEQ ID NO:4 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3，且所述 VL 包含分别如 SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8 和 SEQ ID NO:9 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。

在某些实施方式中，所述 VH 包含分别如 SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13 和 SEQ ID NO:14 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；且所述 VL 包含分别如 SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18 和 SEQ ID NO:19 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。

在某些实施方式中，所述的分离的抗原结合蛋白的 VH 包括框架区 H-FR1、H-FR2、H-FR3 和 H-FR4。

在某些实施方式中，所述 H-FR1 的 C 末端与所述 HCDR1 的 N 末端直接或间接相连，且所述 H-FR1 包含 SEQ ID NO: 21 或 29 所示氨基酸序列。

在某些实施方式中，所述 H-FR2 位于所述 HCDR1 与所述 HCDR2 之间，且所述 H-FR2 包含 SEQ ID NO: 22 或 30 所示氨基酸序列。

在某些实施方式中，所述 H-FR3 位于所述 HCDR2 与所述 HCDR3 之间，且所述 H-FR3 包含 SEQ ID NO: 23 或 31 所示氨基酸序列。

在某些实施方式中，所述 H-FR4 的 N 末端与所述 HCDR3 的 C 末端直接或间接相连，且所述 H-FR4 包含 SEQ ID NO: 24 或 32 所示氨基酸序列。

在某些实施方式中，所述的分离的抗原结合蛋白的 VL 包括框架区 L-FR1、L-FR2、L-FR3 和 L-FR4。

在某些实施方式中，所述 L-FR1 的 C 末端与所述 LCDR1 的 N 末端直接或间接相连，且所述 L-FR1 包含 SEQ ID NO: 25 或 33 所示氨基酸序列。

在某些实施方式中，所述 L-FR2 位于所述 LCDR1 与所述 LCDR2 之间，且所述 L-FR2 包含 SEQ ID NO: 26 或 34 所示氨基酸序列。

在某些实施方式中，所述 L-FR3 位于所述 LCDR2 与所述 LCDR3 之间，且所述 L-FR3 包含 SEQ ID NO: 27 或 35 所示氨基酸序列。

在某些实施方式中，所述 L-FR4 的 N 末端与所述 LCDR3 的 C 末端直接或间接相连，且所述 L-FR4 包含 SEQ ID NO: 28 或 36 所示氨基酸序列。

在某些实施方式中，所述 VH 包含 SEQ ID NO: 1 或 11 所示氨基酸序列。

在某些实施方式中，所述 VL 包含 SEQ ID NO: 6 或 16 所示氨基酸序列。

在某些实施方式中，所述 VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO:1 所示，且所述 VL 的氨基酸序列如 SEQ ID NO:6 所示。

在某些实施方式中，所述 VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO:11 所示，且所述 VL 的氨基酸序列如 SEQ ID NO:16 所示。

在某些实施方式中，所述分离的抗原结合蛋白进一步包含抗体重链恒定区，所述抗体重链恒定区选自人 IgG 恒定区、IgA 恒定区、IgM 恒定区、IgD 恒定区或 IgE 恒定区，所述人 IgG 恒定区进一步选自人 IgG1 恒定区、IgG2 恒定区、IgG3 恒定区或 IgG4 恒定区；

在某些实施方式中，所述抗体重链恒定区包含 SEQ ID NO: 37 所示的氨基酸序列；

在某些实施方式中，所述分离的抗原结合蛋白包含抗体轻链恒定区，所述抗体轻链恒定区选自人 Ig κ 恒定区或人 Ig λ 恒定区。

在某些实施方式中，所述抗体轻链恒定区包含 SEQ ID NO: 38 或 39 所示的氨基酸序列。

在某些实施方式中，所述分离的抗原结合蛋白包含抗体重链 HC 和抗体轻链 LC。

在某些实施方式中，所述 HC 包含 SEQ ID NO: 5 或 15 所示氨基酸序列。

在某些实施方式中，所述 LC 包含 SEQ ID NO: 10 或 20 所示氨基酸序列。

在某些实施方式中，所述 HC 包含 SEQ ID NO: 5 所示氨基酸序列，且所述 LC 包含 SEQ ID NO: 10 所示氨基酸序列。

在某些实施方式中，所述 HC 包含 SEQ ID NO: 15 所示的氨基酸序列，且所述 LC 包含 SEQ ID NO: 20 所示的氨基酸序列。

另一方面，本申请提供了免疫缀合物，其包含本申请任一项所述的分离的抗原结合蛋白。

另一方面，本申请提供了分离的核酸分子，其编码本申请任一项所述的分离的抗原结合蛋白或所述的免疫缀合物。

另一方面，本申请提供了载体，其包含本申请所述的核酸分子。

另一方面，本申请提供了细胞，其包含本申请所述的核酸分子或所述的载

体。

另一方面，本申请提供了制备所述分离的抗原结合蛋白方法，所述方法包括在使得本申请所述的分离的抗原结合蛋白表达的条件下，培养所述的细胞。

另一方面，本申请提供了药物组合物，其包含本申请所述的分离的抗原结合蛋白、所述的免疫缀合物、所述的核酸分子、所述的载体或所述的细胞，以及任选地药学上可接受的佐剂。

另一方面，本申请提供了所述的分离的抗原结合蛋白、所述的免疫缀合物、所述的核酸分子、所述的载体、所述的细胞或所述的药物组合物在制备药物中的用途，所述药物用于预防、诊断、缓解或治疗肿瘤。

另一方面，本申请提供了所述的分离的抗原结合蛋白、所述的免疫缀合物、所述的核酸分子、所述的载体、所述的细胞和/或所述的药物组合物在制备药物中的用途，所述肿瘤包括实体瘤和/或血液肿瘤。

另一方面，本申请提供了所述的分离的抗原结合蛋白、所述的免疫缀合物、所述的核酸分子、所述的载体、所述的细胞和/或所述的药物组合物在制备药物中的用途，所述实体瘤包括肺癌、结肠癌、肝癌、食管癌、卵巢癌、膀胱癌、胃癌、肾癌和/或胰腺癌。

另一方面，本申请提供了预防、诊断、缓解和/或治疗肿瘤的方法，其包括以有效治疗癌症的量向需要其的对象施用所述的分离的抗原结合蛋白、所述的免疫缀合物、所述的核酸分子、所述的载体、所述的细胞或所述的药物组合物。

另一方面，本申请提供了施用所述的分离的抗原结合蛋白、所述的免疫缀合物、所述的核酸分子、所述的载体、所述的细胞和/或所述的药物组合物用于预防、诊断、缓解和/或治疗肿瘤的方法，所述肿瘤包括实体瘤和/或血液肿瘤。

另一方面，本申请提供了施用所述的分离的抗原结合蛋白、所述的免疫缀合物、所述的核酸分子、所述的载体、所述的细胞或所述的药物组合物用于预防、诊断、缓解和/或治疗肿瘤的方法，所述实体瘤包括肺癌、结肠癌、肝癌、食管癌、卵巢癌、膀胱癌、胃癌、肾癌和/或胰腺癌。

另一方面，本申请提供了所述的分离的抗原结合蛋白、所述的免疫缀合物、所述的核酸分子、所述的载体、所述的细胞或所述的药物组合物，其用于预防、诊断、缓解和/或治疗肿瘤。

另一方面，本申请提供了所述的分离的抗原结合蛋白、所述的免疫缀合物、

所述的核酸分子、所述的载体、所述的细胞或所述的药物组合物，其用于预防、诊断、缓解和/或治疗肿瘤，所述肿瘤包括实体瘤和/或血液肿瘤。

另一方面，本申请提供了所述的分离的抗原结合蛋白、所述的免疫缀合物、所述的核酸分子、所述的载体、所述的细胞或所述的药物组合物，其用于预防、诊断、缓解或治疗肿瘤，所述实体瘤包括肺癌、结肠癌、肝癌、食管癌、卵巢癌、膀胱癌、胃癌、肾癌和/或胰腺癌。

另一方面，本申请提供了抑制 Claudin18.2 阳性肿瘤细胞的生长和/或杀伤所述 Claudin18.2 阳性肿瘤细胞的方法，包括使所述 Claudin18.2 阳性肿瘤细胞接触所述的分离的抗原结合蛋白或所述的免疫缀合物。

本申请提供的分离的抗原结合蛋白具有的有益效果包括以下一种或多种：能够特异性结合细胞表面的 Claudin18.2、不结合细胞表面的 Claudin18.1、对 Claudin18.2 阳性肿瘤细胞显示 CDC 效应、对 Claudin18.1 阳性肿瘤细胞不显示 CDC 效应、对 Claudin18.2 阳性肿瘤细胞诱导 ADCC 效应和/或抑制 Claudin18.2 阳性肿瘤的生长。

本领域技术人员能够从下文的详细描述中容易地洞察到本申请的其它方面和优势。下文的详细描述中仅显示和描述了本申请的示例性实施方式。如本领域技术人员将认识到的，本申请的内容使得本领域技术人员能够对所公开的具体实施方式进行改动而不脱离本申请所涉及发明的精神和范围。相应地，本申请的附图和说明书中的描述仅仅是示例性的，而非为限制性的。

附图说明

图 1 显示的是本申请所述抗 Claudin18.2 抗体与 Claudin18.2 阳性 HEK293 细胞的亲和力。

图 2 显示的是本申请所述抗体 HDR002C04 与 Claudin18.1 阳性 HEK293 细胞或 Claudin18.2 阳性 HEK293 细胞的亲和力。

图 3 显示的是本申请所述抗体 HDR002C06 与 Claudin18.1 阳性 HEK293 细胞或 Claudin18.2 阳性 HEK293 细胞的亲和力。

图 4 显示的是本申请所述抗 Claudin18.2 抗体对 Claudin18.2 阳性 HEK293 细胞发挥 CDC 活性。

图 5 显示的是本申请所述抗 Claudin18.2 抗体对 Claudin18.2 阳性 BxPC3 细胞发挥 CDC 活性。

图 6 显示的是本申请所述抗 Claudin18.2 抗体对 Claudin18.2 阳性 N87 细胞发挥 CDC 活性。

图 7 显示的是本申请所述抗体 HDR002C04 的特异性 CDC 活性。

图 8 显示的是本申请所述抗体 HDR002C06 的特异性 CDC 活性。

图 9 显示的是本申请所述抗 Claudin18.2 抗体对 Claudin18.2 阳性 BxPC3 细胞发挥 ADCC 活性。

图 10 显示的是本申请所述抗 Claudin18.2 抗体对 Claudin18.2 阳性 N87 细胞发挥 ADCC 活性。

图 11 显示的是本申请所述抗体 HDR002C04 抑制肿瘤体积生长效果。

图 12 显示的是本申请所述抗体 HDR002C04 抑制肿瘤重量增加效果。

图 13 显示的是本申请所述抗体 HDR002C06 抑制肿瘤体积生长效果。

图 14 显示的是本申请所述抗体 HDR002C06 抑制肿瘤重量增加效果。

具体实施方式

以下由特定的具体实施例说明本申请发明的实施方式，熟悉此技术的人士可由本说明书所公开的内容容易地了解本申请发明的其他优点及效果。

术语定义

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

本申请的术语“Claudin18.2 蛋白”是位于细胞膜上的一个跨膜蛋，在正常的组织中仅表达在分化的胃粘膜上皮细胞上，在原发胃癌及转移癌症中大部分都表达。除此之外，肺癌、胰腺癌，卵巢癌中也能观察到 Claudin18.2 蛋白的激活表达。

在本申请中，术语“不结合”或“基本不结合”蛋白或细胞是指，不与蛋白或细胞结合，或者不以高亲和力与其结合，即结合蛋白或细胞的 K_D 为

1.0x10⁻⁶M 以上, 可以是 1.0x10⁻⁵M 以上, 可以是 1.0x10⁻⁴M 以上、1.0x10⁻³M 以上, 可以是 1.0x10⁻²M 以上。

在本申请中, 术语“参比抗体”通常是指与本申请中涉及的蛋白质、多肽和/或氨基酸序列具备相同或类似功能的变体或同源物, 本申请所述抗原结合蛋白与参比抗体竞争结合抗原 Claudin18.2 蛋白。本申请的术语“分离的抗原结合蛋白”是指基本不含具有不同抗原特异性的其他抗原结合蛋白的抗原结合蛋白。例如, 与 Claudin18.2 蛋白特异结合的分离抗原结合蛋白基本不含特异结合 Claudin18.2 蛋白之外抗原的抗原结合蛋白。但是, 特异结合人 Claudin18.2 蛋白的分离抗原结合蛋白可能对其他抗原例如其他物种的 Claudin18.2 蛋白具有交叉结合性。

在本申请中, 术语“恒定区”通常是指相对于该免疫球蛋白分子的其它部分或含有抗原结合位点的可变区, 具有更保守的氨基酸序列的免疫球蛋白分子部分。恒定区含有重链的 CH1、CH2 和 CH3 结构域和轻链的 CL 结构域。

在本申请中, 术语“诊断”包括, 例如, 诊断或检测与 Claudin18.2 表达有关或由其介导的病理学过度增生性形成肿瘤的障碍的存在, 监测疾病的进展, 和鉴别或检测指示与 Claudin18.2 表达有关的障碍的细胞或样品。术语“诊断”、“检测”、“鉴别”等在本文中互换使用。

在本申请中, 术语“缓解”指减少、缩减或消除某病状、疾病、病症或表型, 包括畸形或症状。

在本申请中, 术语“抗体”、“Ig”或“免疫球蛋白”是指包括全长抗体及其任何抗原结合片段(即, 抗原结合部分)或单链。此类抗体包括但不限于全人源抗体、灵长类化抗体、嵌合抗体、单克隆抗体、单特异性抗体、多克隆抗体、多特异性抗体、非特异性抗体、双特异性抗体、多特异性抗体、人源化抗体、合成抗体、重组抗体、杂合抗体、突变型抗体、嫁接偶联抗体(即偶联或融合至其它蛋白质、放射性标记物、细胞毒素的抗体)和体外生成的抗体。抗体可来自任何类的抗体, 包括但不限于 IgG、IgA、IgM、IgD、和 IgE, 及来自任何亚类(例如 IgG1、IgG2、IgG3、和 IgG4)的抗体。抗体可具有选自例如 IgG1、IgG2、IgG3、或 IgG4 的重链恒定区。抗体还可具有选自例如卡帕(κ)或拉姆达(λ)的轻链。本发明的抗体可衍生自任何物种, 包括但不限于小鼠、人、骆驼、美洲驼、鱼、鲨鱼、山羊、家兔、鸡、和牛。抗体的恒定区可进行改变, 例如

突变，以修饰抗体的特性(例如以提高或降低下述一项或多项：Fc 受体结合、抗体糖基化、半胱氨酸残基的数目、效应器细胞功能、或补体功能)。通常，抗体特异性结合预定抗原，例如与病症有关的抗原，病症例如炎性的、免疫性的、自身免疫性的、神经变性的、代谢的、和/或恶性的病症。全长抗体是包含至少两条重链(HC)和两条轻链(LC)的糖蛋白，重链和轻链由二硫键连接。各重链由重链可变区(简称 VH 或 V_H)和重链恒定区构成。重链恒定区由三个结构域构成，即 CH1、CH2 和 CH3。各轻链由轻链可变区(简称 VL 或 V_L)和轻链恒定区构成。轻链恒定区由一个结构域 CL 构成。VH 和 VL 区还可以划分为称作互补决定区(CDR)的高变区，其由较为保守的骨架区(FR)区分隔开。各 VH 和 VL 由三个 CDR 以及四个 FR 构成，从氨基端到羧基端以 FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4 的顺序排布。重链和轻链的可变区包含与抗原相互作用的结合域。抗体的恒定区可以介导免疫球蛋白与宿主组织或因子的结合，包括多种免疫系统细胞(例如，效应细胞)和传统补体系统的第一组分(C1q)。

在本申请中，术语“嵌合抗体”通常是指其轻链和重链基因通过基因工程从属于不同物种的免疫球蛋白基因区段已被构建的抗体。例如，小鼠单克隆抗体基因的可变区(V)区段可能结合人恒定(C)区段如 IgG1 和 IgG4。例如可以是人同种型 IgG1。因此，典型的嵌合抗体是由小鼠抗体 V 或抗原结合结构域和人抗体的 C 或效应子结构域的杂种蛋白。

在本申请中，术语“人源化抗体”是指这样的抗体，与亲本免疫球蛋白的 CDR 相比较，其中构架或“互补决定区”(CDR)已经被修饰成包括不同特异性的免疫球蛋白 CDR。在另一个实施方案中，将小鼠 CDR 移植到人抗体的构架区，以制备所述“人源化抗体”。参见，例如，Riechmann, L, 等., Nature332(1988)323-327; 和 Neuberger, M.S., 等., Nature314(1985)268-270。另外，CDRs 对应代表识别上文提及的抗原序列的那些，所述抗原针对嵌合的和双功能抗体。本发明包括的其它形式的“人源化抗体”是其中的恒定区已经从初始抗体的恒定区另外修饰或改变，以产生按照本发明的特性，特别是关于 C1q 结合和/或 Fc 受体(FcR)结合的特性的那些抗体。

在本申请中，术语“抗原结合蛋白”是指由识别并特异性地结合至靶标例如 Claudin18.2 的一种或多种多肽构成的分子，如抗 Claudin18.2 抗体或其抗原结合片段。

在本申请中，术语“抗原结合片段”(或简称为“抗体部分”)是指保持有抗体的特异结合抗原(例如，Claudin18.2 蛋白)能力的一个或多个片段。已证实，抗体的抗原结合功能可以通过全长抗体的片段来实施。包含在抗体的“抗原结合部分”中的结合片段的例子包括 Fab, Fab', F(ab)₂, Fv 片段, F(ab')₂, scFv, di-scFv 和/或 dAb。以下列举了多个抗原结合片段：(i)Fab 片段，由 VL、VH、CL 和 CH1 构成的单价片段；(ii)F(ab')₂ 片段，包含铰链区二硫桥连接的两个 Fab 片段的二价片段；(iii)由 VH 和 CH1 构成的 Fd 片段；(iv)由抗体单臂 V_L 和 V_H 构成的 Fv 片段；(v)由 V_H 构成的 dAb 片段；(vi)分离的互补决定区(CDR)；以及(vii)纳米抗体，一种包含单可变结构域和两个恒定结构域的重链可变区。此外，尽管 Fv 片段的两个结构域 V_L 和 V_H 由不同的基因编码，它们可以通过重组法经由使两者成为单蛋白链的合成接头而连接，其中 V_L 和 V_H 区配对形成单价分子(称为单链 Fv(scFv))。这些单链抗体也已包括在术语涵义中。这些抗体片段可以通过本领域技术人员已知的常用技术而得到，且片段可以通过与完整抗体相同的方式进行功能筛选。

在本申请中，术语“可变区”或“可变结构域”可互换使用，通常是指抗体中轻链或重链的一部分，通常是指抗体的氨基末端。其可以包含重链中约 100-130 个氨基酸或轻链中约 90 至 115 个氨基酸，在抗体之间的序列差别很大，并且用于特定抗体对特定抗原的结合特异性。序列的可变性集中在称为互补决定区(CDR)的那些区域中，而可变结构域中更高度保守的区域称为框架区(FR)。轻链和重链的 CDR 主要负责抗体与抗原的相互作用和特异性。

在本申请中，术语“框架区”是指本领域识别的抗体可变区中存在于分歧性更高的(即高变)CDR 之间的部分。此类框架区典型地称为框架 1 至 4(FR1、FR2、FR3 和 FR4)且提供用于在三维空间中呈现六个 CDR(三个来自重链且三个来自轻链)的骨架，以形成抗原结合表面。

在本申请中，术语“免疫缀合物”或“抗体缀合物”通常是指抗体或其抗体片段与其它活性剂的连接，诸如化疗剂，毒素，免疫治疗剂，成像探针，光谱探针，等等。所述连接可以是共价键，或例如通过静电力的非共价相互作用。可以使用本领域中已知的多种接头以形成免疫缀合物。此外，该免疫缀合物可以以融合蛋白的形式提供，所述融合蛋白可以从编码该免疫缀合物的多核苷酸表达。如本文所用的“融合蛋白”指的是通过连接两个或多个最初编码独立的

蛋白(包括肽和多肽)的基因或基因片段产生的蛋白。融合基因的翻译产生具有来自各原始蛋白的功能特性的单一蛋白。

在本申请中,术语“轻链”通常是指具有足够的可变区序列以给予对特定抗原的特异性的任何多肽。全长轻链包括可变区结构域 VL, 和恒定区结构域 CL。如同重链,轻链的可变区结构域位于多肽的氨基末端。轻链包括 κ 链和 λ 链。

在本申请中,术语“全人源抗体”指代仅包含人类免疫球蛋白蛋白质序列的抗体。可通过噬菌体展示或其它分子生物学方法,在人体内、在具有人类免疫球蛋白种系序列的转基因动物体内生成全人源抗体。噬菌体抗体表达技术允许在没有动物免疫的情况下产生特异性抗体,如美国专利 No.6,946,546 中所述,所述专利在此全文引入作为参考。这些技术在 Marks(1992); Stemmer(1994); Gram 等(1992); Barbas 等(1994)和 Schier 等(1996)中进一步描述,在此将其全文引入作为参考。噬菌体展示方法(参见美国专利 Nos.4,444,887 和 4,716,111; 和国际公开 Nos.WO98/46645, WO98/50433, WO98/24893, WO98/16654, WO96/34096, WO96/33735 和 WO91/10741)。其它技术,如使用文库,是本领域已知的。

在本申请中,术语“结合”可以是涉及特异性结合,“特异性结合”是指试剂(如抗体)与其特异性靶标(如表位)的结合强于与其它靶标的结合。如果试剂与第一种靶标结合的解离常数 (K_D) 低于与第二种靶标的解离常数,则其与第一种靶标的结合强于与第二种靶标的结合。另外,试剂特异性结合的靶标的解离常数 (K_D) 低于该试剂非特异性结合的靶标的解离常数 (K_D) 的 1/10 以下,可以是 1/20 以下,可以是 1/50 以下,甚至可以是 1/100、1/200、1/500 或 1/1000 以下。

在本申请中,术语“细胞”、“细胞系”和“细胞培养物”可互换使用,并且所有这类名称都包括后代。还应当理解的是,由于故意或非有意的突变,所有后代在 DNA 含量方面不可能精确相同。包括具有与最初转化细胞中筛选的相同的功能或生物学活性的突变后代。在意指不同名称的情况下,其由上下文清楚可见。

在本申请中,术语“效靶比”是指效应细胞与靶细胞的数量之比。

在本申请中，术语“抑制生长”（例如涉及细胞）意指包括与未接触抗 Claudin18.2 抗体的相同细胞的生长相比，使与抗 Claudin18.2 抗体接触时细胞生长的任何可测量的降低，例如，细胞的生长被抑制至少约 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、99% 或 100%。

在本申请中，术语“药物”通常是指当将其正确给予患者时，能够诱导期望的治疗效果的化学化合物或组合物。

在本申请中，术语“药物组合物”表示含有一种或多种本申请所述化合物或其生理学上/可药用的盐或前体药物与其他化学组分的混合物，以及其他组分例如生理学/可药用的载体和赋形剂。药物组合物的目的是促进对生物体的给药，利于活性成分的吸收进而发挥生物活性。治疗性组合物一般应当是无菌的并且在制造和储存条件下稳定。可以将组合物配制为溶液、微乳液、分散剂、脂质体或适合高抗体浓度的其他有序结构。可以通过将活性化合物（即抗体或抗体部分）以要求的量连同上文所列举的一种成分或成分组合在适宜的溶剂中并入，根据需要，随后过滤消毒，制备无菌可注射溶液剂。

在本申请中，术语“载体”通常是指能够转运与它连接的另一核酸的核酸分子。一类载体是“质粒”，其指其他 DNA 区段可以连接入其中的环状双链 DNA 环。另一类载体是病毒载体，其中其他 DNA 区段可以连接入病毒基因组。某些载体能够在它们所引入的宿主细胞中自主复制（例如，具有细菌复制起点的细菌载体和附加型哺乳动物载体）。其他载体（例如非附加型哺乳动物载体）可以在引入宿主细胞时整合入宿主细胞的基因组，从而与宿主基因组一起复制，如不能自主复制的裸 RNA 多核苷酸、裸 DNA 多核苷酸、在同一链中由 DNA 和 RNA 构成的多核苷酸、聚-赖氨酸-偶联的 DNA 或 RNA、肽-偶联的 DNA 或 RNA、脂质体-偶联的 DNA 等。此外，某些载体能够指导与它们有效连接的基因的表达。这类载体在本文中称为“重组表达载体”（或简称“表达载体”）。一般而言，用于重组 DNA 技术中的表达载体通常是质粒的形式。在本说明书中，“质粒”和“载体”可互换使用，因为质粒是最常用的载体形式。

在本申请中，术语“直接或间接相连”指氨基酸的共价连接（直接或间接的）。例如，与编码配体的基因的内含子编码的至少一个氨基酸有效相连的配体（例如 HGF）的至少一个结构域表示，来自配体的结构域的氨基酸共价连接到来自配体基因的内含子编码的氨基酸上。此类连接，典型地，通过肽键直接的，

还可间接实现，例如通过接头或者通过非肽连接实现。因此，含有与编码细胞表面受体的基因的内含子编码的至少一个氨基酸有效相连的配体的至少一个结构域的多肽可以是内含子融合蛋白。当内含子序列被剪接，或者符合读框地共价连接到外显子序列(编码细胞表面受体的结构域)上时，可产生编码此类多肽的核酸。核酸分子的翻译产生了下述多肽，其中，氨基酸的内含子编码部分(至少含有内含子序列编码的终止密码子)与配体的结构域共价相连。还可通过将含有外显子的部分连到含有内含子的部分上，来对它们进行合成生产，包括嵌合内含子融合蛋白，其中外显子是由来自与内含子部分不同的同种型的基因编码的，所述同种型包括不同的配体同种型或细胞表面受体同种型，反之亦然。

在本申请中，术语“治疗”意指给予患者内用或外用治疗剂，诸如包含本申请的任一种结合化合物的组合物，所述患者具有一种或多种疾病症状，而已知所述治疗剂对这些症状具有治疗作用。通常，在受治疗患者或群体中以有效缓解一种或多种疾病症状的量给予治疗剂，无论是通过诱导这类症状退化还是抑制这类症状发展到任何临床可测量的程度。有效缓解任何具体疾病症状的治疗剂的量(也称作“治疗有效量”)可根据多种因素变化，例如患者的疾病状态、年龄和体重，以及药物在患者产生需要疗效的能力。治疗的治疗效果包括但不限于预防疾病的发生或复发、症状的缓解、疾病的任何直接或间接病理学后果的减少、预防转移、降低疾病进展的速度、减轻或缓和疾病状态、和缓解或改善的预后。

在本申请中，术语“肿瘤”或“肿瘤细胞”通常是指或描述哺乳动物中通常以不受调节的细胞生长为特征的生理状况。肿瘤的例子包括但不限于，癌瘤、淋巴瘤、母细胞瘤(包括髓母细胞瘤和视网膜母细胞瘤)、肉瘤(包括脂肪肉瘤和滑膜细胞肉瘤)、神经内分泌肿瘤(包括类癌肿瘤、胃泌素瘤和胰岛细胞癌)、间皮瘤、神经鞘瘤(schwannoma)(包括听神经瘤)、脑膜瘤、腺癌和黑素瘤。“肿瘤细胞”进一步包括“实体瘤”，其指的是选自下组的肿瘤：胃肠癌、胰腺癌、成胶质细胞瘤、宫颈癌、卵巢癌、肝癌(liver cancer)、膀胱癌、肝瘤(hepatoma)、乳腺癌、结肠癌、直肠癌、结肠直肠癌、子宫内膜或子宫癌、唾液腺癌、肾癌、前列腺癌、外阴癌、甲状腺癌、肝癌(hepatic carcinoma)、肛门癌、阴茎癌、睾丸癌、食管癌、胆管肿瘤、以及头和颈癌，可以是肺癌、结肠癌、肝癌、食管癌、卵巢癌、膀胱癌、胃癌、肾癌和/或胰腺癌。

在本申请中，术语“重链”通常是指全长重链及其具有足够可变区序列以赋予结合特异性的片段。哺乳动物全长重链抗体一般包括可变区结构域 VH 以及 3 个恒定区结构域 CH1、CH2 和 CH3。VH 结构域朝向多肽的氨基末端，并且 CH 结构域朝向羧基末端，其中 CH3 与多肽的羧基末端最接近。人重链一般可以是包括 IgG(包括 IgG1、IgG2、IgG3 和 IgG4 亚型)、IgA(包括 IgA1 和 IgA2 亚型)、IgM 和 IgE 的同种型。

在本申请中，术语“佐剂”通常是指辅助或调节药物作用的任何物质，包括但不限于免疫学佐剂，它使对抗原的免疫反应增强或免疫反应多样化。

在本申请中，术语“受试者”包括任何人或非人动物。术语“非人动物”包括所有脊椎动物，例如哺乳类和非哺乳类，例如非人灵长类、羊、狗、猫、牛、马、鸡、两栖类、和爬行类，可以是哺乳动物，例如非人灵长类、羊、狗、猫、牛和马。

在本申请中，术语“治疗有效量”是指足以防止或减缓与疾病或病症(例如癌症)相关的症状的本申请抗体量。治疗有效量与被治疗的疾病相关，其中本领域技术人员可以方便地判别出实际的有效量。

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

在本申请中，术语“CDC 效应”、“补体依赖的细胞毒性”或“CDC”是指 IgG 和 IgM 抗体的效应功能，当与表面抗原结合时引发典型的补体途径，包括形成膜攻击复合体以及靶细胞裂解。本申请的抗原结合蛋白，与 Claudin18.2 结合时，引发对癌细胞的 CDC。

在本申请中，术语“CDR”和其复数形式“CDRs”通常是指互补决定区(CDR)，其中三者构成轻链可变区的结合特性(LCDR1、LCDR2 和 LCDR3)；三者构成重链可变区的结合特性(HCDR1、HCDR2 和 HCDR3)。CDR 有助于抗体分子的功能活性并且通过包含骨架或构架区的氨基酸序列分离。

在本申请中，术语“Claudin18.1”、“claudin18.1”、“CLD18.1”或“密蛋白 18.1”包括指 1 型 Claudin18。该术语包括变体、同源物、直向同源物和平行同源物。

在本申请中，术语“Claudin18.1 阳性肿瘤细胞”指在其表面上表达 Claudin18.1 的细胞。

在本申请中，术语“Claudin18.2”、“claudin18.2”、“CLD18.2”或“密蛋白 18.2”包括指 2 型 Claudin18。该术语包括变体、同源物、直向同源物和平行同源物。

在本申请中，术语“Claudin18.2 阳性肿瘤”是指表达 Claudin18.2 蛋白的肿瘤。

在本申请中，术语“Claudin18.2 阳性肿瘤细胞”指在其表面上表达 Claudin18.2 的肿瘤细胞。

在本申请中，术语“FACS”或“流式细胞术”指用于查询细胞表型和特征的工具。它通过经过传感区域的激光（通过辐射的受激发射的光放大）/光束，感测在液体流中移动时的细胞或颗粒。测量微观颗粒的相对光散射和颜色区分荧光。细胞的流动分析和区分基于大小、颗粒性以及细胞是否携带以抗体或染料形式的荧光分子。当细胞通过激光束时，光在所有方向上散射，并且在与轴的低角度（ $0.5-10^\circ$ ）处在前向方向上散射的光与球体半径的平方成比例，并且因此与细胞或颗粒的大小成比例。光可以进入细胞；因此， 90° 光（直角，侧面）散射可以用荧光染料连接的抗体标记，或者用荧光膜、细胞质或核染料染色。因此，可以促进细胞类型的区分、膜受体和抗原的存在、膜电位、pH、酶活性和 DNA 含量。流式细胞仪是多参数，对于每个细胞记录几次测量；因此，能够在异质群体内鉴定同质亚群。允许分离物理特征太过相似而无法通过大小或密度分开的不同细胞群体的荧光活化细胞分选（FACS），使用荧光标签来检测差异表达的表面蛋白，允许在物理上同质的细胞群体中进行细微区别。

在本申请中，术语“在……之间”通常是指某种氨基酸片段的 C 端与第一氨基酸片段的 N 端直接或间接连接，并且其 N 端与第二氨基酸片段的 C 端直接或间接连接。在轻链中，例如，所述 L-FR2 的 N 末端与所述 LCDR1 的 C 末端直接或间接相连，且所述 L-FR2 的 C 末端与所述 LCDR2 的 N 末端直接或间接相连。又例如，所述 L-FR3 的 N 末端与所述 LCDR2 的 C 末端直接或间接相连，且所述 L-FR3 的 C 末端与所述 LCDR3 的 N 末端直接或间接相连。在重链中，例如，所述 H-FR2 的 N 末端与所述 HCDR1 的 C 末端直接或间接相连，且所述 H-FR2 的 C 末端与所述 HCDR2 的 N 末端直接或间接相连。又例如，所述 H-

FR3 的 N 末端与所述 HCDR2 的 C 末端直接或间接相连，且所述 H-FR3 的 C 末端与所述 HCDR3 的 N 末端直接或间接相连。在本申请中，“第一氨基酸片段”和“第二氨基酸片段”可以为相同或不同的任意一段氨基酸片段。

在本申请中，术语“轻链恒定区”是指包含轻链恒定结构域 CL 的区域。人免疫球蛋白的轻链通常分类为 κ 和 λ 轻链，并且这些链各自包含一个可变域和一个恒定域，术语“Ig κ 恒定区”或“Ig λ 恒定区”分别对应免疫球蛋白 κ 轻链恒定结构域 CL 的区域或免疫球蛋白 λ 轻链恒定结构域 CL 的区域。

在本申请中，术语“pfu”表示噬斑形成单位，其是感染性噬菌体颗粒(病毒体)或噬菌体滴度的数量的量度。

抗原结合蛋白

在一个方面，本申请提供了一种抗原结合蛋白，其包含抗体轻链可变区 VL 中的至少一个 CDR。

在本申请中，所述抗原结合蛋白可包含 LCDR1，且所述 LCDR1 可包含 SEQ ID NO: 7 或 17 所示的氨基酸序列。

在本申请中，所述抗原结合蛋白可包含 LCDR2，且所述 LCDR2 可包含 SEQ ID NO: 8 或 18 所示的氨基酸序列。

在本申请中，所述抗原结合蛋白可包含 LCDR3，且所述 LCDR3 可包含 SEQ ID NO: 9 或 19 所示的氨基酸序列。

在本申请中，所述抗原结合蛋白可包含框架区 L-FR1，所述 L-FR1 的 C 末端与所述 LCDR1 的 N 末端直接或间接相连，且所述的 L-FR1 可包含 SEQ ID NO: 25 或 33 所示的氨基酸序列。

在本申请中，所述抗原结合蛋白可包含框架区 L-FR2，所述的 L-FR2 位于所述 LCDR1 与所述 LCDR2 之间，且所述的 L-FR2 可包含 SEQ ID NO: 26 或 34 所示的氨基酸序列。

在本申请中，所述抗原结合蛋白可包含框架区 L-FR3，所述的 L-FR3 位于所述 LCDR2 与所述 LCDR3 之间，且所述的 L-FR3 可包含 SEQ ID NO: 27 或 35 所示的氨基酸序列。

在本申请中，所述抗原结合蛋白可包含框架区 L-FR4，所述的 L-FR4 的 N 末端与所述 LCDR3 的 C 末端直接或间接相连，且所述的 L-FR4 可包含 SEQ ID NO: 28 或 36 所示的氨基酸序列。

在本申请中，所述抗原结合蛋白可包含轻链可变区 VL，且所述 VL 可包含 SEQ ID NO: 6 或 16 所示的氨基酸序列。

在本申请中，所述抗原结合蛋白可包含轻链恒定区 CL，且所述抗体轻链恒定区包括人 Ig κ 恒定区或人 Ig λ 恒定区，例如所述 CL 可包含 SEQ ID NO: 38 或 39 所示的氨基酸序列。

在本申请中，所述抗原结合蛋白可包含轻链 LC，且所述 LC 可包含 SEQ ID NO: 10 或 20 所示的氨基酸序列。

本申请所述的抗原结合蛋白所述的抗原结合蛋白可包含抗体重链可变区 VH 中的至少一个 CDR。

在本申请中，所述抗原结合蛋白可包含 HCDR1，且所述 HCDR1 可包含 SEQ ID NO: 2 或 12 所示的氨基酸序列。

在本申请中，所述抗原结合蛋白可包含 HCDR2，且所述 HCDR2 可包含 SEQ ID NO: 3 或 13 所示的氨基酸序列。

在本申请中，所述抗原结合蛋白可包含 HCDR3，且所述 HCDR3 可包含 SEQ ID NO: 4 或 14 所示的氨基酸序列。

在本申请中，所述抗原结合蛋白可包含框架区 H-FR1，所述 H-FR1 的 C 末端与所述 HCDR1 的 N 末端直接或间接相连，且所述的 H-FR1 可包含 SEQ ID NO: 21 或 29 所示的氨基酸序列。

在本申请中，所述抗原结合蛋白可包含框架区 H-FR2，所述的 H-FR2 位于所述 HCDR1 与所述 HCDR2 之间，且所述的 H-FR2 可包含 SEQ ID NO: 22 或 30 所示的氨基酸序列。

在本申请中，所述抗原结合蛋白可包含框架区 H-FR3，所述的 H-FR3 位于所述 HCDR2 与所述 HCDR3 之间，且所述的 H-FR3 可包含 SEQ ID NO: 23 或 31 所示的氨基酸序列。

在本申请中，所述抗原结合蛋白可包含框架区 H-FR4，所述的 H-FR4 的 N 末端与所述 HCDR3 的 C 末端直接或间接相连，且所述的 H-FR4 可包含 SEQ ID NO: 24 或 32 所示的氨基酸序列。

在本申请中，所述抗原结合蛋白可包含重链可变区 VH，且所述 VH 可包含 SEQ ID NO: 1 或 11 所示的氨基酸序列。

在本申请中，所述抗原结合蛋白可包含重链恒定区 CH，且所述抗体重链恒定区包括人 IgG 恒定区，优选地，本申请所述抗体重链恒定区包括人 IgG1 恒定区，例如所述 CH 可包含 SEQ ID NO: 37 所示的氨基酸序列。

在本申请中，所述抗原结合蛋白可包含重链 HC，且所述 HC 可包含 SEQ ID NO: 5 或 15 所示的氨基酸序列。

在本申请中，所述分离的抗原结合蛋白可包含 LCDR1-3，其中，所述 LCDR1 包含 SEQ ID NO: 7 或 17 所示的氨基酸序列；所述 LCDR2 包含 SEQ ID NO: 8 或 18 所示的氨基酸序列；且所述 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 9 或 19 所示的氨基酸序列。

例如，本申请所述的抗原结合蛋白可包含与 HDR002C04 相同的 LCDR1-3，其中，所述 LCDR1 可包含 SEQ ID NO:7 所示的氨基酸序列；所述 LCDR2 可包含 SEQ ID NO:8 所示的氨基酸序列；且所述 LCDR3 可包含 SEQ ID NO:9 所示的氨基酸序列。

例如，本申请所述的抗原结合蛋白可包含与 HDR002C06 相同的 LCDR1-3，其中，所述 LCDR1 可包含 SEQ ID NO:17 所示的氨基酸序列；所述 LCDR2 可包含 SEQ ID NO:18 所示的氨基酸序列；且所述 LCDR3 可包含 SEQ ID NO:19 所示的氨基酸序列。

在本申请中，所述分离的抗原结合蛋白可包含 L-FR1-4，其中，所述 L-FR1 包含 SEQ ID NO: 25 或 33 所示的氨基酸序列；所述 L-FR2 包含 SEQ ID NO: 26 或 34 所示的氨基酸序列；所述 L-FR3 包含 SEQ ID NO: 27 或 35 所示的氨基酸序列；且所述 L-FR4 包含 SEQ ID NO: 28 或 36 所示的氨基酸序列。

例如，本申请所述的抗原结合蛋白可包含与 HDR002C04 相同的 L-FR1-4，其中，所述 L-FR1 可包含 SEQ ID NO: 25 所示的氨基酸序列，L-FR2 可包含 SEQ ID NO: 26 所示的氨基酸序列，L-FR3 可包含 SEQ ID NO: 27 所示的氨基酸序列，且 L-FR4 可包含 SEQ ID NO: 28 所示的氨基酸序列。

例如，本申请所述的抗原结合蛋白可包含与 HDR002C06 相同的 L-FR1-4，其中，所述 L-FR1 可包含 SEQ ID NO: 33 所示的氨基酸序列，L-FR2 可包含 SEQ ID NO: 34 所示的氨基酸序列，L-FR3 可包含 SEQ ID NO: 35 所示的氨基酸序列，且 L-FR4 可包含 SEQ ID NO: 36 所示的氨基酸序列。

在本申请中，所述分离的抗原结合蛋白可包含 HCDR1-3，其中，所述 HCDR1 包含 SEQ ID NO: 2 或 12 所示的氨基酸序列；所述 HCDR2 包含 SEQ ID NO: 3 或 13 所示的氨基酸序列；且所述 HCDR3 包含 SEQ ID NO: 4 或 14 所示的氨基酸序列。

例如，本申请所述的抗原结合蛋白可包含与 HDR002C04 相同的 HCDR1-3，其中，所述 HCDR1 可包含 SEQ ID NO:2 所示的氨基酸序列；所述 HCDR2 可包含 SEQ ID NO:3 所示的氨基酸序列；且所述 HCDR3 可包含 SEQ ID NO:4 所示的氨基酸序列。

例如，本申请所述的抗原结合蛋白可包含与 HDR002C06 相同的 HCDR1-3，其中，所述 HCDR1 可包含 SEQ ID NO:12 所示的氨基酸序列；所述 HCDR2 可包含 SEQ ID NO:13 所示的氨基酸序列；且所述 HCDR3 可包含 SEQ ID NO:14 所示的氨基酸序列。

在本申请中，所述分离的抗原结合蛋白可包含 H-FR1-4，其中，所述 H-FR1 包含 SEQ ID NO: 21 或 29 所示的氨基酸序列；所述 H-FR2 包含 SEQ ID NO: 22 或 30 所示的氨基酸序列；所述 H-FR3 包含 SEQ ID NO: 23 或 31 所示的氨基酸序列；且所述 H-FR4 包含 SEQ ID NO: 24 或 32 所示的氨基酸序列。

例如，本申请所述的抗原结合蛋白可包含与 HDR002C04 相同的 H-FR1-4，其中，所述 H-FR1 可包含 SEQ ID NO: 21 所示的氨基酸序列，H-FR2 可包含 SEQ ID NO: 22 所示的氨基酸序列，H-FR3 可包含 SEQ ID NO: 23 所示的氨基酸序列，且 H-FR4 可包含 SEQ ID NO: 24 所示的氨基酸序列。

例如，本申请所述的抗原结合蛋白可包含与 HDR002C06 相同的 H-FR1-4，其中，所述 H-FR1 可包含 SEQ ID NO: 29 所示的氨基酸序列，H-FR2 可包含 SEQ ID NO: 30 所示的氨基酸序列，H-FR3 可包含 SEQ ID NO: 31 所示的氨基酸序列，且 H-FR4 可包含 SEQ ID NO: 32 所示的氨基酸序列。

在本申请中，所述分离的抗原结合蛋白可包含 LCDR1-3 和 HCDR1-3，其中，所述 LCDR1 包含 SEQ ID NO: 7 或 17 所示的氨基酸序列；所述 LCDR2 包含 SEQ ID NO: 8 或 18 所示的氨基酸序列；所述 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 9 或 19 所示的氨基酸序列；所述 HCDR1 包含 SEQ ID NO: 2 或 12 所示的氨基酸序列；所述 HCDR2 包含 SEQ ID NO: 3 或 13 所示的氨基酸序列；且所述 HCDR3 包含 SEQ ID NO: 4 或 14 所示的氨基酸序列。

例如，本申请所述的抗原结合蛋白可包含与 HDR002C04 相同的 LCDR1-3 和 HCDR1-3，其中，所述 LCDR1 可包含 SEQ ID NO:7 所示的氨基酸序列；所述 LCDR2 可包含 SEQ ID NO:8 所示的氨基酸序列；所述 LCDR3 可包含 SEQ ID NO:9 所示的氨基酸序列；所述 HCDR1 可包含 SEQ ID NO:2 所示的氨基酸序列；所述 HCDR2 可包含 SEQ ID NO:3 所示的氨基酸序列；且所述 HCDR3 可包含 SEQ ID NO:4 所示的氨基酸序列。

例如，本申请所述的抗原结合蛋白可包含与 HDR002C06 相同的 LCDR1-3 和 HCDR1-3，其中，所述 LCDR1 可包含 SEQ ID NO:17 所示的氨基酸序列；所述 LCDR2 可包含 SEQ ID NO:18 所示的氨基酸序列；所述 LCDR3 可包含 SEQ ID NO:19 所示的氨基酸序列；所述 HCDR1 可包含 SEQ ID NO:12 所示的氨基酸序列；所述 HCDR2 可包含 SEQ ID NO:13 所示的氨基酸序列；且所述 HCDR3 可包含 SEQ ID NO:14 所示的氨基酸序列。

在本申请中，所述抗原结合蛋白可包含轻链可变区 VL 和重链可变区 VH，其中，所述 VL 可包含 SEQ ID NO: 6 或 16 所示的氨基酸序列，且所述 VH 可包含 SEQ ID NO: 1 或 11 所示的氨基酸序列。

例如，本申请所述的抗原结合蛋白可包含与 HDR002C04 相同的轻链可变区 VL 和重链可变区 VH，其中，所述 VL 可包含 SEQ ID NO: 6 所示的氨基酸序列，且所述 VH 可包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列。

例如，本申请所述的抗原结合蛋白可包含与 HDR002C06 相同的轻链可变区 VL 和重链可变区 VH，其中，所述 VL 可包含 SEQ ID NO: 16 所示的氨基酸序列，且所述 VH 可包含 SEQ ID NO: 11 所示的氨基酸序列。

在本申请中，所述抗原结合蛋白可包含轻链恒定区 CL 和重链恒定区 CH，其中，所述 CL 可包含 SEQ ID NO: 38 或 39 所示的氨基酸序列，且所述 CH 可包含 SEQ ID NO: 37 所示的氨基酸序列。

例如，本申请所述的抗原结合蛋白可包含与 HDR002C04 相同的轻链恒定区 CL 和重链恒定区 CH，其中，所述 CL 可包含 SEQ ID NO: 38 所示的氨基酸序列，且所述 CH 可包含 SEQ ID NO: 37 所示的氨基酸序列。

例如，本申请所述的抗原结合蛋白可包含与 HDR002C06 相同的轻链恒定区 CL 和重链恒定区 CH，其中，所述 CL 可包含 SEQ ID NO: 39 所示的氨基酸序列，且所述 CH 可包含 SEQ ID NO: 37 所示的氨基酸序列。

本申请中，所述抗原结合蛋白可包含抗体轻链 LC 和抗体重链 HC，其中，所述 LC 可包含 SEQ ID NO: 10 或 20 所示的氨基酸序列，且所述 HC 可包含 SEQ ID NO: 5 或 15 所示的氨基酸序列。

例如，本申请所述的抗原结合蛋白可包含与 HDR002C04 相同的抗体轻链 LC 和抗体重链 HC，其中，所述 LC 可包含 SEQ ID NO: 10 所示的氨基酸序列，且所述 HC 可包含 SEQ ID NO: 5 所示的氨基酸序列。

例如，本申请所述的抗原结合蛋白可包含与 HDR002C06 相同的抗体轻链 LC 和抗体重链 HC，其中，所述 LC 可包含 SEQ ID NO: 20 所示的氨基酸序列，且所述 HC 可包含 SEQ ID NO: 15 所示的氨基酸序列。

本申请所述的抗原结合蛋白可包含 LCDR1-3 和 L-FR1-4，其中，所述 LCDR1 可包含 SEQ ID NO:7 所示的氨基酸序列；所述 LCDR2 可包含 SEQ ID NO:8 所示的氨基酸序列；且所述 LCDR3 可包含 SEQ ID NO:9 所示的氨基酸序列；所述 L-FR1 可包含 SEQ ID NO: 25 所示的氨基酸序列，L-FR2 可包含 SEQ ID NO: 26 所示的氨基酸序列，L-FR3 可包含 SEQ ID NO: 27 所示的氨基酸序列，且 L-FR4 可包含 SEQ ID NO: 28 所示的氨基酸序列。所述抗原结合蛋白可包含 VL 和 CL，且所述 VL 可包含 SEQ ID NO: 6 所示的氨基酸序列，所述 CL 可包含 SEQ ID NO: 38 所示的氨基酸序列。所述抗原结合蛋白还可包含 HCDR1-3 和 H-FR1-4，其中，所述 HCDR1 可包含 SEQ ID NO:2 所示的氨基酸序列；所述 HCDR2 可包含 SEQ ID NO:3 所示的氨基酸序列；且所述 HCDR3 可包含 SEQ ID NO:4 所示的氨基酸序列；所述 H-FR1 可包含 SEQ ID NO: 21 所示的氨基酸序列，H-FR2 可包含 SEQ ID NO: 22 所示的氨基酸序列，H-FR3 可包含 SEQ ID NO: 23 所示的氨基酸序列，且 H-FR4 可包含 SEQ ID NO: 24 所示的氨基酸序列。所述抗原结合蛋白可包含 VH 和 CH，且所述 VH 可包含 SEQ ID NO: 1 所示的氨基酸序列，所述 CH 可包含 SEQ ID NO: 37 所示的氨基酸序列。且所述抗原结合蛋白可包含 LC 和 HC，其中，所述 LC 可包含 SEQ ID NO: 10 所示的氨基酸序列，且所述 HC 可包含 SEQ ID NO: 5 所示的氨基酸序列。例如，所述抗原结合蛋白可包含与 HDR002C04 相同的抗体轻链和抗体重链。

本申请所述的抗原结合蛋白可包含 LCDR1-3 和 L-FR1-4，其中，所述 LCDR1 可包含 SEQ ID NO:17 所示的氨基酸序列；所述 LCDR2 可包含 SEQ ID NO:18 所示的氨基酸序列；且所述 LCDR3 可包含 SEQ ID NO:19 所示的氨基酸

序列；所述 L-FR1 可包含 SEQ ID NO: 33 所示的氨基酸序列，L-FR2 可包含 SEQ ID NO: 34 所示的氨基酸序列，L-FR3 可包含 SEQ ID NO: 35 所示的氨基酸序列，且 L-FR4 可包含 SEQ ID NO: 36 所示的氨基酸序列。所述抗原结合蛋白可包含 VL 和 CL，且所述 VL 可包含 SEQ ID NO: 16 所示的氨基酸序列，所述 CL 可包含 SEQ ID NO: 39 所示的氨基酸序列。所述抗原结合蛋白还可包含 HCDR1-3 和 H-FR1-4，其中，所述 HCDR1 可包含 SEQ ID NO:12 所示的氨基酸序列；所述 HCDR2 可包含 SEQ ID NO:13 所示的氨基酸序列；且所述 HCDR3 可包含 SEQ ID NO:14 所示的氨基酸序列；所述 H-FR1 可包含 SEQ ID NO: 29 所示的氨基酸序列，H-FR2 可包含 SEQ ID NO: 30 所示的氨基酸序列，H-FR3 可包含 SEQ ID NO: 31 所示的氨基酸序列，且 H-FR4 可包含 SEQ ID NO: 32 所示的氨基酸序列。所述抗原结合蛋白可包含 VH 和 CH，且所述 VH 可包含 SEQ ID NO: 11 所示的氨基酸序列，所述 CH 可包含 SEQ ID NO: 37 所示的氨基酸序列。且所述抗原结合蛋白可包含 LC 和 HC，其中，所述 LC 可包含 SEQ ID NO: 20 所示的氨基酸序列，且所述 HC 可包含 SEQ ID NO: 15 所示的氨基酸序列。例如，所述抗原结合蛋白可包含与 HDR002C06 相同的抗体轻链和抗体重链。

参比抗体

在本申请中涉及的蛋白质、多肽和/或氨基酸序列，还应理解为至少包含以下的范围：与该所述蛋白质或多肽具备相同或类似功能的变体或同源物，且包含在本申请的保护范围内，其被称为参比抗体。

本申请所述的分离的抗原结合蛋白，其可与参比抗体竞争结合所述 Claudin18.2。在本申请中，所述参比抗体可包含 LCDR1-3。其中，所述 LCDR1 包含 SEQ ID NO: 7 或 17 所示的氨基酸序列；所述 LCDR2 包含 SEQ ID NO: 8 或 18 所示的氨基酸序列；且所述 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 9 或 19 所示的氨基酸序列。

本申请中，所述参比抗体可包含 HCDR1-3。其中，所述 HCDR1 包含 SEQ ID NO: 2 或 12 所示的氨基酸序列；所述 HCDR2 包含 SEQ ID NO: 3 或 13 所示的氨基酸序列；且所述 HCDR3 包含 SEQ ID NO: 4 或 14 所示的氨基酸序列。

在本申请中，所述参比抗体可包含 LCDR1-3 和 HCDR1-3。其中，所述 LCDR1 包含 SEQ ID NO: 7 或 17 所示的氨基酸序列；所述 LCDR2 包含 SEQ ID NO: 8 或 18 所示的氨基酸序列；所述 LCDR3 包含 SEQ ID NO: 9 或 19 所示的氨

氨基酸序列；所述 HCDR1 包含 SEQ ID NO: 2 或 12 所示的氨基酸序列；所述 HCDR2 包含 SEQ ID NO: 3 或 13 所示的氨基酸序列；且所述 HCDR3 包含 SEQ ID NO: 4 或 14 所示的氨基酸序列。

在本申请中，所述参比抗体可包含轻链可变区 VL 和重链可变区 VH。其中，所述 VL 可包含 SEQ ID NO: 6 或 16 所示的氨基酸序列，且所述 VH 可包含 SEQ ID NO: 1 或 11 所示的氨基酸序列。

检测方法

可通过本领域已知的各种测定鉴别、筛选或表征本申请所述的 Claudin18.2 抗原结合蛋白的物理/化学特性和/或生物活性。

核酸、载体、宿主细胞和制备方法

在另一个方面，本申请还提供了分离的一种或多种核酸分子。所述一种或多种核酸分子可编码本申请所述的抗原结合蛋白。例如，所述一种或多种核酸分子中的每一个核酸分子可以编码完整的所述抗原结合蛋白，也可以编码其中的一部分（例如，HCDR1-3、LCDR1-3、VL、VH、轻链或重链中的一种或多种）。

本申请所述的核酸分子可以为分离的。例如，其可以通过以下方法产生或合成的：(i) 在体外扩增的，例如通过聚合酶链式反应（PCR）扩增产生的，(ii) 通过克隆重组产生的，(iii) 纯化的，例如通过酶切和凝胶电泳分级分离，或者 (iv) 合成的，例如通过化学合成。在某些实施方式中，所述分离的核酸是通过重组 DNA 技术制备的核酸分子。

在本申请中，可以通过本领域已知的多种方法来制备编码所述抗体、其抗原结合片段的核酸，这些方法包括但不限于，采用限制性片段操作或采用合成性寡核苷酸的重叠延伸 PCR，具体操作可参见 Sambrook 等人，Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1989；和 Ausube 等人 Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing and Wiley-Interscience, New York N.Y., 1993。

在另一个方面，本申请提供了一种或多种载体，其包含本申请所述的一种或多种核酸分子。每种载体中可包含一种或多种所述核酸分子。此外，所述载体中还可包含其他基因，例如允许在适当的宿主细胞中和在适当的条件下选择该载体的标记基因。此外，所述载体还可包含允许编码区在适当宿主中正确表

达的表达控制元件。这样的控制元件为本领域技术人员所熟知的，例如，可包括启动子、核糖体结合位点、增强子和调节基因转录或 mRNA 翻译的其他控制元件等。在某些实施方式中，所述表达控制序列为可调的元件。所述表达控制序列的具体结构可根据物种或细胞类型的功能而变化，但通常包含分别参与转录和翻译起始的 5'非转录序列和 5'及 3'非翻译序列，例如 TATA 盒、加帽序列、CAAT 序列等。例如，5'非转录表达控制序列可包含启动子区，启动子区可包含用于转录控制功能性连接核酸的启动子序列。所述表达控制序列还可包括增强子序列或上游活化子序列。在本申请中，适当的启动子可包括，例如用于 SP6、T3 和 T7 聚合酶的启动子、人 U6RNA 启动子、CMV 启动子及其人工杂合启动子（如 CMV），其中启动子的某部分可与其他细胞蛋白（如人 GAPDH，甘油醛-3-磷酸脱氢酶）基因启动子的某部分融合，其可包含或不包含另外的内含子。本申请所述的一种或多种核酸分子可以与所述表达控制元件可操作地连接。

所述载体可以包括，例如质粒、粘粒、病毒、噬菌体或者在例如遗传工程中通常使用的其他载体。例如，所述载体为表达载体。

在另一个方面，本申请提供了宿主细胞，所述宿主细胞可包含本申请所述的一种或多种核酸分子和/或本申请所述的一种或多种载体。在某些实施方式中，每种或每个宿主细胞可包含一个或一种本申请所述的核酸分子或载体。在某些实施方式中，每种或每个宿主细胞可包含多个（例如，2 个或以上）或多种（例如，2 种或以上）本申请所述的核酸分子或载体。例如，可将本申请所述的载体引入所述宿主细胞中，例如真核细胞，如来自植物的细胞、真菌或酵母细胞等。可通过本领域已知的方法将本申请所述的载体引入所述宿主细胞中，例如电穿孔、lipofectine 转染、lipofectamin 转染等。

在另一个方面，本申请提供了制备所述的抗体或其抗原结合片段的方法。所述方法可包括，在使得所述的抗体或其抗原结合片段表达的条件下，培养所述本申请所述的宿主细胞。例如，可通过使用适当的培养基、适当的温度和培养时间等，这些方法是本领域普通技术人员所了解的。

在某些情形中，所述方法还可包括分离和/或纯化所述抗体或其抗原结合片段的步骤。例如，可以采用蛋白 G-琼脂糖或蛋白 A-琼脂糖进行亲和层析，还可通过凝胶电泳和/或高效液相色谱等来纯化和分离本申请所述的抗体或其抗原

结合片段。

药物组合物、方法、用途

在另一个方面，本申请提供了一种药物组合物，其可包含本申请所述的抗原结合蛋白和/或所述免疫缀合物，所述的核酸分子，所述的载体，所述的宿主细胞，以及任选地药学上可接受的佐剂。本申请所述的药物组合物可以包含预防和/或治疗有效量的所述抗体、其抗原结合片段。所述预防和/或治疗有效量是能够预防和/或治疗（至少部分治疗）患有或具有发展风险的受试者中的疾病或病症和/或其任何并发症而所需的剂量。所述药学上可接受的佐剂在所采用的剂量和浓度下对接受者无毒性，并且可包括缓冲剂，诸如磷酸盐、柠檬酸盐和其他有机酸；抗氧化剂，包括抗坏血酸和甲硫氨酸；防腐剂（诸如十八烷基二甲基苄基氯化铵、氯化六羟季铵(hexamethonium chloride)、氯化苯二甲羟铵(benzalkonium chloride)、氯化苄甲乙氧铵(benzethonium chloride)、苯酚、丁醇或苄醇；对羟苯甲酸烷酯，诸如对羟苯甲酸甲酯或丙酯；儿茶酚；间苯二酚；环己醇；3-戊醇和间-甲酚）；低分子量（小于约 10 个残基）多肽；蛋白质，诸如血清白蛋白、凝胶或免疫球蛋白；亲水性聚合物，诸如聚乙烯基吡咯烷酮；氨基酸，诸如甘氨酸、谷酰氨酸、天冬酰氨酸、组氨酸、精氨酸或赖氨酸；单糖、双糖以及其他碳水化合物，包括葡萄糖、甘露糖或糊精；螯合剂，诸如 EDTA；糖，诸如蔗糖、甘露醇、海藻糖或山梨醇；成盐反离子，诸如钠离子；金属络合物（例如，Zn-蛋白质络合物）；和/或非离子表面活性剂，诸如 TWEENTM、PLURONICSTM 或聚乙二醇(PEG)。本申请中的药物组合物还可含有多于一种活性化合物，通常为不会不利地影响彼此的具有互补活性的那些活性化合物。此类药物的类型和有效量取决于例如制剂中存在的拮抗剂的量和类型，以及受试者的临床参数。

本申请还提供了以下描述的检测生物样品中 Claudin18.2 表达的方法。在某些情形中，所述方法包括使生物样品与本申请所述的抗原结合蛋白在容许所述抗原结合蛋白结合 Claudin18.2 的条件下接触，和检测在所述抗原结合蛋白与 Claudin18.2 之间是否形成复合物。例如，所述肿瘤或癌症为与非肿瘤或癌症样品相比，Claudin18.2 表达升高的肿瘤或癌症。此类方法可以是体外或体内方法。本申请所述抗原结合蛋白可用于例如免疫测定中，所述免疫测定包括例如免疫组织化学（IHC）、免疫荧光（IF）、免疫印迹（例如，蛋白质印迹）、流式

细胞术（例如，FACS）和酶联免疫吸附测定（ELISA）。在某些情形中，例如当 Claudin18.2 为用于选择患者的生物标记时，所述抗原结合蛋白用来选择适于用本申请所述抗原结合蛋白进行的疗法的受试者。

所述药物组合物可以用于抑制肿瘤生长。例如，本申请的药物组合物可以抑制或延缓疾病的发展或进展，可以减小肿瘤大小（甚至基本消除肿瘤），和/或可以减轻和/或稳定疾病状态。肿瘤的例子包括但不限于，癌瘤、淋巴瘤、母细胞瘤(包括髓母细胞瘤和视网膜母细胞瘤)、肉瘤(包括脂肪肉瘤和滑膜细胞肉瘤)、神经内分泌肿瘤(包括类癌肿瘤、胃泌素瘤和胰岛细胞癌)、间皮瘤、神经鞘瘤 (包括听神经瘤)、脑膜瘤、腺癌和黑素瘤。“肿瘤细胞”进一步包括“实体瘤”，其指的是选自下组的肿瘤：胃肠癌、胰腺癌、成胶质细胞瘤、宫颈癌、卵巢癌、肝癌(liver cancer)、膀胱癌、肝瘤(hepatoma)、乳腺癌、结肠癌、直肠癌、结肠直肠癌、子宫内膜或子宫癌、唾液腺癌、肾癌、前列腺癌、外阴癌、甲状腺癌、肝癌(hepatic carcinoma)、肛门癌、阴茎癌、睾丸癌、食管癌、胆管肿瘤、以及头和颈癌，可以是肺癌、结肠癌、肝癌、食管癌、卵巢癌、膀胱癌、胃癌、肾癌和/或胰腺癌。

另一方面，本申请提供了治疗受试者中的癌症、抑制受试者中肿瘤生长和/或抑制肿瘤细胞增殖的方法，包括向有需要的受试者或所述肿瘤细胞施用本申请所述的抗原结合片段和/或所述免疫缀合物、所述的分子核酸、所述的载体、所述的宿主细胞和/或所述的药物组合物。可通过任何合适的方法来施用，所述合适的方法包括例如：以静脉内方式、以肌内方式、以皮下方式、以皮内方式、以经皮方式、以动脉内方式、以腹膜内方式、以损伤内方式、以颅内方式、以关节内方式、以前列腺内方式、以胸膜内方式、以气管内方式、以鞘内方式、以鼻内方式、以阴道内方式、以直肠内方式、以局部方式、以肿瘤内方式、以腹膜方式、以结膜下方式、以囊内方式、以粘膜方式、以心包内方式、以脐内方式、以眼内方式、以眶内方式、以口服方式、以局部方式、以透皮方式、以玻璃体内方式(例如，通过玻璃体内注射)、通过滴眼剂、通过吸入、通过注射、通过植入、通过输注、通过连续输注、通过直接沐浴靶细胞的局部灌注、通过导管、通过灌洗、以乳膏形式或以脂质组合物形式。用于本文描述的方法中的组合物还可以全身方式或以局部方式施用。施用方法可以根据各种因素(例如，所施用的化合物或组合物以及所治疗的病状、疾病或病症的严重性)而变化。在

某些实施方案中，以静脉内方式、以肌内方式、以皮下方式、以局部方式、以口服方式、以透皮方式、以腹膜内方式、以眶内方式、通过植入、通过吸入、以鞘内方式、以心室内方式或以鼻内方式施用抗癌疗法（例如，抗 Claudin18.2 抗体）。部分地根据施用是否为短暂的或长期的，给药可通过任何适合的途径进行，例如通过注射，诸如静脉内或皮下注射。本文涵盖各种给药排程，包括但不限于单次施用或各种时间点内的多次施用、推注施用和脉冲输注。

另一方面，本申请提供了所述抗原结合蛋白在制备药物中的用途。所述药物用于诊断癌症、治疗癌症、抑制肿瘤生长和/或抑制肿瘤细胞增殖。在某些实施方式中，所述肿瘤或癌症包含结直肠肿瘤或癌症。在某些实施方式中，所述肿瘤或癌症为 Claudin18.2 表达异常的肿瘤或癌症。

本申请还提供了所述抗原结合蛋白在诊断患有病症（例如，癌症或免疫功能失调）的受试者的方法中的用途，所述方法包括：通过使样品与本发明的所述抗原结合蛋白接触并检测结合的所述抗原结合蛋白的存在来确定获自受试者的样品中 Claudin18.2 的存在或表达水平。在一些情况下，所述样品可选自由以下组成的组：组织样品、全血样品、血清样品和血浆样品。在一些情况下，所述组织样品可以为肿瘤样品。在一些情况下，所述肿瘤样品可包含肿瘤浸润性免疫细胞、肿瘤细胞、基质细胞及其任何组合。在一些情况下，生物样品包括组织或细胞样品。例如，生物样品可包括来自正常或癌症患者的细胞或组织。在某些情况下，组织或细胞样品的来源可为如来自新鲜、冷冻和/或防腐器官或组织样品或活检物或吸出物的固体组织；血液或任何血液成分；体液，诸如脑脊髓液、羊水、腹膜液或间质液；来自受试者妊娠或发育的任何时间的细胞。在另一些情形中，所述生物样品获自体外组织或细胞培养物。本申请中的生物样品的实例包括但不限于肿瘤活检、循环肿瘤细胞、血清或血浆、循环血浆蛋白、腹水、来源于肿瘤的或展现出肿瘤样特性的原代细胞培养物或细胞系，以及保存的肿瘤样品，诸如福尔马林固定石蜡包埋的肿瘤样品或冷冻的肿瘤样品。

本文所述的抗原结合蛋白或药物组合物可以符合良好医疗实践的方式配制、给药和施用。在此情形下的考虑因素包括所治疗的特定病症、所治疗的特定哺乳动物、单个患者的临床病状、病症的病因、药剂递送部位、施用方法、施用排程和医学从业者已知的其他因素。治疗剂（例如，抗 Claudin18.2 抗体）无需但任选地与一种或多种当前用来预防或治疗所考虑的病症的药剂一起配制和/或

同时施用。此类其他药剂的有效量取决于制剂中存在的治疗剂（例如，抗 Claudin18.2 抗体）的量、病症或治疗的类型以及以上论述的其他因素。这些药剂通常可以凭经验/临床上确定为适当的任何剂量且通过凭经验/临床上确定为适当的任何途径加以使用。与单个治疗相比，可减少组合治疗中施用的抗体的剂量。通过常规技术易于监测此疗法的进展。

并且本申请中所述 Claudin18.2 蛋白，优选为人 Claudin18.2 蛋白，GenBank 登记号 NP_001002026；Claudin18.2 阳性细胞指将含有编码人 Claudin18.2 的 cDNA 序列的载体转染至空白细胞株，以生成过表达人 Claudin18.2 的稳定细胞株，例如 Claudin18.2 阳性 HEK293 细胞是指将编码人 Claudin18.2 的 cDNA 序列的载体转染至空白 HEK293 细胞株，以生成过表达人 Claudin18.2 的 HEK293 细胞株；Claudin18.1 阳性细胞指将含有编码人 Claudin18.1（GenBank 登记号 NP_057453）的 cDNA 序列的载体转染至空白细胞株，以生成过表达人 Claudin18.1 的稳定细胞株，例如 Claudin18.1 阳性 HEK293 细胞是指编码人 Claudin18.1 的 cDNA 序列的载体转染至空白 HEK293 细胞株，以生成过表达人 Claudin18.1 的 HEK293 细胞株。以类似方法，制备得到表达人 Claudin18.1 或表达人 Claudin18.2 的 CHO 阳性细胞、BxPC3 阳性细胞、N87 阳性细胞。

熟不欲被任何理论所限，下文中的实施例仅仅是为了阐释本申请的抗原结合蛋白、制备方法和用途等，而不用于限制本申请发明的范围。悉此技术的人士可由本说明书所公开的内容容易地了解本申请发明的其他优点及效果。本发明实施例中未注明具体条件的实验方法，通常按照常规条件，或按照原料或商品制造厂商所建议的条件。未注明具体来源的试剂，为市场购买的常规试剂。

实施例

实施例 1 筛选特异性抗 Claudin18.2 抗体

采用标准的天然全人抗体文库噬菌体展示技术来筛选获得抗 Claudin18.2 的抗体。简单来说，用人 Claudin18.2 蛋白或 Claudin18.2 阳性细胞筛选出全人噬菌体文库中 Claudin18.2 阳性的抗体，用 Claudin18.1 阳性细胞排除对 Claudin18.1 非特异性结合的抗 Claudin18.2 抗体，获得全人源单克隆抗体。过程如下：全人噬菌体文库(GenScript: Kappa 和 Lambda)使用 PEG/NaCl 沉淀，PBS 重悬后，采用以下 2 种方法筛选，方法 1：2 轮蛋白筛选加 1 轮细胞筛选；方法

2: 3-4 轮细胞筛选。

蛋白筛选过程如下：人 Claudin18.2 蛋白包被 ELISA 板， 2×10^{12} pfu 的噬菌体用溶于 PBS 的 5% (w/v) 脱脂奶粉稀释后，加入到 3% 脱脂奶粉包被的空白孔孵育去除非特异性结合噬菌体，再将噬菌体转移到人 Claudin18.2 蛋白包被孔中，室温孵育后，经 0.05% PBST、PBS 洗涤后收集抗原结合噬菌体。

细胞筛选过程如下：噬菌体用 3% (w/v) 脱脂奶粉封闭后，与 Claudin18.1 阳性 HEK293 细胞室温孵育 45 分钟。离心收集上清噬菌体，与 3% (w/v) 脱脂奶粉封闭后的 2×10^7 个 Claudin18.2 阳性 CHO 细胞或 Claudin18.2 阳性 HEK293 细胞室温孵育。使用 1% BSA-PBS 缓冲液洗涤后，用 0.1M TEA 洗脱细胞结合噬菌体，并用 1M Tris-HCl (pH7.4) 中和。洗脱的噬菌体感染感受态细胞 TG1 后，通过 M13K07 (NEB, Cat. No. : N0315S) 辅助噬菌体释放。筛选得到的噬菌体通过感染感受态细胞 TG1 后挑选单克隆进行酶联免疫方法 (ELISA) 检测：重组 Claudin18.2 蛋白在 4°C 下包被过夜，洗涤封闭后加入噬菌体上清，之后用缀合辣根过氧化物酶的小鼠抗 M13 IgG (Sino Biological) 作为检测抗体，3,3',5,5'-四甲基联苯胺 (TMB) 显色，终止后使用酶标仪在 450nm 下读板。

ELISA 检测的阳性单克隆进行流式细胞仪 (FACS) 检测，采用 Claudin18.2 阳性或 Claudin18.1 阳性的 HEK293 细胞检测上清液，抗 fd 噬菌体-生物素 (Anti-fd Bacteriophage-Biotin) (B2661, Sigma-Aldrich) 孵育洗涤后用 FACS 读取信号，选择 FACS 阳性克隆进行 DNA 测序。将测序得到的表达 Claudin18.2 抗体的轻、重链 DNA 全长序列分别插入 pCDNA3.4 中，得到全长抗体的表达质粒。重链和轻链表达质粒共转染 Expi293F 细胞，培养 6-7 天后收获上清进行 Protein A 纯化。

表 1a 筛选得到的抗 Claudin18.2 抗体及其序列号

| 抗体 | 轻链 | 重链 | 轻链 可变 区 | 重链 可变 区 | 轻链 CDR1 | 轻链 CDR2 | 轻链 CDR3 | 重链 CDR1 | 重链 CDR2 | 重链 CDR3 |
|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| HDR 002C 04 | SEQ ID NO 10 | SEQ ID NO 5 | SEQ ID NO 6 | SEQ ID NO 1 | SEQ ID NO 7 | SEQ ID NO 8 | SEQ ID NO 9 | SEQ ID NO 2 | SEQ ID NO 3 | SEQ ID NO 4 |
| HDR 002C 06 | SEQ ID NO 20 | SEQ ID NO 15 | SEQ ID NO 16 | SEQ ID NO 11 | SEQ ID NO 17 | SEQ ID NO 18 | SEQ ID NO 19 | SEQ ID NO 12 | SEQ ID NO 13 | SEQ ID NO 14 |

表 1b 筛选得到的抗 Claudin18.2 抗体及其序列号

| 抗体 | 轻链 恒定 区 | 重链恒 定区 | 轻链 FR1 | 轻链 FR2 | 轻链 FR3 | 轻链 FR4 | 重链 FR1 | 重链 FR2 | 重链 FR3 | 重链 FR4 |
|-----------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| HDR002C04 | SEQ ID NO 38 | SEQ ID NO 37 | SEQ ID NO 25 | SEQ ID NO 26 | SEQ ID NO 27 | SEQ ID NO 28 | SEQ ID NO 21 | SEQ ID NO 22 | SEQ ID NO 23 | SEQ ID NO 24 |
| HDR002C06 | SEQ ID NO 39 | SEQ ID NO 37 | SEQ ID NO 33 | SEQ ID NO 34 | SEQ ID NO 35 | SEQ ID NO 36 | SEQ ID NO 29 | SEQ ID NO 30 | SEQ ID NO 31 | SEQ ID NO 32 |

IMAB362 即专利申请 CN103509114A1 中的 175D10，该抗体目前用于 Astellas 公司的 3 期临床试验，根据该专利申请公开的序列和方法制备得到抗 Claudin18.2 的对照抗体 IMAB362。

实施例 2 抗 Claudin18.2 抗体与 Claudin18.2 阳性细胞系的亲和力检测

通过流式细胞仪检测本申请抗体对 Claudin18.2 阳性 HEK293 细胞结合能力。将 Claudin18.2 阳性 HEK293 细胞或 Claudin18.1 阳性 HEK293 细胞铺板在 96 孔板中，并向板中加入梯度稀释（0.1 μ g/mL、0.3 μ g/mL、1.0 μ g/mL、3.0 μ g/mL 10 μ g/mL）的本申请抗体 HDR002C04、HDR002C06 或对照抗体 IMAB362，空白组不加入任何抗体。于 4 $^{\circ}$ C 孵育 30 分钟，PBS 洗涤，加入 FITC 标记的山羊抗人 IgG 二抗（1: 100，Jackson ImmunoResearch），在 4 $^{\circ}$ C 孵育 30 分钟，PBS 洗涤，之后使用 FACS 仪（Beckman）检测细胞荧光。

如图 1 所示，HDR002C04 对 Claudin18.2 阳性 HEK293 细胞的亲和力相近于对照抗体 IMAB362，HDR002C06 的亲和力显著强于 IMAB362。图 2 是 HDR002C04 针对 Claudin18.1 阳性 HEK293 细胞或 Claudin18.2 阳性 HEK293 细胞的结合情况，图 3 是 HDR002C06 针对 Claudin18.1 阳性 HEK293 细胞或 Claudin18.2 阳性 HEK293 细胞的结合情况，结果显示，HDR002C04 和 HDR002C06 与空白组一样，对 Claudin18.1 阳性 HEK293 细胞没有结合；HDR002C04 和 HDR002C06 对 Claudin18.2 阳性 HEK293 细胞具有较强的亲和力。

实施例 3 抗 Claudin18.2 抗体对 Claudin18.2 阳性细胞系的 CDC 效应

从健康志愿者抽血，全血静置离心制备正常人血清。使用 CCK-8 检测试剂盒（CK04，同仁化学），检测本申请抗体 HDR002C04 和 HDR002C06 以及对照抗体 IMAB362 针对人 Claudin18.2 阳性 HEK293 细胞，Claudin18.2 阳性 BxPC3

细胞和 Claudin18.2 阳性 N87 细胞 3 种靶细胞引发的 CDC 效应的能力。

Claudin18.2 阳性 HEK293 细胞, Claudin18.2 阳性 BxPC3 或 Claudin18.2 阳性 N87 细胞于 1000rpm 离心 5 分钟, 然后用完全培养基 (Gibco) 重悬。将靶细胞以 20000 个/孔的数量加入到在 96 孔板中, 本申请抗体或对照抗体稀释至不同浓度加入检测孔。本申请抗体或对照抗体与靶细胞孵育 1 小时后, 加入终浓度为 20% 的上述正常人血清, 37°C 孵育 1-3 小时, CCK-8 试剂 (同仁化学) 以 10 μ l/孔的浓度添加, 之后继续置于 37°C 孵箱孵育。用酶标仪测定 450nm 处的吸光度。

检测结果如图 4、图 5 和图 6 所示, 本申请抗体 HDR002C04、HDR002C06 和对照抗体对 Claudin18.2 阳性 HEK293 细胞、Claudin18.2 阳性 BxPC3 或 Claudin18.2 阳性 N87 细胞均能以剂量依赖方式诱导强 CDC 效应, 并且本申请抗体 HDR002C04 和 HDR002C06 对 Claudin18.2 阳性细胞的 CDC 活性要强于对照抗体 IMAB362。

实施例 4 抗 Claudin18.2 抗体对 Claudin18.1 阳性细胞系的 CDC 效应

为确定本申请抗体 HDR002C04 和 HDR002C06 对表达 Claudin18.2 的靶细胞特异性地表现出 CDC 效应, 而对表达 Claudin18.1 的细胞不具有 CDC 效应, 使用 Claudin18.1 阳性 HEK293 细胞或 Claudin18.2 阳性 HEK293 细胞作为靶细胞进行 CDC 活性检测。

首先将靶细胞 1000rpm 离心 5 分钟, 然后用 FreeStyle 293 表达培养基 (Gibco) 重悬。将靶细胞以 20000 个/孔的数量加入到 96 孔板中, 加入本申请抗体 HDR002C04 或 HDR002C06 的稀释液, 终浓度 10 μ g/mL, 37°C 孵育 1 小时, 加入实施例 3 中所述正常人血清, 37°C 孵育后以 CCK-8 显色, 酶标仪读板。

检测结果如图 7 和图 8 所示, 实验结果显示, 本申请抗体 HDR002C04 和 HDR002C06 均对 Claudin18.1 阳性 HEK293 细胞没有显示 CDC 活性, 而对 Claudin18.2 阳性 HEK293 细胞显示较强的 CDC 活性, 表明本申请抗体引起的 CDC 活性效应对 Claudin18.2 阳性细胞系是高度特异的。

实施例 5 抗 Claudin18.2 抗体对 Claudin18.2 阳性细胞系的 ADCC 效应

从健康志愿者抽血, 密度梯度离心提取正常人外周血单核细胞 (PBMC)。使用乳酸脱氢酶 (LDH) 检测试剂盒 (Roche) 检测本申请抗体 HDR002C04、

HDR002C06 和对照抗体 IMAB362 针对 Claudin18.2 阳性 BxPC3 细胞或 Claudin18.2 阳性 N87 细胞引发的 ADCC 效应的能力。

将本申请抗体 HDR002C04、HDR002C06 和对照抗体 IMAB362 稀释至不同浓度加入 96 孔板中，靶细胞 Claudin18.2 阳性 BxPC3 细胞、Claudin18.2 阳性 N87 细胞和效应细胞 PBMC 分别收集至洁净离心管中，于 2500rpm 离心 5 分钟，然后用无酚红 RPMI 1640 培养基（Gibco）重悬。将人 PBMC 细胞和靶细胞（Claudin18.2 阳性 BxPC3 细胞或 Claudin18.2 阳性 N87 细胞之一）按照效靶比 24: 1 混合均匀，铺板于检测孔，置于 37℃ 孵育 20-24 小时，加入 LDH 显色液，常温避光放置 10-20 分钟，终止后用 MD SpectraMax 190 酶标仪读板。

如图 9 和图 10 所示，所有本申请抗体和对照抗体对 Claudin18.2 阳性细胞系均能以剂量依赖方式诱导强 ADCC 效应，并且本申请抗体 HDR002C04 和 HDR002C06 对 Claudin18.2 阳性细胞的 ADCC 活性要强于对照抗体 IMAB362。

实施例 6 抗体 HDR002C04 体内抑制肿瘤生长效果

将 BALB/c 裸鼠随机分组，在第 0 天，用 5×10^6 个 Claudin18.2 阳性 N87 细胞皮下接瘤于裸鼠腋下。接瘤数小时后当天尾静脉给药，实验组每只以 10mg/kg 剂量给予本申请抗体 HDR002C04 或对照抗体 IMAB362（稀释于 PBS 溶液中）；之后静脉注射与腹腔注射交替进行，一周给药 2 次，连续给药 3 周。空白组以同样方式注射 PBS。随时间推移监测肿瘤生长，用游标卡尺测量肿瘤的长与宽，并通过公式：肿瘤体积 = $(\text{长} \times \text{宽}^2) / 2$ ，计算肿瘤体积；实验结束时，取出并测量肿瘤重量；计算每组小鼠肿瘤的平均体积和重量。

如图 11 和图 12 显示，10mg/kg 剂量下，对照抗体 IMAB362 未发挥活性，实验结束时肿瘤重量和空白组没有显著差异，而本申请抗体 HDR002C04 显示较好的抗肿瘤活性。

实施例 7 抗体 HDR002C06 的体内抑制肿瘤生长效果

将 BALB/c 裸鼠随机分组，在第 0 天，用 5×10^6 个 Claudin18.2 阳性 BxPC3 细胞皮下接瘤于裸鼠腋下。接瘤后第 3 天尾静脉给药，实验组每只以 10mg/kg 剂量给与本申请抗体 HDR002C06 或对照抗体 IMAB362（稀释于 PBS 溶液中）；之后静脉注射与腹腔注射交替进行，一周给药 2 次，连续给药 3 周。空白组以同样方式注射 PBS。随时间推移监测肿瘤生长，用游标卡尺测量肿瘤的长与宽，

并通过公式：肿瘤体积=（长×宽²）/2，计算肿瘤体积；实验结束时，取出并测量肿瘤重量；计算每组小鼠肿瘤的平均体积和重量。

如图 13 和图 14 显示，10mg/kg 剂量下，HDR002C06 的体内抑制肿瘤生长效果优于阳性对照 IMAB362。

权利要求书

1. 分离的抗原结合蛋白，其包含：

重链可变区 VH，所述 VH 包含至少 1 个如下 HCDR：

HCDR1，其氨基酸序列如 SEQ ID NO:2 或 SEQ ID NO: 12 所示，或包含 SEQ ID NO:2 或 SEQ ID NO: 12 所示氨基酸序列；

HCDR2，其氨基酸序列如 SEQ ID NO:3 或 SEQ ID NO: 13 所示，或包含 SEQ ID NO: 3 或 SEQ ID NO: 13 所示氨基酸序列；

HCDR3，其氨基酸序列如 SEQ ID NO:4 或 SEQ ID NO: 14 所示，或包含 SEQ ID NO:4 或 SEQ ID NO: 14 所示氨基酸序列；

和/或

轻链可变区 VL，所述 VL 包含至少 1 个如下 LCDR：

LCDR1，其氨基酸序列如 SEQ ID NO:7 或 SEQ ID NO: 17 所示，或包含 SEQ ID NO:7 或 SEQ ID NO: 17 所示氨基酸序列；

LCDR2，其氨基酸序列如 SEQ ID NO:8 或 SEQ ID NO: 18 所示，或包含 SEQ ID NO:8 或 SEQ ID NO: 18 所示氨基酸序列；

LCDR3，其氨基酸序列如 SEQ ID NO:9 或 SEQ ID NO: 19 所示，或包含 SEQ ID NO:9 或 SEQ ID NO: 19 所示氨基酸序列。

2. 如权利要求 1 所述的分离的抗原结合蛋白，其中所述 VH 包含分别如 SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3 和 SEQ ID NO:4 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或者，所述 VH 包含分别如 SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13 和 SEQ ID NO:14 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；

和/或

所述 VL 包含分别如 SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8 和 SEQ ID NO:9 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或者，所述 VL 包含分别如 SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18 和 SEQ ID NO:19 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。

3. 如权利要求 2 所述的分离的抗原结合蛋白，其中所述 VH 包含分别如 SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3 和 SEQ ID NO:4 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3，且所述 VL 包含分别如 SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8 和 SEQ ID NO:9 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；

或者，

所述 VH 包含分别如 SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13 和 SEQ ID NO:14 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3，且所述 VL 包含分别如 SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18 和 SEQ ID NO:19 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。

4. 如权利要求 1-3 任一项所述的分离的抗原结合蛋白，其中，

所述 VH 包括框架区 H-FR1、H-FR2、H-FR3 和 H-FR4，所述 H-FR1 的 C 末端与所述 HCDR1 的 N 末端直接或间接相连，且所述 H-FR1 包含 SEQ ID NO: 21 或 29 所示氨基酸序列；所述 H-FR2 位于所述 HCDR1 与所述 HCDR2 之间，且所述 H-FR2 包含 SEQ ID NO: 22 或 30 所示氨基酸序列；所述 H-FR3 位于所述 HCDR2 与所述 HCDR3 之间，且所述 H-FR3 包含 SEQ ID NO: 23 或 31 所示氨基酸序列；所述 H-FR4 的 N 末端与所述 HCDR3 的 C 末端直接或间接相连，且所述 H-FR4 包含 SEQ ID NO: 24 或 32 所示氨基酸序列；

和/或

所述 VL 包括框架区 L-FR1、L-FR2、L-FR3 和 L-FR4，所述 L-FR1 的 C 末端与所述 LCDR1 的 N 末端直接或间接相连，且所述 L-FR1 包含 SEQ ID NO: 25 或 33 所示氨基酸序列；所述 L-FR2 位于所述 LCDR1 与所述 LCDR2 之间，且所述 L-FR2 包含 SEQ ID NO: 26 或 34 所示氨基酸序列；所述 L-FR3 位于所述 LCDR2 与所述 LCDR3 之间，且所述 L-FR3 包含 SEQ ID NO: 27 或 35 所示氨基酸序列；所述 L-FR4 的 N 末端与所述 LCDR3 的 C 末端直接或间接相连，且所述 L-FR4 包含 SEQ ID NO: 28 或 36 所示氨基酸序列。

5. 如权利要求 1-4 任一项所述的分离的抗原结合蛋白，其中所述 VH 包含 SEQ ID NO: 1 或 11 所示氨基酸序列；和/或所述 VL 包含 SEQ ID NO: 6 或 16 所示氨基酸序列；

优选地，所述 VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO:1 所示，且所述 VL 的氨基酸序列如 SEQ ID NO:6 所示；或者

所述 VH 的氨基酸序列如 SEQ ID NO:11 所示，且所述 VL 的氨基酸序列如 SEQ ID NO:16 所示。

6. 如权利要求 1-5 任一项所述的分离的抗原结合蛋白，其进一步包含：

抗体重链恒定区，所述抗体重链恒定区选自人 IgG 恒定区、IgA 恒定区、IgM 恒定区、IgD 恒定区或 IgE 恒定区，进一步地所述人 IgG 恒定区选自人

IgG1 恒定区、IgG2 恒定区、IgG3 恒定区或 IgG4 恒定区；优选地，所述抗体重链恒定区包含 SEQ ID NO: 37 所示的氨基酸序列；

和/或

抗体轻链恒定区，所述抗体轻链恒定区选自人 Ig κ 恒定区或人 Ig λ 恒定区；优选地，所述抗体轻链恒定区包含 SEQ ID NO: 38 或 39 所示的氨基酸序列。

7.如权利要求 1-6 任一项所述的分离的抗原结合蛋白，其包括抗体重链 HC 和抗体轻链 LC，其中所述 HC 包含 SEQ ID NO: 5 或 15 所示氨基酸序列；和/或所述 LC 包含 SEQ ID NO: 10 或 20 所示氨基酸序列；

优选地，所述 HC 包含 SEQ ID NO: 5 所示的氨基酸序列，且所述 LC 包含 SEQ ID NO: 10 所示氨基酸序列；或者

所述 HC 包含 SEQ ID NO: 15 所示的氨基酸序列，且所述 LC 包含 SEQ ID NO: 20 所示氨基酸序列。

8.如权利要求 1-7 任一项所述的分离的抗原结合蛋白，其具有下述性质中的一种或多种：

- 1) 在 FACS 测定中，能够特异性结合细胞表面的 Claudin18.2；
- 2) 在 FACS 测定中，不结合细胞表面的 Claudin18.1；
- 3) 对 Claudin18.2 阳性肿瘤细胞显示 CDC 效应；
- 4) 对 Claudin18.1 阳性肿瘤细胞不显示 CDC 效应；
- 5) 对 Claudin18.2 阳性肿瘤细胞诱导 ADCC 效应；
- 6) 抑制 Claudin18.2 阳性肿瘤的生长。

9.如权利要求 1-8 任一项所述的分离的抗原结合蛋白，其选自抗体或其抗原结合片段，优选地，所述抗体选自嵌合抗体、人源化抗体或全人源抗体，更优选为全人源抗体；所述抗原结合片段选自 Fab、Fab'、F(ab)₂、Fv 片段、F(ab')₂、scFv、di-scFv 或 dAb。

10.免疫缀合物，其包含权利要求 1-9 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白。

11.分离的核酸分子，其编码权利要求 1-9 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白或编码权利要求 10 所述的免疫缀合物。

12.载体，其包含如权利要求 11 所述的核酸分子。

13.细胞，其包含如权利要求 11 所述的核酸分子或如权利要求 12 所述的载体。

14.制备权利要求 1-9 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白的方法，所述方法包括在使得权利要求 1-9 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白表达的条件下，培养如权利要求 13 所述的细胞。

15.药物组合物，其包含权利要求 1-9 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白、权利要求 10 所述的免疫缀合物、权利要求 11 所述的核酸分子、权利要求 12 所述的载体或权利要求 13 所述的细胞，以及任选地药学上可接受的佐剂。

16.权利要求 1-9 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白、权利要求 10 所述的免疫缀合物、权利要求 11 所述的核酸分子、权利要求 12 所述的载体、权利要求 13 所述的细胞或权利要求 15 所述的药物组合物在制备抑制 Claudin18.2 阳性肿瘤细胞的生长或杀伤 Claudin18.2 阳性肿瘤细胞的药物中的用途，所述药物用于预防、诊断、缓解或治疗肿瘤；优选地，所述肿瘤选自实体瘤或血液肿瘤；更优选地，所述实体瘤选自肺癌、结肠癌、肝癌、食管癌、卵巢癌、膀胱癌、胃癌、肾癌或胰腺癌。

17.抑制 Claudin18.2 阳性肿瘤细胞的生长、杀伤所述 Claudin18.2 阳性肿瘤细胞，或者预防、诊断、缓解或治疗肿瘤的方法，包括使所述 Claudin18.2 阳性肿瘤细胞接触权利要求 1-9 中任一项所述的分离的抗原结合蛋白、权利要求 10 所述的免疫缀合物、权利要求 11 所述的核酸分子、权利要求 12 所述的载体、权利要求 13 所述的细胞或权利要求 15 所述的药物组合物；优选地，所述肿瘤选自实体瘤或血液肿瘤；更优选地，所述实体瘤选自肺癌、结肠癌、肝癌、食管癌、卵巢癌、膀胱癌、胃癌、肾癌或胰腺癌。

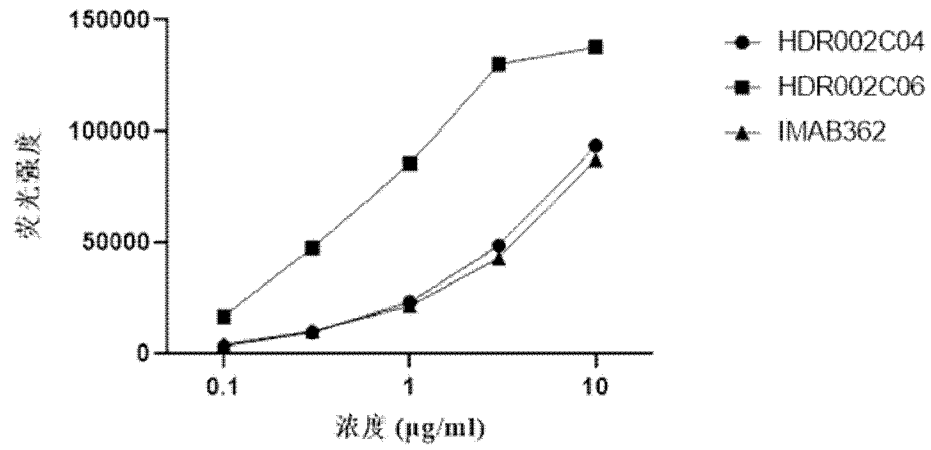


图 1

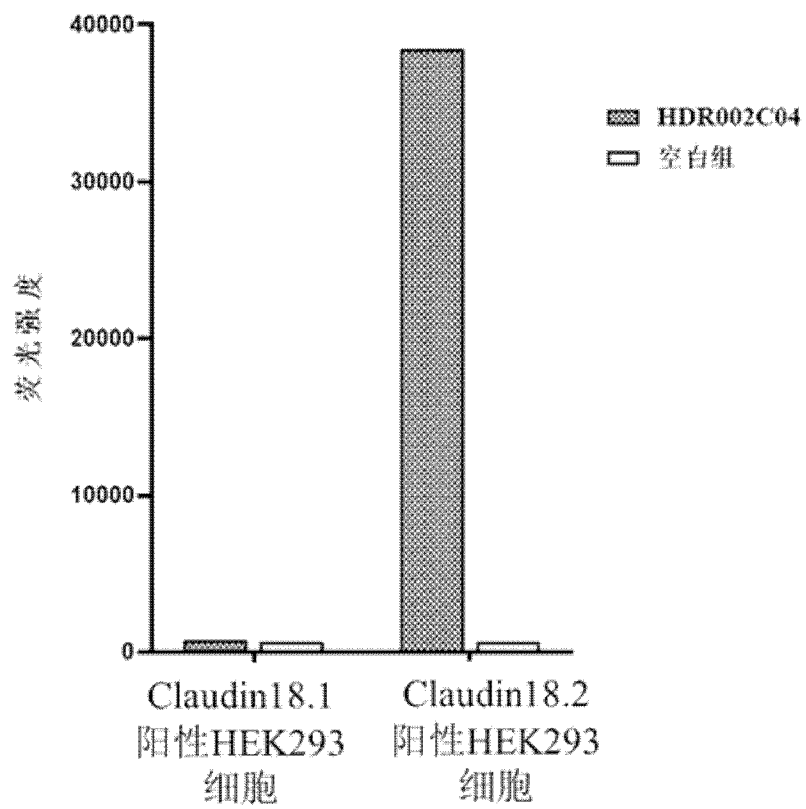


图 2

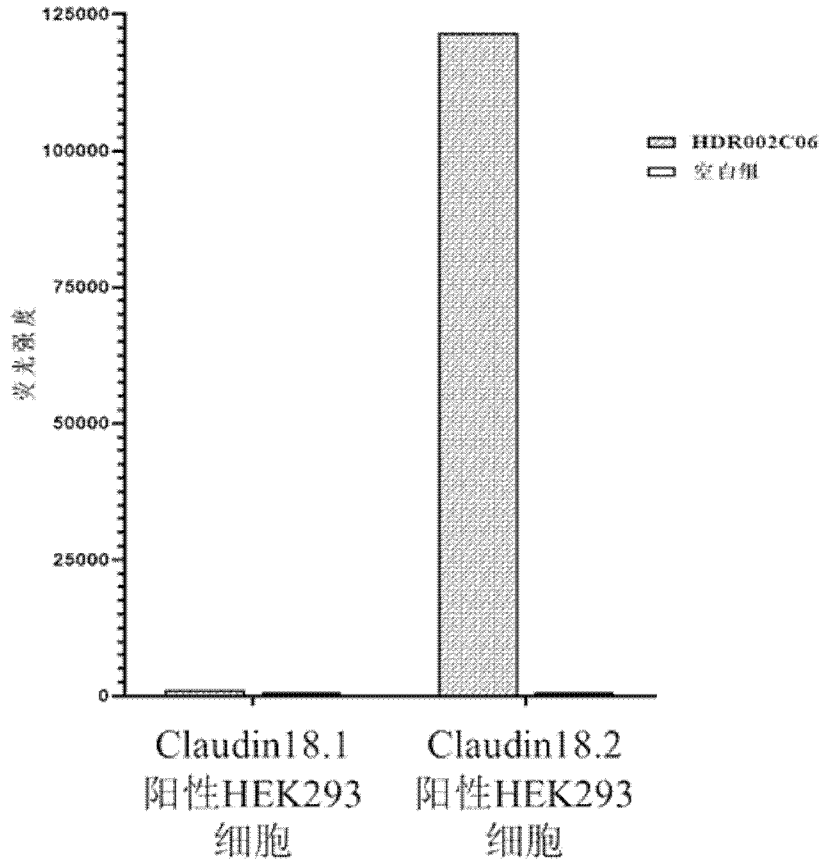


图 3

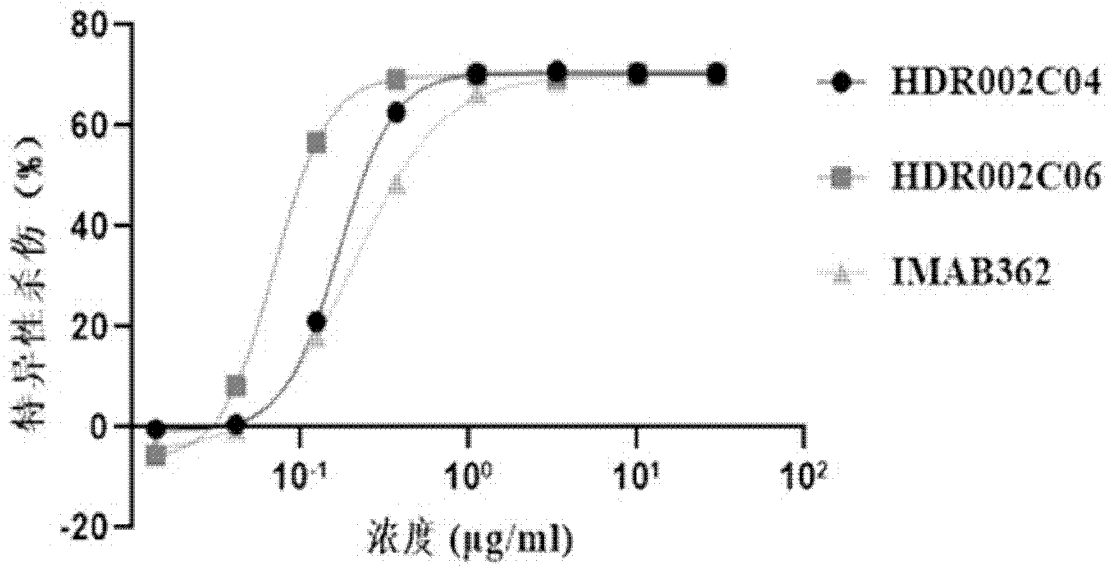


图 4

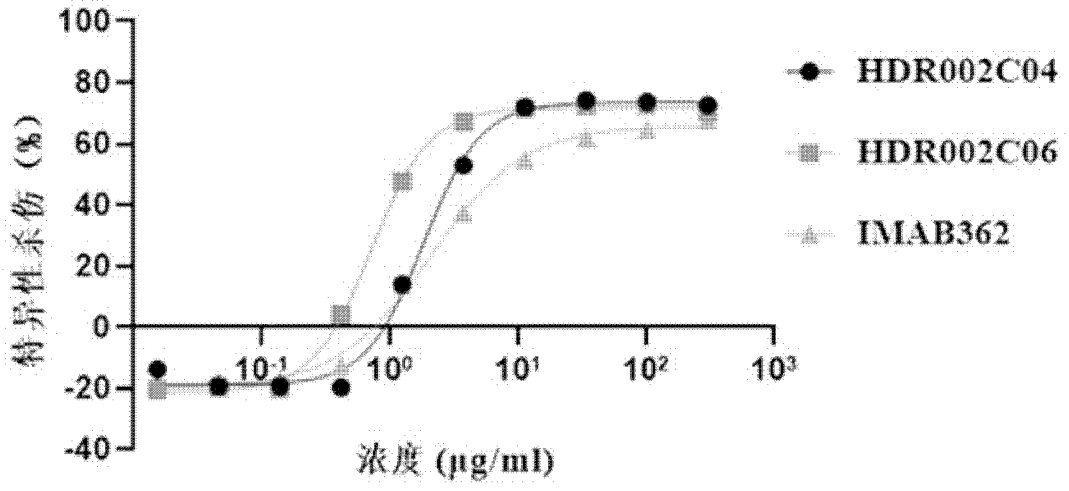


图 5

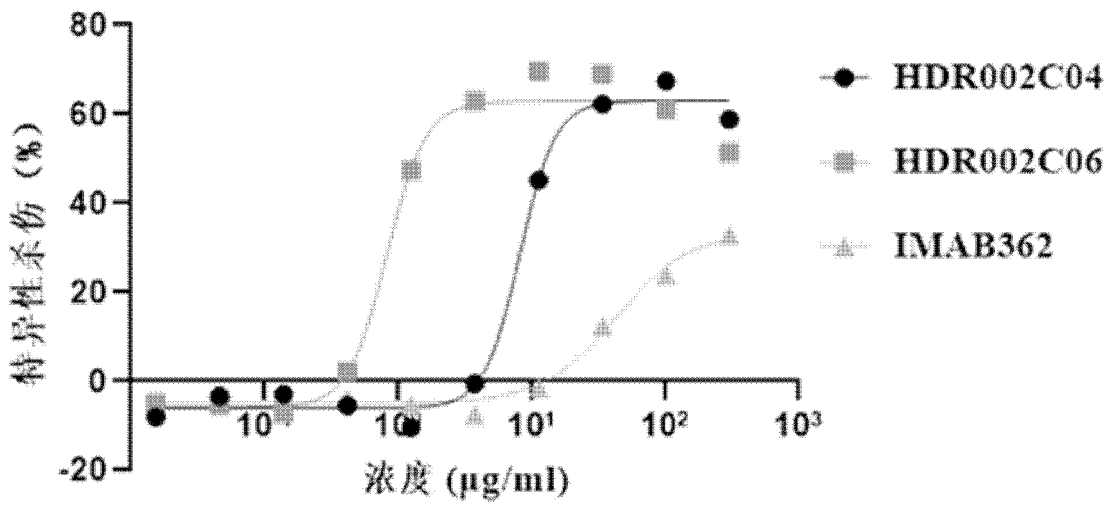


图 6

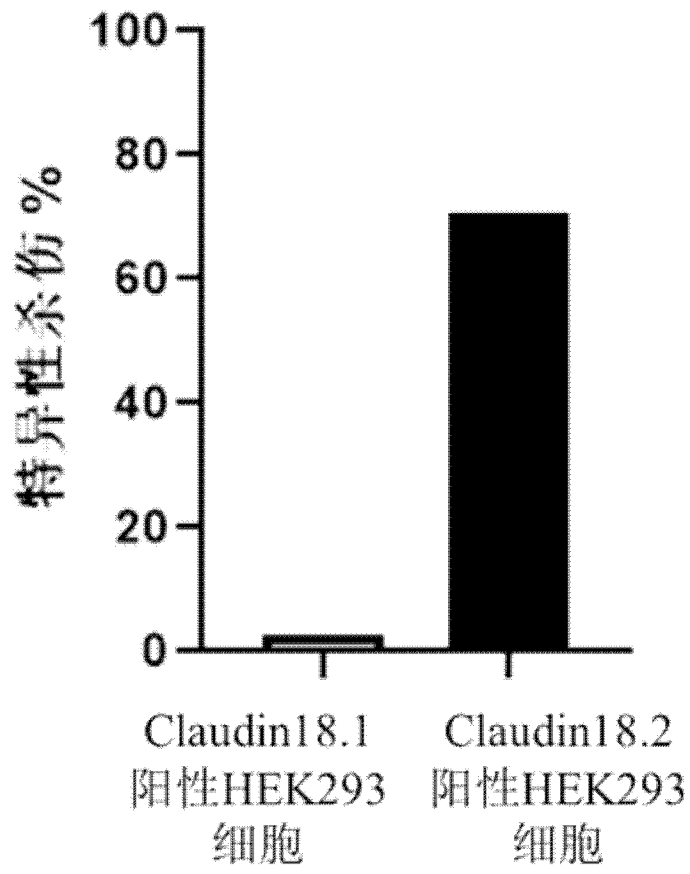


图 7

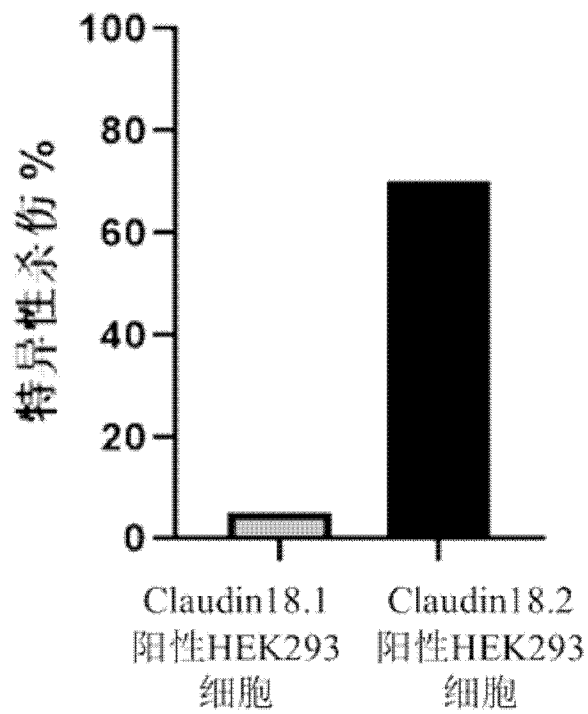


图 8

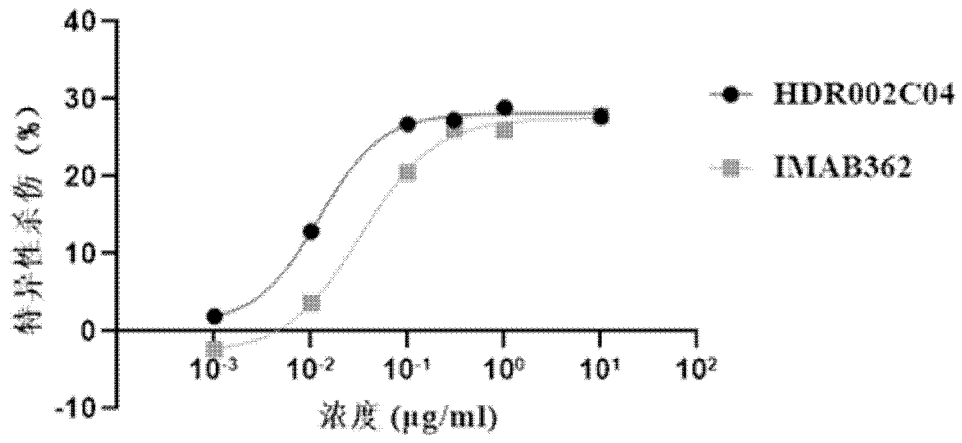


图 9

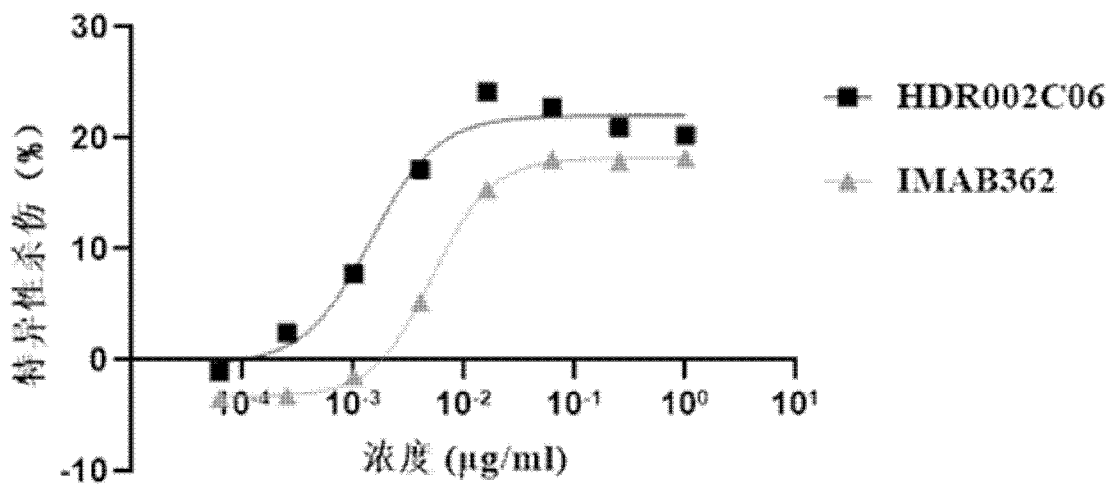


图 10

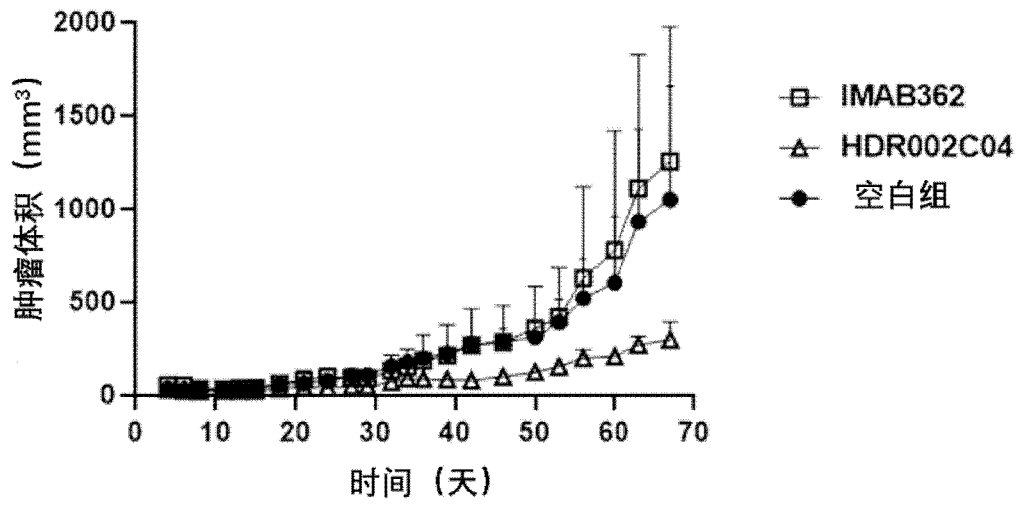


图 11

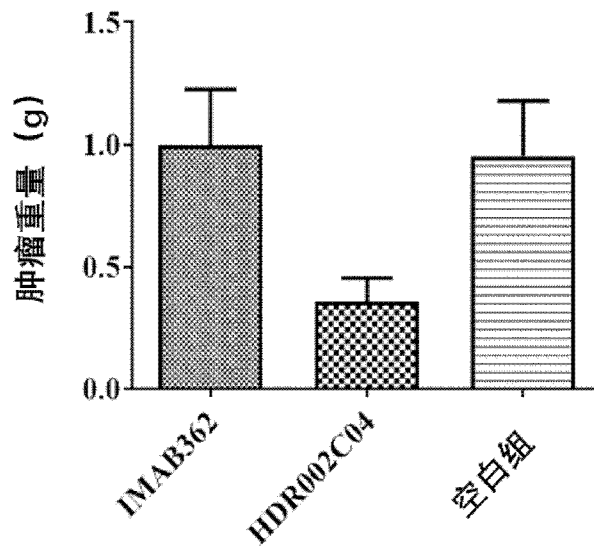


图 12

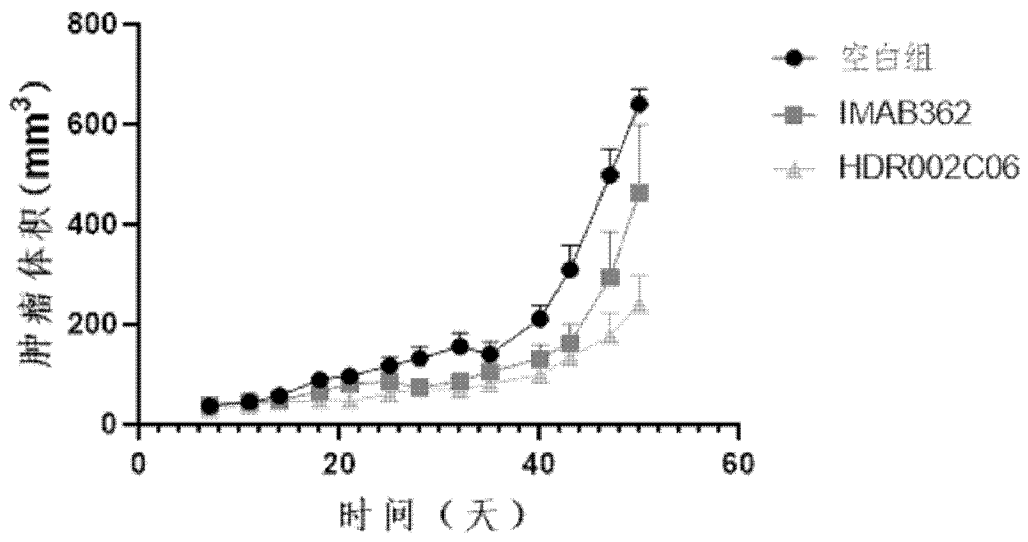


图 13

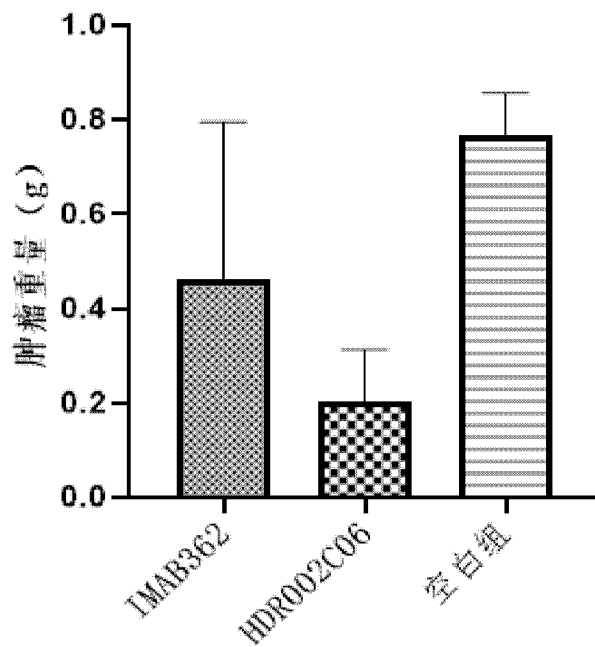


图 14

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2021/096205

| A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER | | |
|--|--|---|
| C07K 16/30(2006.01)i; C12N 15/13(2006.01)i; C12N 15/63(2006.01)i; A61K 39/395(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i | | |
| According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC | | |
| B. FIELDS SEARCHED | | |
| Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07K, C12N, A61K, A61P | | |
| Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched | | |
| Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CNABS, CNTXT, DWPI, SIPOABS, CNKI, PubMed, ISI Web of Science: 密蛋白, claudin-18-2, claudin 18.2, claudin18-2, claudin18.2, CLDN18.2, CLD18A2, 抗体, 单抗, 单克隆抗体, 抗原结合, anti, antibody, antigen binding, tumor, 序列检索数据库, Sequence Search Database: 中国专利生物序列检索系统, Chinese Patent Biological Sequence Retrieval System, GenBank, EBML, STN: SEQ ID NO: 1-10 | | |
| C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT | | |
| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
| A | CN 103509114 A (GANYMED PHARMACEUTICALS AG; JOHANNES GUTENBERG-UNIVERSITAET MAINZ; VERTRETEN DURCH DEN PRAESIDENTEN) 15 January 2014 (2014-01-15) see entire document | 1-16 (all in part) |
| A | CN 109762067 A (BEIJING MABWORKS BIOTECH CO., LTD.) 17 May 2019 (2019-05-17) see entire document | 1-16 (all in part) |
| A | CN 108047331 A (GANYMED PHARMACEUTICALS AG; TRON TRANSLATIONALE ONKOLOGIE AN DER JOHANNES GUTENBERG UNIVERSITAET MAINZ GEMEINNUTZIGE GMBH) 18 May 2018 (2018-05-18) see entire document | 1-16 (all in part) |
| A | CN 110606891 A (SHANGHAI L&L BIOPHARMA CO., LTD.) 24 December 2019 (2019-12-24) see entire document | 1-16 (all in part) |
| <input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex. | | |
| * Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family | | |
| Date of the actual completion of the international search 30 July 2021 | | Date of mailing of the international search report 19 August 2021 |
| Name and mailing address of the ISA/CN China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088 China Facsimile No. (86-10)62019451 | | Authorized officer Telephone No. |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2021/096205

| C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT | | |
|---|---|-----------------------|
| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
| A | WO 2014146672 A1 (GANYMED PHARMACEUTICALS AG et al.) 25 September 2014 (2014-09-25) see entire document | 1-16 (all in part) |
| | | |

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
 - a. forming part of the international application as filed:
 - in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - on paper or in the form of an image file.
 - b. furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - c. furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
 - in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
 - on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2. In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: 17
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
[1] Method of treatment of the living human or animal body
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

- [1] Invention 1: Claims 1-16 (all in part): relate to an isolated antigen-binding protein, a conjugate comprising it, a nucleic acid molecule encoding it, a vector comprising said nucleic acid molecule, a cell, a method of preparation thereof, a pharmaceutical composition, and a use thereof for preparing a drug. Said isolated binding proteins comprise HCDR1, HCDR2, HCDR3 as shown in SEQ ID NO: 2, 3, 4; and LCDR1, LCDR2, LCDR3 as shown in SEQ ID NO: 7, 8, 9.
- [2] Invention 2: Claims 1-16 (all in part): relate to an isolated antigen-binding protein, a conjugate comprising it, a nucleic acid molecule encoding it, a vector comprising said nucleic acid molecule, a cell, a method of preparation thereof, a pharmaceutical composition, and a use thereof for preparing a drug. Said isolated binding proteins comprise HCDR1, HCDR2, HCDR3 as shown in SEQ ID NO: 12, 13, 14; and LCDR1, LCDR2, LCDR3 as shown in SEQ ID NO: 17, 18, 19.
- [3] Invention 3: Claims 1-2, 4-16 (all in part): relate to an isolated antigen-binding protein, a conjugate comprising it, a nucleic acid molecule encoding it, a vector comprising said nucleic acid molecule, a cell, a method of preparation thereof, a pharmaceutical composition, and a use thereof for preparing a drug. Said isolated binding proteins comprise HCDR1, HCDR2, HCDR3 as shown in SEQ ID NO: 2, 3, 4; and LCDR1, LCDR2, LCDR3 as shown in SEQ ID NO: 17, 18, 19.
- [4] Invention 4: Claims 1-2, 4-16 (all in part): relate to an isolated antigen-binding protein, a conjugate comprising it, a nucleic acid molecule encoding it, a vector comprising said nucleic acid molecule, a cell, a method of preparation thereof, a pharmaceutical composition, and a use thereof for preparing a drug. Said isolated binding proteins comprise HCDR1, HCDR2, HCDR3 as shown in SEQ ID NO: 12, 13, 14; and LCDR1, LCDR2, LCDR3 as shown in SEQ ID NO: 7, 8, 9.
- [5] Invention 5: Claims 1, 4, 6, 8-16 (all in part): relate to an isolated antigen-binding protein, a conjugate comprising it, a nucleic acid molecule encoding it, a vector comprising said nucleic acid molecule, a cell, a method of preparation thereof, a pharmaceutical composition, and a use thereof for preparing a drug. Said isolated binding proteins comprise HCDR1, HCDR2, HCDR3 as shown in SEQ ID NO: 2, 3, 4; and LCDR1, LCDR2, LCDR3 as shown in SEQ ID NO: 7, 8, 19.
- [6] Invention 6: Claims 1, 4, 6, 8-16 (all in part): relate to an isolated antigen-binding protein, a conjugate comprising it, a nucleic acid molecule encoding it, a vector comprising said nucleic acid molecule, a cell, a method of preparation thereof, a pharmaceutical composition, and a use thereof for preparing a drug. Said isolated binding proteins comprise HCDR1, HCDR2, HCDR3 as shown in SEQ ID NO: 2, 3, 4; and LCDR1, LCDR2, LCDR3 as shown in SEQ ID NO: 7, 18, 9.
- [7]

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

[8] Invention 63: Claims 1, 4, 6, 8-16 (all in part): relate to an isolated antigen-binding protein, a conjugate comprising it, a nucleic acid molecule encoding it, a vector comprising said nucleic acid molecule, a cell, a method of preparation thereof, a pharmaceutical composition, and a use thereof for preparing a drug. Said isolated binding proteins comprise HCDR1, HCDR2, HCDR3 as shown in SEQ ID NO: 12, 3, 4; and LCDR1, LCDR2, LCDR3 as shown in SEQ ID NO: 7, 8, 9.

[9] Invention 64: Claims 1, 4, 6, 8-16 (all in part): relate to an isolated antigen-binding protein, a conjugate comprising it, a nucleic acid molecule encoding it, a vector comprising said nucleic acid molecule, a cell, a method of preparation thereof, a pharmaceutical composition, and a use thereof for preparing a drug. Said isolated binding proteins comprise HCDR1, HCDR2, HCDR3 as shown in SEQ ID NO: 2, 13, 4; and LCDR1, LCDR2, LCDR3 as shown in SEQ ID NO: 7, 8, 9.

[10] The same or corresponding technical feature among the above 64 groups of inventions is that all are isolated binding proteins that bind Claudin 18.2, however this technical feature is already disclosed by the prior art, for example CN103509114A (publication date: 2014-01-15, see claims 3, 5, 7-16 and 18-33). Therefore, these 64 groups of inventions do not share a same or corresponding specific technical feature, do not form a single general inventive concept, and do not comply with the requirement of unity of invention as defined in PCT Rule 13.1.

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.: **1-16 (all in part)**

- Remark on Protest**
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
 - The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
 - No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2021/096205

| Patent document cited in search report | Publication date (day/month/year) | Patent family member(s) | Publication date (day/month/year) |
|---|--------------------------------------|-------------------------|--------------------------------------|
| CN 103509114 A | 15 January 2014 | JP 6085148 B2 | 22 February 2017 |
| | | US 8168427 B2 | 01 May 2012 |
| | | JP 6261650 B2 | 17 January 2018 |
| | | AU 2006316767 A1 | 31 May 2007 |
| | | PL 2325210 T3 | 31 December 2018 |
| | | MX 339682 B | 06 June 2016 |
| | | HR P20151136 T1 | 01 January 2016 |
| | | ES 2550027 T3 | 04 November 2015 |
| | | DK 2311878 T3 | 04 January 2016 |
| | | SI 2311879 T1 | 30 October 2017 |
| | | PT 2311878 E | 26 January 2016 |
| | | CA 2886580 A1 | 31 May 2007 |
| | | US 2012195830 A1 | 02 August 2012 |
| | | PT 1948693 E | 05 June 2013 |
| | | RS 56327 B1 | 29 December 2017 |
| | | CN 103509110 B | 09 December 2015 |
| | | HU E041538 T2 | 28 May 2019 |
| | | CY 1114050 T1 | 27 July 2016 |
| | | KR 101921287 B1 | 22 November 2018 |
| | | KR 101463585 B1 | 21 November 2014 |
| | | DK 2311879 T3 | 11 September 2017 |
| | | EP 2325210 A1 | 25 May 2011 |
| | | AU 2006316767 B8 | 24 May 2012 |
| | | US 9499609 B2 | 22 November 2016 |
| | | KR 20200039015 A | 14 April 2020 |
| | | EP 3656793 A1 | 27 May 2020 |
| | | US 10738108 B2 | 11 August 2020 |
| | | US 9751934 B2 | 05 September 2017 |
| | | BR PI0618920 A2 | 27 September 2011 |
| | | HU E048404 T2 | 28 July 2020 |
| | | DK 3312197 T3 | 11 November 2019 |
| | | CN 103509110 A | 15 January 2014 |
| | | LT 3312197 T | 11 November 2019 |
| | | PL 2311877 T3 | 29 January 2016 |
| | | KR 20180126091 A | 26 November 2018 |
| | | HR P20181565 T1 | 14 December 2018 |
| | | LT 2325210 T | 12 November 2018 |
| | | EP 2311879 B1 | 21 June 2017 |
| | | EP 3312197 A1 | 25 April 2018 |
| | | CA 2628126 A1 | 31 May 2007 |
| | | US 2009169547 A1 | 02 July 2009 |
| | | HK 1119721 A1 | 13 March 2009 |
| | | AU 2006316767 B9 | 13 February 2014 |
| | | SI 3312197 T1 | 31 December 2019 |
| | | CY 1116964 T1 | 05 April 2017 |
| | | PL 2311878 T3 | 29 February 2016 |
| | | SI EP2311877 T1 | 31 December 2015 |
| | | WO 2007059997 A1 | 31 May 2007 |
| | | ES 2407819 T3 | 14 June 2013 |
| | | EP 1948693 B1 | 20 March 2013 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2021/096205

| Patent document cited in search report | | | Publication date (day/month/year) | Patent family member(s) | | | Publication date (day/month/year) |
|--|-----------|---|-----------------------------------|-------------------------|--------------|----|-----------------------------------|
| CN | 109762067 | A | 17 May 2019 | CN | 112399974 | A | 23 February 2021 |
| | | | | EP | 3683239 | A1 | 22 July 2020 |
| | | | | JP | 2021509889 | A | 08 April 2021 |
| | | | | WO | 2020147321 | A1 | 23 July 2020 |
| | | | | CA | 3104383 | A1 | 23 July 2020 |
| | | | | US | 10421817 | B1 | 24 September 2019 |
| | | | | CN | 109762067 | B | 28 February 2020 |
| | | | | AU | 2019422603 | A1 | 07 January 2021 |
| <hr/> | | | | | | | |
| CN | 108047331 | A | 18 May 2018 | EP | 2847225 | B1 | 27 November 2019 |
| | | | | WO | 2013167259 | A1 | 14 November 2013 |
| | | | | PT | 2847225 | T | 16 January 2020 |
| | | | | US | 2018319891 | A1 | 08 November 2018 |
| | | | | DK | 2847225 | T3 | 20 January 2020 |
| | | | | HU | E049171 | T2 | 28 September 2020 |
| | | | | NZ | 718280 | A | 27 April 2018 |
| | | | | SI | 2847225 | T1 | 31 March 2020 |
| | | | | US | 9512232 | B2 | 06 December 2016 |
| | | | | AU | 2013258432 | B2 | 01 June 2017 |
| | | | | UA | 116445 | C2 | 26 March 2018 |
| | | | | JP | 2018052934 | A | 05 April 2018 |
| | | | | AU | 2019222874 | A1 | 19 September 2019 |
| | | | | BR | 112014026755 | B1 | 16 June 2020 |
| | | | | AR | 090973 | A1 | 17 December 2014 |
| | | | | IL | 235261 | D0 | 31 December 2014 |
| | | | | AU | 2017216513 | B2 | 30 May 2019 |
| | | | | EP | 2847225 | A1 | 18 March 2015 |
| | | | | ZA | 201407336 | B | 27 July 2016 |
| | | | | WO | 2013167153 | A1 | 14 November 2013 |
| | | | | JP | 2015517476 | A | 22 June 2015 |
| | | | | US | 10053512 | B2 | 21 August 2018 |
| | | | | EP | 3666796 | A1 | 17 June 2020 |
| | | | | SG | 11201406472W | A | 27 November 2014 |
| | | | | IL | 235261 | A | 28 February 2021 |
| | | | | ES | 2763965 | T3 | 01 June 2020 |
| | | | | NZ | 700823 | A | 29 July 2016 |
| | | | | RU | 2661772 | C2 | 19 July 2018 |
| | | | | HR | P20192347 | T1 | 03 April 2020 |
| | | | | MX | 2014013542 | A | 08 May 2015 |
| | | | | US | 2015147763 | A1 | 28 May 2015 |
| | | | | AU | 2017216513 | A1 | 31 August 2017 |
| | | | | US | 2016333109 | A1 | 17 November 2016 |
| | | | | LT | 2847225 | T | 11 May 2020 |
| | | | | RS | 59868 | B1 | 31 March 2020 |
| | | | | HK | 1202557 | A1 | 02 October 2015 |
| | | | | PL | 2847225 | T3 | 18 May 2020 |
| | | | | BR | 112014026755 | A2 | 11 July 2017 |
| | | | | JP | 6232646 | B2 | 22 November 2017 |
| | | | | JP | 2019172675 | A | 10 October 2019 |
| | | | | SG | 10201606048P | A | 29 September 2016 |
| | | | | MX | 369740 | B | 20 November 2019 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2021/096205

| Patent document cited in search report | | | Publication date (day/month/year) | Patent family member(s) | Publication date (day/month/year) |
|--|------------|----|-----------------------------------|-------------------------|-----------------------------------|
| | | | | AU 2013258432 A1 | 30 October 2014 |
| | | | | KR 20150008095 A | 21 January 2015 |
| | | | | BR 112014026755 B8 | 07 July 2020 |
| | | | | CN 104321345 B | 30 March 2018 |
| | | | | CA 2869725 A1 | 14 November 2013 |
| | | | | RU 2014149332 A | 27 June 2016 |
| | | | | JP 6514294 B2 | 15 May 2019 |
| <hr/> | | | | | |
| CN | 110606891 | A | 24 December 2019 | None | |
| <hr/> | | | | | |
| WO | 2014146672 | A1 | 25 September 2014 | JP 2016517447 A | 16 June 2016 |
| | | | | JP 2018184403 A | 22 November 2018 |
| | | | | AU 2014234684 A1 | 20 August 2015 |
| | | | | SG 11201507764Q A | 29 October 2015 |
| | | | | HU E048541 T2 | 28 July 2020 |
| | | | | UA 119036 C2 | 25 April 2019 |
| | | | | DK 2976360 T3 | 27 January 2020 |
| | | | | AU 2019201513 B2 | 13 August 2020 |
| | | | | JP 6416197 B2 | 31 October 2018 |
| | | | | IL 240060 A | 24 September 2015 |
| | | | | AU 2020210165 A1 | 13 August 2020 |
| | | | | US 2019076525 A1 | 14 March 2019 |
| | | | | BR 112015023910 B1 | 10 September 2019 |
| | | | | RU 2015144666 A3 | 26 March 2018 |
| | | | | ES 2765949 T8 | 23 June 2020 |
| | | | | AU 2019201513 A1 | 28 March 2019 |
| | | | | WO 2014146778 A1 | 25 September 2014 |
| | | | | RU 2678700 C2 | 31 January 2019 |
| | | | | IL 240060 D0 | 24 September 2015 |
| | | | | RU 2015144666 A | 21 April 2017 |
| | | | | AU 2014234684 B2 | 06 December 2018 |
| | | | | JP 2020143153 A | 10 September 2020 |
| | | | | CA 2899770 A1 | 25 September 2014 |
| | | | | US 2016008465 A1 | 14 January 2016 |
| | | | | RU 2019101923 A | 22 February 2019 |
| | | | | CN 105189554 A | 23 December 2015 |
| | | | | US 10137195 B2 | 27 November 2018 |
| | | | | PT 2976360 T | 22 January 2020 |
| | | | | KR 20150130318 A | 23 November 2015 |
| | | | | BR 112015023910 A2 | 21 March 2017 |
| | | | | HK 1219486 A1 | 07 April 2017 |
| | | | | SG 10201707684W A | 29 November 2017 |
| | | | | ES 2765949 T3 | 11 June 2020 |
| | | | | MX 2015013355 A | 24 June 2016 |
| <hr/> | | | | | |

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2021/096205

| <p>A. 主题的分类</p> <p>C07K 16/30(2006.01)i; C12N 15/13(2006.01)i; C12N 15/63(2006.01)i; A61K 39/395(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i</p> <p>按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类</p> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|--|-------------|-----|-------------------|---------|---|---|-------------|---|--|-------------|---|--|-------------|---|--|-------------|---|--|-------------|
| <p>B. 检索领域</p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>C07K, C12N, A61K, A61P</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))</p> <p>CNABS, CNTXT, DWPI, SIPOABS, CNKI, PubMed, ISI_Web of Science: 密蛋白, claudin-18-2, claudin 18.2, claudin18-2, claudin18.2, CLDN18.2, CLD18A2, 抗体, 单抗, 单克隆抗体, 抗原结合, anti, antibody, antigen binding, tumor 序列检索数据库: 中国专利生物序列检索系统, GenBank, EBML, STN; SEQ ID NO: 1-10</p> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <p>C. 相关文件</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>类型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>A</td> <td>CN 103509114 A (加尼梅德药物公司 约翰内斯 古滕伯格美因兹大学, 由校长代表) 2014年 1月 15日 (2014 - 01 - 15) 参见全文</td> <td>1-16 (均为部分)</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 109762067 A (北京天广实生物技术股份有限公司) 2019年 5月 17日 (2019 - 05 - 17) 参见全文</td> <td>1-16 (均为部分)</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 108047331 A (加尼梅德药物公司 约翰 古腾堡大学美因兹医学大学转化肿瘤学公司) 2018年 5月 18日 (2018 - 05 - 18) 参见全文</td> <td>1-16 (均为部分)</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 110606891 A (上海健信生物医药科技有限公司) 2019年 12月 24日 (2019 - 12 - 24) 参见全文</td> <td>1-16 (均为部分)</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>WO 2014146672 A1 (GANYMED PHARMACEUTICALS AG等) 2014年 9月 25日 (2014 - 09 - 25) 参见全文</td> <td>1-16 (均为部分)</td> </tr> </tbody> </table> <p><input type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。 <input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p> <p>* 引用文件的具体类型: “A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 “E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 “L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) “O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 “P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 “T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 “X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 “Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 “&” 同族专利的文件</p> | | | 类型* | 引用文件, 必要时, 指明相关段落 | 相关的权利要求 | A | CN 103509114 A (加尼梅德药物公司 约翰内斯 古滕伯格美因兹大学, 由校长代表) 2014年 1月 15日 (2014 - 01 - 15) 参见全文 | 1-16 (均为部分) | A | CN 109762067 A (北京天广实生物技术股份有限公司) 2019年 5月 17日 (2019 - 05 - 17) 参见全文 | 1-16 (均为部分) | A | CN 108047331 A (加尼梅德药物公司 约翰 古腾堡大学美因兹医学大学转化肿瘤学公司) 2018年 5月 18日 (2018 - 05 - 18) 参见全文 | 1-16 (均为部分) | A | CN 110606891 A (上海健信生物医药科技有限公司) 2019年 12月 24日 (2019 - 12 - 24) 参见全文 | 1-16 (均为部分) | A | WO 2014146672 A1 (GANYMED PHARMACEUTICALS AG等) 2014年 9月 25日 (2014 - 09 - 25) 参见全文 | 1-16 (均为部分) |
| 类型* | 引用文件, 必要时, 指明相关段落 | 相关的权利要求 | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| A | CN 103509114 A (加尼梅德药物公司 约翰内斯 古滕伯格美因兹大学, 由校长代表) 2014年 1月 15日 (2014 - 01 - 15) 参见全文 | 1-16 (均为部分) | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| A | CN 109762067 A (北京天广实生物技术股份有限公司) 2019年 5月 17日 (2019 - 05 - 17) 参见全文 | 1-16 (均为部分) | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| A | CN 108047331 A (加尼梅德药物公司 约翰 古腾堡大学美因兹医学大学转化肿瘤学公司) 2018年 5月 18日 (2018 - 05 - 18) 参见全文 | 1-16 (均为部分) | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| A | CN 110606891 A (上海健信生物医药科技有限公司) 2019年 12月 24日 (2019 - 12 - 24) 参见全文 | 1-16 (均为部分) | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| A | WO 2014146672 A1 (GANYMED PHARMACEUTICALS AG等) 2014年 9月 25日 (2014 - 09 - 25) 参见全文 | 1-16 (均为部分) | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 国际检索实际完成的日期 | 国际检索报告邮寄日期 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2021年 7月 30日 | 2021年 8月 19日 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| ISA/CN的名称和邮寄地址 | 授权官员 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国 北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 传真号 (86-10)62019451 | 薛暘 电话号码 62411569 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

第1栏 核苷酸和/或氨基酸序列(续第1页第1. c项)

1. 关于国际申请中所公开的任何核苷酸和/或氨基酸序列, 国际检索是基于下列序列列表进行的:
- a. 作为国际申请的一部分提交的:
- 附件C/ST. 25文本文件形式
 - 纸件或图形文件形式
- b. 根据细则13之三. 1(a) 仅为国际检索目的以附件C/ST. 25文本文件形式与国际申请同时提交的:
- c. 仅为国际检索目的在国际申请日之后提交的:
- 附件C/ST. 25文本文件形式(细则13之三. 1(a))
 - 纸件或图形文件形式(细则13之三. 1(b)和行政规程第713段)
2. 另外, 在提交/提供了多个版本或副本的序列列表的情况下, 提供了关于随后提交的或附加的副本中的信息与申请时提交的作为申请一部分的序列列表的信息相同或未超出申请时提交的申请中的信息范围(如适用)的所需声明。
3. 补充意见:

第II栏 某些权利要求被认为是不能检索的意见(续第1页第2项)

根据条约第17条(2)(a), 对某些权利要求未做国际检索报告的理由如下:

1. 权利要求: 17
因为它们涉及不要求本单位进行检索的主题, 即:
[1] 对有生命的人体或动物体的治疗方法
2. 权利要求:
因为它们涉及国际申请中不符合规定的要求的部分, 以致不能进行任何有意义的国际检索, 具体地说:
3. 权利要求:
因为它们是从属权利要求, 并且没有按照细则6.4(a)第2句和第3句的要求撰写。

第III栏 缺乏发明单一性的意见(续第1页第3项)

本国际检索单位在该国际申请中发现多项发明, 即:

- [1] 发明1: 权利要求1-16(均为部分): 涉及一种分离的抗原结合蛋白、包含其的缀合物、编码其的核酸分子、包含所述核酸分子的载体、细胞、其制备方法、药物组合物、及其在制备药物用的用途。所述分离的结合蛋白包含如SEQ ID NO: 2、3、4所示的HCDR1、HCDR2、HCDR3; 和如SEQ ID NO: 7、8、9所示的LCDR1、LCDR2、LCDR3;
- [2] 发明2: 权利要求1-16(均为部分): 涉及一种分离的抗原结合蛋白、包含其的缀合物、编码其的核酸分子、包含所述核酸分子的载体、细胞、其制备方法、药物组合物、及其在制备药物用的用途。所述分离的结合蛋白包含如SEQ ID NO: 12、13、14所示的HCDR1、HCDR2、HCDR3; 和如SEQ ID NO: 17、18、19所示的LCDR1、LCDR2、LCDR3;
- [3] 发明3: 权利要求1-2、4-16(均为部分): 涉及一种分离的抗原结合蛋白、包含其的缀合物、编码其的核酸分子、包含所述核酸分子的载体、细胞、其制备方法、药物组合物、及其在制备药物用的用途。所述分离的结合蛋白包含如SEQ ID NO: 2、3、4所示的HCDR1、HCDR2、HCDR3; 和如SEQ ID NO: 17、18、19所示的LCDR1、LCDR2、LCDR3;
- [4] 发明4: 权利要求1-2、4-16(均为部分): 涉及一种分离的抗原结合蛋白、包含其的缀合物、编码其的核酸分子、包含所述核酸分子的载体、细胞、其制备方法、药物组合物、及其在制备药物用的用途。所述分离的结合蛋白包含如SEQ ID NO: 12、13、14所示的HCDR1、HCDR2、HCDR3; 和如SEQ ID NO: 7、8、9所示的LCDR1、LCDR2、LCDR3;
- [5] 发明5: 权利要求1、4、6、8-16(均为部分): 涉及一种分离的抗原结合蛋白、包含其的缀合物、编码其的核酸分子、包含所述核酸分子的载体、细胞、其制备方法、药物组合物、及其在制备药物用的用途。所述分离的结合蛋白包含如SEQ ID NO: 2、3、4所示的HCDR1、HCDR2、HCDR3; 和如SEQ ID NO: 7、8、19所示的LCDR1、LCDR2、LCDR3;
- [6] 发明6: 权利要求1、4、6、8-16(均为部分): 涉及一种分离的抗原结合蛋白、包含其的缀合物、编码其的核酸分子、包含所述核酸分子的载体、细胞、其制备方法、药物组合物、及其在制备药物用的用途。所述分离的结合蛋白包含如SEQ ID NO: 2、3、4所示的HCDR1、HCDR2、HCDR3; 和如SEQ ID NO: 7、18、9所示的LCDR1、LCDR2、LCDR3;
- [7]
- [8] 发明63: 权利要求1、4、6、8-16(均为部分): 涉及一种分离的抗原结合蛋白、包含其的缀合物、编码其的核酸分子、包含所述核酸分子的载体、细胞、其制备方法、药物组合物、及其在制备药物用的用途。所述分离的结合蛋白包含如SEQ ID NO: 12、3、4所示的HCDR1、HCDR2、HCDR3; 和如SEQ ID NO: 7、8、9所示的LCDR1、LCDR2、LCDR3;

第III栏 缺乏发明单一性的意见(续第1页第3项)

[9] 发明64：权利要求1、4、6、8-16（均为部分）：涉及一种分离的抗原结合蛋白、包含其的缀合物、编码其的核酸分子、包含所述核酸分子的载体、细胞、其制备方法、药物组合物、及其在制备药物用的用途。所述分离的结合蛋白包含如SEQ ID NO：2、13、4所示的HCDR1、HCDR2、HCDR3；和如SEQ ID NO：7、8、9所示的LCDR1、LCDR2、LCDR3；

[10] 上述64组发明间相同或相应的技术特征为：均为分离的结合Claudin18.2的结合蛋白，然而这一技术特征已经被现有技术公开，例如CN103509114A（公开日：2014-01-15，参见权利要求3、5、7-16、18-33）。因此，这64组发明不具有相同或相应的特定技术特征，不属于一个总的发明构思，因而不满足单一性的要求，不符合PCT实施细则13.1的规定。

1. 由于申请人按时缴纳了被要求缴纳的全部附加检索费，本国际检索报告涉及全部可作检索的权利要求。
2. 由于无需付出有理由要求附加费的劳动即能对全部可检索的权利要求进行检索，本单位未通知缴纳任何加费。
3. 由于申请人仅按时缴纳了部分被要求缴纳的附加检索费，本国际检索报告仅涉及已缴费的那些权利要求，具体地说，是权利要求：
4. 申请人未按时缴纳被要求缴纳的附加检索费。因此，本国际检索报告仅涉及权利要求书中首先提及的发明；包含该发明的权利要求是：1-16(均为部分)

对异议的意见

- 申请人缴纳了附加检索费，同时提交了异议书，适用时，缴纳了异议费。
- 申请人缴纳了附加检索费，同时提交了异议书，但未在通知书规定的时间期限内缴纳异议费。
- 缴纳附加检索费时未提交异议书。

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2021/096205

| 检索报告引用的专利文件 | 公布日 (年/月/日) | 同族专利 | 公布日 (年/月/日) |
|----------------|----------------|------------------|----------------|
| CN 103509114 A | 2014年 1月 15日 | JP 6085148 B2 | 2017年 2月 22日 |
| | | US 8168427 B2 | 2012年 5月 1日 |
| | | JP 6261650 B2 | 2018年 1月 17日 |
| | | AU 2006316767 A1 | 2007年 5月 31日 |
| | | PL 2325210 T3 | 2018年 12月 31日 |
| | | MX 339682 B | 2016年 6月 6日 |
| | | HR P20151136 T1 | 2016年 1月 1日 |
| | | ES 2550027 T3 | 2015年 11月 4日 |
| | | DK 2311878 T3 | 2016年 1月 4日 |
| | | SI 2311879 T1 | 2017年 10月 30日 |
| | | PT 2311878 E | 2016年 1月 26日 |
| | | CA 2886580 A1 | 2007年 5月 31日 |
| | | US 2012195830 A1 | 2012年 8月 2日 |
| | | PT 1948693 E | 2013年 6月 5日 |
| | | RS 56327 B1 | 2017年 12月 29日 |
| | | CN 103509110 B | 2015年 12月 9日 |
| | | HU E041538 T2 | 2019年 5月 28日 |
| | | CY 1114050 T1 | 2016年 7月 27日 |
| | | KR 101921287 B1 | 2018年 11月 22日 |
| | | KR 101463585 B1 | 2014年 11月 21日 |
| | | DK 2311879 T3 | 2017年 9月 11日 |
| | | EP 2325210 A1 | 2011年 5月 25日 |
| | | AU 2006316767 B8 | 2012年 5月 24日 |
| | | US 9499609 B2 | 2016年 11月 22日 |
| | | KR 20200039015 A | 2020年 4月 14日 |
| | | EP 3656793 A1 | 2020年 5月 27日 |
| | | US 10738108 B2 | 2020年 8月 11日 |
| | | US 9751934 B2 | 2017年 9月 5日 |
| | | BR PI0618920 A2 | 2011年 9月 27日 |
| | | HU E048404 T2 | 2020年 7月 28日 |
| | | DK 3312197 T3 | 2019年 11月 11日 |
| | | CN 103509110 A | 2014年 1月 15日 |
| | | LT 3312197 T | 2019年 11月 11日 |
| | | PL 2311877 T3 | 2016年 1月 29日 |
| | | KR 20180126091 A | 2018年 11月 26日 |
| | | HR P20181565 T1 | 2018年 12月 14日 |
| | | LT 2325210 T | 2018年 11月 12日 |
| | | EP 2311879 B1 | 2017年 6月 21日 |
| | | EP 3312197 A1 | 2018年 4月 25日 |
| | | CA 2628126 A1 | 2007年 5月 31日 |
| | | US 2009169547 A1 | 2009年 7月 2日 |
| | | HK 1119721 A1 | 2009年 3月 13日 |
| | | AU 2006316767 B9 | 2014年 2月 13日 |
| | | SI 3312197 T1 | 2019年 12月 31日 |
| | | CY 1116964 T1 | 2017年 4月 5日 |
| | | PL 2311878 T3 | 2016年 2月 29日 |
| | | SI EP2311877 T1 | 2015年 12月 31日 |
| | | WO 2007059997 A1 | 2007年 5月 31日 |
| | | ES 2407819 T3 | 2013年 6月 14日 |
| | | EP 1948693 B1 | 2013年 3月 20日 |

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2021/096205

| 检索报告引用的专利文件 | | | 公布日 (年/月/日) | 同族专利 | | | 公布日 (年/月/日) |
|-------------|-----------|---|----------------|------|--------------|----|----------------|
| CN | 109762067 | A | 2019年 5月 17日 | CN | 112399974 | A | 2021年 2月 23日 |
| | | | | EP | 3683239 | A1 | 2020年 7月 22日 |
| | | | | JP | 2021509889 | A | 2021年 4月 8日 |
| | | | | WO | 2020147321 | A1 | 2020年 7月 23日 |
| | | | | CA | 3104383 | A1 | 2020年 7月 23日 |
| | | | | US | 10421817 | B1 | 2019年 9月 24日 |
| | | | | CN | 109762067 | B | 2020年 2月 28日 |
| | | | | AU | 2019422603 | A1 | 2021年 1月 7日 |
| <hr/> | | | | | | | |
| CN | 108047331 | A | 2018年 5月 18日 | EP | 2847225 | B1 | 2019年 11月 27日 |
| | | | | WO | 2013167259 | A1 | 2013年 11月 14日 |
| | | | | PT | 2847225 | T | 2020年 1月 16日 |
| | | | | US | 2018319891 | A1 | 2018年 11月 8日 |
| | | | | DK | 2847225 | T3 | 2020年 1月 20日 |
| | | | | HU | E049171 | T2 | 2020年 9月 28日 |
| | | | | NZ | 718280 | A | 2018年 4月 27日 |
| | | | | SI | 2847225 | T1 | 2020年 3月 31日 |
| | | | | US | 9512232 | B2 | 2016年 12月 6日 |
| | | | | AU | 2013258432 | B2 | 2017年 6月 1日 |
| | | | | UA | 116445 | C2 | 2018年 3月 26日 |
| | | | | JP | 2018052934 | A | 2018年 4月 5日 |
| | | | | AU | 2019222874 | A1 | 2019年 9月 19日 |
| | | | | BR | 112014026755 | B1 | 2020年 6月 16日 |
| | | | | AR | 090973 | A1 | 2014年 12月 17日 |
| | | | | IL | 235261 | D0 | 2014年 12月 31日 |
| | | | | AU | 2017216513 | B2 | 2019年 5月 30日 |
| | | | | EP | 2847225 | A1 | 2015年 3月 18日 |
| | | | | ZA | 201407336 | B | 2016年 7月 27日 |
| | | | | WO | 2013167153 | A1 | 2013年 11月 14日 |
| | | | | JP | 2015517476 | A | 2015年 6月 22日 |
| | | | | US | 10053512 | B2 | 2018年 8月 21日 |
| | | | | EP | 3666796 | A1 | 2020年 6月 17日 |
| | | | | SG | 11201406472W | A | 2014年 11月 27日 |
| | | | | IL | 235261 | A | 2021年 2月 28日 |
| | | | | ES | 2763965 | T3 | 2020年 6月 1日 |
| | | | | NZ | 700823 | A | 2016年 7月 29日 |
| | | | | RU | 2661772 | C2 | 2018年 7月 19日 |
| | | | | HR | P20192347 | T1 | 2020年 4月 3日 |
| | | | | MX | 2014013542 | A | 2015年 5月 8日 |
| | | | | US | 2015147763 | A1 | 2015年 5月 28日 |
| | | | | AU | 2017216513 | A1 | 2017年 8月 31日 |
| | | | | US | 2016333109 | A1 | 2016年 11月 17日 |
| | | | | LT | 2847225 | T | 2020年 5月 11日 |
| | | | | RS | 59868 | B1 | 2020年 3月 31日 |
| | | | | HK | 1202557 | A1 | 2015年 10月 2日 |
| | | | | PL | 2847225 | T3 | 2020年 5月 18日 |
| | | | | BR | 112014026755 | A2 | 2017年 7月 11日 |
| | | | | JP | 6232646 | B2 | 2017年 11月 22日 |
| | | | | JP | 2019172675 | A | 2019年 10月 10日 |
| | | | | SG | 10201606048P | A | 2016年 9月 29日 |
| | | | | MX | 369740 | B | 2019年 11月 20日 |

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2021/096205

| 检索报告引用的专利文件 | | | 公布日 (年/月/日) | 同族专利 | 公布日 (年/月/日) |
|-------------|------------|----|----------------|-----------------|------------------|
| | | | | AU 2013258432 | A1 2014年 10月 30日 |
| | | | | KR 20150008095 | A 2015年 1月 21日 |
| | | | | BR 112014026755 | B8 2020年 7月 7日 |
| | | | | CN 104321345 | B 2018年 3月 30日 |
| | | | | CA 2869725 | A1 2013年 11月 14日 |
| | | | | RU 2014149332 | A 2016年 6月 27日 |
| | | | | JP 6514294 | B2 2019年 5月 15日 |
| ----- | | | | | |
| CN | 110606891 | A | 2019年 12月 24日 | 无 | |
| ----- | | | | | |
| WO | 2014146672 | A1 | 2014年 9月 25日 | JP 2016517447 | A 2016年 6月 16日 |
| | | | | JP 2018184403 | A 2018年 11月 22日 |
| | | | | AU 2014234684 | A1 2015年 8月 20日 |
| | | | | SG 11201507764Q | A 2015年 10月 29日 |
| | | | | HU E048541 | T2 2020年 7月 28日 |
| | | | | UA 119036 | C2 2019年 4月 25日 |
| | | | | DK 2976360 | T3 2020年 1月 27日 |
| | | | | AU 2019201513 | B2 2020年 8月 13日 |
| | | | | JP 6416197 | B2 2018年 10月 31日 |
| | | | | IL 240060 | A 2015年 9月 24日 |
| | | | | AU 2020210165 | A1 2020年 8月 13日 |
| | | | | US 2019076525 | A1 2019年 3月 14日 |
| | | | | BR 112015023910 | B1 2019年 9月 10日 |
| | | | | RU 2015144666 | A3 2018年 3月 26日 |
| | | | | ES 2765949 | T8 2020年 6月 23日 |
| | | | | AU 2019201513 | A1 2019年 3月 28日 |
| | | | | WO 2014146778 | A1 2014年 9月 25日 |
| | | | | RU 2678700 | C2 2019年 1月 31日 |
| | | | | IL 240060 | D0 2015年 9月 24日 |
| | | | | RU 2015144666 | A 2017年 4月 21日 |
| | | | | AU 2014234684 | B2 2018年 12月 6日 |
| | | | | JP 2020143153 | A 2020年 9月 10日 |
| | | | | CA 2899770 | A1 2014年 9月 25日 |
| | | | | US 2016008465 | A1 2016年 1月 14日 |
| | | | | RU 2019101923 | A 2019年 2月 22日 |
| | | | | CN 105189554 | A 2015年 12月 23日 |
| | | | | US 10137195 | B2 2018年 11月 27日 |
| | | | | PT 2976360 | T 2020年 1月 22日 |
| | | | | KR 20150130318 | A 2015年 11月 23日 |
| | | | | BR 112015023910 | A2 2017年 3月 21日 |
| | | | | HK 1219486 | A1 2017年 4月 7日 |
| | | | | SG 10201707684W | A 2017年 11月 29日 |
| | | | | ES 2765949 | T3 2020年 6月 11日 |
| | | | | MX 2015013355 | A 2016年 6月 24日 |
| ----- | | | | | |