

EXHIBIT 2

(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
2025 年 8 月 7 日 (07.08.2025)(10) 国际公布号
WO 2025/162477 A1

(51) 国际专利分类号:

A61K 39/00 (2006.01) C07K 16/18 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01) C07K 16/28 (2006.01)
A61K 47/68 (2017.01) C07K 16/30 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) C07K 16/32 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2025/075637

(22) 国际申请日: 2025 年 2 月 3 日 (03.02.2025)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:

202410158274.7 2024年2月4日 (04.02.2024) CN

(71) 申请人: 苏州泽璟生物制药股份有限公司 (SUZHOU ZELGEN BIOPHARMACEUTICALS CO., LTD.) [CN/CN]; 中国江苏省苏州市昆山市玉山镇晨丰路209号 215300 (CN)。上海泽璟医药技术有限公司 (SHANGHAI ZELGEN PHARMA.TECH CO., LTD.) [CN/CN]; 中国上海市浦东新区张江科学城蔡伦路999号3号楼 201203 (CN)。璟尚生物制药公司 (GENSUN BIOPHARMA, INC.) [US/US]; 美国加利福尼亚州美国加利福尼亚州 91320 (US)。

(72) 发明人: 林峰 (LIN, Feng); 中国江苏省苏州市昆山市玉山镇晨丰路209号 215300 (CN)。盛泽琪 (SHENG, Zeqi); 中国江苏省苏州市昆山市玉山镇晨丰路209号 215300 (CN)。代同成 (DAI, Tongcheng); 中国上海市浦东新区张江科学城蔡伦路999号3号楼 201203 (CN)。吕彬华 (LV, Binhua); 中国上海市浦东新区张江科学城蔡

伦路999号3号楼 201203 (CN)。闫树德 (YAN, Shude); 中国江苏省苏州市昆山市玉山镇晨丰路209号 215300 (CN)。丽班泰勒 (LIBAN, Tyler); 中国江苏省苏州市昆山市玉山镇晨丰路209号 215300 (CN)。张滨 (ZHANG, Bin); 中国江苏省苏州市昆山市玉山镇晨丰路209号 215300 (CN)。盛泽林 (SHENG, Zelin); 中国江苏省苏州市昆山市玉山镇晨丰路209号 215300 (CN)。

(74) 代理人: 上海一平知识产权代理有限公司 (XU & PARTNERS, LLC.); 中国上海市普陀区真北路958号天地科技广场1号楼106室 200333 (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, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, 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, UY, 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, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, 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, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF,

(54) Title: MULTISPECIFIC ANTIBODY CONTAINING LRRC15 ANTIGEN-BINDING DOMAIN

(54) 发明名称: 包含LRRC15抗原结合结构域的多特异性抗体

(57) Abstract: The present invention relates to a multispecific antibody containing an LRRC15 antigen-binding domain and the use thereof. Particularly, provided in the present invention is a multispecific antibody, which contains a first targeting domain that targets to a leucine-rich repeat containing 15 (LRRC15) molecule highly expressed on the surface of a tumor cell, also contains a second targeting domain that binds to a CD40 molecule on the surface of an antigen presenting cell (APC) or a CD3 molecule on the surface of a T cell, and optionally, contains a third targeting domain that targets to PD-1, CLDN18.2 or FAP, and/or a fourth targeting domain that targets to TGF- β . The LRRC15-related multispecific antibody of the present invention can effectively activate T cells and reduce tumor stroma impact, thereby providing effective treatment for tumors and fibrotic diseases.

(57) 摘要: 本发明涉及一种包含LRRC15抗原结合结构域的多特异性抗体及其应用。具体地, 本发明提供了一种多特异性抗体, 其包含靶向肿瘤细胞表面高表达的富含亮氨酸重复序列15(LRRC15)分子的第一靶向结构域, 同时还包含结合抗原呈递细胞(APC)表面的CD40分子或T细胞表面的CD3分子的第二靶向结构域, 任选地, 包含靶向PD-1、CLDN18.2或FAP的第三靶向结构域, 和/或靶向TGF- β 的第四靶向结构域。本发明的LRRC15相关多特异性抗体, 可以有效激活T细胞并降低肿瘤的基质影响, 可为肿瘤以及纤维化疾病提供有效治疗。

WO 2025/162477 A1

WO 2025/162477 A1

CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN,
TD, TG)。

根据细则4.17的声明:

- 关于申请人有权要求在先申请的优先权(细则4.17(iii))

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))。

说明书

发明名称: 包含LRRC15抗原结合结构域的多特异性抗体 技术领域

[0001] 本发明涉及癌症治疗领域,更具体地,涉及用于治疗癌症的包含抗LRRC15抗体或其免疫反应性片段的多特异性抗体。

背景技术

[0002] 癌症通常被定义为一组涉及异常细胞生长的疾病,其具有侵入或扩散到身体其他部位的潜力。常规的癌症治疗旨在去除癌组织并防止其扩散。此类治疗选择包括手术、化学疗法、放射疗法、激素疗法、靶向疗法和姑息治疗。通常根据癌症的类型、位置和等级以及患者的健康和偏好进行治疗。但这些疗法有局限性,因为它们可能无效,特别是当癌症已经转移时。此外,化学疗法和放射疗法具有一系列与细胞毒性相关的副作用。

[0003] 目前癌症治疗有前景的领域包括使用抗体的靶向治疗。另一个有前景的领域是开发利用免疫系统攻击和杀死肿瘤细胞的治疗方法。

[0004] 富含亮氨酸重复序列15(Leucine-rich repeat containing,LRRC15)是LRR(富含亮氨酸重复序列)超家族的成员。LRRC15在包括乳腺癌,脑肿瘤,胰腺癌,肺癌,黑色素瘤,高侵袭性肉瘤,乳腺癌骨转移等肿瘤细胞上选择性高表达而在正常组织中的表达水平相对较低。另外,它在许多实体瘤(例如,乳腺、头颈、肺、胰腺)的基质成纤维细胞上也高水平表达。因此,LRRC15是靶向治疗例如抗体药物偶联物、T细胞接合剂和CAR-T细胞的候选者。

[0005] CD40和CD40L是连接先天免疫和适应性免疫的共刺激分子。抗原呈递细胞(APC)上的CD40与主要由活化的T细胞表达的CD40配体(CD40L)结合,可以诱导APC活化。反过来,APC会引发细胞毒性T淋巴细胞(CTL)。CD40和CD40L是连接先天免疫和适应性免疫的共刺激分子。CD40抗体可以更高的亲和力结合并激活CD40信号通路,从而激活免疫系统。

[0006] 紧密连接蛋白Claudin是一类整合素四次跨膜蛋白,存在于上皮和内皮细胞上。Claudin 18.2是Claudin18的一种亚型,在正常组织中鲜有表达,但在胃癌/胃食管

结合部(GC/GEJ)癌、乳腺癌、结肠癌、头颈癌、支气管癌和非小细胞肺癌等多种原发性恶性肿瘤的发生发展过程中异常表达。目前，安斯泰来的Claduin18.2单抗已经完成三期临床并取得了较好的效果，有望成为首个该靶点的上市药物。

[0007] PD-1/PD-L1是肿瘤免疫(IO)治疗中的重要靶点。由于PD-L1在多数肿瘤中高表达，而PD-L1和T细胞表面的PD-1结合会向T细胞传递抑制性信号。所以阻断PD-1/PD-L1可以有效激活T细胞对肿瘤细胞的杀伤。自2014年首款PD-1抗体纳武尤利单抗(Nivolumab)上市后，多款PD1/PD-L1单抗已经取得了良好的临床治疗效果。

[0008] 成纤维细胞激活蛋白(Fibroblast activation protein α , FAP)是一种II型跨膜丝氨酸蛋白酶，大多数组织中表达量较低，但在肿瘤中如胰腺癌，乳腺癌等则具有较高的表达，此外，和LRRC15类似，在大多数上皮癌中，FAP主要表达于间质中的癌相关成纤维细胞(CAF)上。FAP本身能通过多种机制影响肿瘤生长，包括促进肿瘤增殖，迁移和促进血管生成等。因此，靶向FAP治疗的药物可以有效的针对肿瘤及其纤维化细胞达到治疗的目的。

[0009] 转化生长因子 β (TGF- β)是属于转化生长因子超家族的多功能细胞因子，它的关键功能是调节炎症过程，在干细胞分化以及T细胞调节和分化中也起重要作用。TGF- β 信号传导的失调会破坏免疫耐受，促进炎症，纤维化，癌症和自身免疫疾病的产生。TGF- β 受体 II 可以结合并捕获TGF- β 分子，来阻断TGF- β 的型号从而阻止其在肿瘤微环境中对免疫细胞的抑制作用。将TGF- β 受体 II 与LRRC15或FAP等抗体组合的多特异性抗体，有希望能治疗肿瘤及肿瘤纤维化等疾病。

[0010] 尽管已经批准了越来越多的用于治疗多种癌症的治疗性单克隆抗体，但是鉴于癌症生长和向转移发展具有许多不同分子途径，因此经常观察到这些抗体出现耐药性。尽管免疫系统是预防癌症的主要机制，但是癌细胞对抗免疫监视。因此，本领域迫切需要改进的治疗结合拮抗剂或抗体以及用这些试剂治疗癌症的方法。

发明内容

WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

- [0011] 本发明提供了包含LRRC15抗原结合结构域的双/三特异性抗体。还提供了使用本发明的抗体和抗体偶联物、其药物组合物和制品治疗疾病例如癌症的方法。
- [0012] 本发明的第一方面，提供了一种多特异性抗体，所述多特异性抗体包含：
- [0013] 第一靶向结构域，所述第一靶向结构域包含一个或多个LRRC15抗原结合结构域；
- [0014] 第二靶向结构域，所述第二靶向结构域包含一个或多个CD40抗原结合结构域，或一个或多个CD3抗原结合结构域；
- [0015] 任选地，包含第三靶向结构域，所述第三靶向结构域与选自下组的靶蛋白结合：PD-1、Claudin18.2(CLDN18.2)、FAP；和/或第四靶向结构域，所述第四靶向结构域与TGF- β 结合。
- [0016] 在另一优选例中，所述靶向结构域为单链Fv(scFv)、Fab片段、单域抗体(sdAb)、片段可变(Fv)异二聚体、TriFab或其组合的形式。
- [0017] 在另一优选例中，所述LRRC15抗原结合结构域包含选自下组的三个重链可变区CDR(HCDR)，以及三个轻链可变区CDR(LCDR)：

抗体名称	HCDR1的序列编号	HCDR2的序列编号	HCDR3的序列编号	LCDR1的序列编号	LCDR2的序列编号	LCDR3的序列编号
L15-06/ L15-06C	33	34	35	45	46	47
L15-08	36	37	38	45	48	49
L15-03	39	40	41	50	51	52
L15-07	42	43	44	50	51	53

- [0018] 在另一优选例中，所述LRRC15抗原结合结构域包含如下三个重链可变区CDR：
- [0019] HCDR1，其具有如SEQ ID NO:33所示的氨基酸序列；
- [0020] HCDR2，其具有如SEQ ID NO:34所示的氨基酸序列；和
- [0021] HCDR3，其具有如SEQ ID NO:35所示的氨基酸序列；
- [0022] 以及，如下三个轻链可变区CDR：
- [0023] LCDR1，其具有如SEQ ID NO:45所示的氨基酸序列；
- [0024] LCDR2，其具有如SEQ ID NO:46所示的氨基酸序列；和

WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

- [0025] LCDR3, 其具有如SEQ ID NO:47所示的氨基酸序列。
- [0026] 在另一优选例中, 所述LRRC15抗原结合结构域包含与如SEQ ID NO:1、2、3、4或5所示的氨基酸序列具有至少80%的序列同一性的重链可变区。
- [0027] 在另一优选例中, 所述LRRC15抗原结合结构域包含与如SEQ ID NO:6、7、8、9或10所示的氨基酸序列具有至少80%的序列同一性的轻链可变区。
- [0028] 在另一优选例中, 所述LRRC15抗原结合结构域包含如SEQ ID NO:1所示的重链可变区, 和如SEQ ID NO:6所示的轻链可变区。
- [0029] 在另一优选例中, 所述LRRC15抗原结合结构域包含如SEQ ID NO:2所示的重链可变区, 和如SEQ ID NO:7所示的轻链可变区。
- [0030] 在另一优选例中, 所述LRRC15抗原结合结构域包含如SEQ ID NO:3所示的重链可变区, 和如SEQ ID NO:8所示的轻链可变区。
- [0031] 在另一优选例中, 所述LRRC15抗原结合结构域包含如SEQ ID NO:4所示的重链可变区, 和如SEQ ID NO:9所示的轻链可变区。
- [0032] 在另一优选例中, 所述LRRC15抗原结合结构域包含如SEQ ID NO:5所示的重链可变区, 和如SEQ ID NO:10所示的轻链可变区。
- [0033] 在另一优选例中, 所述LRRC15抗原结合结构域选自下组: scFv、Fab、或其组合。
- [0034] 在另一优选例中, 所述LRRC15抗原结合结构域为scFv。
- [0035] 在另一优选例中, 所述LRRC15抗原结合结构域为Fab, 其包含如SEQ ID NO:1、2、3、4或5所示的重链可变区, 和如SEQ ID NO:6、7、8、9或10所示的轻链可变区; 以及
- [0036] 如SEQ ID NO:55、56或64所示的重链恒定区CH1, 和如SEQ ID NO:66、67或68所示的轻链恒定区CL。
- [0037] 在另一优选例中, 所述多特异性抗体还包含Fc片段。
- [0038] 在另一优选例中, 所述Fc片段来源于IgG1或IgG4。
- [0039] 在另一优选例中, 所述Fc片段为来源于IgG1的Fc片段, 其具有如SEQ ID NO:57或58所示的氨基酸序列。
- [0040] 在另一优选例中, 所述来源于IgG1的Fc片段具有选自下组的突变:

WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

- [0041] N297A,
- [0042] L234F/L235E/P331S,
- [0043] L234A/L235A/P329G
- [0044] Y349C/K370E/K409D/K439E,
- [0045] S354C/D356K/E357K/D399K,
- [0046] S354C/T366W,
- [0047] Y349C/T366S/L368A/Y407V,
- [0048] L234F/L235E/P331S/Y349C/K370E/K409D/K439E,
- [0049] L234F/L235E/P331S/S354C/D356K/E357K/D399K,
- [0050] L234F/L235E/P331S/S354C/T366W,
- [0051] L234F/L235E/P331S/Y349C/T366S/L368A/Y407V,
- [0052] L234A/L235A/P329G/Y349C/K370E/K409D/K439E,
- [0053] L234A/L235A/P329G/S354C/D356K/E357K/D399K,
- [0054] L234A/L235A/P329G/S354C/T366W,
- [0055] L234A/L235A/P329G/Y349C/T366S/L368A/Y407V,
- [0056] L234F/L235E/P331S/S354C/T366W,
- [0057] L234F/L235E/P331S/Y349C/T366S/L368A/Y407V,
- [0058] N297A/Y349C/K370E/K409D/K439E,
- [0059] N297A/S354C/D356K/E357K/D399K,
- [0060] N297A/S354C/T366W,
- [0061] N297A/Y349C/T366S/L368A/Y407V;
- [0062] C220S/L234A/L235A/P329G/S354C/D356K/E357K/D399K,
- [0063] C220S/L234A/L235A/P329G/Y349C/K370E/K409D/K439E; 和/或
- [0064] S267E,
- [0065] S267E/G236D,
- [0066] S267E/S239D,
- [0067] S267E/L328F。

WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

- [0068] 在另一优选例中，所述Fc片段具有如SEQ ID NO:59-62中任一项所示的氨基酸序列，或如SEQ ID NO:96-98中任一项所示的氨基酸序列。
- [0069] 在另一优选例中，所述Fc片段为来源于IgG4的Fc片段，其具有如SEQ ID NO:65所示的氨基酸序列。
- [0070] 在另一优选例中，所述来源于IgG4的Fc片段具有选自下组的突变：
- [0071] Y349C/K370E/R409D/K439E，
- [0072] S354C/E356K/E357K/D399K，
- [0073] S354C/T366W，
- [0074] Y349C/T366S/L368A/Y407V；和/或
- [0075] S228P/S267E，
- [0076] S228P/S267E/G236D，
- [0077] S228P/S267E/S239D，
- [0078] S228P/S267E/L328F。
- [0079] 在另一优选例中，所述多特异性抗体为双特异性、三特异性或四特异性抗体。
- [0080] 在另一优选例中，所述多特异性抗体为双特异性抗体。
- [0081] 在另一优选例中，所述双特异性抗体包含：
- [0082] 第一靶向结构域，所述第一靶向结构域包含一个或多个LRRC15抗原结合结构域；和第二靶向结构域，所述第二靶向结构域包含一个或多个CD40抗原结合结构域。
- [0083] 在另一优选例中，所述双特异性抗体包含：
- [0084] 第一靶向结构域，所述第一靶向结构域包含一个或多个LRRC15抗原结合结构域；和第二靶向结构域，所述第二靶向结构域包含一个或多个CD3抗原结合结构域。
- [0085] 在另一优选例中，所述多特异性抗体为三特异性抗体。
- [0086] 在另一优选例中，所述三特异性抗体包含：
- [0087] 第一靶向结构域，所述第一靶向结构域包含一个或多个LRRC15抗原结合结构域；

WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

- [0088] 第二靶向结构域，所述第二靶向结构域包含一个或多个CD40抗原结合结构域；和
- [0089] 第三靶向结构域，所述第三靶向结构域为PD-1抗原结合结构域。
- [0090] 在另一优选例中，所述三特异性抗体包含：
- [0091] 第一靶向结构域，所述第一靶向结构域包含一个或多个LRRC15抗原结合结构域；
- [0092] 第二靶向结构域，所述第二靶向结构域包含一个或多个CD40抗原结合结构域；和
- [0093] 第三靶向结构域，所述第三靶向结构域为Claudin18.2抗原结合结构域。
- [0094] 在另一优选例中，所述三特异性抗体包含：
- [0095] 第一靶向结构域，所述第一靶向结构域包含一个或多个LRRC15抗原结合结构域；
- [0096] 第二靶向结构域，所述第二靶向结构域包含一个或多个CD3抗原结合结构域；和
- [0097] 第三靶向结构域，所述第三靶向结构域为FAP抗原结合结构域。
- [0098] 在另一优选例中，所述抗体为四特异性抗体。
- [0099] 在另一优选例中，所述四特异性抗体包含：
- [0100] 第一靶向结构域，所述第一靶向结构域包含一个或多个LRRC15抗原结合结构域；
- [0101] 第二靶向结构域，所述第二靶向结构域包含一个或多个CD3抗原结合结构域；
- [0102] 第三靶向结构域，所述第三靶向结构域为FAP抗原结合结构域；和
- [0103] 第四靶向结构域，所述第四靶向结构域为TGF- β 抗原结合结构域。
- [0104] 在另一优选例中，所述CD40抗原结合结构域包含与如SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列具有至少80%的序列同一性的重链可变区，和与如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列具有至少80%的序列同一性的轻链可变区。
- [0105] 在另一优选例中，所述CD40抗原结合结构域包含如SEQ ID NO:13-23，114-116中任一项所示的氨基酸序列的重链可变区，和如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列的轻链可变区。

WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

- [0106] 在另一优选例中，所述CD40抗原结合结构域包含如SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列的重链可变区，和如SEQ ID NO:24-26中任一项所示的氨基酸序列的轻链可变区。
- [0107] 在另一优选例中，所述CD40抗原结合结构域包含如SEQ ID NO:15所示的氨基酸序列的重链可变区，和如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列的轻链可变区。
- [0108] 在另一优选例中，所述CD40抗原结合结构域包含与如SEQ ID NO:27所示的氨基酸序列的重链可变区，和与如SEQ ID NO:28所示的氨基酸序列具有至少80%的序列同一性的轻链可变区。
- [0109] 在另一优选例中，所述CD40抗原结合结构域选自下组：scFv、Fab、或其组合。
- [0110] 在另一优选例中，所述CD3抗原结合结构域包含与如SEQ ID NO:82-84，117任一项所示的氨基酸序列具有至少80%的序列同一性的重链可变区，和与如SEQ ID NO:85所示的氨基酸序列具有至少80%的序列同一性的轻链可变区。
- [0111] 在另一优选例中，所述CD3抗原结合结构域选自下组：scFv、Fab、或其组合。
- [0112] 在另一优选例中，所述PD-1抗原结合结构域包含与如SEQ ID NO:29所示的氨基酸序列具有至少80%的序列同一性的重链可变区，和与如SEQ ID NO:30所示的氨基酸序列具有至少80%的序列同一性的轻链可变区。
- [0113] 在另一优选例中，所述PD-1抗原结合结构域选自下组：scFv、Fab、或其组合。
- [0114] 在另一优选例中，所述Claudin18.2抗原结合结构域包含与如SEQ ID NO:31所示的氨基酸序列具有至少80%的序列同一性的重链可变区，和与如SEQ ID NO:32所示的氨基酸序列具有至少80%的序列同一性的轻链可变区。
- [0115] 在另一优选例中，所述Claudin18.2抗原结合结构域选自下组：scFv、Fab、或其组合。
- [0116] 在另一优选例中，所述FAP抗原结合结构域包含与如SEQ ID NO:86所示的氨基酸序列具有至少80%的序列同一性的重链可变区，和与如SEQ ID NO:87所示的氨基酸序列具有至少80%的序列同一性的轻链可变区；或与如SEQ ID NO:88所示的氨基酸序列具有至少80%的序列同一性的重链可变区，和与如SEQ ID NO:89所示的氨基酸序列具有至少80%的序列同一性的轻链可变区。

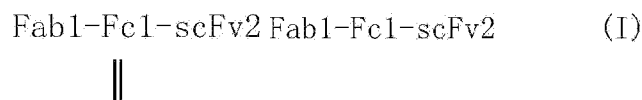
9所示的氨基酸序列具有至少80%的序列同一性的轻链可变区；或与如SEQ ID NO:90所示的氨基酸序列具有至少80%的序列同一性的重链可变区，和与如SEQ ID NO:91所示的氨基酸序列具有至少80%的序列同一性的轻链可变区；或与如SEQ ID NO:92所示的氨基酸序列具有至少80%的序列同一性的重链可变区，和与如SEQ ID NO:93所示的氨基酸序列具有至少80%的序列同一性的轻链可变区。

[0117] 在另一优选例中，所述FAP抗原结合结构域选自下组：scFv、Fab、或其组合。

[0118] 在另一优选例中，所述TGF- β 抗原结合结构域为TGF- β 的受体：TGF- β RI。

[0119] 在另一优选例中，所述TGF- β 抗原结合结构域包含与如SEQ ID NO:94或95所示的氨基酸序列具有至少80%的序列同一性的氨基酸序列。

[0120] 在另一优选例中，所述多特异性抗体具有如下式I所示的结构(图1中a)：



[0121] 式中，“-”各自独立地为肽键或连接肽；“ $\parallel$ ”为肽链之间的连接键；

[0122] Fab1为第一靶向结构域，所述Fab1为抗LRRC15 Fab；

[0123] scFv2为第二靶向结构域，所述scFv2为抗CD40 scFv；

[0124] Fc1为Fc片段。

[0125] 在另一优选例中，所述“ $\parallel$ ”为二硫键。

[0126] 在另一优选例中，所述抗LRRC15 Fab包含如SEQ ID NO:1、2、3、4或5所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:6、7、8、9或10所示的轻链可变区。

[0127] 在另一优选例中，所述LRRC15 Fab包含如SEQ ID NO:1所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:5所示的轻链可变区。

[0128] 在另一优选例中，所述抗CD40 scFv包含如SEQ ID NO:11，13-23，114-116中任一项所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:12，24-26中任一项所示的轻链可变区；或者

[0129] 如SEQ ID NO:27所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:28所示的轻链可变区。

[0130] 在另一优选例中，所述抗CD40 scFv包含如SEQ ID NO:15所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:12所示的轻链可变区。

WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

- [0131] 在另一优选例中，所述抗CD40 scFv包含如SEQ ID NO:11所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:12所示的轻链可变区。
- [0132] 在另一优选例中，所述抗CD40 scFv包含如SEQ ID NO:19所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:12所示的轻链可变区。
- [0133] 在另一优选例中，所述抗CD40 scFv包含如SEQ ID NO:115所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:12所示的轻链可变区。
- [0134] 在另一优选例中，所述Fc片段来源于IgG1或IgG4
- [0135] 在另一优选例中，所述Fc片段来源于IgG1。
- [0136] 在另一优选例中，所述Fc片段具有如SEQ ID NO:59所示的氨基酸序列。
- [0137] 在另一优选例中，所述“Fab1-Fc1-scFv2”中的“HC1(重链)-Fc1-scFv2”氨基酸序列如SEQ ID NO:69所示，“LC1(轻链)”的氨基酸序列如SEQ ID NO:70所示。
- [0138] 在另一优选例中，所述“Fab1-Fc1-scFv1”中的“HC1(重链)-Fc1-scFv1”氨基酸序列如SEQ ID NO:71所示，“LC1(轻链)”的氨基酸序列如SEQ ID NO:70所示。
- [0139] 在另一优选例中，所述“Fab1-Fc1-scFv1”中的“HC1(重链)-Fc1-scFv1”氨基酸序列如SEQ ID NO:118所示，“LC1(轻链)”的氨基酸序列如SEQ ID NO:70所示。
- [0140] 在另一优选例中，所述“Fab1-Fc1-scFv1”中的“HC1(重链)-Fc1-scFv1”氨基酸序列如SEQ ID NO:119所示，“LC1(轻链)”的氨基酸序列如SEQ ID NO:70所示。
- [0141] 在另一优选例中，所述多特异性抗体具有如下式II所示的结构(图1中b)：
- $$\begin{array}{c} \text{Fab2-Fc1-scFv1} \\ \parallel \\ \text{Fab2-Fc1-scFv1} \end{array} \quad (\text{II})$$
- [0142] 式中，“-”各自独立地为肽键或连接肽；“||”为肽链之间的连接键；
- [0143] scFv1为第一靶向结构域，所述scFv1为抗LRRC15 scFv；
- [0144] Fab2为第二靶向结构域，所述Fab2为抗CD40 Fab；

WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

- [0145] Fc1为Fc片段。
- [0146] 在另一优选例中，所述“||”为二硫键。
- [0147] 在另一优选例中，所述抗LRRC15 scFv包含如SEQ ID NO:1、2、3、4或5所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:6、7、8、9或10所示的轻链可变区。
- [0148] 在另一优选例中，所述LRRC15 scFv包含如SEQ ID NO:5所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:10所示的轻链可变区。
- [0149] 在另一优选例中，所述抗CD40 Fab包含如SEQ ID NO:11，13–23，114–116中任一项所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:12，24–26中任一项所示的轻链可变区；或者
- [0150] 如SEQ ID NO:27所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:28所示的轻链可变区。
- [0151] 在另一优选例中，所述抗CD40 Fab包含如SEQ ID NO:27所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:28所示的轻链可变区。
- [0152] 在另一优选例中，所述Fc片段来源于IgG1或IgG4
- [0153] 在另一优选例中，所述Fc片段来源于IgG1。
- [0154] 在另一优选例中，所述在另一优选例中，所述Fc片段具有如SEQ ID NO:59所示的氨基酸序列。
- [0155] 在另一优选例中，所述“Fab2–Fc1–scFv1”中的“HC2(重链)–Fc1–scFv1”氨基酸序列如SEQ ID NO:72所示，“LC2(轻链)”的氨基酸序列如SEQ ID NO:73所示。
- [0156] 在另一优选例中，所述多特异性抗体具有如下式III所示的结构(图1中c)：
- $$\begin{array}{c} \text{Fab1–Fc2–scFv2 Fab3–Fc3–scFv2} \\ \parallel \end{array} \quad (\text{III})$$
- [0157] 式中，“–”各自独立地为肽键或连接肽；“||”为肽链之间的连接键；
- [0158] Fab1为第一靶向结构域，所述Fab1为抗LRRC15 Fab；
- [0159] scFv2为第二靶向结构域，所述scFv2为抗CD40 scFv；
- [0160] Fab3为第三靶向结构域，所述Fab3为抗PD–1Fab或抗CLDN18.2 Fab；
- [0161] Fc2和Fc3为Fc片段。

WO 2025/162477

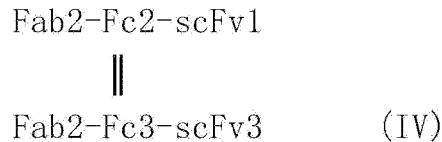
PCT/CN2025/075637

- [0162] 在另一优选例中，所述抗LRRC15 Fab包含如SEQ ID NO:1、2、3、4或5所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:6、7、8、9或10所示的轻链可变区。
- [0163] 在另一优选例中，所述LRRC15 Fab包含如SEQ ID NO:1所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:5所示的轻链可变区。
- [0164] 在另一优选例中，所述抗CD40 scFv包含如SEQ ID NO:11，13-23，114-116中任一项所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:12，24-26中任一项所示的轻链可变区；或者
- [0165] 如SEQ ID NO:27所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:28所示的轻链可变区。
- [0166] 在另一优选例中，所述抗CD40 scFv包含如SEQ ID NO:11所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:12所示的轻链可变区。
- [0167] 在另一优选例中，所述抗PD-1 Fab包含如SEQ ID NO:29所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:30所示的轻链可变区。
- [0168] 在另一优选例中，所述抗CLDN18.2 Fab包含如SEQ ID NO:31所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:32所示的轻链可变区。
- [0169] 在另一优选例中，所述Fc片段来源于IgG1或IgG4
- [0170] 在另一优选例中，所述Fc片段来源于IgG1。
- [0171] 在另一优选例中，所述Fc片段具有如SEQ ID NO:60或62所示的氨基酸序列。
- [0172] 在另一优选例中，所述“Fab1-Fc2-scFv2”中的“HC1(重链)-Fc2-scFv2”氨基酸序列如SEQ ID NO:74所示，“LC1(轻链)”的氨基酸序列如SEQ ID NO:70所示；
- [0173] 所述“Fab3-Fc3-scFv2”中的“HC3(重链)-Fc3-scFv2”氨基酸序列如SEQ ID NO:75所示，“LC3(轻链)”的氨基酸序列如SEQ ID NO:76所示。
- [0174] 在另一优选例中，所述“Fab1-Fc2-scFv2”中的“HC1(重链)-Fc2-scFv2”氨基酸序列如SEQ ID NO:74所示，“LC1(轻链)”的氨基酸序列如SEQ ID NO:70所示；
- [0175] 所述“Fab3-Fc3-scFv2”中的“HC3(重链)-Fc3-scFv2”氨基酸序列如SEQ ID NO:77所示，“LC3(轻链)”的氨基酸序列如SEQ ID NO:78所示。

WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

[0176] 在另一优选例中，所述多特异性抗体具有如下式IV所示的结构(图1中d)：



[0177] 式中，“-”各自独立地为肽键或连接肽；“||”为肽链之间的连接键；

[0178] scFv1为第一靶向结构域，所述scFv1为抗LRRC15 scFv；

[0179] Fab2为第二靶向结构域，所述Fab2为抗CD40 Fab；

[0180] scFv3为第三靶向结构域，所述scFv3为抗PD-1scFv或抗CLDN18.2 scFv；

[0181] Fc2和Fc3为Fc片段。

[0182] 在另一优选例中，所述抗LRRC15 scFv包含如SEQ ID NO:1、2、3、4或5所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:6、7、8、9或10所示的轻链可变区。

[0183] 在另一优选例中，所述LRRC15 scFv包含如SEQ ID NO:5所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:10所示的轻链可变区。

[0184] 在另一优选例中，所述抗CD40 Fab包含如SEQ ID NO:11，13-23，114-116中任一项所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:12，24-26中任一项所示的轻链可变区；或者

[0185] 如SEQ ID NO:27所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:28所示的轻链可变区。

[0186] 在另一优选例中，所述抗CD40 Fab包含如SEQ ID NO:27所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:28所示的轻链可变区。

[0187] 在另一优选例中，所述抗PD-1scFv包含如SEQ ID NO:29所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:30所示的轻链可变区。

[0188] 在另一优选例中，所述抗CLDN18.2 scFv包含如SEQ ID NO:31所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:32所示的轻链可变区。

[0189] 在另一优选例中，所述抗PD-1scFv和抗CLDN18.2 scFv包含VH44和VL100的半胱氨酸(C)突变，用于提高多特异性抗体的稳定性。

[0190] 在另一优选例中，所述Fc片段来源于IgG1或IgG4

[0191] 在另一优选例中，所述Fc片段来源于IgG1。

WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

[0192] 在另一优选例中，所述在另一优选例中，所述Fc片段具有如SEQ ID NO:60或61所示的氨基酸序列。

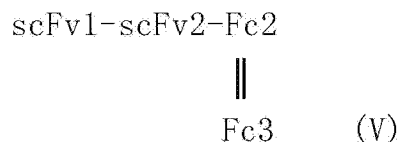
[0193] 在另一优选例中，所述“Fab2-Fc2-scFv1”中的“HC2(重链)-Fc2-scFv1”氨基酸序列如SEQ ID NO:79所示，“LC2(轻链)”的氨基酸序列如SEQ ID NO:73所示；

[0194] 所述“Fab2-Fc3-scFv3”中的“HC2(重链)-Fc3-scFv3”氨基酸序列如SEQ ID NO:80所示，“LC2(轻链)”的氨基酸序列如SEQ ID NO:73所示。

[0195] 在另一优选例中，所述“Fab2-Fc2-scFv1”中的“HC2(重链)-Fc2-scFv1”氨基酸序列如SEQ ID NO:79所示，“LC2(轻链)”的氨基酸序列如SEQ ID NO:73所示；

[0196] 所述“Fab2-Fc3-scFv3”中的“HC2(重链)-Fc3-scFv3”氨基酸序列如SEQ ID NO:81所示，“LC2(轻链)”的氨基酸序列如SEQ ID NO:73所示。

[0197] 在另一优选例中，所述多特异性抗体具有如下式V所示的结构(图2中a)：



[0198] 式中，“-”各自独立地为肽键或连接肽；“||”为肽链之间的连接键；

[0199] scFv1为第一靶向结构域，所述scFv1为抗LRRC15 scFv；

[0200] scFv2为第二靶向结构域，所述scFv2为抗CD3 scFv；

[0201] Fc2和Fc3为Fc片段。

[0202] 在另一优选例中，所述抗LRRC15 scFv包含如SEQ ID NO:1、2、3、4或5所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:6、7、8、9或10所示的轻链可变区。

[0203] 在另一优选例中，所述LRRC15 scFv包含如SEQ ID NO:5所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:10所示的轻链可变区。

[0204] 在另一优选例中，所述抗CD3 scFv包含如SEQ ID NO:82-84，117中任一项所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:85所示的轻链可变区。

[0205] 在另一优选例中，所述抗CD3 scFv包含如SEQ ID NO:83所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:85所示的轻链可变区。

WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

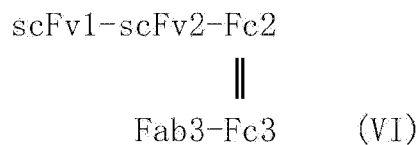
[0206] 在另一优选例中，所述Fc片段来源于IgG1或IgG4

[0207] 在另一优选例中，所述Fc片段来源于IgG1。

[0208] 在另一优选例中，所述在另一优选例中，所述Fc片段具有如SEQ ID NO:97或98所示的氨基酸序列。

[0209] 在另一优选例中，所述“scFv1-scFv2-Fc2”的氨基酸序列如SEQ ID NO:99所示；所述Fc3的氨基酸序列如SEQ ID NO:98所示。

[0210] 在另一优选例中，所述多特异性抗体具有如下式VI所示的结构(图2中b)：



[0211] 式中，“-”各自独立地为肽键或连接肽；“||”为肽链之间的连接键；

[0212] scFv1为第一靶向结构域，所述scFv1为抗LRRC15 scFv；

[0213] scFv2为第二靶向结构域，所述scFv2为抗CD3 scFv；

[0214] Fab3为第三靶向结构域，所述Fab3为抗FAP Fab；

[0215] Fc2和Fc3为Fc片段。

[0216] 在另一优选例中，所述抗LRRC15 scFv包含如SEQ ID NO:1、2、3、4或5所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:6、7、8、9或10所示的轻链可变区。

[0217] 在另一优选例中，所述LRRC15 scFv包含如SEQ ID NO:5所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:10所示的轻链可变区。

[0218] 在另一优选例中，所述抗CD3 scFv包含如SEQ ID NO:82-84，117中任一项所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:85所示的轻链可变区。

[0219] 在另一优选例中，所述抗CD3 scFv包含如SEQ ID NO:83所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:85所示的轻链可变区。

[0220] 在另一优选例中，所述抗FAP Fab包含如SEQ ID NO:86所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:87所示的轻链可变区；或如SEQ ID NO:88所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:89所示的轻链可变区；或如SEQ ID NO:90所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:91所示的轻链可变区；或如SEQ ID NO:92所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:93所示的轻链可变区。

WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

[0221] 在另一优选例中，所述抗FAP Fab包含如SEQ ID NO:86所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:87所示的轻链可变区。

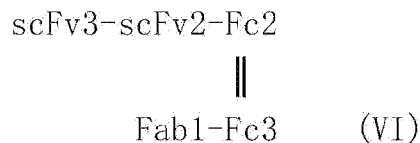
[0222] 在另一优选例中，所述Fc片段来源于IgG1或IgG4

[0223] 在另一优选例中，所述Fc片段来源于IgG1。

[0224] 在另一优选例中，所述在另一优选例中，所述Fc片段具有如SEQ ID NO:96或97所示的氨基酸序列。

[0225] 在另一优选例中，所述“scFv1-scFv2-Fc2”的氨基酸序列如SEQ ID NO:99所示；所述“Fab3-Fc3”中“HC3(重链)-Fc3”的氨基酸序列如SEQ ID NO:100所示，“LC3(轻链)”的氨基酸序列如SEQ ID NO:101所示。

[0226] 在另一优选例中，所述多特异性抗体具有如下式VI所示的结构(图2中c)：



[0227] 式中，“-”各自独立地为肽键或连接肽；“||”为肽链之间的连接键；

[0228] Fab1为第一靶向结构域，所述Fab1为抗LRRC15 Fab；

[0229] scFv2为第二靶向结构域，所述scFv2为抗CD3 scFv；

[0230] scFv3为第三靶向结构域，所述scFv3为抗FAP scFv；

[0231] Fc2和Fc3为Fc片段。

[0232] 在另一优选例中，所述抗LRRC15 Fab包含如SEQ ID NO:1、2、3、4或5所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:6、7、8、9或10所示的轻链可变区。

[0233] 在另一优选例中，所述LRRC15 Fab包含如SEQ ID NO:1所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:6所示的轻链可变区。

[0234] 在另一优选例中，所述抗CD3 scFv包含如SEQ ID NO:82-84，117中任一项所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:85所示的轻链可变区。

[0235] 在另一优选例中，所述抗CD3 scFv包含如SEQ ID NO:83所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:85所示的轻链可变区。

[0236] 在另一优选例中，所述抗FAP scFv包含如SEQ ID NO:86所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:87所示的轻链可变区；或如SEQ ID NO:88所示的重链可变区，和

如SEQ ID NO:89所示的轻链可变区；或如SEQ ID NO:90所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:91所示的轻链可变区；或如SEQ ID NO:92所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:93所示的轻链可变区。

[0237] 在另一优选例中，所述抗FAP scFv包含如SEQ ID NO:86所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:87所示的轻链可变区。

[0238] 在另一优选例中，所述抗FAP scFv包含VH44和VL100的半胱氨酸(C)突变，用于提高多特异性抗体的稳定性。

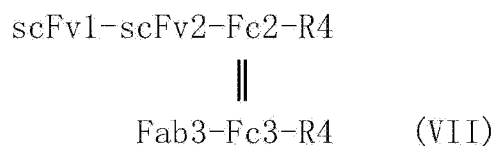
[0239] 在另一优选例中，所述Fc片段来源于IgG1或IgG4

[0240] 在另一优选例中，所述Fc片段来源于IgG1。

[0241] 在另一优选例中，所述在另一优选例中，所述Fc片段具有如SEQ ID NO:96或97所示的氨基酸序列。

[0242] 在另一优选例中，所述“scFv3-scFv2-Fc2”的氨基酸序列如SEQ ID NO:102所示；所述“Fab1-Fc3”中“HC1(重链)-Fc3”的氨基酸序列如SEQ ID NO:103所示，“LC1(轻链)”的氨基酸序列如SEQ ID NO:70所示。

[0243] 在另一优选例中，所述多特异性抗体具有如下式VII所示的结构(图2中d)：



[0244] 式中，“-”各自独立地为肽键或连接肽；“||”为肽链之间的连接键；

[0245] scFv1为第一靶向结构域，所述scFv1为抗LRRC15 scFv；

[0246] scFv2为第二靶向结构域，所述scFv2为抗CD3 scFv；

[0247] Fab3为第三靶向结构域，所述Fab3为抗FAP Fab；

[0248] R4为第四靶向结构域，所述R4为TGF-β RII。

[0249] Fc2和Fc3为Fc片段。

[0250] 在另一优选例中，所述抗LRRC15 scFv包含如SEQ ID NO:1、2、3、4或5所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:6、7、8、9或10所示的轻链可变区。

[0251] 在另一优选例中，所述LRRC15 scFv包含如SEQ ID NO:5所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:10所示的轻链可变区。

WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

[0252] 在另一优选例中，所述抗CD3 scFv包含如SEQ ID NO:82-84，117中任一项所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:85所示的轻链可变区。

[0253] 在另一优选例中，所述抗CD3 scFv包含如SEQ ID NO:83所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:85所示的轻链可变区。

[0254] 在另一优选例中，所述抗FAP Fab包含如SEQ ID NO:86所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:87所示的轻链可变区；或如SEQ ID NO:88所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:89所示的轻链可变区；或如SEQ ID NO:90所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:91所示的轻链可变区；或如SEQ ID NO:92所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:93所示的轻链可变区。

[0255] 在另一优选例中，所述抗FAP Fab包含如SEQ ID NO:86所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:87所示的轻链可变区。

[0256] 在另一优选例中，所述TGF- β RII的氨基酸序列如SEQ ID NO:94或95所示。

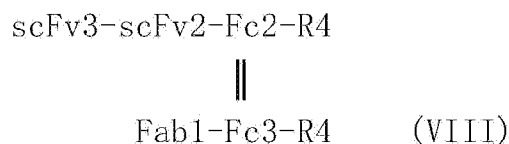
[0257] 在另一优选例中，所述Fc片段来源于IgG1或IgG4

[0258] 在另一优选例中，所述Fc片段来源于IgG1。

[0259] 在另一优选例中，所述在另一优选例中，所述Fc片段具有如SEQ ID NO:96或97所示的氨基酸序列。

[0260] 在另一优选例中，所述“scFv1-scFv2-Fc2-R4”的氨基酸序列如SEQ ID NO:104所示；所述“Fab3-Fc3-R4”中“HC3(重链)-Fc3-R4”的氨基酸序列如SEQ ID NO:105所示，“LC3(轻链)”的氨基酸序列如SEQ ID NO:101所示。

[0261] 在另一优选例中，所述多特异性抗体具有如下式VIII所示的结构(图2中e)：



[0262] 式中，“-”各自独立地为肽键或连接肽；“ $\parallel$ ”为肽链之间的连接键；

[0263] Fab1为第一靶向结构域，所述Fab1为抗LRRC15 Fab；

[0264] scFv2为第二靶向结构域，所述scFv2为抗CD3 scFv；

[0265] scFv3为第三靶向结构域，所述scFv3为抗FAP scFv；

[0266] Fc2和Fc3为Fc片段。

WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

[0267] 在另一优选例中，所述抗LRRC15 Fab包含如SEQ ID NO:1、2、3、4或5所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:6、7、8、9或10所示的轻链可变区。

[0268] 在另一优选例中，所述LRRC15 Fab包含如SEQ ID NO:1所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:6所示的轻链可变区。

[0269] 在另一优选例中，所述抗CD3 scFv包含如SEQ ID NO:82–84，117中任一项所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:85所示的轻链可变区。

[0270] 在另一优选例中，所述抗CD3 scFv包含如SEQ ID NO:83所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:85所示的轻链可变区。

[0271] 在另一优选例中，所述抗FAP scFv包含如SEQ ID NO:86所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:87所示的轻链可变区；或如SEQ ID NO:88所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:89所示的轻链可变区；或如SEQ ID NO:90所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:91所示的轻链可变区；或如SEQ ID NO:92所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:93所示的轻链可变区。

[0272] 在另一优选例中，所述抗FAP scFv包含如SEQ ID NO:86所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:87所示的轻链可变区。

[0273] 在另一优选例中，所述抗FAP scFv包含VH44和VL100的半胱氨酸(C)突变，用于提高多特异性抗体的稳定性。

[0274] 在另一优选例中，所述TGF- β RII的氨基酸序列如SEQ ID NO:94或95所示。

[0275] 在另一优选例中，所述Fc片段来源于IgG1或IgG4

[0276] 在另一优选例中，所述Fc片段来源于IgG1。

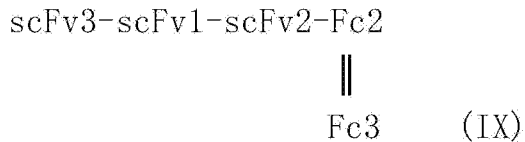
[0277] 在另一优选例中，所述在另一优选例中，所述Fc片段具有如SEQ ID NO:96或97所示的氨基酸序列。

[0278] 在另一优选例中，所述“scFv3–scFv2–Fc2–R4”的氨基酸序列如SEQ ID NO:106所示；所述“Fab1–Fc3–R4”中“HC1(重链)–Fc3–R4”的氨基酸序列如SEQ ID NO:107所示，“LC1(轻链)”的氨基酸序列如SEQ ID NO:70所示。

WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

[0279] 在另一优选例中，所述多特异性抗体具有如下式IX所示的结构(图2中f)：



[0280] 式中，“-”各自独立地为肽键或连接肽；“||”为肽链之间的连接键；

[0281] scFv1为第一靶向结构域，所述scFv1为抗LRRC15 scFv；

[0282] scFv2为第二靶向结构域，所述scFv2为抗CD3 scFv；

[0283] scFv3为第三靶向结构域，所述scFv3为抗FAP scFv；

[0284] Fc2和Fc3为Fc片段。

[0285] 在另一优选例中，所述抗LRRC15 scFv包含如SEQ ID NO:1、2、3、4或5所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:6、7、8、9或10所示的轻链可变区。

[0286] 在另一优选例中，所述LRRC15 scFv包含如SEQ ID NO:5所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:10所示的轻链可变区。

[0287] 在另一优选例中，所述抗CD3 scFv包含如SEQ ID NO:82-84，117中任一项所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:85所示的轻链可变区。

[0288] 在另一优选例中，所述抗CD3 scFv包含如SEQ ID NO:83所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:85所示的轻链可变区。

[0289] 在另一优选例中，所述抗FAP scFv包含如SEQ ID NO:86所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:87所示的轻链可变区；或如SEQ ID NO:88所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:89所示的轻链可变区；或如SEQ ID NO:90所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:91所示的轻链可变区；或如SEQ ID NO:92所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:93所示的轻链可变区。

[0290] 在另一优选例中，所述抗FAP scFv包含如SEQ ID NO:86所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:87所示的轻链可变区。

[0291] 在另一优选例中，所述抗FAP scFv包含VH44和VL100的半胱氨酸(C)突变，用于提高多特异性抗体的稳定性。

[0292] 在另一优选例中，所述Fc片段来源于IgG1或IgG4

[0293] 在另一优选例中，所述Fc片段来源于IgG1。

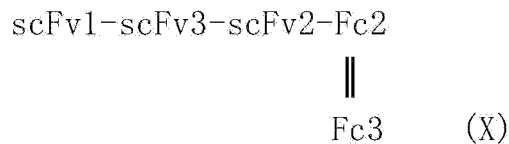
WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

[0294] 在另一优选例中，所述在另一优选例中，所述Fc片段具有如SEQ ID NO:97或98所示的氨基酸序列。

[0295] 在另一优选例中，所述“scFv3-scFv1-scFv2-Fc2”的氨基酸序列如SEQ ID NO:108所示；所述Fc3的氨基酸序列如SEQ ID NO:98所示。

[0296] 在另一优选例中，所述多特异性抗体具有如下式X所示的结构(图2中g)：



[0297] 式中，“-”各自独立地为肽键或连接肽；“||”为肽链之间的连接键；

[0298] scFv1为第一靶向结构域，所述scFv1为抗LRRC15 scFv；

[0299] scFv2为第二靶向结构域，所述scFv2为抗CD3 scFv；

[0300] scFv3为第三靶向结构域，所述scFv3为抗FAP scFv；

[0301] Fc2和Fc3为Fc片段。

[0302] 在另一优选例中，所述抗LRRC15 scFv包含如SEQ ID NO:1、2、3、4或5所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:6、7、8、9或10所示的轻链可变区。

[0303] 在另一优选例中，所述LRRC15 scFv包含如SEQ ID NO:5所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:10所示的轻链可变区。

[0304] 在另一优选例中，所述抗CD3 scFv包含如SEQ ID NO:82-84，117中任一项所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:85所示的轻链可变区。

[0305] 在另一优选例中，所述抗CD3 scFv包含如SEQ ID NO:83所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:85所示的轻链可变区。

[0306] 在另一优选例中，所述抗FAP scFv包含如SEQ ID NO:86所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:87所示的轻链可变区；或如SEQ ID NO:88所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:89所示的轻链可变区；或如SEQ ID NO:90所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:91所示的轻链可变区；或如SEQ ID NO:92所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:93所示的轻链可变区。

[0307] 在另一优选例中，所述抗FAP scFv包含如SEQ ID NO:86所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:87所示的轻链可变区。

WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

[0308] 在另一优选例中，所述抗FAP scFv包含VH44和VL100的半胱氨酸(C)突变，用于提高多特异性抗体的稳定性。

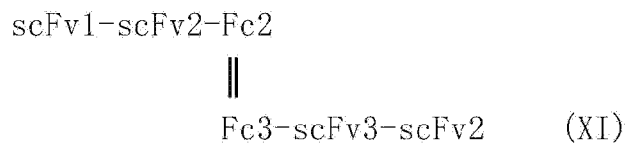
[0309] 在另一优选例中，所述Fc片段来源于IgG1或IgG4

[0310] 在另一优选例中，所述Fc片段来源于IgG1。

[0311] 在另一优选例中，所述在另一优选例中，所述Fc片段具有如SEQ ID NO:97或98所示的氨基酸序列。

[0312] 在另一优选例中，所述“scFv1-scFv3-scFv2-Fc2”的氨基酸序列如SEQ ID NO:109所示；所述Fc3的氨基酸序列如SEQ ID NO:98所示。

[0313] 在另一优选例中，所述多特异性抗体具有如下式XI所示的结构(图2中h)：



[0314] 式中，“-”各自独立地为肽键或连接肽；“||”为肽链之间的连接键；

[0315] scFv1为第一靶向结构域，所述scFv1为抗LRRC15 scFv；

[0316] scFv2为第二靶向结构域，所述scFv2为抗CD3 scFv；

[0317] scFv3为第三靶向结构域，所述scFv3为抗FAP scFv；

[0318] Fc2和Fc3为Fc片段。

[0319] 在另一优选例中，所述抗LRRC15 scFv包含如SEQ ID NO:1、2、3、4或5所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:6、7、8、9或10所示的轻链可变区。

[0320] 在另一优选例中，所述LRRC15 scFv包含如SEQ ID NO:5所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:10所示的轻链可变区。

[0321] 在另一优选例中，所述抗CD3 scFv包含如SEQ ID NO:82-84，117中任一项所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:85所示的轻链可变区。

[0322] 在另一优选例中，所述抗CD3 scFv包含如SEQ ID NO:83所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:85所示的轻链可变区。

[0323] 在另一优选例中，所述抗FAP scFv包含如SEQ ID NO:86所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:87所示的轻链可变区；或如SEQ ID NO:88所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:89所示的轻链可变区；或如SEQ ID NO:90所示的重链可变区，和

WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

如SEQ ID NO:91所示的轻链可变区；或如SEQ ID NO:92所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:93所示的轻链可变区。

[0324] 在另一优选例中，所述抗FAP scFv包含如SEQ ID NO:86所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:87所示的轻链可变区。

[0325] 在另一优选例中，所述抗FAP scFv包含如SEQ ID NO:92所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:93所示的轻链可变区。

[0326] 在另一优选例中，所述抗FAP scFv包含VH44和VL100的半胱氨酸(C)突变，用于提高多特异性抗体的稳定性。

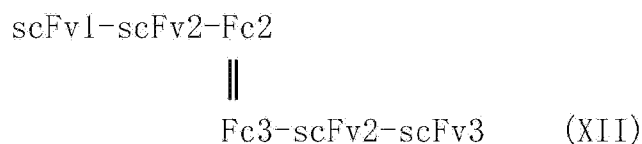
[0327] 在另一优选例中，所述Fc片段来源于IgG1或IgG4

[0328] 在另一优选例中，所述Fc片段来源于IgG1。

[0329] 在另一优选例中，所述在另一优选例中，所述Fc片段具有如SEQ ID NO:97或98所示的氨基酸序列。

[0330] 在另一优选例中，所述“scFv1-scFv2-Fc2”的氨基酸序列如SEQ ID NO:99所示；所述“Fc3-scFv3-scFv2”的氨基酸序列如SEQ ID NO:110所示。

[0331] 在另一优选例中，所述多特异性抗体具有如下式XII所示的结构(图2中i)：



[0332] 式中，“-”各自独立地为肽键或连接肽；“||”为肽链之间的连接键；

[0333] scFv1为第一靶向结构域，所述scFv1为抗LRRC15 scFv；

[0334] scFv2为第二靶向结构域，所述scFv2为抗CD3 scFv；

[0335] scFv3为第三靶向结构域，所述scFv3为抗FAP scFv；

[0336] Fc2和Fc3为Fc片段。

[0337] 在另一优选例中，所述抗LRRC15 scFv包含如SEQ ID NO:1、2、3、4或5所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:6、7、8、9或10所示的轻链可变区。

[0338] 在另一优选例中，所述LRRC15 scFv包含如SEQ ID NO:5所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:10所示的轻链可变区。

WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

[0339] 在另一优选例中，所述抗CD3 scFv包含如SEQ ID NO:82-84，117中任一项所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:85所示的轻链可变区。

[0340] 在另一优选例中，所述抗CD3 scFv包含如SEQ ID NO:83所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:85所示的轻链可变区。

[0341] 在另一优选例中，所述抗FAP scFv包含如SEQ ID NO:86所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:87所示的轻链可变区；或如SEQ ID NO:88所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:89所示的轻链可变区；或如SEQ ID NO:90所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:91所示的轻链可变区；或如SEQ ID NO:92所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:93所示的轻链可变区。

[0342] 在另一优选例中，所述抗FAP scFv包含如SEQ ID NO:86所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:87所示的轻链可变区。

[0343] 在另一优选例中，所述抗FAP scFv包含VH44和VL100的半胱氨酸(C)突变，用于提高多特异性抗体的稳定性。

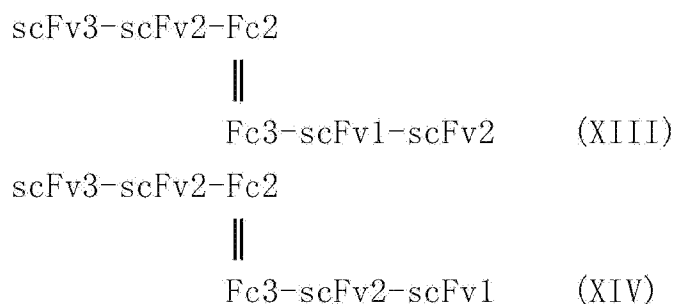
[0344] 在另一优选例中，所述Fc片段来源于IgG1或IgG4

[0345] 在另一优选例中，所述Fc片段来源于IgG1。

[0346] 在另一优选例中，所述在另一优选例中，所述Fc片段具有如SEQ ID NO:97或98所示的氨基酸序列。

[0347] 在另一优选例中，所述“scFv1-scFv2-Fc2”的氨基酸序列如SEQ ID NO:99所示；所述“Fc3-scFv2-scFv3”的氨基酸序列如SEQ ID NO:111所示。

[0348] 在另一优选例中，所述多特异性抗体具有如下式XIII或式XIV所示的结构(图2中j和k)：



[0349] 式中，“-”各自独立地为肽键或连接肽；“||”为肽链之间的连接键；

[0350] scFv1为第一靶向结构域，所述scFv1为抗LRRC15 scFv；

WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

- [0351] scFv2为第二靶向结构域，所述scFv2为抗CD3 scFv；
- [0352] scFv3为第三靶向结构域，所述scFv3为抗FAP scFv；
- [0353] Fc2和Fc3为Fc片段。
- [0354] 在另一优选例中，所述抗LRRC15 scFv包含如SEQ ID NO:1、2、3、4或5所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:6、7、8、9或10所示的轻链可变区。
- [0355] 在另一优选例中，所述LRRC15 scFv包含如SEQ ID NO:5所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:10所示的轻链可变区。
- [0356] 在另一优选例中，所述抗CD3 scFv包含如SEQ ID NO:82-84，117中任一项所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:85所示的轻链可变区。
- [0357] 在另一优选例中，所述抗CD3 scFv包含如SEQ ID NO:83所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:85所示的轻链可变区。
- [0358] 在另一优选例中，所述抗FAP scFv包含如SEQ ID NO:86所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:87所示的轻链可变区；或如SEQ ID NO:88所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:89所示的轻链可变区；或如SEQ ID NO:90所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:91所示的轻链可变区；或如SEQ ID NO:92所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:93所示的轻链可变区。
- [0359] 在另一优选例中，所述抗FAP scFv包含如SEQ ID NO:86所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:87所示的轻链可变区。
- [0360] 在另一优选例中，所述抗FAP scFv包含VH44和VL100的半胱氨酸(C)突变，用于提高多特异性抗体的稳定性。
- [0361] 在另一优选例中，所述Fc片段来源于IgG1或IgG4
- [0362] 在另一优选例中，所述Fc片段来源于IgG1。
- [0363] 在另一优选例中，所述在另一优选例中，所述Fc片段具有如SEQ ID NO:97或98所示的氨基酸序列。
- [0364] 在另一优选例中，所述“scFv3-scFv2-Fc2”的氨基酸序列如SEQ ID NO:102所示；所述“Fc3-scFv1-scFv2”的氨基酸序列如SEQ ID NO:112所示。
- [0365] 在另一优选例中，所述“scFv3-scFv2-Fc2”的氨基酸序列如SEQ ID NO:102所示；所述“Fc3-scFv2-scFv1”的氨基酸序列如SEQ ID NO:113所示。

WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

- [0366] 本发明的第二方面，提供了一种多核苷酸，所述多核苷酸编码如本发明第一方面所述的多特异性抗体。
- [0367] 本发明的第三方面，提供了一种表达载体，所述表达载体包含如本发明第二方面所述的多核苷酸。
- [0368] 在另一优选例中，所述表达载体包括原核表达载体和真核表达载体。
- [0369] 本发明的第四方面，提供了一种宿主细胞，所述宿主细胞包含如本发明第三方面所述的表达载体，或基因组中整合有本发明第二方面所述的多核苷酸。
- [0370] 在另一优选例中，所述的宿主细胞包括原核细胞或真核细胞。
- [0371] 在另一优选例中，所述的宿主细胞选自下组：大肠杆菌、酵母细胞、HEK 293 T细胞、CHO细胞。
- [0372] 本发明的第五方面，提供了一种如本发明第一方面所述的多特异性抗体的用途，用于制备用于治疗癌症/肿瘤、和/或纤维化疾病的药物。
- [0373] 在另一优选例中，所述癌症/肿瘤为LRRC15高表达的癌症/肿瘤。
- [0374] 在另一优选例中，所述癌症/肿瘤为LRRC15高表达和PD-1高表达的癌症/肿瘤。
- [0375] 在另一优选例中，所述癌症/肿瘤为LRRC15高表达和CLDN18.2高表达的癌症/肿瘤。
- [0376] 在另一优选例中，所述癌症/肿瘤为LRRC15高表达和FAP高表达的癌症/肿瘤。
- [0377] 在另一优选例中，所述癌症/肿瘤包括实体瘤和血液肿瘤。
- [0378] 在另一优选例中，所述癌症/肿瘤为实体瘤。
- [0379] 在另一优选例中，所述癌症/肿瘤为上皮癌症/肿瘤。
- [0380] 在另一优选例中，所述癌症/肿瘤选自下组：乳腺癌、头颈部肿瘤、肺癌、胰腺癌、卵巢癌、黑色素瘤、恶性胶质瘤、肉瘤、骨癌、结肠癌、支气管癌、或其组合。
- [0381] 在另一优选例中，所述纤维化疾病包括肺、肝、肾、心脏、脑、脾、肌肉和皮肤等多种器官纤维化，以及肿瘤相关成纤维细胞病变。
- [0382] 本发明的第六方面，提供了一种免疫偶联物，所述偶联物包含：

WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

[0383] (i)如本发明第一方面所述的多特异性抗体；和

[0384] (ii)选自下组的偶联部分：可检测标记物、药物、毒素、细胞因子、放射性核素、或酶。

[0385] 在另一优选例中，所述偶联物选自：荧光或发光标记物、放射性标记物、MRI(磁共振成像)或CT(电子计算机X射线断层扫描技术)造影剂、或能够产生可检测产物的酶、放射性核素、生物毒素、细胞因子(如IL-2等)、抗体、抗体Fc片段、抗体scFv片段、金纳米颗粒/纳米棒、病毒颗粒、脂质体、纳米磁粒、前药激活酶(例如，DT-心肌黄酶(DTD)或联苯基水解酶-样蛋白质(BPHL))、化疗剂(例如，顺铂)或任何形式的纳米颗粒等。

[0386] 本发明的第七方面，提供了一种药物组合物，所述药物组合物包含：(a)如本发明第一方面所述的多特异性抗体，或如本发明第六方面所述的免疫偶联物；和(b)药学上可接受的载体。

[0387] 在另一优选例中，所述药物组合物为注射剂型。

[0388] 本发明的第八方面，提供了如本发明第六方面所述的免疫偶联物的用途，用于制备用于治疗癌症/肿瘤、和/或纤维化疾病的药物。

[0389] 在另一优选例中，所述癌症/肿瘤为LRRC15高表达的癌症/肿瘤。

[0390] 在另一优选例中，所述癌症/肿瘤为LRRC15高表达和PD-1高表达的癌症/肿瘤。

[0391] 在另一优选例中，所述癌症/肿瘤为LRRC15高表达和CLDN18.2高表达的癌症/肿瘤。

[0392] 在另一优选例中，所述癌症/肿瘤为LRRC15高表达和FAP高表达的癌症/肿瘤。

[0393] 在另一优选例中，所述癌症/肿瘤包括实体瘤和血液肿瘤。

[0394] 在另一优选例中，所述癌症/肿瘤为实体瘤。

[0395] 在另一优选例中，所述癌症/肿瘤为上皮癌症/肿瘤。

[0396] 在另一优选例中，所述癌症/肿瘤选自下组：乳腺癌、头颈部肿瘤、肺癌、胰腺癌、卵巢癌、黑色素瘤、恶性胶质瘤、肉瘤、骨癌、结肠癌、支气管癌、或其组合。

WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

- [0397] 在另一优选例中，所述纤维化疾病包括肺、肝、肾、心脏、脑、脾、肌肉和皮肤等多种器官纤维化，以及肿瘤相关成纤维细胞病变。
- [0398] 本发明的第九方面，提供了一种治疗癌症/肿瘤、和/或纤维化疾病的方法，包括向有需要的受试者施用本发明第一方面所述的多特异性抗体，或如本发明第六方面所述的免疫偶联物。
- [0399] 在另一优选例中，所述有需要的受试者为人类或非人类哺乳动物。
- [0400] 在另一优选例中，所述癌症/肿瘤为LRRC15高表达的癌症/肿瘤。
- [0401] 在另一优选例中，所述癌症/肿瘤为LRRC15高表达和PD-1高表达的癌症/肿瘤。
- [0402] 在另一优选例中，所述癌症/肿瘤为LRRC15高表达和CLDN18.2高表达的癌症/肿瘤。
- [0403] 在另一优选例中，所述癌症/肿瘤为LRRC15高表达和FAP高表达的癌症/肿瘤。
- [0404] 在另一优选例中，所述癌症/肿瘤包括实体瘤和血液肿瘤。
- [0405] 在另一优选例中，所述癌症/肿瘤为实体瘤。
- [0406] 在另一优选例中，所述癌症/肿瘤为上皮癌症/肿瘤。
- [0407] 在另一优选例中，所述癌症/肿瘤选自下组：乳腺癌、头颈部肿瘤、肺癌、胰腺癌、卵巢癌、黑色素瘤、恶性胶质瘤、肉瘤、骨癌、结肠癌、支气管癌、或其组合。
- [0408] 在另一优选例中，所述纤维化疾病包括为肺、肝、肾、心脏、脑、脾、肌肉和皮肤等多种器官纤维化，以及肿瘤相关成纤维细胞病变。
- [0409] 应理解，在本发明范围内中，本发明的上述各技术特征和在下文(如实施例)中具体描述的各技术特征之间都可以互相组合，从而构成新的或优选的技术方案。限于篇幅，在此不再一一累述。

附图说明

- [0410] 图1显示了LRRC15抗原结合结构域与CD40抗原结合结构域组成的两种双抗结构形式(a和b)；以及LRRC15抗原结合结构域与CD40抗原结合结构域，CLND18.2或PD-1抗原结合结构域组成的两种三抗结构形式(c和d)。

WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

- [0411] 图1A显示了图1中a的一种示例性双特异性抗体结构,命名为1540s。
- [0412] 图1B显示了图1中a的另一种示例性双特异性抗体结构,命名为1540s-3。
- [0413] 图1C显示了图1中b的一种示例性双特异性抗体结构,命名为40d15。
- [0414] 图1D显示了图1中c的一种示例性三特异性抗体,命名为151840-L06。
- [0415] 图1E显示了图1中c的另一种示例性三特异性抗体,命名为15P140-L06。
- [0416] 图1F显示了图1中d的一种示例性三特异性抗体,命名为40d1815。
- [0417] 图1G显示了图1中d的另一种示例性三特异性抗体,命名为40dP115。
- [0418] 图2显示了LRRC15抗原结合结构域与CD3抗原结合结构域组成的双抗结构形式(a),以及前述两种结构域再加上FAP抗原结合结构域组成的三抗结构形式(b,c,f,g,h,I,j,k),以及前述三种结构域再加上TGF- β 结合结构域组成四抗结构形式(d,e)。
- [0419] 图2A显示了图2中a的一种示例性双特异性抗体结构,命名为153。
- [0420] 图2B显示了图2中b的一种示例性三特异性抗体结构,命名为315F。
- [0421] 图2C显示了图2中c的一种示例性三特异性抗体结构,命名为F315。
- [0422] 图2D显示了图2中d的一种示例性四特异性抗体结构,命名为315Fb。
- [0423] 图2E显示了图2中e的一种示例性四特异性抗体结构,命名为F315b。
- [0424] 图2F显示了图2中f的一种示例性三特异性抗体结构,命名为F153。
- [0425] 图2G显示了图2中g的一种示例性三特异性抗体结构,命名为15F3。
- [0426] 图2H显示了图2中h的一种示例性三特异性抗体结构,命名为153F。
- [0427] 图2I显示了图2中i的一种示例性三特异性抗体结构,命名为1533F。
- [0428] 图2J显示了图2中j的一种示例性三特异性抗体结构,命名为F3153。
- [0429] 图2K显示了图2中k的一种示例性三特异性抗体结构,命名为F3315。
- [0430] 图3A和图3B显示了构建的靶向LRRC15和CD40的双特异性抗体激活DC细胞的检测结果。
- [0431] 图4A显示了构建的靶向LRRC15和CD40的双特异性抗体激活CD40报告基因信号的检测结果。
- [0432] 图4B显示了构建的靶向LRRC15和CD40的双特异性抗体激活CD40报告基因信号的检测结果。

细则 91,
24.04.2025

WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

- [0433] 图4C显示了构建的靶向LRRC15、FAP和CD3的三特异性抗体激活CD3报告基因信号的检测结果。
- [0434] 图5显示了构建的靶向LRRC15和CD40的双特异性抗体刺激PBMC释放细胞因子的检测结果。
- [0435] 图6A显示了给药靶向LRRC15和CD40的双特异性抗体后小鼠KPC模型中的肿瘤体积变化结果。
- [0436] 图6B显示了给药靶向LRRC15和CD40的双特异性抗体后小鼠KPC模型的体重变化结果。
- [0437] 图7A显示了分别给药对照单抗和靶向LRRC15和CD40的双特异性抗体后小鼠MC38模型中的肿瘤体积变化结果。
- [0438] 图7B显示了分别给药对照单抗和靶向LRRC15和CD40的双特异性抗体后小鼠MC38模型的体重变化结果。
- [0439] 图7C显示了给药后24小时，对照单抗和靶向LRRC15和CD40的双特异性抗体所引起MC38模型小鼠的ALT和AST表达情况。
- [0440] 图8显示了靶向LRRC15和CD40的双特异性抗体对食蟹猴体重的影响。

具体实施方式

- [0441] 本发明人经过广泛而深入的研究，首次意外地开发了一类包含LRRC15抗原结合结构域的多特异性抗体。所述多特异性T细胞结合剂含有靶向肿瘤细胞表面高表达的富含亮氨酸重复序列15(LRRC15)分子的第一靶向结构域，其包含LRRC15抗体或其抗原结合片段，同时还包含结合抗原呈递细胞(APC)表面的CD40分子或T细胞表面的CD3分子的第二靶向结构域，任选地，包含靶向PD-1、CLDN18.2或FAP的第三靶向结构域，和/或靶向TGF- β 的第四靶向结构域。本发明的LRRC15相关多特异性抗体，可以有效激活T细胞并降低肿瘤的基质影响，可为肿瘤以及肿瘤相关纤维化提供有效治疗。在此基础上，完成了本发明。
- [0442] 如本文所用，术语“富含亮氨酸重复序列15”或“LRRC15”是指在人类中由LRRC15基因编码的蛋白质。富含亮氨酸重复序列(LRR)的结构域在与先天免疫相关的蛋白质中进化保守。LRRC15在许多实体瘤(例如，乳腺、头颈、肺、胰

腺)的基质成纤维细胞上以及直接在间充质来源的癌细胞子集(例如,肉瘤、黑色素瘤、胶质母细胞瘤)上表达,而大多数正常组织表现出低表达或无表达。

[0443] 如本文所用,术语“CD”、“分化簇”或“分化分子簇”是指可用于鉴定和表征白细胞的细胞表面标志物,例如CD40。

[0444] CD40是一种细胞表面受体,属于肿瘤坏死因子-R(TNF-R)家族,在B细胞和树突状细胞等APC上组成型表达。CD40L(CD154)是一种II型跨膜糖蛋白,其可诱导并限于造血系统细胞,如血小板、粒细胞、活化的T/B/NK细胞。CD40L与CD40结合以激活APC,从而导致CD80、CD86和其他共刺激分子的上调,以刺激CD8+抗原特异性T细胞反应。

[0445] 术语“Fc片段”或“Fc”是指抗体的不具有抗原结合活性但是最初被观察到容易结晶的部分,并因此将其命名为Fc片段(针对片段可结晶性)。这种片段对应于成对的CH2和CH3结构域,并且是抗体分子的与效应分子和细胞相互作用的部分。本文所述的Fc片段可以衍生自IgG1, IgG2和IgG4抗体。对于特定用途,可以优选特定的IgG亚类。例如,在介导ADCC和CDC方面, IgG1比IgG2和IgG4更有效。因此,当效应子功能不合需要时,可以优选IgG2 Fc。然而,含IgG2 Fc的分子通常更难制备,并且可能不如含IgG1 Fc的分子稳定。另一方面,与Fc γ RIIB的交叉结合对于增强CD40或CD137的共刺激信号至关重要,而IgG4的结合亲和力和力比IgG1高约2倍,比IgG2高10倍。S267E和L328F等突变可进一步增强IgG Fc与Fc γ RIIB的交叉结合(cross-binding)。此外,可以通过将一个或多个突变引入Fc来增加或减少抗体的效应子功能(参见,例如, Strohl, Curr.Opin.Biotech., 20: 685-691, 2009)。

[0446] 如本文所用,术语“抗体”或“免疫球蛋白”是有相同结构特征的约150000道尔顿的异四聚糖蛋白,其由两个相同的轻链(L)和两个相同的重链(H)组成。每条轻链通过一个共价二硫键与重链相连,而不同免疫球蛋白同种型的重链间的二硫键数目不同。每条重链和轻链也有规则间隔的链内二硫键。每条重链的一端有可变区(VH),其后是多个恒定区。每条轻链的一端有可变区(VL),另一端有恒定区;轻链的恒定区与重链的第一个恒定区相对,轻链的可变区与重链的可变区相对。特殊的氨基酸残基在轻链和重链的可变区之间形成界面。

[0447] 如本文所用，术语“可变”表示抗体中可变区的某些部分在序列上有所不同，它形成了各种特定抗体对其特定抗原的结合和特异性。然而，可变性并不均匀地分布在整个抗体可变区中。它集中于轻链和重链可变区中称为互补决定区(CDR)或超变区中的三个片段中。可变区中较保守的部分称为构架区(FR)。天然重链和轻链的可变区中各自包含四个FR区，它们大致上呈 β -折叠构型，由形成连接环的三个CDR相连，在某些情况下可形成部分 β 折叠结构。每条链中的CDR通过FR区紧密地靠在一起并与另一链的CDR一起形成了抗体的抗原结合部位(参见Kabat等, NIH Publ.No.91-3242, 卷I, 647-669页(1991))。恒定区不直接参与抗体与抗原的结合，但是它们表现出不同的效应功能，例如参与抗体的依赖于抗体的细胞毒性。

[0448] 本申请的抗体可以包括但不限于多克隆，单克隆，单特异性，多特异性，双特异性，人类，人源化，灵长类化，嵌合和单链抗体。本文公开的抗体可以来自任何动物来源，包括鸟类和哺乳动物。优选地，抗体是人，鼠类，驴，兔，山羊，豚鼠，骆驼，美洲驼，马或鸡的抗体。

[0449] 术语“抗体片段”或“抗原结合片段”用于指抗体的一部分，例如F(ab')₂，F(ab)₂，Fab'，Fab，Fv，单链Fvs(scFv)，单链抗体，二硫键连接的Fvs(sdFv)，包含VL或VH结构域的片段，Fab表达文库产生的片段以及抗个体遗传型(anti-Id)抗体。不论结构如何，抗体片段都与完整抗体所识别的相同抗原结合。术语“抗体片段”包括DART和双抗体。术语“抗体片段”还包括任何包含免疫球蛋白可变区的合成蛋白或基因工程改造蛋白，其通过与特定抗原结合形成复合物而像抗体一样起作用。“单链片段可变区”或“scFv”是指免疫球蛋白的重链(VH)和轻链(VL)的可变区的融合蛋白。在一些方面，所述区结构域与10至约25个氨基酸的短接头肽连接。接头可富含甘氨酸以具有柔韧性和丝氨酸或苏氨酸以具有溶解度，并且可以连接VH的N末端或VL的C末端，反之亦然。尽管去除了恒定区并引入了接头，但是这种蛋白仍保留了原始免疫球蛋白的特异性。关于IgG，标准免疫球蛋白分子包含两个相同的分子量约为23,000道尔顿的轻链多肽和两个相同的分子量为53,000-70,000的重链多肽。四个链通常以“Y”构型通过二硫键连接，其中轻链从“Y”的口连接(bracket)重链并延伸通过可变区。

[0450] 如上所述，可变区允许抗体选择性地识别并特异性结合抗原上的表位。即，抗体的VL结构域和VH结构域或抗体的互补决定区(CDR)子集(subset)结合以形成限定三维抗原结合位点的可变区。这种四元抗体结构形成了各Y构型的各臂的末端处存在的抗原结合位点。更具体地说，该抗原结合位点由VH和VL链中的每一个上的三个CDR(即HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2和LCDR3)限定。在某些情况下，例如某些免疫球蛋白分子衍生自骆驼科动物物种或基于骆驼科动物免疫球蛋白进行工程改造。或者，免疫球蛋白分子可以由仅不具有轻链的重链或仅不具有重链的轻链组成。

[0451] 在天然存在的抗体中，每个抗原结合结构域中存在的六个CDR是短的、非连续的氨基酸序列，由于该抗体在水性环境中呈现其三维构型，因此这些CDR被特异性定位以形成“抗原结合结构域”。抗原结合结构域中的其余氨基酸，称为“框架”区结构域，显示出较小的分子间变异性。构架区主要采用 β -折叠构象，并且CDR形成环，所述环连接并且在某些情况下形成 β -折叠结构的一部分。因此，框架区起到形成支架的作用，该支架通过链间非共价相互作用而将CDR定位在正确的方向上。由定位的CDR形成的抗原结合结构域限定了与免疫反应性抗原上的表位互补的表面。该互补表面促进抗体与其关联表位(cognate epitope)的非共价结合。由于已经被精确地限定，本领结构域的普通技术人员可以容易地针对任何给定的重链或轻链可变区鉴定分别包含CDR和构架区的氨基酸。

[0452] 如本文所用，术语“轻链恒定区(CL)”包括衍生自抗体轻链的氨基酸序列CL(例如SEQ ID NO:66,67,68)。优选地，轻链恒定区包括恒定 κ 结构域或恒定 λ 结构域中的至少一个。

[0453] 如本文所用，术语“重链恒定区(CH)”包括源自免疫球蛋白重链的氨基酸序列。包含重链恒定区的多肽包含以下至少之一：CH1结构域，铰链区(例如，上部，中间和/或下部铰链区)结构域，CH2结构域，CH3结构域或其变体或片段。应当理解，可以修饰重链恒定区，使得它们的氨基酸序列与天然存在的免疫球蛋白分子不同。

[0454] 在本发明的一个实施方式中，制备的多特异性抗体包含crossmab结构，即重链CH1和轻链CL交换部分氨基酸序列，以防止错配。这样的示例性结构包含如SEQ ID NO:56所示的CH1，以及如SEQ ID NO:68所示的CL。

[0455] 如本文所用，抗体、抗体片段或抗体结构域的“变体”是指如下，抗体、抗体片段或抗体结构域：(1)与原始抗体、抗体片段或抗体结构域具有至少80%，85%，90%，95%，96%，97%，98%或99%的序列同一性，和(2)特异性结合至与原始抗体、抗体片段或抗体结构域特异性结合的相同靶标。应当理解，在以“至少x%相同”或“至少x%同一性”的形式表示序列同一性的情况下，这样的实施方案包括等于或高于下限的任何和所有数值百分比。此外，应当理解，在本申请中存在氨基酸序列的情况下，应将其解释为另外公开或包含与该氨基酸序列具有至少80%，至少85%，至少90%，至少95%，至少96%，至少97%，至少98%或至少99%的同一性。

[0456] 在本发明的多特异性分子的范围内包括各种组合物和方法，这些组合物和方法包括：不对称IgG样抗体(例如，三功能单克隆抗体/四价体瘤(triomab/quadroma))；钮孔式抗体(knobs-into-holes antibodies)；交叉单克隆抗体(Cross MAb)；静电匹配抗体；LUZ-Y；链交换工程化结构域(SEED)体；Fab交换抗体，对称IgG类抗体；二合一抗体；交联的单克隆抗体，mAb2；Cov X-body；双可变区结构域(DVD)-Ig融合蛋白；IgG样双特异性抗体；Ts2Ab；BsAb；scFv/Fc融合；双(scFv)2-Fabs；F(ab)2融合蛋白；双作用或Bis-Fab；Dock-and-Lock(DNL)；Fab-Fv；scFv基抗体和双抗体基的抗体(例如双特异性T细胞接合剂(BiTEs)；串联双抗体(Tandab)；DARTs；单链双抗体；TCR样抗体；人类血清白蛋白scFv融合蛋白，COMBODIES和IgG/non-IgG融合蛋白。

[0457] 如本文所用，短语“多特异性抗体”是指包含至少两个具有不同结合特异性的靶向结构域的分子。在一些实施方式中，多特异性抑制剂是包含支架和靶向不同抗原或表位的两个或更多个免疫球蛋白抗原结合结构域的多肽。在某些实施方式中，多特异性抗体是双特异性抗体。在其他一些实施方式中，多特异性抗体是三特异性抗体。在其他一些实施方式中，多特异性抗体是四特异性抗体。

[0458] 如本文所用，短语“双特异性”是指包含至少两个具有不同结合特异性的靶向结构域的分子。每个靶向结构域都能够与靶分子特异性结合，并在与靶分子结合时抑制靶分子的生物学功能。在一些实施方式中，双特异性抗体是具有两个或更多个肽的聚合物分子。在一些实施方式中，靶向结构域包含抗体的抗原结合结构域或CDR。在一些实施方式中，靶向结构域包含与靶蛋白特异性结合的配体或其片段。在一些实施方式中，双特异性抑制剂是双特异性抗体。

[0459] 术语“双特异性抗体”和“双特异性分子”在本文中可互换使用，涉及可以特异性结合两种不同抗原(或表位)的抗体。在一些实施方式中，双特异性抗体是全长抗体，其在其两个结合臂(一对HC/LC)之一上结合一个抗原(或表位)，并且在其第二臂(另一对HC/LC)上结合不同的抗原(或表位)。在这些实施方式中，双特异性抗体具有两个不同的抗原结合臂(在特异性和CDR序列两者上)，并且对于其结合的每种抗原是单价的。

[0460] 在其他一些实施方式中，双特异性抗体是可以在其两个结合臂(两对HC/LC)的每一个中结合两种不同抗原(或表位)的全长抗体。在这些实施方案中，双特异性抗体具有两个相同的抗原结合臂，具有相同的特异性和相同的CDR序列，并且对于与其结合的每种抗原都是二价的。

[0461] 术语“三特异性抗体”和“三特异性分子”在本文中可互换使用，涉及包含具有三个不同结合特异性的三个靶向结构域的分子。每个靶向结构域都能够与靶分子特异性结合，并在与靶分子结合时抑制靶分子的生物学功能。在一些实施方式中，三特异性拮抗剂是具有两个或更多个肽的聚合物分子。在一些实施方案中，靶向结构域包含抗体的抗原结合结构域或CDR。在一些实施方式中，靶向结构域包含与靶蛋白特异性结合的配体或其片段。

[0462] 在本发明的一个优选实施方式中，构建了靶向LRRC15和CD40的双特异性抗体，具有如图1中a-b所示的结构。a结构的一种示例性分子如图2A或图2B所示，其中的抗LRRC15 Fab可以为使用本发明所述的任一抗LRRC15抗体的VH和VL构建的Fab；抗CD40 scFv可以为使用本发明所述的任一抗CD40抗体的VH和VL构建的scFv。b结构的一种示例性分子如图2C所示，其中的抗CD40 Fab可以为使

用本发明所述的任一抗CD40抗体的VH和VL构建的Fab；抗LRRC15 scFv可以为使用本发明所述的任一抗LRRC15抗体的VH和VL构建的scFv。

[0463] 在本发明的另一个优选实施方式中，构建了靶向LRRC15、CD40和CLDN18.2的三特异性抗体，具有如图1中c-d所示的结构。c结构的一种示例性分子如图2D所示，其中的抗LRRC15 Fab可以为使用本发明所述的任一抗LRRC15抗体的VH和VL构建的Fab，抗CD40 scFv可以为使用本发明所述的任一抗CD40抗体的VH和VL构建的scFv，抗CLDN18.2 Fab可以为使用本发明所述的任一抗CLDN18.2抗体的VH和VL构建的Fab。d结构一种示例性分子如图2F所示，其中的抗LRRC15 scFv可以为使用本发明所述的任一抗LRRC15抗体的VH和VL构建的scFv，抗CD40 Fab可以为使用本发明所述的任一抗CD40抗体的VH和VL构建的Fab，抗CLDN18.2 scFv可以为使用本发明所述的任一抗CLDN18.2抗体的VH和VL构建的scFv。

[0464] 在本发明的另一个优选实施方式中，构建了靶向LRRC15、CD40和PD-1的三特异性抗体，具有如图1中c-d所示的结构。c结构的一种示例性分子如图2E所示，其中的抗LRRC15 Fab可以为使用本发明所述的任一抗LRRC15抗体的VH和VL构建的Fab，抗CD40 scFv可以为使用本发明所述的任一抗CD40抗体的VH和VL构建的scFv，抗PD-1 Fab可以为使用本发明所述的任一抗PD-1抗体的VH和VL构建的Fab。d结构一种示例性分子如图2G所示，其中的抗LRRC15 scFv可以为使用本发明所述的任一抗LRRC15抗体的VH和VL构建的scFv，抗CD40 Fab可以为使用本发明所述的任一抗CD40抗体的VH和VL构建的Fab，抗PD-1 scFv可以为使用本发明所述的任一抗PD-1抗体的VH和VL构建的scFv。

[0465] 在本发明的另一个优选实施方式中，构建了靶向LRRC15和CD3的双特异性抗体，具有图2中a所示的结构。

[0466] 在本发明的另一个优选实施方式中，构建了靶向LRRC15、CD3和FAP的三特异性抗体，具有图2中b,c,f,g,h,i,j,k中所示的结构。

[0467] 在本发明的另一个优选实施方式中，构建了靶向LRRC15、CD3、FAP和TGF- β 的四特异性抗体，具有图2中d和e所示的结构。

- [0468] 使用本发明的抗体VH和VL组成的scFv构建多特异性抗体时，为了增加多特异性抗体的稳定性，可在scFv中引入半胱氨酸(C)突变，例如，在VH的第44位和VL的第100位引入半胱氨酸突变。如本文所用，术语“VH44和VL100的半胱氨酸(C)突变”是指将scFv的VH第44位氨基酸替换为半胱氨酸，以及将scFv的VL第100位氨基酸替换为半胱氨酸。
- [0469] 本发明还提供了编码上述抗体或其片段的多核苷酸分子。本发明的多核苷酸可以是DNA形式或RNA形式。DNA形式包括cDNA、基因组DNA或人工合成的DNA。DNA可以是单链的或是双链的。DNA可以是编码链或非编码链。编码成熟多肽的编码区序列可以与本发明抗体的编码区序列相同或者是简并的变异体。如本文所用，“简并的变异体”在本发明中是指编码具有与本发明的多肽相同的氨基酸序列，但其编码区序列有差别的核酸序列。
- [0470] 编码本发明的成熟多肽的多核苷酸包括：只编码成熟多肽的编码序列；成熟多肽的编码序列和各种附加编码序列；成熟多肽的编码序列(和任选的附加编码序列)以及非编码序列。
- [0471] 术语“编码多肽的多核苷酸”可以是包括编码此多肽的多核苷酸，也可以是还包括附加编码和/或非编码序列的多核苷酸。
- [0472] 本发明还涉及与上述的序列杂交且两个序列之间具有至少50%，更佳地至少70%，更佳地至少80%相同性的多核苷酸。本发明特别涉及在严格条件下与本发明所述多核苷酸可杂交的多核苷酸。在本发明中，“严格条件”是指：(1)在较低离子强度和较高温度下的杂交和洗脱，如 $0.2 \times \text{SSC}$, 0.1% SDS, 60°C；或(2)杂交时加有变性剂,如50%(v/v)甲酰胺，0.1%小牛血清/0.1% Ficoll, 42°C等；或(3)仅在两条序列之间的相同性至少在90%以上,更好是95%以上时才发生杂交。并且,可杂交的多核苷酸编码的多肽与SEQ ID NO.4、SEQ ID NO.9所示的成熟多肽有相同的生物学功能和活性。
- [0473] 本发明的抗体的核苷酸全长序列或其片段通常可以用PCR扩增法、重组法或人工合成的方法获得。一种可行的方法是用人工合成的方法来合成有关序列，尤其是片段长度较短时。通常，通过先合成多个小片段，然后再进行连接可获

得序列很长的片段。此外，还可将重链的编码序列和表达标签(如6His)融合在一起，形成融合蛋白。

[0474] 一旦获得了有关的序列，就可以用重组法来大批量地获得有关序列。这通常是将其克隆入载体，再转入细胞，然后通过常规方法从增殖后的宿主细胞中分离得到有关序列。本发明所涉及的生物分子(核酸、蛋白等)包括以分离的形式存在的生物分子。

[0475] 目前，已经可以完全通过化学合成来得到编码本发明蛋白(或其片段，或其衍生物)的DNA序列。然后可将该DNA序列引入本领域中已知的各种现有的DNA分子(或如载体)和细胞中。此外，还可通过化学合成将突变引入本发明蛋白序列中。

[0476] 本发明还涉及包含上述的适当DNA序列以及适当启动子或者控制序列的载体。这些载体可以用于转化适当的宿主细胞，以使其能够表达蛋白质。

[0477] 宿主细胞可以是原核细胞，如细菌细胞；或是低等真核细胞，如酵母细胞；或是高等真核细胞，如哺乳动物细胞。代表性例子有：大肠杆菌，链霉菌属；鼠伤寒沙门氏菌的细菌细胞；真菌细胞如酵母；果蝇S2或Sf9的昆虫细胞；CHO、COS7、293细胞的动物细胞等。

[0478] 用重组DNA转化宿主细胞可用本领域技术人员熟知的常规技术进行。当宿主为原核生物如大肠杆菌时，能吸收DNA的感受态细胞可在指数生长期后收获，用CaCl₂法处理，所用的步骤在本领域众所周知。另一种方法是使用MgCl₂。如果需要，转化也可用电穿孔的方法进行。当宿主是真核生物，可选用如下的DNA转染方法：磷酸钙共沉淀法，常规机械方法如显微注射、电穿孔、脂质体包装等。

[0479] 获得的转化子可以用常规方法培养，表达本发明的基因所编码的多肽。根据所用的宿主细胞，培养中所用的培养基可选自各种常规培养基。在适于宿主细胞生长的条件下进行培养。当宿主细胞生长到适当的细胞密度后，用合适的方法(如温度转换或化学诱导)诱导选择的启动子，将细胞再培养一段时间。

[0480] 在上面的方法中的重组多肽可在细胞内、或在细胞膜上表达、或分泌到细胞外。如果需要，可利用其物理的、化学的和其它特性通过各种分离方法分离和

纯化重组的蛋白。这些方法是本领域技术人员所熟知的。这些方法的例子包括但并不限于：常规的复性处理、用蛋白沉淀剂处理(盐析方法)、离心、渗透破菌、超处理、超离心、分子筛层析(凝胶过滤)、吸附层析、离子交换层析、高效液相层析(HPLC)和其它各种液相层析技术及这些方法的结合。

[0481] 本发明的抗体可以单独使用，也可与可检测标记物(为诊断目的)、治疗剂、PK(蛋白激酶)修饰部分或任何以上这些物质的组合结合或偶联。

[0482] 用于诊断目的的可检测标记物包括但不限于：荧光或发光标记物、放射性标记物、MRI(磁共振成像)或CT(电子计算机X射线断层扫描技术)造影剂、或能够产生可检测产物的酶。

[0483] 可偶联的治疗剂包括但不限于：胰岛素、IL-2、干扰素、降钙素、GHRH肽、肠肽类似物、白蛋白、抗体片段、细胞因子、和激素。

[0484] 本发明还提供了一种组合物。在优选例中，所述的组合物是药物组合物，它含有上述的抗体或其活性片段或其融合蛋白，以及药学上可接受的载体。通常，可将这些物质配制于无毒的、惰性的和药学上可接受的水性载体介质中，其中pH通常约为5-8，较佳地pH约为6-8，尽管pH值可随被配制物质的性质以及待治疗的病症而有所变化。配制好的药物组合物可以通过常规途径进行给药，其中包括(但并不限于)：口服、呼吸道、瘤内、腹膜内、静脉内、或局部给药。

[0485] 本发明的药物组合物可用于治疗癌症/肿瘤，尤其是实体瘤，特别是LCRR15高表达的实体瘤。

[0486] 本发明的药物组合物含有安全有效量(如0.001-99wt%，较佳地0.01-90wt%，更佳地0.1-80wt%)的本发明上述的单克隆抗体(或其偶联物)以及药学上可接受的载体或赋形剂。这类载体包括(但并不限于)：盐水、缓冲液、葡萄糖、水、甘油、乙醇、及其组合。药物制剂应与给药方式相匹配。本发明的药物组合物可以被制成针剂形式，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。药物组合物如针剂、溶液宜在无菌条件下制造。活性成分的给药量是治疗有效量，例如每天约1微克/千克体重-约10毫克/千克体重。此外，本发明的药物组合物还可与其他治疗剂一起使用。

WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

[0487] 使用药物组合物时，是将安全有效量的免疫偶联物施用于哺乳动物，其中该安全有效量通常至少约10微克/千克体重，而且在大多数情况下不超过约8毫克/千克体重，较佳地该剂量是约10微克/千克体重-约1毫克/千克体重。当然，具体剂量还应考虑给药途径、病人健康状况等因素，这些都是熟练医师技能范围内的。

[0488] 本发明的主要优点包括：

[0489] (1)癌相关成纤维细胞(CAFs)是多数实体瘤微环境中的重要组成部分，这些细胞通过支持肿瘤细胞的生长，参与肿瘤细胞外基质的重塑，促进血管生成和调节肿瘤导致的炎症来促进癌症的进展。CAF在癌基质中与其他如内皮细胞和表达如：CD40等的免疫细胞共存。如此，因为LRRC15在CAF上特异性表达，即可针对该靶点设计双/三/四抗，把免疫激活信号带到肿瘤基质中去，从而在多数实体瘤治疗中有助于冷肿瘤向热肿瘤的转变。

[0490] (2)相较于普通的肿瘤相关抗原(TAA)靶点，LRRC15在多种实体瘤以及CAF上的表达，使得本发明中包含LRRC15抗原结合结构域的双/三/四特异性抗体的应用更为广泛。

[0491] (3)本发明的双/三/四特异性抗体相对于单特异性抗体，在体内外具有更好的抗肿瘤效果，且安全性更好。

[0492] 下面结合具体实施例，进一步阐述本发明。应理解，这些实施例仅用于说明本发明而并不用于限制本发明的范围。下列实施例中未注明具体条件的实验方法，通常按照常规条件，例如Sambrook等人，分子克隆：实验室手册(New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989)中所述的条件，或按照制造厂商所建议的条件。除非另外说明，否则百分比和份数是重量百分比和重量份数。

[0493] 制备本发明的多特异性T细胞接合剂所用序列

[0494] LRRC15抗体序列

WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

	HCDR1	HCDR2	HCDR3
L15-06H/ L15-06CH	GFTFSSYYMS (SEQ ID NO: 33)	DISVSGSYTNYADSVKG (SEQ ID NO: 34)	IGSYRSFFSTDDGDSL DY (SEQ ID NO: 35)
L15-08H	GFTFSDYYMS (SEQ ID NO: 36)	DISVSSSYTNYADSVKG (SEQ ID NO: 37)	LGGYRSFFSTDDGDSL DY (SEQ ID NO: 38)
L15-03H	GGTFSSYTIS (SEQ ID NO: 39)	GIIPMFGTANYAQKFQG (SEQ ID NO: 40)	GVALLATDFDY (SEQ ID NO: 41)
L15-07H	GGTFSTY AIS (SEQ ID NO: 42)	GITPMFGTPNYAQKFQG (SEQ ID NO: 43)	GDWYDYHFDY (SEQ ID NO: 44)
	LCDR1	LCDR2	LCDR3
L15-	RASQSISSWLA	DASSLES	QQYNSYSLT

06L/ L15-06CL	(SEQ ID NO: 45)	(SEQ ID NO: 46)	(SEQ ID NO: 47)
L15-08L	RASQSISSWLA (SEQ ID NO: 45)	DAFSLES (SEQ ID NO: 48)	QQYNSYSIT (SEQ ID NO: 49)
L15-03L	TGTSSDVGGYNYVS (SEQ ID NO: 50)	EVS NRPS (SEQ ID NO: 51)	QSWTHDNSVV (SEQ ID NO: 52)
L15-07L	TGTSSDVGGYNYVS (SEQ ID NO: 50)	EVS NRPS (SEQ ID NO: 51)	QSYANRDNFVV (SEQ ID NO: 53)

WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKGLEWVADIS VSGSYTNYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIGSYRS FFSTDDGDSL DYWGQGT LVT VSS	VH; L15-06H (SEQ ID NO: 1)
QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMSWIRQAPGKGLEWVSDIS VSSSYTNYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARLGGYRS FFSTDDGDSL DYWGQGT LVT VSS	VH; L15-08H (SEQ ID NO: 2)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYTISWVRQAPGQGLEWMGGII PMFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARGVALLA TDFDYWGQGT LVT VSS	VH; L15-03H (SEQ ID NO: 3)
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSTYAI SWVRQAPGQGLEWMGGIT PMFGTPNYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARGDWYDY HFDYWGQGT LVT VSS	VH; L15-07H (SEQ ID NO: 4)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKCLEWVADIS VSGSYTNYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIGSYRS FFSTDDGDSL DYWGQGT LVT VSS	VH; L15-06CH (SEQ ID NO: 5)
DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYDAS SLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPD FAYYYCQQYNSYSLTFGGGTKV EIK	VL; L15-06L (SEQ ID NO: 6)
DIQLTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYDAF SLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPD FAYYYCQQYNSYSITFGGGTKV EIK	VL; L15-08L (SEQ ID NO: 7)
QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIE VSNRPSGVSNRFSGSGSGNTASLTISGLQA EDEADYYCQSWTHDNSVVFGGG TKLTVL	VL; L15-03L (SEQ ID NO: 8)
QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMIE VSNRPSGVSNRFSGSGSGNTASLTISGLQA EDEADYYCQSYANRDNFVVFGG GTKLTVL	VL; L15-07L (SEQ ID NO: 9)
DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYDAS SLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPD FAYYYCQQYNSYSLTFGCGTKV EIK	VL; L15-06CL (SEQ ID NO: 10)

[0495] CD40抗体序列

WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHVVRQAPGQGLEWMGWIN PDSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGY CTNGVCSYFDYWGGTLVTVSS	VH; CD40 (SEQ ID NO: 11)
DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGIYSWLAWYQQKPGKAPNLLIYTAS TLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQANFPLTFGGGTKV EIK	VL; CD40 (SEQ ID NO: 12)
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHVVRQAPGQGLEWMGWIN PDSGGTNYAHKFQGRVTMTRDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGY CTNGVCSYFDYWGGTLVTVSS	VH1 (Q62H) ; CD40 (SEQ ID NO: 13)
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHVVRQAPGQGLEWMGWIN PDSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGL CTNGVCSYFDYWGGTLVTVSS	VH2 (Y104L) ; CD40 (SEQ ID NO: 14)
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHVVRQAPGQGLEWMGWIN PDSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGA CTNGVCSYFDYWGGTLVTVSS	VH3 (Y104A) ; CD40 (SEQ ID NO: 15)
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHVVRQAPGQGLEWMGWIN PDSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGY CGSGVCSYFDYWGGTLVTVSS	VH4 (T106G/N10 7S) ; CD40 (SEQ ID NO: 16)
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHVVRQAPGQGLEWMGWIN PDSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGY CTGGVCSYFDYWGGTLVTVSS	VH5 (N107G) ; CD40 (SEQ ID NO: 17)
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHVVRQAPGQGLEWMGWIN PDSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGY CTNGDCSYFDYWGGTLVTVSS	VH6 (V109D) ; CD40 (SEQ ID NO: 18)
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHVVRQAPGQGLEWMGWIN PDSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGY CTNGVCSAFDYWGQTLVTVSS	VH7 (Y112A) ; CD40 (SEQ ID NO: 19)
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHVVRQAPGQGLEWMGWIN PDSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGE CTNGVCSYFDYWGGTLVTVSS	VH11 (Y104E) ; CD40 (SEQ ID NO: 20)

WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHVVRQAPGQGLEWMGWIN PDSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGS CTNGVCSYFDYWGQGTLLVTVSS	VH12 (Y104S) ; CD40 (SEQ ID NO: 21)
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHVVRQAPGQGLEWMGWIN PDSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGG CTNGVCSYFDYWGQGTLLVTVSS	VH13 (Y104G) ; CD40 (SEQ ID NO: 22)
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHVVRQAPGQGLEWMGWIN PDSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCARDQPAGA CTNGVCSYFDYWGQGTLLVTVSS	VH14 (Y104A/L1 02A) ; CD40 (SEQ ID NO: 23)
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHVVRQAPGQGLEWMGWIN PDSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGA CTNGVCSAFDYWGQGTLLVTVSS	VH15 (Y104A/Y1 12A) ; CD40 (SEQ ID NO: 114)
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHVVRQAPGQGLEWMGWIN PDSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGG CTNGVCSAFDYWGQGTLLVTVSS	VH16 (Y104G/Y1 12A) ; CD40 (SEQ ID NO: 115)
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHVVRQAPGQGLEWMGWIN PDSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGE CTNGVCSAFDYWGQGTLLVTVSS	VH17 (Y104E/Y1 12A) ; CD40 (SEQ ID NO: 116)
DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGIIYSWLAWYQQKPGKAPNLLIYTAS TLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQASTFPLTFGGGTKV EIK	VL8 (N92S) ; CD40 (SEQ ID NO: 24)
DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGIIYSWLAWYQQKPGKAPNLLIYTAS TLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQANDFPLTFGGGTKV EIK	VL9 (I93D) ; CD40 (SEQ ID NO: 25)
DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGIIYSWLAWYQQKPGKAPNLLIYTAS TLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQANISPLTFGGGTKV EIK	VL10 (F94S) ; CD40 (SEQ ID NO: 26)
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFTGYYIHVVRQAPGKGLEWVARVI PNAGGTSYNQKFQGRFTLSVDNSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGIYWW GQGTLLVTVSS	VH; CD40d (SEQ ID NO: 27)
DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRSSQSLVHSNGNTFLHWYQQKPGKAPKIL IYTVSNRFSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFCSQTTHVPWTFG QGTKVEIK	VL; CD40d (SEQ ID NO: 28)

WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

[0496] PD-1抗体序列

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYIHWVRQAPGQGLEWMGWIF PGSGNSKYNNENFKGRVTLTADTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYC ASETYDYG DYWGQGTLVTVSS	VH; P1 (SEQ ID NO: 29)
DIQMTQSPSFLSASVGDRVTITCKASQNVGTNVAWYQQKPGKAPKALIYSAS YRYSQVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYSPYTFGQGTKL EIK	VL; P1 (SEQ ID NO: 30)

[0497] Claudin 18.2抗体序列

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNSGMNWRQAPGQGLEWMGWIN TNTGEPTFAEEFRGRVTMTDTSISTAYMELSRLRSDD TAVYYC ARYYYGNS FAYWGQGTLVTVSS	VH; 18.2 (SEQ ID NO: 31)
DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLNSGNQKNYLTWYQQKPGQPPKL LIYWASTRESQVPPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQNNFYPLTF GGGTKVEIK	VL; 18.2 (SEQ ID NO: 32)

[0498] CD3抗体序列

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKGLEWVGRIR SKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNF GDSYVSWFEYWGQGTLVTVSS	VH; CD3 (SEQ ID NO: 82)
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKGLEWVGRIR SKANNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNF GDSYVSWFEYWGQGTLVTVSS	VH; CD3v1 (SEQ ID NO: 83)
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKGLEWVGRIR SKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNF GDSYVSWFDYWGQGTLVTVSS	VH; CD3v2 (SEQ ID NO: 84)
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRQAPGKGLEWVGRIR SEANNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNF GDSYVSWFEYWGQGTLVTVSS	VH; CD3v3 (SEQ ID NO: 117)
QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGG TNKRAPGVPARFSGSLIGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGT KLTVL	VL; CD3 (SEQ ID NO: 85)

[0499] FAP抗体序列

WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAII GSGASTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGWFGGF NYWGQGT LVTVSS	VH; F1 (SEQ ID NO: 86)
EIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQSVTSSYLAWYQQKPGQAPRIILINVG SRRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQGIMLPPTFGQGTK VEIK	VL; F1 (SEQ ID NO: 87)
EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSHAMSWVRQAPGKGLEWVSAIW ASGEQYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGWLG NFD YWGQGT LVTVSS	VH; F2 (SEQ ID NO: 88)
EIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQSVSRSYLAWYQQKPGQAPRIILIGA STRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQGQVIPPTFGQGTK VEIK	VL; F2 (SEQ ID NO: 89)
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTNNGINWL RQAPGQGLEWMGEIY PRSTNTLYAQKFQGRVTITADRSSNTAYMELSSLRSED TAVYFCARTLTAPF AFWGQGT LVTVSS	VH; F3 (SEQ ID NO: 90)
QIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSGVNFMHWYQQKPGQAPKRLIFDTSK LASGVPARFSGSGSGTDYTLTISSLEPEDFAVYYCQQWFSNPPTFGQGTKVE IK	VL; F3 (SEQ ID NO: 91)
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKTSRYTFTEYTIHWVRQAPGQRLEWIGGIN PNNGIPNYNQKFQGRVTITVDTSASTAYMELSSLRSED TAVYYCARRRIAYG YDEGHAMDYWGQGT LVTVSS	VH; F4 (SEQ ID NO: 92)
DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLYSRNQKNYLAWYQQKPGQPPKL LIFWASTRESGVPDRFSGSGFGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYFSYPLT FGQGTKVEIK	VL; F4 (SEQ ID NO: 93)

[0500] TGF- β RII序列

MIVPPNNGAVKFPQLCKFCDFRSTCDNQKSCMSNCSITSICEKPQEVCAV WRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDAA SPKCIMKEKKKPGETFFMCSCS SDECNDNIIFSEEYNTSNPD	b1 (SEQ ID NO: 94)
GIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDFRSTCDNQKSCMSNCSIT SICEKPQEVCAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDAA SPKCIMKEK KKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNTSNPD	b2 (SEQ ID NO: 95)

[0501] IgG1 CH序列

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCD KTHCTCPPEAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV	CH1-3 IgG1 (SEQ ID NO: 51)
--	----------------------------------

WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	
---	--

[0502] 其中，加粗部分为Fc区。

[0503] CH1序列

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV	IgG1 CH1 (SEQ ID NO: 55)
ASVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GE	IgG1 CH1-CL Cross (SEQ ID NO: 56)

[0504] Fc区序列

EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	IgG1 Fc (SEQ ID NO: 57)
CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK	IgG1 Fc (SEQ ID NO: 58)

[0505] 所述Fc区可包含以下突变：

WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

Mutations to knock out FcγR function and/or the KIH or charged pairs mutations	Mutations to increase the Fcγ RIIB binding
N297A, L234F/L235E/P331S, L234A/L235A/P329G Y349C/K370E/K409D/K439E, S354C/D356K/E357K/D399K S354C/T366W, Y349C/T366S/L368A/Y407V, L234F/L235E/P331S/Y349C/K370E/K409D/K439E L234F/L235E/P331S/S354C/D356K/E357K/D399K L234F/L235E/P331S/S354C/T366W L234F/L235E/P331S/Y349C/T366S/L368A/Y407V L234A/L235A/P329G/Y349C/K370E/K409D/K439E L234A/L235A/P329G/S354C/D356K/E357K/D399K L234A/L235A/P329G/S354C/T366W L234A/L235A/P329G/Y349C/T366S/L368A/Y407V L234F/L235E/P331S/S354C/T366W	S267E, S267E/G236D, S267E/S239D, S267E/L328F
L234F/L235E/P331S/Y349C/T366S/L368A/Y407V N297A/Y349C/K370E/K409D/K439E N297A/S354C/D356K/E357K/D399K N297A/S354C/T366W N297A/Y349C/T366S/L368A/Y407V	

[0506] 在本发明的优选实施方式中，所述Fc区具有以下序列：

WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	Fc (L234A/L235 A/P329G) (SEQ ID NO: 59)
EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRKKLTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	Fc (L234A/L235 A/P329G/S354C /D356K/E357K/ D399K) (SEQ ID NO: 60)
EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSPRDELTKNQVSLTCLVEG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVF SCSVMEALHNHYTQESLSLSPGK	Fc (L234F/L235 E/S267E/P331S) (SEQ ID NO: 61)
CDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALGAPIIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSPRDELTKNQVSLTCLVEGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQESLSLSPGK	Fc (L234A/L235 A/P329G/Y349C /K370E/K409D/ K439E) (SEQ ID NO: 62)
EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSPRDELTKNQVSLTCLVEG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVF SCSVMEALHNHYTQESLSLSPGK	Fc (L234A/L235 A/P329G/Y349C /K370E/K409D/ K439E) (SEQ ID NO: 96)
EPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRKKLTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	Fc (C220S/L234 A/L235A/P329G /S354C/D356K/ E357K/D399K) (SEQ ID NO: 97)
EPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS	Fc (C220S/L234
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALGAPIIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSPRDELTKNQVSLTCLVEG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVF SCSVMEALHNHYTQESLSLSPGK	A/L235A/P329G /Y349C/K370E/ K409D/K439E) (SEQ ID NO: 98)

[0507] IgG4 CH序列

WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKRV ESKYGP PCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVQLHQLDNLNGKEYKCKVSNK GLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQKMKTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLKSDGSPFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV HEALHNHYTQKSLSLGLGK	CH1-3 IgG4 (S228P) (SEQ ID NO: 63) CH1: SEQ ID NO: 64 Fc: SEQ ID NO: 65
---	--

[0508] 其中，加粗部分为Fc区。

[0509] 所述Fc区可包含以下突变：

Mutations of the KIH or the charged pairs	Mutations to increase the Fcγ RIIB binding
Y349C/K370E/R409D/K439E, S354C/E356K/E357K/D399K, S354C/T366W, Y349C/T366S/L368A/Y407V	S228P/S267E, S228P/S267E/G236D, S228P/S267E/S239D, S228P/S267E/L328F

[0510] 在本发明的另一优选实施方式中，上述Fc区C末端的赖氨酸(K)被去除，从而减少抗体的电荷异构体形成。

[0511] CL序列

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC	CL; Kappa (SEQ ID NO: 66)
GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAG VETTTPSKQSNKYAAASSYLSTPEQWKSRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTE CS	CL; Lambda (SEQ ID NO: 67)
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC	CL-CH1 Cross (SEQ ID NO: 68)

[0512] 可选的接头序列

WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

G
GS
GSS
GSSSG
GGGGS
GGGSGGGGS
GGGSGGGSGGGGS
GGGSGGGSGGGSGGGGS
GGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS
PGGGGSP
PGGGGSPGGGGSPGGGGSP
GEPGSGE
GEPGSGE GEPGSGE
GEPGSGE GEPGS GEE GEPGSGE
EGEPGS GEE GEPGS GEE GEPGS GEE GEPGSGE
GKPGS
GKPGSGKPGS
GKPGSGKPGSGKPGS
GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS
GKPGSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGS
SSSSG
SSSSGSSSSG
SSSSGSSSSGSSSSG
SSSSGSSSSGSSSSGSSSSG
GRPGSGPGSGRPGSGRPGS
GRPGSGPGSGRPGSGRPGSGRPGS
GKPGSGRPGSGKGPSGRPGS

[0513] 实施例1本发明的多特异性抗体的制备

[0514] 根据噬菌体筛选得到的4株LRRC15抗体序列(L15-06、L15-08、L15-03和L15-07)以及L15-06的突变体序列(L15-06C)、CD40抗体序列、PD-1抗体序列、Claudin18.2抗体序列、CD3抗体序列、FAP抗体序列以及TGF- β RII序列，设计了多种多特异性抗体分子。

- [0515] 通过全基因合成的方法获得了多特异性抗体的分子序列片段基因，然后通过常规的基因克隆手段将目的序列插入到表达载体中(参见例如Lo.B.K.C methods in Molecular Biology.Volume 248,2004.Antibody Engineering)。
- [0516] 用携带多特异分子的载体转染HEK293E细胞。在37℃下，5% CO₂，培养7天，在F17培养基(1L F17+10mL 10% PF68+30ml 200mM L-glutamine)中即可产生相应的分子。表达结束，收获上清并纯化后得到多特异T细胞结合剂分子，后续可用于各项实验分析。
- [0517] 使用上述方法，制备了如下示例性多特异性分子：
- [0518] 如图1中a-b所示结构的LRRC15抗原结合结构域与CD40抗原结合结构域组成的双特异性抗体；c-d所示结构的LRRC15抗原结合结构域与CD40抗原结合结构域，PD-1或Claudin18.2抗原结合结构域组成的三特异性抗体。
- [0519] 图1中a结构的一种双特异性抗体命名为1540s，其结构如图1A所示；a结构的另一种双特异性抗体命名为1540s-3，其结构如图1B所示。此外，a结构的另外两种双特异性抗体命名为1540s-7和1540s-16。
- [0520] 图1中b结构的一种双特异性抗体命名为40d15，其结构如图1C所示。
- [0521] 图1中c结构的一种三特异性抗体命名为151840-L06，其结构如图1D所示；c结构的另一种双特异性抗体命名为15P140-L06，其结构如图1E所示。
- [0522] 图1中d结构的一种三特异性抗体命名为40d1815，其结构如图1F所示；d结构的另一种三特异性抗体命名为40dP115，其结构如图1G所示。
- [0523] 如图2中a所示结构的LRRC15抗原结合结构域与CD3抗原结合结构域组成的双特异性抗体；b,c,f,g,h,i,j,k所示结构的LRRC15抗原结合结构域与CD3抗原结合结构域和FAP抗原结合结构域组成的三特异性抗体；d和e所示结构的LRRC15抗原结合结构域与CD3抗原结合结构域、FAP抗原结合结构域和TGF- β 结合结构域组成的四特异性抗体。
- [0524] 图2中a结构的一种双特异性抗体命名为153，其结构如图2A所示。
- [0525] 图2中b结构的一种三特异性抗体命名为315F，其结构如图2B所示。
- [0526] 图2中c结构的一种三特异性抗体命名为F315，其结构如图2C所示。
- [0527] 图2中d结构的一种四特异性抗体命名为315Fb，其结构如图2D所示。

WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

[0528] 图2中e结构的一种四特异性抗体命名为F315b，其结构如图2E所示。

[0529] 图2中f结构的一种三特异性抗体命名为F153，其结构如图2F所示。

[0530] 图2中g结构的一种三特异性抗体命名为15F3，其结构如图2G所示。

[0531] 图2中h结构的一种三特异性抗体命名为153F，其结构如图2H所示。

[0532] 图2中i结构的一种三特异性抗体命名为1533F，其结构如图2I所示。

[0533] 图2中j结构的一种三特异性抗体命名为F3153，其结构如图2J所示。

[0534] 图2中k结构的一种三特异性抗体命名为F3315，其结构如图2K所示。

[0535] 本实施例中制备的示例性分子如下：

分子名称	链1 (SEQ ID NO:)	链2 (SEQ ID NO:)	链3 (SEQ ID NO:)	链4 (SEQ ID NO:)
1540s	69	70		
1540s-3	71	70		

1540s-7	118	70		
1540s-16	119	70		
40d15	72	73		
151840-L06	74	70	75	76
15P140-L06	74	70	77	78
40d1815	79	73	80	
40dP115	79	73	81	
153	99	98		
315F	99	100	101	
F315	102	103	70	
315Fb	104	105	101	
F315b	106	107	70	
F153	108	98		
15F3	109	98		
153F	99	110		
1533F	99	111		
F3153	102	112		
F3315	102	113		

[0536] 实施例2靶向LRRC15和CD40的双特异性抗体分子与CD40的结合亲和力检测

WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

[0537] 检测了双抗分子1540s及其突变体1540s-1至1540s-17与CD40的结合亲和力。其中，突变体1540s-1至1540s-17的结构与1540s相同，区别在于CD40抗原结合结构域中的可变区序列分别用VH1-7，VL8-10，VH11-17替换。

[0538] 用Octet Buffer(1XPBS+0.02%吐温)稀释待测抗体，然后依次加入到96孔黑板中，200 μ l/孔；用Octet Buffer将梯度稀释的hCD40-His蛋白依次加入到上述96孔黑板中，200 μ l/孔；把Octet Buffer依次加入到上述96孔黑板中，200 μ l/孔；把再生液(甘氨酸溶液)依次加入到上述96孔黑板中，200 μ l/孔。将探针盒准备好，并把将要用到的探针孔位加Octet Buffer，200 μ l/孔，然后把探针(AHC2.0 assay probes)放进探针孔位。把96孔黑板和探针盒一起放到ForteBio里进行检测，然后用分析软件OctetBLIAnalysis进行分析，计算出KD值。结果如下表1-1至表1-3所示。

[0539] 结果显示1540s突变体相对于原始分子，针对CD40均有亲和力下降的表现。有部分突变使1540s分子与CD40结合基本很难检测准确，标记为NA。

[0540] 表1-1

分子	KD (M)	k_{on} (1/Ms)	k_{dis} (1/s)
Seli	6.32E-10	1.56E+05	9.84E-05
1540s	5.67E-09	7.42E+04	4.21E-04
1540s-2	5.70E-09	9.98E+04	5.69E-04
1540s-6	NA		
1540s-7	3.50E-08	1.09E+05	3.81E-03
1540s-8	6.64E-09	1.01E+05	6.68E-04
1540s-9	NA		

[0541] 表1-2

WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

分子	KD (M)	kon (1/Ms)	kdis (1/s)
Seli	8.08E-10	1.20E+05	9.73E-05
1540s	9.53E-09	6.76E+04	6.45E-04
1540s-1	1.07E-08	6.82E+04	7.31E-04
1540s-3	1.57E-08	8.01E+04	1.26E-03
1540s-4	NA		
1540s-5	NA		
1540s-10	NA		

[0542] 表1-3

分子	KD (M)	kon (1/Ms)	kdis (1/s)
Seli	1.99E-09	9.06E+04	1.80E-04
1540s	1.40E-08	5.56E+04	7.80E-04
1540s-3	2.20E-08	6.55E+04	1.44E-03
1540s-11	4.45E-08	5.06E+04	2.25E-03
1540s-12	3.31E-08	6.20E+04	2.05E-03
1540s-13	4.44E-08	8.42E+04	3.73E-03
1540s-14	NA		

[0543] 表1-4

分子	KD (M)	kon (1/Ms)	kdis (1/s)
Seli	6.70E-10	8.45E+04	5.66E-05
1540s-3	1.25E-08	5.57E+04	6.95E-04
1540s-7	8.17E-08	3.64E+04	2.97E-03
1540s-15	2.66E-07	2.40E+04	6.38E-03
1540s-16	2.38E-07	2.81E+04	6.67E-03
1540s-17	3.67E-07	2.27E+04	8.33E-03

[0544] 实施例3靶向LRRC15和CD40的双特异性抗体分子的性能检测

[0545] 3.1双特异性抗体分子对DC细胞的激活

[0546] 用单核细胞分离试剂盒(cat#130-096-537,Miltenyi)从PBMC中分离出单核细胞。加入20ng/ml的GM-CSF和IL-4诱导单核细胞向DC细胞分化,7天后收获DC细胞。用PBMC缓冲液(RPMI-1640+10%FBS+1% Penstrep)洗涤表达LRRC15的CHO细胞(不表达LRRC15的野生型CHO作为对照),并以2E6个细胞/ml和梯

度稀释的待测抗体重悬。向重悬液中加入准备好的DC细胞，使E/T细胞比例在3:1。在37℃孵育24h。取上清用IL-12p40检测试剂盒测试IL-12p40的含量。

[0547] 结果如图3A和图3B所示。图3A结果显示四种双抗均比单抗对照有更好的刺激DC细胞的激活，其中1540s与1540s-3效果较好且优于1540-L06(Fc区为L234F/L235E/P331S/S267E突变，其他氨基酸序列同1540s，完整序列可参见WO2023104214 A1)和40d15。同时，在无靶细胞的情况下，四种双抗对DC细胞均无有效激活，显示了较好的安全性。图3B结果展示了另一个PBMC供体诱导的DC细胞检测1540s-3, 1540s-7, 1540s-16和对照单抗Selicrelumab的效果。结果同样显示了三种双抗均有优于单抗的信号。同时，在无靶细胞的情况下，三种双抗均无有效激活，比对照单抗有更好的安全性。

[0548] 3.2.1双特异性抗体分子对CD40报告基因的激活

[0549] 收集对数生长期的CD40效应细胞(Promega)，离心300g，5min。取1ml assay buffer(1640培养基+1%FBS)重悬细胞，计数，并用assay buffer将细胞密度调至到1.5E5/ml。

[0550] 混合均匀后，将CD40效应细胞悬液接种到96孔白板中，100 μl/孔，37℃, 5% CO₂，孵育过夜(18 - 22小时)。

[0551] 第二天，收集对数生长期的CHO-hLRRC15细胞，离心300g，5min。取1ml assay buffer(1640培养基+1%FBS)重悬细胞，计数，并用assay buffer将细胞密度调至到8E5/ml。取出前一天铺好用CD40效应细胞的96孔白板，轻轻弃掉培养基，将CHO-hLRRC15细胞悬液加到96孔白板中，50 μl/孔。将梯度稀释的抗体依次加入到上述96孔白板中，25 μl/孔，设置双复孔。置于CO₂培养箱中孵育5-6h。取出96孔白板，加入BRITELITE PLUS试剂，75 μl/孔。室温避光孵育5min，用酶标仪检测lumi读数。并用prism软件作图，计算出EC50值。

[0552] 结果如图4A和图4B所示。图4A结果显示1540s和1540s-3在有靶细胞的情况下能强烈的激活CD40报告基因信号，但在没有靶细胞(野生型CHOK1)的情况下对该信号激活减弱很多。而40d15的在无靶细胞情况下激活最弱，有较高的安全性且其有效性也高于对照的单抗selicrelumab和dacetuzuamb(对照抗体为序列一致的同名抗体生物类似药)。图4B展示了另一次独立实验，对比了另一组双抗分子和对

照单抗的效果。结果显示1540s,1540s-3,1540s-7以及1540s-16相比对照单抗均有更好的激活效果,而他们在无靶细胞(野生型CHOK1)的情况下相对于对照单抗也只有少量的激活信号,显示出良好的有效性和安全性。

[0553] 3.2.2三特异性抗体分子对CD3报告基因的激活

[0554] 采用对数生长期的CD3效应细胞(Promega)进行实验,其他实验方法步骤参考上述CD40报告基因系统,结果如图4C所示。四种三抗分子均能很好的激活CD3报告基因系统,在无靶细胞(野生型CHOK1)的情况下背景信号都很弱。而在表达LRRC15或FAP的靶细胞存在的情况下,153F相对于其他分子有更好的激活效果。

[0555] 3.3双特异性抗体刺激PBMC释放细胞因子的能力

[0556] 测定了抗体分子刺激PBMC释放细胞因子的能力,以单抗L15-06(简称L06)、selicrelumab和dacetuzuamb作为对照样品,CD3抗体(OKT3)作为阳性对照。具体方法如下:

[0557] 解冻并在96孔板用PBMC缓冲液(RPMI-1640+10%FBS+1% Penstrep)分别稀释3个不同供体(D1,D2,D3)的PBMC细胞至 10^6 个细胞/ml后,放入37℃培养箱中培养48小时。用PBMC缓冲液稀释待测抗体到10nM并加入到含PBMC细胞的96孔板中,在37℃孵育24小时。使用BD™Cytometric Bead Array(CBA)试剂盒捕获并检测培养上清中的细胞因子的含量,可以展示每种抗体刺激不同供体PBMC的细胞因子释放情况。

[0558] 结果如图5所示。结果显示,三个双抗分子在6种细胞因子上均无明显促进释放作用,而CD3抗体(OKT3)作为阳性对照均有不同程度的细胞因子释放。Untreated是未加抗体组,作为阴性对照均无明显细胞因子释放。

[0559] 实施例4靶向LRRC15和CD40的双特异性抗体分子的体内药效检测

[0560] 4.1 KPC模型中的药效

[0561] CD40人源化C57BL/6小鼠接种KPC细胞(5×10^5 细胞/只),平均肿瘤体积生长至约170mm³开始分组给药(对照组给药PBS,实验组分别给药1540s-3,1540s-7和1540s-16)。腹腔注射,每5天给药一次,共给药5次,给药剂量为10mg/kg。1540s-3,1540s-7和1540s-16均表现出明显抗肿瘤效果,TGI分别为82%,88%和5

WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

4%(图6A)。同时,三个双抗分子均未引起小鼠体重改变(图6B)。说明这些双抗分子均有效且安全。

[0562] 4.2 MC38模型中的药效

[0563] CD40人源化C57BL/6小鼠接种MC38-huLRRC15细胞(1×10^6 细胞/只),平均肿瘤体积生长至约220mm³开始分组给药(对照组给予PBS,实验组分别给药1540s, 1540s-3和40d15,给药方案如图7A中所示)。实验组三种双抗分子均展现了优异的抗肿瘤效果,与对照Selicrelumab(Seli)抗肿瘤效果类似。给药后第18天,TGI分别为106%(1540s)、105%(1540s-3)、107%(40d15)及106%(Seli)(图7A)。继续观测,双抗分子均能继续抑制肿瘤生长,但对照Selicrelumab组出现了肿瘤复发情况。体重方面,对照单抗Selicrelumab组体重下降幅度较大,然而,1540s, 1540s-3及40d15均未引起小鼠体重明显下降,说明相比于Selicrelumab, 1540s, 1540s-3及40d15更安全(图7B)。给药后24小时,对照Seli单抗组小鼠血清中的ALT和AST含量急剧升高,显示了其潜在的肝毒性风险,而三个双抗分子ALT/AST释放水平和Vehicle(PBS组)相近,均未发现明显ALT和AST升高(图7C)。

[0564] 实施例5食蟹猴预毒理实验

[0565] 对1540s-3及1540s-7进行了食蟹猴水平的预毒理评估,静脉注射,每周一次,连续给药4周(共计给药5次),给药剂量为30mg/kg。

[0566] 结果显示,体重无明显变化(如图8),临床观察无明显异常,大体解剖未发现肉眼异常改变。首次给药后6小时,24小时,72小时,168小时以及第2次-第5次给药后24h均未检测到明显细胞因子变化,IL-12水平在各个检测时间点均处于定量下限(9.77pg/mL)(表2)。相比之下,有文献报道Selicrelumab在5mg/kg,皮下给药方式下即可显著激活IL-12产生,且脾脏出现明显肿大。说明1540s-3与1540s-7相对于Selicrelumab,安全性明显提高。

[0567] 表2

WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

细胞因子					
指标	测定时间	1M001	1F001	2M001	2F001
IL-2 (pg/mL)					
	第 1 次给药前	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	第 1 次给药后 6 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	第 1 次给药后 24 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	第 1 次给药后 72 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	第 1 次给药后 168 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	第 2 次给药后 24 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	第 3 次给药前	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	第 3 次给药后 24 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	第 4 次给药前	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	第 4 次给药后 24 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	第 4 次给药后 168 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ

WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

	第 5 次给药后 24 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
IL-6 (pg/mL)					
	第 1 次给药前	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	第 1 次给药后 6 小时	BLQ	BLQ	130.7	83.3
	第 1 次给药后 24 小时	BLQ	BLQ	BLQ	45.62
	第 1 次给药后 72 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	第 1 次给药后 168 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	第 2 次给药后 24 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	第 3 次给药前	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	第 3 次给药后 24 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	第 4 次给药前	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	第 4 次给药后 24 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	第 4 次给药后 168 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	第 5 次给药后 24 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
TNF- α (pg/mL)					
	第 1 次给药前	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	第 1 次给药后 6 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	第 1 次给药后 24 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	第 1 次给药后 72 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	第 1 次给药后 168 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	第 2 次给药后 24 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	第 3 次给药前	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	第 3 次给药后 24 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	第 4 次给药前	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	第 4 次给药后 24 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	第 4 次给药后 168 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	第 5 次给药后 24 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
IFN- γ (pg/mL)					
	第 1 次给药前	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	第 1 次给药后 6 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	第 1 次给药后 24 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	第 1 次给药后 72 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	第 1 次给药后 168 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	第 2 次给药后 24 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	第 3 次给药前	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	第 3 次给药后 24 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	第 4 次给药前	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	第 4 次给药后 24 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	第 4 次给药后 168 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	第 5 次给药后 24 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
G-CSF (pg/mL)					
	第 1 次给药前	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	第 1 次给药后 6 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	第 1 次给药后 24 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	第 1 次给药后 72 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	第 1 次给药后 168 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ

WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

	第 2 次给药后 24 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	注：表中BLQ表
	第 3 次给药前	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	
	第 3 次给药后 24 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	
	第 4 次给药前	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	
	第 4 次给药后 24 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	
	第 4 次给药后 168 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	
	第 5 次给药后 24 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	
IL-12p70 (pg/mL)						
	第 1 次给药前	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	
	第 1 次给药后 6 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	
	第 1 次给药后 24 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	
	第 1 次给药后 72 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	
	第 1 次给药后 168 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	
	第 2 次给药后 24 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	
	第 3 次给药前	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	
	第 3 次给药后 24 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	
	第 4 次给药前	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	
	第 4 次给药后 24 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	
	第 4 次给药后 168 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	
	第 5 次给药后 24 小时	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	

示低于定量下限。

[0568] 在本发明提及的所有文献都在本申请中引用作为参考，就如同每一篇文献被单独引用作为参考那样。此外应理解，在阅读了本发明的上述讲授内容之后，本领域技术人员可以对本发明作各种改动或修改，这些等价形式同样落于本申请所附权利要求书所限定的范围。

权利要求书

- [权利要求 1] 一种多特异性抗体，其特征在于，所述多特异性抗体包含：
第一靶向结构域，所述第一靶向结构域包含一个或多个LRRC15抗原结合结构域；
第二靶向结构域，所述第二靶向结构域包含一个或多个CD40抗原结合结构域，或一个或多个CD3抗原结合结构域；
任选地，包含第三靶向结构域，所述第三靶向结构域与选自下组的靶蛋白结合：PD-1、Claudin18.2(CLDN18.2)、FAP；和/或第四靶向结构域，所述第四靶向结构域与TGF- β 结合。
- [权利要求 2] 如权利要求1所述的多特异性抗体，其特征在于，所述多特异性抗体为双特异性、三特异性或四特异性抗体。
- [权利要求 3] 如权利要求2所述的多特异性抗体，其特征在于，所述双特异性抗体包含：
第一靶向结构域，所述第一靶向结构域包含一个或多个LRRC15抗原结合结构域；和第二靶向结构域，所述第二靶向结构域包含一个或多个CD40抗原结合结构域，或一个或多个CD3抗原结合结构域。
- [权利要求 4] 如权利要求2所述的多特异性抗体，其特征在于，所述三特异性抗体包含：
第一靶向结构域，所述第一靶向结构域包含一个或多个LRRC15抗原结合结构域；
第二靶向结构域，所述第二靶向结构域包含一个或多个CD40抗原结合结构域；和
第三靶向结构域，所述第三靶向结构域为Claudin18.2或PD-1抗原结合结构域。
- [权利要求 5] 如权利要求2所述的多特异性抗体，其特征在于，所述三特异性抗体包含：

WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

第一靶向结构域，所述第一靶向结构域包含一个或多个LRRC15抗原结合结构域；

第二靶向结构域，所述第二靶向结构域包含一个或多个CD3抗原结合结构域；和

第三靶向结构域，所述第三靶向结构域为FAP抗原结合结构域。

[权利要求 6]

如权利要求2所述的多特异性抗体，其特征在于，所述四特异性抗体包含：

第一靶向结构域，所述第一靶向结构域包含一个或多个LRRC15抗原结合结构域；

第二靶向结构域，所述第二靶向结构域包含一个或多个CD3抗原结合结构域；

第三靶向结构域，所述第三靶向结构域为FAP抗原结合结构域；和
第四靶向结构域，所述第四靶向结构域为TGF- β 抗原结合结构域。

[权利要求 7]

如权利要求1所述的多特异性抗体，其特征在于，所述LRRC15抗原结合结构域包含选自下组的三个重链可变区CDR(HCDR)，以及三个轻链可变区CDR(LCDR)：

抗体名称	HCDR1的序列编号	HCDR2的序列编号	HCDR3的序列编号	LCDR1的序列编号	LCDR2的序列编号	LCDR3的序列编号
L15-06/ L15-06C	33	34	35	45	46	47
L15-08	36	37	38	45	48	49
L15-03	39	40	41	50	51	52
L15-07	42	43	44	50	51	53

9

[权利要求 8]

如权利要求1所述的多特异性抗体，其特征在于，所述CD40抗原结合结构域包含如SEQ ID NO:11, 13-23, 114-116中任一项所示的氨基酸序列的重链可变区，和如SEQ ID NO:12所示的氨基酸序列的轻链可变区；或

包含如SEQ ID NO:11所示的氨基酸序列的重链可变区，和如SEQ ID NO:12, 24-26中任一项所示的氨基酸序列的轻链可变区；或

WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

如SEQ ID NO:27所示的重链可变区，和如SEQ ID NO:28所示的轻链可变区。

[权利要求 9] 如权利要求1所述的多特异性抗体，其特征在于，所述CD3抗原结合结构域包含与如SEQ ID NO:82-84，117任一项所示的氨基酸序列具有至少80%的序列同一性的重链可变区，和与如SEQ ID NO:85所示的氨基酸序列具有至少80%的序列同一性的轻链可变区。

[权利要求 10] 如权利要求1所述的多特异性抗体，其特征在于，所述PD-1抗原结合结构域包含与如SEQ ID NO:29所示的氨基酸序列具有至少80%的序列同一性的重链可变区，和与如SEQ ID NO:30所示的氨基酸序列具有至少80%的序列同一性的轻链可变区。

[权利要求 11] 如权利要求1所述的多特异性抗体，其特征在于，所述Claudin18.2抗原结合结构域包含与如SEQ ID NO:31所示的氨基酸序列具有至少80%的序列同一性的重链可变区，和与如SEQ ID NO:32所示的氨基酸序列具有至少80%的序列同一性的轻链可变区。

[权利要求 12] 如权利要求1所述的多特异性抗体，其特征在于，所述FAP抗原结合结构域包含与如SEQ ID NO:86所示的氨基酸序列具有至少80%的序列同一性的重链可变区，和与如SEQ ID NO:87所示的氨基酸序列具有至少80%的序列同一性的轻链可变区；或与如SEQ ID NO:88所示的氨基酸序列具有至少80%的序列同一性的重链可变区，和与如SEQ ID NO:89所示的氨基酸序列具有至少80%的序列同一性的轻链可变区；或与如SEQ ID NO:90所示的氨基酸序列具有至少80%的序列同一性的重链可变区，和与如SEQ ID NO:91所示的氨基酸序列具有至少80%的序列同一性的轻链可变区；或与如SEQ ID NO:92所示的氨基酸序列具有至少80%的序列同一性的重链可变区，和与如SEQ ID NO:93所示的氨基酸序列具有至少80%的序列同一性的轻链可变区。

[权利要求 13] 一种多核苷酸，所述多核苷酸编码如权利要求1-12中任一项所述的多特异性抗体。

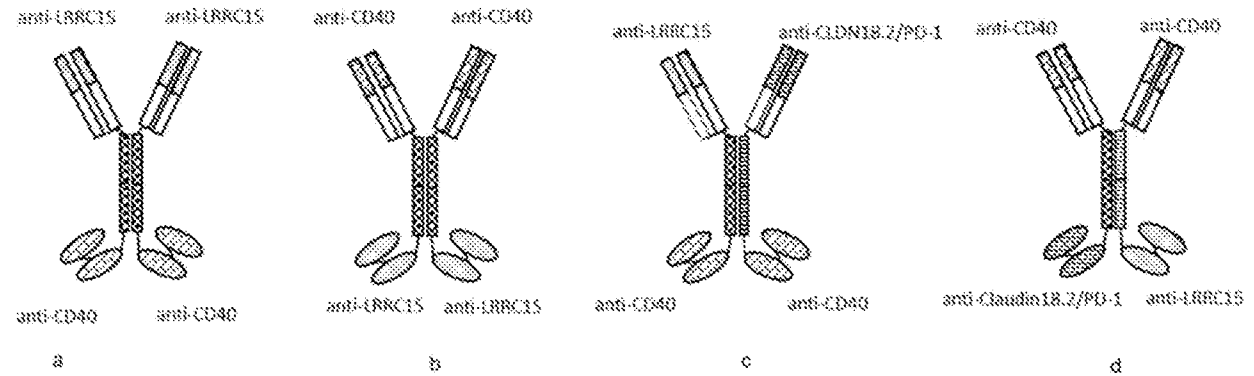
WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

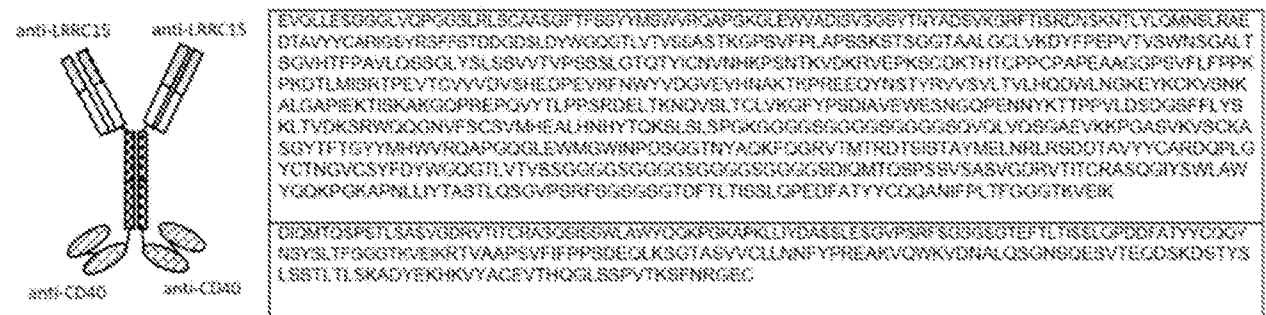
[权利要求 14] 一种如权利要求1所述的多特异性抗体的用途，用于制备用于治疗癌症/肿瘤、和/或纤维化疾病的药物。

[权利要求 15] 一种药物组合物，所述药物组合物包含：(a)如权利要求1所述的多特异性抗体；和(b)药学上可接受的载体。

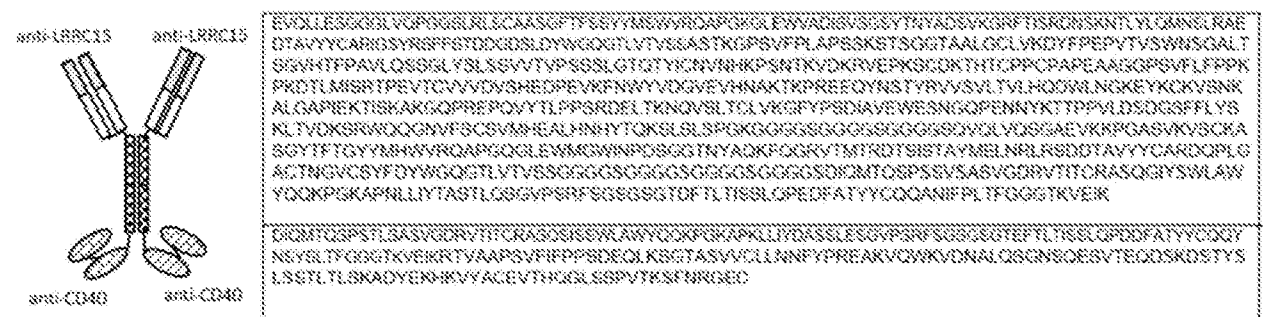
PCT/CN2025/075637



[図 1A]



[图 1B]



[図 1C]



PCT/CN2025/075637

```

EVLVESSGSLVQPGSSRLSCAASBYSTFYHMYRQAPGKGLNVARVPNAGSTSYNCKFXGFFTLVONSHNTAYLOMNL
RAEDTAIVYVCAREGFWWGOOTLVTVSSASTKGPSPFPLAPSSGRTSGDTAALGCLVNDYFPEPVTYVSNVSGALTSQVHTFPAVLQS
SGLYSLSESVTVYPPSSSLGTQTYCNVNNHPSNTKVDRVREPSDCKTHTCPPCAPPEAAAGGSPFLFPPPHKGTJMSERTPREVTCVYV
DVSHDEPFWKFWYVQGVNHNKTKPREEQYNSTRVAVSLVLDHGVNKNKEYKXCKVSNALGAPBKTISKAKGQPREPQVTL
PPCRNKLTHNGVSLTDLVEGVFSDIAVEVESNGSGPNNKYTPFPALDSDGSFFLYEKLTVDSNRVQDGNVFCSEVAEALHNHYT
QKSLSLSPKGGSGGGGGGGGGGGGGGGVQLLEGQGLVQSGAEVHPGASGVNVCCKADGYTPTNSGGHGVPRGAPQGLKLVWQWNTITQEP
TFAEFPRGPRVITHTDTSITAYMELSLRLSDDTAVVYCAKYVYNGSNFAYWGOOTLVTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG
QSDQNTQSPSLTASVGDVYTTTCRAQGGSSGLAWVQGPQPKAPLLYDASLSEVPSRFGSGSGSGTFTLTISSLGPDDFATYV
CQNNVYFSLTFGGDTVEIK
EVLVESSGSLVQPGSSRLSCAASBYSTFYHMYRQAPGKGLNVARVPNAGSTSYNCKFXGFFTLVONSHNTAYLOMNL
RAEDTAIVYVCAREGFWWGOOTLVTVSSASTKGPSPFPLAPSSGRTSGDTAALGCLVNDYFPEPVTYVSNVSGALTSQVHTFPAVLQS
SGLYSLSESVTVYPPSSSLGTQTYCNVNNHPSNTKVDRVREPSDCKTHTCPPCAPPEAAAGGSPFLFPPPHKGTJMSERTPREVTCVYV
DVSHDEPFWKFWYVQGVNHNKTKPREEQYNSTRVAVSLVLDHGVNKNKEYKXCKVSNALGAPBKTISKAKGQPREPQVTL
PPSRDELTHNGVSLTDLVEGVFSDIAVEVESNGSGPNNKYTPFPALDSDGSFFLYEKLTVDSNRVQDGNVFCSEVAEALHNHYT
QKSLSLSPKGGGGGGGGGGGGGGGGGGVQLLEGQGLVQSGAEVHPGASGVNVCCKADGYTPTNSGGHGVPRGAPQGLKLVWQWNTITQEP
TFAEFPRGPRVITHTDTSITAYMELSLRLSDDTAVVYCAKYVYNGSNFAYWGOOTLVTVSSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG
QSDQNTQSPSLTASVGDVYTTTCRAQGGSSGLAWVQGPQPKAPLLYDASLSEVPSRFGSGSGSGTFTLTISSLGPDDFATYV
CQNNVYFSLTFGGDTVEIK
OQMTGSPSSLASVGDVYTTTCRSSGSLVHSHGNTLHNYGQKQPKAPLLYTVSNRFPSSPSPSSSGSGTQFTLTISSLQPEDF
ATYFCGGTQTHFWPTFGQGHKVYAEKRTVAAPSPFPSSGSLKSGTAGVCLLNHNYPREARQGWVNDNALSGVSHQESVTEODSGD
STYLSSTLTLSKADYEGHKKYAEQVTHDGLSESPVTFPNNRSGC

```

PCT/CN2025/075637

[illegible]

EVOLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKCLEWVADISVSGSYTNYADSVKGRFTISR
DINSKNTLYQMNSLRAEDTAVYYCARIGSYRSFFSDDDDSLDYWGQGLTVTVSSGGGGGSGGGGSGGGGSG
GGGGSGDIQMTQSPSTLSASVGDRVITTCRASGSSISLLAWYQKPKAPKLLIDASSLESGVPSRFSGSGSG
GTEFTLTISLQPDFAFYVYCCQYNYSYSLTFCGCGTKVEIKSGGGGSEVLVSGGGGLVQPGGSLRLSCAASG
FTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKANNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYQMNSLRAEDTAVYYC
VRHGNFGDSYVSWFYEWGGGLTVTVSSGGGGGSGGGGSGGGGSGQAVYTQEPSTLVSPGGTVTLTCSGSTG
AVTTNANYANVQXKPGKSPROLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAAITSGAQPEDAADYYCALWYSNHW
FYDGGDGKLTYLEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVYVDVSHEDPEVKFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLDHDDWLNQKEYKCKVSNKALGAPIEKTIKAKGQPREPOVY
TLPPCRKMLTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLKSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGN
VFCSSVMHEALHNHYTQKLSLSPGK

EPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVYVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLDHDDWLNQKEYKCKVSNKALGAPIEKTIKAKGQPREPOVCTLPPSRDELTK
NQVSLTCLVEGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEA
LHNHYTQESLSLSPGK

[illegible]

WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

[图 2C]



[图 2D]



[图 2E]



WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

[图 2F]



[图 2G]



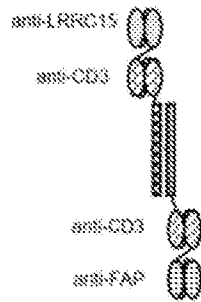
[图 2H]



WO 2025/162477

PCT/CN2025/075637

[图 21]

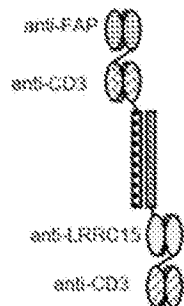


```

EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMSWVRQAPGKCLEWVADISVSGSYTNYADSVKGRFTISR
DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIGSYRSFFSTDDGSDLDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG
GGGGSDIQMTQSPSTLSASVGGORYTTCRASQSISSWLAWYQQKPKGKAPKLLIYDASSLESQVPSRFSGSGS
GTEFTLTISISLPDDFATYYCQQYNSYSLTFGCCTKVEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG
FTFSTYAMNWVRQAPGKCLEWVGRIIRSKANNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC
VRHGNFGDSYVSWFEYWGGGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGQAVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSSTG
AVTTSNYANWVQOKPGKSPRLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWV
VFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW
YVGGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVY
TLPPCRKKLTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVKLSQGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN
VFSCSVMHAEALHNHYTQKSLSLSPGK
EPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVGGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPOVCTLPSPRDELTK
NQVSLTCLVEGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSGLTVDKSRWQQGNVPSFSVMHEA
LHNHYTQESLSLSPGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKCLEWVG
RIIRSKANNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFEYWGGGLTV
TVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGQAVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSSTGAVTTSNYANWVQOK
GTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLSSGGGSEVQLLES
GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYMSWVRQAPGKCLEWVSAHSGASTYYADSVKGRFTISRDNKNTLY
YLMNSLRAEDTAVYYCAKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSGLTVDKSRWQQGNVPS
SLSPGERATLSCRASQSVTSSYLAWYQQKPKQAPRLLINVGSRPATGIPDRFSQSGSGTDFLTISRLEPEDF
AVYYCQGGIMLPPTFGCGTKVEIK

```

[图 22]

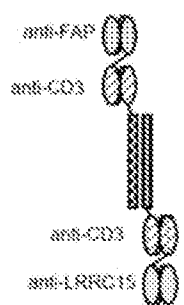


```

EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYMSWVRQAPGKCLEWVSAHSGASTYYADSVKGRFTISR
DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSGLTVDKSRW
QQGNVPSFSVMHEALHNHYTQESLSLSPGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN
WVRQAPGKCLEWVGRIIRSKANNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGD
SYVSWFEYWGGGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGQAVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSSTGAVTT
SNYANWVQOKPGKSPRLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTK
LTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVGGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCR
KKLTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVKLSQGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVPSFSVM
HEALHNHYTQKSLSLSPGK
EPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVGGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSPRDELTK
NQVSLTCLVEGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSGLTVDKSRWQQGNVPSFSVMHEA
LHNHYTQESLSLSPGSGGGGSEVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYMSWVRQAPGKCLEWV
ADISVSGSYTNYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARIGSYRSFFSTDDGSDLDYWGQGL
TVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSTLSASVGGORYTTCRASQSISSWLAWYQQK
PKGKAPKLLIYDASSLESQVPSRFSGSGSGTEFTLTISISLPDDFATYYCQQYNSYSLTFGCCTKVEIKSG
GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKCLEWVGRIIRSKANNYATYYADSV
KGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFEYWGGGLTVTVSSGGGGSGGGGSG
GGGSGGGGSGQAVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSSTGAVTTSNYANWVQOKPGKSPRLIGGTNKRAPGV
PARFSGSLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

```

[图 2K]



```

EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYMSWVRQAPGKCLEWVSAHSGASTYYADSVKGRFTISR
DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSGLTVDKSRW
QQGNVPSFSVMHEALHNHYTQESLSLSPGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN
WVRQAPGKCLEWVGRIIRSKANNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGD
SYVSWFEYWGGGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGQAVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSSTGAVTT
SNYANWVQOKPGKSPRLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTK
LTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVGGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCR
KKLTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVKLSQGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVPSFSVM
HEALHNHYTQKSLSLSPGK
EPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVGGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSPRDELTK
NQVSLTCLVEGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSGLTVDKSRWQQGNVPSFSVMHEA
LHNHYTQESLSLSPGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKCLEWVG
RIIRSKANNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFEYWGGGLTV
TVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGQAVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSSTGAVTTSNYANWVQOK
GTNKRAPGVPARFSGSLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLSSGGGSEVQLLES
GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYMSWVRQAPGKCLEWVADISVSGSYTNYADSVKGRFTISRDNKNT
LYLQMNSLRAEDTAVYYCARIGSYRSFFSTDDGSDLDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG
SDIQMTQSPSTLSASVGGORYTTCRASQSISSWLAWYQQKPKGKAPKLLIYDASSLESQVPSRFSGSGSGTEFT
LTISISLPDDFATYYCQQYNSYSLTFGCCTKVEIK

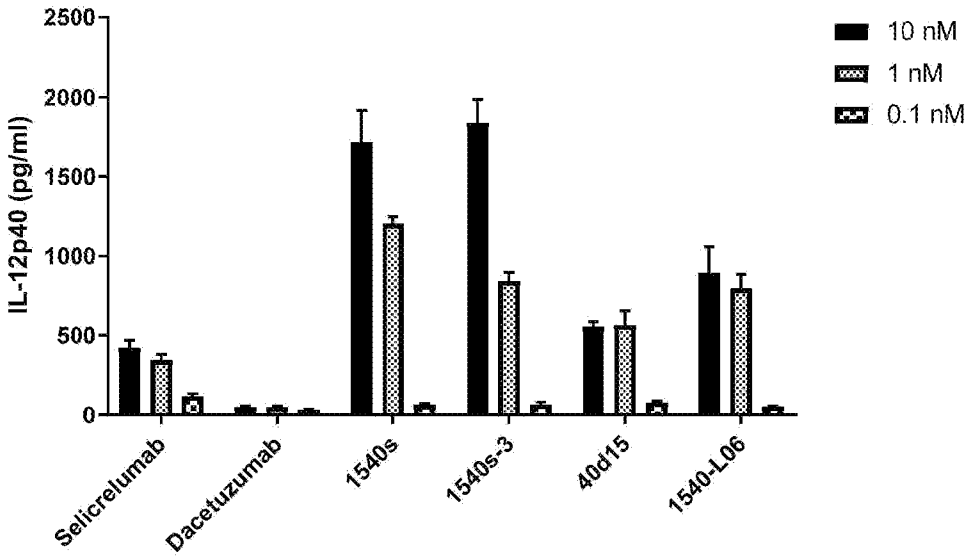
```

WO 2025/162477

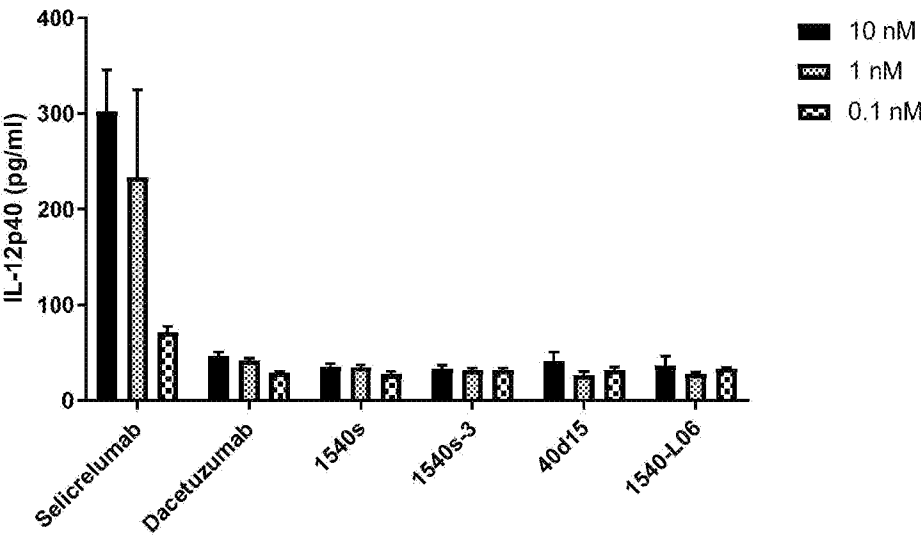
PCT/CN2025/075637

[图 3A]

含 CHO 表达人 LRRC15 下的 DC 细胞激活



无 CHO 表达人 LRRC15 下的 DC 细胞激活



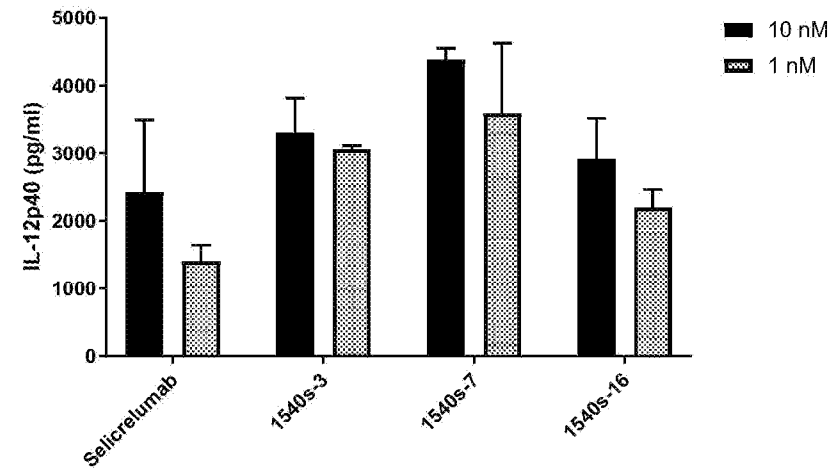
细则 26,
11.04.2025

WO 2025/162477

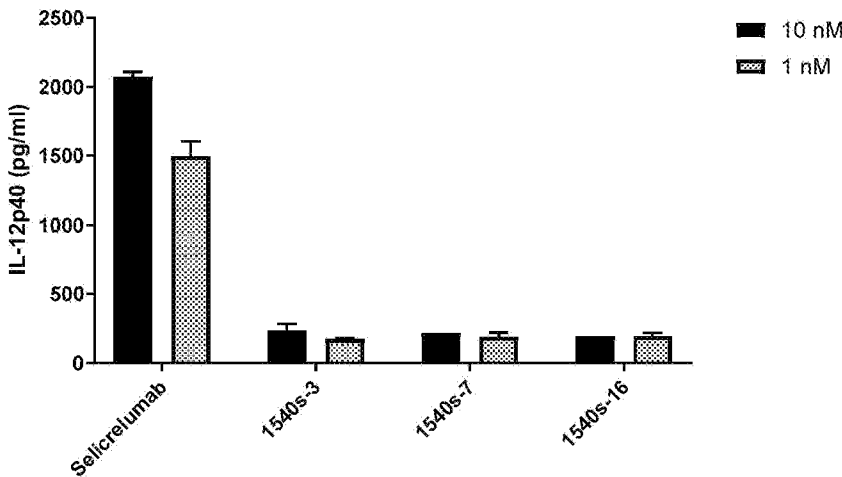
PCT/CN2025/075637

[图 3B]

含 CHO 表达人 LRRC15 下的 DC 细胞激活



无 CHO 表达人 LRRC15 下的 DC 细胞激活



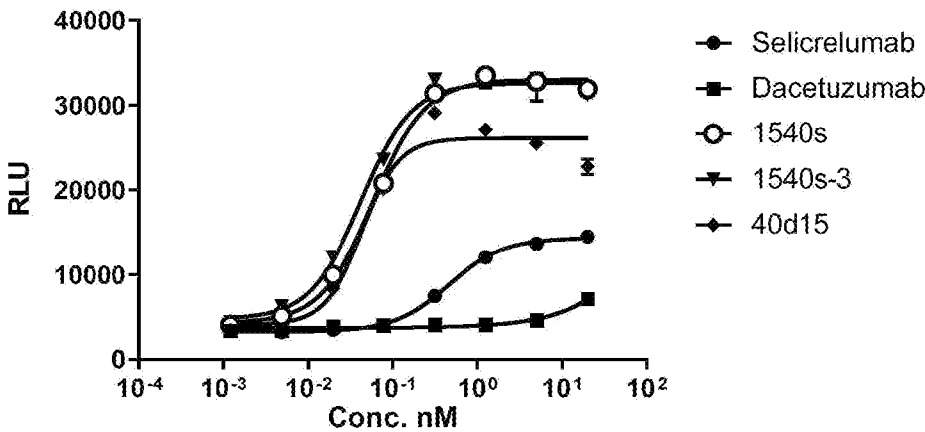
细则 26,
11.04.2025

WO 2025/162477

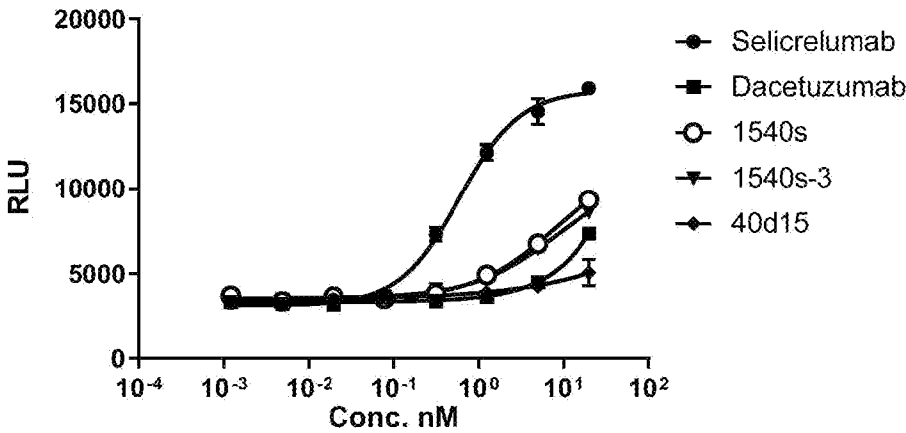
PCT/CN2025/075637

[图 4A]

CD40 报告基因信号对于 CHOK1 表达人 LRRC15



CD40 报告基因信号对于野生型 CHOK1



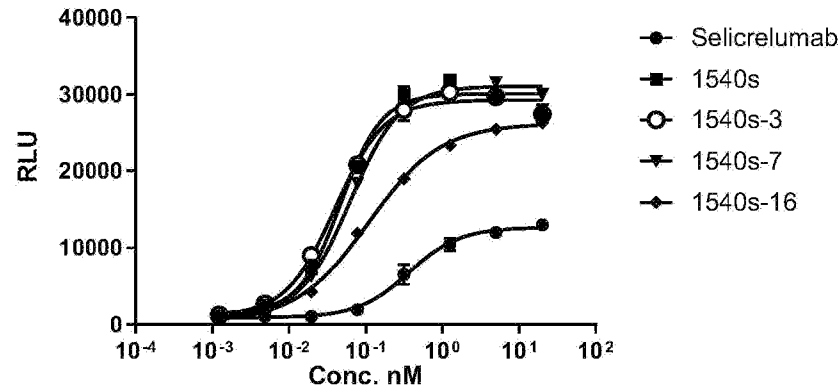
细则 26,
11.04.2025

WO 2025/162477

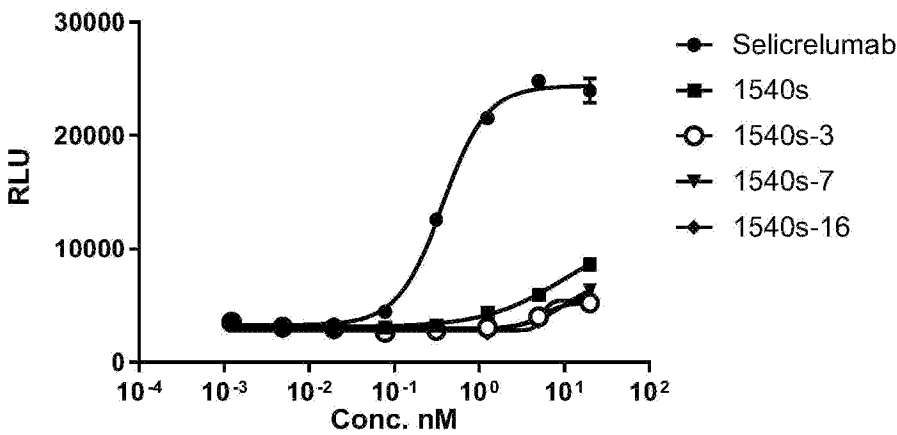
PCT/CN2025/075637

[图 4B]

CD40 报告基因信号对于CHOK1表达人LRRC15



CD40 报告基因信号对于野生型 CHOK1

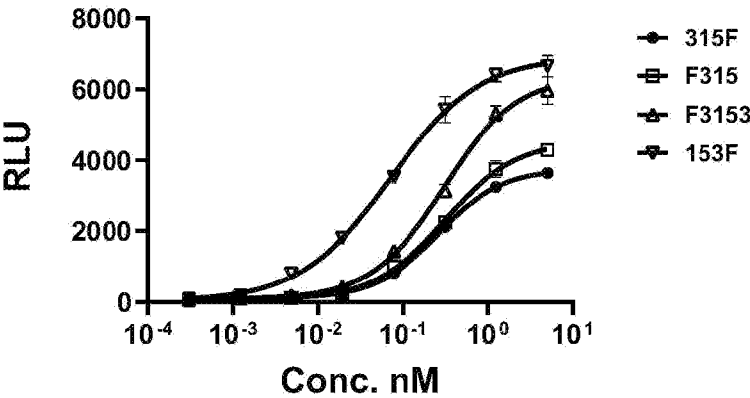


WO 2025/162477

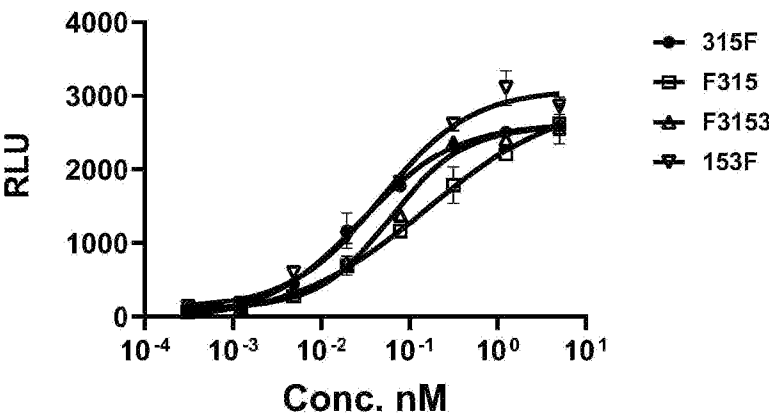
PCT/CN2025/075637

[图 4C]

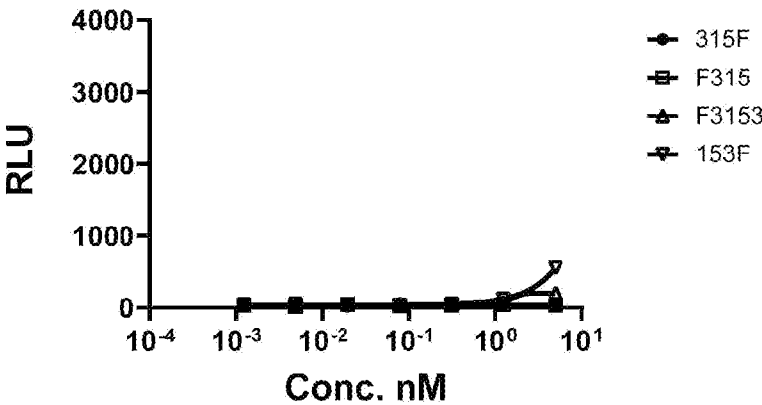
CD3 报告基因信号对于 CHOK1 表达人 LRRC15



CD3 报告基因信号对于 CHOK1 表达人 FAP



CD3 报告基因信号对于野生型 CHOK1

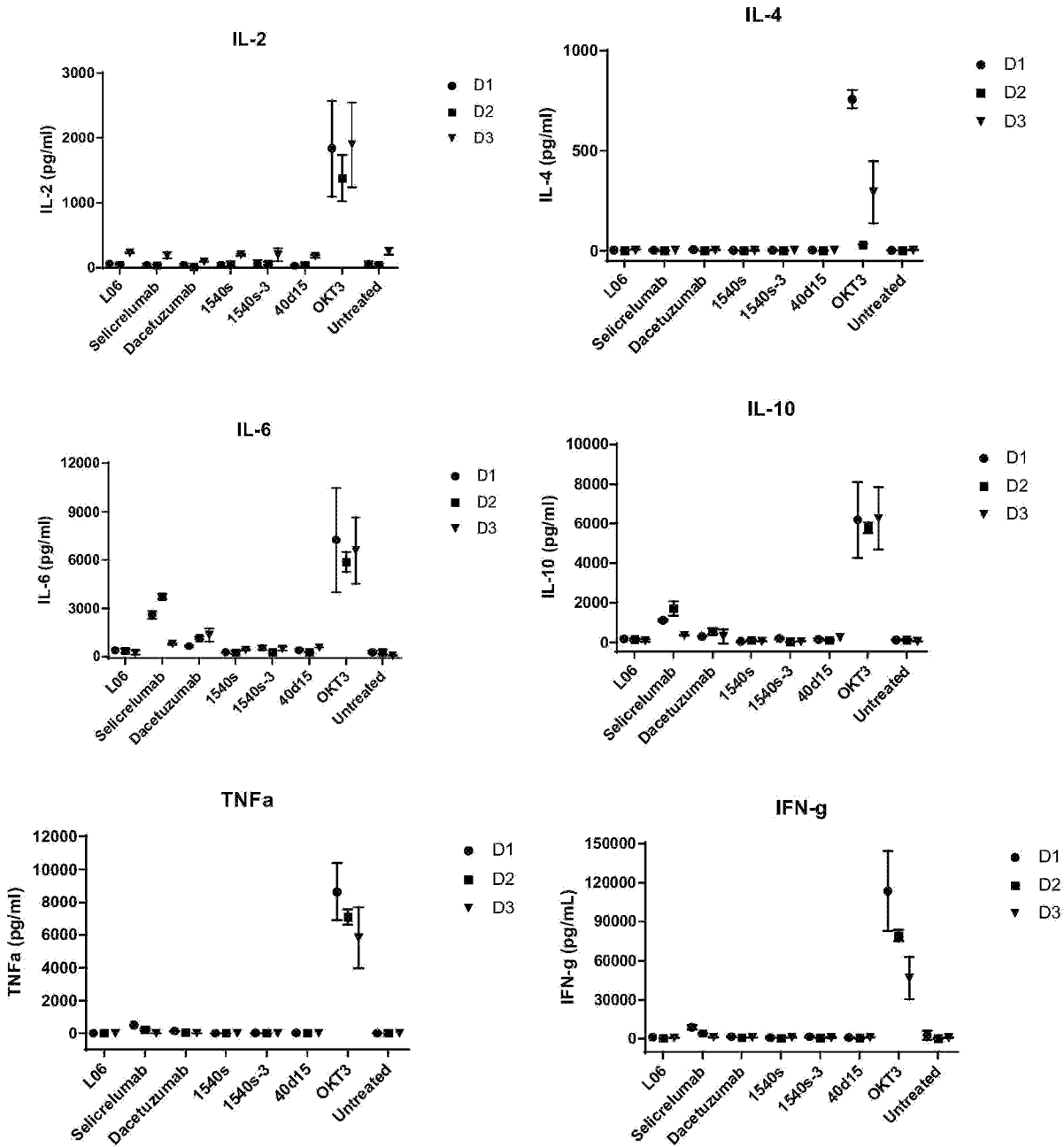


细则 26,
11.04.2025

WO 2025/162477

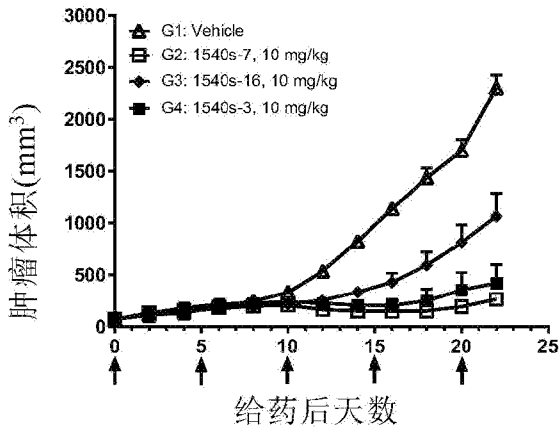
PCT/CN2025/075637

[图 5]



[图 6A]

荷载 KPC 的 CD40 人源化 C57BL/6 小鼠

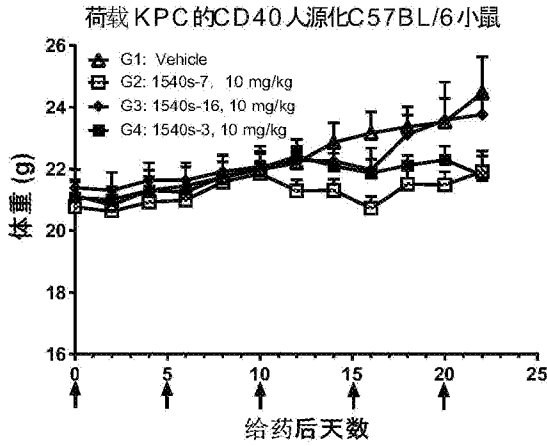


细则 26,
11.04.2025

WO 2025/162477

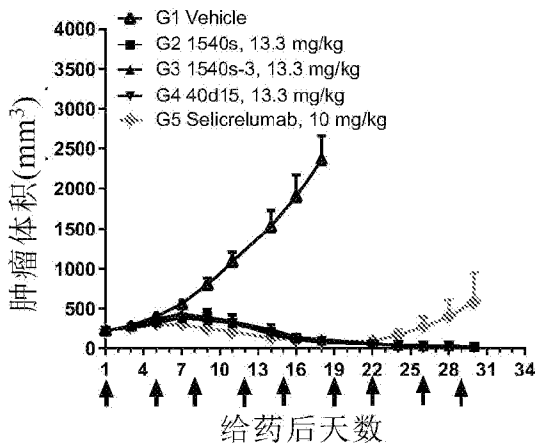
PCT/CN2025/075637

[图 6B]



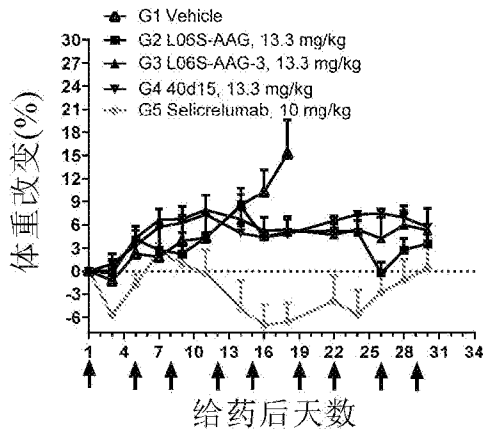
[图 7A]

荷载 MC38-hLRRC15 的 CD40 人源化小鼠



[图 7B]

荷载 MC38-hLRRC15 的 CD40 人源化 C578BL/6 小鼠



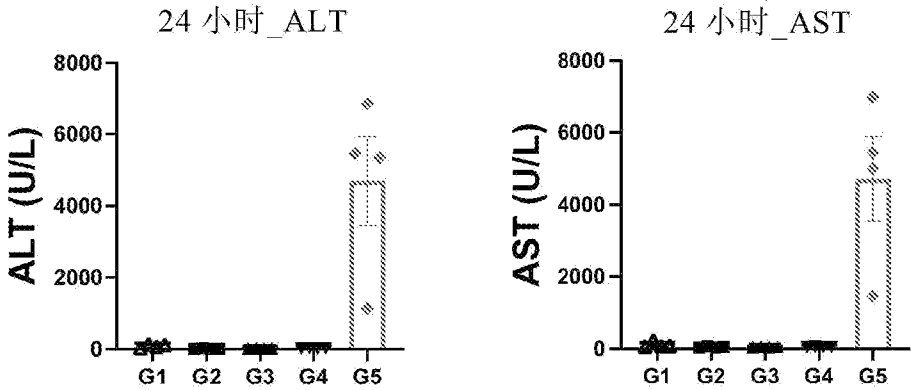
细则 26,
11.04.2025

细则 26,
11.04.2025

WO 2025/162477

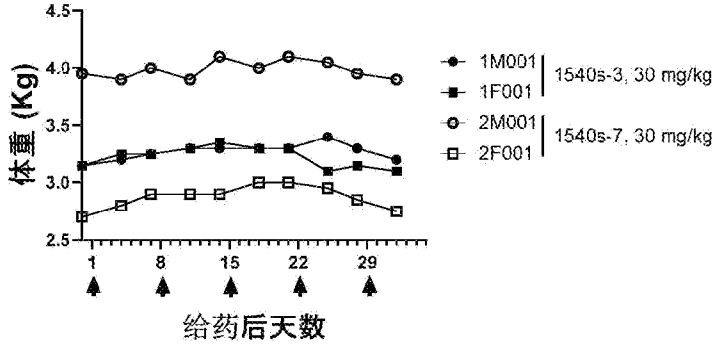
PCT/CN2025/075637

[图 7C]



细则 26,
11.04.2025

[图 8]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2025/075637

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K39/00(2006.01)i; A61K39/395(2006.01)i; A61K47/68(2017.01)i; A61P35/00(2006.01)i; C07K16/18(2006.01)i; C07K16/28(2006.01)i; C07K16/30(2006.01)i; C07K16/32(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)

IPC: A61K, A61P, C07K

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)

WPABS, WPABSC, DWPI, CNTXT, ENTXT, ENTXTC, CNKI, Web of Science, Elsevier Science, 超星读秀, Chaoxing Duxiu, 中国专利生物序列检索系统, China Patent Biological Sequence Search System, STN: 富含亮氨酸重复序列15, Leucine-rich repeat containing protein 15, LRRC15, CD40, CD3, PD-1, Claudin18.2, CLDN18.2, FAP, TGF-β, 对SEQ ID NOs: 1, 6, 11, 12, 33-35, 45-47进行序列检索, search for SEQ ID NOs: 1, 6, 11, 12, 33-35 and 45-47

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 116253802 A (SUZHOU ZELGEN BIOPHARMACEUTICALS CO., LTD.) 13 June 2023 (2023-06-13) see claims 1, 7 and 10; description, paragraphs 142 and 240-249; and sequence listing	1-15 (in part)
X	WO 2023104214 A1 (SUZHOU ZELGEN BIOPHARMACEUTICALS CO., LTD. et al.) 15 June 2023 (2023-06-15) see description, pages 23-25, claims 1-12, and sequence listing	1-15 (in part)
A	CN 113677703 A (ALLIGATOR BIOSCIENCE AB) 19 November 2021 (2021-11-19) see claim 1, and SEQ ID NOs: 27 and 25	1-15 (in part)
A	CN 103450360 A (PFIZER PRODUCTS INC. et al.) 18 December 2013 (2013-12-18) see claim 1, and SEQ ID NOs: 42 and 44	1-15 (in part)

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ 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
 “D” document cited by the applicant in the international application
 “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 15 April 2025	Date of mailing of the international search report 25 April 2025
Name and mailing address of the ISA/CN China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088	Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2025/075637

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.
 - b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)),
☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.
2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.
3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2025/075637

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:

Invention 1: Claims 1-15 (in part) relate to a multispecific antibody, the multispecific antibody containing: a first targeting domain, the first targeting domain containing one or more LRRC15 antigen-binding domains; and a second targeting domain, the second targeting domain containing one or more CD40 antigen-binding domains, wherein the LRRC15 antigen-binding domain contains HCDR1-3 as shown in SEQ ID NOs: 33-35 and LCDR1-3 as shown in SEQ ID NOs: 45-47; and the CD40 antigen-binding domain contains a heavy chain variable region as shown in SEQ ID NO: 11 and a light chain variable region as shown in SEQ ID NO: 12.

Invention 2: Claims 1-15 (in part) relate to a multispecific antibody, the multispecific antibody containing: a first targeting domain, the first targeting domain containing one or more LRRC15 antigen-binding domains; and a second targeting domain, the second targeting domain containing one or more CD40 antigen-binding domains, wherein the LRRC15 antigen-binding domain contains HCDR1-3 as shown in SEQ ID NOs: 36-38 and LCDR1-3 as shown in SEQ ID NOs: 45, 48 and 49; and the CD40 antigen-binding domain contains a heavy chain variable region as shown in SEQ ID NO: 11 and a light chain variable region as shown in SEQ ID NO: 12.

...

Invention 76: Claims 1-15 (in part) relate to a multispecific antibody, the multispecific antibody containing: a first targeting domain, the first targeting domain containing one or more LRRC15 antigen-binding domains; and a second targeting domain, the second targeting domain containing one or more CD40 antigen-binding domains, wherein the LRRC15 antigen-binding domain contains HCDR1-3 as shown in SEQ ID NOs: 42-44 and LCDR1-3 as shown in SEQ ID NOs: 50, 51 and 53; and the CD40 antigen-binding domain contains a heavy chain variable region as shown in SEQ ID NO: 27 and a light chain variable region as shown in SEQ ID NO: 28.

The same technical features between the above inventions are: a multispecific antibody, wherein the multispecific antibody contains: a first targeting domain, the first targeting domain containing one or more LRRC 15 antigen-binding domains; and a second targeting domain, the second targeting domain containing one or more CD40 antigen-binding domains. CN 116253802 A (publication date: 13 June 2023) discloses a multispecific T-cell engager, wherein the multispecific T-cell engager contains: a first targeting domain, the first targeting domain containing one or more LRRC15 antigen-binding domains; and a second targeting domain, the second targeting domain binds to a target protein selected from the following group: CD3, CD28, CD40, or CD137 (see claim 1). On the basis that the technical features are disclosed in the prior art CN 116253802 A, the technical features are not special technical features that makes a contribution over the prior art. Therefore, the above inventions do not have a same or corresponding special technical feature, do not belong to a single general inventive concept, lack unity of invention, and do not comply with PCT Rule 13.1, 13.2 and 13.3.

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.: **Claims 1-15 (in part), which relate to a multispecific antibody, the multispecific antibody containing: a first targeting domain, the first targeting domain containing one or more LRRC15 antigen-binding domains; and a second targeting domain, the second targeting domain containing one or more CD40 antigen-binding domains, wherein the LRRC15 antigen-binding domain contains HCDR1-3 as shown in SEQ ID NOs: 33-35 and LCDR1-3 as shown in SEQ ID NOs: 45-47; and the CD40**

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2025/075637

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

antigen-binding domain contains a heavy chain variable region as shown in SEQ ID NO: 11 and a light chain variable region as shown in SEQ ID NO: 12.

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/CN2025/075637

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	116253802	A	13 June 2023	None			
WO	2023104214	A1	15 June 2023	None			
CN	113677703	A	19 November 2021	WO	2020127376	A2	25 June 2020
				WO	2020127376	A3	06 August 2020
				EP	3898681	A2	27 October 2021
				US	2022073635	A1	10 March 2022
CN	103450360	A	18 December 2013	SI	1476185	T1	31 December 2013
				IL	161823	A	27 February 2014
				US	2012225014	A1	06 September 2012
				US	8388971	B2	05 March 2013
				HUP	0402247	A2	28 January 2005
				HUP	0402247	A3	28 September 2012
				HU	229829	B1	29 September 2014
				PE	20030846	A1	11 October 2003
				EP	1476185	A2	17 November 2004
				EP	1476185	A4	04 April 2007
				EP	1476185	B1	31 July 2013
				JP	2010213704	A	30 September 2010
				JP	5547532	B2	16 July 2014
				CU	23745	A3	31 January 2012
				ME	00503	B	10 October 2011
				BR	0214137	A	14 September 2004
				BRPI	0214137	B1	19 March 2019
				BRPI	0214137	B8	25 May 2021
				TW	200306204	A	16 November 2003
				TWI	331040	B	01 October 2010
				ES	2432968	T3	05 December 2013
				UY	27537	A1	28 February 2003
				PL	370514	A1	30 May 2005
				PL	214289	B1	31 July 2013
				MA	27139	A1	03 January 2005
				JP	2005508176	A	31 March 2005
				JP	4616555	B2	19 January 2011
				EG	25801	A	08 August 2012
				MY	137641	A	27 February 2009
				IS	7253	A	06 May 2004
				IS	2940	B	15 March 2016
				US	2016152713	A1	02 June 2016
				CY	1115675	T1	25 January 2017
				EA	200400654	A1	30 December 2004
				EA	011449	B1	27 February 2009
				EP	2343086	A2	13 July 2011
				EP	2343086	A3	22 February 2012
				PL	392809	A1	14 March 2011
				PL	214634	B1	30 August 2013
				MXPA	04004467	A	16 May 2005
				KR	20050063749	A	28 June 2005
				KR	100830086	B1	20 May 2008
				OA	12725	A	28 June 2006
				US	2007190051	A1	16 August 2007

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2025/075637

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
		US 7563442 B2	21 July 2009
		AU 2002356926 C1	19 May 2003
		AU 2002356926 A2	04 January 2007
		US 2003211100 A1	13 November 2003
		US 7288251 B2	30 October 2007
		AP 200403034 D0	30 June 2004
		AP 200403034 A0	30 June 2004
		AP 2004003034 A0	13 November 2008
		NI 200200128 A	11 January 2010
		TNSN 04078 A1	01 June 2006
		ECSP 045093 A	23 July 2004
		HRP 20040525 A2	30 April 2005
		HRP 20040525 B1	02 June 2017
		TW 201034686 A	01 October 2010
		TWI 338579 B	11 March 2011
		NZ 533180 A	28 March 2008
		GEP 20074222 B	25 October 2007
		ZA 200404207 B	31 August 2005
		PA 8557701 A1	19 December 2003
		HK 1069122 A1	13 May 2005
		US 2013024956 A1	24 January 2013
		CR 10878 A	12 January 2011
		DOP 2002000507 A	15 May 2003
		PT 1476185 E	05 November 2013
		CR 7343 A	28 October 2004
		NO 20042388 L	09 August 2004
		NO 334339 B1	10 February 2014
		GT 200200228 A	26 September 2008
		AR 039067 A1	09 February 2005
		CA 2466128 A1	15 May 2003
		CA 2466128 C	29 October 2013
		US 2009169563 A1	02 July 2009
		US 7618633 B2	17 November 2009
		RS 39204 A	15 December 2006
		RS 52484 B	28 February 2013
		JP 2013099333 A	23 May 2013
		JP 5848232 B2	27 January 2016
		US 2006093600 A1	04 May 2006
		US 7338660 B2	04 March 2008
		HN 2002000318 A	10 March 2003
		DK 1476185 T3	14 October 2013
		CL 2009001779 A1	05 February 2010
		US 2010098694 A1	22 April 2010
		IL 161823 A0	20 November 2005
		WO 03040170 A2	15 May 2003
		WO 03040170 A3	09 October 2003
		WO 03040170 A9	10 June 2004
		US 2009130715 A1	21 May 2009
		US 7626012 B2	01 December 2009

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2025/075637

A. 主题的分类

A61K39/00(2006.01)i; A61K39/395(2006.01)i; A61K47/68(2017.01)i; A61P35/00(2006.01)i; C07K16/18(2006.01)i; C07K16/28(2006.01)i; C07K16/30(2006.01)i; C07K16/32(2006.01)i

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

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

IPC: A61K, A61P, C07K

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

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))

WPABS, WPABSC, DWPI, CNTXT, ENTXT, ENTXTC, CNKI, Web of Science, Elsevier Science, 超星读秀, 中国专利生物序列检索系统, STN: 富含亮氨酸重复序列15, Leucine-rich repeat containing protein 15, LRRC15, CD40, CD3, PD-1, Claudin18.2, CLDN18.2, FAP, TGF- β , 对SEQ ID NOs:1,6,11,12,33-35,45-47 进行序列检索

C. 相关文件

类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	CN 116253802 A (苏州泽璟生物制药股份有限公司) 2023年6月13日 (2023 - 06 - 13) 参见权利要求1、7、10; 说明书第142、240-249段; 序列表	1-15 (部分)
X	WO 2023104214 A1 (SUZHOU ZELGEN BIOPHARMACEUTICALS CO LTD等) 2023年6月15日 (2023 - 06 - 15) 参见说明书第23-25页, 权利要求1-12, 序列表	1-15 (部分)
A	CN 113677703 A (鳄鱼生物科学公司) 2021年11月19日 (2021 - 11 - 19) 参见权利要求1、SEQ ID NO:27,25	1-15 (部分)
A	CN 103450360 A (辉瑞产品公司等) 2013年12月18日 (2013 - 12 - 18) 参见权利要求1、SEQ ID NO:42,44	1-15 (部分)

☐ 其余文件在C栏的续页中列出。

☒ 见同族专利附件。

* 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

“D” 申请人在国际申请中引证的文件

“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

国际检索实际完成的日期

2025年4月15日

国际检索报告邮寄日期

2025年4月25日

ISA/CN的名称和邮寄地址

中国国家知识产权局
中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088

授权官员

周洋

电话号码 (+86) 010-62089439

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2025/075637

第I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表进行的:
- a. ☒ 作为国际申请的一部分提交的:

b. ☐ 为国际检索的目的在国际申请日之后提交 (细则13之三.1(a)) ,
☐ 附有说明序列表不超出所提交国际申请公开范围的声明。
2. ☐ 本报告是在没有收到符合WIPO ST.26标准的序列表的情况下,考虑了国际申请中披露的任何核苷酸和/或氨基酸序列,在可进行有意义检索的范围内做出的。
3. 补充意见:

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2025/075637

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:

第1项: 权利要求1-15(部分), 涉及一种多特异性抗体, 其中所述多特异性抗体包含: 第一靶向结构域, 所述第一靶向结构域包含一个或多个LRRC15抗原结合结构域; 和第二靶向结构域, 所述第二靶向结构域包含一个或多个CD40抗原结合结构域; 其中所述LRRC15抗原结合结构域包含SEQ ID NO:33-35所示的HCDR1-3和SEQ ID NO:45-47所示的LCDR1-3; 所述CD40抗原结合结构域包含SEQ ID NO:11所示的重链可变区和SEQ ID NO:12所示的轻链可变区。

第2项: 权利要求1-15(部分), 涉及一种多特异性抗体, 其中所述多特异性抗体包含: 第一靶向结构域, 所述第一靶向结构域包含一个或多个LRRC15抗原结合结构域; 和第二靶向结构域, 所述第二靶向结构域包含一个或多个CD40抗原结合结构域; 其中所述LRRC15抗原结合结构域包含SEQ ID NO:36-38所示的HCDR1-3和SEQ ID NO:45,48,49所示的LCDR1-3; 所述CD40抗原结合结构域包含SEQ ID NO:11所示的重链可变区和SEQ ID NO:12所示的轻链可变区。

.....

第76项: 权利要求1-15(部分), 涉及一种多特异性抗体, 其中所述多特异性抗体包含: 第一靶向结构域, 所述第一靶向结构域包含一个或多个LRRC15抗原结合结构域; 和第二靶向结构域, 所述第二靶向结构域包含一个或多个CD40抗原结合结构域; 其中所述LRRC15抗原结合结构域包含SEQ ID NO:42-44所示的HCDR1-3和SEQ ID NO:50,51,53所示的LCDR1-3; 所述CD40抗原结合结构域包含SEQ ID NO:27所示的重链可变区和SEQ ID NO:28所示的轻链可变区。

上述发明之间的相同技术特征为一种多特异性抗体, 其中所述多特异性抗体包含: 第一靶向结构域, 所述第一靶向结构域包含一个或多个LRRC15抗原结合结构域; 和第二靶向结构域, 所述第二靶向结构域包含一个或多个CD40抗原结合结构域。CN116253802A(公开日2023-06-13)公开了一种多特异性T细胞接合剂, 其中所述多特异性T细胞接合剂包含: 第一靶向结构域, 所述第一靶向结构域包含一个或多个LRRC15抗原结合结构域; 和第二靶向结构域, 所述第二靶向结构域与选自下组的靶蛋白结合: CD3、CD28、CD40、或CD137(参见权利要求1)。基于所述技术特征已经被现有技术CN116253802A所公开, 其并不是对现有技术作出贡献的特定技术特征。因此, 上述发明之间不具备相同或相应的特定技术特征, 不属于一个总的发明构思, 其不具备单一性, 不符合PCT实施细则13.1、13.2和13.3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: 权利要求1-15(部分), 涉及一种多特异性抗体, 其中所述多特异性抗体包含: 第一靶向结构域, 所述第一靶向结构域包含一个或多个LRRC15抗原结合结构域; 和第二靶向结构域, 所述第二靶向结构域包含一个或多个CD40抗原结合结构域; 其中所述LRRC15抗原结合结构域包含SEQ ID NO:33-35所示的HCDR1-3和SEQ ID NO:45-47所示的LCDR1-3; 所述CD40抗原结合结构域包含SEQ ID NO:11所示的重链可变区和SEQ ID NO:12所示的轻链可变区。

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/CN2025/075637

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	116253802	A	2023年6月13日	无			
WO	2023104214	A1	2023年6月15日	无			
CN	113677703	A	2021年11月19日	WO	2020127376	A2	2020年6月25日
				WO	2020127376	A3	2020年8月6日
				EP	3898681	A2	2021年10月27日
				US	2022073635	A1	2022年3月10日
CN	103450360	A	2013年12月18日	SI	1476185	T1	2013年12月31日
				IL	161823	A	2014年2月27日
				US	2012225014	A1	2012年9月6日
				US	8388971	B2	2013年3月5日
				HUP	0402247	A2	2005年1月28日
				HUP	0402247	A3	2012年9月28日
				HU	229829	B1	2014年9月29日
				PE	20030846	A1	2003年10月11日
				EP	1476185	A2	2004年11月17日
				EP	1476185	A4	2007年4月4日
				EP	1476185	B1	2013年7月31日
				JP	2010213704	A	2010年9月30日
				JP	5547532	B2	2014年7月16日
				CU	23745	A3	2012年1月31日
				ME	00503	B	2011年10月10日
				BR	0214137	A	2004年9月14日
				BR-PI	0214137	B1	2019年3月19日
				BR-PI	0214137	B8	2021年5月25日
				TW	200306204	A	2003年11月16日
				TWI	331040	B	2010年10月1日
				ES	2432968	T3	2013年12月5日
				UY	27537	A1	2003年2月28日
				PL	370514	A1	2005年5月30日
				PL	214289	B1	2013年7月31日
				MA	27139	A1	2005年1月3日
				JP	2005508176	A	2005年3月31日
				JP	4616555	B2	2011年1月19日
				EG	25801	A	2012年8月8日
				MY	137641	A	2009年2月27日
				IS	7253	A	2004年5月6日
				IS	2940	B	2016年3月15日
				US	2016152713	A1	2016年6月2日
				CY	1115675	T1	2017年1月25日
				EA	200400654	A1	2004年12月30日
				EA	011449	B1	2009年2月27日
				EP	2343086	A2	2011年7月13日
				EP	2343086	A3	2012年2月22日
				PL	392809	A1	2011年3月14日
				PL	214634	B1	2013年8月30日
				MXPA	04004467	A	2005年5月16日
				KR	20050063749	A	2005年6月28日
				KR	100830086	B1	2008年5月20日

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2025/075637

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)
		OA 12725 A	2006年6月28日
		US 2007190051 A1	2007年8月16日
		US 7563442 B2	2009年7月21日
		AU 2002356926 C1	2003年5月19日
		AU 2002356926 A2	2007年1月4日
		US 2003211100 A1	2003年11月13日
		US 7288251 B2	2007年10月30日
		AP 200403034 D0	2004年6月30日
		AP 200403034 A0	2004年6月30日
		AP 2004003034 A0	2008年11月13日
		NI 200200128 A	2010年1月11日
		TNSN 04078 A1	2006年6月1日
		ECSP 045093 A	2004年7月23日
		HRP 20040525 A2	2005年4月30日
		HRP 20040525 B1	2017年6月2日
		TW 201034686 A	2010年10月1日
		TWI 338579 B	2011年3月11日
		NZ 533180 A	2008年3月28日
		GEP 20074222 B	2007年10月25日
		ZA 200404207 B	2005年8月31日
		PA 8557701 A1	2003年12月19日
		HK 1069122 A1	2005年5月13日
		US 2013024956 A1	2013年1月24日
		CR 10878 A	2011年1月12日
		DOP 2002000507 A	2003年5月15日
		PT 1476185 E	2013年11月5日
		CR 7343 A	2004年10月28日
		NO 20042388 L	2004年8月9日
		NO 334339 B1	2014年2月10日
		GT 200200228 A	2008年9月26日
		AR 039067 A1	2005年2月9日
		CA 2466128 A1	2003年5月15日
		CA 2466128 C	2013年10月29日
		US 2009169563 A1	2009年7月2日
		US 7618633 B2	2009年11月17日
		RS 39204 A	2006年12月15日
		RS 52484 B	2013年2月28日
		JP 2013099333 A	2013年5月23日
		JP 5848232 B2	2016年1月27日
		US 2006093600 A1	2006年5月4日
		US 7338660 B2	2008年3月4日
		HN 2002000318 A	2003年3月10日
		DK 1476185 T3	2013年10月14日
		CL 2009001779 A1	2010年2月5日
		US 2010098694 A1	2010年4月22日
		IL 161823 A0	2005年11月20日
		WO 03040170 A2	2003年5月15日
		WO 03040170 A3	2003年10月9日
		WO 03040170 A9	2004年6月10日
		US 2009130715 A1	2009年5月21日

PCT/CN2025/075637

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)
-----US7626012B22009年12月1日-----			