



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201328706 A1

(43)公開日：中華民國 102 (2013) 年 07 月 16 日

(21)申請案號：101145482

(22)申請日：中華民國 101 (2012) 年 12 月 04 日

(51)Int. Cl. : A61K39/395 (2006.01)

C07K16/30 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2011/12/05 美國

61/566,890

(71)申請人：諾華公司 (瑞士) NOVARTIS AG (CH)

瑞士

(72)發明人：伊莉絲 溫法德 ELIS, WINFRIED (DE)；伊藤伯格 薩希 ETTENBERG, SETH (US)；卡勒 安卓 保羅 GARNER, ANDREW PAUL (GB)；后伯斯特 尼可 HAUBST, NICOLE (DE)；修恩 辛雄 HUANG, XIZHONG (US)；卡恩茲 克里斯孫 卡斯特 希威斯德 KUNZ, CHRISTIAN CARSTEN SILVESTER (DE)；瑞辛格 斯波瑞吉 伊麗莎白 安 REISINGER SPRAGUE, ELIZABETH ANNE (US)；辛 魁 SHENG, QING (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：49 項 圖式數：20 共 268 頁

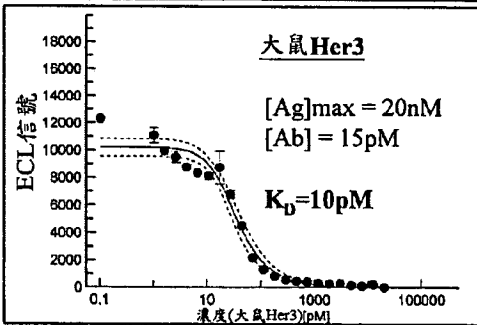
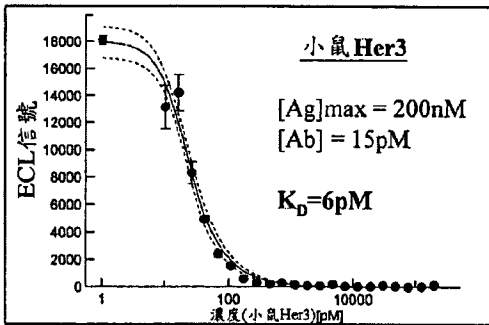
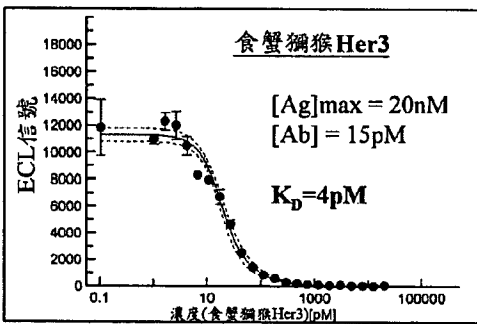
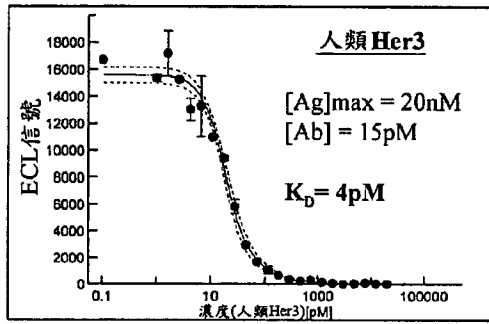
(54)名稱

表皮生長因子受體 3 (HER3) 之抗體

ANTIBODIES FOR EPIDERMAL GROWTH FACTOR RECEPTOR 3 (HER3)

(57)摘要

本發明係關於與 HER 受體家族(例如 HER3 受體)相互作用之抗體或其片段。特別地，本發明係關於抗體或其片段，其識別 HER3 受體之包含域 2 與 4 殘基的構形抗原決定基，從而抑制配位體依賴性與非配位體依賴性信號傳導，且允許配位體(例如神經調節蛋白)結合，同時防止配位體誘發信號傳導之活化。此等抗體或片段可用於治療特徵為 HER3 表現量增加之許多疾病或病症(例如食道癌)。此等抗體或片段可用於治療特徵為該等抗體或片段能夠減少組織重量(例如前列腺或子宮重量)或誘發組織萎縮(例如男性乳房萎縮)之許多疾病或病症。





(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201328706 A1

(43)公開日：中華民國 102 (2013) 年 07 月 16 日

(21)申請案號：101145482

(22)申請日：中華民國 101 (2012) 年 12 月 04 日

(51)Int. Cl. : A61K39/395 (2006.01)

C07K16/30 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2011/12/05 美國

61/566,890

(71)申請人：諾華公司 (瑞士) NOVARTIS AG (CH)

瑞士

(72)發明人：伊莉絲 溫法德 ELIS, WINFRIED (DE)；伊藤伯格 薩希 ETTENBERG, SETH (US)；卡勒 安卓 保羅 GARNER, ANDREW PAUL (GB)；后伯斯特 尼可 HAUBST, NICOLE (DE)；修恩 辛雄 HUANG, XIZHONG (US)；卡恩茲 克里斯孫 卡斯特 希威斯德 KUNZ, CHRISTIAN CARSTEN SILVESTER (DE)；瑞辛格 斯波瑞吉 伊麗莎白 安 REISINGER SPRAGUE, ELIZABETH ANNE (US)；辛 魁 SHENG, QING (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：49 項 圖式數：20 共 268 頁

(54)名稱

表皮生長因子受體 3 (HER3) 之抗體

ANTIBODIES FOR EPIDERMAL GROWTH FACTOR RECEPTOR 3 (HER3)

(57)摘要

本發明係關於與 HER 受體家族(例如 HER3 受體)相互作用之抗體或其片段。特別地，本發明係關於抗體或其片段，其識別 HER3 受體之包含域 2 與 4 殘基的構形抗原決定基，從而抑制配位體依賴性與非配位體依賴性信號傳導，且允許配位體(例如神經調節蛋白)結合，同時防止配位體誘發信號傳導之活化。此等抗體或片段可用於治療特徵為 HER3 表現量增加之許多疾病或病症(例如食道癌)。此等抗體或片段可用於治療特徵為該等抗體或片段能夠減少組織重量(例如前列腺或子宮重量)或誘發組織萎縮(例如男性乳房萎縮)之許多疾病或病症。

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明一般關於與HER受體家族(例如HER3受體)相互作用之抗體或其片段。詳言之，本發明係關於抗體或其片段，其識別包含來自域2與4之殘基的HER3受體的構形抗原決定基，從而抑制配位體依賴性與非配位體依賴性信號傳導，且允許配位體(例如神經調節蛋白)結合，同時防止信號傳導之配位體誘發活化。此等抗體或片段可用於治療特徵為HER3表現量增加之許多疾病或病症(例如食道癌)。此等抗體或片段可用於治療特徵為該等抗體或片段能夠減少組織重量(例如前列腺或子宮重量)或誘發組織萎縮(例如男性乳房萎縮)之許多疾病或病症。

本申請案主張於2011年12月5日申請之美國臨時申請案第61/566,890號的優先權，該臨時申請案之內容以全文引用的方式併入本文中。

【先前技術】

人類表皮生長因子受體3 (ErbB3，亦稱HER3)為一種受體蛋白酪胺酸激酶且屬於受體蛋白酪胺酸激酶之表皮生長因子受體(EGFR)子族，該子族亦包括EGFR (HER1、ErbB1)、HER2 (ErbB2、Neu)及HER4 (ErbB4)(Plowman等人，(1990) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 87:4905-4909；Kraus等人，(1989) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 86:9193-9197；及Kraus等人，(1993) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 90:2900-2904)。類似於原型表皮生長因子受體，跨膜受體

HER3由細胞外配位體結合域(ECD)、ECD內之二聚化域、跨膜域、細胞內蛋白酪胺酸激酶樣域(TKD)及C端磷酸化域組成。不同於其他HER家族成員，HER3之激酶域顯示極低的固有激酶活性。

配位體神經調節蛋白1(NRG)或神經調節蛋白2結合於HER3之細胞外域，且藉由促進與諸如HER2之其他二聚化搭配物的二聚化來活化受體介導之信號傳導路徑。雜二聚化引起HER3之細胞內域活化及轉磷酸化，且為一種不僅使信號多樣化，而且亦放大信號之方式。另外，HER3雜二聚化亦可在缺乏活化配位體下發生，且此通常稱為非配位體依賴性HER3活化。舉例而言，當HER2由於基因擴增而高量表現(例如乳癌、肺癌、卵巢癌或胃癌中)時，可形成自發的HER2/HER3二聚體。在此情況下，認為HER2/HER3為最具活性的ErbB信號傳導二聚體，因此高度轉換。

已在若干類型癌症，諸如乳癌、肺癌、腸胃癌及胰臟癌中發現HER3增加。有趣地，已顯示HER2/HER3表現與自非侵襲期進展至侵襲期之間具有相關性(Alimandi等人，(1995) Oncogene 10:1813-1821；DeFazio等人，(2000) Cancer 87:487-498；Naidu等人，(1988) Br. J. Cancer 78:1385-1390)。因此，需要干擾HER3介導之信號傳導的藥劑。

【發明內容】

本發明係基於發現結合於包含HER3之域2及域4內之胺

基 酸 殘 基 的 HER3 受 體 之 構 形 抗 原 決 定 基 的 抗 原 結 合 蛋 白 (例 如 抗 體 或 其 片 段)。抗 體 或 其 片 段 與 域 2 及 域 4 之 此 結 合 將 HER3 受 體 穩 定 化 於 不 活 化 或 閉 合 構 形，從 而 抑 制 HER3 活 化。意 外 地，抗 體 或 其 片 段 與 此 構 形 抗 原 決 定 基 之 結 合 阻 斷 配 位 體 依 賴 性 (例 如 神 經 調 節 蛋 白) 及 非 配 位 體 依 賴 性 HER3 信 號 傳 導 路 徑。此 外，配 位 體 誘 發 之 信 號 傳 導 的 抗 體 介 導 之 抑 制 在 不 阻 斷 配 位 體 結 合 下 發 生 (亦 即 配 位 體 與 抗 體 均 可 結 合 HER3)，推 測 係 因 為 HER3 無 法 進 行 活 化 所 需 之 構 形 重 排。亦 揭 示 使 用 該 等 抗 體 或 其 片 段 治 療 特 徵 為 HER3 表 現 增 加 之 許 多 疾 病 或 病 症，及 特 徵 為 該 等 抗 體 或 片 段 能 夠 減 少 組 織 重 量 (例 如 前 列 腺 或 子 宮 重 量) 或 誘 發 組 織 萎 縮 (例 如 男 性 乳 房 萎 縮) 之 疾 病 或 病 症 的 方 法。

因 此，在 一 個 態 樣 中，本 發 明 係 關 於 一 種 治 療 特 徵 為 食 道 中 HER3 表 現 量 增 加 之 病 症 的 方 法，其 包 含：選 擇 食 道 中 HER3 表 現 量 增 加 之 患 者；及 投 與 特 異 性 結 合 於 HER3 受 體 之 抗 體 或 其 片 段，使 得 該 抗 體 或 其 片 段 結 合 於 包 含 HER3 受 體 之 域 2 及 域 4 內 之 胺 基 酸 殘 基 的 構 形 抗 原 決 定 基 且 阻 斷 配 位 體 依 賴 性 與 非 配 位 體 依 賴 性 信 號 傳 導，從 而 治 療 該 病 症。在 一 個 實 施 例 中，該 病 症 係 選 自 由 食 道 癌 及 巴 雷 特 氏 食 道 癌 (Barretts esophageal cancer) 組 成 之 群。

在 另 一 個 態 樣 中，本 發 明 係 關 於 一 種 治 療 胃 癌 之 方 法，其 包 含：選 擇 罹 患 胃 癌 之 患 者；及 投 與 特 異 性 結 合 於 HER3 受 體 之 抗 體 或 其 片 段，使 得 該 抗 體 或 其 片 段 結 合 於 包 含 HER3 受 體 之 域 2 及 域 4 內 之 胺 基 酸 殘 基 的 構 形 抗 原 決

定基且阻斷配位體依賴性與非配位體依賴性信號傳導，從而治療胃癌。

在另一個態樣中，本發明係關於一種治療頭頸部癌之方法，其包含：選擇罹患頭頸部癌之患者；及投與特異性結合於HER3受體之抗體或其片段，使得該抗體或其片段結合於包含HER3受體之域2及域4內之胺基酸殘基的構形抗原決定基且阻斷配位體依賴性與非配位體依賴性信號傳導，從而治療頭頸部癌。

在另一個態樣中，本發明係關於一種治療良性前列腺增生之方法，其包含：選擇罹患良性前列腺增生之患者；及投與特異性結合於HER3受體之抗體或其片段，使得抗體或其片段結合於包含HER3受體之域2及域4內之胺基酸殘基的構形抗原決定基且阻斷配位體依賴性與非配位體依賴性信號傳導，從而治療良性前列腺增生。

在又一個態樣中，本發明係關於一種治療男子女乳症之方法，其包含：選擇罹患男子女乳症之患者；及投與特異性結合於HER3受體之抗體或其片段，使得抗體或其片段結合於包含HER3受體之域2及域4內之胺基酸殘基的構形抗原決定基且阻斷配位體依賴性與非配位體依賴性信號傳導，從而治療男子女乳症。

在又一個態樣中，本發明係關於一種治療子宮內膜異位之方法，其包含：選擇罹患子宮內膜異位之患者；及投與特異性結合於HER3受體之抗體或其片段，使得抗體或其片段結合於包含HER3受體之域2及域4內之胺基酸殘基的

構形抗原決定基且阻斷配位體依賴性與非配位體依賴性信號傳導，從而治療子宮內膜異位。

在一個實施例中，抗體或其片段藉由選自由經口、皮下、腹膜內、肌肉內、腦室內、實質內、鞘內、顱內、經頰、經黏膜、經鼻及經直腸投與組成之群之途徑投與。在一個實施例中，抗體或其片段調配成包含生理學上可接受之載劑、賦形劑或稀釋劑的醫藥組合物。在另一個實施例中，醫藥組合物包含另一治療劑。在一個實施例中，該另一治療劑係選自由HER1抑制劑、HER2抑制劑、HER3抑制劑、HER4抑制劑、mTOR抑制劑及PI3激酶抑制劑組成之群。在一個實施例中，另一治療劑為：HER1抑制劑，其選自由馬妥珠單抗(Matuzumab)(EMD72000)、Erbix®/西妥昔單抗(Cetuximab)、Vectibix®/帕尼單抗(Panitumumab)、mAb 806、尼妥珠單抗(Nimotuzumab)、Iressa®/吉非替尼(Gefitinib)、CI-1033 (PD183805)、拉帕替尼(Lapatinib)(GW-572016)、Tykerb®/二甲苯磺酸拉帕替尼(Lapatinib Ditosylate)、Tarceva®/鹽酸厄羅替尼(Erlotinib HCL)(OSI-774)、PKI-166及Tovok®組成之群；HER2抑制劑，其選自由帕妥珠單抗(Pertuzumab)、曲妥珠單抗(Trastuzumab)、MM-111、來那替尼(neratinib)、拉帕替尼或二甲苯磺酸拉帕替尼/Tykerb®組成之群；HER3抑制劑，其選自由MM-121、MM-111、IB4C3、2DID12 (U3 Pharma AG)、AMG888 (Amgen)、AV-203 (Aveo)、MEHD7945A (Genentech)、MOR10703 (Novartis)及抑制

HER3之小分子組成之群；及HER4抑制劑。在一個實施例中，另一治療劑為選自由西羅莫司(Temsirolimus)/Torisel®、雷達莫司(ridaforolimus)/德佛莫司(Deforolimus)、AP23573、MK8669、依維莫司(everolimus)/Affinitor®組成之群之mTOR抑制劑。在一個實施例中，另一治療劑為選自由GDC 0941、BEZ235、BMK120及BYL719組成之群之PI3激酶抑制劑。

在另一個態樣中，本發明係關於一種抗體或其片段之用途，該抗體或其片段特異性結合於HER3受體，使得該抗體或其片段結合於包含HER3受體之域2及域4內之胺基酸殘基的構形抗原決定基且阻斷配位體依賴性與非配位體依賴性信號傳導，其係用於製造供治療食道病症或胃癌或頭頸部癌或良性前列腺增生(BPH)或男子女乳症或子宮內膜異位的藥劑。

【實施方式】

定義

為更容易地瞭解本發明，首先定義某些術語。另外的定義在實施方式通篇闡明。

如本文所用之短語「信號傳導」或「信號傳導活性」係指一般由蛋白質-蛋白質相互作用(諸如生長因子結合於受體)起始，引起信號自細胞之一部分傳遞至細胞之另一部分的生物化學因果關係。對於HER3，傳遞包含引起信號傳導之一系列反應中一或多種蛋白質上之一或多個酪胺酸、絲胺酸或蘇胺酸殘基的特異性磷酸化。次末過程通常

包括核事件，引起基因表現變化。

「HER受體」為一種屬於HER受體家族之受體蛋白酪胺酸激酶且包括EGFR、HER2、HER3及HER4受體及有待在將來鑑別之此家族其他成員。HER受體一般包含可結合HER配位體之細胞外域；親脂性跨膜域；保守細胞內酪胺酸激酶域；及具有可磷酸化之若乾酪胺酸殘基之羧基端信號傳導域。HER受體較佳為原生序列人類HER受體。

術語「HER1」、「ErbB1」、「表皮生長因子受體」及「EGFR」在本文中可互換使用且係指如例如Carpenter等人 Ann. Rev. Biochem. 56:881-914 (1987)中所揭示之EGFR，包括其天然存在之突變形式(例如如Humphrey等人，(1990) PNAS (USA) 87:4207-4211中之缺失突變體EGFR)。erbB1係指編碼EGFR蛋白產物之基因。

術語「HER2」與「ErbB2」在本文中可互換使用，且係指例如Semba等人，(1985) PNAS (USA) 82:6497-6501及Yamamoto等人(1986) Nature 319:230-234 (Genebank寄存編號X03363)中所述之人類HER2蛋白質。術語「erbB2」係指編碼人類ErbB2之基因且「neu」係指編碼大鼠p185^{neu}之基因。

本文中術語「HER4」及「ErbB4」係指如例如以下中揭示之受體多肽：EP專利申請案第599,274號；Plowman等人，(1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:1746-1750；及Plowman等人，(1993) Nature, 366:473-475，包括其同功異型物，例如如1999年4月22日公開之WO 99/19488中揭

示。

如本文所用之術語「HER3」或「HER3受體」(亦稱「ErbB3」)係指哺乳動物HER3蛋白，且「her3」或「erbB3」係指哺乳動物her3基因。較佳HER3蛋白為存在於細胞之細胞膜中的人類HER3蛋白。人類her3基因描述於美國專利第5,480,968號及 Plowman 等人，(1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87:4905-4909中。

人類HER3如寄存編號NP_001973 (人類)中定義，且以下表示為SEQ ID NO: 1。所有命名均針對全長不成熟HER3(胺基酸1-1342)。不成熟HER3在位置19與20之間裂解，得到成熟HER3蛋白(20-1342胺基酸)。

mrandalqvl glflslargs evgnsqavcp gtlnslsvtg daenqyqtly klycercevvm
 gnleivltgh nadlsflqwi revtgyvlva mnefstlplp nlrvvrgtqv ydgkfaifvm
 lnyntnssha lrqlrltqlt eilsggvyie kncklchmdt idwrdivrdr daeivvkdng
 rscppchevc kgrcwpggse dcqtlktic apqcngchcfc pnpnqcchde caggcsppqd
 tdcfacrhfn dsgacvprcp qplvynkltf qlepnphthy qyggvcvasc phnfvdqts
 cvracppdkm evdknglkmc epcggclpka cegtgsgrf qtdssnidg fvntkilgn
 ldflitgln dpwhkipald peklnvrtv reitgylmq swpphmhnfs vfnlttigg
 rslynrgfsl limknlvts lgfrskeis agriyisanr qlcyhhslnw tkvlrgptee
 rldikhnrpr rdcvaegkvc dplcssggcw gpgpgqclsc mnsrggvvc thcnflngep
 refaheaecf schpecqpme gtatngsgs dtcaqcahfr dgphcvsscp hgvlgakgpi
 ykypdvqneq rpchenctqg ckqpelqdel gqtlvligkt hltmaltvia glvvifmmlg
 gtflywrgrr iqnkramrry lergesiepl dpsekankvl arifketelr klkvlsgvf
 gtvhkgvwip egesikipvc ikviedksgr qsfqavtdhm laigsldhah ivrllglcpg
 sslqlvtqyl plgslldhvr qhrgalgpql llnwgvqiak gmyyleehgm vhrnlaarnv
 llkspsqvqv adfgvadllp pddkqllyse aktplkwmal esihfgkyth qsdvwsygv
 vvewmtfgae pyagrlaev pdllekgerl aqpqictidv ymvvmkcwmi denirptfke
 laneftmar dpprylvkr esgpgiapgp ephgltnkkl eevelepeld lldleaeed
 nlattlgsa lslpvgtlnr prgsqslsp ssgympmnqg nlgesqesa vsgssercpr
 pvsllhpmprg clasessegh vtgseaelqe kvsmcrsr srsprrgds ayhsqrhsl
 tptvplsppg leeedvngyv mpdthlkgtp ssregtlssv glssvlgtee ededeeyeym
 nrrrrhspph pprpssleel gyeymdvgds lsaslgstqs cplhpvpimp tagttdedy
 eymnrqrdgg gpggdyaamg acpaseqgye emrafqgpg qaphvhyarl ktlrleatd
 safdnpywh srlfpkanaq rt (SEQ ID NO: 1)

如本文所用之術語「HER配位體」係指結合及活化HER
 受體(諸如HER1、HER2、HER3及HER4)之多肽。HER配位

體之實例包括(但不限於)神經調節蛋白1(NRG)、神經調節蛋白2、神經調節蛋白3、神經調節蛋白4、 β 細胞素、肝素結合之表皮生長因子、表皮調節素、表皮生長因子、雙調蛋白及轉型生長因子 α 。該術語包括天然存在之多肽的生物活性片段及/或變異體。

如本文所用之術語「HER3配位體」係指結合及活化HER3之多肽。HER3配位體之實例包括(但不限於)神經調節蛋白1(NRG)及神經調節蛋白2、 β 細胞素、肝素結合之表皮生長因子及表皮調節素。該術語包括天然存在之多肽的生物活性片段及/或變異體。

「HER-HER蛋白複合物」為含有任何組合之HER共受體的非共價締合寡聚物(例如HER1-HER2、HER1-HER3、HER1-HER4、HER2-HER3、HER3-HER4及其類似物)。此複合物可在表現此等受體中之兩者的細胞暴露於HER配位體(例如NRG)時或在HER受體為活性或過度表現時形成。

「HER2-HER3蛋白複合物」為含有HER2受體及HER3受體之非共價締合寡聚物。此複合物可在表現此等受體中之兩者的細胞暴露於HER3配位體(例如NRG)時或在HER2為活性/過度表現時形成。

如本文所用之短語「HER3活性」或「HER3活化」係指寡聚(例如含有HER3之複合物增加)、HER3磷酸化、構形重排(例如由配位體誘發之構形重排)及HER3介導之下游信號傳導增加。

在HER3背景下使用之術語「穩定」或「穩定化」係指

抗體或其片段在不阻斷配位體結合於HER3下直接維持(鎖定、繫栓、保持、優先結合、偏好) HER3之不活化狀態或構形，使得配位體結合不再能夠活化HER3。實例中描述之分析可用於量測配位體結合於穩定化HER3受體，例如Biacore分析。

如本文所用之術語「配位體依賴性信號傳導」係指HER(例如HER3)經由配位體活化。HER3活化藉由寡聚(例如雜二聚化)及/或HER3磷酸化增加，使得下游信號傳導路徑(例如PI3K)活化證實。如使用實例中描述之分析所量測，相對於未處理(對照)細胞，在暴露於抗原結合蛋白(例如抗體)之刺激細胞中抗體或其片段可統計上顯著減少磷酸化HER3之量。表現HER3之細胞可為天然存在之細胞株(例如MCF7)或可藉由將編碼HER3蛋白之核酸引入宿主細胞中來重組產生。細胞刺激可經由外部添加活化HER3配位體或藉由內在表現活化配位體發生。

「減少細胞中神經調節蛋白誘發之HER3活化」的抗體或其片段為如使用實例中描述之分析所量測，相對於未處理(對照)細胞，統計上顯著減少HER3酪胺酸磷酸化的抗體或其片段。此可基於HER3暴露於NRG及相關抗體後之HER3磷酸化酪胺酸含量來確定。表現HER3蛋白之細胞可為天然存在之細胞或細胞株(例如MCF7)或可重組產生。

如本文所用之術語「非配位體依賴性信號傳導」係指在缺乏配位體結合必要條件下的細胞HER3活性(例如磷酸化)。舉例而言，非配位體依賴性HER3活化可為諸如EGFR

及HER2之HER3雜二聚體搭配物中HER2過度表現或活化突變之結果。相對於未處理(對照)細胞，在暴露於抗原結合蛋白(例如抗體)之細胞中，抗體或其片段可統計上顯著減少磷酸化HER3之量。表現HER3之細胞可為天然存在之細胞株(例如SK-Br-3)或可藉由將編碼HER3蛋白之核酸引入宿主細胞中來重組產生。

如本文所用之術語「阻斷」係指停止或阻止相互作用或過程，例如停止配位體依賴性或非配位體依賴性信號傳導。

如本文所用之術語「識別」係指抗體或其片段發現其構形抗原決定基且與其相互作用(例如結合)。

如本文所用之短語「同時結合」係指HER配位體可與HER抗體一起結合於HER受體上之配位體結合位點。此意謂抗體與抗體可一起結合於HER受體。僅僅為了說明，HER3配位體NRG可與HER3抗體一起結合於HER3受體。量測配位體與抗體之同時結合的分析描述於實例部分中(例如Biacore)。

如本文所用之術語「不能」係指抗體或其片段未做特定事件。舉例而言，「不能活化信號傳導」之抗體或其片段為未引發信號傳導之抗體或其片段；「不能誘發構形變化」之抗體或其片段為未引起HER受體之結構變化的抗體或其片段；將HER受體穩定化於不活化狀態，使得HER受體「不能二聚化」之抗體或其片段為不形成蛋白質-蛋白質複合物之抗體或其片段。

如本文所用之術語「抗體」係指與HER3抗原決定基相互作用(例如藉由結合、位阻、穩定化/去穩定化、空間分佈)且抑制信號傳導之全抗體。天然存在之「抗體」為包含至少兩個重(H)鏈及兩個輕(L)鏈藉由二硫鍵相互連接之醣蛋白。每一重鏈均包含重鏈可變區(本文中縮寫為VH)及重鏈恆定區。重鏈恆定區包含三個域CH1、CH2及CH3。每一輕鏈均包含輕鏈可變區(本文中縮寫為VL)及輕鏈恆定區。輕鏈恆定區包含一個域CL。VH及VL區可進一步再分成高變區，稱為互補決定區(CDR)，穿插有更保守區域，稱為構架區(FR)。每一VH及VL均包含三個CDR及四個FR，自胺基端至羧基端按以下順序排列：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。重鏈及輕鏈之可變區含有與抗原相互作用之結合域。抗體之恆定區可介導免疫球蛋白結合於宿主組織或因子，包括免疫系統之各種細胞(例如效應細胞)及經典補體系統之第一組分(C1q)。術語「抗體」包括例如單株抗體、人類抗體、人類化抗體、駱駝化抗體、嵌合抗體、單鏈Fv (scFv)、二硫化物連接之Fv (sdFv)、Fab片段、F(ab')片段及抗個體基因型(抗-Id)抗體(包括例如針對本發明抗體之抗-Id抗體)及以上任一者之抗原決定基結合片段。抗體可具有任何同型(例如IgG、IgE、IgM、IgD、IgA及IgY)、類別(例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1及IgA2)或子類。

輕鏈與重鏈均分成具有結構及功能同源性之區域。術語「恆定」與「可變」在功能上使用。在此方面，應瞭解輕

鏈(VL)與重鏈(VH)部分之可變域決定抗原識別及特異性。相反，輕鏈(CL)及重鏈(CH1、CH2或CH3)之恆定域賦予重要的生物性質，諸如分泌、經胎盤移動性、Fc受體結合、補體結合及其類似性質。按照慣例，恆定區域之編號隨著其愈來愈遠離抗原結合位點或抗體之胺基端而增加。N端為可變區且C端為恆定區；CH3及CL域事實上分別包含重鏈及輕鏈之羧基端。

如本文所用之短語「抗體片段」係指保留與HER3抗原決定基特異性相互作用(例如藉由結合、位阻、穩定化/去穩定化、空間分佈)之能力且抑制信號傳導的抗體之一或多個部分。結合片段之實例包括(但不限於) Fab片段，由VL、VH、CL及CH1域組成之單價片段；F(ab)₂片段，包含兩個Fab片段在鉸鏈區藉由二硫橋鍵連接之二價片段；Fd片段，由VH及CH1域組成；Fv片段，由抗體單臂之VL及VH域組成；dAb片段(Ward等人，(1989) Nature 341:544-546)，其由VH域組成；及分離之互補決定區(CDR)。

此外，雖然Fv片段之兩個域VL及VH藉由各別基因編碼，但其可使用重組方法，藉由能夠使其製成其中VL與VH區配對形成單價分子之單一蛋白質鏈的合成連接子接合(稱為單鏈Fv (scFv)，參見例如Bird等人，(1988) Science 242:423-426；及Huston等人，(1988) Proc. Natl. Acad. Sci. 85:5879-5883)。該等單鏈抗體亦意欲涵蓋於術語「抗體片段」內。此等抗體片段使用熟習此項技術者已

知之習知技術獲得，且該等片段用與完整抗體相同之方式篩選供應用。

抗體片段亦可併入單域抗體、最大抗體、微型抗體、內抗體、雙功能抗體、三功能抗體、四功能抗體、v-NAR及雙-scFv（參見例如 Hollinger 及 Hudson, (2005) Nature Biotechnology 23:1126-1136）。抗體片段可移植於基於多肽（諸如 III 型纖維結合蛋白 (Fn3)）（參見美國專利第 6,703,199 號，其描述纖維結合蛋白多肽單功能抗體）之骨架中。

抗體片段可併入包含一對串聯 Fv 區段 (VH-CH1-VH-CH1)，與互補輕鏈多肽一起形成一對抗原結合區之單鏈分子 (Zapata 等人，(1995) Protein Eng. 8:1057-1062；及美國專利第 5,641,870 號)。

術語「抗原決定基」包括能夠特異性結合於免疫球蛋白或以其他方式與分子相互作用之任何蛋白質決定子。抗原決定子一般由諸如胺基酸或碳水化合物或糖側鏈之分子的化學活性表面分組組成，且可具有特定三維結構特徵以及荷質比特徵。抗原決定基可為「線性」或「構形」。

術語「線性抗原決定基」係指蛋白質與相互作用分子（諸如抗體）之間的相互作用所有點沿蛋白質之一級胺基酸序列線性存在（連續）的抗原決定基。一旦確定抗原上之所需抗原決定基，則可例如使用本發明中描述之技術產生針對該抗原決定基之抗體。或者，在發現過程期間，抗體之產生及表徵可闡明有關所需抗原決定基之資訊。由此資

訊，接著可競爭性篩選結合於相同抗原決定基之抗體。一種實現此之方法為進行交叉競爭研究以發現彼此競爭性結合之抗體，例如競爭結合於抗原之抗體。基於交叉競爭將抗體「分級」之高通量製程描述於國際專利申請案第WO 2003/48731號中。如熟習此項技術者所瞭解，實際上抗體可特異性結合之任何東西可為抗原決定基。抗原決定基可包含抗體結合之彼等殘基。

術語「構形抗原決定基」係指其中不連續胺基酸以三維構形聚集之抗原決定基。在構形抗原決定基中，相互作用點橫穿蛋白質上彼此分離之胺基酸殘基存在。在一個實施例中，抗原決定基為本說明書之實例中描述之抗原決定基。在一個實施例中，構形抗原決定基由以下界定：(i) SEQ ID NO: 1之HER3胺基酸殘基265-277及315 (域2)及(ii) HER3胺基酸殘基571、582-584、596-597、600-602、609-615 (域4)，或其子集。如熟習此項技術者所瞭解，由形成分子形狀之殘基或側鏈佔據的空間有助於確定抗原決定基為何者。

一般而言，對特定標靶抗原具有特異性之抗體將優先識別蛋白質及/或大分子之複雜混合物中標靶抗原上之抗原決定基。

包括抗原決定基之既定多肽區域可使用此項技術中熟知之許多抗原決定基定位技術鑑別。參見例如 Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology，第66卷 (Glenn E.Morris編., 1996) Humana Press, Totowa, New

Jersey。舉例而言，線性抗原決定基可藉由例如在固體支撐物上同時合成大量肽(該等肽與蛋白質分子之部分相對應)且使肽與抗體反應，同時肽仍附著於支撐物來確定。該等技術在此項技術中已知且描述於例如美國專利第4,708,871號；Geysen等人，(1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:3998-4002；Geysen等人，(1985) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:78-182；Geysen等人，(1986) Mol. Immunol. 23:709-715中。類似地，構形抗原決定基容易藉由諸如利用例如氫/重氫交換、x射線晶體學及二維核磁共振確定胺基酸之空間構形來鑑別。參見例如 Epitope Mapping Protocols，上述。蛋白質之抗原區域亦可使用標準抗原性及親水性圖，諸如使用例如可自 the Oxford Molecular Group獲得之 Omega 1.0版軟體程式計算之抗原性及親水性圖圖鑑別。此電腦程式採用霍普/伍茲方法(Hopp/Woods method)(Hopp等人，(1981) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:3824-3828)來確定抗原性型態，且採用凱替-多利特技術(Kyte-Doolittle technique)(Kyte等人，(1982) J.Mol. Biol. 157:105-132)用於親水性圖。

如本文所用之術語「互補位」係指決定結合於抗原決定基之結合區的一般結構。此結構影響結合區是否結合於抗原決定基及以何種方式結合。互補位可指負責抗體或其片段結合於抗原決定子的抗體之抗原位點。互補位亦指抗體之獨特位(idiotope)及結合於抗原決定基之互補決定區(CDR)區。在一個實施例中，互補位為結合於包含以下之

構形抗原決定基之抗體區域：(i) SEQ ID NO: 1之HER3胺基酸殘基265-277及315 (域2)及(ii) HER3胺基酸殘基571、582-584、596-597、600-602、609-615 (域4)，或其子集。在一個實施例中，互補位為包含CDR序列之抗體區域。在一個實施例中，互補位包含表1中列出之序列。在一個實施例中，互補位包含與以下HER3殘基結合之至少一個胺基酸殘基：Asn266、Lys267、Leu268、Thr269、Gln271、Glu273、Pro274、Asn275、Pro276、His277、Asn315、Asp571、Pro583、His584、Ala596、Lys597。在一個實施例中，互補位包含與以下HER3殘基結合之至少一個胺基酸殘基：Tyr265、Lys267、Leu268、Phe270、Gly582、Pro583、Lys597、Ile600、Lys602、Glu609、Arg611、Pro612、Cys613、His614、Glu615。如熟習此項技術者所瞭解，任何抗體之互補位或其變異體可用本申請案闡明之方式確定。

如本文所用之短語「單株抗體」或「單株抗體組合物」係指包括抗體、抗體片段、雙特異性抗體等，具有實質上一致之胺基酸序列或來源於相同遺傳來源的多肽。此術語亦包括具有單分子組成之抗體分子製劑。單株抗體組合物顯示對特定抗原決定基之單一結合特異性及親和力。

如本文所用之短語「人類抗體」包括具有其中構架區與CDR區均來源於人類起源序列之可變區之抗體。此外，若抗體含有恆定區，則恆定區亦來源於該等人類序列，例如人類生殖系序列，或人類生殖系序列之突變型式，或含有

來源於人類構架序列分析之共同構架序列的抗體，例如如 Knappik 等人，(2000) J Mol Biol 296:57-86 中所描述。免疫球蛋白可變域(例如 CDR)之結構及位置可使用熟知之編號方案(例如 Kabat 編號方案、Chothia 編號方案或 Kabat 與 Chothia 之組合)界定(參見例如 Sequences of Proteins of Immunological Interest, U.S. Department of Health and Human Services (1991), Kabat 等人編；Lazikani 等人，(1997) J. Mol. Bio. 273:927-948)；Kabat 等人，(1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest，第 5 版，NIH 公開案第 91-3242 號 U.S. Department of Health and Human Services；Chothia 等人，(1987) J. Mol. Biol. 196:901-917；Chothia 等人，(1989) Nature 342:877-883；及 Al-Lazikani 等人，(1997) J. Mol. Biol. 273:927-948)。

本發明之人類抗體可包括未由人類序列編碼之胺基酸殘基(例如藉由活體外隨機或位點特異性突變誘發或藉由活體內體細胞突變所引入之突變，或促進穩定性或製造之保守取代)。

如本文所用之短語「人類單株抗體」係指具有其中構架區與 CDR 區均來源於人類序列之可變區之顯示單一結合特異性的抗體。在一個實施例中，人類單株抗體藉由融合瘤產生，該融合瘤包括自轉殖基因非人類動物(例如轉殖基因小鼠)獲得之具有包含人類重鏈轉殖基因及輕鏈轉殖基因之基因組的 B 細胞融合於永生化細胞。

如本文所用之短語「重組人類抗體」包括藉由重組方式

製備、表現、產生或分離之所有人類抗體，諸如自針對人類免疫球蛋白基因轉殖基因或轉染色體之動物(例如小鼠)或由此製備之融合瘤分離的抗體，自經轉型以表現人類抗體之宿主細胞(例如自轉染瘤)分離之抗體，自重組之組合人類抗體文庫分離之抗體及藉由包含所有或一部分人類免疫球蛋白基因剪接至其他DNA序列之任何其他方式製備、表現、產生或分離的抗體。該等重組人類抗體具有其中構架區及CDR區來源於人類生殖系免疫球蛋白序列之可變區。在某些實施例中，然而，該等重組人類抗體可經受活體外突變誘發(或當使用針對人類Ig序列轉殖基因之動物時，經受活體內體細胞突變誘發)，因此重組抗體之 V_H 及 V_L 區之胺基酸序列為雖然來源於人類生殖系 V_H 及 V_L 序列且與其相關，但可不天然存在於活體內人類抗體生殖系譜系內的序列。

兩個實體之間的特異性結合意謂平衡常數(K_A)(k_{on}/k_{off})為至少 $10^2 M^{-1}$ 、至少 $5 \times 10^2 M^{-1}$ 、至少 $10^3 M^{-1}$ 、至少 $5 \times 10^3 M^{-1}$ 、至少 $10^4 M^{-1}$ 、至少 $5 \times 10^4 M^{-1}$ 、至少 $10^5 M^{-1}$ 、至少 $5 \times 10^5 M^{-1}$ 、至少 $10^6 M^{-1}$ 、至少 $5 \times 10^6 M^{-1}$ 、至少 $10^7 M^{-1}$ 、至少 $5 \times 10^7 M^{-1}$ 、至少 $10^8 M^{-1}$ 、至少 $5 \times 10^8 M^{-1}$ 、至少 $10^9 M^{-1}$ 、至少 $5 \times 10^9 M^{-1}$ 、至少 $10^{10} M^{-1}$ 、至少 $5 \times 10^{10} M^{-1}$ 、至少 $10^{11} M^{-1}$ 、至少 $5 \times 10^{11} M^{-1}$ 、至少 $10^{12} M^{-1}$ 、至少 $5 \times 10^{12} M^{-1}$ 、至少 $10^{13} M^{-1}$ 、至少 $5 \times 10^{13} M^{-1}$ 、至少 $10^{14} M^{-1}$ 、至少 $5 \times 10^{14} M^{-1}$ 、至少 $10^{15} M^{-1}$ 或至少 $5 \times 10^{15} M^{-1}$ 之結合。

短語「特異性(或選擇性)結合」於抗體(例如HER3結合

抗體)係指確定蛋白質及其他生物製品之異源群體中同源抗原(例如人類HER3)存在之結合反應。除上述平衡常數(K_A)之外,本發明之HER3結合抗體通常亦具有小於 5×10^{-2} M、小於 10^{-2} M、小於 5×10^{-3} M、小於 10^{-3} M、小於 5×10^{-4} M、小於 10^{-4} M、小於 5×10^{-5} M、小於 10^{-5} M、小於 5×10^{-6} M、小於 10^{-6} M、小於 5×10^{-7} M、小於 10^{-7} M、小於 5×10^{-8} M、小於 10^{-8} M、小於 5×10^{-9} M、小於 10^{-9} M、小於 5×10^{-10} M、小於 10^{-10} M、小於 5×10^{-11} M、小於 10^{-11} M、小於 5×10^{-12} M、小於 10^{-12} M、小於 5×10^{-13} M、小於 10^{-13} M、小於 5×10^{-14} M、小於 10^{-14} M、小於 5×10^{-15} M或小於 10^{-15} M或更低之解離速率常數(K_D)(k_{off}/k_{on}),且以其對結合於非特異性抗原(例如HSA)之親和力至少兩倍的親和力結合於HER3。

在一個實施例中,如使用本文中描述或熟習此項技術者已知之方法(例如BIAcore分析、ELISA、FACS、SET)(Biacore International AB, Uppsala, Sweden)所評估,抗體或其片段具有小於3000 pM、小於2500 pM、小於2000 pM、小於1500 pM、小於1000 pM、小於750 pM、小於500 pM、小於250 pM、小於200 pM、小於150 pM、小於100 pM、小於75 pM、小於10 pM、小於1 pM之解離常數(K_d)。

如本文所用之術語「 $K_{結合}$ 」或「 K_a 」係指特定抗體-抗原相互作用之締合速率,而如本文所用之術語「 $K_{解離}$ 」或「 K_d 」係指特定抗體-抗原相互作用之解離速率。如本文

所用之術語「 K_D 」係指解離常數，其自 K_d 與 K_a 之比率（亦即 K_d/K_a ）獲得且表示為莫耳濃度（M）。抗體之 K_D 值可使用此項技術中沿用已久之方法確定。用於確定抗體 K_D 之方法為使用表面電漿共振或使用生物感測器系統，諸如 Biacore® 系統。

如本文所用之術語「親和力」係指抗體與抗原之間在單一抗原位點的相互作用強度。在每一抗原位點內，抗體「臂」之可變區與抗原在許多位點經由弱的非共價力相互作用；相互作用愈多，親和力愈強。

如本文所用之術語「親合力」係指抗體-抗原複合物之總穩定性或強度的資訊性量度。其由三個主要因素控制：抗體抗原決定基親和力；抗原與抗體之價數；及相互作用部分之結構排列。最終此等因素確定抗體之特異性，亦即特定抗體結合於準確抗原決定基之可能性。

如本文所用之術語「價數」係指多肽中潛在標靶結合位點之數目。每一標靶結合位點特異性結合標靶分子上之一個標靶分子或特異性位點（亦即抗原決定基）。當多肽包含超過一個標靶結合位點時，每一標靶結合位點可特異性結合相同或不同分子（例如可結合於不同分子，例如不同抗原或同一分子上之不同抗原決定基）。

如本文所用之短語「拮抗抗體」係指與 HER3 結合且中和 HER3 信號傳導之生物活性，例如在磷酸化 HER3 或磷酸化 Akt 分析中例如減少、降低及/或抑制 HER3 誘發之信號傳導活性的抗體。分析之實例在以下實例中更詳細地描述。

因此，應瞭解如根據此項技術已知且本文中描述之方法所測定，「抑制」此等HER3功能性(例如生物化學、免疫化學、細胞、生理或其他生物活性或其類似性質)中之一或多者的抗體係指相對於缺乏抗體下(例如或當不相干特異性之對照抗體存在時)所見，特定活性在統計上顯著降低。抑制HER3活性之抗體實現所量測之參數在統計上顯著降低至少10%，至少50%、80%或90%，且在某些實施例中，如細胞HER3磷酸化程度降低所證實，本發明之抗體可抑制超過95%、98%或99% HER3功能活性。

短語「分離抗體」係指實質上不含具有不同抗原特異性之其他抗體的抗體(例如特異性結合HER3之分離抗體實質上不含特異性結合除HER3以外之抗原的抗體)。然而，特異性結合HER3之分離抗體可具有與其他抗原之交叉反應性。此外，分離抗體可實質上不含其他細胞物質及/或化學物質。

短語「保守修飾之變異體」適用於胺基酸與核酸序列。關於特定核酸序列，保守修飾之變異體係指編碼相同或基本上相同胺基酸序列之彼等核酸，或在核酸不編碼胺基酸序列之情況下，係指基本上相同序列。因為遺傳密碼簡併，所以很多功能相同之核酸編碼任何既定蛋白質。舉例而言，密碼子GCA、GCC、GCG及GCU均編碼胺基酸丙胺酸。因此，在丙胺酸用密碼子說明之每個位置，密碼子可改變成在未改變編碼多肽下所描述之任何相應密碼子。該等核酸變異為「沉默變異」，其為保守修飾之變異之一

種。本文中編碼多肽之每個核酸序列亦描述核酸之每個可能沉默變異。熟習此項技術者將認識到，核酸中之每一密碼子(除了通常為甲硫胺酸之唯一密碼子的AUG及通常為色胺酸之唯一密碼子的TGG)均可經修飾以產生功能相同分子。因此，編碼多肽之核酸的每一沉默變異隱含於每一所述序列中。

對於多肽序列，「保守修飾之變異體」包括引起胺基酸經化學上類似之胺基酸取代的多肽序列之個別取代、缺失或添加。提供功能類似胺基酸之保守取代表為此項技術中所熟知。該等保守修飾之變異體除此之外不排除本發明之多態變異體、種間同源物及對偶基因。以下八組含有作為彼此保守取代之胺基酸：1)丙胺酸(A)、甘胺酸(G)；2)天冬胺酸(D)、麩胺酸(E)；3)天冬醯胺(N)、麩醯胺酸(Q)；4)精胺酸(R)、離胺酸(K)；5)異白胺酸(I)、白胺酸(L)、甲硫胺酸(M)、纈胺酸(V)；6)苯丙胺酸(F)、酪胺酸(Y)、色胺酸(W)；7)絲胺酸(S)、蘇胺酸(T)；及8)半胱胺酸(C)、甲硫胺酸(M)(參見例如 Creighton, Proteins (1984))。在一些實施例中，術語「保守序列修飾」用以指不顯著影響或改變含有該胺基酸序列之抗體之結合特徵的胺基酸修飾。

術語「交叉競爭(cross-compete)」與「交叉競爭(cross-competing)」在本文中可互換使用，意謂在標準競爭結合分析中抗體或其他結合劑干擾其他抗體或結合劑結合於HER3之能力。

可使用標準競爭結合分析確定抗體或其他結合劑能夠干

擾另一抗體或結合分子結合於HER3之能力或程度，因此可確定是否可根據本發明說成交叉競爭。一種適合分析包含使用 Biacore 技術 (例如藉由使用 BIAcore 3000 儀器 (Biacore, Uppsala, Sweden))，其可使用表面電漿共振技術，量測相互作用程度。用於量測交叉競爭之另一分析使用基於ELISA之方法。

如本文所用之術語「最佳化」係指核苷酸序列經改變以使用在產生細胞或生物體，一般真核細胞 (例如畢赤酵母 (*Pichia*) 細胞、木黴 (*Trichoderma*) 細胞、中國倉鼠卵巢細胞 (CHO) 或人類細胞) 中較佳之密碼子編碼胺基酸序列。最佳化核苷酸序列經工程改造以完全或儘可能多地保留最初由起始核苷酸序列編碼之胺基酸序列 (亦稱「親本」序列)。

評估抗體對各種物種之HER3之結合能力的標準分析為此項技術中已知，包括例如ELISA、西方墨點法及RIA。適合分析詳細描述於實例中。抗體之結合動力學 (例如結合親和力) 亦可藉由此項技術中已知之標準分析，諸如藉由Biacore分析或FACS相對親和力 (Scatchard) 評估。評估抗體對HER3功能性之作用的分析 (例如受體結合分析，調節Her路徑) 更詳細地描述於實例中。

在兩種或兩種以上核酸或多肽序列之情況下，短語「一致百分比」或「一致性百分比」係指相同的兩種或兩種以上序列或子序列。當如使用一種以下序列比較演算法或藉由人工比對及目測檢查所量測，在比較窗口或指定區域上

針對最大對應性進行比較及比對時，若兩個序列具有指定百分比之胺基酸殘基或核苷酸相同(亦即在指定區域上，或當未指定時，整個序列上60%一致性，視情況65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%一致性)，則兩個序列「實質上一致」。視情況，一致性在長至少約50個核苷酸(或10個胺基酸)之區域上存在，或更佳在長為100至500或1000個或1000個以上核苷酸(或20、50、200個或200個以上胺基酸)之區域上存在。

為進行序列比較，通常一種序列用作參考序列，測試序列與其進行比較。當使用序列比較演算法時，測試及參考序列輸入電腦，必要時指定子序列座標，且指定序列演算法程式參數。可使用預設程式參數，或可指定替代參數。接著基於程式參數，序列比較演算法計算測試序列相對於參考序列之序列一致性百分比。

如本文所用之「比較窗口」包括提及具有選自由20至600、通常約50至約200、更通常約100至約150組成之群之任一數目鄰接位置的區段，其中在序列與具有相同數目之鄰接位置之參考序列最佳比對後兩個序列可比較。用於比較之序列比對方法為此項技術中所熟知。用於比較之最佳序列比對可例如藉由Smith及Waterman, (1970) Adv. Appl. Math. 2:482c之局部同源性演算法、藉由Needleman及Wunsch, (1970) J. Mol. Biol. 48:443之同源性比對演算法、藉由Pearson及Lipman, (1988) Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 85:2444之相似性搜索方法、藉由此等演算法之電腦

化實施(Wisconsin Genetics套裝軟體中GAP、BESTFIT、FASTA及TFASTA，Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WI)，或藉由人工比對及目測檢查(參見例如Brent等人，(2003) Current Protocols in Molecular Biology)進行。

適於測定序列一致性及序列相似性百分比之演算法的兩個實例為BLAST及BLAST 2.0演算法，其分別描述於Altschul等人，(1977) Nuc. Acids Res. 25:3389-3402；及Altschul等人，(1990) J. Mol. Biol. 215:403-410中。用於執行BLAST分析之軟體可經由國家生物技術資訊中心(the National Center for Biotechnology Information)公開獲得。此演算法包含首先藉由鑑別查詢序列中長度W之短字來鑑別高評分序列對(HSP)，該等短字在與數據庫序列中相同長度之字比對時匹配或者滿足一些正值閾值分數T。T稱為鄰近字分數閾值(Altschul等人，上述)。此等初始鄰近字命中充當用於開始尋找含有其之較長HSP之搜索的種子。該等字命中以沿每一序列之兩個方向延伸，直至可增加累積比對分數。對於核苷酸序列，累積分數使用參數M (一對匹配殘基之獎勵分數；總是 >0)及N(錯配殘基之處罰分數；總是 <0)來計算。對於胺基酸序列，評分矩陣用以計算累積分數。每一方向上字命中之延伸在以下情況時停止：累積比對分數自其最大實現值減少數量X；由於一或多個負評分殘基比對之累積而使得累積評分達至零或零以下；或者達到每一序列之末端。BLAST演算法參數W、T

及X確定比對之靈敏性及速度。BLASTN程序(對於核苷酸序列)使用11之字長(W)、10之期望值(E)、M=5、N=-4及兩股比較作為預設值。對於胺基酸序列，BLASTP程序使用3之字長及10之期望值(E)，以及50之BLOSUM62評分矩陣(參見Henikoff及Henikoff, (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:10915)比對(B)、10之期望值(E)、M=5、N=-4及兩股比較作為預設值。

BLAST演算法亦執行兩個序列之間的相似性統計分析(參見例如Karlin及Altschul, (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-5787)。由BLAST演算法提供之一種相似性量度為最小和機率($P(N)$)，其指示兩個核苷酸或胺基酸序列之間的匹配碰巧存在之機率。舉例而言，若核酸與參考序列比較時最小和機率小於約0.2，更佳小於約0.01且最佳小於約0.001，則認為測試核酸類似於參考核酸。

兩個胺基酸序列之間的一致性百分比亦可使用E. Meyers及W. Miller ((1988) Comput. Appl. Biosci. 4:11-17)之演算法確定，該演算法已併入ALIGN程式(2.0版)中，使用PAM120權數殘基表、12之間隙長度罰分及4之間隙罰分。另外，兩個胺基酸序列之間的一致性百分比可使用Needleman及Wunsch ((1970) J. Mol. Biol. 48:444-453)演算法確定，該演算法已併入GCG套裝軟體(在www.gcg.com可得)中之GAP程式中，使用Blossom 62矩陣或PAM250矩陣，以及16、14、12、10、8、6或4之間隙權數，及1、2、3、4、5或6之長度權數。

除上述序列一致性百分比以外，兩個核酸序列或多肽實質上一致之另一指示為藉由第一核酸編碼之多肽與針對藉由第二核酸編碼之多肽之抗體免疫交叉反應，如下所述。因此，多肽通常實質上與第二多肽一致，例如其中兩個肽僅僅因保守取代而不同。兩個核酸序列實質上一致之另一指示為兩個分子或其補體在嚴格條件下彼此雜交，如下所述。兩個核酸序列實質上一致之又一指示為相同引物可用於擴增序列。

短語「核酸」在本文中可與術語「聚核苷酸」互換使用且係指呈單股或雙股形式之去氧核糖核苷酸或核糖核苷酸及其聚合物。該術語包含含有已知之核苷酸類似物或經修飾之主鏈殘基或鍵的核酸，其為合成、天然存在及非天然存在的，具有與參考核酸類似之結合性質，且以類似於參考核苷酸之方式代謝。該等類似物之實例包括(不限於)硫代磷酸酯、胺基磷酸酯、膦酸甲酯、對掌性膦酸甲酯、2-O-甲基核糖核苷酸、肽-核酸(PNA)。

除非另外指明，否則特定核酸序列亦暗中包含其保守修飾之變異體(例如簡併密碼子取代)及互補序列以及明確指示之序列。特定言之，如下所詳述，簡併密碼子取代可藉由產生其中一或多個所選(或所有)密碼子之第三位經混合鹼基及/或去氧肌核苷殘基取代的序列實現(Batzer等人，(1991) *Nucleic Acid Res.* 19:5081；Ohtsuka等人，(1985) *J. Biol. Chem.* 260:2605-2608；及Rossolini等人(1994) *Mol. Cell. Probes* 8:91-98)。

短語「可操作地連接」係指兩個或兩個以上聚核苷酸(例如DNA)區段之間的功能關係。通常，其係指轉錄調節序列與轉錄序列之功能關係。舉例而言，若啟動子或強化子序列刺激或調節適當宿主細胞或其他表現系統中編碼序列之轉錄，則其可操作地連接於編碼序列。一般而言，可操作地連接於轉錄序列之啟動子轉錄調節序列實體鄰接轉錄序列，亦即其順式作用。然而，諸如強化子之一些轉錄調節序列無需實體鄰接或親密接近轉錄為其所強化之編碼序列。

術語「多肽」及「蛋白質」在本文中可互換使用，係指胺基酸殘基之聚合物。該術語適用於其中一或多個胺基酸殘基為相應天然存在之胺基酸之人工化學模擬物的胺基酸聚合物，以及天然存在之胺基酸聚合物及非天然存在之胺基酸聚合物。除非另外指明，否則特定多肽序列亦暗中包含其保守修飾之變異體。

術語「個體」包括人類及非人類動物。非人類動物包括所有脊椎動物，例如哺乳動物及非哺乳動物，諸如非人類靈長類動物、綿羊、狗、母牛、小雞、兩棲動物及爬蟲。除非闡述，否則術語「患者」或「個體」在本文中可互換使用。

術語「抗癌劑」意謂可用於治療細胞增生性病徵(諸如癌症)之任何藥劑，包括細胞毒性劑、化學治療劑、放射療法及放射治療劑、靶向抗癌劑及免疫治療劑。

「腫瘤」係指贅生性細胞生長及增殖，無論惡性還是良

性，以及所有癌前及癌細胞及組織。

術語「抗腫瘤活性」意謂腫瘤細胞增殖速率、活力或轉移活性降低。顯示抗腫瘤活性之一種可能方式為顯示在療法期間產生之異常細胞的生長速率下降或腫瘤尺寸穩定或減小。該活性可使用公認之活體外或活體內腫瘤模型，包括(但不限於)異種移植模型、同種異體移植模型、MMTV模型及此項技術中已知研究抗腫瘤活性之其他已知模型來評估。

術語「惡性疾病」係指非良性腫瘤或癌症。如本文所用之術語「癌症」包括特徵為不受調節或不受控制之細胞生長的惡性疾病。例示性癌症包括癌瘤、肉瘤、白血病及淋巴瘤。術語「癌症」包括原發性惡性腫瘤(例如細胞尚未遷移至個體體內除原始腫瘤位點以外之位點的腫瘤)及繼發性惡性腫瘤(例如由轉移(腫瘤細胞遷移至不同於原始腫瘤位點之第二位點)所產生的腫瘤)。

本發明之各種態樣進一步詳細地描述於以下部分及分部中。

HER受體之結構及活化機制

所有四種HER受體均具有細胞外配位體結合域、單一跨膜域及細胞質含酪胺酸激酶域。HER受體之細胞內酪胺酸激酶域高度保守，不過HER3之激酶域含有關鍵胺基酸之取代，因此激酶活性不足(Guy等人，(1994): PNAS 91, 8132-8136)。配位體誘發之HER受體二聚化誘發激酶活化，C端尾中酪胺酸殘基上受體轉磷酸化，接著募集及活

化細胞內信號傳導效應子(Yarden及Sliwkowski, (2001) Nature Rev 2, 127-137 ; Jorissen等人, (2003) Exp Cell Res 284, 31-53)。

HER之細胞外域之晶體結構已提供一些對配位體誘發之受體活化過程的瞭解(Schlessinger, (2002) Cell 110, 669-672)。每一HER受體之細胞外域由四個子域組成：子域I與III合作形成配位體結合位點，而子域II (或許以及子域IV) 經由直接受體-受體相互作用參與受體二聚化。在配位體結合之HER1的結構中，子域II中之 β 髮夾(稱為二聚化環)與搭配物受體之二聚化環相互作用，介導受體二聚化(Garrett等人, (2002) Cell 110, 763-773 ; Ogiso等人, (2002) Cell 110, 775-787)。相比之下，在不活化HER1、HER3及HER4之結構中，二聚化環與子域IV進行分子內相互作用，此阻止在缺乏配位體下進行受體二聚化(Cho及Leahy, (2002) Science 297, 1330-1333 ; Ferguson等人, (2003) Mol Cell 12, 541-552 ; Bouyan等人, (2005) PNAS102, 15024-15029)。HER2之結構在HER中為獨特的。在缺乏配位體下，HER2之構形類似於具有突出之二聚化環的HER1之配位體活化狀態，可與其他HER受體相互作用(Cho等人, (2003) Nature 421, 756-760 ; Garrett等人, (2003) Mol Cell 11, 495-505)。此可說明HER2增強之雜二聚化能力。

雖然HER受體晶體結構提供HER受體均二聚化及雜二聚化之模型，但一些HER均二聚體及雜二聚體優於別者之背

景(Franklin等人，(2004) Cancer Cell 5, 317-328)以及每一域在受體二聚化及自抑制中之構形作用(Burgess等人，(2003) Mol Cell 12, 541-552；Mattoon等人，(2004) PNAS 101, 923-928)仍然有些不清楚。如下所述，HER3之X射線晶體結構提供更多瞭解。

HER3結構及構形抗原決定基

本文提供抗原結合蛋白(例如抗-HER3抗體)結合之構形抗原決定基。首次顯示與抗體複合之HER3之細胞外域的截短形式(殘基20-640)之三維結構。HER3-MOR09823 Fab複合物及HER3-MOR09825已分別在3.2 Å及3.4 Å解析度下測定，且顯示於圖5A中。本發明亦首次顯示結合於HER3之不活化狀態且將受體穩定化於不活化狀態之抗體或其片段。本發明之抗體亦允許諸如神經調節蛋白之HER3配位體與HER3受體同時結合。

雖然不束縛於提供理論，但作用機制之一種可能模型為HER3通常以不活化(閉合、繫栓)或活化(開放)狀態存在。配位體結合誘發構形變化，使得HER3以能夠結合雜二聚體搭配物，引起下游信號傳導活化之活化(開放)狀態存在。諸如MOR09823之抗體雖然結合HER3之不活化(繫栓)狀態，但不阻斷配位體結合位點。諸如MOR09823之抗體藉由阻止HER3轉變成活化構形所需之配位體誘發之結構重排，從而阻止信號傳導來抑制HER3。在一個實施例中，本發明之抗體或其片段雖然結合HER3之不活化(繫栓)狀態，但不阻斷配位體結合位點。在另一個實施例中，抗

體或其片段藉由阻止HER3轉變成活化構形所需之配位體誘發之結構重排，從而阻止信號傳導來抑制HER3。在另一個實施例中，抗體或其片段穩定化(直接維持、鎖定、繫栓、保持、優先結合或偏好)呈不活化狀態或構形之HER3受體。在一個實施例中，不活化HER3受體可容易優先內在化或降解，從而導致細胞表面HER3受體損失。實例部分中呈現之生物資料證明此等實施例。

HER3之晶體可藉由在適合宿主細胞中表現編碼HER3或其變異體之核苷酸序列，接著在相關HER3靶向Fab存在下使純化之蛋白質結晶來製備。較佳地，HER3多肽含有細胞外域(人類多肽之胺基酸20至640或其截短型式，較佳包含胺基酸20-640)，但缺乏跨膜域及細胞內域。

HER3多肽亦可作為融合蛋白產生，例如有助於提取及純化。融合蛋白搭配物之實例包括麴朊甘肽-S-轉移酶(GST)、組胺酸(HIS)、六聚組胺酸(6HIS)、GAL4 (DNA結合及/或轉錄活化域)及 β -半乳糖苷酶。此外，在融合蛋白搭配物與相關蛋白序列之間宜包括蛋白質裂解位點，以允許移除融合蛋白序列。

表現後，蛋白質可例如藉由固定化金屬親和層析、離子交換層析及/或凝膠過濾來純化及/或濃縮。

蛋白質可使用本文中描述之技術結晶。通常，在結晶製程中，含有蛋白質溶液之液滴與結晶緩衝液混合且使其在密封容器中平衡。平衡可藉由已知之技術，諸如「懸滴」或「沉滴」法實現。在此等方法中，液滴懸於大得多之結

晶緩衝液儲集器上方或沉於其旁邊，且經由蒸氣擴散達到平衡。或者，平衡可藉由其他方法，例如在油下、經由半透膜或藉由自由界面擴散發生(參見例如 Chayen 等人，(2008) *Nature Methods* 5, 147-153)。

一旦獲得晶體，即可藉由已知之X射線繞射技術求解結構。許多技術使用化學修飾之晶體，諸如藉由重原子衍生至近似相而修飾之晶體。實際上，晶體浸入含有重金屬原子鹽或有機金屬化合物(例如氯化鉛、硫代蘋果酸金、硫柳汞或醋酸氧鈾)之溶液中，該溶液可擴散穿過晶體且結合於蛋白質表面。接著結合之重金屬原子之位置可藉由浸泡晶體之X射線繞射分析來確定。X射線之單色束藉由晶體原子(散射中心)繞射後所獲得之圖案可藉由數學方程式求解，得到數學座標。繞射資料用以計算晶體重複單元之電子密度圖。另一個獲得相位資訊之方法為使用稱為分子置換之技術。在此方法中，轉動及平移演算法應用於來源於相關結構之搜索模型，產生相關蛋白質之近似取向(參見 Rossmann, (1990) *Acta Crystals A* 46, 73-82)。電子密度圖用以建立晶體之單位晶胞內個別原子之位置(Blundel 等人，(1976) *Protein Crystallography*, Academic Press)。

本發明首次描述 HER3 之三維結構及抗 HER3 抗體之 Fab。HER3 之細胞外域之近似域邊界如下；域 1：胺基酸 20-207；域 2：胺基酸 208-328；域 3：胺基酸 329-498；及域 4：胺基酸 499-642。HER3 之三維結構及抗體亦允許鑑別潛在 HER3 調節劑之標靶結合位點。較佳標靶結合位點

為參與HER3活化之位點。在一個實施例中，標靶結合位點位於HER3之域2及域4內。因此，結合於域2或域4且較佳結合於兩個域之抗體或其片段可藉由阻止域彼此解離或藉由改變域之相對位置來調節HER3活化。因此，抗體或其片段結合於域2或域4內之胺基酸殘基可使蛋白質採取防止活化之構形。本發明亦首次顯示可與HER3配位體(諸如神經調節蛋白)同時結合之抗體或其片段。

在一些實施例中，抗體或其片段識別HER3之特定構形狀態，使得抗體或其片段阻止HER3與共受體(包括(但不限於) HER1、HER2及HER4)相互作用。在一些實施例中，抗體或其片段藉由將HER3受體穩定化於不活化或閉合狀態來阻止HER3與共受體相互作用。在一個實施例中，抗體或其片段藉由結合於HER3之域2及域4內的胺基酸殘基來穩定化HER3受體。在此不活化狀態中，位於域2內之二聚化環未暴露，因此無法與其他共受體(包括(但不限於) HER1、HER2及HER4)二聚化。在一些實施例中，抗體或其片段結合於具有包含以下之構形抗原決定基之人類HER3蛋白：(i) SEQ ID NO: 1之HER3胺基酸殘基265-277及315 (域2)及(ii) HER3胺基酸殘基571、582-584、596-597、600-602、609-615 (域4)，或其子集。在一些實施例中，抗體或其片段結合於SEQ ID NO: 1之胺基酸殘基265-277及315 (域2)及(ii) HER3胺基酸殘基571、582-584、596-597、600-602、609-615 (域4)內或與其重疊的胺基酸。在一些實施例中，抗體或其片段結合於SEQ ID NO: 1

之胺基酸265-277及315 (域2)及(ii) HER3胺基酸殘基571、582-584、596-597、600-602、609-615 (域4)或其子集內的胺基酸(及/或由其組成之胺基酸序列)。在一些實施例中，抗體或其片段結合於構形抗原決定基，使得其限制域2及域4之移動性，將其穩定化於不活化或閉合構形。不能形成活化構形，從而不能活化信號傳導。在一些實施例中，抗體或其片段結合於構形抗原決定基，使得其閉鎖域2內之二聚化環，從而使其無法進行受體-受體相互作用。不能形成均二聚體或雜二聚體，從而不能活化信號傳導。

在另一個態樣中，抗體或其片段結合HER受體(諸如HER3受體)之構形抗原決定基。在一個實施例中，抗體或其片段將HER3受體穩定化於不活化狀態。在另一個實施例中，抗體或其片段結合於HER3受體之活動狀態且驅使其進入不活化狀態，處於不活化狀態。因此，雖然抗體或其片段可結合於HER3之活化或不活化狀態，但偏好形成不活化狀態且驅使HER3之活動狀態變成不活化狀態，從而不能活化信號傳導。

在另一個態樣中，抗體或其片段結合HER受體(諸如HER3受體)之構形抗原決定基，其中抗體或其片段之結合將HER3受體穩定化於不活化狀態，使得HER3受體不能與共受體二聚形成受體-受體複合物。不能形成受體-受體複合物可阻止配位體依賴性與非配位體依賴性信號傳導之活化。

在另一個態樣中，抗體或其片段結合HER受體(諸如

HER3受體)之構形抗原決定基，其中抗體或其片段結合於HER3受體允許與共受體二聚形成不活化受體-受體複合物。不活化受體-受體複合物之形成可阻止非配位體依賴性信號傳導之活化。舉例而言，在非配位體依賴性信號傳導中，HER3可以不活化狀態存在，然而，HER2過度表現引起HER2-HER3複合物形成，然而此等所得複合物不活化且阻止非配位體依賴性信號傳導之活化。

所描繪結構亦允許鑑別抗體或其片段(例如MOR09823)與HER3之相互作用界面的特定核心HER3胺基酸殘基。此定義為在MOR09823蛋白VH鏈之5Å內的殘基。核心殘基如下：Asn266、Lys267、Leu268、Thr269、Gln271、Glu273、Pro274、Asn275、Pro276、His277、Asn315、Asp571、Pro583、His584、Ala596、Lys597。

該等結構亦可用以鑑別與抗體或其片段(例如MOR09823)之相互作用界面的邊界HER3胺基酸殘基。此等殘基可為距離MOR09823蛋白VH鏈5-8Å的HER3殘基。邊界殘基如下：Pro262、Val264、Tyr265、Phe270、Leu272、Thr278、Lys314、Gly316、Glu321、Asn566、Ser568、Gly569、Ser570、Thr572、Arg580、Asp581、Gly582、Gly595、Gly598、Ile600。

所描繪結構亦允許鑑別抗體或其片段(例如MOR09823)與HER3之相互作用界面的特定核心HER3胺基酸殘基。此定義為在MOR09823蛋白VL鏈之5Å內的殘基。核心殘基如下：Tyr265、Lys267、Leu268、Phe270、Gly582、

Pro583、Lys597、Ile600、Lys602、Glu609、Arg611、Pro612、Cys613、His614、Glu615。

該等結構亦用以鑑別與抗體或其片段(例如MOR09823)之相互作用界面的邊界HER3胺基酸殘基。此等殘基可為距離MOR09823蛋白VL鏈5-8Å的HER3殘基。邊界殘基如下：Asn266、Thr269、Asp571、Arg580、Asp581、His584、Pro590、Ala596、Pro599、Tyr601、Tyr603、Asp605、Gln607、Cys610、Asn616、Cys617、Cys621、Gly623、Pro624。

如分別在表11及12(MOR09823)以及表13及14(MOR09825)中可見，重鏈主要參與抗原結合蛋白結合於抗原決定基之域2內之胺基酸殘基，較少與域4之胺基酸殘基相互作用，而輕鏈主要參與結合於抗原決定基之域4內之胺基酸殘基，較少與域2內之胺基酸殘基相互作用。

同樣，熟習此項技術者考慮到本發明之教示，可預測抗原結合蛋白之哪些殘基及區域可變化而不過度干擾抗原結合蛋白結合於HER3之能力。

核心相互作用界面胺基酸確定為至少一個原子距離HER3搭配物蛋白質小於或等於5Å的所有胺基酸殘基。挑選5Å作為核心區截止距離，以考慮到凡得瓦爾半徑(van der Waals radius)加可能的水介導之氫鍵內之原子。邊界相互作用界面胺基酸確定為至少一個原子距離HER3搭配物蛋白質小於或等於8Å，但不包括在核心相互作用清單內的所有胺基酸殘基。

在一些實施例中，結合於、覆蓋或阻止MOR09823與任何上述殘基相互作用之任何抗原結合蛋白可用於結合於或中和HER3。在一些實施例中，抗體或其片段結合於以下HER3殘基(SEQ ID NO: 1)中之至少一者或與其相互作用：Asn266、Lys267、Leu268、Thr269、Gln271、Glu273、Pro274、Asn275、Pro276、His277、Asn315、Asp571、Pro583、His584、Ala596、Lys597。在一些實施例中，抗體及其片段結合於以下HER3殘基(SEQ ID NO: 1)中之至少一者或與其相互作用：Tyr265、Lys267、Leu268、Phe270、Gly582、Pro583、Lys597、Ile600、Lys602、Glu609、Arg611、Pro612、Cys613、His614、Glu615。在一些實施例中，抗體或其片段結合於以下HER3殘基(SEQ ID NO: 1)中之至少一者或與其相互作用：Asn266、Lys267、Leu268、Thr269、Gln271、Glu273、Pro274、Asn275、Pro276、His277、Asn315、Asp571、Pro583、His584、Ala596、Lys597、Tyr265、Lys267、Leu268、Phe270、Gly582、Pro583、Lys597、Ile600、Lys602、Glu609、Arg611、Pro612、Cys613、His614、Glu615。在一些實施例中，抗體或其片段結合於以下HER3殘基(SEQ ID NO: 1)之組合或與其相互作用：Asn266、Lys267、Leu268、Thr269、Gln271、Glu273、Pro274、Asn275、Pro276、His277、Asn315、Asp571、Pro583、His584、Ala596、Lys597、Tyr265、Lys267、Leu268、Phe270、Gly582、Pro583、Lys597、Ile600、Lys602、Glu609、

Arg611、Pro612、Cys613、His614、Glu615。在一些實施例中，抗體或其片段結合於所有以下HER3殘基(SEQ ID NO: 1)或與其相互作用：Asn266、Lys267、Leu268、Thr269、Gln271、Glu273、Pro274、Asn275、Pro276、His277、Asn315、Asp571、Pro583、His584、Ala596、Lys597、Tyr265、Lys267、Leu268、Phe270、Gly582、Pro583、Lys597、Ile600、Lys602、Glu609、Arg611、Pro612、Cys613、His614、Glu615。在一些實施例中，抗體或其片段在上述殘基中之一或多者的5埃(angstrom)內。在一些實施例中，抗體或其片段距離一或多個上述殘基5至8埃。在一些實施例中，抗體或其片段與上述殘基中之1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、30、35、40、45或50個相互作用、阻斷其或在其8埃內。

HER3及HER3:MOR09823複合物之三維結構的可用性例如提供更詳細地探測其他HER3抗體之構架。HER3之三維結構允許定位單株抗體之抗原決定基及推斷其作用模式，因為一些抑制，一些刺激，且其他對細胞生長無影響。MOR09823之構形抗原決定基位於HER3之域2及4。此受體之三維結構之可用性將有助於確定此等抑制劑之準確作用機制及設計干擾HER3受體功能之新方法。在一個實施例中，本發明之抗體結合於與MOR09823相同之構形抗原決定基。

在一些實施例中，表1中列出之任何抗體結合的構形抗

原決定基尤其適用。在某些實施例中，HER3構形抗原決定基可用於分離結合於HER3之抗體或其片段。在某些實施例中，HER3構形抗原決定基可用於產生結合於HER3之抗體或其片段。在某些實施例中，HER3構形抗原決定基可用作產生結合於HER3構形抗原決定基之抗體或其片段的免疫原。在某些實施例中，HER3構形抗原決定基可投與動物，且結合於HER3之抗體隨後可自該動物獲得。

在一些實施例中，含有與抗體接觸或由抗體掩蔽之殘基的域/區域可藉由使HER3（例如野生型抗原）中之特定殘基突變且確定抗體或其片段是否可結合該突變或變異HER3蛋白或量測自野生型之親和力變化來鑑別。藉由進行大量個別突變，可鑑別在結合於抗體中起直接作用或與抗體足夠接近，使得突變可影響抗體與抗原之間的結合之殘基。自對此等胺基酸之認識，可闡明含有與抗體接觸或由抗體遮蔽之殘基的抗原(HER3)域或區域。使用已知之技術(諸如丙胺酸掃描)之突變誘發可幫助確定功能上相關之抗原決定基。亦可採用利用精胺酸/麩胺酸掃描方案之突變誘發(參見例如 Nanevicz 等人，(1995), J. Biol. Chem. 270(37):21619-21625及 Zupnick 等人，(2006), J. Biol. Chem. 281(29):20464-20473)。一般而言，精胺酸及麩胺酸取代(通常個別)野生型多肽中之胺基酸，因為此等胺基酸帶電且體積大，因此能夠在引入突變之抗原附近破壞抗原結合蛋白與抗原之間的結合。存在於野生型抗原中之精胺酸經麩胺酸置換。可獲得多種該等個別突變體且分析收集之結

合結果，以確定哪些殘基影響結合。可產生一系列突變HER3抗原，其中每一突變抗原具有單一突變。可量測每一突變HER3抗原與各種HER3抗體或其片段之結合且比較所選抗體或其片段結合野生型HER3 (SEQ ID NO: 1)之能力。

如本文所用之抗體或其片段與突變或變異HER3之間的結合之改變(例如減少或增加)意謂結合親和力(例如如藉由已知之方法，諸如下文在實例中描述之Biacore測試或基於珠粒之分析量測) EC_{50} 之變化及/或抗原結合蛋白之總結合能力(例如如藉由在抗原結合蛋白濃度對比抗原濃度之圖中 B_{max} 下降所證明)的變化(例如降低)。結合之明顯改變指示突變殘基參與結合於抗體或其片段。

在一些實施例中，結合明顯減少意謂抗體或其片段與突變HER3抗原之間的結合親和力 EC_{50} 及/或結合能力相對於抗體或其片段與野生型HER3 (例如SEQ ID NO: 1)之間的結合減少超過10%、超過20%、超過40%、超過50%、超過55%、超過60%、超過65%、超過70%、超過75%、超過80%、超過85%、超過90%或超過95%。

在一些實施例中，與野生型HER3蛋白(例如SEQ ID NO: 1)相比，抗體或其片段對具有一或多個(例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或10個以上)突變之突變HER3蛋白的結合顯著減少或增加。

雖然變異形式相對於SEQ ID NO: 1中所示之野生型序列提及，但應瞭解在HER3之對偶基因或剪接變異體中胺基

酸可不同。亦涵蓋顯示對HER3之該等對偶基因形式之結合顯著改變(例如結合降低或升高)的抗體或其片段。

除抗體之一般結構態樣之外，互補位與抗原決定基之間的更特定相互作用可經由結構方法檢查。在一個實施例中，CDR之結構構成互補位，經由互補位，抗體能夠結合於抗原決定基。此類互補位之形狀可用許多方式來確定。可使用傳統結構檢查方法，諸如NMR或x射線晶體學。此等方法可檢查單獨互補位之形狀，或其結合於抗原決定基時之形狀。或者，分子模型可在電腦中(in silico)產生。結構可經由商業套件輔助之同源性模型化(諸如來自Accelrys (San Diego, Calif.)之InsightII模型化套件)產生。簡言之，可使用待檢查抗體之序列針對具有已知結構之蛋白質的數據庫(諸如蛋白質數據庫(Protein Data Bank))搜索。在鑑別具有已知結構之同源蛋白質後，此等同源蛋白質用作模型化模板。可比對每一可能模板，因此在模板中產生基於結構之序列對比。接著具有未知結構之抗體之序列可與此等模板比對，產生具有未知結構之抗體的分子模型。如熟習此項技術者所瞭解，有許多在電腦中產生該等結構的替代方法，任一者均可使用。舉例而言，可使用類似於頒予Hardman等人之美國專利第5,958,708號中描述之方法，採用QUANTA (Polygen Corp., Waltham, Mass.)及CHARM (Brooks等人，(1983), J. Comp. Chem. 4:187)(以全文引用的方式併入本文中)。

不僅互補位之形狀對確定可能互補位是否結合於抗原決

定基以及程度如何而言為重要的，而且抗原決定基與互補位之間的相互作用本身亦為設計變異抗體時重要資訊之來源。如熟習此項技術者所瞭解，存在多種可研究此相互作用之方式。一種方式為使用或許如上所述產生之結構模型，接著使用諸如 InsightII (Accelrys, San Diego, Calif.) 之程式，其具有尤其能夠對互補位與其抗原決定基之間的構形及取向間隔執行蒙特卡洛搜索(Monte Carlo search)的對接模組。結果為能夠估計抗原決定基與互補位在何處且如何相互作用。在一個實施例中，僅僅抗原決定基之片段或變異體用以幫助確定相關相互作用。在一個實施例中，整個抗原決定基用於模型化互補位與抗原決定基之間的相互作用。

經由使用此等模型化結構，能夠預測哪些殘基在抗原決定基與互補位之間的相互作用中最重要。因此，在一個實施例中，能夠容易選擇改變哪些殘基以改變抗體之結合特徵。舉例而言，自對接模型可顯而易見，互補位中某些殘基之側鏈可在空間上阻礙抗原決定基之結合，因此將此等殘基改變為具有較小側鏈之殘基可為有益的。可用許多方式確定此。舉例而言，可簡單查看兩個模型且基於官能基及接近度估計相互作用。或者，可執行重複的如上所述之抗原決定基與互補位配對，以獲得更有利的能量相互作用。亦可確定多種抗體變異體之此等相互作用以確定抗體可結合於抗原決定基之替代方式。亦可組合各種模型以確定應該如何改變抗體之結構以獲得具有所需特定特徵之抗

體。

以上確定之模型可經由各種技術測試。舉例而言，相互作用能可用以上討論之程式確定，以確定哪一個變異體待進一步檢查。此外，庫倫(coulumbic)與凡得瓦爾相互作用用以確定抗原決定基與變異互補位之相互作用能。此外，定點突變誘發用以查看抗體結構之預定改變事實上是否引起結合特徵之所需變化。或者，可對抗原決定基進行改變以驗證模型為正確的或確定可發生在互補位與抗原決定基之間的一般結合主題。

如熟習此項技術者所瞭解，雖然此等模型提供製造本發明實施例之抗體及其變異體所需之指導，但仍然可能需要或許經由活體外研究，執行計算機模型之例行測試。另外，如熟習此項技術者顯而易見，任何修飾亦可能對抗體之活性具有另外副作用。舉例而言，雖然預測引起更大結合之任何改變可誘發更大結合，但其亦可能引起可能降低或改變抗體活性之其他結構變化。確定是否確有其事為此項技術中所常見，且可用許多方式實現。舉例而言，活性可經由ELISA測試來測試。或者，樣品可經由使用表面電漿共振裝置測試。

HER3抗體

本發明提供識別HER3之構形抗原決定基的抗體。本發明係基於意外地發現一類針對HER3之抗體阻斷配位體依賴性與非配位體依賴性HER3信號傳導路徑。一類結合於HER3之特定構形抗原決定基的抗體揭示於表1中。在一個

實施例中，抗體抑制配位體依賴性與非配位體依賴性HER3信號傳導。在另一個實施例中，抗體結合於HER3且不阻斷HER配位體結合於配位體結合位點(亦即配位體與抗體可同時結合HER3)。

本發明提供特異性結合HER3蛋白(例如人類及/或食蟹獼猴HER3)之抗體，該等抗體包含具有SEQ ID NO: 15、33、51、69、87、105、123、141、159、177、195、213、231、249、267、285、303、321、339、357及375之胺基酸序列的VH域。本發明提供特異性結合HER3蛋白(例如人類及/或食蟹獼猴HER3)之抗體，該等抗體包含具有SEQ ID NO: 14、32、50、68、86、104、122、140、158、176、194、212、230、248、266、284、302、320、338、356及374之胺基酸序列的VL域。本發明亦提供特異性結合於HER3蛋白(例如人類及/或食蟹獼猴HER3)之抗體，該等抗體包含具有以下表1中列出之任一VH CDR之胺基酸序列的VH CDR。詳言之，本發明提供特異性結合於HER3蛋白(例如人類及/或食蟹獼猴HER3)之抗體，該等抗體包含(或者由其組成)一個、兩個、三個、四個、五個或五個以上具有以下表1中列出之任一VH CDR之胺基酸序列的VH CDR。

本發明之其他抗體包括已突變，但CDR區與表1中描述之序列中所描繪的CDR區仍具有至少60%、70%、80%、90%、95%或98%一致性的胺基酸。在一些實施例中，其包括與表1描述之序列中所描繪的CDR區相比，CDR區中

至多1個、2個、3個、4個或5個胺基酸突變，同時仍維持其對原始抗體之抗原決定基之特異性的突變胺基酸序列。

本發明之其他抗體包括已突變，但構架區與表1中描述之序列中所描繪的構架區仍具有至少60%、70%、80%、90%、95%或98%一致性的胺基酸。在一些實施例中，其包括與表1描述之序列中所描繪的構架區相比，構架區中至多1個、2個、3個、4個、5個、6個或7個胺基酸突變，同時仍維持其對原始抗體之抗原決定基之特異性的突變胺基酸序列。本發明亦提供編碼特異性結合於HER3蛋白(例如人類及/或食蟹獼猴HER3)之抗體之VH、VL、全長重鏈及全長輕鏈的核酸序列。

本發明之HER3抗體結合於包含來自HER3之域2及域4之胺基酸殘基的HER3之構形抗原決定基。

表1：本發明之HER3抗體之實例

SEQ ID編號	抗體區域	
MOR09823		
SEQ ID NO: 2 (Kabat)	HCDR1	SYAMS
SEQ ID NO: 3 (Kabat)	HCDR2	VTGAVGRITYYPDSVKG
SEQ ID NO: 4 (Kabat)	HCDR3	WGDEGFDI
SEQ ID NO: 5 (Kabat)	LCDR1	RASQGISNWLA
SEQ ID NO: 6 (Kabat)	LCDR2	GASSLQS
SEQ ID NO: 7 (Kabat)	LCDR3	QQYSSFPTT
SEQ ID NO: 8 (Chothia)	HCDR1	GFTFSSY
SEQ ID NO: 9 (Chothia)	HCDR2	GAVGR

SEQ ID NO: 10 (Chothia)	HCDR3	WGDEGFDI
SEQ ID NO: 11 (Chothia)	LCDR1	SQGISNW
SEQ ID NO: 12 (Chothia)	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: (Chothia) 13	LCDR3	YSSFPT
SEQ ID NO: 14	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYG ASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCQQYSSFPFTFGQ GTKVEIK
SEQ ID NO: 15	VH	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSV TGAVGRITYYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGD EGFDIWGQGLTVTVSS
SEQ ID NO: 16	DNA VL	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCGTCTAGCCTGAGCGCGAGCGTGGGTGATCGTG TGACCATTACCTGCAGAGCGAGCCAGGGTATTTCTAATTGGCTGGCTTGGTACCA GCAGAAACCAGGTAAAGCACCGAACTATTAATTTATGGTGCTTCTTCTTTGCAA AGCGGGGTCCCGTCCCGTTTTCGCGGCTCTGGATCCGGCACTGATTTACCCCTGA CCATTAGCAGCCTGCAACCTGAAGACTTTGCGGTTTATTATTGCCAGCAGTATTC TTCTTTCTACTACCTTTGGCCAGGGTACGAAAGTTGAAATTA
SEQ ID NO: 17	DNA VH	CAGGTGCAATTGGTGAAAGCGGCGGCGCCTGGTGCAACCGGGCGGCAGCCTGC GTCTGAGCTGCGCGGCTCCGGATTTACCTTTAGCAGCTATGCGATGAGCTGGGT GCGCAAGCCCTGGAAGGGTCTCGAGTGGGTGAGCGTTACTGGTGCTGTTGGT CGTACTTATTATCCTGATTCTGTTAAGGGTCGTTTACCATTTCAGTGATAATT CGAAAAACACCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCGGAAGATACGGCGGT GTATTATTGCGCGGTTGGGGTGATGAGGGTTTGATATTGGGGCAAGGCACC CTGGTGACGGTTAGCTCA
SEQ ID NO: 18	輕鏈λ	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYG ASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCQQYSSFPFTFGQ GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 19	重鏈IgG1	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSV TGAVGRITYYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGD EGFDIWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
MOR09824		
SEQ ID NO: 20 (Kabat)	HCDR1	SYAMS
SEQ ID NO: 21 (Kabat)	HCDR2	VISAWGHVKYYADSVKG

SEQ ID NO: 22 (Kabat)	HCDR3	WGDEGFDI
SEQ ID NO: 23 (Kabat)	LCDR1	RASQGISNWL
SEQ ID NO: 24 (Kabat)	LCDR2	GASSLQS
SEQ ID NO: 25 (Kabat)	LCDR3	QQYSSFPTT
SEQ ID NO: 26 (Chothia)	HCDR1	GFTFSSY
SEQ ID NO: 27 (Chothia)	HCDR2	SAWGHV
SEQ ID NO: 28 (Chothia)	HCDR3	WGDEGFDI
SEQ ID NO: 29 (Chothia)	LCDR1	SQGISNW
SEQ ID NO: 30 (Chothia)	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 31 (Chothia)	LCDR3	YSSFPT
SEQ ID NO: 32	VL	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYG ASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCQQYSSFPTTFGQ GTKVEIK
SEQ ID NO: 33	VH	QVQLVESGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVS ISAWGHVKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWG DEGFDIWGGTLVTSS
SEQ ID NO: 34	DNA VL	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCGTCTAGCCTGAGCGCGAGCGTGGGTGATCGTG TGACCATTACCTGCAGAGCGAGCCAGGGTATTTCTAATTGGCTGGCTTGGTACCA GCAGAAACCAGGTAAAGCACCGAACTATTAATTTATGGTGCTTCTTCTTTGCAA AGCGGGGTCCCCTCCCCTTTAGCGGCTCTGGATCCGGCACTGATTTACCTGTA CCATTAGCAGCCTGCAACCTGAAGACTTTGCGGTTTATTATTGCCAGCAGTATTC TTCTTTTCTACTACCTTTGGCCAGGGTACGAAAGTTGAAATTTAAA
SEQ ID NO: 35	DNA VH	CAGGTGCAATTGGTGAAAGCGGCGGCGCCTGGTGCAACCGGGCGGCAGCCTGC GTCTGAGCTGCGCGGCCTCCGGATTACCTTTAGCAGCTATGCGATGAGCTGGGT GCGCCAAGCCCCTGGGAAGGGTCTCGAGTGGGTGAGCGTTATTTCTGCTTGGGT CATGTTAAGTATTATGCTGATTCTGTTAAGGGTCGTTTACCATTTCACGTGATA ATTCGAAAAACACCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCGGAAGATACGGC CGTGATTATTGCGCGCTTGGGGTGATGAGGGTTTGTATTTGGGGCCAAGGC ACCCTGGTGACGGTTAGCTCA
SEQ ID NO: 36	輕鏈κ	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYG ASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCQQYSSFPTTFGQ GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 37	重鏈IgG1	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSV ISAWGHVKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWG DEGFDIWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
MOR09825		
SEQ ID NO: 38 (Kabat)	HCDR1	SYAMS
SEQ ID NO: 39 (Kabat)	HCDR2	AINSQGKSTYYADSVKG
SEQ ID NO: 40 (Kabat)	HCDR3	WGDEGFDI
SEQ ID NO: 41 (Kabat)	LCDR1	RASQGISNWL A
SEQ ID NO: 42 (Kabat)	LCDR2	GASSLQS
SEQ ID NO: 43 (Kabat)	LCDR3	QQYSSFPTT
SEQ ID NO: 44 (Chothia)	HCDR1	GFTFSSY
SEQ ID NO: 45 (Chothia)	HCDR2	NSQGKS
SEQ ID NO: 46 (Chothia)	HCDR3	WGDEGFDI
SEQ ID NO: 47 (Chothia)	LCDR1	SQGISNW
SEQ ID NO: 48 (Chothia)	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 49 (Chothia)	LCDR3	YSSFPT
SEQ ID NO: 50	VL	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYG ASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCQQYSSFPTTFGQ GTKVEIK
SEQ ID NO: 51	VH	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSA INSQGKSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWG DEGFDIWGQGT LVTVSS
SEQ ID NO: 52	DNA VL	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCGTCTAGCCTGAGCGCGAGCGTGGGTGATCGTG TGACCATTA CTGCAGAGCGAGCCAGGGTATTTCTAATTGGCTGGCTTGGTACCA GCAGAAACCAGGTAAAGCACCGAACTATTAATTTATGGTGCTTCTTCTTGCAA AGCGGGGTCCCGTCCCGTTT TAGCGGCTCTGGATCCGGCACTGATTTTACCTGA CCATTAGCAGCTGCAACCTGAAGACTTTGCGGTTTATTATTGCCAGCAGTATTC TTCTTTTCTACTACCTTTGCCAGGGTACGAAAGTTGAAATTTAAA

SEQ ID NO: 53	DNA VH	CAGGTGCAATTGGTGGAAGCGGCGGCGGCCTGGTGCAACCGGGCGGCAGCCTGC GTCTGAGCTGCGCGGCCTCCGGATTACCTTTAGCAGCTATGCGATGAGCTGGGT GCGCCAAGCCCCTGGGAAGGGTCTCGAGTGGGTGAGCGCTATTAATTCTCAGGGT AAGTCTACTTATTATGCTGATTCTGTTAAGGGTCGTTTTACCATTTCACGTGATA ATTCGAAAAACACCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCGGAAGATACGGC CGTGATTATTGCGCGCGTTGGGGTGATGAGGGTTTTGATATTGGGGCCAAGGC ACCCTGGTGACGGTTAGCTCA
SEQ ID NO: 54	輕鏈κ	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGISNWLAWYQQKPKAPKLLIYG ASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAVYYCQQYSSFPPTTFGQ GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 55	重鏈IgG1	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKLEWVSA INSQKGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWG DEGFDIWGGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
MOR09974		
SEQ ID NO: 56 (Kabat)	HCDR1	SYAMS
SEQ ID NO: 57 (Kabat)	HCDR2	VINPSGNFTNYADSVKG
SEQ ID NO: 58 (Kabat)	HCDR3	WGDEGFDI
SEQ ID NO: 59 (Kabat)	LCDR1	RASQGISNWL
SEQ ID NO: 60 (Kabat)	LCDR2	GASSLQS
SEQ ID NO: 61 (Kabat)	LCDR3	QQYSSFPPT
SEQ ID NO: 62 (Chothia)	HCDR1	GFTFSSY
SEQ ID NO: 63 (Chothia)	HCDR2	NPSGNF
SEQ ID NO: 64 (Chothia)	HCDR3	WGDEGFDI
SEQ ID NO: 65 (Chothia)	LCDR1	SQGISNW
SEQ ID NO: 66 (Chothia)	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 67 (Chothia)	LCDR3	YSSFPPT

SEQ ID NO: 68	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYG ASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCQQYSSFPPTTFGQ GTKVEIK
SEQ ID NO: 69	VH	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVS INPSGNFTNYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWG DEGFDIWCQGT LTVSS
SEQ ID NO: 70	DNA VL	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCGTCTAGCCTGAGCGGAGCGTGGGTGATCGTG TGACCATTACCTGCAGAGCGAGCCAGGATTTCTAATTGGCTGGCTTGGTACCA GCAGAAACCAGGTAAAGCACCGAACTATTAATTTATGGTGCTTCTCTTTGCAA AGCGGGTCCCGTCCCGTTTTCGCGCTCTGGATCCGGCACTGATTTACCTGA CCATTAGCAGCTGCAACCTGAAGACTTTGCGGTTTATTATGCCAGCAGTATTC TCTTTTCTACTACCTTTGGCCAGGCTACGAAAGTTGAAATTA
SEQ ID NO: 71	DNA VH	CAGGTGCAATTGGTGAAAGCGGCGGCGCCTGGTGCAACCGGGCGGAGCCTGC GTCTGAGCTGCGCGGCTCCGGATTACCTTTAGCAGCTATGCGATGAGCTGGGT GCGCAAGCCCTGGGAAGGCTCTCGAGTGGGTGAGCGTTATTAATCCTTCTGGT AATTTTACTAATTATGCTGATTCTGTTAAGGGTCGTTTACCATTTCACGTGATA ATTCGAAAAACACCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCGGAAGATACGGC CGTGATTATTGCGCGCTGGGGTGATGAGGGTTTGTATTTGGGGCCAAGGC ACCCTGGTGACGGTTAGCTCA
SEQ ID NO: 72	輕鏈κ	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYG ASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCQQYSSFPPTTFGQ GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 73	重鏈IgG1	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVS INPSGNFTNYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWG DEGFDIWCQGT LTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVKPSCKDHTCPPCPAPELLGSPVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFVMSHEALHNHYTQKSLSLSPGK
MOR10452		
SEQ ID NO: 74 (Kabat)	HCDR1	SYAMS
SEQ ID NO: 75 (Kabat)	HCDR2	NTSPIGYTTYAGSVKG
SEQ ID NO: 76 (Kabat)	HCDR3	WGDEGFDI
SEQ ID NO: 77 (Kabat)	LCDR1	RASQGISNWL
SEQ ID NO: 78 (Kabat)	LCDR2	GASSLQS
SEQ ID NO: 79 (Kabat)	LCDR3	QQYSSFPPT

SEQ ID NO: 80 (Chothia)	HCDR1	GFTFSSY
SEQ ID NO: 81 (Chothia)	HCDR2	SPIGY
SEQ ID NO: 82 (Chothia)	HCDR3	WGDEGFDI
SEQ ID NO: 83 (Chothia)	LCDR1	SQGISNW
SEQ ID NO: 84 (Chothia)	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 85 (Chothia)	LCDR3	YSSFPT
SEQ ID NO: 86	VL	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYG ASSLQSGVPSRFRSGSGSDFTLTISLQPEDFAVYYCQQYSSFPPTFGQ GTKVEIK
SEQ ID NO: 87	VH	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKLEWVSN TSPIGYTTYAGSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGD EGFDIWGQGLVTVSS
SEQ ID NO: 88	DNA VL	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCGTCTAGCCTGAGCGCGAGCGTGGGTGATCGTG TGACCATTACCTGCAGAGCGAGCCAGGTATTTCTAATTGGCTGGCTTGGTACCA GCAGAAACCAGGTAAAGCACCGAACTATTAATTTATGGTGCTTCTTCTTGCAA AGCGGGGTCCCGTCCCGTTTATAGCGGCTCTGGATCCGGCACTGATTTACCTGA CCATTAGCAGCTGCAACCTGAAGACTTTGCGGTTTATTATTGCCAGCAGTATTC TTCTTTCTACTACCTTTGGCCAGGTACGAAAGTTGAAATTA
SEQ ID NO: 89	DNA VH	CAGGTGCAATTGGTGAAAGCGGCGGCGCTGGTGCAACCGGCGGCAGCCTGC GTCTGAGCTGCGCGGCTCCGGATTACCTTAGCAGCTATGCGATGAGCTGGGT GCGCAAGCCCTGGGAAGGTCTCGAGTGGGTGAGCAATACTTCTCCTATTGGT TATACTTATTATGCTGGTTCTGTTAAGGGTCGTTTTACCATTTACGTGATAATT CGAAAAACACCTGTATCTGCAATGAACAGCCTGCGTGCGGAAGATACGGCGT GTATTATTGCGCGCTTGGGTGATGAGGTTTTGATATTGGGGCAAGGCACC CTGGTGACGGTTAGCTCA
SEQ ID NO: 90	輕鏈κ	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYG ASSLQSGVPSRFRSGSGSDFTLTISLQPEDFAVYYCQQYSSFPPTFGQ GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEA
SEQ ID NO: 91	重鏈(僅VH 及CH1域)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKLEWVSN TSPIGYTTYAGSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGD EGFDIWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKKVEPKS
MOR10701		
SEQ ID NO: 92 (Kabat)	HCDR1	SYAMS
SEQ ID NO: 93 (Kabat)	HCDR2	VTGAVGRSTYYPSVKG

SEQ ID NO: 94 (Kabat)	HCDR3	WGDEGFDI
SEQ ID NO: 95 (Kabat)	LCDR1	RASQGISNWL
SEQ ID NO: 96 (Kabat)	LCDR2	GASSLQS
SEQ ID NO: 97 (Kabat)	LCDR3	QQYSSFPTT
SEQ ID NO: 98 (Chothia)	HCDR1	GFTFSSY
SEQ ID NO: 99 (Chothia)	HCDR2	GAVGRS
SEQ ID NO: 100 (Chothia)	HCDR3	WGDEGFDI
SEQ ID NO: 101 (Chothia)	LCDR1	SQGISNW
SEQ ID NO: 102 (Chothia)	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 103 (Chothia)	LCDR3	YSSFPT
SEQ ID NO: 104	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISNWLAWYQQKPKAPKLLIYG ASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYSSFPTTFGQ GTKVEIK
SEQ ID NO: 105	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSV TGAVGRSTYYPDYVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWG DEGFDIWGQGLVTVSS
SEQ ID NO: 106	DNA VL	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGCGGACAGAG TGACCATCACCTGTCGGGCCAGCCAGGGCATCAGCAACTGGCTGGCTGGTATCA GCAGAAGCCCGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGGCGCCAGCTCCCTGCAG AGCGCGGTGCCAAGCAGATTACGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCTGA CCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACAG CAGCTTCCCCACCACTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAATCAAG
SEQ ID NO: 107	DNA VH	GAGGTGCAATTGCTGGAAGCGGCGGAGGCCTGGTGCAGCCTGGCGGCAGCCTGA GACTGTCTTGCGCGCCAGCGGCTTACCTTCAGCAGCTACGCCATGAGCTGGGT CCGCCAGGCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGTCCGTGACAGGCGCGTGGGC AGAAGCACCTACTACCCGACAGCGTGAAGGGCCGTTACCATCAGCCGGGACA ACAGCAAGAACACCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGC CGTGTACTACTGTGCCAGATGGGGCGACGAGGGCTTCGACATCTGGGGCCAGGGC ACCCTGGTCACCGTCAGCTCA
SEQ ID NO: 108	輕鏈κ	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISNWLAWYQQKPKAPKLLIYG ASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYSSFPTTFGQ GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 109	重鏈IgG1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSV TGAVGRSTYYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWG DEGFDIWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVEPKCDKHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
MOR10702		
SEQ ID NO: 110 (Kabat)	HCDR1	SYAMS
SEQ ID NO: 111 (Kabat)	HCDR2	VISAWGHVKYYADSVKG
SEQ ID NO: 112 (Kabat)	HCDR3	WGDEGFDI
SEQ ID NO: 113 (Kabat)	LCDR1	RASQGISNWL
SEQ ID NO: 114 (Kabat)	LCDR2	GASSLQS
SEQ ID NO: 115 (Kabat)	LCDR3	QQYSSFPTT
SEQ ID NO: 116 (Chothia)	HCDR1	GFTFSSY
SEQ ID NO: 117 (Chothia)	HCDR2	SAWGHV
SEQ ID NO: 118 (Chothia)	HCDR3	WGDEGFDI
SEQ ID NO: 119 (Chothia)	LCDR1	SQGISNW
SEQ ID NO: 120 (Chothia)	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 121 (Chothia)	LCDR3	YSSFPT
SEQ ID NO: 122	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYG ASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYSSFPTTFGQ GTKVEIK
SEQ ID NO: 123	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSV ISAWGHVKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWG DEGFDIWGQGLTVTVSS
SEQ ID NO: 124	DNA VL	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGACAGAG TGACCATCACCTGTCGGGCCAGCCAGGGCATCAGCAACTGGCTGGCCTGGTATCA GCAGAAGCCCGGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGGCCAGCTCCCTGCAG AGCGCGTGCCAAGCAGATTCAGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCTGA CCATCAGCAGCCTGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACAG CAGCTTCCCCACCCTTCGGCCAGGGACCAAGGTGAAATCAAG

SEQ ID NO: 125	DNA VH	GAGGTGCAATTGCTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTGCAGCCTGGCGGCAGCCTGA GACTGTCTTGCGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTACGCCATGAGCTGGGT CCGCCAGGCCCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGTCCGTGATCAGCGCCTGGGGC CAGTGAAAGTACTACGCCACAGCGTGAAGGGCCGGTTACCATCAGCCGGGACA ACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGC CGTGTACTACTGTGCCAGATGGGGCGACGAGGGCTTCGACATCTGGGGCCAGGGC ACCCTGGTCACCGTCAGCTCA
SEQ ID NO: 126	輕鏈κ	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYG ASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYSSFPPTFGQ GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNFPYFREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 127	重鏈IgG1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVS ISAWGHVKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWG DEGFDIWGGQTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTEPVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
MOR10703		
SEQ ID NO: 128 (Kabat)	HCDR1	SYAMS
SEQ ID NO: 129 (Kabat)	HCDR2	AINSQCKSTYYADSVKG
SEQ ID NO: 130 (Kabat)	HCDR3	WGDEGFDI
SEQ ID NO: 131 (Kabat)	LCDR1	RASQGISNWL
SEQ ID NO: 132 (Kabat)	LCDR2	GASSLQS
SEQ ID NO: 133 (Kabat)	LCDR3	QQYSSFPPT
SEQ ID NO: 134 (Chothia)	HCDR1	GFTFSSY
SEQ ID NO: 135 (Chothia)	HCDR2	NSQGKS
SEQ ID NO: 136 (Chothia)	HCDR3	WGDEGFDI
SEQ ID NO: 137 (Chothia)	LCDR1	SQGISNW
SEQ ID NO: 138 (Chothia)	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 139 (Chothia)	LCDR3	YSSFPPT

SEQ ID NO: 140	VL	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYG ASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYSSFPPTFGQ GTKVEIK
SEQ ID NO: 141	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSA INSQ GKSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWG DEGFDIWGQGLTVTVSS
SEQ ID NO: 142	DNA VL	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGACAGAG TGACCATCACCTGTGCGGCCAGCCAGGGCATCAGCAACTGGCTGGCCTGGTATCA GCAGAAGCCCGGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGGCGCCAGCTCCCTGCAG AGCGGCGTGCCAAGCAGATTCAGCGGCAGCGGCTCCGGCACC GACTTCACCTGTA CCATCAGCAGCTGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACAG CAGCTTCCCCACCACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAAATCAAG
SEQ ID NO: 143	DNA VH	GAGGTGCAATTGCTGGAAAGCGGCGAGGCCTGGTGCAGCCTGGCGGCAGCCTGA GACTGTCTTGCGCCGCCAGCGGCTTACCTTCAGCAGCTACGCCATGAGCTGGGT CCGCCAGGCCCTTGGAAGGGACTGGAATGGGTGTCCGCCATCAACAGCCAGGGC AAGAGCACCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTACCATCAGCCGGGACA ACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGC CGTGTACTACTGTGCCAGATGGGGCGACGAGGGCTTCGACATCTGGGGCCAGGGC ACCCTGGTCACCGTCAGCTCA
SEQ ID NO: 144	輕鏈κ	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYG ASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYSSFPPTFGQ GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 145	重鏈IgG1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSA INSQ GKSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWG DEGFDIWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPPKPDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
MOR10703 N52S		
SEQ ID NO: 146 (Kabat)	HCDR1	SYAMS
SEQ ID NO: 147 (Kabat)	HCDR2	AISSQ GKSTYYADSVKG
SEQ ID NO: 148 (Kabat)	HCDR3	WGDEGFDI
SEQ ID NO: 149 (Kabat)	LCDR1	RASQGISNWL A
SEQ ID NO: 150 (Kabat)	LCDR2	GASSLQS

SEQ ID NO: 151 (Kabat)	LCDR3	QQYSSFPTT
SEQ ID NO: 152 (Chothia)	HCDR1	GFTFSSY
SEQ ID NO: 153 (Chothia)	HCDR2	<u>SS</u> QGKS
SEQ ID NO: 154 (Chothia)	HCDR3	WGDEGFDI
SEQ ID NO: 155 (Chothia)	LCDR1	SQGISNW
SEQ ID NO: 156 (Chothia)	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 157 (Chothia)	LCDR3	YSSFPT
SEQ ID NO: 158	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISNWLAWYQQKPKAPKLLIYGASSLQ SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYSSFPTTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 159	VH	EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAI <u>SS</u> QG KSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGDEGFDIWGQG TLVTVSS
SEQ ID NO: 160	DNA VL	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGACAGAG TGACCATCACCTGTCGGGCCAGCCAGGGCATCAGCAACTGGCTGGCCTGGTATCA GCAGAAGCCCGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGGCGCCAGCTCCCTGCAG AGCGGCGTGCCAAGCAGATTCAGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCAACCCTGA CCATCAGCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACAG CAGCTTCCCCACCACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGAAATCAAG
SEQ ID NO: 161	DNA VH	GAGGTGCAATTGCTGGAAGCGGCGAGGCCTGGTGCAGCCTGGCGGCAGCCTGA GACTGTCTTGCGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTACGCCATGAGCTGGGT CCGCCAGGCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGTCCGCCATCAGCAGCCAGGGC AAGAGCACCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTACCATCAGCCGGGACA ACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGC CGTGTAATACTGTGCCAGATGGGGCGACGAGGGCTTCGACATCTGGGGCCAGGGC ACCCTGGTCACCGTCAGCTCA
SEQ ID NO: 162	輕鏈κ	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISNWLAWYQQKPKAPKLLIYGASSLQ SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYSSFPTTFGGGTKVEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 163	重鏈IgG1	EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAI <u>SS</u> QG KSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGDEGFDIWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSC DKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYHQKS LSLSPGK
MOR10703 N52G		
SEQ ID NO: 164 (Kabat)	HCDR1	SYAMS

SEQ ID NO: 165 (Kabat)	HCDR2	AIGSQGKSTYYADSVKG
SEQ ID NO: 166 (Kabat)	HCDR3	WGDEGFDI
SEQ ID NO: 167 (Kabat)	LCDR1	RASQGISNWL
SEQ ID NO: 168 (Kabat)	LCDR2	GASSLQS
SEQ ID NO: 169 (Kabat)	LCDR3	QQYSSFPTT
SEQ ID NO: 170 (Chothia)	HCDR1	GFTFSSY
SEQ ID NO: 171 (Chothia)	HCDR2	GSQGKS
SEQ ID NO: 172 (Chothia)	HCDR3	WGDEGFDI
SEQ ID NO: 173 (Chothia)	LCDR1	SQGISNW
SEQ ID NO: 174 (Chothia)	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 175 (Chothia)	LCDR3	YSSFPT
SEQ ID NO: 176	VL	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQ SGVPSRFRSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSSFPTTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 177	VH	EVQLLESQGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKLEWVSAIGSQG KSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGDEGFDIWGQG TLVTVSS
SEQ ID NO: 178	DNA VL	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGACAGAG TGACCATCACCTGTGCGGCCAGCCAGGCATCAGCAACTGGCTGGCTGGTATCA GCAGAAGCCCGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGCGCCAGCTCCCTGCAG AGCGGCGTGCCAAGCAGATTCAGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCTGA CCATCAGCAGCCTGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACAG CAGCTTCCCCACCCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAATCAAG
SEQ ID NO: 179	DNA VH	GAGGTGCAATTGCTGGAAGCGGCGAGGCCTGGTGCAGCCTGGCGGCAGCCTGA GACTGTCTTGCGCGCCAGCGGCTTCACCTCAGCAGCTACGCCATGAGCTGGGT CCGCCAGGCCCTGGCAAGGACTGGAATGGGTGTCCGCCATCGGCAGCCAGGGC AAGAGCACCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGTTACCATCAGCCGGGACA ACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGC CGTGTACTACTGTGCCAGATGGGCGACGAGGGCTTCGACATCTGGGGCCAGGGC ACCCTGGTCACCGTCAGCTCA
SEQ ID NO: 180	輕鏈κ	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQ SGVPSRFRSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSSFPTTFGGGTKVEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 181	重鏈IgG1	EVQLLES G GGLVQPGGSLRLS C AASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAI G SQG KSTYYADSVKGRFTISRDN S KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGDEGFDI W GQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS S SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV E PKSC DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF N W YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ Q GNVFSCSVMEALHNHYTQKS LSLSPGK
MOR10703 N52S_S52aN		
SEQ ID NO: 182 (Kabat)	HCDR1	SYAMS
SEQ ID NO: 183 (Kabat)	HCDR2	AIS N QGKSTYYADSVKG
SEQ ID NO: 184 (Kabat)	HCDR3	WGDEGFDI
SEQ ID NO: 185 (Kabat)	LCDR1	RASQGISNWLA
SEQ ID NO: 186 (Kabat)	LCDR2	GASSLQS
SEQ ID NO: 187 (Kabat)	LCDR3	QQYSSFPTT
SEQ ID NO: 188 (Chothia)	HCDR1	GFTFSSY
SEQ ID NO: 189 (Chothia)	HCDR2	S NQGKS
SEQ ID NO: 190 (Chothia)	HCDR3	WGDEGFDI
SEQ ID NO: 191 (Chothia)	LCDR1	SQGISNW
SEQ ID NO: 192 (Chothia)	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 193 (Chothia)	LCDR3	YSSFPT
SEQ ID NO: 194	VL	DIQMTQSPSSLSASV G DRVTITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQ SGVPSRFRSGSGTDFTLTIS S LQPEDFATYYCQQYSSFPTTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 195	VH	EVQLLES G GGLVQPGGSLRLS C AASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAI S NQG KSTYYADSVKGRFTISRDN S KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGDEGFDI W GQG TLVTVSS
SEQ ID NO: 196	DNA VL	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGACAGAG TGACCATCACTGTCGGGCCAGCCAGGGCATCAGCAACTGGCTGGCCTGGTATCA GCAGAAGCCCGGAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGGCGCCAGCTCCCTGCAG AGCGCGTGCCAAGCAGATTCAGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCAACCCTGA CCATCAGCAGCCTGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACAG CAGCTTCCCCACCACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAATCAAG

SEQ ID NO: 197	DNA VH	GAGGTGCAATTGCTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTGCAGCCTGGCGGCAGCCTGA GACTGTCTTGGCGCCGAGCGGCTTACCTTCAGCAGCTACGCCATGAGCTGGGT CCGCCAGGCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGTCCGCCATCAGCAACCAGGGC AAGAGCACCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTACCATCAGCCGGGACA ACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGC CGTGTACTACTGTGCCAGATGGGGCGACGAGGGCTTCGACATCTGGGGCCAGGGC ACCCTGGTCACCGTCAGCTCA
SEQ ID NO: 198	輕鏈κ	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQ SGVPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYSSFPTTFGQGTKVEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFPYAPREKRVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 199	重鏈IgG1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISNQG KSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGDEGFDIWGGQ TLVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSC DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWKVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKS LSLSPGK
MOR10703 A50V_N52S		
SEQ ID NO: 200 (Kabat)	HCDR1	SYAMS
SEQ ID NO: 201 (Kabat)	HCDR2	<u>V</u> ISSQ GKSTYYADSVKG
SEQ ID NO: 202 (Kabat)	HCDR3	WGDEGFDI
SEQ ID NO: 203 (Kabat)	LCDR1	RASQGISNWL
SEQ ID NO: 204 (Kabat)	LCDR2	GASSLQS
SEQ ID NO: 205 (Kabat)	LCDR3	QQYSSFPTT
SEQ ID NO: 206 (Chothia)	HCDR1	GFTFSSY
SEQ ID NO: 207 (Chothia)	HCDR2	<u>S</u> SQ GKS
SEQ ID NO: 208 (Chothia)	HCDR3	WGDEGFDI
SEQ ID NO: 209 (Chothia)	LCDR1	SQGISNW
SEQ ID NO: 210 (Chothia)	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 211 (Chothia)	LCDR3	YSSFPT
SEQ ID NO: 212	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQ SGVPSRFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYSSFPTTFGQGTKVEIK

SEQ ID NO: 213	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSVISSQG KSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGDEGFDIWGGQ TLVTVSS
SEQ ID NO: 214	DNA VL	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGACAGAG TGACCATCACTGTGCGGCCAGCCAGGGCATCAGCAACTGGCTGGCCTGGTATCA GCAGAAGCCCGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACGGCGCCAGCTCCCTGCAG AGCGGCGTGCCAAGCAGATTCAGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGA CCATCAGCAGCCTGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACAG CAGCTTCCCCACCACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAATCAAG
SEQ ID NO: 215	DNA VH	GAGGTGCAATTGCTGGAAGCGGCGGAGGCCTGGTGCAGCCTGGCGGCAGCCTGA GACTGTCTTGCGCCGCGCAGCGGCTTACCTTCAGCAGCTACGCCATGAGCTGGGT CCGCCAGGCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGTCCGTCATCAGCAGCCAGGGC AAGAGCACCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTACCATCAGCCGGGACA ACAGCAAGAACCCTGTACTTCGAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGC CGTGTACTACTGTGCCAGATGGGGCGACGAGGGCTTCGACATCTGGGGCCAGGGC ACCCTGGTCACCGTCAGCTCA
SEQ ID NO: 216	輕鏈κ	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQ SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSSFPPTFGQGTKVEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 217	重鏈IgG1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSVISSQG KSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGDEGFDIWGGQ TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWIYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMHENHNTQKS LSLSPGK
MOR10703 A50V_N52G		
SEQ ID NO: 218 (Kabat)	HCDR1	SYAMS
SEQ ID NO: 219 (Kabat)	HCDR2	<u>V</u> IGSQGKSTYYADSVKG
SEQ ID NO: 220 (Kabat)	HCDR3	WGDEGFDI
SEQ ID NO: 221 (Kabat)	LCDR1	RASQGISNWL A
SEQ ID NO: 222 (Kabat)	LCDR2	GASSLQS
SEQ ID NO: 223 (Kabat)	LCDR3	QQYSSFPPT
SEQ ID NO: 224 (Chothia)	HCDR1	GFTFSSY
SEQ ID NO: 225 (Chothia)	HCDR2	<u>G</u> SQGKS
SEQ ID NO: 226 (Chothia)	HCDR3	WGDEGFDI

SEQ ID NO: 227 (Chothia)	LCDR1	SQGISNW
SEQ ID NO: 228 (Chothia)	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 229 (Chothia)	LCDR3	YSSFPT
SEQ ID NO: 230	VL	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQ SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSSFPPTTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 231	VH	EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKLEWVS ^Y IGSQG KSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGDEGFDIWGGG TLVTVSS
SEQ ID NO: 232	DNA VL	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGACAGAG TGACCATCACCTGTGCGGCCAGCCAGGGCATCAGCAACTGGCTGGCCTGGTATCA GCAGAAGCCCGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGGCGCCAGCTCCCTGCAG AGCGGCGTGCCAAGCAGATTACGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCTGA CCATCAGCAGCCTGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACAG CAGCTTCCCCACCACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAATCAAG
SEQ ID NO: 233	DNA VH	GAGGTGCAATTGCTGGAAGCGGCGGAGGCTGCTGTCAGCCTGGCGGCAGCCTGA GACTGTCTTGCGCCGCCAGCGGCTTACCTTCAGCAGCTACGCCATGAGTGGGT CCGCCAGGCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGTCCGTCATCGGCAGCCAGGGC AAGAGCACCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACA ACAGCAAGAACCCTGTACTCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGC CGTGTACTACTGTGCCAGATGGGGCGACGAGGGCTTCGACATCTGGGGCCAGGGC ACCCTGGTCACCGTCAGCTCA
SEQ ID NO: 234	輕鏈κ	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQ SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSSFPPTTFGQGTKVEIKRTV AAPS ^V FI ^F PPSDEQLKSGTASV ^V CLLN ^F YPREAKV ^Q WKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 235	重鏈IgG1	EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKLEWVS ^Y IGSQG KSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGDEGFDIWGGG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV ^P SSSLGTQ ^Y ICNVNHKPSNTKVDKRV ^E PKSC DKHTHTCP ^P CPAPELLG ^P SVFL ^F PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVK ^F N ^W YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV ^F SCSV ^M HEALHNHYTQKS LSLSPGK
MOR10703 S52aA		
SEQ ID NO: 236 (Kabat)	HCDR1	SYAMS
SEQ ID NO: 237 (Kabat)	HCDR2	A ^I N ^A Q ^G KSTYYADSVKG
SEQ ID NO: 238 (Kabat)	HCDR3	WGDEGFDI
SEQ ID NO: 239 (Kabat)	LCDR1	RASQGISNWL ^A
SEQ ID NO: 240 (Kabat)	LCDR2	GASSLQ ^S

SEQ ID NO: 241 (Kabat)	LCDR3	QQYSSFPTT
SEQ ID NO: 242 (Chothia)	HCDR1	GFTFSSY
SEQ ID NO: 243 (Chothia)	HCDR2	NAQGKS
SEQ ID NO: 244 (Chothia)	HCDR3	WGDEGFDI
SEQ ID NO: 245 (Chothia)	LCDR1	SQGISNW
SEQ ID NO: 246 (Chothia)	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 247 (Chothia)	LCDR3	YSSFPT
SEQ ID NO: 248	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQ SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYSSFPTTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 249	VH	EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAINAQQ KSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGDEGFDIWGQG TLVTVSS
SEQ ID NO: 250	DNA VL	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGACAGAG TGACCATCACCTGTGCGGCCAGCCAGGGCATCAGCAACTGGCTGGCCTGGTATCA GCAGAAGCCCGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGGCGCCAGCTCCCTGCAG AGCGGCGTGCCAAGCAGATTACGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCTGA CCATCAGCAGCCTGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACAG CAGCTTCCCCACCACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAATCAAG
SEQ ID NO: 251	DNA VH	GAGGTGCAATTGCTGGAAGCGGCGAGGCCTGGTGCAGCCTGGCGGCAGCCTGA GACTGTCTTGCGCGCCAGCGGCTTACCTTCAGCAGTACGCCATGAGCTGGGT CCGCCAGGCCCTGGCAAGGACTGGAATGGGTGTCCGCCATCAACGCCAGGGC AAGAGCACCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGTTACCATCAGCCGGGACA ACAGCAAGAACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTCGGGCCGAGGACACCGC CGTGTACTACTGTGCCAGATGGGCGACAGGGCTTCGACATCTGGGGCCAGGGC ACCCTGGTCACCGTCAGCTCA
SEQ ID NO: 252	輕鏈κ	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQ SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYSSFPTTFGQGTKVEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDYSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 253	重鏈IgG1	EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAINAQQ KSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGDEGFDIWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC DKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKS LSLSPGK
MOR10703 S52aT		
SEQ ID NO: 254 (Kabat)	HCDR1	SYAMS

SEQ ID NO: 255 (Kabat)	HCDR2	AINTQKGKSTYYADSVKG
SEQ ID NO: 256 (Kabat)	HCDR3	WGDEGFDI
SEQ ID NO: 257 (Kabat)	LCDR1	RASQGISNWL
SEQ ID NO: 258 (Kabat)	LCDR2	GASSLQS
SEQ ID NO: 259 (Kabat)	LCDR3	QQYSSFPTT
SEQ ID NO: 260 (Chothia)	HCDR1	GFTFSSY
SEQ ID NO: 261 (Chothia)	HCDR2	NTQGKS
SEQ ID NO: 262 (Chothia)	HCDR3	WGDEGFDI
SEQ ID NO: 263 (Chothia)	LCDR1	SQGISNW
SEQ ID NO: 264 (Chothia)	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 265 (Chothia)	LCDR3	YSSFPT
SEQ ID NO: 266	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQ SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSSFPTTFGGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 267	VH	EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSQAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAINTQG KSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGDEGFDIWGQG TLVTVSS
SEQ ID NO: 268	DNA VL	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGACAGAG TGACCATCACCTGTCGGGCCAGCCAGGGCATCAGCAACTGGCTGGCCTGGTATCA GCAGAAGCCCGGAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGGCGCCAGCTCCCTGCAG AGCGCGGTGCCAAGCAGATTCAGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCTGA CCATCAGCAGCCTGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACAG CAGCTTCCCCACCACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAAATCAAG
SEQ ID NO: 269	DNA VH	GAGGTGCAATTGCTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTGCAGCCTGGCGGCAGCCTGA GACTGTCTTGCGCCGCCAGCGGCTTCACCTCAGCAGCTACGCCATGAGCTGGGT CCGCCAGGCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGTCCGCCATCAACCCAGGGC AAGAGCACCTACTACGCCAGCAGCGTGAAGGGCCGGTTACCATCAGCCGGGACA ACAGCAAGAACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGC CGTGTACTACTGTGCCAGATGGGGCGACGAGGGCTTCGACATCTGGGGCCAGGGC ACCCTGGTCACCGTCAGCTCA
SEQ ID NO: 270	輕鏈κ	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQ SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSSFPTTFGGQGTKVEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 271	重鏈IgG1	EVQLLES GG GLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAINTQG KSTYYADSVKGRFTISRDN SK N T LYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGDEGFDI WG QG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SS LG T QTYICNVNHKPSNTKVDKRV EP KSC DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKF N W YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV F SCSVMEALHNHYTQKS LSLSPGK
MOR10701 R55S		
SEQ ID NO: 272 (Kabat)	HCDR1	SYAMS
SEQ ID NO: 273 (Kabat)	HCDR2	VTGAVG S STYYPDSVKG
SEQ ID NO: 274 (Kabat)	HCDR3	WGDEGFDI
SEQ ID NO: 275 (Kabat)	LCDR1	RASQGISN W LA
SEQ ID NO: 276 (Kabat)	LCDR2	GASSLQ S
SEQ ID NO: 277 (Kabat)	LCDR3	QQYSS F PTT
SEQ ID NO: 278 (Chothia)	HCDR1	GFTFSSY
SEQ ID NO: 279 (Chothia)	HCDR2	GAVG S S
SEQ ID NO: 280 (Chothia)	HCDR3	WGDEGFDI
SEQ ID NO: 281 (Chothia)	LCDR1	SQGISN W
SEQ ID NO: 282 (Chothia)	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 283 (Chothia)	LCDR3	YSS F PT
SEQ ID NO: 284	VL	DIQMTQSPSSLSASV G DRVITITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQ SGVPSRFSGSGSGTDFTLTITSS L QPEDFATYYCQQYSS F PTTFGGGTKEIK
SEQ ID NO: 285	VH	EVQLLES GG GLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSVTGAVG S STYYPDSVKGRFTISRDN SK N T LYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGDEGFDI WG QG TLVTVSS
SEQ ID NO: 286	DNA VL	GATATCCAGATGACCCAGAGCC C CAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGACAGAG TGACCATCACCTGTCGGG C CAGCCAGGGCATCAGCAACTGGCTGGCTGGTATCA GCAGAAGCCCGCAAGGCC C CAAGCTGCTGATCTACGGCGCCAGCTCCCTGCAG AGCGGCGTGCCAAGCAGATTCAGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCTGA CCATCAGCAGCCTGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACAG CAGCTTCCCCACCACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAATCAAG

SEQ ID NO: 287	DNA VH	GAGGTGCAATTGCTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTGCAGCCTGGCGGCAGCCTGA GACTGTCTTGCGCCGCCAGCGGCTTACCTTCAGCAGCTACGCCATGAGCTGGGT CCGCCAGGCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGTCCGTGACAGCGCCGTGGGC AGCAGCAGCTACTACCCCGACAGCGTGAAGGGCCGTTACCATCAGCCGGGACA ACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGC CGTGTACTACTGTGCCAGATGGGGCGACGAGGGCTTCGACATCTGGGGCCAGGGC ACCCTGGTCACCGTCAGCTCA
SEQ ID NO: 288	輕鏈κ	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQ SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYSSFPPTTFGQGTKVEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 289	重鏈IgG1	EVQLLESQGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKLEWVSVTGAVG SSTYYPDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGDEGFDIWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC DKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWIYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKS LSLSPGK
MOR10701 R55G		
SEQ ID NO: 290 (Kabat)	HCDR1	SYAMS
SEQ ID NO: 291 (Kabat)	HCDR2	VTGAVGGSTYYPDSVKG
SEQ ID NO: 292 (Kabat)	HCDR3	WGDEGFDI
SEQ ID NO: 293 (Kabat)	LCDR1	RASQGISNWL
SEQ ID NO: 294 (Kabat)	LCDR2	GASSLQS
SEQ ID NO: 295 (Kabat)	LCDR3	QQYSSFPPT
SEQ ID NO: 296 (Chothia)	HCDR1	GFTFSSY
SEQ ID NO: 297 (Chothia)	HCDR2	GAVGGS
SEQ ID NO: 298 (Chothia)	HCDR3	WGDEGFDI
SEQ ID NO: 299 (Chothia)	LCDR1	SQGISNW
SEQ ID NO: 300 (Chothia)	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 301 (Chothia)	LCDR3	YSSFPPT
SEQ ID NO: 302	VL	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQ SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYSSFPPTTFGQGTKVEIK

SEQ ID NO: 303	VH	EVQLLES GG GLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSVTGAVG G STYYPDSVKGRFTISRDN S KN T LYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGDEGFDI W GGG TLVTVSS
SEQ ID NO: 304	DNA VL	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGACAGAG TGACCATCACCTGTCGGGCCAGCCAGGGCATCAGCAACTGGCTGGCTGGTATCA GCAGAAGCCCGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGGCGCCAGCTCCCTGCAG AGCGGCGTGCCAAGCAGATTCAGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGA CCATCAGCAGCCTGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACAG CAGCTTCCCCACCACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAATCAAG
SEQ ID NO: 305	DNA VH	GAGGTGCAATTGCTGGAAGCGGCGGAGGCCTGGTGCAGCCTGGCGGCAGCCTGA GACTGTCTTGCGCGCCAGCGGCTTACCTTCAGCAGCTACGCCATGAGCTGGGT CCGCCAGGCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGTCCGTGACAGCGCCGTGGGC GGAAGCACCTACTACCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACA ACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGACACCGC CGTGTACTACTGTGCCAGATGGGGCGACGAGGGCTTCGACATCTGGGGCCAGGGC ACCCTGGTCACCGTCAGCTCA
SEQ ID NO: 306	輕鏈κ	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQ SGVPSRFSGSGSDFTLTISLQPEDFATYYCQQYSSFPPTFGQGTKVEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 307	重鏈IgG1	EVQLLES GG GLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSVTGAVG G STYYPDSVKGRFTISRDN S KN T LYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGDEGFDI W GGG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC DKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKF NWWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKS LSLSPGK
MOR10701 R55K		
SEQ ID NO: 308 (Kabat)	HCDR1	SYAMS
SEQ ID NO: 309 (Kabat)	HCDR2	VTGAVG K STYYPDSVKG
SEQ ID NO: 310 (Kabat)	HCDR3	WGDEGFDI
SEQ ID NO: 311 (Kabat)	LCDR1	RASQGISNWL
SEQ ID NO: 312 (Kabat)	LCDR2	GASSLQS
SEQ ID NO: 313 (Kabat)	LCDR3	QQYSSFPPT
SEQ ID NO: 314 (Chothia)	HCDR1	GFTFSSY
SEQ ID NO: 315 (Chothia)	HCDR2	GAVG K S
SEQ ID NO: 316 (Chothia)	HCDR3	WGDEGFDI

SEQ ID NO: 317 (Chothia)	LCDR1	SQGISNW
SEQ ID NO: 318 (Chothia)	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 319 (Chothia)	LCDR3	YSSFPT
SEQ ID NO: 320	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQ SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSSFPPTTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 321	VH	EVQLLESGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKLEWVSVTGAVG KSTYYPD ~~S~~ VKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGDEGFDI ~~W~~ GGG TLVTSS
SEQ ID NO: 322	DNA VL	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGACAGAG TGACCATCACCTGTCGGGCCAGCCAGGGCATCAGCAACTGGCTGGCCTGGTATCA GCAGAAGCCCGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGGCGCCAGCTCCCTGCAG AGCGGCGTGCCAAGCAGATTACAGCGGCAGCGGCTCCGGCACCAGCTTACCCTGA CCATCAGCAGCCTGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACAG CAGCTTCCCCACCACCTTCGGCCAGGGACCAAGGTGGAATCAAG
SEQ ID NO: 323	DNA VH	GAGGTGCAATTGCTGGAAGCGGCGGAGGCTGCTGACGCTGGCGGCAGCCTGA GACTGTCTTGCGCCGCCAGCGGCTTACCTTCAGCAGCTACGCCATGAGCTGGGT CCGCCAGGCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGTCCGTGACAGGCGCCGTGGGC AAAAGCACCTACTACCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTACCATCAGCCGGGACA ACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGC CGTGTACTACTGTGCCAGATGGGGCGACGAGGGCTTCGACATCTGGGGCCAGGGC ACCCTGGTACCGTCAGCTCA
SEQ ID NO: 324	輕鏈κ	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQ SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSSFPPTTFGQGTKVEIKRTV AAPS ~~V~~ FI ~~F~~ PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSTYLSSTLTLSKADYEHK ~~V~~ YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 325	重鏈IgG1	EVQLLESGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKLEWVSVTGAVG KSTYYPD ~~S~~ VKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGDEGFDI ~~W~~ GGG TLVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKREPKSC DKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKF N ~~W~~ YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV ~~F~~ SCSV ~~M~~ HEALHNHYTQKS LSLSPGK
MOR10701缺失 S56		
SEQ ID NO: 326 (Kabat)	HCDR1	SYAMS
SEQ ID NO: 327 (Kabat)	HCDR2	VTGAVGRYYPD ~~S~~ VKG
SEQ ID NO: 328 (Kabat)	HCDR3	WGDEGFDI
SEQ ID NO: 329 (Kabat)	LCDR1	RASQGISNWL
SEQ ID NO: 330 (Kabat)	LCDR2	GASSLQ ~~S~~

SEQ ID NO: 331 (Kabat)	LCDR3	QQYSSFPTT
SEQ ID NO: 332 (Chothia)	HCDR1	GFTFSSY
SEQ ID NO: 333 (Chothia)	HCDR2	GAVGRT
SEQ ID NO: 334 (Chothia)	HCDR3	WGDEGFDI
SEQ ID NO: 335 (Chothia)	LCDR1	SQGISNW
SEQ ID NO: 336 (Chothia)	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 337 (Chothia)	LCDR3	YSSFPT
SEQ ID NO: 338	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQ SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYSSFPTTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 339	VH	EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSVTGAVG RTYYPDVSKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGDEGFDIWGQGT LVTVSS
SEQ ID NO: 340	DNA VL	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCAGCGTGGGCGACAGAG TGACCATCACCTGTCGGGCCAGCCAGGGCATCAGCAACTGGCTGGCTGGTATCA GCAGAAGCCCGCAAGGCCCAAGCTGCTGATCTACGGCGCCAGCTCCCTGCAG AGCGGCGTGCCAAGCAGATTCAGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCTGA CCATCAGCAGCTGCAGCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACAG CAGCTTCCCCACCACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAATCAAG
SEQ ID NO: 341	DNA VH	GAGGTGCAATTGCTGGAAGCGGCGAGGCCTGGTGCAGCCTGGCGGCAGCCTGA GACTGTCTTGCGCCGCCAGCGGCTTACCTTCAGCAGTACGCCATGAGCTGGGT CCGCCAGGCCCTGGCAAGGGACTGGAATGGGTGTCCGTGACAGCGCCGTGGGC AGAACCTACTACCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCAGCCGGGACAACA GCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGT GTACTACTGTGCCAGATGGGGCGACGAGGGCTTCGACATCTGGGGCCAGGGCACC CTGGTCACCGTCAGCTCA
SEQ ID NO: 342	輕鏈κ	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQ SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYSSFPTTFGQGTKVEIKRTV AAPSVMFIPPSDEQLKSGTASVVCLLNMFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 343	重鏈IgG1	EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSVTGAVG RTYYPDVSKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGDEGFDIWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCD KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAP IEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
MOR12609		
SEQ ID NO: 344 (Kabat)	HCDR1	SYAMS

SEQ ID NO: 345 (Kabat)	HCDR2	VINGLGYTTFYADSVKG
SEQ ID NO: 346 (Kabat)	HCDR3	WGDEGFDI
SEQ ID NO: 347 (Kabat)	LCDR1	RASQGISNWL
SEQ ID NO: 348 (Kabat)	LCDR2	GASSLQS
SEQ ID NO: 349 (Kabat)	LCDR3	QQYSSFPTT
SEQ ID NO: 350 (Chothia)	HCDR1	GFTFSSY
SEQ ID NO: 351 (Chothia)	HCDR2	NGLGYT
SEQ ID NO: 352 (Chothia)	HCDR3	WGDEGFDI
SEQ ID NO: 353 (Chothia)	LCDR1	SQGISNW
SEQ ID NO: 354 (Chothia)	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 355 (Chothia)	LCDR3	YSSFPT
SEQ ID NO: 356	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQ SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAVYYCQQYSSFPTTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 357	VH	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSVINGLG YTTYFYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGDEGFDIWGQG TLVTVSS
SEQ ID NO: 358	DNA VL	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCGTCTAGCCTGAGCGCGAGCGTGGGTGATCGTG TGACCATTACCTGCAGAGCGAGCCAGGGTATTCTAATTGGCTGGCTTGGTACCA GCAGAAACCAGGTAAAGCACCGAACTATTAATTTATGGTGCTTCTTCTTGCAA AGCGGGGTCCCGTCCCGTTTATAGCGGCTCTGGATCCGGCACTGATTTACCTGA CCATTAGCAGCCTGCAACCTGAAGACTTTGCGGTTTATTATTGCCAGCAGTATTC TTCTTTTCTACTACCTTTGGCCAGGGTACGAAAGTTGAAATTA
SEQ ID NO: 359	DNA VH	CAGGTGCAATTGGTGAAAGCGGCGCGGCCTGGTGCAACCGGGCGGCAGCCTGC GTCTGAGCTGCGCGGCCTCCGGATTACCTTTAGCAGCTATGCGATGAGCTGGGT GCGCCAAGCCCTGGGAAGGGTCTCGAGTGGGTGAGCGTTATTAATGGTCTTGGT TATACTACTTTTATGCTGATTCTGTAAAGGGTCGTTTACCATTTCACGTGATA ATTCGAAAAACACCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCGGAAGATACGGC CGTGATTATTGCGCGGTTGGGGTGATGAGGGTTTGTATTTGGGGCCAAGGC ACCCTGGTGACGGTTAGCTCA
SEQ ID NO: 360	輕鏈κ	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQ SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAVYYCQQYSSFPTTFGGGTKVEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSSTYSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO: 361	重鏈IgG1	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSVINGLG YTTFYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGDEGFDI WGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK
MOR12610		
SEQ ID NO: 362 (Kabat)	HCDR1	SYAMS
SEQ ID NO: 363 (Kabat)	HCDR2	GTGPYGGTYYPDSVKG
SEQ ID NO: 364 (Kabat)	HCDR3	WGDEGFDI
SEQ ID NO: 365 (Kabat)	LCDR1	RASQGISNWL A
SEQ ID NO: 366 (Kabat)	LCDR2	GASSLQS
SEQ ID NO: 367 (Kabat)	LCDR3	QQYSSFPTT
SEQ ID NO: 368 (Chothia)	HCDR1	GFTFSSY
SEQ ID NO: 369 (Chothia)	HCDR2	GPYGG
SEQ ID NO: 370 (Chothia)	HCDR3	WGDEGFDI
SEQ ID NO: 371 (Chothia)	LCDR1	SQGISNW
SEQ ID NO: 372 (Chothia)	LCDR2	GAS
SEQ ID NO: 373 (Chothia)	LCDR3	YSSFPT
SEQ ID NO: 374	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQ SGVPSRFSGSGSGTDFTLTITSSSLQPEDFAVYYCQQYSSFPTTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 375	VH	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSGTGPYG GTYYPDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGDEGFDI WGQGT LVTVSS
SEQ ID NO: 376	DNA VL	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCGTCTAGCCTGAGCGGAGCGTGGGTGATCGTG TGACCATTACCTGCAGAGCGAGCCAGGGTATTCTAATTGGCTGGCTTGGTACCA GCAGAAACCAGGTAAAGCACCGAACTATTAATTTATGGTGCTTCTTCTTTGCAA AGCGGGGTCCCCTCCCCTTTAGCGGCTCTGGATCCGGCACTGATTTTACCCTGA CCATTAGCAGCCTGCAACCTGAAGACTTTGCGGTTTATTATTGCCAGCAGTATTC TTCTTTTCTACTACCTTTGCCAGGGTACGAAAGTTGAAATTA

SEQ ID NO: 377	DNA VH	CAGGTGCAATTGGTGGAAAGCGGCGGCGGCCTGGTGCAACCGGGCGGCAGCCTGC GTCTGAGCTGCGCGGCCTCCGGATTACCTTTAGCAGCTATGCGATGAGCTGGGT GCGCCAAGCCCTGGGAAGGGTCTCGAGTGGGTGAGCGGTACTGGTCCTTATGGT GGTACTTATTATCCTGATTCTGTTAAGGGTCGTTTTACCATTTCACGTGATAATT CGAAAAACACCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCGGAAGATACGGCCGT GTATTATTGCGCGCGTTGGGGTGATGAGGGTTTTGATATTGGGGCCAAGGCACC CTGGTGACGGTTAGCTCA
SEQ ID NO: 378	輕鏈κ	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQ SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAVYYCQQYSSFTTTFGQGTKVEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 379	重鏈IgG1	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSGTGPYG GTYYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGDEGFDIWQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCD KTHTCPPELPGPSVFLPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK

本發明之其他抗體包括其中胺基酸或編碼胺基酸之核酸已突變，但與表1中描述之序列仍具有至少60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%及99%一致性的抗體。在一些實施例中，其包括與表1描述之序列中所描繪的可變區相比，可變區中至多1個、2個、3個、4個或5個胺基酸突變，同時保留實質上相同之治療活性的突變胺基酸序列。

因為每一此等抗體或其片段均可結合於HER3，所以VH、VL、全長輕鏈及全長重鏈序列(胺基酸序列及編碼胺基酸序列之核苷酸序列)可「混合及搭配」以產生本發明之其他HER3結合抗體。該等「混合及搭配」HER3結合抗體可使用此項技術中已知之結合分析(例如ELISA及實例部分中描述之其他分析)測試。當此等鏈混合及搭配時，來自特定VH/VL對之VH序列應經結構類似之VH序列置換。

同樣，來自特定全長重鏈/全長輕鏈對之全長重鏈序列應經結構類似之全長重鏈序列置換。同樣，來自特定VH/VL對之VL序列應經結構類似之VL序列置換。同樣，來自特定全長重鏈/全長輕鏈對之全長輕鏈序列應經結構類似之全長輕鏈序列置換。因此，在一個態樣中，本發明提供一種分離單株抗體或其片段，其具有：包含選自由SEQ ID NO: 15、33、51、69、87、105、123、141、159、177、195、213、231、249、267、285、303、321、339、357及375組成之群之胺基酸序列的重鏈可變區；及包含選自由SEQ ID NO: 14、32、50、68、86、104、122、140、158、176、194、212、230、248、266、284、302、320、338、356及374組成之群之胺基酸序列的輕鏈可變區；其中該抗體特異性結合於HER3 (例如人類及/或食蟹獼猴)。

在另一個態樣中，本發明提供包含如圖1中所描述之重鏈及輕鏈CDR1、CDR2及CDR3或其組合的HER3結合抗體。抗體之VH CDR1之胺基酸序列顯示於SEQ ID NO: 2、8、20、26、38、44、56、62、74、80、92、98、110、116、128、134、146、152、164、170、182、188、200、206、218、224、236、242、254、260、272、278、290、296、308、314、326、332、344、350、362及368中。抗體之VH CDR2之胺基酸序列顯示於SEQ ID NO: 3、9、21、27、39、45、57、63、75、81、93、99、111、117、129、135、147、153、165、171、183、189、201、207、219、225、237、243、255、261、273、279、291、297、

309、315、327、333、345、351、363及369中。抗體之 VH CDR3之胺基酸序列顯示於SEQ ID NO: 4、10、22、28、40、46、58、64、76、82、94、100、112、118、130、136、148、154、166、172、184、190、202、208、220、226、238、244、256、262、274、280、292、298、310、316、328、334、346、352、364及370中。抗體之 VL CDR1之胺基酸序列顯示於SEQ ID NO: 5、11、23、29、41、47、59、65、77、83、95、101、113、119、131、137、149、155、167、173、185、191、203、209、221、227、239、245、257、263、275、281、293、299、311、317、329、335、347、353、365及371中。抗體之 VL CDR2之胺基酸序列顯示於SEQ ID NO: 6、12、24、30、42、48、60、66、78、84、96、102、114、120、132、138、150、156、168、174、186、192、204、210、222、228、240、246、258、264、276、282、294、300、312、318、330、336、348、354、366及372中。抗體之 VL CDR3之胺基酸序列顯示於SEQ ID NO: 7、13、25、31、43、49、61、67、79、85、97、103、115、121、133、139、151、157、169、175、187、193、205、211、223、229、241、247、259、265、277、283、295、301、313、319、331、337、349、355、367及373中。CDR區使用 Kabat系統描繪(Kabat等人，(1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest，第5版，U.S. Department of Health and Human Services, NIH公開案第91-3242號；

Chothia等人，(1987) J. Mol. Biol. 196:901-917；Chothia等人，(1989) Nature 342: 877-883；及Al-Lazikani等人，(1997) J. Mol. Biol. 273, 927-948)。

在一特定實施例中，結合於HER3之抗體包含SEQ ID NO: 2之重鏈可變區CDR1；SEQ ID NO: 3之重鏈可變區CDR2；SEQ ID NO: 4之重鏈可變區CDR3；SEQ ID NO: 5之輕鏈可變區CDR1；SEQ ID NO: 6之輕鏈可變區CDR2；及SEQ ID NO: 7之輕鏈可變區CDR3。

在一特定實施例中，結合於HER3之抗體包含SEQ ID NO: 20之重鏈可變區CDR1；SEQ ID NO: 21之重鏈可變區CDR2；SEQ ID NO: 22之重鏈可變區CDR3；SEQ ID NO: 23之輕鏈可變區CDR1；SEQ ID NO: 24之輕鏈可變區CDR2；及SEQ ID NO: 25之輕鏈可變區CDR3。

在一特定實施例中，結合於HER3之抗體包含SEQ ID NO: 38之重鏈可變區CDR1；SEQ ID NO: 39之重鏈可變區CDR2；SEQ ID NO: 40之重鏈可變區CDR3；SEQ ID NO: 41之輕鏈可變區CDR1；SEQ ID NO: 42之輕鏈可變區CDR2；及SEQ ID NO: 43之輕鏈可變區CDR3。

在一特定實施例中，結合於HER3之抗體包含SEQ ID NO: 56之重鏈可變區CDR1；SEQ ID NO: 57之重鏈可變區CDR2；SEQ ID NO: 58之重鏈可變區CDR3；SEQ ID NO: 59之輕鏈可變區CDR1；SEQ ID NO: 60之輕鏈可變區CDR2；及SEQ ID NO: 61之輕鏈可變區CDR3。

在一特定實施例中，結合於HER3之抗體包含SEQ ID

NO: 74之重鏈可變區CDR1；SEQ ID NO: 75之重鏈可變區CDR2；SEQ ID NO: 76之重鏈可變區CDR3；SEQ ID NO: 77之輕鏈可變區CDR1；SEQ ID NO: 78之輕鏈可變區CDR2；及SEQ ID NO: 79之輕鏈可變區CDR3。

在一特定實施例中，結合於HER3之抗體包含SEQ ID NO: 92之重鏈可變區CDR1；SEQ ID NO: 93之重鏈可變區CDR2；SEQ ID NO: 94之重鏈可變區CDR3；SEQ ID NO: 95之輕鏈可變區CDR1；SEQ ID NO: 96之輕鏈可變區CDR2；及SEQ ID NO: 97之輕鏈可變區CDR3。

在一特定實施例中，結合於HER3之抗體包含SEQ ID NO: 110之重鏈可變區CDR1；SEQ ID NO: 111之重鏈可變區CDR2；SEQ ID NO: 112之重鏈可變區CDR3；SEQ ID NO: 113之輕鏈可變區CDR1；SEQ ID NO: 114之輕鏈可變區CDR2；及SEQ ID NO: 115之輕鏈可變區CDR3。

在一特定實施例中，結合於HER3之抗體包含SEQ ID NO: 128之重鏈可變區CDR1；SEQ ID NO: 129之重鏈可變區CDR2；SEQ ID NO: 130之重鏈可變區CDR3；SEQ ID NO: 131之輕鏈可變區CDR1；SEQ ID NO: 132之輕鏈可變區CDR2；及SEQ ID NO: 133之輕鏈可變區CDR3。

在一特定實施例中，結合於HER3之抗體包含SEQ ID NO: 146之重鏈可變區CDR1；SEQ ID NO: 147之重鏈可變區CDR2；SEQ ID NO: 148之重鏈可變區CDR3；SEQ ID NO: 149之輕鏈可變區CDR1；SEQ ID NO: 150之輕鏈可變區CDR2；及SEQ ID NO: 151之輕鏈可變區CDR3。

在一特定實施例中，結合於HER3之抗體包含SEQ ID NO: 164之重鏈可變區CDR1；SEQ ID NO: 165之重鏈可變區CDR2；SEQ ID NO: 166之重鏈可變區CDR3；SEQ ID NO: 167之輕鏈可變區CDR1；SEQ ID NO: 168之輕鏈可變區CDR2；及SEQ ID NO: 169之輕鏈可變區CDR3。

在一特定實施例中，結合於HER3之抗體包含SEQ ID NO: 182之重鏈可變區CDR1；SEQ ID NO: 183之重鏈可變區CDR2；SEQ ID NO: 184之重鏈可變區CDR3；SEQ ID NO: 185之輕鏈可變區CDR1；SEQ ID NO: 186之輕鏈可變區CDR2；及SEQ ID NO: 187之輕鏈可變區CDR3。

在一特定實施例中，結合於HER3之抗體包含SEQ ID NO: 200之重鏈可變區CDR1；SEQ ID NO: 201之重鏈可變區CDR2；SEQ ID NO: 202之重鏈可變區CDR3；SEQ ID NO: 203之輕鏈可變區CDR1；SEQ ID NO: 204之輕鏈可變區CDR2；及SEQ ID NO: 205之輕鏈可變區CDR3。

在一特定實施例中，結合於HER3之抗體包含SEQ ID NO: 218之重鏈可變區CDR1；SEQ ID NO: 219之重鏈可變區CDR2；SEQ ID NO: 220之重鏈可變區CDR3；SEQ ID NO: 221之輕鏈可變區CDR1；SEQ ID NO: 222之輕鏈可變區CDR2；及SEQ ID NO: 223之輕鏈可變區CDR3。

在一特定實施例中，結合於HER3之抗體包含SEQ ID NO: 236之重鏈可變區CDR1；SEQ ID NO: 237之重鏈可變區CDR2；SEQ ID NO: 238之重鏈可變區CDR3；SEQ ID NO: 239之輕鏈可變區CDR1；SEQ ID NO: 240之輕鏈可變

區 CDR2；及 SEQ ID NO: 241 之輕鏈可變區 CDR3。

在一特定實施例中，結合於 HER3 之抗體包含 SEQ ID NO: 254 之重鏈可變區 CDR1；SEQ ID NO: 255 之重鏈可變區 CDR2；SEQ ID NO: 256 之重鏈可變區 CDR3；SEQ ID NO: 257 之輕鏈可變區 CDR1；SEQ ID NO: 258 之輕鏈可變區 CDR2；及 SEQ ID NO: 259 之輕鏈可變區 CDR3。

在一特定實施例中，結合於 HER3 之抗體包含 SEQ ID NO: 272 之重鏈可變區 CDR1；SEQ ID NO: 273 之重鏈可變區 CDR2；SEQ ID NO: 274 之重鏈可變區 CDR3；SEQ ID NO: 275 之輕鏈可變區 CDR1；SEQ ID NO: 276 之輕鏈可變區 CDR2；及 SEQ ID NO: 277 之輕鏈可變區 CDR3。

在一特定實施例中，結合於 HER3 之抗體包含 SEQ ID NO: 290 之重鏈可變區 CDR1；SEQ ID NO: 291 之重鏈可變區 CDR2；SEQ ID NO: 292 之重鏈可變區 CDR3；SEQ ID NO: 293 之輕鏈可變區 CDR1；SEQ ID NO: 294 之輕鏈可變區 CDR2；及 SEQ ID NO: 295 之輕鏈可變區 CDR3。

在一特定實施例中，結合於 HER3 之抗體包含 SEQ ID NO: 308 之重鏈可變區 CDR1；SEQ ID NO: 309 之重鏈可變區 CDR2；SEQ ID NO: 310 之重鏈可變區 CDR3；SEQ ID NO: 311 之輕鏈可變區 CDR1；SEQ ID NO: 312 之輕鏈可變區 CDR2；及 SEQ ID NO: 313 之輕鏈可變區 CDR3。

在一特定實施例中，結合於 HER3 之抗體包含 SEQ ID NO: 326 之重鏈可變區 CDR1；SEQ ID NO: 327 之重鏈可變區 CDR2；SEQ ID NO: 328 之重鏈可變區 CDR3；SEQ ID

NO: 329之輕鏈可變區CDR1；SEQ ID NO: 330之輕鏈可變區CDR2；及SEQ ID NO: 331之輕鏈可變區CDR3。

在一特定實施例中，結合於HER3之抗體包含SEQ ID NO: 344之重鏈可變區CDR1；SEQ ID NO: 345之重鏈可變區CDR2；SEQ ID NO: 346之重鏈可變區CDR3；SEQ ID NO: 347之輕鏈可變區CDR1；SEQ ID NO: 348之輕鏈可變區CDR2；及SEQ ID NO: 349之輕鏈可變區CDR3。

在一特定實施例中，結合於HER3之抗體包含SEQ ID NO: 362之重鏈可變區CDR1；SEQ ID NO: 363之重鏈可變區CDR2；SEQ ID NO: 364之重鏈可變區CDR3；SEQ ID NO: 365之輕鏈可變區CDR1；SEQ ID NO: 366之輕鏈可變區CDR2；及SEQ ID NO: 367之輕鏈可變區CDR3。

在一特定實施例中，結合於HER3之抗體包含SEQ ID NO: 15之VH及SEQ ID NO: 14之VL。在一特定實施例中，結合於HER3之抗體包含SEQ ID NO: 33之VH及SEQ ID NO: 32之VL。在一特定實施例中，結合於HER3之抗體包含SEQ ID NO: 51之VH及SEQ ID NO: 50之VL。在一特定實施例中，結合於HER3之抗體包含SEQ ID NO: 69及SEQ ID NO: 68之VL。在一特定實施例中，結合於HER3之抗體包含SEQ ID NO: 87之VH及SEQ ID NO: 86之VL。在一特定實施例中，結合於HER3之抗體包含SEQ ID NO: 105之VH及SEQ ID NO: 104之VL。在一特定實施例中，結合於HER3之抗體包含SEQ ID NO: 123之VH及SEQ ID NO: 122之VL。在一特定實施例中，結合於HER3之抗體包含SEQ

ID NO: 141之VH及SEQ ID NO: 140之VL。在一特定實施例中，結合於HER3之抗體包含SEQ ID NO: 159之VH及SEQ ID NO: 158之VL。在一特定實施例中，結合於HER3之抗體包含SEQ ID NO: 177之VH及SEQ ID NO: 176之VL。在一特定實施例中，結合於HER3之抗體包含SEQ ID NO: 195之VH及SEQ ID NO: 194之VL。在一特定實施例中，結合於HER3之抗體包含SEQ ID NO: 213之VH及SEQ ID NO: 212之VL。在一特定實施例中，結合於HER3之抗體包含SEQ ID NO: 231之VH及SEQ ID NO: 230之VL。在一特定實施例中，結合於HER3之抗體包含SEQ ID NO: 249之VH及SEQ ID NO: 248之VL。在一特定實施例中，結合於HER3之抗體包含SEQ ID NO: 267之VH及SEQ ID NO: 266之VL。在一特定實施例中，結合於HER3之抗體包含SEQ ID NO: 285之VH及SEQ ID NO: 284之VL。在一特定實施例中，結合於HER3之抗體包含SEQ ID NO: 303之VH及SEQ ID NO: 302之VL。在一特定實施例中，結合於HER3之抗體包含SEQ ID NO: 321之VH及SEQ ID NO: 320之VL。在一特定實施例中，結合於HER3之抗體包含SEQ ID NO: 339之VH及SEQ ID NO: 338之VL。在一特定實施例中，結合於HER3之抗體包含SEQ ID NO: 357之VH及SEQ ID NO: 356之VL。在一特定實施例中，結合於HER3之抗體包含SEQ ID NO: 375之VH及SEQ ID NO: 374之VL。在一個實施例中，HER3抗體為拮抗抗體。在某些實施例中，結合於HER3之抗體為表1中描述之抗體。

如本文所用，若人類抗體之可變區或全長鏈自使用人類生殖系免疫球蛋白基因之系統獲得，則該抗體包含作為特定生殖系序列「之產物」或「來源於」特定生殖系序列的重鏈或輕鏈可變區或全長重鏈或輕鏈。該等系統包括用相關抗原免疫接種攜帶人類免疫球蛋白基因之轉殖基因小鼠或用相關抗原篩選在噬菌體上呈現之人類免疫球蛋白基因文庫。作為人類生殖系免疫球蛋白序列「之產物」或「來源於」人類生殖系免疫球蛋白序列的人類抗體可同樣藉由將人類抗體之胺基酸序列與人類生殖系免疫球蛋白之胺基酸序列比較且選擇序列最接近(亦即一致性%最大)人類抗體序列之人類生殖系免疫球蛋白序列來鑑別。作為特定人類生殖系免疫球蛋白序列「之產物」或「來源於」特定人類生殖系免疫球蛋白序列的人類抗體可因例如天然存在之體細胞突變或有意引入定點突變而與生殖系序列相比，含有胺基酸差異。然而，所選人類抗體在VH或VL構架區中胺基酸序列與由人類生殖系免疫球蛋白基因編碼之胺基酸序列至少90%一致，且含有在與其他物種之生殖系免疫球蛋白胺基酸序列(例如鼠類生殖系序列)比較時鑑別該人類抗體為人類的胺基酸殘基。在某些情況下，人類抗體之胺基酸序列與由生殖系免疫球蛋白基因編碼之胺基酸序列至少60%、70%、80%、90%或至少95%或甚至至少96%、97%、98%或99%一致。通常，重組人類抗體在VH或VL構架區將顯示與由人類生殖系免疫球蛋白基因編碼之胺基酸序列至多10個胺基酸差異。在某些情況下，人類抗體可顯

示與由生殖系免疫球蛋白基因編碼之胺基酸序列至多5個或甚至至多4個、3個、2個或1個胺基酸差異。代表性編號之HER3抗體的使用VH及VL生殖系序列之不同生殖系型式使用Kabat顯示於表2中。CDR位置以粗體突出顯示。用於生殖系序列表中之記法如下：MOR10701-VH_3-07意謂MOR10701 CDR環在VH生殖系序列3-07之構架區中(命名係根據Vbase)，MOR10703-VK_L1意謂來自MOR10703之CDR在來自VK_L1之生殖系構架區中，其中VK為κ輕鏈。

表2：選擇編號之代表性抗體之不同生殖系型式

SEQ ID編號	序列名稱	胺基酸序列
	MOR10701 VH域	
SEQ ID NO: 380	MOR10701-VH_3-07	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVAVTGAVGRSTYYPD SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGDEGFDI
SEQ ID NO: 381	MOR10701-VH_3-09	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSVTGAVGRSTYYPDS VKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKWGDEGFDI
SEQ ID NO: 382	MOR10701-VH_3-11	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWIRQAPGKGLEWVSVTGAVGRSTYYPDS VKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGDEGFDI
SEQ ID NO: 383	MOR10701-VH_3-13	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQATGKGLEWVSVTGAVGRSTYYPDS VKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAGDTAVYYCARWGDEGFDI
SEQ ID NO: 384	MOR10701-VH_3-15	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVGVTGAVGRSTYYPDS VKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTTWGDEGFDI
SEQ ID NO: 385	MOR10701-VH_3-20	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSVTGAVGRSTYYPDS VKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYHCAKWGDEGFDI
SEQ ID NO: 386	MOR10701-VH_3-21	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSVTGAVGRSTYYPDS VKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGDEGFDI
SEQ ID NO: 387	MOR10701-VH_3-23	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSVTGAVGRSTYYPDS VKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKWGDEGFDI
SEQ ID NO: 388	MOR10701-VH_3-30	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVAVTGAVGRSTYYPD SVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKWGDEGFDI
SEQ ID NO: 389	MOR10701-VH_3-30.3	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVAVTGAVGRSTYYPD SVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGDEGFDI
SEQ ID NO: 390	MOR10701-VH_3-30.5	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVAVTGAVGRSTYYPD SVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKWGDEGFDI

SEQ ID NO: 391	MOR10701-VH_3-33	QVQLVESGGGVVQPGSRRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVAVTGAVGRSTYYPD SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGDEGFDI
SEQ ID NO: 392	MOR10701-VH_3-43	EVQLVESGGVVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSVTGAVGRSTYYPDS VKGRFTISRDN SKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKWGDEGFDI
SEQ ID NO: 393	MOR10701-VH_3-48	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSVTGAVGRSTYYPDS VKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCARWGDEGFDI
SEQ ID NO: 394	MOR10701-VH_3-49	EVQLVESGGGLVQPGSRRLSCTASGFTFSSYAMSWFRQAPGKGLEWVGVGTAVGRSTYYPDS VKGRFTISR DGSKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYCTR WGDEGFDI
SEQ ID NO: 395	MOR10701-VH_3-53	EVQLVETGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSVTGAVGRSTYYPDS VKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGDEGFDI
SEQ ID NO: 396	MOR10701-VH_3-64	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSVTGAVGRSTYYPDS VKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDMAVYYCARWGDEGFDI
SEQ ID NO: 397	MOR10701-VH_3-66	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSVTGAVGRSTYYPDS VKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGDEGFDI
SEQ ID NO: 398	MOR10701-VH_3-72	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVGVGTAVGRSTYYPD SVKGRFTISR DSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARWGDEGFDI
SEQ ID NO: 399	MOR10701-VH_3-73	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQASGKGLEWVGVGTAVGRSTYYPDS VKGRFTISR DSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTR WGDEGFDI
SEQ ID NO: 400	MOR10701-VH_3-74	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLVWVSVTGAVGRSTYYPDS VKGRFTISRDN AKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGDEGFDI
SEQ ID NO: 401	MOR10701-VH_3-d	EVQLVESRGVLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSVTGAVGRSTYYPDS VKGRFTISRDN SKNTLHLQMNSLRAEDTAVYYCKKWGDEGFDI
	MOR10703 VH域	
SEQ ID NO: 402	MOR10703-VH_3-07	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVAAINSQQKSTYYADS VKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGDEGFDI
SEQ ID NO: 403	MOR10703-VH_3-09	EVQLVESGGGLVQPGSRRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAINSQQKSTYYADS VKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKWGDEGFDI
SEQ ID NO: 404	MOR10703-VH_3-11	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWIRQAPGKGLEWVSAINSQQKSTYYADS VKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGDEGFDI
SEQ ID NO: 405	MOR10703-VH_3-13	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQATGKGLEWVSAINSQQKSTYYADS VKGRFTISR ENAKNSLYLQMNSLRAGDTAVYYCARWGDEGFDI
SEQ ID NO: 406	MOR10703-VH_3-15	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVGAINSQQKSTYYADS VKGRFTISR DSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTT WGDEGFDI
SEQ ID NO: 407	MOR10703-VH_3-20	EVQLVESGGGVVRPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAINSQQKSTYYADS VKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTALYH CARWGDEGFDI
SEQ ID NO: 408	MOR10703-VH_3-21	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAINSQQKSTYYADS VKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGDEGFDI
SEQ ID NO: 409	MOR10703-VH_3-23	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAINSQQKSTYYADS VKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKWGDEGFDI
SEQ ID NO: 410	MOR10703-VH_3-30	QVQLVESGGGVVQPGSRRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVAAINSQQKSTYYAD SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKWGDEGFDI

SEQ ID NO: 411	MOR10703-VH_3-30.3	QVQLVESGGGVVQPGRSRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVAAINSQQGKSTYYAD SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGDEGFDI
SEQ ID NO: 412	MOR10703-VH_3-30.5	QVQLVESGGGVVQPGRSRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVAAINSQQGKSTYYAD SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKWGDEGFDI
SEQ ID NO: 413	MOR10703-VH_3-33	QVQLVESGGGVVQPGRSRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVAAINSQQGKSTYYAD SVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGDEGFDI
SEQ ID NO: 414	MOR10703-VH_3-43	EVQLVESGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAINSQQGKSTYYADS VKGRFTISRDN SKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKWGDEGFDI
SEQ ID NO: 415	MOR10703-VH_3-48	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAINSQQGKSTYYADS VKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCARWGDEGFDI
SEQ ID NO: 416	MOR10703-VH_3-49	EVQLVESGGGLVQPGRSRLSCTASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVGAINSQQGKSTYYADS VKGRFTISR DGSKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYCTR WGDEGFDI
SEQ ID NO: 417	MOR10703-VH_3-53	EVQLVETGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAINSQQGKSTYYADS VKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGDEGFDI
SEQ ID NO: 418	MOR10703-VH_3-64	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAINSQQGKSTYYADSV KGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDMAVYYCARWGDEGFDI
SEQ ID NO: 419	MOR10703-VH_3-66	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAINSQQGKSTYYADS VKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGDEGFDI
SEQ ID NO: 420	MOR10703-VH_3-72	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVGAINSQQGKSTYYADS VKGRFTISR DSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCARWGDEGFDI
SEQ ID NO: 421	MOR10703-VH_3-73	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFSSYAMSWVRQASGKGLEWVGAINSQQGKSTYYADS VKGRFTISR DSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTR WGDEGFDI
SEQ ID NO: 422	MOR10703-VH_3-74	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLVWVSAINSQQGKSTYYADS VKGRFTISRDN AKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGDEGFDI
SEQ ID NO: 423	MOR10703-VH_3-d	EVQLVESRGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAINSQQGKSTYYADS VKGRFTISRDN SKNTLHLQMNSLRAEDTAVYYCKK WGDEGFDI
	MOR10701 VK域	
SEQ ID NO: 424	MOR10701-VKI_O12 (與 MOR10701 野生型相同)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGS GSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYSSFPPT
SEQ ID NO: 425	MOR10701-VKI_O2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGS GSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYSSFPPT
SEQ ID NO: 426	MOR10701-VKI_O18	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGS GSGTDFTFTISLQPEDATYYCQQYSSFPPT
SEQ ID NO: 427	MOR10701-VKI_O8	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGS GSGTDFTFTISLQPEDATYYCQQYSSFPPT
SEQ ID NO: 428	MOR10701-VKI_A20	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNWLAWYQQKPGKVPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGS GSGTDFTLTISLQPEDVATYYCQQYSSFPPT
SEQ ID NO: 429	MOR10701-VKI_A30	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKRLIYGASSLQSGVPSRFSGS GSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQQYSSFPPT
SEQ ID NO: 430	MOR10701-VKI_L14	NIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRASQGISNWLAWFQQKPGKVPKHLIYGASSLQSGVPSRFS GSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQQYSSFPPT

SEQ ID NO: 431	MOR10701-VKI_L1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGISNWLAWFQQKPGKAPKSLIYGASSLQSGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSSFPPT
SEQ ID NO: 432	MOR10701-VKI_L15	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGISNWLAWYQQKPEKAPKSLIYGASSLQSGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSSFPPT
SEQ ID NO: 433	MOR10701-VKI_L4	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSSFPPT
SEQ ID NO: 434	MOR10701-VKI_L18	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSSFPPT
SEQ ID NO: 435	MOR10701-VKI_L5	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSSFPPT
SEQ ID NO: 436	MOR10701-VKI_L19	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSSFPPT
SEQ ID NO: 437	MOR10701-VKI_L8	DIQLTQSPSFLSASVGDRVITITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGS GSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSSFPPT
SEQ ID NO: 438	MOR10701-VKI_L23	AIRMTQSPFSLASVGDRVITITCRASQGISNWLAWYQQKPAKAPKLFYIGASSLQSGVPSRFSGS GSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQYSSFPPT
SEQ ID NO: 439	MOR10701-VKI_L9	AIRMTQSPSSFSASTGDRVITITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGS GSGTDFTLTISCLQSEDFATYYCQQYSSFPPT
SEQ ID NO: 440	MOR10701-VKI_L24	VIWMTQSPSLLSASTGDRVITISCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPELLIYGASSLQSGVPSRFSGS GSGTDFTLTISCLQSEDFATYYCQQYSSFPPT
SEQ ID NO: 441	MOR10701-VKI_L11	AIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSSFPPT
SEQ ID NO: 442	MOR10701-VKI_L12	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGS GSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSSFPPT
	MOR10701 VKI域	
SEQ ID NO: 443	MOR10703-VKI_O12 (與 MOR10703 野生型相同)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSSFPPT
SEQ ID NO: 444	MOR10703-VKI_O2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSSFPPT
SEQ ID NO: 445	MOR10703-VKI_O18	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSSFPPT
SEQ ID NO: 446	MOR10703-VKI_O8	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSSFPPT
SEQ ID NO: 447	MOR10703-VKI_A20	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGISNWLAWYQQKPGKVPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSSFPPT
SEQ ID NO: 448	MOR10703-VKI_A30	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKRLIYGASSLQSGVPSRFSGS GSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSSFPPT
SEQ ID NO: 449	MOR10703-VKI_L14	NIQMTQSPSAMSASVGDRVITITCRASQGISNWLAWFQQKPGKVPKHLIYGASSLQSGVPSRFSGS GSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSSFPPT
SEQ ID NO: 450	MOR10703-VKI_L1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGISNWLAWFQQKPGKAPKSLIYGASSLQSGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSSFPPT

SEQ ID NO: 451	MOR10703-VKI_L15	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGISNWLAWYQQKPEKAPKSLIYGASSLQSGVPSRFSGS GSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQQYSSFPPT
SEQ ID NO: 452	MOR10703-VKI_L4	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGS SGTDFLTITISLQPEDFATYYCQQYSSFPPT
SEQ ID NO: 453	MOR10703-VKI_L18	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGS SGTDFLTITISLQPEDFATYYCQQYSSFPPT
SEQ ID NO: 454	MOR10703-VKI_L5	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGS GSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQQYSSFPPT
SEQ ID NO: 455	MOR10703-VKI_L19	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGS GSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQQYSSFPPT
SEQ ID NO: 456	MOR10703-VKI_L8	DIQLTQSPSFLSASVGDRVITITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGS GSGTEFTLTITISLQPEDFATYYCQQYSSFPPT
SEQ ID NO: 457	MOR10703-VKI_L23	AIRMTQSPFSLASVGDRVITITCRASQGISNWLAWYQQKPAKAPKLFYIGASSLQSGVPSRFSGS GSGTDYTLTITISLQPEDFATYYCQQYSSFPPT
SEQ ID NO: 458	MOR10703-VKI_L9	AIRMTQSPSSFASTGDRVITITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGS GSGTDFLTITISLQSEDFATYYCQQYSSFPPT
SEQ ID NO: 459	MOR10703-VKI_L24	VIWMTQSPSLLASTGDRVITISCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPELLIYGASSLQSGVPSRFSGS GSGTDFLTITISLQSEDFATYYCQQYSSFPPT
SEQ ID NO: 460	MOR10703-VKI_L11	AIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGS GSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQQYSSFPPT
SEQ ID NO: 461	MOR10703-VKI_L12	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITITCRASQGISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGS GSGTEFTLTITISLQPDDEFATYYCQQYSSFPPT

表 3：JH 區段

SEQ ID NO: 462	JH1	WGQGTTLVTVSS
SEQ ID NO: 463	JH2	WGRGTLVTVSS
SEQ ID NO: 464	JH3	WGQGTMTVTVSS
SEQ ID NO: 465	JH4	WGQGTTLVTVSS
SEQ ID NO: 466	JH5	WGQGTTLVTVSS
SEQ ID NO: 467	JH6	WGQGTTVTVSS

表 4：JK 區段

SEQ ID NO: 468	JK1	FGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 469	JK2	FGQGTKLEIK
SEQ ID NO: 470	JK3	FGPGTKVDIK
SEQ ID NO: 471	JK4	FGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 472	JK5	FGQGTRLEIK

可使用 VH 生殖系序列與 JH 區段之任何組合。組合之代

表性實例展示於表5中。

表5：VH生殖系序列與JH區段之組合的代表性實例。

SEQ ID NO: 473	MOR10701-VH_3-15_JH1	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVGVTGAVGRST YYPDSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTTWGDEGFDIWGQGTMTVTVSS
SEQ ID NO: 474	MOR10701-VH_3-15_JH3	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVGVTGAVGRST YYPDSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTTWGDEGFDIWGQGTMTVTVSS
SEQ ID NO: 475	MOR10703-VH_3-15_JH1	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVGAINSQGKSTY YADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTTWGDEGFDIWGQGTMTVTVSS
SEQ ID NO: 476	MOR10703-VH_3-15_JH3	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVGAINSQGKSTY YADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTTWGDEGFDIWGQGTMTVTVSS

可使用VL生殖系序列與JK區段之任何組合。組合之代表性實例展示於表6中。

表6：VK生殖系序列與JK區段之組合的代表性實例。

SEQ ID NO: 477	MOR10701-VKI_O2_JK1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNWLAWYQQKPKGKAPKLLIYGASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSSFPPTTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 478	MOR10701-VKI_O2_JK4	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNWLAWYQQKPKGKAPKLLIYGASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSSFPPTTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 479	MOR10703-VKI_A20_JK4	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNWLAWYQQKPKGKVPKLLIYGASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQQYSSFPPTTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO: 480	MOR10703-VKI_A20_JK1	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNWLAWYQQKPKGKVPKLLIYGASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQQYSSFPPTTFGGGTKVEIK

一旦VH與JH及VK與JK組合，則可使用VH或JH與VK或JK之任何組合。在一個實施例中，對於每一抗體，任一VH生殖系區域均可與任一VK (VL)生殖系區域組合。代表性編號之組合實例展示於表7中。

表7：生殖系序列組合之代表性實例

	組合1	
SEQ ID NO: 481	MOR10701-VH_3-15_JH3	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVGVTGAVGRSTY YPDSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTTWGDEGFDIWGQGTMTVTVSS
SEQ ID NO: 482	MOR10701-VKI_A30_JK4	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNWLAWYQQKPKGKAPKRLIYGASSLQSGVPSR FSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQYSSFPPTTFGGGTKVEIK
	組合2	
SEQ ID NO: 483	MOR10701-VH_3-30_JH1	QVQLVESGGGVVQPGRLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVAVTGAVGRST YYPDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKWGDEGFDIWGQGTMTVTVSS

SEQ ID NO: 484	MOR10701-VKI_L1_JK2	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISNWLAWFQQKPGKAPKSLIYGASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYSSFPPTTFGQGTKLEIK
	組合3	
SEQ ID NO: 485	MOR10701-VH_3-30_JH2	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVAVTGAVGRST YYPDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKWGDEGFDIWGRGTLVTVSS
SEQ ID NO: 486	MOR10701-VKI_L1_JK2	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISNWLAWFQQKPGKAPKSLIYGASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYSSFPPTTFGQGTKLEIK
	組合4	
SEQ ID NO: 487	MOR10703-VH_3-20_JH5	EVQLVESGGGVVVRPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVAINSQGKSTY YADSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTALYHCAKRWGDEGFDIWGQGTMTVTSS
SEQ ID NO: 488	MOR10703-VKI_L15_JK3	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISNWLAWYQQKPEKAPKSLIYGASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYSSFPPTTFGPGTKVDIK
	組合5	
SEQ ID NO: 489	MOR10703-VH_3-33_JH2	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVAINSQGKSTY YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGDEGFDIWGRGTLVTVSS
SEQ ID NO: 490	MOR10703-VKI_A20_JK1	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISNWLAWYQQKPGKVPKLLIYGASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISLQPEDVATYYCQQYSSFPPTTFGQGTKVEIK
	組合6	
SEQ ID NO: 491	MOR10703-VH_3-33_JH3	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVAINSQGKSTY YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGDEGFDIWGQGTMTVTSS
SEQ ID NO: 492	MOR10703-VKI_A20_JK2	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISNWLAWYQQKPGKVPKLLIYGASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISLQPEDVATYYCQQYSSFPPTTFGQGTKLEIK

在一個實施例中，本發明係關於包含 Xaa₁-HCDR1-Xaa₂-HCDR2-Xaa₃-HCDR3-Xaa₄之序列的重鏈可變區，其中重鏈 HCDR1、HCDR2、HCDR3 為選自表 1 及 2 之任何重鏈 CDR。僅為達成例示之目的，序列可為：

Xaa₁.SYAMS-Xaa₂.AINSQGKSTYYADSVKG-Xaa₃.WGDEGFDI-Xaa₄ (SEQ ID NO: 493)，其中

Xaa₁ 為具有任 30 個胺基酸之構架區；

Xaa₂ 為具有任 14 個胺基酸之構架區；

Xaa₃ 為具有任 32 個胺基酸之構架區；

Xaa₄ 為具有任 11 個胺基酸之構架區；

在一個實施例中，本發明係關於包含 Xaa₁-LCDR1-Xaa₂-

LCDR2-Xaa₃-LCDR3-Xaa₄之序列的輕鏈可變區，其中輕鏈 LCDR1、LCDR2、LCDR3為選自表1及2之任何輕鏈CDR。僅為達到例示之目的，序列可為：

Xaa₁.RASQGISNWLA-Xaa₂.GASSLQS-Xaa₃.QQYSSFPTT-Xaa₄ (SEQ ID NO: 494)，其中

Xaa₁為具有任23個胺基酸之構架區；

Xaa₂為具有任15個胺基酸之構架區；

Xaa₃為具有任32個胺基酸之構架區；且

Xaa₄為具有任10個胺基酸之構架區。

本文中揭示之抗體可為單鏈抗體、雙功能抗體、域抗體、奈米抗體及單抗體之衍生物。「單鏈抗體」(scFv)由包含VL域連接於VH域之單一多肽鏈組成，其中VL域與VH域配對形成單價分子。單鏈抗體可根據此項技術中已知之方法製備(參見例如Bird等人，(1988) Science 242:423-426及Huston等人，(1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883)。「雙功能抗體(disbud)」由兩個鏈組成，每一鏈包含重鏈可變區連接於藉由短肽連接子連接之相同多肽鏈上的輕鏈可變區，其中同一鏈上之兩個區不彼此配對，而是與另一鏈上互補域配對，形成雙特異性分子。製備雙功能抗體之方法在此項技術中已知(參見例如Holliger等人，(1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448及Poljak等人，(1994) Structure 2:1121-1123)。域抗體(dAb)為抗體之小功能結合單元，對應於抗體之重鏈或輕鏈之可變區。域抗體在細菌、酵母及哺乳動物細胞系統中良好表現。域抗

體及其產生方式之更多細節在此項技術中已知(參見例如美國專利第6,291,158號；第6,582,915號；第6,593,081號；第6,172,197號；第6,696,245號；歐洲專利0368684及0616640；WO 05/035572、WO 04/101790、WO 04/081026、WO 04/058821、WO 04/003019及WO 03/002609)。奈米抗體來源於抗體之重鏈。奈米抗體通常包含單一可變域及兩個恆定域(CH2及CH3)且保留原始抗體之抗原結合能力。奈米抗體可藉由此項技術中已知之方法製備(參見例如美國專利第6,765,087號、美國專利第6,838,254號、WO 06/079372)。單抗體由IgG4抗體之一個輕鏈及一個重鏈組成。單抗體可藉由移除IgG4抗體之鉸鏈區製得。單抗體及其製備方法之更多細節可見於WO 2007/059782中。

同源抗體

在又一個實施例中，本發明提供一種包含與表1中描述之序列同源之胺基酸序列的抗體或其片段，且該抗體結合於HER3蛋白(例如人類及/或食蟹獼猴HER3)並保留表1中描述之彼等抗體之所需功能性。

舉例而言，本發明提供一種分離單株抗體(或其功能性片段)，其包含重鏈可變區及輕鏈可變區，其中該重鏈可變區包含與選自由SEQ ID NO: 15、33、51、69、87、105、123、141、159、177、195、213、231、249、267、285、303、321、339、357及375組成之群之胺基酸序列至少80%、至少90%或至少95%一致的胺基酸序列；該輕鏈可變區包含與選自由SEQ ID NO: 14、32、50、68、86、

104、122、140、158、176、194、212、230、248、266、284、302、320、338、356及374組成之群之胺基酸序列至少80%、至少90%或至少95%一致的胺基酸序列；該抗體結合於HER3（例如人類及/或食蟹獼猴HER3）且中和HER3之信號傳導活性，可在磷酸化分析或HER信號傳導之其他量測方法（例如如實例中所描述之磷酸化HER3分析、磷酸化Akt分析、細胞增殖及配位體阻斷分析）中量測。本發明之範疇亦包括可變重鏈及輕鏈親本核苷酸序列；及為在哺乳動物細胞中表現而最佳化之全長重鏈及輕鏈序列。本發明之其他抗體包括已突變，但與上述序列仍具有至少60%、70%、80%、90%、95%或98%一致性百分比之胺基酸或核酸。在一些實施例中，其包括與上述序列中所描繪的可變區相比，可變區中至多1個、2個、3個、4個或5個胺基酸藉由胺基酸缺失、插入或取代而突變的突變胺基酸序列。

在其他實施例中，VH及/或VL胺基酸序列可與表1中闡述之序列50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致。在其他實施例中，VH及/或VL胺基酸序列可除至多1個、2個、3個、4個或5個胺基酸位置中胺基酸取代外均一致。VH及VL區與表1中描述之抗體之VH及VL區具有高（亦即80%或80%以上）一致性的抗體可藉由突變誘發（例如定點或PCR介導之突變誘發）獲得，接著使用本文中描述之功能分析測試所編碼之改變抗體的保留功能。

在其他實施例中，重鏈及/或輕鏈核苷酸序列之可變區可與以上闡述之序列60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%一致。

如本文所用，兩個序列之間的「一致性百分比」為該等序列所共享之一致位置之數目的函數(亦即一致性%等於一致位置之數目/位置總數目 $\times 100$)，其考慮到間隙數目及每一間隙長度，需要引入間隙以對該兩個序列進行最佳比對。兩個序列之間的序列比較及一致性百分比之確定可如下非限制性實例中所描述，使用數學演算法實現。

或者或另外，本發明之蛋白質序列可進一步用作「查詢序列」以對公共數據庫進行搜索，從而例如鑑別相關序列。舉例而言，該等搜索可使用Altschul等人，(1990) J.Mol. Biol. 215:403-10之BLAST程式(2.0版)執行。

保守修飾之抗體

在某些實施例中，本發明之抗體具有包含CDR1、CDR2及CDR3序列之重鏈可變區及包含CDR1、CDR2及CDR3序列之輕鏈可變區，其中此等CDR序列中之一或多者具有基於本文中描述之抗體的指定胺基酸序列或其保守修飾，且其中該等抗體保留本發明之HER3結合抗體的所需功能性。

因此，本發明提供一種分離HER3單株抗體或其片段，其由包含CDR1、CDR2及CDR3序列之重鏈可變區及包含CDR1、CDR2及CDR3序列之輕鏈可變區組成，其中：重鏈可變區CDR1胺基酸序列係選自由SEQ ID NO: 2、8、

20、26、38、44、56、62、74、80、92、98、110、116、128、134、146、152、164、170、182、188、200、206、218、224、236、242、254、260、272、278、290、296、308、314、326、332、344、350、362及368及其保守修飾組成之群；重鏈可變區CDR2胺基酸序列係選自由SEQ ID NO: 3、9、21、27、39、45、57、63、75、81、93、99、111、117、129、135、147、153、165、171、183、189、201、207、219、225、237、243、255、261、273、279、291、297、309、315、327、333、345、351、363及369及其保守修飾組成之群；重鏈可變區CDR3胺基酸序列係選自由SEQ ID NO: 4、10、22、28、40、46、58、64、76、82、94、100、112、118、130、136、148、154、166、172、184、190、202、208、220、226、238、244、256、262、274、280、292、298、310、316、328、334、346、352、364及370及其保守修飾組成之群；輕鏈可變區CDR1胺基酸序列係選自由SEQ ID NO: 5、11、23、29、41、47、59、65、77、83、95、101、113、119、131、137、149、155、167、173、185、191、203、209、221、227、239、245、257、263、275、281、293、299、311、317、329、335、347、353、365及371及其保守修飾組成之群；輕鏈可變區CDR2胺基酸序列係選自由SEQ ID NO: 6、12、24、30、42、48、60、66、78、84、96、102、114、120、132、138、150、156、168、174、186、192、204、210、222、228、240、246、258、264、276、282、294、

300、312、318、330、336、348、354、366及372及其保守修飾組成之群；輕鏈可變區CDR3胺基酸序列係選自由SEQ ID NO: 7、13、25、31、43、49、61、67、79、85、97、103、115、121、133、139、151、157、169、175、187、193、205、211、223、229、241、247、259、265、277、283、295、301、313、319、331、337、349、355、367及373及其保守修飾組成之群；抗體或其片段特異性結合於HER3，且藉由抑制HER信號傳導路徑來中和HER3活性，可在磷酸化分析或HER信號傳導之其他量測方法(例如如實例中所描述之磷酸化HER3分析、磷酸化Akt分析、細胞增殖及配位體阻斷分析)中量測。

結合於相同抗原決定基之抗體

本發明提供相互作用(例如結合、位阻、穩定化/去穩定化、空間分佈)之抗原決定基與表1及圖7中描述之HER3結合抗體相互作用(例如結合、位阻、穩定化/去穩定化、空間分佈)之抗原決定基相同的抗體。因此，其他抗體可基於在HER3結合分析中其與本發明之其他抗體交叉競爭(例如以統計上顯著方式競爭性抑制本發明之其他抗體之結合)之能力來鑑別。測試抗體抑制本發明抗體結合於HER3蛋白(例如人類及/或食蟹獼猴HER3)之能力說明測試抗體可與該抗體競爭結合於HER3；根據非限制性理論，此類抗體可結合於HER3蛋白上與其競爭之抗體相同或相關(例如結構類似或空間鄰近)的抗原決定基。在某一實施例中，結合於HER3上與本發明抗體相同之抗原決定基的抗

體為人類單株抗體。該等人類單株抗體可如本文中描述來製備及分離。

在一個實施例中，抗體或其片段結合於HER3之域2與域4以保持HER3於不活化構形，阻止域2內存在之二聚環暴露。此阻止與諸如HER1、HER2及HER4之其他家族成員雜二聚化。抗體或其片段抑制配位體依賴性與非配位體依賴性HER3信號傳導。

在另一個實施例中，抗體或其片段結合於HER3之域2與域4且不阻斷HER3配位體(諸如神經調節蛋白)同時結合。雖然不需提供理論，但可能是抗體或其片段結合於HER3之域2與域4，保持HER3於不活化構形而不阻斷HER3上之配位體結合位點。因此，HER3配位體(例如神經調節蛋白)能夠與該抗體或其片段同時結合於HER3。

本發明之抗體或其片段抑制配位體依賴性與非依賴性HER3活化而不阻止配位體結合。由於以下原因認為此有利：

(i)與靶向HER3活化之單一機制(亦即配位體依賴性或非配位體依賴性)之抗體相比，該治療抗體可臨床應用於廣泛範圍腫瘤，因為不同腫瘤類型係由各機制驅動。

(ii)該治療抗體在同時涉及HER3活化之兩種機制之腫瘤類型中有效。靶向HER3活化之單一機制(亦即配位體依賴性或非配位體依賴性)之抗體在此等腫瘤類型中幾乎未顯示功效。

(iii)抑制配位體依賴性HER3活化而不阻止配位體結合之

抗體的功效不太可能受配位體濃度增加而不利地影響。此將轉化為在很高濃度HER3配位體所驅動之腫瘤類型中功效增加，或在抗藥性由HER3配位體上調所介導時抗藥性傾向減小。

(iv)藉由穩定化不活化形式來抑制HER3活化之抗體將不太會有HER3活化之替代機制所驅動之藥物抗性傾向。

因此，本發明之抗體可用於治療已存在之治療抗體在臨床上無效的病狀。

工程改造及修飾之抗體

本發明之抗體進一步可使用具有本文中顯示之VH及/或VL序列中之一或多者的抗體作為起始物質工程改造經修飾之抗體來製備，該經修飾之抗體可具有自起始抗體改變之性質。抗體可藉由修飾一或兩個可變區(亦即VH及/或VL)內，例如一或多個CDR區內及/或一或多個構架區內之一或多個殘基而工程改造。或者或另外，抗體可藉由修飾恆定區內之殘基，例如改變抗體之效應功能而工程改造。

可執行之一種類型可變區工程改造為CDR移植。抗體與標靶抗原主要經由位於六個重鏈及輕鏈互補決定區(CDR)中之胺基酸殘基相互作用。為此，在個別抗體之間，CDR內之胺基酸序列比CDR外之序列變化多。因為CDR序列負責大部分抗體-抗原相互作用，所以藉由構築包括來自特定天然存在之抗體之CDR序列移植於來自具有不同性質之不同抗體之構架序列上的表現載體，可表現模擬特定天然存在之抗體之性質的重組抗體(參見例如Riechmann等人，

(1998) Nature 332:323-327 ; Jones 等人 , (1986) Nature 321:522-525 ; Queen 等人 , (1989) Proc. Natl. Acad., U.S.A. 86:10029-10033 ; Winter之美國專利第 5,225,539 號 , 及 Queen等人之美國專利第 5,530,101號、第 5,585,089 號、第 5,693,762號及第 6,180,370號)。

因此，本發明之另一個實施例係關於一種分離 HER3 結合單株抗體或其片段，其含有包含 CDR1 序列、CDR2 序列及 CDR3 序列之重鏈可變區及具有 CDR1 序列、CDR2 序列及 CDR3 序列之輕鏈可變區，分別地，該重鏈可變區之 CDR1 序列具有選自由 SEQ ID NO: 2、8、20、26、38、44、56、62、74、80、92、98、110、116、128、134、146、152、164、170、182、188、200、206、218、224、236、242、254、260、272、278、290、296、308、314、326、332、344、350、362 及 368 組成之群之胺基酸序列； CDR2 序列具有選自由 SEQ ID NO: 3、9、21、27、39、45、57、63、75、81、93、99、111、117、129、135、147、153、165、171、183、189、201、207、219、225、237、243、255、261、273、279、291、297、309、315、327、333、345、351、363 及 369 組成之群之胺基酸序列； CDR3 序列具有選自由 SEQ ID NO: 4、10、22、28、40、46、58、64、76、82、94、100、112、118、130、136、148、154、166、172、184、190、202、208、220、226、238、244、256、262、274、280、292、298、310、316、328、334、346、352、364 及 370 組成之群之胺基酸序列；

且分別地，該輕鏈可變區之CDR1序列具有選自由SEQ ID NO: 5、11、23、29、41、47、59、65、77、83、95、101、113、119、131、137、149、155、167、173、185、191、203、209、221、227、239、245、257、263、275、281、293、299、311、317、329、335、347、353、365及371組成之群之胺基酸序列；CDR2序列具有選自由SEQ ID NO: 6、12、24、30、42、48、60、66、78、84、96、102、114、120、132、138、150、156、168、174、186、192、204、210、222、228、240、246、258、264、276、282、294、300、312、318、330、336、348、354、366及372組成之群之胺基酸序列；且CDR3序列由選自由SEQ ID NO: 7、13、25、31、43、49、61、67、79、85、97、103、115、121、135、139、151、157、169、175、187、193、205、211、223、229、241、247、259、265、277、283、295、301、313、319、331、337、349、355、367及373組成之群之胺基酸序列組成。因此，雖然該等抗體含有單株抗體之VH及VL CDR序列，但仍可含有來自此等抗體之不同構架序列。該等構架序列可自包括生殖系抗體基因序列之公共DNA數據庫或公開參考文獻獲得。舉例而言，人類重鏈及輕鏈可變區基因之生殖系DNA序列可見於「Vase」人類生殖系序列數據庫(在網際網路www.mrc-cpe.cam.ac.uk/vbase上可得)以及 Kabat 等人，(1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest，第5版，U.S. Department of Health and Human Services, NIH公開案

第 91-3242 號；Chothia 等人，(1987) J. Mol. Biol. 196:901-917；Chothia 等人，(1989) Nature 342:877-883；及 Al-Lazikani 等人，(1997) J. Mol. Biol. 273:927-948；Tomlinson 等人，(1992) J. Mol. Biol. 227:776-798；及 Cox 等人，(1994) Eur. J Immunol. 24:827-836 中；每一者之內容均以引用的方式明確併入本文中。

用於本發明抗體之構架序列之一實例為結構類似於藉由所選本發明抗體使用之構架序列者，例如藉由本發明之單株抗體使用之共同序列及/或構架序列。VH CDR1、2及3序列及VL CDR1、2及3序列可移植於具有與在構架序列來源之生殖系免疫球蛋白基因中所發現一致之序列的構架區上，或CDR序列可移植於與生殖系序列相比含有一或多個突變之構架區上。舉例而言，已發現在某些情況下，使構架區內之殘基突變以維持或增強抗體之抗原結合能力為有益的(參見例如 Queen 等人之美國專利第 5,530,101 號、第 5,585,089 號、第 5,693,762 號及第 6,180,370 號)。

另一個類型可變區修飾為使 VH 及/或 VL CDR1、CDR2 及/或 CDR3 區內之胺基酸殘基突變，從而改良相關抗體之一或多種結合性質(例如親和力)，稱為「親和力成熟」。可執行定點突變誘發或 PCR 介導之突變誘發以引入突變，且可在如本文中描述及實例中提供之活體外或活體內分析中評估對抗體結合或其他相關功能性的作用。可引入保守修飾(如以上討論)。突變可為胺基酸取代、添加或缺失。此外，通常 CDR 區內至多一個、兩個、三個、四個或五個殘

基改變。

因此，在另一個實施例中，本發明提供分離HER3結合單株抗體或其片段，其由具有以下之重鏈可變區組成：VH CDR1區，其由選自具有SEQ ID NO: 2、8、20、26、38、44、56、62、74、80、92、98、110、116、128、134、146、152、164、170、182、188、200、206、218、224、236、242、254、260、272、278、290、296、308、314、326、332、344、350、362及368之群之胺基酸序列，或與SEQ ID NO: 2、8、20、26、38、44、56、62、74、80、92、98、110、116、128、134、146、152、164、170、182、188、200、206、218、224、236、242、254、260、272、278、290、296、308、314、326、332、344、350、362及368相比，具有一個、兩個、三個、四個或五個胺基酸取代、缺失或添加之胺基酸序列組成；VH CDR2區，其具有選自由SEQ ID NO: 3、9、21、27、39、45、57、63、75、81、93、99、111、117、129、135、147、153、165、171、183、189、201、207、219、225、237、243、255、261、273、279、291、297、309、315、327、333、345、351、363及369組成之群之胺基酸序列，或與SEQ ID NO: 3、9、21、27、39、45、57、63、75、81、93、99、111、117、129、135、147、153、165、171、183、189、201、207、219、225、237、243、255、261、273、279、291、297、309、315、327、333、345、351、363及369相比，具有一個、兩個、三個、四個或五

個胺基酸取代、缺失或添加之胺基酸序列；VH CDR3區，其具有選自由SEQ ID NO: 4、10、22、28、40、46、58、64、76、82、94、100、112、118、130、136、148、154、166、172、184、190、202、208、220、226、238、244、256、262、274、280、292、298、310、316、328、334、346、352、364及370組成之群之胺基酸序列，或與SEQ ID NO: 4、10、22、28、40、46、58、64、76、82、94、100、112、118、130、136、148、154、166、172、184、190、202、208、220、226、238、244、256、262、274、280、292、298、310、316、328、334、346、352、364及370相比，具有一個、兩個、三個、四個或五個胺基酸取代、缺失或添加之胺基酸序列；VL CDR1區，其具有選自由SEQ ID NO: 5、11、23、29、41、47、59、65、77、83、95、101、113、119、131、137、149、155、167、173、185、191、203、209、221、227、239、245、257、263、275、281、293、299、311、317、329、335、347、353、365及371組成之群之胺基酸序列，或與SEQ ID NO: 5、11、23、29、41、47、59、65、77、83、95、101、113、119、131、137、149、155、167、173、185、191、203、209、221、227、239、245、257、263、275、281、293、299、311、317、329、335、347、353、365及371相比，具有一個、兩個、三個、四個或五個胺基酸取代、缺失或添加之胺基酸序列；VL CDR2區，其具有選自由SEQ ID NO: 6、12、24、30、42、48、60、66、78、

84、96、102、114、120、132、138、150、156、168、174、186、192、204、210、222、228、240、246、258、264、276、282、294、300、312、318、330、336、348、354、366及372組成之群之胺基酸序列，或與SEQ ID NO: 6、12、24、30、42、48、60、66、78、84、96、102、114、120、132、138、150、156、168、174、186、192、204、210、222、228、240、246、258、264、276、282、294、300、312、318、330、336、348、354、366及372相比，具有一個、兩個、三個、四個或五個胺基酸取代、缺失或添加之胺基酸序列；及VL CDR3區，其具有選自由SEQ ID NO: 7、13、25、31、43、49、61、67、79、85、97、103、115、121、135、139、139、151、157、169、175、187、193、205、211、223、229、241、247、259、265、277、283、295、301、313、319、331、337、349、355、367及373組成之群之胺基酸序列，或與SEQ ID NO: 7、13、25、31、43、49、61、67、79、85、97、103、115、121、135、139、139、151、157、169、175、187、193、205、211、223、229、241、247、259、265、277、283、295、301、313、319、331、337、349、355、367及373相比，具有一個、兩個、三個、四個或五個胺基酸取代、缺失或添加之胺基酸序列。

抗體片段移植至替代構架或骨架中

可採用多種抗體/免疫球蛋白構架或骨架，只要所得多肽包括至少一個特異性結合於HER3之結合區即可。該等

構架或骨架包括人類免疫球蛋白之5個主要個體基因型或其片段，且包括其他動物物種之免疫球蛋白，較佳具有人類化態樣。新穎構架、骨架及片段由熟習此項技術者繼續發現及發展。

在一個態樣中，本發明係關於使用本發明之CDR可移植至之非免疫球蛋白骨架產生基於非免疫球蛋白之抗體。可採用已知或將來非免疫球蛋白構架及骨架，只要其包含對標靶HER3蛋白(例如人類及/或食蟹獼猴HER3)具有特異性之結合區。已知之非免疫球蛋白構架或骨架包括(但不限於)纖維結合蛋白(Compound Therapeutics, Inc., Waltham, MA)、錨蛋白(Molecular Partners AG, Zurich, Switzerland)、域抗體(Domantis, Ltd., Cambridge, MA及Ablynx nv, Zwijnaarde, Belgium)、脂質運載蛋白(Pieris Proteolab AG, Freising, Germany)、小模塊免疫藥劑(Trubion Pharmaceuticals Inc., Seattle, WA)、最大抗體(Avidia, Inc., Mountain View, CA)、蛋白A(Affibody AG, Sweden)及親和配體分子(affilin)(γ -晶狀體球蛋白或泛素)(Scil Proteins GmbH, Halle, Germany)。

纖維結合蛋白骨架係基於纖維結合蛋白III型域(例如纖維結合蛋白III型之第十模組(¹⁰ Fn3域))。纖維結合蛋白III型域具有7或8個 β 股，該等股分佈在兩個 β 片之間，該等 β 片自身相對於彼此壓緊，形成蛋白質之核心，且進一步含有將該等 β 股彼此連接且暴露於溶劑之環(類似於CDR)。在 β 片夾層每一邊緣存在至少三個該等環，其中邊緣為垂直

於 β 股方向之蛋白質邊界(參見US6,818,418)。此等基於纖維結合蛋白之骨架並非免疫球蛋白，不過總體摺疊與包含駱駝及美洲駝IgG中整個抗原識別單元之最小功能抗體片段重鏈可變區之摺疊密切相關。因為此結構，所以非免疫球蛋白抗體模擬性質及親和力類似於抗體之抗原結合性質。此等骨架可用於類似於活體內抗體親和力成熟過程之活體外環隨機化及改組策略。此等基於纖維結合蛋白之分子可用作骨架，其中分子之環區可使用標準選殖技術經本發明之CDR置換。

錨蛋白技術係基於使用具有錨蛋白衍生之重複模組作為承載可用於結合於不同標靶之可變區之骨架的蛋白質。錨蛋白重複模組為由兩個反平行 α -螺旋及 β -轉角組成之33胺基酸多肽。可變區之結合主要藉由使用核糖體呈現最佳化。

高親和性多聚體來源於含有天然A-域之蛋白質，諸如HER3。此等域天生用於蛋白質-蛋白質相互作用，且在人類中，超過250種蛋白質在結構上基於A-域。高親和性多聚體由大量不同的「A-域」單體(2-10)經由胺基酸連接子連接組成。可使用例如美國專利申請公開案第20040175756號、第20050053973號、第20050048512號及第20060008844號中描述之方法產生可結合於標靶抗原之高親和性多聚體。

親和抗體親和力配位體為小的簡單蛋白質，其由三個螺旋束基於蛋白A之IgG結合域之一的骨架構成。蛋白A為來

自細菌金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 之表面蛋白質。此骨架域由 58 個胺基酸組成，其中 13 個隨機化，產生具有許多配位體變異體之親和抗體文庫 (參見例如 US 5,831,012)。親和抗體分子模擬抗體，與 150 kDa 之抗體分子量比較，其具有 6 kDa 之分子量。儘管其尺寸小，但親和抗體分子之結合位點類似於抗體。

抗轉運蛋白為 Pieris ProteoLab AG 公司研發之產品。其衍生自脂質運載蛋白，脂質運載蛋白為一組分佈廣泛之小而穩固的蛋白質，通常參與化學敏感或不溶化合物之生理運輸或儲存。若干天然脂質運載蛋白存在於人類組織或體液中。蛋白質構造使人想起免疫球蛋白，其中高變環在剛性構架之上。然而，與抗體或其重組片段形成對比，脂質運載蛋白由具有 160 至 180 個胺基酸殘基之單一多肽鏈構成，僅僅在邊緣比單一免疫球蛋白域大。構成結合袋之四環組顯示顯著的結構可塑性且耐受多種側鏈。因此結合位點可在專用過程中重塑，以識別具有高親和力及特異性之不同形狀之規定標靶分子。脂質運載蛋白家族之一種蛋白質大菜粉蛾 (*Pieris Brassicae*) 之膽汁三烯結合蛋白 (BBP) 已用以藉由誘變四環組來發展抗轉運蛋白。描述抗轉運蛋白之專利申請案之一個實例在 PCT 公開案第 WO 199916873 號中。

親和配體分子為小的非免疫球蛋白，其設計成對蛋白質及小分子具有特定親和力。新的親和配體分子可非常快速地選自兩個文庫，每一文庫係基於不同的人類來源骨架蛋

白。親和配體分子未顯示與免疫球蛋白之任何結構同源性。目前，採用兩種親和配體分子骨架，其中一者為 γ 晶體(一種人類結構眼晶狀體蛋白)且另一者為「泛素」超家族蛋白。兩種人類骨架非常小，顯示高溫穩定性，且對pH變化及變性劑之抗性近似。此高穩定性主要歸因於蛋白質展開之 β 片結構。 γ 晶體衍生蛋白之實例描述於WO 200104144中且「泛素樣」蛋白之實例描述於WO 2004106368中。

蛋白抗原決定基模擬物(PEM)為中等尺寸之環狀肽樣分子(MW 1-2 kDa)，其模擬蛋白質之 β -髮夾二級結構(參與蛋白質-蛋白質相互作用之主要二級結構)。

在一些實施例中，Fab藉由變化Fc區而轉變成沉默IgG1格式。舉例而言，表1中之抗體可轉變成IgG格式。

人類或人類化抗體

本發明提供特異性結合於HER3蛋白(例如人類及/或食蟹獼猴/小鼠/大鼠HER3)之完全人類抗體。與嵌合或人類化抗體比較，本發明之人類HER3結合抗體在投與人類個體時具有進一步降低之抗原性。

人類HER3結合抗體可使用此項技術中已知之方法產生。舉例而言，人類工程改造技術用以將非人類抗體轉變成經工程改造之人類抗體。美國專利公開案第20050008625號描述一種活體內方法，該方法將抗體中非人類抗體可變區用人類可變區置換，同時維持與非人類抗體相同之結合特徵或提供比非人類抗體更佳之結合特徵。

該方法依賴於抗原決定基指導之完全人類抗體置換非人類參考抗體之可變區。所得人類抗體一般在結構上與參考非人類抗體無關，但結合於與參考抗體相同之抗原上的相同抗原決定基。簡言之，該連續抗原決定基指導之互補置換方法藉由在細胞中在對測試抗體結合於抗原起反應之報導系統存在下在「競爭者」與參考抗體（「測試抗體」）各種雜合物之文庫之間建立對有限量之抗原的競爭來啟動。競爭者可為參考抗體或其衍生物，諸如單鏈Fv片段。競爭者亦可為天然或人工抗原配位體，其結合於與參考抗體相同之抗原決定基。競爭者之唯一必要條件為其結合於與參考抗體相同之抗原決定基，且其與參考抗體競爭結合抗原。測試抗體具有一個來自非人類參考抗體之共有抗原結合V-區，且另一個V-區隨機選自各種來源，諸如人類抗體之全部文庫。來自參考抗體之共有V-區充當向導，將測試抗體置於抗原之相同抗原決定基上且置於相同取向上，以便選擇對參考抗體之最高抗原結合保真度。

許多類型報導系統可用於偵測測試抗體與抗原之間的所需相互作用。舉例而言，互補報導片段可分別連接於抗原及測試抗體，以便藉由片段互補之報導體活化僅在測試抗體結合於抗原時發生。當測試抗體-報導片段及抗原-報導片段融合物與競爭者共表現時，報導體活化視測試抗體與競爭者競爭之能力而定，該能力與測試抗體對抗原之親和力成比例。可使用之其他報導系統包括如美國專利申請案第10/208,730號（公開案第20030198971號）中揭示之自體抑

制報導再活化系統之再活化劑(RAIR)，或美國專利申請案第10/076,845號(公開案第20030157579號)中揭示之競爭活化系統。

在連續抗原決定基指導之互補置換系統下，選擇鑑別表現單一測試抗體以及競爭者、抗原及報導組分之細胞。在此等細胞中，每一測試抗體一對一地與競爭者競爭結合於有限量之抗原。報導體之活性與結合於測試抗體之抗原之量成比例，該抗原之量又與測試抗體對抗原之親和力及測試抗體之穩定性成比例。測試抗體最初基於其在表現為測試抗體時相對於參考抗體之活性選擇。第一輪選擇之結果為一組「雜合」抗體，其每一者均包含來自參考抗體之相同非人類V-區及來自文庫之人類V-區，且每一者均結合於抗原上與參考抗體相同之抗原決定基。在第一輪中選擇之一或多種雜合抗體將具有與參考抗體可比或高於參考抗體之親和力。

在第二V-區置換步驟中，第一步驟中選擇之人類V-區用作選擇用同源人類V-區之各種文庫對剩餘非人類參考抗體V-區進行人類置換的指導。第一輪中選擇之雜合抗體亦可用作第二輪選擇之競爭者。第二輪選擇之結果為一組完全人類抗體，其在結構上不同於參考抗體，但與參考抗體競爭結合於相同抗原。一些所選人類抗體結合於與參考抗體相同之抗原上的相同抗原決定基。在此等所選人類抗體中，一或多者以可與參考抗體相比或高於參考抗體之親和力結合於相同抗原決定基。

使用上述小鼠或嵌合HER3結合抗體之一者作為參考抗體，此方法可容易用以產生以相同結合特異性及相同或更佳結合親和力結合於人類HER3之人類抗體。另外，該等人類HER3結合抗體亦可自通常製造人類抗體之公司(例如 KaloBios, Inc.(Mountain View, CA))購得。

駱駝科抗體

自駱駝及單峰駱駝(雙峰駝(*Camelus bactrianus*)及單峰駝(*Camelus dromaderius*))家族成員(包括新世界成員，諸如美洲駝物種(羊駝(*Lama paccos*)、大羊駝(*Lama glama*)及瘦駝(*Lama vicugna*)))獲得之抗體蛋白已關於尺寸、結構複雜性及對人類個體之抗原性進行表徵。發現來自哺乳動物此家族之某些IgG抗體實際上缺乏輕鏈，因此在結構上與來自其他動物之抗體的具有兩個重鏈及兩個輕鏈之典型四鏈四級結構不同。參見PCT/EP93/02214 (WO 94/04678，1994年3月3日公開)。

作為鑑別為VHH之小單可變域的駱駝科抗體區可藉由遺傳工程改造獲得，得到對標靶具有高親和力之小蛋白質，產生稱為「駱駝科奈米抗體」之低分子量抗體衍生蛋白。參見1998年6月2日頒予之美國專利第5,759,808號；亦參見Stijlemans等人，(2004) *J Biol Chem* 279:1256-1261；Dumoulin等人，(2003) *Nature* 424:783-788；Pleschberger等人，(2003) *Bioconjugate Chem* 14:440-448；Cortez-Retamozo等人，(2002) *Int J Cancer* 89:456-62；及Lauwereys等人，(1998) *EMBO J* 17:3512-3520。駱駝科抗

體及抗體片段之工程改造之文庫可購自例如 Ablynx (Ghent, Belgium)(例如 US 20060115470)、Domantis (US 20070065440、US 20090148434)。如同其他非人類來源抗體一樣，駱駝科抗體之胺基酸序列可重組改變，獲得與人類序列更類似之序列，亦即奈米抗體可「人類化」。因此，駱駝科抗體對人類之天然低抗原性可進一步降低。

駱駝科奈米抗體之分子量約為人類IgG分子之十分之一，且該蛋白質具有僅幾奈米之物理直徑。小尺寸之一個結果為駱駝科奈米抗體能夠結合於較大抗體蛋白在功能上看不見之抗原位點，亦即駱駝科奈米抗體適用作偵測使用經典免疫技術以其他方式隱藏之抗原的試劑及用作可能治療劑。因此，小尺寸之又一個結果為駱駝科奈米抗體可因結合於標靶蛋白質之凹槽或狹窄裂縫中之特異性位點而抑制，由此可提供比經典抗體更類似於經典低分子量藥物之功能的能力。

低分子量及緊湊尺寸進一步使駱駝科奈米抗體極其熱穩定，對極度pH值及蛋白水解消化穩定，且抗原性低。另一個結果為駱駝科奈米抗體容易自循環系統移入組織中，且甚至穿過血腦障壁且可治療影響神經組織之病症。奈米抗體可進一步促進藥物運輸穿過血腦障壁。參見2004年8月19日公開之美國專利申請案20040161738。此等特徵與對人類之低抗原性組合指示巨大的治療潛能。此外，此等分子可在諸如大腸桿菌之原核細胞中完全表現，且使用噬菌體表現為融合蛋白並具有功能性。

因此，本發明之一特徵為對HER3具有高親和力之駱駝科抗體或奈米抗體。在本文中之某些實施例中，駱駝科抗體或奈米抗體在駱駝科動物中天然產生，亦即使用本文中關於其他抗體所述之技術，藉由駱駝科在用HER3或其肽片段免疫接種後產生。或者，HER3結合駱駝科奈米抗體進行工程改造，亦即如本文中之實例中所描述，藉由使用淘選程序，以HER3為標靶，例如自噬菌體呈現適當誘變之駱駝科奈米抗體蛋白質的文庫選擇而產生。工程改造之奈米抗體可進一步藉由遺傳工程改造來定製，以在接受個體中具有45分鐘至2週之半衰期。在一特定實施例中，駱駝科抗體或奈米抗體藉由將本發明之人類抗體之重鏈或輕鏈的CDR序列移植至奈米抗體或單域抗體構架序列中，如例如PCT/EP93/02214中所述來獲得。在一個實施例中，駱駝科抗體或奈米抗體結合於以下HER3殘基中之至少一者：Asn266、Lys267、Leu268、Thr269、Gln271、Glu273、Pro274、Asn275、Pro276、His277、Asn315、Asp571、Pro583、His584、Ala596、Lys597。在一個實施例中，駱駝科抗體或奈米抗體結合於以下HER3殘基中之至少一者：Tyr265、Lys267、Leu268、Phe270、Gly582、Pro583、Lys597、Ile600、Lys602、Glu609、Arg611、Pro612、Cys613、His614、Glu615。

雙特異性分子及多價抗體

在另一個態樣中，本發明係關於包含本發明之HER3結合抗體或其片段的雙互補位、雙特異性或多特異性分子。

本發明之抗體或其片段可衍生化或連接於另一官能分子，例如另一肽或蛋白質(例如受體之另一抗體或配位體)，產生結合於至少兩個不同結合位點或標靶分子之雙特異性分子。本發明之抗體事實上可衍生化或連接於一個以上其他官能分子，產生結合於兩個以上不同結合位點及/或標靶分子之雙互補位或多特異性分子；該等雙互補位或多特異性分子。為產生本發明之雙特異性分子，本發明之抗體可在功能上連接(例如藉由化學偶合、基因融合、非共價締合或以其他方式)於一或多種其他結合分子，諸如另一抗體、抗體片段、肽或結合模擬物，從而得到雙特異性分子。

其他臨床益處可藉由在一個抗體內結合兩個或兩個以上抗原來提供 (Coloma 等人，(1997)；Merchant 等人，(1998)；Alt 等人，(1999)；Zuo 等人，(2000)；Lu 等人，(2004)；Lu 等人，(2005)；Marvin 等人，(2005)；Marvin 等人，(2006)；Shen 等人，(2007)；Wu 等人，(2007)；Dimasi 等人，(2009)；Michaelson 等人，(2009))。(Morrison 等人，(1997) Nature Biotech. 15:159-163；Alt 等人(1999) FEBS Letters 454:90-94；Zuo 等人，(2000) Protein Engineering 13:361-367；Lu 等人，(2004) JBC 279:2856-2865；Lu 等人，(2005) JBC 280:19665-19672；Marvin 等人，(2005) Acta Pharmacologica Sinica 26:649-658；Marvin 等人，(2006) Curr Opin Drug Disc Develop 9:184-193；Shen 等人，(2007) J Immun Methods 218:65-74；Wu

等人，(2007) Nat Biotechnol. 11:1290-1297；Dimasi 等人，(2009) J Mol Biol. 393:672-692；及 Michaelson 等人，(2009) mAbs 1:128-141)。

本發明之雙特異性分子可藉由使用此項技術中已知之方法結合成成分結合特異性來製備。舉例而言，雙特異性分子之每一結合特異性可分別產生，接著彼此結合。當結合特異性為蛋白質或肽時，可使用多種偶合或交聯劑進行共價結合。交聯劑之實例包括蛋白 A、碳化二亞胺、N-丁二醯亞胺基-S-乙醯基-硫代乙酸酯(SATA)、5,5'-二硫基雙(2-硝基苯甲酸)(DTNB)、鄰伸苯基二順丁烯二醯亞胺(oPDM)、N-丁二醯亞胺基-3-(2-吡啶基二硫基)丙酸酯(SPDP)及磺酸基丁二醯亞胺基4-(N-順丁烯二醯亞胺基甲基)環己烷-1-甲酸酯(磺酸基-SMCC)(參見例如 Karpovsky 等人，(1984) J. Exp. Med. 160:1686；Liu 等人，(1985) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:8648)。其他方法包括以下中描述者：Paulus (1985) Behring Ins. Mitt. No. 78:118-132；Brennan 等人，(1985) Science 229:81-83；及 Glennie 等人，(1987) J. Immunol. 139:2367-2375。結合劑為 SATA 及磺酸基-SMCC，兩者均可自 Pierce Chemical Co. (Rockford, IL) 獲得。

當結合特異性為抗體時，其可藉由兩個重鏈之C端鉸鏈區進行硫氫基鍵結來結合。在一特定實施例中，鉸鏈區經修飾，以在結合前含有奇數個硫氫基殘基，例如一個。

或者，兩種結合特異性可編碼於相同載體中且在相同宿

主細胞中表現及組裝。此方法尤其適用於雙特異性分子為 $\text{mAb} \times \text{mAb}$ 、 $\text{mAb} \times \text{Fab}$ 、 $\text{Fab} \times \text{F(ab')}_2$ 或配位體 $\times \text{Fab}$ 融合蛋白之情況。本發明之雙特異性分子可為包含一個單鏈抗體及結合決定子之單鏈分子或包含兩個結合決定子之單鏈雙特異性分子。雙特異性分子可包含至少兩個單鏈分子。用於製備雙特異性分子之方法例如描述於以下中：美國專利第 5,260,203 號；美國專利第 5,455,030 號；美國專利第 4,881,175 號；美國專利第 5,132,405 號；美國專利第 5,091,513 號；美國專利第 5,476,786 號；美國專利第 5,013,653 號；美國專利第 5,258,498 號及美國專利第 5,482,858 號。

雙特異性分子結合於其特定標靶可藉由例如酶聯免疫吸附分析 (ELISA)、放射免疫分析 (REA)、FACS 分析、生物分析 (例如生長抑制) 或西方墨點分析來確認。此等分析每一者一般藉由採用對特別相關之蛋白質-抗體複合物具有特異性之標記試劑 (例如抗體) 偵測相關複合物之存在。

在另一個態樣中，本發明提供包含結合於 HER3 之本發明抗體之至少兩個一致或不同片段的多價化合物。抗體片段可經由蛋白質融合或共價或非共價連接來連接在一起。四價化合物可例如藉由將本發明之抗體與結合於本發明抗體之恆定區 (例如 Fc 或鉸鏈區) 之抗體交聯來獲得。三聚化域描述於例如 Boreau 專利 EP 1012280B1 中。五聚化模組描述於例如 PCT/EP97/05897 中。

在一個實施例中，雙互補位/雙特異性結合於 HER3 之域

2及域4內的胺基酸殘基。

在另一個實施例中，本發明係關於雙重功能抗體，其中單一單株抗體經修飾，使得抗原結合位點結合於一種以上抗原，諸如結合HER3與另一抗原(例如HER1、HER2及HER4)之雙重功能抗體。在另一個實施例中，本發明係關於靶向具有相同構形之抗原，例如具有處於「閉合」或「不活化」狀態之HER3之相同構形的抗原之雙重功能抗體。具有處於「閉合」或「不活化」狀態之HER3之相同構形的抗原之實例包括(但不限於) HER1及HER4。因此，雙重功能抗體可結合於HER3與HER1，HER3與HER4，或HER1與HER4。雙重功能抗體之雙重結合特異性可進一步轉化為雙重活性或活性抑制(參見例如 Jenny Bostrom 等人，(2009) Science: 323; 1610-1614)。

半衰期延長之抗體

本發明提供活體內半衰期延長之特異性結合於HER3蛋白之抗體。

許多因素可影響蛋白質之活體內半衰期。例如腎過濾、肝中代謝、蛋白水解酶(蛋白酶)降解及免疫原反應(例如藉由抗體中和蛋白質及藉由巨噬細胞及樹突狀細胞吸收)。多種策略可用於延長本發明抗體之半衰期。舉例而言，藉由化學連接於聚乙二醇(PEG)、reCODE PEG、抗體骨架、聚唾液酸(PSA)、羥乙基澱粉(HES)、白蛋白結合配位體及碳水化合物遮罩；藉由基因融合於結合於血清蛋白之蛋白，諸如白蛋白、IgG、FcRn，及轉移；藉由偶合(基因上

或化學上)於結合於血清蛋白之其他結合部分，諸如奈米抗體、Fab、DARPin、高親和性多聚體、親和抗體及抗轉運蛋白；藉由基因融合於rPEG、白蛋白、白蛋白域、白蛋白結合蛋白及Fc；或藉由併入奈米運載體、緩釋調配物或醫學裝置。

為延長活體內抗體之血清循環，諸如高分子量PEG之惰性聚合物分子可在有或無多功能連接子下經由PEG位點特异性結合於抗體之N端或C端或者經由離胺酸殘基上存在之 ϵ -胺基來連接於抗體或其片段。為將抗體聚乙二醇化，抗體或其片段通常與聚乙二醇(PEG)(諸如PEG之反應性酯或醛衍生物)在使一或多個PEG基團連接於抗體或抗體片段之條件下反應。聚乙二醇化可藉由與反應性PEG分子(或類似反應性水溶性聚合物)之醯化反應或烷基化反應進行。如本文所用，術語「聚乙二醇」意欲涵蓋已用以衍生其他蛋白質之任何形式PEG，諸如單(C1-C10)烷氧基-或芳氧基-聚乙二醇或聚乙二醇-順丁烯二醯亞胺。在某些實施例中，待聚乙二醇化之抗體為非糖基化抗體。將使用線性或分支聚合物衍生，其使生物活性損失最小。結合度可藉由SDS-PAGE及質譜分析密切監測，以確保PEG分子恰當地結合於抗體。未反應之PEG可藉由尺寸排除或藉由離子交換層析與抗體-PEG結合物分離。可使用熟習此項技術者熟知之方法，例如藉由本文中描述之免疫分析，測試PEG衍生之抗體的結合活性以及活體內功效。用於聚乙二醇化蛋白質之方法為此項技術中已知且可應用於本發明之抗體。

參見例如Nishimura等人之EP 0 154 316及Ishikawa等人EP 0 401 384。

其他修飾之聚乙二醇化技術包括重構化學正交定向工程改造技術(ReCODE PEG)，其經由包括tRNA合成酶及tRNA之重構系統將化學指定側鏈併入生物合成蛋白中。此技術能夠在大腸桿菌、酵母及哺乳動物細胞中將超過30種新胺基酸併入生物合成蛋白中。tRNA將外來胺基酸併入琥珀密碼子所位於之任何地方，將來自終止密碼子之琥珀轉變成為示意化學指定胺基酸併入之密碼子。

重組聚乙二醇化技術(rPEG)亦可用於延長血清半衰期。此技術包含將300-600胺基酸未結構化蛋白質尾基因稠合於已存在之醫藥蛋白質。因為此類未結構化蛋白質鏈之表觀分子量約為其實際分子量的15倍，所以該蛋白質之血清半衰期大大增加。與需要化學結合及再純化之傳統聚乙二醇化相比，該製造過程大大簡化且產物均一。

聚唾液酸化為另一技術，其使用天然聚合物聚唾液酸(PSA)來延長有效壽命且提高治療肽及蛋白質之穩定性。PSA為唾液酸(一種糖)之聚合物。當用於蛋白質及治療肽藥物遞送時，聚唾液酸提供對結合之保護微環境。此增加治療蛋白質在循環中之有效壽命，且阻止其被免疫系統識別。PSA聚合物在人體中天然發現。其為進化數百萬年以上之某些細菌所採用，用其來塗佈其壁。此等天然聚唾液酸化細菌接著能夠依靠分子模擬來擋開身體的防禦系統。PSA為天然的最終隱形技術，可容易由大量且具有預定物

理性質之該等細菌產生。即使與蛋白質偶合時，細菌PSA亦完全無免疫原性，因為其與人體中之PSA化學一致。

另一技術包括使用連接於抗體之羥乙基澱粉(「HES」)衍生物。HES為來源於糯玉米澱粉之經修飾天然聚合物且可藉由身體酶代謝。通常投與HES溶液以取代不足血容量且提高血液之流變性質。抗體羥乙基澱粉化能夠藉由提高分子穩定性以及藉由降低腎清除率來延長循環半衰期，從而提高生物活性。藉由改變不同參數，諸如HES之分子量，可定製各類HES抗體結合物。

活體內半衰期增加之抗體亦可藉由將一或多個胺基酸修飾(亦即取代、插入或缺失)引入IgG恆定域或其FcRn結合片段(較佳Fc或鉸鏈Fc域片段)中產生。參見例如國際公開案第WO 98/23289號；國際公開案第WO 97/34631號；及美國專利第6,277,375號。

此外，抗體可結合於白蛋白，以製造在活體內更穩定或在活體內具有更長半衰期之抗體或抗體片段。該等技術為此項技術中熟知，參見例如國際公開案第WO 93/15199號、第WO 93/15200號及第WO 01/77137號；及歐洲專利第EP 413,622號。

HER3抗體或其片段亦可稠合於一或多種人類血清白蛋白(HSA)多肽或其一部分。HSA為一種呈其成熟形式之具有585個胺基酸之蛋白質，負責較大比例之血清滲透壓以及用作內源性及外源性配位體之運載體。白蛋白作為運載分子之作用及其惰性為用作活體內多肽之運載體及轉運體

所需的性質。白蛋白用作作為各種蛋白質之運載體之白蛋白融合蛋白的組分已在WO 93/15199、WO 93/15200及EP 413 622中提出。亦已提出使用HSA之N端片段與多肽融合(EP 399 666)。因此，藉由抗體或其片段在基因或化學上稠合或結合於白蛋白，可穩定或延長存放期，及/或保留分子在溶液中、活體外及/或活體內活性更長時間。

白蛋白融合於另一蛋白質可藉由基因操作來實現，使得編碼HSA或其片段之DNA接合於編碼蛋白質之DNA。接著適合宿主用稠合之核苷酸序列轉型或轉染，所以排列在適合質體上以表現融合多肽。表現可自例如原核或真核細胞活體外實現，或例如自轉殖基因生物體活體內實現。關於HSA融合之其他方法可見於例如WO 2001077137及WO 200306007(以引用的方式併入本文中)中。在一特定實施例中，融合蛋白質之表現在例如CHO細胞株之哺乳動物細胞株中進行。在低或高pH下抗體與受體改變之差分結合亦涵蓋於本發明範疇內。舉例而言，抗體之親和力可藉由修飾抗體以在抗體之CDR中包括其他胺基酸(諸如組胺酸)來修飾，使得其在低pH(例如溶酶體內之低pH)下仍結合於其受體(參見例如Tomoyuki Igawa等人(2010) Nature Biotechnology; 28, 1203-1207)。

抗體結合物

本發明提供特異性結合於HER3蛋白之抗體或其片段，其重組稠合或化學結合(包括共價與非共價結合)於異源蛋白或多肽(或其片段，較佳為具有至少10個、至少20個、

至少30個、至少40個、至少50個、至少60個、至少70個、至少80個、至少90個或至少100個胺基酸之多肽)，產生融合蛋白。詳言之，本發明提供包含本文所述之抗體片段(例如Fab片段、Fd片段、Fv片段、F(ab)2片段、VH域、VH CDR、VL域或VL CDR)與異源蛋白、多肽或肽之融合蛋白。用於將蛋白質、多肽或肽稠合或結合於抗體或抗體片段之方法為此項技術中已知。參見例如美國專利第5,336,603號、第5,622,929號、第5,359,046號、第5,349,053號、第5,447,851號及第5,112,946號；歐洲專利第EP 307,434號及第EP 367,166號；國際公開案第WO 96/04388號及第WO 91/06570號；Ashkenazi等人，(1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:10535-10539；Zheng等人，(1995) J. Immunol. 154:5590-5600；及Vil等人，(1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:11337- 11341。

其他融合蛋白可經由基因改組、基元改組、外顯子改組及/或密碼子改組(統一稱為「DNA改組」)之技術產生。DNA改組可用以改變本發明抗體或其片段(例如具有較高親和力及較低解離速率之抗體或其片段)之活性。一般參見美國專利第5,605,793號、第5,811,238號、第5,830,721號、第5,834,252號及第號5,837,458；Patten等人，(1997) Curr. Opinion Biotechnol. 8:724-33；Harayama，(1998) Trends Biotechnol. 16(2):76-82；Hansson等人，(1999) J. Mol. Biol. 287:265-76；及Lorenzo及Blasco，(1998) Biotechniques 24(2):308- 313 (此等專利及公開案每一者均

以全文引用的方式併入本文中)。抗體或其片段或編碼抗體或其片段可藉由在重組前用易錯PCR隨機突變誘發、隨機核苷酸插入或其他方法來改變。編碼特異性結合於HER3蛋白之抗體或其片段的聚核苷酸可與一或多種異源分子之一或多種組分、基元、區域、部分、域、片段等重組。

此外，抗體或其片段可稠合於標記物序列，諸如肽，以促進純化。在較佳實施例中，標記物胺基酸序列尤其為六組胺酸肽，諸如 pQE 載體 (QIAGEN, Inc., 9259 Eton Avenue, Chatsworth, CA, 91311) 中提供之標籤，其中多者可購得。如 Gentz 等人，(1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:821-824 中所述，例如六組胺酸便利融合蛋白之純化。適用於純化之其他肽標籤包括(但不限於)血球凝集素(「HA」)標籤，其對應於來源於流感血球凝集素蛋白之抗原決定基(Wilson *et al.*, (1984) Cell 37:767)；及「flag」標籤。

在其他實施例中，本發明之抗體或其片段結合於診斷或可偵測試劑。該等抗體可用於監測或預測疾病或病症之發作、發展、進展及/或嚴重程度作為臨床測試程序(諸如測定特定療法之功效)之一部分。該診斷及偵測可藉由抗體偶合於可偵測物質來實現，該等可偵測物質包括(但不限於)各種酶，諸如(但不限於)辣根過氧化酶、鹼性磷酸酶、 β -半乳糖苷酶或乙醯膽鹼酯酶；輔基，諸如(但不限於)抗生蛋白鏈菌素/生物素及親和素/生物素；螢光物質，諸如(但不限於)傘形酮、螢光素、異硫氰酸螢光素、若丹明

(rhodamine)、二氯三嗪基胺螢光素、丹磺醯氯或藻紅蛋白；發光物質，諸如(但不限於)魯米諾(luminol)；生物發光物質，諸如(但不限於)螢光素酶、螢蟲素及水母發光蛋白；放射性物質，諸如(但不限於)碘(^{131}I 、 ^{125}I 、 ^{123}I 及 ^{121}I)、碳(^{14}C)、硫(^{35}S)、氫(^3H)、銦(^{115}In 、 ^{113}In 、 ^{112}In 及 ^{111}In)、鐳(^{99}Tc)、鈦(^{201}Ti)、鎳(^{68}Ga 、 ^{67}Ga)、鈹(^{103}Pd)、鉬(^{99}Mo)、氙(^{133}Xe)、氟(^{18}F)、 ^{153}Sm 、 ^{177}Lu 、 ^{159}Gd 、 ^{149}Pm 、 ^{140}La 、 ^{175}Yb 、 ^{166}Ho 、 ^{90}Y 、 ^{47}Sc 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{142}Pr 、 ^{105}Rh 、 ^{97}Ru 、 ^{68}Ge 、 ^{57}Co 、 ^{65}Zn 、 ^{85}Sr 、 ^{32}P 、 ^{153}Gd 、 ^{169}Yb 、 ^{51}Cr 、 ^{54}Mn 、 ^{75}Se 、 ^{113}Sn 及 ^{117}Sn ；及使用各種正電子發射斷層攝影法之正電子發射金屬及非放射性順磁性金屬離子。

本發明進一步涵蓋抗體或其片段結合於治療部分之用途。抗體或其片段可結合於治療部分，諸如細胞毒素(例如細胞生長抑制劑或殺細胞劑)、治療劑或放射性金屬離子(例如 α -發射體)。細胞毒素或細胞毒性劑包括對細胞有害之任何藥劑。

此外，抗體或其片段可結合於修飾既定生物反應之治療部分或藥物部分。不認為治療部分或藥物部分限於經典化學治療劑。舉例而言，藥物部分可為具有所需生物活性之蛋白質、肽或多肽。該等蛋白質可包括例如毒素，諸如相思子毒素、蓖麻毒素A、假單胞菌外毒素、霍亂毒素或白喉毒素；蛋白質，諸如腫瘤壞死因子、 α -干擾素、 β -干擾素、神經生長因子、血小板衍生生長因子、組織血纖維蛋

白溶酶原活化劑、細胞凋亡劑、抗血管生成劑；或生物反應調節物，諸如淋巴因子。在一個實施例中，抗-HER3抗體或其片段結合於治療部分，諸如細胞毒素、藥物(例如免疫抑制劑)或放射性毒素。該等結合物在本文中稱為「免疫結合物」。包括一或多種細胞毒素之免疫結合物稱為「免疫毒素」。細胞毒素或細胞毒性劑包括對細胞有害(例如殺死細胞)之任何藥劑。實例包括坦克松(taxon)、細胞遲緩素B (cytochalasin B)、短桿菌肽D (gramicidin D)、溴化乙錠(ethidium bromide)、吐根鹼(emetine)、絲裂黴素(mitomycin)、依託泊苷(etoposide)、替尼泊苷(tenoposide)、長春新鹼(vincristine)、長春花鹼(vinblastine)、秋水仙鹼(t. colchicin)、小紅黴(doxorubicin)、道諾黴素(daunorubicin)、二羥基炭疽菌素二酮(dihydroxy anthracin dione)、米托蒽醌(mitoxantrone)、光神黴素(mithramycin)、放線菌素D (actinomycin D)、1-去氫睪固酮(1-dehydrotestosterone)、糖皮質激素(glucocorticoid)、普魯卡因(procaine)、丁卡因(tetracaine)、利多卡因(lidocaine)、普萘洛爾(propranolol)及嘌呤黴素(puromycin)及其類似物或同源物。治療劑亦包括例如抗代謝物(例如甲胺喋呤(methotrexate)、6-巰基嘌呤(6-mercaptopurine)、6-硫鳥嘌呤(6-thioguanine)、阿糖胞苷(cytarabine)、5-氟尿嘧啶達卡巴嗪(5-fluorouracil decarbazine))、燒蝕劑(例如氮芥(mechlorethamine)、噻替派(thioepa)、苯丁酸氮芥(chloraxnbucil)、美法侖

(meiphalan)、卡莫司汀(carmustine, BSNU)及洛莫司汀(lomustine, CCNU)、環磷醯胺(cyclophosphamide)、白消安(busulfan)、二溴甘露醇(dibromomannitol)、鏈脲佐菌素(streptozotocin)、絲裂黴素C(mitomycin C)及順式-二氯二胺鉑(cis-dichlorodiamine platinum)(II)(DDP)、順鉑(cisplatin)、蒽環黴素(anthracycline)(例如道諾黴素(以前為柔紅黴素(daunomycin))及小紅黴)、抗生素(例如放線菌素D(dactinomycin)(以前為放線菌素(actinomycin)))、博來黴素(bleomycin)、光神黴素(mithramycin)及安甦黴素(anthracycline, AMC)及抗有絲分裂劑(例如長春新鹼及長春花鹼)。(參見例如 Seattle Genetics US 20090304721)。

可結合於本發明抗體之治療細胞毒素之其他實例包括倍癌黴素(duocarmycin)、加里剎黴素(calicheamicin)、美登素(maytansine)及奧瑞斯汀(auristatin)及其衍生物。加里剎黴素抗體結合物之一實例可購得(MyloTarg™; Wyeth-Ayerst)。

細胞毒素可使用此項技術中可用之連接子技術結合於本發明之抗體。已用以將細胞毒素結合於抗體之連接子類型的實例包括(但不限於)含有胺、硫醚、酯、二硫化物及肽之連接子。可選擇例如易藉由溶酶體分隔內低pH值裂解或易藉由蛋白酶(優先在腫瘤組織中表現之蛋白酶, 諸如組織蛋白酶(例如組織蛋白酶B、C、D))裂解之連接子。

關於細胞毒素類型、連接子及治療劑結合於抗體之方法的進一步討論, 亦參見Saito等人, (2003) Adv. Drug Deliv.

Rev. 55:199-215 ; Trail 等人 , (2003) Cancer Immunol. Immunother. 52:328-337 ; Payne, (2003) Cancer Cell 3:207-212 ; Allen, (2002) Nat. Rev. Cancer 2:750-763 ; Pastan及 Kreitman, (2002) Curr. Opin. Investig. Drugs 3:1089-1091 ; Senter 及 Springer, (2001) Adv. Drug Deliv. Rev. 53:247-264 。

本發明之抗體亦可結合於放射性同位素，產生細胞毒性放射性藥物，亦稱為放射性免疫結合物。可結合於抗體用於診斷或治療用途之放射性同位素的實例包括(但不限於)碘¹³¹、銥¹¹¹、釷⁹⁰及鐳¹⁷⁷。此項技術中已建立製備放射性免疫結合物之方法。放射性免疫結合物之實例可購得，包括 ZevalinTM (DEC Pharmaceuticals) 及 BexxarTM (Corixa Pharmaceuticals)，且類似方法可用於使用本發明之抗體製備放射性免疫結合物。在某些實施例中，大環螯合劑為 1,4,7,10-四氮雜環十二烷-N,N',N'',N'''-四乙酸(DOTA)，其可經由連接分子附接於抗體。該等連接分子通常在此項技術中已知且描述於以下中：Denardo 等人，(1998) Clin Cancer Res. 4(10):2483-90；Peterson 等人，(1999) Bioconjug. Chem. 10(4):553-7；及 Zimmerman 等人，(1999) Nucl. Med. Biol. 26(8):943-50，各以全文引用的方式併入本文中。

用於將治療部分結合於抗體之技術為大家所熟知，參見例如 Arnon 等人，「Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy」，

Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy Reisfeld 等人 (編輯), 第 243-56 頁 (Alan R. Liss, Inc. 1985); Hellstrom 等人, 「Antibodies For Drug Delivery」, Controlled Drug Delivery (第 2 版), Robinson 等人 (編輯), 第 623-53 頁 (Marcel Dekker, Inc. 1987); Thorpe, 「Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review」, Monoclonal Antibodies 84:Biological And Clinical Applications, Pinchera 等人 (編輯), 第 475-506 頁 (1985); 「Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy」, Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy, Baldwin 等人 (編輯), 第 303-16 頁 (Academic Press 1985) 及 Thorpe 等人, (1982) Immunol. Rev. 62:119-58。

抗體亦可附接於固體支撐物, 其尤其適用於免疫分析或純化標靶抗原。該等固體支撐物包括(但不限於)玻璃、纖維素、聚丙稀醯胺、耐綸(nylon)、聚苯乙烯、聚氯乙稀或聚丙稀。

抗體組合

在另一個態樣中, 本發明係關於本發明之HER3抗體或其片段, 其與諸如其他抗體、小分子抑制劑、mTOR抑制劑或PI3激酶抑制劑之其他治療劑一起使用。實例包括(但不限於)以下:

HER1抑制劑: HER3抗體或其片段可與HER1抑制劑一起

使用，包括(但不限於)馬妥珠單抗(EMD72000)、Erbitux®/西妥昔單抗(Imclone)、Vectibix®/帕尼單抗(Amgen)、mAb 806及尼妥珠單抗(TheraCIM)、Iressa®/吉非替尼(Astrazeneca)；CI-1033 (PD183805)(Pfizer)、拉帕替尼(GW-572016)(GlaxoSmithKline)、Tykerb®/二甲苯磺酸拉帕替尼(SmithKlineBeecham)、Tarceva®/鹽酸厄羅替尼(OSI-774)(OSI Pharma))及PKI-166 (Novartis)及N-[4-[(3-氯-4-氟苯基)胺基]-7-[[[(3''S')-四氫-3-呋喃基]氧基]-6-噻唑啉基]-4-(二甲基胺基)-2-丁烯醯胺(在商標名Tovok®下由Boehringer Ingelheim出售)。

HER2抑制劑：HER3抗體或其片段可與HER2抑制劑一起使用，包括(但不限於)帕妥珠單抗(在商標Omnitarg®下由Genentech出售)、曲妥珠單抗(在商標Herceptin®下由Genentech/Roche出售)、MM-111、來那替尼(亦稱HKI-272，(2E)-N-[4-[[[3-氯-4-[(吡啶-2-基)甲氧基]苯基]胺基]-3-氟基-7-乙氧基噻啉-6-基]-4-(二甲基胺基)丁-2-烯醯胺，且描述於PCT公開案第WO 05/028443號中)、拉帕替尼或二甲苯磺酸拉帕替尼(在商標Tykerb®下由GlaxoSmithKline出售)。

HER3抑制劑：HER3抗體或其片段可與HER3抑制劑一起使用，包括(但不限於)MM-121、MM-111、IB4C3、2DID12 (U3 Pharma AG)、AMG888 (Amgen)、AV-203 (Aveo)、MEHD7945A (Genentech)及抑制HER3之小分子。

HER4抑制劑：HER3抗體或其片段可與HER4抑制劑一起

使用。

PI3K 抑制劑：HER3 抗體或其片段可與 PI3 激酶抑制劑一起使用，包括(但不限於) 4-[2-(1H-吡啶-4-基)-6-[[4-(甲基磺醯基)哌嗪-1-基]甲基]噻吩并[3,2-d]嘧啶-4-基]嗎啉(亦稱 GDC 0941 且描述於 PCT 公開案第 WO 09/036082 號及第 WO 09/055730 號)、2-甲基-2-[4-[3-甲基-2-側氧基-8-(喹啉-3-基)-2,3-二氫咪唑并[4,5-c]喹啉-1-基]苯基]丙腈(亦稱 BEZ 235 或 NVP-BEZ 235 且描述於 PCT 公開案第 WO 06/122806 號)、BMK120 及 BYL719。

mTOR 抑制劑：HER3 抗體或其片段可與 mTOR 抑制劑一起使用，包括(但不限於)西羅莫司(在商標名 Torisel® 下由 Pfizer 出售)、雷達莫司(以前稱為德福莫司(deferolimus)，二甲基亞膦酸 (1R,2R,4S)-4-[(2R)-2[(1R,9S,12S,15R,16E,18R,19R,21R,23S,24E,26E,28Z,30S,32S,35R)-1,18-二羥基-19,30-二甲氧基-15,17,21,23,29,35-六甲基-2,3,10,14,20-五側氧基-11,36-二氧雜-4-氮雜三環[30.3.1.04,9]三十六碳-16,24,26,28-四烯-12-基]丙基]-2-甲氧基環己酯，亦稱德佛莫司、AP23573 及 MK8669 (Ariad Pharm.)，且描述於 PCT 公開案第 WO 03/064383 號)、依維莫司(RAD001)(在商標名 Afinitor® 下由 Novartis 出售)，一或多種治療劑可與本發明之 HER3 抗體或其片段同時或在其之前或之後投與。

產生本發明抗體之方法

(i) 編碼抗體之核酸

本發明提供實質上純化之核酸分子，其編碼包含上述HER3結合抗體鏈之區段或域的多肽。一些本發明之核酸包含編碼HER3抗體重鏈可變區之核苷酸序列及/或編碼輕鏈可變區之核苷酸序列。在一特定實施例中，核酸分子為表1中鑑別之核酸分子。本發明之一些其他核酸分子包含與表1中鑑別之核酸分子之核苷酸序列實質上一致(例如至少65%、80%、95%或99%)的核苷酸序列。當自適當表現載體表現時，藉由此等聚核苷酸編碼之多肽能夠顯示HER3抗原結合能力。

本發明亦提供編碼來自以上闡明之HER3結合抗體之重鏈或輕鏈的至少一個CDR區且通常所有三個CDR區之聚核苷酸。一些其他聚核苷酸編碼以上闡明之HER3結合抗體之重鏈及/或輕鏈的所有或實質上所有可變區序列。因為編碼簡併，所以多種核酸序列將編碼每一免疫球蛋白胺基酸序列。

本發明之核酸分子可編碼抗體之可變區與恆定區。一些本發明之核酸序列包含編碼與表1中闡明之HER3抗體之成熟重鏈可變區序列實質上一致(例如至少80%、90%或99%)的成熟重鏈可變區序列之核苷酸。一些其他核酸序列包含編碼與表1中闡明之HER3抗體之成熟輕鏈可變區序列實質上一致(例如至少80%、90%或99%)的成熟輕鏈可變區序列之核苷酸。

聚核苷酸序列可藉由重新固相DNA合成或對編碼HER3結合抗體或其結合片段之已存在序列(例如如以下實例中

所描述之序列)進行PCR突變誘發來產生。核酸之直接化學合成可藉由此項技術中已知之方法實現，諸如 Narang 等人，(1979) Meth. Enzymol. 68:90之磷酸三酯法；Brown 等人，(1979) Meth. Enzymol. 68:109之磷酸二酯法；Beaucage 等人，(1981) Tetra. Lett., 22:1859之二乙基胺基磷酸酯法；及美國專利第4,458,066號之固體支撐物法。突變藉由PCR引入聚核苷酸序列中可如例如以下中所述進行：PCR Technology: Principles and Applications for DNA Amplification, H.A. Erlich(編輯)，Freeman Press, NY, NY, 1992；PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, Innis 等人(編輯)，Academic Press, San Diego, CA, 1990；Mattila 等人，(1991) Nucleic Acids Res. 19:967；及 Eckert 等人，(1991) PCR Methods and Applications 1:17。

本發明亦提供用於產生上述HER3結合抗體之表現載體及宿主細胞。各種表現載體可用以表現編碼HER3結合抗體鏈或結合片段之聚核苷酸。基於病毒與非病毒表現載體均可用於在哺乳動物宿主細胞中產生抗體。非病毒載體及系統包括質體、游離型載體(通常具有用於表現蛋白質或RNA之表現卡匣)及人類人工染色體(參見例如 Harrington 等人，(1997) Nat Genet 15:345)。舉例而言，適用於在哺乳動物(例如人類)細胞中表現HER3結合聚核苷酸及多肽之非病毒載體包括 pThioHis A、B及C、pcDNA3.1/His、pEBVHis A、B及C (Invitrogen, San Diego, CA)、MPSV載

體及此項技術中已知用於表現其他蛋白質之許多其他載體。適用病毒性載體包括基於反轉錄病毒、腺病毒、腺相關病毒、疱疹病毒之載體、基於SV40、乳頭狀瘤病毒、HBP艾勃斯坦因-巴爾病毒(HBP Epstein Barr virus)之載體、牛痘病毒載體及塞姆利基森林病毒(Semliki Forest virus, SFV)載體。參見Brent等人, (1995), 上述; Smith, *Annu. Rev. Microbiol.* 49:807; 及Rosenfeld等人, (1992) *Cell* 68:143。

表現載體之選擇視待表現載體之所欲宿主細胞而定。通常, 表現載體含有啟動子及可操作地連接於編碼HER3結合抗體鏈或片段之聚核苷酸的其他調節序列(例如強化子)。在一些實施例中, 誘導性啟動子用以阻止插入序列表現, 除非在誘導條件下。誘導性啟動子包括例如阿拉伯糖、lacZ、金屬硫蛋白啟動子或熱休克啟動子。轉型生物體之培養物可在非誘導性條件下擴展, 不使群體偏向於表現產物為宿主細胞更好地耐受之編碼序列。除啟動子之外, 為有效表現HER3結合抗體鏈或片段, 亦可需要或渴望其他調節元件。此等元件通常包括ATG起始密碼子及鄰近核糖體結合位點或其他序列。另外, 表現功效可藉由包含適合於所用細胞系統之強化子而增強(參見例如Scharf等人, (1994) *Results Probl. Cell Differ.* 20:125; 及Bittner等人, (1987) *Meth. Enzymol.*, 153:516)。舉例而言, SV40強化子或CMV強化子可用於增加哺乳動物宿主細胞中之表現。

表現載體亦可提供一個分泌信號序列位置以與藉由插入之HER3結合抗體序列編碼之多肽形成融合蛋白。更通常，在包含於載體中之前，插入之HER3結合抗體序列連接於信號序列。待用於接收編碼HER3結合抗體輕鏈及重鏈可變域之序列的載體有時亦編碼恆定區或其部分。該等載體允許該等可變區與恆定區表現為融合蛋白，從而產生完整抗體或其片段。通常，該等恆定區為人類的。

用於具有及表現HER3結合抗體鏈之宿主細胞可為原核或真核。大腸桿菌為適用於選殖及表現本發明之聚核苷酸的一種原核宿主。其他適用微生物宿主包括桿菌(諸如枯草桿菌(*Bacillus subtilis*))及其他腸內菌科(諸如沙門氏菌(*Salmonella*)、沙雷氏菌屬(*Serratia*)及各種假單胞菌(*Pseudomonas*)物種)。在此等原核宿主中，亦可製造表現載體，其通常含有與宿主細胞(例如複製起點)相容之表現控制序列。另外，將存在多種熟知之啟動子，諸如乳糖啟動子系統、色胺酸(*trp*)啟動子系統、 β -內醯胺酶啟動子系統或來自噬菌體 λ 之啟動子系統。啟動子通常視情況與操縱序列一起控制表現，且具有核糖體結合位點序列及其類似物以起始及完成轉錄及轉譯。其他微生物，諸如酵母，亦可用以表現本發明之HER3結合多肽。亦可使用昆蟲細胞與桿狀病毒載體組合。

在一些較佳實施例中，哺乳動物宿主細胞用以表現及產生本發明之HER3結合多肽。舉例而言，其可為表現內源性免疫球蛋白基因之融合瘤細胞株(例如如實例中所描述

之1D6.C9骨髓瘤融合瘤純系)或者具有外源性表現載體之哺乳動物細胞株(例如以下例示之SP2/0骨髓瘤細胞)。此等細胞包括任何正常短命或正常或異常永生動物或人類細胞。舉例而言，已發展能夠分泌完整免疫球蛋白之大量適合宿主細胞株，包括CHO細胞株、各種Cos細胞株、海拉細胞(HeLa cell)、骨髓瘤細胞株、經轉型B細胞及融合瘤。哺乳動物組織細胞培養物用以表現多肽一般討論於例如Winnacker, FROM GENES TO CLONES, VCH Publishers, N.Y., N.Y., 1987中。哺乳動物宿主細胞之表現載體可包括表現控制序列，諸如複製起點、啟動子及強化子(參見例如Queen等人，(1986) Immunol. Rev. 89:49-68)，及必要加工資訊位點，諸如核糖體結合位點、RNA剪接位點、聚腺苷酸化位點及轉錄終止序列。此等表現載體通常含有來源於哺乳動物基因或來自哺乳動物病毒之啟動子。適合啟動子可為組成性、細胞類型特異性、階段特異性及/或可調控或可調節之啟動子。適用啟動子包括(但不限於)金屬硫蛋白啟動子、組成性腺病毒主要晚期啟動子、地塞米松誘導性MMTV啟動子、SV40啟動子、MRP polIII啟動子、組成性MPSV啟動子、四環素誘導性CMV啟動子(諸如人類即刻早期CMV啟動子)、組成性CMV啟動子及此項技術中已知之啟動子-強化子組合。

用於引入含有相關聚核苷酸序列之表現載體之方法視細胞宿主類型而變化。舉例而言，氯化鈣轉染通常用於原核細胞，而磷酸鈣處理或電穿孔可用於其他細胞宿主。(一

般參見 Sambrook 等人，上述)。其他方法包括例如電穿孔、磷酸鈣處理、脂質體介導之轉型、注射及顯微注射、衝擊法、病毒體、免疫脂質體、聚陽離子:核酸結合物、裸DNA、人工病毒粒子、與疱疹病毒結構蛋白質VP22之融合物(Elliot及O'Hare, (1997) Cell 88:223)、藥劑增強之DNA吸收及離體傳導。對於長期、高產率產生重組蛋白質而言，時常需要穩定表現。舉例而言，穩定表現HER3結合抗體鏈或結合片段之細胞株可使用含有病毒性複製起點或內源性表現元件及可選標記物基因之本發明表現載體製備。在引入載體後，可允許細胞在富集培養基中生長1-2天，接著轉至選擇培養基中。可選擇標記物之目的為賦予選擇抗性，且其存在允許成功表現所引入序列之細胞在選擇培養基中生長。抗性、穩定轉染之細胞可使用適合於細胞類型之組織培養技術增殖。

(ii)產生本發明之單株抗體

單株抗體(mAb)可藉由多種技術產生，包括習知單株抗體方法，例如Kohler及Milstein, (1975) Nature 256:495之標準體細胞雜交技術。可採用用於產生單株抗體之許多技術，例如B淋巴細胞之病毒或致癌轉型。

用於製備融合瘤之動物系統為鼠類系統。小鼠中產生融合瘤為沿用已久之程序。用於分離供融合用之免疫接種脾細胞的免疫接種方案及技術為此項技術中已知。亦已知融合搭配物(例如鼠類骨髓瘤細胞)及融合程序。

本發明之嵌合或人類化抗體可基於如上所述製備之鼠類

單株抗體之序列製備。編碼重鏈及輕鏈免疫球蛋白之DNA可自相關鼠類融合瘤獲得且使用標準分子生物學技術進行工程改造，以含有非鼠類(例如人類)免疫球蛋白序列。舉例而言，為產生嵌合抗體，鼠類可變區可使用此項技術中已知之方法連接於人類恆定區(參見例如 Cabilly 等人之美國專利第 4,816,567 號)。為產生人類化抗體，鼠類 CDR 區可使用此項技術中已知之方法插入人類構架中。參見例如 Winter 之美國專利第 5225539 號，及 Queen 等人之美國專利第 5530101 號、第 5585089 號、第 5693762 號及第 6180370 號。

在某一實施例中，本發明之抗體為人類單株抗體。該等針對 HER3 之人類單株抗體可使用攜帶人類免疫系統而非小鼠系統之一部分的轉殖基因或轉染色體小鼠產生。此等轉殖基因及轉染色體小鼠包括本文中分別稱為 HuMAb 小鼠及 KM 小鼠之小鼠，且本文中統一稱為「人類 Ig 小鼠」。

HuMAb mouse[®] (Medarex, Inc.) 含有編碼未重排之人類重鏈(μ 及 γ)及 κ 輕鏈免疫球蛋白序列之人類免疫球蛋白基因微型基因座(miniloci)以及不活化內源性 μ 及 κ 鏈基因座之靶向突變(參見例如 Lonberg 等人，(1994) Nature 368(6474): 856-859)。因此，小鼠顯示小鼠 IgM 或 κ 之表現降低，且回應於免疫接種，引入之人類重鏈及輕鏈轉殖基因進行類別轉換及體細胞突變，產生高親和力人類 IgG κ 單株抗體(Lonberg 等人，(1994) 上述；Lonberg, (1994) Handbook of Experimental Pharmacology 113:49-101 中評述；Lonberg

及 Huszar, (1995) Intern. Rev. Immunol.13:65-93 , 以及 Harding及 Lonberg, (1995) Ann. N. Y. Acad. Sci. 764:536-546)。HuMAb小鼠之製備及使用及該等小鼠攜帶之基因組修飾進一步描述於以下中：Taylor等人，(1992) Nucleic Acids Research 20:6287-6295；Chen等人，(1993) International Immunology 5:647-656；Tuailon等人，(1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94:3720-3724；Choi等人，(1993) Nature Genetics 4:117-123；Chen等人，(1993) EMBO J. 12:821-830；Tuailon等人，(1994) J. Immunol. 152:2912-2920；Taylor等人，(1994) International Immunology 579-591；及 Fishwild等人，(1996) Nature Biotechnology 14:845-851，所有文獻之內容均以全文引用的方式特定併入本文中。進一步參見美國專利第5,545,806號、第5,569,825號、第5,625,126號、第5,633,425號、第5,789,650號、第5,877,397號、第5,661,016號、第5,814,318號、第5,874,299號及第5,770,429號，均頒予Lonberg及Kay；Surani等人之美國專利第5,545,807號；PCT公開案第WO 92103918號、第WO 93/12227號、第WO 94/25585號、第WO 97113852號、第WO 98/24884號及第WO 99/45962號，均頒予Lonberg及Kay；及Korman等人之PCT公開案第WO 01/14424號。

在另一個實施例中，本發明之人類抗體可使用在轉殖基因及轉染色體上攜帶人類免疫球蛋白序列之小鼠(諸如攜帶人類重鏈轉殖基因及人類輕鏈轉染色體之小鼠)產生。

本文中稱為「KM小鼠」之該等小鼠詳細描述於Ishida等人之PCT公開案WO 02/43478中。

更進一步地，此項技術中可獲得表現人類免疫球蛋白基因之替代轉殖基因動物系統且可用於產生本發明之HER3結合抗體。舉例而言，可使用稱為Xenomouse (Abgenix, Inc.)之替代轉殖基因系統。該等小鼠描述於例如Kucherlapati等人之美國專利第5,939,598號、第6,075,181號、第6,114,598號、第6,150,584號及第6,162,963號中。

此外，此項技術中可獲得表現人類免疫球蛋白基因之替代轉染色體動物系統且可用於產生本發明之HER3結合抗體。舉例而言，可使用稱為「TC小鼠」之攜帶人類重鏈轉染色體與人類輕鏈轉染色體之小鼠；該等小鼠描述於Tomizuka等人，(2000) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97:722-727中。此外，已在此項技術中描述攜帶人類重鏈及輕鏈轉染色體之母牛(Kuroiwa等人，(2002) Nature Biotechnology 20:889-894)，且可用於產生本發明之HER3結合抗體。

本發明之人類單株抗體亦可使用噬菌體呈現方法篩選人類免疫球蛋白基因文庫來製備。該等用於分離人類抗體之噬菌體呈現方法在此項技術中沿用已久或描述於以下實例。參見例如Ladner等人之美國專利第5,223,409號、第5,403,484號及第5,571,698號；Dower等人之美國專利第5,427,908號及第5,580,717號；McCafferty等人之美國專利第5,969,108號及第6,172,197號；及Griffiths等人之美國專

利第 5,885,793 號、第 6,521,404 號、第 6,544,731 號、第 6,555,313 號、第 6,582,915 號及第 6,593,081 號。

本發明之人類單株抗體亦可使用 SCID 小鼠製備，在 SCID 小鼠中重構人類免疫細胞，使得可在免疫接種後產生人類抗體反應。該等小鼠描述於例如 Wilson 等人之美國專利第 5,476,996 號及第 5,698,767 號中。

(iii) 構架或 Fc 工程改造

本發明之工程改造抗體包括對 VH 及 / 或 VL 內之構架殘基進行修飾，例如以提高抗體性質之抗體。通常進行該等構架修飾以降低抗體之免疫原性。舉例而言，一種方法為將一或多個構架殘基「回復突變」為相應生殖系序列。更確切言之，進行體細胞突變之抗體可含有不同於抗體來源於之生殖系序列的構架殘基。該等殘基可藉由將抗體構架序列與抗體來源於之生殖系序列比較來鑑別。為將構架區序列回復至其生殖系組態，體細胞突變可藉由例如定點突變誘發「回復突變」成生殖系序列。該等「回復突變」抗體亦意欲涵蓋於本發明中。

另一類型構架修飾包含使構架區內，或甚至一或多個 CDR 區內之一或多個殘基突變，以移除 T 細胞-抗原決定基，從而降低抗體之潛在免疫原性。此方法亦稱為「去免疫」且進一步詳細地描述於 Carr 等人之美國專利公開案第 20030153043 號中。

除構架或 CDR 區內進行之修飾外或作為替代，本發明之抗體可經工程改造以包括 Fc 區內之修飾，通常改變抗體之

一或多個功能性，諸如血清半衰期、補體固定、Fc受體結合及/或抗原依賴性細胞毒性。此外，本發明之抗體可在化學上修飾(例如一或多個化學部分可附接於抗體)或經修飾以改變其糖基化，再改變抗體之一或多個功能性。此等實施例每一者進一步詳細地描述於下文中。Fc區中殘基編號為Kabat之EU索引之編號。

在一個實施例中，CH1之鉸鏈區經修飾，使得鉸鏈區中半胱氨酸殘基數目改變，例如增加或減少。此方法進一步描述於Bodmer等人之美國專利第5,677,425號中。改變CH1之鉸鏈區中半胱氨酸殘基數目，例如促進輕鏈及重鏈之組裝或提高或降低抗體之穩定性。

在另一個實施例中，使抗體之Fc鉸鏈區突變，以縮短抗體之生物半衰期。更確切言之，一或多個胺基酸突變引入Fc-鉸鏈片段之CH2-CH3域界面區中，使得抗體相對於原生Fc-鉸鏈域葡萄球菌蛋白A (SpA)結合，具有削弱之SpA結合。此方法進一步詳細地描述於Ward等人之美國專利第6,165,745號中。

在其他實施例中，Fc區藉由用不同胺基酸殘基置換至少一個胺基酸殘基來改變，以改變抗體之效應功能。舉例而言，一或多個胺基酸可經不同胺基酸殘基置換，使得抗體對效應配位體具有改變之親和力，但保留親本抗體之抗原結合能力。親和力改變之效應配位體可例如為Fc受體或C1互補組分。此方法進一步詳細地描述於均屬Winter等人之美國專利第5,624,821號及第5,648,260號中。

在另一個實施例中，選自胺基酸殘基之一或多個胺基酸可經不同胺基酸殘基置換，使得抗體具有改變之C1q結合及/或減小或消除之補體依賴性細胞毒性(CDC)。此方法進一步詳細地描述於Idusogie等人之美國專利第6,194,551號中。

在另一個實施例中，一或多個胺基酸殘基改變，從而改變抗體固定補體之能力。此方法進一步描述於Bodmer等人之PCT公開案WO 94/29351中。

在又一個實施例中，Fc區藉由修飾一或多個胺基酸而修飾，以提高抗體介導抗體依賴性細胞毒性(ADCC)之能力及/或提供抗體對Fc γ 受體之親和力。此方法進一步描述於Presta之PCT公開案WO 00/42072中。此外，人類IgG1上Fc γ R1、Fc γ RII、Fc γ RIII及FcRn之結合位點已定位且已描述具有改良結合之變異體(參見Shields等人，(2001) J. Biol. Chem. 276:6591-6604)。

在又一個實施例中，本發明之糖基化經修飾。舉例而言，可產生非糖基化抗體(亦即抗體缺乏糖基化)。糖基化可改變，以例如提高抗體對「抗原」之親和力。該等碳水化合物修飾可藉由例如改變抗體序列內糖基化之一或多個位點來實現。舉例而言，可進行一或多個胺基酸取代，消除一或多個可變區構架糖基化位點，從而消除該位點上之糖基化。該非糖基化可提高抗體對抗原之親和力。此類方法進一步詳細地描述於Co等人之美國專利第5,714,350號及第6,350,861號中。

或者或另外，可製備具有改變類型之糖基化的抗體，諸如具有減少量之岩藻糖醯基殘基之低岩藻糖酸化抗體或具有增加之二等分GlcNac結構之抗體。該等改變之糖基化模式已顯示提高抗體之ADCC能力。該等碳水化合物修飾可藉由例如在具有改變糖基化機制之宿主細胞中表現抗體來實現。具有改變糖基化機制之細胞已在此項技術中描述且可用作表現本發明之重組抗體的宿主細胞，從而產生具有改變糖基化之抗體。舉例而言，Hang等人之EP 1,176,195描述具有功能破壞之編碼岩藻糖醯基轉移酶之FUT8基因的細胞株，使得在此類細胞株中表現之抗體顯示低岩藻糖酸化。Presta之PCT公開案WO 03/035835描述一種變異CHO細胞株Lec13細胞，其具有降低之將岩藻糖附接於Asn(297)連接之碳水化合物的能力，亦引起在該宿主細胞中表現之抗體低岩藻糖酸化(亦參見Shields等人，(2002) J. Biol. Chem. 277:26733-26740)。Umana等人之PCT公開案WO 99/54342描述經工程改造以表現醣蛋白修飾之糖基轉移酶(例如 $\beta(1,4)$ -N-乙醯基葡糖胺基轉移酶III (GnTIII))的細胞株，使得在該等工程改造之細胞株中表現之抗體顯示增加之二等分GlcNac結構，從而提高抗體之ADCC活性(亦參見Umana等人，(1999) Nat. Biotech. 17:176-180)。

在另一個實施例中，抗體經修飾，以延長其生物半衰期。各種方法均為可能的。舉例而言，可引入以下突變中之一或多者：T252L、T254S、T256F，如Ward之美國專利第6,277,375號中所描述。或者，為延長生物半衰期，抗體

可在CH1或CL區內改變，以含有獲自IgG Fc區之CH2域之兩個環的救助受體結合抗原決定基，如Presta等人之美國專利第5,869,046號及第6,121,022號中所描述。

(iv)工程改造改變之抗體之方法

如以上所討論，本文中顯示之具有VH及VL序列或全長重鏈及輕鏈序列之HER3結合抗體可用於藉由修飾全長重鏈及/或輕鏈序列、VH及/或VL序列或附接於其之恆定區來產生新的HER3結合抗體。因此，在本發明之另一個態樣中，本發明之HER3結合抗體之結構特徵用以產生結構相關之HER3結合抗體，其保留本發明抗體之至少一個功能性質，諸如結合於人類HER3以及抑制HER3之一或多個功能性。舉例而言，如以上所討論，本發明抗體之一或多個CDR區或其突變可與已知之構架區及/或其他CDR重組組合，產生其他的經重組工程改造之本發明之HER3結合抗體。其他類型修飾包括先前部分中描述之修飾。工程改造方法之起始物質為本文中提供之VH及/或VL序列中之一或多者或其一或多個CDR區。為產生工程改造之抗體，實際上無需製備(亦即表現為蛋白質)具有本文中提供之一或多個VH及/或VL序列或其一或多個CDR區的抗體。更確切地，序列中含有之資訊用作起始物質以產生來源於原始序列之「第二代」序列，接著「第二代」序列製備且表現為蛋白質。

因此，在另一個實施例中，本發明提供一種製備HER3結合抗體之方法，該HER3結合抗體由以下組成：重鏈可

變區抗體序列，其具有選自由SEQ ID NO: 2、8、20、26、38、44、56、62、74、80、92、98、110、116、128、134、146、152、164、170、182、188、200、206、218、224、236、242、254、260、272、278、290、296、308、314、326、332、344、350、362及368組成之群之CDR1序列；選自由SEQ ID NO: 3、9、21、27、39、45、57、63、75、81、93、99、111、117、129、135、147、153、165、171、183、189、201、207、219、225、237、243、255、261、273、279、291、297、309、315、327、333、345、351、363及369組成之群之CDR2序列；及/或選自由SEQ ID NO: 4、10、22、28、40、46、58、64、75、82、94、100、112、118、130、136、148、154、166、172、184、190、202、208、220、226、238、244、256、262、274、280、292、298、310、316、328、334、346、352、364及370組成之群之CDR3序列；及輕鏈可變區抗體序列，其具有選自由SEQ ID NO: 5、11、23、29、41、47、59、65、77、83、95、101、113、119、131、137、149、155、167、173、185、191、203、209、221、227、239、245、257、263、275、281、293、299、311、317、329、335、347、353、365及371組成之群之CDR1序列；選自由SEQ ID NO: 6、12、24、30、42、48、60、66、78、84、96、102、114、120、132、138、150、156、168、174、186、192、204、210、222、228、240、246、258、264、276、282、294、300、312、318、330、

336、348、354、366及372組成之群之CDR2序列；及/或選自由SEQ ID NO: 7、13、25、31、43、49、61、67、79、85、97、103、115、121、133、139、151、157、169、175、187、193、205、211、223、229、241、247、259、265、277、283、295、301、313、319、331、337、349、355、367及373組成之群之CDR3序列；改變重鏈可變區抗體序列及/或輕鏈可變區抗體序列內之至少一個胺基酸殘基，以產生至少一個改變之抗體序列；及表現改變之抗體序列為蛋白質。改變之抗體序列亦可藉由篩選具有固定CDR3序列或如US 20050255552中所描述之最小基本結合決定子及CDR1及CDR2序列上之多樣性的抗體文庫來製備。篩選可根據適合於自抗體文庫篩選抗體之任何篩選技術，諸如噬菌體呈現技術進行。

標準分子生物技術可用於製備及表現改變之抗體序列。由改變之抗體序列編碼的抗體為保留本文中描述之HER3結合抗體之一種、一些或全部功能性的抗體，該等功能性包括(但不限於)特異性結合於人類及/或食蟹獼猴HER3；抗體結合於HER3且藉由在磷酸化HER分析中抑制HER信號傳導活性來中和HER3生物活性。

改變之抗體之功能性可使用此項技術中可用及/或本文中所述之標準分析，諸如實例中闡明之分析(例如ELISA)來評估。

在工程改造本發明抗體之方法的某些實施例中，突變可隨機或選擇性地沿HER3結合抗體編碼序列整體或一部分

引入，且可針對結合活性及/或如本文中描述之其他功能性，篩選所得經修飾之HER3結合抗體。此項技術中已描述突變方法。舉例而言，Short之PCT公開案WO 02/092780描述用於使用飽和突變誘發、合成連接組裝或其組合產生及篩選抗體突變之方法。或者，Lazar等人之PCT公開案WO 03/074679描述使用計算篩選法最佳化抗體之生理化學性質的方法。

本發明抗體之表徵

本發明之抗體可藉由各種功能分析表徵。舉例而言，其可藉由其在如本文中描述之磷酸化HER分析中藉由抑制HER信號傳導來中和生物活性之能力、其對HER3蛋白(例如人類及/或食蟹獼猴HER3)之親和力、抗原決定基分級、其對蛋白水解之抗性及其阻斷HER3下游信號傳導之能力表徵。各種方法可用於量測HER3介導之信號傳導。舉例而言，HER信號傳導路徑可藉由以下來監測：(i)量測磷酸化HER3；(ii)量測HER3或其他下游信號傳導蛋白(例如Akt)之磷酸化；(iii)如本文中描述之配位體阻斷分析；(iv)雜二聚體形成；(v) HER3依賴性基因表現標記；(vi)受體內在化；及(vii) HER3驅使之細胞表現型(例如增殖)。

抗體結合於HER3之能力可藉由直接標記相關抗體來偵測，或抗體可未標記且使用此項技術中已知之各種夾心分析格式間接偵測結合。

在一些實施例中，本發明之HER3結合抗體阻斷參考HER3結合抗體結合於HER3多肽或蛋白質或與其競爭。此

等可為上述完全人類HER3結合抗體。其亦可為結合於與參考抗體相同之抗原決定基的其他小鼠、嵌合或人類化HER3結合抗體。阻斷參考抗體結合或與其競爭之能力指示測試之HER3結合抗體結合於與由參考抗體界定之抗原決定基相同或類似的抗原決定基，或結合於足夠鄰近參考HER3結合抗體所結合之抗原決定基的抗原決定基。該等抗體尤其可分享針對參考抗體所鑑別之有利性質。阻斷參考抗體或與其競爭之能力可藉由例如競爭結合分析測定。使用競爭結合分析，檢查測試之抗體抑制參考抗體與諸如HER3多肽或蛋白質之共同抗原特異性結合的能力。若過量測試抗體實質上抑制參考抗體之結合，則測試抗體與參考抗體競爭特異性結合於抗原。實質上抑制意謂測試抗體減少參考抗體之特異性結合通常至少10%、25%、50%、75%或90%。

存在許多已知可用於評估HER3結合抗體與參考HER3結合抗體競爭結合於HER3蛋白之競爭結合分析。此等分析包括例如固相直接或間接放射免疫分析(RIA)、固相直接或間接酶免疫分析(EIA)、夾心競爭分析(參見Stahli等人，(1983) *Methods in Enzymology* 9:242-253)；固相直接生物素-親和素EIA (參見Kirkland等人，(1986) *J. Immunol.* 137:3614-3619)；固相直接標記分析、固相直接標記夾心分析(參見Harlow及Lane，上述)；使用I-125標記之固相直接標記RIA (參見Morel等人，(1988) *Molec. Immunol.* 25:7-15)；固相直接生物素-親和素EIA (Cheung等人，

(1990) *Virology* 176:546-552) ; 及 直 接 標 記 RIA (Moldenhauer等人, (1990) *Scand. J. Immunol.* 32:77-82) 。通常, 此類分析包含使用經純化之抗原結合於具有此等未標記之測試HER3結合抗體及標記參考抗體中任一者的固體表面或細胞。競爭性抑制藉由測定在測試抗體存在下結合於固體表面或細胞之標記之量來量測。通常測試抗體過量存在。藉由競爭分析(競爭抗體)鑑別之抗體包括結合於與參考抗體相同之抗原決定基的抗體及結合於與參考抗體所結合之抗原決定基足夠接近以出現位阻之鄰近抗原決定基的抗體。

為確定是否所選HER3結合單株抗體結合於獨特的抗原決定基, 每一抗體可使用市售試劑(例如來自Pierce (Rockford, IL)之試劑)進行生物素標記。使用未標記單株抗體及生物素標記單株抗體之競爭研究可使用HER3多肽塗佈之ELISA盤進行。生物素標記MAb結合可用抗生蛋白鏈菌素-鹼性磷酸酶探針偵測。為確定經純化HER3結合抗體之同型, 可進行同型ELISA。舉例而言, 微量滴定盤之孔可在4°C下用1 μ g/ml抗人類IgG塗佈隔夜。用1% BSA阻斷後, 盤與1 μ g/ml或少於1 μ g/ml之單株HER3結合抗體或經純化同型對照在周圍溫度下反應1至2小時。該等孔接著可與人類IgG1或人類IgM特異性鹼性磷酸酶結合之探針反應。接著盤發展並分析, 以便確定經純化抗體之同型。

為證明單株HER3結合抗體結合於表現HER3多肽之活細胞, 可使用流動式細胞測量術。簡言之, 表現HER3之細

胞株(在標準生長條件下生長)可與各種濃度之HER3結合抗體混合於含有0.1% BSA及10%胎牛血清之PBS中，且在4℃下培育1小時。洗滌後，細胞與螢光素標記之抗人類IgG抗體在與初級抗體著色相同之條件下反應。樣品可藉由FACScan儀器使用光及側向散射性質對單細胞閘控來分析。除流動式細胞測量分析之外或代替流動式細胞測量分析，可使用利用螢光顯微術之替代性分析。細胞可完全如上所述染色且藉由螢光顯微術檢查。此方法允許目測個別細胞，但視抗原密度而定，可能靈敏度降低。

可藉由西方點墨法進一步測試本發明之HER3結合抗體與HER3多肽或抗原片段的反應性。簡言之，可製備經純化HER3多肽或融合蛋白或來自表現HER3之細胞之細胞提取物且經受十二烷基硫酸鈉聚丙烯醯胺凝膠電泳。電泳後，經分離之抗原轉移至硝化纖維膜，用10%胎牛血清阻斷，且用待測試之單株抗體探測。人類IgG結合可使用抗人類IgG鹼性磷酸酶偵測且用BCIP/NBT受質錠劑(Sigma Chem. Co., St. Louis, MO)發展。

在配位體誘發之雜二聚體形成之基於細胞的分析中許多讀數可用於評估HER3抗體之功效及特異性。活性可藉由以下一或多者評估：

(i)抑制標靶細胞株(例如MCF-7乳癌細胞)中配位體誘發之HER2與其他EGF家族成員的雜二聚化。可用受體特異性抗體進行HER2複合物自細胞溶解產物之免疫沈澱，且根據電泳/西方轉移，藉由用針對其他EGF受體之抗體探測來

分析複合物內其他EGF受體及其生物相關配位體之缺乏/存在。

(ii)抑制配位體活化之雜二聚體活化信號傳導路徑。與HER3締合似乎對EGF受體家族之其他成員在配位體結合後引起最大細胞反應而言為關鍵的。在激酶缺乏之HER3情況下，HER2提供功能性酪胺酸激酶域以使信號傳導在生長因子配位體結合後能夠發生。因此，共表現HER2及HER3之細胞可在抑制劑缺乏及存在下用配位體(例如調蛋白)處理，且對HER3酪胺酸磷酸化之作用可藉由許多方式監測，該等方式包括HER3自經處理之細胞溶解產物免疫沈澱且隨後使用抗磷酸化酪胺酸抗體進行西方點墨法(詳情參見Agus *op. cit.*)。或者，高通量分析可藉由HER3自溶解之溶解產物截留至用抗-HER3受體抗體塗佈之96孔盤之孔上來發展，且酪胺酸磷酸化程度使用例如鎢標記之抗磷酸化酪胺酸抗體來量測，如Waddleton等人，(2002) *Anal. Biochem.* 309:150-157所體現。

在此方法之更廣延伸中，已知在活化受體雜二聚體之下游活化之效應分子(諸如有絲分裂原活化蛋白激酶(MAPK)及Akt)可直接藉由自經處理之溶解產物免疫沈澱且用偵測此等蛋白質之活化形式的抗體點墨，或者藉由分析此等蛋白質修飾/活化特定受質之能力來分析。

(iii)抑制配位體誘發之細胞增殖。已知多種細胞株共表現ErbB受體之組合，例如許多乳癌及前列腺癌細胞株。分析可以24/48/96孔格式，用基於DNA合成(氘化胸腺嘧啶併

入)之讀數、細胞數目之增加(結晶紫染色)等執行。

在非配位體依賴性均二聚體及雜二聚體形成之基於細胞的分析中許多讀數可用於評估HER3抗體之功效及特異性。舉例而言，HER2過度表現由於自發二聚體形成而引起激酶域之非配位體依賴性活化。過度表現之HER2與其他HER分子(諸如HER1、HER3及HER4)產生均二聚體或雜二聚體。

抗體或其片段能夠阻斷已知致瘤表現型至少部分依賴於HER3雜二聚體細胞信號傳導之配位體活化的人類腫瘤細胞株(例如BxPC3胰臟癌細胞等)之腫瘤異種移植物在活體內生長。此可在免疫功能降低小鼠中，單獨或與適於所討論細胞株之細胞毒性劑組合來評估。功能分析之實例亦在以下實例部分中描述。

預防及治療用途

本發明提供治療與HER3信號傳導路徑相關之疾病或病症的方法，其係藉由向有需要之個體投與有效量之本發明抗體。在一特定實施例中，本發明提供一種治療或預防癌症(例如乳癌、結腸直腸癌、肺癌、多發性骨髓瘤、卵巢癌、肝癌、胃癌、胰臟癌、急性骨髓性白血病、慢性骨髓性白血病、骨肉瘤、鱗狀細胞癌、周圍神經鞘腫瘤、神經鞘瘤、頭頸部癌、膀胱癌、食道癌、巴雷特氏食道癌、神經膠母細胞瘤、軟組織之透明細胞肉瘤、惡性間皮瘤、神經纖維瘤、腎癌、黑色素瘤、前列腺癌、良性前列腺增生(BPH)、男子女乳症及子宮內膜異位)之方法，其係藉由向

有需要之個體投與有效量之本發明抗體。在一些實施例中，本發明提供治療或預防與HER信號傳導路徑相關之癌症的方法，其係藉由向有需要之個體投與有效量之本發明抗體。

在一特定實施例中，本發明提供治療與HER信號傳導路徑相關之癌症，包括(但不限於)乳癌、結腸直腸癌、肺癌、多發性骨髓瘤、卵巢癌、肝癌、胃癌、胰臟癌、急性骨髓性白血病、慢性骨髓性白血病、骨肉瘤、鱗狀細胞癌、周圍神經鞘腫瘤、神經鞘瘤、頭頸部癌、膀胱癌、食道癌、巴雷特氏食道癌、神經膠母細胞瘤、軟組織之透明細胞肉瘤、惡性間皮瘤、神經纖維瘤、腎癌、黑色素瘤、前列腺癌、良性前列腺增生(BPH)、男子乳症及子宮內膜異位。

在一個實施例中，本發明係關於使用HER3抗體或其片段治療食道癌。

在一個實施例中，本發明係關於使用HER3抗體或其片段治療良性前列腺增生(BPH)。BPH為老年男性中特徵為前列腺非贅生性擴大，在尿道上產生壓力且引起排尿及膀胱問題的常見疾病(Mahapokail W, van Sluijs FJ及Schalken JA. 2000 Prostate Cancer and Prostatic Diseases 3, 28-33)。在約55% 60-70歲男性中屍檢時存在BPH之解剖或微觀證據。經尿道切除前列腺已成為選擇治療多年。因此，BPH為在老年男性中進行外科手術之最常見原因之一。侵入性較低之治療方法包括：

(i) $\alpha 1$ -阻斷劑(多沙唑嗪(doxazosin)、哌唑嗪(prazosin)、坦索羅辛(tamsulosin)、特拉唑嗪(terazosin)及阿夫唑嗪(alfuzosin))為一類亦用以治療高血壓之藥物。此等藥物放鬆膀胱頸及前列腺之肌肉，因此使排尿更容易。

(ii)非那雄胺(Finasteride)及度他雄胺(dutasteride)降低雄激素含量，因此減小前列腺尺寸，提高尿流速且減輕BPH症狀。觀察到症狀改善可能花費3至6個月。與使用非那雄胺及度他雄胺相關之潛在副作用包括性慾衝動減少及性無能。

實驗部分中之結果首次證明BPH為神經調節蛋白依賴性適應症。發現亦顯示MOR10703在性成熟大鼠中在不影響激素含量下顯著減小前列腺尺寸，表明MOR10703可用於治療BPH。

為進一步測試MOR10703及其他HER3抗體作為BPH之治療劑，初級人類BPH手術標本可移植至無胸腺小鼠或大鼠中且使用模型研究Her3抗體之作用(Otto U等人Urol Int 1992; 48: 167 -170)。或者，BPH之態樣可在閹割狗中經由長期投與 5α -雄甾烷- $3\alpha,17\beta$ -二醇加雌二醇誘發，且在此等犬模型中測試HER3抗體(Walsh PC, Wilson JD. J Clin Invest 1976; 57: 1093-1097)。

在一個實施例中，本發明係關於使用HER3抗體或其片段治療男子女乳症。男子女乳症之實體表現為男性的乳房擴大，其通常發生在兩個乳房上，但有時可僅在一個中，稱為不對稱或單側男子女乳症。男子女乳症通常由以下引

起：

(i)雌激素水平升高，引起睪固酮與雌激素之比率不平衡。

(ii)用於治療前列腺癌或BPH之雄激素拮抗劑或抗雄激素。此等藥物抑制睪固酮，但藉由抑制睪固酮，使得雌激素開始上升。

雖然目前正評估許多實驗藥物，但目前男子女乳症尚無認可之治療。因此，男子女乳症經由手術上移除乳房組織來治療。MOR10703誘發男性乳腺不可逆萎縮之觀察結果指示其可能有益於治療男子女乳症。

為進一步測試MOR10703及其他HER3抗體用於治療人類男子女乳症，可使用男子女乳症之轉殖基因小鼠模型。此等模型已藉由在小鼠乳腺中表現人類芳香酶來發展且概括人類男子女乳症之許多態樣(Li等人，Endocrinology 2002; 143:4074-4083；Tekmal等人，Cancer Res 1996; 56:3180-318)。

在一個實施例中，本發明係關於使用HER3抗體或其片段治療男子女乳症。亦可檢查MOR10703及其他HER3抗體用於治療子宮內膜異位，該病症為來自子宮內層(子宮內膜)之細胞出現且活躍在子宮腔外面的婦科病狀。子宮內膜異位之主要但不普遍症狀為各種表現形式之骨盆疼痛。雖然子宮內膜異位之根本原因未充分表徵，但認為其視雌激素之存在而定。因為MOR10703在雌性小鼠中誘發子宮內膜萎縮，引起子宮重量下降，所以其可用以治療子宮內

膜異位。為進一步研究MOR10703及其他HER3抗體對子宮內膜異位之作用，可將增生期中之人類子宮內膜植入正常循環且切除卵巢之無胸腺小鼠或循環非肥胖型糖尿病(NOD)-嚴重聯合免疫缺乏(SCID)小鼠的腹膜腔中，且此等SCID小鼠用作模型(Grummer等人，2001. Human Reproduction; 16; 1736-1743)。

HER3抗體亦可用以治療或預防與異常或缺陷HER信號傳導相關之其他病症，包括(但不限於)呼吸疾病、骨質疏鬆症、骨關節炎、多囊性腎病、糖尿病、精神分裂症、血管病、心臟病、非致癌性增生性疾病、纖維化及神經退化性疾病，諸如阿爾茨海默氏病(Alzheimer's disease)。

適於與HER3結合抗體組合治療之藥劑包括此項技術中已知能夠調節ErbB信號傳導路徑之標準治療劑。HER2標準治療劑之適合實例包括(但不限於) Herceptin及Tykerb。EGFR標準治療劑之適合實例包括(但不限於) Iressa、Tarceva、Erbitux及Vectibix。可適於與HER3結合抗體組合治療之其他藥劑包括(但不限於)調節受體酪胺酸激酶、G蛋白偶合受體、發育/存活信號傳導路徑、核激素受體、細胞凋亡路徑、細胞週期及血管生成之藥劑。

診斷用途

在一個態樣中，本發明涵蓋用於在生物樣品(例如血液、血清、細胞、組織)之背景下或自罹患癌症或處於發展癌症風險中之個體，測定HER3蛋白及/或核酸表現以及HER3蛋白功能的診斷分析。

諸如競爭分析之診斷分析依賴於標記類似物(「示蹤劑」)與測試樣品分析物競爭共同結合搭配物上之有限數目結合位點的能力。結合搭配物一般在競爭之前或之後不溶,接著結合於結合搭配物之示蹤劑及分析物與未結合之示蹤劑及分析物分離。此分離藉由傾析(在結合搭配物預先不溶之情況下)或藉由離心(在結合搭配物在競爭反應後沈澱之情況下)實現。測試樣品分析物之量與如藉由標記物物質之量所量測之結合示蹤劑之量成反比。制定使用已知量之分析物的劑量反應曲線且與測試結果比較,以定量測定測試樣品中存在之分析物之量。當酶用作可偵測標記物時,此等分析稱為ELISA系統。在此形式之分析中,抗體與HER3結合抗體之間的競爭性結合使結合之HER3蛋白、較佳本發明之HER3抗原決定基成為血清樣品中抗體、最尤其中和血清樣品中之抗體的量度。

該分析之重要優勢在於量測直接由中和抗體(亦即干擾HER3蛋白、特別是抗原決定基之結合的抗體)構成。尤其呈ELISA測試形式之此類分析在臨床環境及常規血液篩選中具有相當多的應用。

本發明之另一個態樣提供用於測定個體中HER3核酸表現或HER3蛋白活性之方法,從而選擇適於該個體之治療劑或預防劑(本文中稱為「藥物基因組學」)。藥物基因組學考慮到基於個體基因型(例如進行檢查以測定個體對特定藥劑起反應之能力之個體基因型)來選擇個體之治療性或預防性治療的藥劑(例如藥物)。

本發明之又一個態樣係關於監測藥劑(例如藥物)對臨床試驗中之HER3蛋白之表現或活性的影響。

醫藥組合物

為製備包括HER3結合抗體(完整或結合片段)之醫藥或無菌組合物，HER3結合抗體(完整或結合片段)與醫藥學上可接受之載劑或賦形劑混合。該等組合物可另外含有一或多種適於治療或預防癌症(乳癌、結腸直腸癌、肺癌、多發性骨髓瘤、卵巢癌、肝癌、胃癌、胰臟癌、急性骨髓性白血病、慢性骨髓性白血病、骨肉瘤、鱗狀細胞癌、周圍神經鞘腫瘤、神經鞘瘤、頭頸部癌、膀胱癌、食道癌、巴雷特氏食道癌、神經膠母細胞瘤、軟組織之透明細胞肉瘤、惡性間皮瘤、神經纖維瘤、腎癌、黑色素瘤、前列腺癌、良性前列腺增生(BPH)、男子乳症及子宮內膜異位)之其他治療劑。

治療及診斷劑之調配物可藉由與生理學上可接受之載劑、賦形劑或穩定劑混合，呈例如凍乾粉末、漿狀物、水溶液、洗劑或懸浮液之形式製備(參見例如Hardman等人，(2001) Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, McGraw-Hill, New York, N.Y.；Gennaro (2000) Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott, Williams, and Wilkins, New York, N.Y.；Avis等人(編輯)(1993) Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications, Marcel Dekker, NY；Lieberman等人(編輯)(1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets, Marcel

Dekker, NY ; Lieberman 等人 (編輯)(1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems, Marcel Dekker, NY ; Weiner及Kotkoskie (2000) Excipient Toxicity and Safety, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y.) 。

選擇治療劑之投與方案視若干因素而定，包括實體之血清或組織轉換率、症狀程度、實體之免疫原性及生物基質中標靶細胞之可及性。在某些實施例中，投與方案在符合可接受之副作用程度下最大化治療劑遞送至患者之量。因此生物遞送之量部分依賴於特定實體及所治療病狀之嚴重程度。可使用選擇抗體、細胞因子及小分子之適當劑量的指導(參見例如 Wawrzynczak (1996) Antibody Therapy, Bios Scientific Pub. Ltd, Oxfordshire, UK ; Kresina(編輯)(1991) Monoclonal Antibodies, Cytokines and Arthritis, Marcel Dekker, New York, N.Y. ; Bach(編輯)(1993) Monoclonal Antibodies and Peptide Therapy in Autoimmune Diseases, Marcel Dekker, New York, N.Y. ; Baert 等人，(2003) New Engl. J. Med. 348:601-608 ; Milgrom 等人，(1999) New Engl. J. Med. 341:1966-1973 ; Slamon 等人，(2001) New Engl. J. Med. 344:783-792 ; Beniaminovitz 等人，(2000) New Engl. J. Med. 342:613-619 ; Ghosh 等人，(2003) New Engl. J. Med. 348:24-32 ; Lipsky 等人，(2000) New Engl. J. Med. 343:1594-1602) 。

臨床醫師例如使用此項技術中已知或懷疑影響治療或預計會影響治療之參數或因素來確定適當劑量。一般而言，

劑量自略微小於最佳劑量之量開始且此後其以小的增量增加，直至相對於任何不良副作用，實現所需或最佳作用。重要的診斷量度包括彼等例如發炎之症狀或所產生發炎細胞因子之含量的量度。

本發明之醫藥組合物中活性成分之實際劑量可變化，以獲得針對特定患者、組合物及投與模式有效實現所需治療反應且對患者無毒性之活性成分之量。所選劑量將視多種藥物動力學因素而定，包括所採用之本發明特定組合物或其酯、鹽或醯胺之活性、投藥途徑、投藥時間、所採用特定化合物之排泄速率、治療持續時間、與所採用特定組合物組合使用之其他藥物、化合物及/或物質、所治療患者之年齡、性別、體重、病狀、整體健康及先前病史以及醫學技術中已知之類似因素。

包含本發明之抗體或其片段的組合物可藉由連續輸注，或藉由以例如一天、一週或每週1-7次之時間間隔給藥來提供。可靜脈內、皮下、局部、經口、經鼻、經直腸、肌肉內、腦內或藉由吸入來給藥。特定給藥方案為包含避免顯著不良副作用之最大劑量或給藥頻率的方案。總週劑量可為至少每公斤體重0.05 μg 、至少0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、至少0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、至少1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、至少10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、至少100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、至少0.2 mg/kg 、至少1.0 mg/kg 、至少2.0 mg/kg 、至少10 mg/kg 、至少25 mg/kg 或至少50 mg/kg （參見例如Yang等人，(2003) New Engl. J. Med. 349:427-434；Herold等人，(2002) New Engl. J. Med. 346:1692-1698；Liu等人，

(1999) J. Neurol. Neurosurg. Psych. 67:451-456 ; Portielji 等人，(2003) Cancer Immunol. Immunother. 52:133-144)。

抗體或其片段之所需劑量與抗體或多肽近似相同，以每公斤體重之莫耳數計。抗體或其片段之所需血漿濃度近似以每公斤體重之莫耳數計。劑量可為至少 15 μg 、至少 20 μg 、至少 25 μg 、至少 30 μg 、至少 35 μg 、至少 40 μg 、至少 45 μg 、至少 50 μg 、至少 55 μg 、至少 60 μg 、至少 65 μg 、至少 70 μg 、至少 75 μg 、至少 80 μg 、至少 85 μg 、至少 90 μg 、至少 95 μg 或至少 100 μg 。投與個體之劑量數目可為至少 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11 或 12 或更多。

對於本發明之抗體或其片段，投與患者之劑量可為每公斤患者體重 0.0001 mg 至 100 mg。劑量可為每公斤患者體重 0.0001 mg 至 20 mg、0.0001 mg 至 10 mg、0.0001 mg 至 5 mg、0.0001 至 2 mg、0.0001 至 1 mg、0.0001 mg 至 0.75 mg、0.0001 mg 至 0.5 mg、0.0001 mg 至 0.25 mg、0.0001 至 0.15 mg、0.0001 至 0.10 mg、0.001 至 0.5 mg、0.01 至 0.25 mg 或 0.01 至 0.10 mg。

本發明之抗體或其片段之劑量可使用患者體重(公斤(kg))乘以待投與之劑量(mg/kg)來計算。本發明之抗體或其片段之劑量可為每公斤患者體重 150 μg 或低於 150 μg 、125 μg 或低於 125 μg 、100 μg 或低於 100 μg 、95 μg 或低於 95 μg 、90 μg 或低於 90 μg 、85 μg 或低於 85 μg 、80 μg 或低於 80 μg 、75 μg 或低於 75 μg 、70 μg 或低於 70 μg 、65 μg 或

低於 65 μg 、60 μg 或低於 60 μg 、55 μg 或低於 55 μg 、50 μg 或低於 50 μg 、45 μg 或低於 45 μg 、40 μg 或低於 40 μg 、35 μg 或低於 35 μg 、30 μg 或低於 30 μg 、25 μg 或低於 25 μg 、20 μg 或低於 20 μg 、15 μg 或低於 15 μg 、10 μg 或低於 10 μg 、5 μg 或低於 5 μg 、2.5 μg 或低於 2.5 μg 、2 μg 或低於 2 μg 、1.5 μg 或低於 1.5 μg 、1 μg 或低於 1 μg 、0.5 μg 或低於 0.5 μg 或 0.5 μg 或低於 0.5 μg 。

本發明之抗體或其片段之單位劑量可為 0.1 mg 至 20 mg、0.1 mg 至 15 mg、0.1 mg 至 12 mg、0.1 mg 至 10 mg、0.1 mg 至 8 mg、0.1 mg 至 7 mg、0.1 mg 至 5 mg、0.1 至 2.5 mg、0.25 mg 至 20 mg、0.25 至 15 mg、0.25 至 12 mg、0.25 至 10 mg、0.25 至 8 mg、0.25 mg 至 7 mg、0.25 mg 至 5 mg、0.5 mg 至 2.5 mg、1 mg 至 20 mg、1 mg 至 15 mg、1 mg 至 12 mg、1 mg 至 10 mg、1 mg 至 8 mg、1 mg 至 7 mg、1 mg 至 5 mg 或 1 mg 至 2.5 mg。

本發明之抗體或其片段之劑量可在個體中實現至少 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 0.5 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 1 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 2 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 5 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 6 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 10 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 15 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 20 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 25 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 50 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 100 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 125 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 150 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 175 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 200 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 225 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 250 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 275 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 300 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 325 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 350 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 375 $\mu\text{g/ml}$ 或至少 400 $\mu\text{g/ml}$ 之血清效價。或者，本發明之抗體或其片段之劑量可在個體中實現至少 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 、

至少 0.5 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 1 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 2 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 5 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 6 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 10 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 15 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 20 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 25 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 50 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 100 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 125 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 150 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 175 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 200 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 225 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 250 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 275 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 300 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 325 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 350 $\mu\text{g/ml}$ 、至少 375 $\mu\text{g/ml}$ 或至少 400 $\mu\text{g/ml}$ 之血清效價。

本發明之抗體或其片段之給藥可重複且投藥可相隔至少 1 天、2 天、3 天、5 天、10 天、15 天、30 天、45 天、2 個月、75 天、3 個月或至少 6 個月。

針對特定患者之有效量可視諸如待治療病狀、患者總體健康、投藥方法、途徑及劑量以及副作用嚴重程度之因素而變化(參見例如 Maynard 等人, (1996) A Handbook of SOPs for Good Clinical Practice, Interpharm Press, Boca Raton, Fla.; Dent (2001) Good Laboratory and Good Clinical Practice, Urch Publ., London, UK)。

投藥途徑可藉由例如靜脈內、腹膜內、腦內、肌肉內、眼內、動脈內、腦脊髓內、損害內局部或皮膚塗敷、注射或輸注, 或藉由持續釋放系統或植入物(參見例如 Sidman 等人, (1983) Biopolymers 22:547-556; Langer 等人, (1981) J. Biomed. Mater. Res. 15:167-277; Langer (1982) Chem. Tech. 12:98-105; Epstein 等人, (1985) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:3688-3692; Hwang 等人, (1980) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4030-4034; 美國專利第 6,350,466

號及第 6,316,024 號)。必要時，組合物亦可包括增溶劑及在注射部位鎮痛之局部麻醉劑，諸如利多卡因。另外，亦可例如藉由使用吸入器或噴霧器且與氣溶膠化劑調配，進行肺部投藥。參見例如美國專利第 6,019,968 號、第 5,985,320 號、第 5,985,309 號、第 5,934,272 號、第 5,874,064 號、第 5,855,913 號、第 5,290,540 號及第 4,880,078 號；及 PCT 公開案第 WO 92/19244 號、第 WO 97/32572 號、第 WO 97/44013 號、第 WO 98/31346 號及第 WO 99/66903 號，每一者均以全文引用的方式併入本文中。

本發明之組合物亦可使用此項技術中已知之多種方法中之一或多者，經由一或多種投藥途徑投與。如熟習此項技術者所瞭解，投藥途徑及/或模式將視所需結果而變化。本發明之抗體或其片段的選擇投藥途徑包括靜脈內、肌肉內、皮內、腹膜內、皮下、脊柱或其他非經腸投藥途徑，例如藉由注射或輸注。非經腸投與可代表除經腸及局部投藥以外通常藉由注射的投藥模式，且包括(不限於)靜脈內、肌肉內、動脈內、鞘內、囊內、眶內、心內、皮內、腹膜內、經氣管、皮下、表皮下、關節內、包囊下、蛛網膜下、脊柱內、硬膜外及胸骨內注射及輸注。或者，本發明之組合物可經由非經腸途徑投與，諸如局部、表皮或黏膜投藥途徑，例如鼻內、經口、經陰道、經直腸、舌下或局部。在一個實施例中，本發明之抗體或其片段藉由輸注投與。在另一個實施例中，本發明之多特異性抗原決定基

結合蛋白皮下投與。

若本發明之抗體或其片段在控制釋放或持續釋放系統中投與，則可使用泵來實現控制或持續釋放(參見Langer，上述；Sefton, (1987) CRC Crit. Ref Biomed. Eng. 14:20；Buchwald等人，(1980), Surgery 88:507；Saudek等人，(1989) N. Engl. J. Med. 321:574)。聚合物質可用於實現本發明之療法的控制或持續釋放(參見例如 Medical Applications of Controlled Release, Langer及Wise(編輯)，CRC Pres., Boca Raton, Fla. (1974)；Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance, Smolen及Ball(編輯)，Wiley, New York (1984)；Ranger及Peppas, (1983) J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. 23:61；亦參見Levy等人，(1985) Science 228:190；During等人，(1989) Ann. Neurol. 25:351；Howard等人，(1989) J. Neurosurg. 71:105)；美國專利第5,679,377號；美國專利第5,916,597號；美國專利第5,912,015號；美國專利第5,989,463號；美國專利第5,128,326號；PCT公開案第WO 99/15154號；及PCT公開案第WO 99/20253號。用於持續釋放調配物中之聚合物的實例包括(但不限於)聚(甲基丙烯酸2-羥基乙酯)、聚(甲基丙烯酸甲酯)、聚(丙烯酸)、聚(乙烯-共-乙酸乙烯酯)、聚(甲基丙烯酸)、聚乙交酯(PLG)、聚酸酐、聚(N-乙基吡咯啉酮)、聚(乙烯醇)、聚丙交酯、聚(乙二醇)、聚丙交酯(PLA)、聚(丙交酯-共-乙交酯)(PLGA)及聚原酸酯。在一個實施例中，在持續釋放調

配物中使用之聚合物為惰性，不含可浸出雜質，儲存穩定，無菌且生物可降解。控制或持續釋放系統可接近預防或治療標靶置放，因此僅僅需要一小部分全身性劑量(參見例如 Goodson, Medical Applications of Controlled Release, 上述, 第2卷, 第115-138頁(1984))。

控制釋放系統在 Langer, (1990), Science 249:1527-1533 之評論中討論。熟習此項技術者已知之任何技術均可用於產生包含一或多種本發明之抗體或其片段的持續釋放調配物。參見例如美國專利第 4,526,938 號；PCT 公開案 WO 91/05548；PCT 公開案 WO 96/20698；Ning 等人, (1996), Radiotherapy & Oncology 39:179-189；Song 等人, (1995) PDA Journal of Pharmaceutical Science & Technology 50:372-397；Cleek 等人, (1997) Pro. Int'l. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater. 24:853-854；及 Lam 等人, (1997) Proc. Int'l. Symp. Control Rel. Bioact. Mater. 24:759-760，每一者均以全文引用的方式併入本文中。

若本發明之抗體或其片段局部投與，則其可呈軟膏、乳膏、經皮貼片、洗劑、凝膠、洗髮劑、噴霧、氣溶膠、溶液、乳液或熟習此項技術者熟知之其他形式的形式調配。參見例如 Remington's Pharmaceutical Sciences and Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms, 第19版, Mack Pub. Co., Easton, Pa. (1995)。對於非噴霧型局部劑型，通常採用包含與局部施用相容之載劑或一或多種賦形劑且具有在一些情況下大於水之動態黏度之黏性至半固體

或固體形式。適合調配物包括(不限於)溶液、懸浮液、乳液、乳膏、軟膏、散劑、擦劑、油膏及其類似物，其在必要時殺菌或與助劑(例如防腐劑、穩定劑、潤濕劑、緩衝劑或鹽)混合以影響各種性質，諸如滲透壓。其他適合局部劑型包括可噴霧氣溶膠，其中活性成分在一些情況下與固體或液體惰性載體組合，包裝在與密封揮發性物質(例如氣體推進劑，諸如氟氯烷(freon))之混合物中或塑料擠瓶中。必要時，潤濕劑或保濕劑亦可添加至醫藥組合物及劑型中。該等其他成分之實例為此項技術中所熟知。

若包含抗體或其片段之組合物鼻內投與，則其可調配為氣溶膠形式、噴霧、煙霧狀物或為液滴形式。詳言之，根據本發明使用之預防或治療劑宜呈氣溶膠噴霧之形式自密封包裝或噴霧器，藉助於適合推進劑(例如二氯二氟甲烷、三氯氟甲烷、二氯四氟乙烷、二氧化碳或其他適合氣體)遞送。在密封氣溶膠之情況下，劑量單元可藉由提供遞送計量之量的閥來測定。用於吸入器或吹入器之膠囊及藥筒(由例如明膠構成)可經調配，含有化合物與適合粉末基質(諸如乳糖或澱粉)之粉末混合物。

與第二治療劑(例如細胞因子、類固醇、化學治療劑、抗生素或放射療法)共投與或治療之方法為此項技術中已知(參見例如 Hardman 等人，(編輯)(2001) Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics，第10版，McGraw-Hill, New York, N.Y.；Poole及 Peterson(編輯)(2001) Pharmacotherapeutics for Advanced Practice:A

Practical Approach, Lippincott, Williams & Wilkins, Phila., Pa.; Chabner及Longo(編輯)(2001) Cancer Chemotherapy and Biotherapy, Lippincott, Williams & Wilkins, Phila., Pa.)。有效量之治療劑可使症狀減少至少10%、至少20%、至少約30%、至少40%或至少50%。

可與本發明之抗體或其片段組合投與之其他療法(例如預防或治療劑)可與本發明之抗體或其片段相隔不足5分鐘、相隔不足30分鐘、相隔1小時、相隔約1小時、相隔約1至約2小時、相隔約2小時至約3小時、相隔約3小時至約4小時、相隔約4小時至約5小時、相隔約5小時至約6小時、相隔約6小時至約7小時、相隔約7小時至約8小時、相隔約8小時至約9小時、相隔約9小時至約10小時、相隔約10小時至約11小時、相隔約11小時至約12小時、相隔約12小時至18小時、相隔18小時至24小時、相隔24小時至36小時、相隔36小時至48小時、相隔48小時至52小時、相隔52小時至60小時、相隔60小時至72小時、相隔72小時至84小時、相隔84小時至96小時或相隔96小時至120小時投與。兩種或兩種以上療法可在同一次患者就診內投與。

本發明之抗體或其片段與其他療法可循環投與。循環療法包含投與第一療法(例如第一預防或治療劑)一段時間，接著投與第二療法(例如第二預防或治療劑)一段時間，視情況接著投與第三療法(例如預防或治療劑)一段時間等，且重複此順序投藥，亦即循環，以減少發展對該等療法之一的抗性，避免或減少該等療法之一的副作用，及/或提

高該等療法之功效。

在某些實施例中，本發明之抗體或其片段可經調配以確保在活體內適當分佈。舉例而言，血腦障壁(BBB)排除許多高親水性化合物。為確保本發明之治療化合物橫跨BBB(必要時)，其可調配於例如脂質體中。關於製造脂質體之方法，參見例如美國專利第4,522,811號、第5,374,548號及第5,399,331號。脂質體可包含一或多個選擇性地運輸至特定細胞或器官中，因此增強靶向藥物遞送之部分(參見例如Ranade, (1989) J. Clin. Pharmacol. 29:685)。例示性靶向部分包括葉酸或生物素(參見例如Low等人之美國專利第5,416,016號)；甘露糖苷(Umezawa等人，(1988) Biochem. Biophys. Res. Commun. 153:1038)；抗體(Bloeman等人，(1995) FEBS Lett. 357:140；Owais等人，(1995) Antimicrob. Agents Chemother. 39:180)；界面活性蛋白A受體(Briscoe等人，(1995) Am. J. Physiol. 1233:134)；p 120 (Schreier等人，(1994) J. Biol. Chem. 269:9090)；亦參見K. Keinänen；M. L. Laukkanen (1994) FEBS Lett. 346:123；J. J. Killion；I. J. Fidler (1994) Immunomethods 4:273。

本發明提供用於向有需要之個體投與包含單獨或與其他療法組合之本發明抗體或其片段的醫藥組合物之方案。本發明之組合療法的療法(例如預防或治療劑)可同時或連續投與個體。本發明之組合療法的療法(例如預防或治療劑)亦可循環投與。循環療法包含投與第一療法(例如第一預

防或治療劑)一段時間，接著投與第二療法(例如第二預防或治療劑)一段時間，且重複此順序投藥，亦即循環，以減少發展對該等療法(例如藥劑)之一的抗性，避免或減少該等療法(例如藥劑)之一的副作用，及/或提高該等療法之功效。

本發明之組合療法的療法(例如預防或治療劑)可同時投與個體。術語「同時」不限於療法(例如預防或治療劑)完全同時投與，而是意謂包含本發明之抗體或其片段的醫藥組合物以使本發明之抗體可與另一(其他)療法一起作用，得到比另外投與時增加之益處的順序及時間間隔投與個體。舉例而言，每一療法可同時或在不同時間點以任一次序連續投與個體；然而，若未同時投與，其應足夠時間接近地投與，以提供所需治療或預防作用。每一療法可以任何適當形式及藉由任何適合途徑分別投與個體。在多個實施例中，療法(例如預防或治療劑)相隔不足15分鐘、不足30分鐘、相隔不足1小時、相隔約1小時、相隔約1小時至約2小時、相隔約2小時至約3小時、相隔約3小時至約4小時、相隔約4小時至約5小時、相隔約5小時至約6小時、相隔約6小時至約7小時、相隔約7小時至約8小時、相隔約8小時至約9小時、相隔約9小時至約10小時、相隔約10小時至約11小時、相隔約11小時至約12小時、相隔24小時、相隔48小時、相隔72小時或1週投與個體。在其他實施例中，兩種或兩種以上療法(例如預防或治療劑)在同一次患者就診內投與。

組合療法之預防或治療劑可於同一醫藥組合物中投與個體。或者，組合療法之預防或治療劑可於各別醫藥組合物中同時投與個體。預防或治療劑可藉由相同或不同投藥途徑投與個體。

已充分描述本發明，其藉由以下實例及申請專利範圍進一步說明，實例及申請專利範圍為例示性的且不意謂進一步限制。

實例

實例1：方法、材料及抗體篩選

(i)細胞株

BXPC-3、SK-Br-3、BT-474、MDA-MB-453、FaDu及MCF-7細胞株購自ATCC且通常維持於補充有10%胎牛血清(FBS)之生長培養基中。

(ii)產生重組人類、食蟹獼猴、小鼠及大鼠HER3載體

鼠類HER3細胞外域自小鼠腦cDNA (Clontech)進行PCR擴增，且藉由與Refseq NM_010153比較來驗證序列。大鼠HER3 ECD自大鼠-2細胞mRNA反轉錄，且藉由與NM_017218比較來驗證序列。食蟹獼猴HER3 cDNA模板使用來自各種食蟹獼猴組織之RNA (Zyagen Laboratories)產生，且RT PCR產物選殖至pCR[®]-TOPO-XL (Invitrogen)中，接著對兩股測序。人類HER3來源於人類胎腦cDNA文庫(Source)且藉由與NM_001982比較來驗證序列。

為產生經標記之重組蛋白，人類、小鼠、大鼠及食蟹獼猴HER3使用Pwo Taq聚合酶(Roche Diagnostics)進行PCR擴

增。擴增之PCR產物經凝膠純化，且選殖至pDonR201 (Invitrogen)通路入口載體，該載體預先經修飾，以包括同框N端CD33前導序列及C端標籤，例如FLAG標籤。標籤允許經由抗標籤單株抗體純化單體蛋白。標靶基因側接AttB1及AttB2，允許使用Gateway[®]選殖技術(Invitrogen)重組於Gateway改造之專用目的載體(例如pcDNA3.1)中。重組反應使用與含有CMV啟動子之專用目的載體之Gateway LR反應執行，產生標籤表現載體，不過可使用任何市售載體。

產生其他重組HER3蛋白，其在C端因子X裂解位點及人類IgG鉸鏈及Fc域之上游稠合HER3 ECD，產生Fc標記之蛋白質。為實現此，各種HER3 ECD經PCR擴增及選殖至經修飾以含有因子X位點-鉸鏈-hFc之同框C端融合物的載體(例如pcDNA3.1)中。所產生之開放閱讀框架側接AttB1及AttB2位點，以用Gateway[®]重組選殖技術(Invitrogen)進一步選殖。LR Gateway反應用以將HER3-Fc轉移至含有CMV啟動子之目的表現構築體中。HER3點突變表現構築體使用標準定點突變誘發方案產生且驗證所得載體序列。

表 8. 產生 HER3 表現載體。HER3 胺基酸編號基於 NP_001973 (人類)、NP_034283 (小鼠)及 NP_058914 (大鼠)。

名稱	描述
人類HER3	CD33-[人類HER3殘基20-640]-標籤
鼠類HER3	CD33-[鼠類HER3殘基20-643]-標籤

大鼠HER3	CD33-[大鼠HER3殘基20-643]-標籤
食蟹獼猴HER3	CD33-[食蟹獼猴HER3殘基20-643]-標籤
HER3 D1-2	CD33-[人類HER3殘基20-329]-標籤
HER3 D2	CD33-[人類HER3殘基185-329]-標籤
HER3 D3-4	CD33-[人類HER3殘基330-643]-標籤
HER3 D4	CD33-[人類HER3殘基496-643]-標籤
人類HER3-Fc	[人類HER3殘基1-643]-Fc
鼠類HER3-Fc	[鼠類HER3殘基1-643]-Fc
食蟹獼猴HER3-Fc	[食蟹獼猴HER3殘基1-643]-Fc
大鼠HER3-Fc	[大鼠HER3殘基1-643]-Fc
HER3 D2-Fc	[人類HER3殘基207-329]-Fc
HER3 K267A	CD33-[人類HER3殘基20-640 K267A]-標籤
HER3 L268A	CD33-[人類HER3殘基20-640 L268A]-標籤
HER3 K267A/L268A	CD33-[人類HER3殘基20-640 K267A/L268A]-標籤

(iii) 表現重組HER3蛋白

所需HER3重組蛋白在HEK293來源細胞株中表現，該等細胞株預先適應於懸浮培養且在Novartis專用無血清培養基中生長。小規模表現驗證在短暫6孔盤轉染分析中，基於脂質轉染進行。大規模蛋白質產生經由短暫轉染進行，且在Wave™生物反應器系統(Wave Biotech)中以10-20 L規模進行。DNA聚乙炔亞胺(Polysciences)用作質體載劑，比率為1:3 (w:w)。細胞培養上清液在轉染後7-10天收穫，且藉由橫流式過濾及透濾來濃縮，接著純化。

(iv) 經標記之蛋白質純化

重組標記HER3蛋白(例如標籤-HER3)藉由收集細胞培養上清液且藉由用10 kDa截止過濾器(Fresenius)進行橫流式過濾濃縮10倍來純化。抗標籤管柱藉由以每毫升樹脂10

mg 抗體之最終比率將抗標籤單株抗體偶合於 CNBr 活化之瓊脂糖凝膠 4B 來製備。濃縮上清液以 1-2 毫升/分鐘之流速施加於 35 ml 抗標籤管柱。用 PBS 基線洗滌後，結合物質用 100 mM 甘胺酸 (pH 2.7) 溶離，中和且無菌過濾。蛋白質濃度藉由量測 280 nm 下吸光率且使用 0.66 AU/mg 之理論係數轉換來確定。經純化之蛋白質最後藉由 SDS-PAGE、N 端測序及 LC-MS 表徵。

(v) Fc 標籤純化

濃縮細胞培養上清液以 1 毫升/分鐘之流速施加於 50 ml 蛋白 A 瓊脂糖凝膠快速流動管柱 (Protein A Sepharose Fast Flow column)。用 PBS 基線洗滌後，管柱用 10 管柱體積 10 mM NaH_2PO_4 /30% (v/v) 異丙醇 (pH 7.3)，接著 5 管柱體積 PBS 洗滌。最後，結合物質用 50 mM 檸檬酸鹽/140 mM NaCl (pH 2.7) 溶離，中和且無菌過濾。

(vi) 產生過度表現細胞株

為產生在細胞表面上表現高含量 HER3 之細胞株，構築在同框稠合於人類 EGFR 之胺基酸殘基 669-1210 的人類 HER3 之胺基酸殘基 20-667 之上游含有編碼 CD33 前導序列之插入物的哺乳動物表現載體。當在哺乳動物細胞中表現時，所得嵌合蛋白質含有 N 端 HER3 細胞外及跨膜域及 C 端 EGFR 細胞質域。HER3/1 載體轉染至 CHO-S 細胞 (Invitrogen) 中且在抗生素選擇後產生穩定池。所得細胞株 (CHO HER3/1) 在其細胞表面上表現高含量之 HER3 細胞外域。

(vii) HuCAL GOLD® 淘選

為選擇識別人類HER3之抗體，採用多重淘選策略。針對人類HER3蛋白之治療抗體藉由選擇具有高結合親和力之純系，使用市售噬菌體呈現文庫MorphoSys HuCAL GOLD®文庫作為抗體變異蛋白質之來源產生。噬菌體文庫係基於HuCAL®概念(Knappik等人，(2000) J Mol Biol 296:57-86)，且採用CysDisplay®技術在噬菌體表面上呈現Fab (Lohning之WO 01/05950)。

為分離抗-HER3抗體，使用固相、溶液、全細胞及差分全細胞淘選方法，執行標準以及RapMAT淘選策略。

(viii) 固相淘選

為鑑別抗-HER3抗體，使用不同重組HER3蛋白，執行多種固相淘選策略。為執行每一輪固相淘選，Maxisorp盤(Nunc)用HER3蛋白塗佈。標記之蛋白質使用預先用抗-Fc (山羊或小鼠抗人類IgG，Jackson Immuno Research)、抗標籤抗體塗佈之盤捕捉，或經由被動吸附捕捉。經塗佈之盤用PBS洗滌且阻斷。經塗佈之盤再次用PBS洗滌，接著在室溫下添加HuCAL GOLD®噬菌體-抗體於震盪器上2小時。結合噬菌體溶離，添加至大腸桿菌TG-1中，且培育用於噬菌體感染。隨後感染細菌分離且塗鋪在瓊脂盤上。群落自盤刮去且援救噬菌體並擴增。每一HER3淘選策略包含個別輪淘選且含有獨特的抗原、抗原濃度及洗滌嚴格性。

(ix) 溶液相淘選

每一輪溶液相淘選使用各種生物素標記之重組HER3蛋白，在神經調節蛋白1- β 1 (R&D Systems)存在或缺乏下執行。蛋白質使用EZ-link磺酸基-NHS-LC生物素標記套組(Pierce)，根據製造商之說明書進行生物素標記。800 μ l抗生蛋白鏈菌素連接之磁性珠粒(Dynabeads, Dynal)用PBS洗滌一次且用Chemiblocker (Chemicon)阻斷隔夜。HuCAL GOLD[®]噬菌體-抗體及適當生物素標記HER3在反應管中培育。抗生蛋白鏈菌素磁性珠粒經20分鐘添加且用磁性粒子分離器(Dynal)收集。結合噬菌體藉由添加含有DTT之緩衝液至每一管自Dynabead溶離，且添加至大腸桿菌TG-1中。噬菌體感染以與固相淘選中描述一致之方式執行。每一HER3淘選策略包含個別輪淘選且含有獨特的抗原、抗原濃度及洗滌嚴格性。

(x) 基於細胞之淘選

對於細胞淘選，HuCAL GOLD[®]噬菌體-抗體與約 10^7 個細胞一起在旋轉器上在室溫下培育2小時，接著離心。細胞集結粒分離，噬菌體自細胞溶離。收集上清液且添加至大腸桿菌TG-1培養物中，藉由上述過程繼續。兩個基於細胞之策略用以鑑別抗-HER3抗體：

- a) 全細胞淘選：在此策略中，多種完整細胞株用作抗原。
- b) 差分全細胞淘選：在此策略中，抗原連續由細胞及重組HER3蛋白組成(參見1981.09作為實例)。基於細胞之淘選如上所述執行，同時當利用重組蛋白作為

抗原時採用固相淘選方案。洗滌使用PBS (2-3次)及PBST (2-3次)進行。

(xi) RapMAT™文庫產生及淘洗

為提高抗體結合親和力，同時維持文庫多樣性，溶液與固相淘選之第二輪產出物進入RapMAT™製程，同時全細胞及差分全細胞淘選策略之第三輪產出物進入(Prassler等人，(2009) Immunotherapy; 1: 571-583)。RapMAT™文庫藉由將經由淘選選擇之噬菌體的Fab編碼插入物次選殖至呈現載體pMORPH®25_bla_LHC中產生，且藉由使用特定限制酶進一步消化，產生H-CDR2 RapMAT™文庫及L-CDR3 RapMAT™文庫。根據池組合物，針對H-CDR2或L-CDR3，插入物經TRIM成熟卡匣置換(Virnekas等人，(1994) Nucleic Acids Research 22:5600- 5607)。文庫尺寸估計介於 8×10^6 - 1×10^8 個純系之間。產生RapMAT抗體-噬菌體且使用先前描述之實驗方法，經受另外兩輪溶液、固相或基於細胞之淘選。

實例2：抗-HER3 IgG之短暫表現

懸浮適應之HEK293-6E細胞在BioWave20中培養至約 2×10^6 個活細胞/毫升之密度。該等細胞用相關無菌DNA:PEI混合物短暫轉染且進一步培養。轉染後七天，細胞藉由使用Fresenius過濾器(0.2 μ m)橫流式過濾來移除。無細胞物質藉由使用10 kDa截止過濾器(Fresenius)橫流式過濾來濃縮，且濃縮物經由stericup過濾器(0.22 μ m)無菌過濾。無菌上清液儲存在4°C下。

實例 3：純化抗-HER3 IgG

在冷卻櫃中 6°C 下之 ÄKTA 100 explorer Air 層析系統上，使用 XK16/20 管柱，利用 25 mL 自填充 MabSelect SuRe 樹脂 (均來自 GE Healthcare)，純化 IgG。除負載外，所有流速均為 3.5 mL/min，在 5 巴 (bar) 之壓力極限下。管柱用 3 管柱體積 PBS 平衡，接著以 2.0 mL/min 負載過濾之醱酵上清液。管柱用 8 管柱體積 PBS 洗滌。IgG 用始於 50 mM 檸檬酸鹽 / 70 mM NaCl (pH 4.5)，在 12 管柱體積中線性降至 50 mM 檸檬酸鹽 / 70 mM NaCl (pH 2.5)，接著 2 管柱體積相同 pH 2.5 緩衝液之恆定步驟的 pH 梯度溶離。含有 IgG 之溶離份彙集且立刻中和及無菌過濾 (Millipore Steriflip, 0.22 μ m)。量測 OD₂₈₀ 且蛋白質濃度基於序列資料計算。分別測試該等池的聚集 (SEC-MALS) 及純度 (SDS-PAGE 及 MS)。

實例 4：大腸桿菌中 HuCAL®-Fab 抗體之表現及純化

在使用 500 mL 補充有 34 μ g/mL 氯胺苯醇 (chloramphenicol) 之 2x YT 培養基的搖瓶培養物中進行 TG-1 細胞中 pMORPH®X9_Fab_MH 編碼之 Fab 片段之表現。培養物在 30°C 下震盪，直至 OD_{600nm} 達到 0.5。藉由在 30°C 下經 20 小時添加 0.75 mM IPTG (異丙基- β -D-硫代半乳糖苷) 誘發表現。細胞使用溶菌酶破碎。經由 IMAC (Bio-Rad) 分離 His₆ 標記之 Fab 片段。使用 PD10 管柱，緩衝液交換為 1x 杜爾貝科 (Dulbecco) 之 PBS (pH 7.2)。樣品無菌過濾 (0.2 μ m)。蛋白質濃度藉由紫外線分光光度法測定。樣品之純度在變性、還原 15% SDS-PAGE 中分析。Fab 製劑

之均一性在天然狀態下藉由尺寸排阻層析(HP-SEC)，使用校準用標準來測定。

實例 5：藉由溶液平衡滴定(SET)量測 HER3 抗體親和力 (K_D)

溶液中親和力測定基本上如先前描述進行(Friguet 等人，(1985) J Immunol Methods 77:305-19)。為提高 SET 方法之靈敏度及精確性，其自經典 ELISA 轉換成基於 ECL 之技術(Haenel 等人，(2005) Anal biochem 339:182-84)。

先前描述之未標記 HER3-標籤(人類、大鼠、小鼠或食蟹獼猴)藉由 SET 測定親和力。

數據用 XLfit 軟體(ID Business Solutions)，應用定製之擬合模型評估。對於每一 IgG 之 K_D 測定，使用以下模型(根據 Piehler 等人 (Piehler 等人，(1997) J Immunol Methods 201:189-206)修飾)。

$$y = \frac{2B_{\max}}{[IgG]} \left[\frac{[IgG]}{2} - \frac{\left(\frac{x + [IgG] + K_D}{2} - \sqrt{\frac{(x + [IgG] + K_D)^2}{4} - x[IgG]} \right)^2}{2[IgG]} \right]$$

[IgG]：應用之總 IgG 濃度

x：應用之總可溶性抗原濃度(結合位點)

$B_{\max}$ ：無抗原下 IgG 之最大信號

K_D ：親和力

實例 6：藉由 FACS 測定抗體細胞結合

藉由 FACS 評估抗體對在人類癌細胞上表現之內源性人

類抗原的結合。為測定抗體 EC_{50} 值，用 accutase 收穫 SK-Br-3 細胞，且在 FACS 緩衝液 (PBS/3% FBS/0.2% NaN_3) 中稀釋至 1×10^6 個細胞/毫升。 1×10^5 個細胞/孔添加至 96 孔盤 (Nunc) 之每一孔，且在 4°C 下在 210 g 下離心 5 分鐘，接著移除上清液。測試抗體之連續稀釋液 (用 FACS 緩衝液以 1:4 稀釋級稀釋) 添加至粒化細胞中且在冰上培育 1 小時。細胞用 100 μL FACS 緩衝液洗滌且粒化 3 次。用 FACS 緩衝液 1/200 稀釋之 PE 結合之山羊抗人類 IgG (Jackson ImmunoResearch) 添加至細胞中且在冰上培育 1 小時。其他洗滌步驟用 100 μL FACS 緩衝液進行 3 次，接著在 4°C 下在 210 g 下進行離心步驟 5 分鐘。最後，細胞再懸浮於 200 μL FACS 緩衝液中且用 FACSArray (BD Biosciences) 量測螢光值。細胞表面結合之抗-HER3 抗體之量藉由量測平均通道螢光來評估。

實例 7：HER3 域及突變體結合

96 孔 Maxisorp 盤 (Nunc) 在 4°C 下用 200 ng 適當重組人類蛋白質 (HER3-標籤、D1-2-標籤、D2-標籤、D3-4-標籤、D4-標籤、HER3 K267A-標籤、HER3 L268A-標籤、HER3 K267A/L268A 及標記之不相關對照) 塗佈隔夜。所有孔接著用 PBS/0.1% Tween-20 洗滌 3 次，用 PBS/1% BSA/0.1% Tween-20 阻斷 1 小時且用 PBS/0.1% Tween-20 洗滌 3 次。抗-HER3 抗體添加至相關孔中，達 10 $\mu\text{g/mL}$ 之最終濃度，添加至適當孔中且在室溫下培育 2 小時。盤用 PBS/0.1% Tween-20 洗滌 3 次，接著添加在 PBS/1% BSA/0.1% Tween-

20 中 1/10000 稀釋之適當過氧化酶連接之偵測抗體。所用偵測抗體為山羊抗小鼠 (Pierce, 31432)、兔抗山羊 (Pierce, 31402) 及山羊抗人類 (Pierce, 31412)。盤在室溫下培育 1 小時，接著用 PBS/0.1% Tween-20 洗滌 3 次。100 μ l TMB (3,3', 5,5'-四甲基聯苯胺) 受質溶液 (BioFx) 添加至所有孔中，歷時 6 分鐘，接著用 50 μ l 2.5% H_2SO_4 停止反應。藉由使用 SpectraMax 盤式讀數器 (Molecular Devices) 量測 OD_{450} 來確定 HER3 抗體結合於每一重組蛋白質之程度。適當時，使用 Graphpad Prism 分析劑量反應曲線。

實例 8：使用氫/氘交換質譜分析定位 HER3 抗原決定基

材料

藉由 25 mM TBS (pH 7.5)/500 mM NaCl 溶解於重水 (Sigma) 中來製備 D_2O 緩衝液。還原溶液為 50 mM 甲酸鹽緩衝液 (pH 4)、500 mM TCEP，且淬滅溶液為 0.5% (v/v) 三氟乙酸 (TFA) 水溶液。緩衝液 A 為含 0.25% 甲酸/10% 甲醇/10% 乙二醇之水，且緩衝液 B 為含 0.25% 甲酸之乙腈。全部化學物質均購自 Sigma，且 HPLC 梯度溶劑來自 Fisher Scientific。

液體處理及層析

基於 Wales 等人，(2006) Anal. Chem. 78:1005-1014 描述之方法及設備，設計自動化氫-氘交換質譜分析 (HDX MS) 實驗。簡而言之，全部液體處理操作均使用 Pal HTS 液體處理機 (LEAP Technologies) 進行，該處理機放在維持於 2°C 下之冷凍盒子中。6 通注射閥及洗滌台安裝在液體處理

機軌道上且促進樣品注射至層析系統中及注射器洗滌。層析系統由另一10通閥、2.1 mm×30 mm Poroszyme胃蛋白酶管柱(Applied Biosystems)、逆相0.5 mm×2 mm Cap Trap濾筒(Michrom Bioresources)及自填充電噴霧發射器作為分析管柱(100 μ m×約60 mm, Kinetex 2.6 μ m C18, Phenomenex)組成。10通閥頭部、截留濾筒及分析管柱放在由鋁構造之另一盒子中，且藉由帕爾貼堆(peltier stack)維持在-5°C下。閥及管柱以在樣品引入質譜儀(LTQ-Orbitrap, Thermo Scientific)之電噴霧電離(ESI)源前線上蛋白質消化、肽脫鹽及逆相層析之方式組態。

操作需要之流體流由兩個獨立HPLC泵提供。第一HPLC(Surveyor MS泵, Thermo Scientific)以125 μ L/min之恆定流速遞送緩衝液A，且用以轉移樣品穿過固定胃蛋白酶濾筒，至交叉安裝在10通閥上之逆相截留濾筒上。負載及脫鹽期後，切換10通閥以藉助於梯度泵(AQUITY UPLC, Waters)自逆相截留濾筒溶離樣品，穿過分析管柱且至質譜儀之離子源中。固定酶濾筒分離，以在梯度溶離期間廢棄。梯度泵遞送5 μ L/min下經35分鐘0至40%移動相B及5 μ L/min下經10分鐘40%至95%流動相B之線性梯度區段。來自泵之梯度流在10通閥下使用被動分離機分離，以便穿過截留濾筒及分析管柱進行梯度溶離之實際流速為約1 μ L/min。整個層析操作長70分鐘，包括洗滌及平衡步驟。

質譜分析

為鑑別由線上消化產生之蛋白水解片段，進行若干數據

相關之MS/MS實驗。對於此等獲取，用LTQ-Orbitrap混合質譜儀之LTQ分析器獲取串聯MS譜。前驅體質量選擇係基於藉由Orbitrap分析器獲取之MS掃描。為測定氙化程度而執行之單級MS獲取藉由Orbitrap (超過 m/z 400-2000)分析器以60,000之解析度獲取。

製備蛋白質及蛋白質:Fab複合物

HER3蛋白藉由用25 mM TBS (pH 7.5)/500 mM NaCl稀釋50 μg HER3-標籤得到50 μL 之最終體積來製備。蛋白質:Fab複合物藉由將50 μg HER3-標籤以1:1莫耳比與所研究之Fab混合來製備。蛋白質:Fab混合物接著用25 mM TBS (pH 7.5)/500 mM NaCl稀釋至50 μL 最終體積。

製備蛋白質:Fab複合物且使其在4°C下培育至少2小時。在每一實驗開始前，含有樣品、稀釋劑、淬滅及還原溶液之四個96孔盤負載至液體處理機中。對於交換實驗，50 μL HER3或HER3:Fab複合物用150 μL D₂O緩衝液稀釋。混合物藉由經1分鐘添加200 μL 還原緩衝液來還原，接著用600 μL 淬滅緩衝液淬滅。所有液體處理步驟後總體積為約1 mL。一旦混合，淬滅之溶液即注射至層析系統中，在層析系統中其自動消化、分離及藉由LCMS分析。樣品與對照之間的平均氙化變化計算為樣品與對照之氙吸收程度之間的差異。

數據加工

Orbitrap RAW檔案使用內部程式(RawXtract)轉變為mzXML檔案。隨後，串聯MS獲取使用SEQUEST (Yates

Lab, Scripps Research Institute, La Jolla, CA)搜索且搜索結果使用 DTASelect 2.0 (Yates Lab, Scripps Research Institute, La Jolla, CA)自動過濾。使用肽序列鑑別，內部書寫程式用以自動提取每一鑑別序列之單離子層析譜且產生整個層析峰的平均譜。使平均譜平滑且形心化。氘吸收程度計為氘化樣品與非氘化參考之間的質量差異。加工之數據人工驗證且調整以校正來自自動化加工步驟之誤差及錯誤。藉由氘含量離域在每一肽上(亦即觀測到之氘化程度除以該肽中胺基酸數目)，將氘吸收程度分配給蛋白質序列之每一殘基。若殘基為一個以上肽覆蓋，則對覆蓋該殘基之所有肽的校正氘吸收求平均值。

實例9：人類HER3/MOR09823 Fab及人類HER3/MOR09825 Fab複合物之X射線晶體結構測定

本實例呈現結合於MOR09823之Fab片段及MOR09825之Fab片段的全長HER3之晶體結構，分別在3.2Å及3.4Å解析度下測定。標記之人類HER3在於PBS (pH 7.3)中平衡之HiLoad 26/60 Superdex 200 PrepGrade管柱(GE Healthcare)上進一步純化。大腸桿菌表現之MOR09823及MOR09825 Fab藉由用溶菌酶溶解細胞來分離且His₆標記之Fab片段在HisTrap_HP (GE Healthcare)管柱上捕捉。MOR09823 Fab-片段藉由凝膠過濾層析，使用在25 mM Tris (pH 7.5)、150 mM NaCl中平衡之Superdex 75 16/60管柱(GE Healthcare)進一步純化。

HER3 Fab複合物藉由將過量Fab與標記HER3以1.3-1.8:1

之莫耳比混合(濃度藉由280 nm下吸光率，針對HER3及Fab，分別使用0.9及1.4 (mg/ml)⁻¹cm⁻¹之計算消光係數來估算)且在於25 mM Tris (pH 7.5)、150 mM NaCl中平衡之Superdex 200 10/300管柱(GE Healthcare)上純化複合物來製備。峰溶離份藉由SDS-PAGE及LCMS分析。對於每一複合物，含有近似等莫耳比率之HER3與Fab的溶離份彙集且濃縮。HER3/MOR09823晶體在293K下，藉由自含有150 nl HER3/MOR09823複合物及150 nl儲集溶液(100 mM檸檬酸鈉(pH 5.6)、20% PEG 4000及20%異丙醇)之液滴沉滴蒸氣擴散而生長。晶體轉移至含有另外8%甘油之儲集溶液中且在液氮中急驟冷卻。HER3/MOR09825晶體在293K下，藉由自含有150 nl HER3/MOR09825複合物及150 nl儲集溶液(100 mM bis-tris (pH 6.5)、16% PEG 10,000)之液滴沉滴蒸氣擴散而生長。晶體轉移至100 mM bis-tris (pH 6.5)、18% PEG 10,000及22%甘油中且在液氮中急驟冷卻。

數據在Advanced Photon Source (Argonne National Laboratory)於束線17-ID下收集。HER3/MOR09823 Fab複合物數據使用HKL2000 (HKL Research Inc)，在空間群I222中，晶胞尺寸為a=124.16 Å、b=139.44 Å、c=180.25 Å下，使用優良統計法，在3.2Å下加工及換算。HER3/MOR09823 Fab結構藉由分子置換，使用相位器(Phaser)(McCoy等人，(2007) J. Appl. Cryst. 40:658-674)，以Fab之片段及公開ER3 ECD結構1mb6為搜索模型來解析。最終模型每一不對稱單元含有1分子HER3/MOR09823 Fab複合

物，在 COOT (Emsley & Cowtan (2004) *Acta Cryst.* 60:2126-2132)中建立，且鍵長及鍵角分別使用 0.010 Å及 1.37°之rmsd，使用 BUSTER (Global Phasing, LTD)，細化至分別 19.0% 及 24.5% 之 R 及 R_{free} 值。如 PyMOL (Schrödinger, LLC)中所鑑別，含有在 MOR09823 Fab 中任一原子之 5Å 內之原子的 HER3 殘基在表 11 及 12 中列出。HER3/MOR09825 Fab 複合物數據使用 autoPROC (Global Phasing, LTD)，在空間群 I222 中，晶胞尺寸為 $a=124.23$ Å、 $b=140.94$ Å、 $c=180.25$ Å 下，使用優良統計法，在 3.4 Å 下加工及換算。HER3/MOR09825 Fab 結構藉由分子置換，使用相位器 (McCoy 等人，(2007) *J. Appl. Cryst.* 40:658-674)，以 HER3/MOR09823 Fab 結構作為搜索模型來解析。最終模型每一不對稱單元含有 1 分子 HER3/MOR09825 Fab 複合物，在 COOT (Emsley & Cowtan (2004) *Acta Cryst.* 60:2126-2132)中建立，且鍵長及鍵角分別使用 0.009 Å 及 1.21° 之 rmsd，使用 BUSTER (Global Phasing, LTD)，細化至分別 18.8% 及 24.9% 之 R 及 R_{free} 值。如 PyMOL (Schrödinger, LLC)中所鑑別，含有在 MOR09825 Fab 中任一原子之 5Å 內之原子的 HER3 殘基在表 13 及 14 中列出。

實例 10：磷酸化 HER3 之活體外細胞分析

MCF-7 細胞通常維持於 DMEM/F12、15 mM HEPES、L-麩醯胺酸、10% FCS 中，且 SK-Br-3 維持於 McCoy's 5a、10% FCS、1.5 mM L-麩醯胺酸中。在完全培養基中生長之未匯合 MCF7 或 SK-Br-3 細胞用 accutase (PAA Laboratories)

收穫且再懸浮於適當生長培養基中，最終濃度為 5×10^5 個細胞/毫升。100 μ L細胞懸浮液接著添加至96孔平底盤(Nunc)之每一孔中，得到 5×10^4 個細胞/孔之最終密度。使MCF7細胞附著約3小時，接著培養基交換為含有0.5% FBS之饑餓培養基。所有盤接著在37°C下培育隔夜，接著在37°C下用適當濃度之HER3抗體(在適當培養基中稀釋)處理80分鐘。MCF7細胞用50 ng/mL神經調節蛋白1- β 1 EGF域(R&D Systems)處理最後20分鐘，以刺激HER3磷酸化。全部培養基輕輕吸出且細胞用含有1 mM CaCl_2 及0.5 mM MgCl_2 之冰冷PBS (Gibco)洗滌。細胞藉由添加50 μ L冰冷溶解緩衝液(20 mM Tris (pH 8.0)/137 mM NaCl/10%甘油/2 mM EDTA/1% NP-40/1 mM 原鈣酸鈉/抑蛋白酶肽(Aprotinin)(10 μ g/mL)/抗纖維蛋白溶酶肽(Leupeptin)(10 μ g/mL))溶解且在冰上在震盪下培育30分鐘。接著收集溶解產物且在4°C下在1800 g下離心15分鐘以移除細胞碎片。20 μ L溶解產物添加至預先製備之捕捉盤中。

HER3捕捉盤使用碳盤(Mesoscale Discovery)，在4°C用在PBS中稀釋之20 μ L 4 μ g/mL MAB3481捕捉抗體(R&D Systems)塗佈隔夜產生，隨後用含3%牛血清白蛋白之1x Tris緩衝液(Mesoscale Discovery)/0.1% Tween-20阻斷。藉由在室溫下在震盪下培育盤1小時，自溶解產物捕捉HER3，接著吸出溶解產物且孔用1x Tris緩衝液(Mesoscale Discovery)/0.1% Tween-20洗滌。磷酸化HER3使用0.75 μ g/mL在1% BSA/1x Tris/0.1% Tween-20中製備之生物素標

記抗磷酸化酪胺酸抗體(R&D Systems)，藉由在室溫下在震盪下培育1小時來偵測。該等孔用1x Tris/0.1% Tween-20洗滌4次，且生物素標記蛋白質藉由與在1% BSA/1x Tris/0.1% Tween-20中稀釋之S-Tag標記之抗生蛋白鏈菌素(Mesoscale Discovery)一起在室溫下培育1小時來偵測。每一孔吸出且用1x Tris/0.1% Tween-20洗滌4次，接著添加20 μ L具有界面活性劑之讀取緩衝液T (Mesoscale Discovery)且使用Mesoscale Sector成像器定量信號。抗體MOR06391或MOR03207作為同型對照包括在信號傳導實驗中。

實例11：磷酸化Akt (S473)之活體外細胞分析

在完全培養基中生長之未匯合SK-Br-3及BT-474細胞用accutase (PAA Laboratories)收穫且再懸浮於適當生長培養基中，最終濃度為 5×10^5 個細胞/毫升。100 μ L細胞懸浮液接著添加至96孔平底盤(Nunc)之每一孔中，得到 5×10^4 個細胞/孔之最終密度。所有盤接著在37°C下培育隔夜，接著在37°C下用適當濃度之HER3抗體(在適當培養基中稀釋)處理80分鐘。全部培養基輕輕吸出且細胞用含有1 mM CaCl_2 及0.5 mM MgCl_2 之冰冷PBS (Gibco)洗滌。細胞藉由添加50 μ L冰冷溶解緩衝液(20 mM Tris (pH 8.0)/137 mM NaCl/10%甘油/2 mM EDTA/1% NP-40/1 mM原鈣酸鈉/抑蛋白酶肽(10 μ g/mL)/抗纖維蛋白溶酶肽(10 μ g/mL))溶解且在冰上在震盪下培育30分鐘。接著收集溶解產物且在4°C下在1800 g下離心15分鐘以移除細胞碎片。20 μ L溶解產物添加至多點384孔磷酸化Akt碳盤(Mesoscale Discovery)中，

該碳盤已預先用3% BSA/1x Tris/0.1% Tween-20阻斷。盤在室溫下在震盪下培育2小時，接著吸出溶解產物且孔用1x Tris緩衝液(Mesoscale Discovery)/0.1% Tween-20洗滌4次。磷酸化Akt使用20 μ L在1% BSA/1x Tris/0.1% Tween-20中稀釋50倍之SULFO-TAG抗磷酸化Akt (S473)抗體(Mesoscale Discovery)，藉由在室溫下在震盪下培育2小時來偵測。該等孔用1x Tris/0.1% Tween-20洗滌4次，接著添加20 μ L具有界面活性劑之讀取緩衝液T (Mesoscale Discovery)且使用Mesoscale Sector成像器定量信號。抗體MOR06391或MOR03207作為同型對照包括在信號傳導實驗中。

實例12：細胞株增殖分析

SK-Br-3細胞通常培養在經改良之補充有10%胎牛血清的McCoy's 5A培養基中且BT-474細胞培養在補充有10% FBS之DMEM中。未匯合細胞以胰蛋白酶處理，用PBS洗滌，用生長培養基稀釋至 5×10^4 個細胞/毫升且以5000個細胞/孔之密度塗鋪在96孔透明底黑色盤(Costar 3904)中。細胞在37°C下培育隔夜，接著添加適當濃度之HER3抗體(典型最終濃度為10或1 μ g/mL)。盤回至培育箱中6天，接著使用CellTiter-Glo (Promega)評估細胞活力。100 μ L CellTiter-Glo溶液添加至每一孔中且在室溫下在輕輕震盪下培育10分鐘。使用SpectraMax盤式讀數器(Molecular Devices)確定發光之量。由每一抗體得到之生長抑制程度藉由將由每一HER3抗體得到之發光值與標準同型對照抗體

(MOR06391)比較來計算。

對於增殖分析，MCF-7細胞通常培養在含有4 mM L-麩醯胺酸/15 mM HEPES/10% FBS之DMEM/F12 (1:1)中。未匯合細胞以胰蛋白酶處理，用PBS洗滌，且用含有4 mM L-麩醯胺酸/15 mM HEPES/10 $\mu\text{g/mL}$ 人類轉鐵蛋白/0.2% BSA之DMEM/F12 (1:1)稀釋至 1×10^5 個細胞/毫升。細胞以5000個細胞/孔之密度塗鋪在96孔透明底黑色盤(Costar)。接著添加適當濃度之HER3抗體(典型最終濃度為10或1 $\mu\text{g/mL}$)。10 ng/mL NRG1- $\beta 1$ EGF域(R&D Systems)亦添加至適當孔中，以刺激細胞生長。盤回至培育箱中6天，接著使用CellTiter-Glo (Promega)評估細胞活力。由每一抗體得到之生長抑制程度藉由減去背景(無神經調節蛋白)發光值且將由每一抗-HER3抗體得到之所得值與標準同型對照抗體(MOR06391)比較來計算。

實例13：配位體阻斷細胞分析

在補充有10% FBS及1 $\mu\text{g/mL}$ 胰島素(Sigma)之MEM中培養之MCF-7細胞在少量FACSmax細胞解離緩衝液(Genlantis)中清洗及收集，接著添加5 mL FACS緩衝液(PBS/1% FBS/0.1%疊氮化鈉)。計數細胞密度且調至 1×10^6 個細胞/毫升之最終濃度。100 μL 細胞懸浮液添加至96孔盤之每一孔中且細胞經由離心(220 g, 3分鐘, 4°C)粒化。細胞集結粒再懸浮於100 μL 在FACS緩衝液中稀釋之適當測試抗體(典型最終抗體濃度在100至0.1 nM範圍)中且盤在冰上培育45分鐘。包括配位體阻斷抗體MAB3481 (R&D

Systems)作為陽性對照。細胞用染色緩衝液洗滌兩次，接著添加10 nM在FACS緩衝液中稀釋之NRG1- β 1 EGF域(R&D Systems)且在冰上培育45分鐘。細胞用染色緩衝液洗滌兩次，且結合之神經調節蛋白藉由將細胞與10 nM抗人類NRG1- β 1 EGF域抗體(R&D Systems)在冰上一起培育45分鐘來偵測。細胞用染色緩衝液洗滌兩次且與用FACS緩衝液1/500稀釋之PE連接之抗山羊抗體(Jackson ImmunoResearch)一起在冰上培育45分鐘。細胞接著經由離心粒化且集結粒再懸浮於200 μ L FACS緩衝液中。為定量每一樣品，在LSR II流動式細胞測量儀(BD Biosciences)上對10,000個活細胞計數，且藉由量測平均通道螢光來評估細胞表面結合之神經調節蛋白之量。

實例14：配位體阻斷生物化學分析

本發明之方法包括應用基於表面電漿共振(SPR)之生物感測器(BiacoreTM, GE Healthcare, Uppsala, Sweden)，以檢查HER3/抗體複合物結合神經調節蛋白之能力。

BiacoreTM利用表面電漿共振(SPR)現象來偵測及量測結合相互作用。在一典型Biacore實驗中，相互作用分子之一(神經調節蛋白)固定在基質上，同時相互作用搭配物(HER3)自表面上流過。結合相互作用引起感測器表面上質量增加且感測器表面附近之培養基的折射率相應直接改變。折射率或信號變化以共振單位(R.U.)記錄。由於複合物締合及解離而引起之信號變化以非侵入性方式，連續及即時監測，其結果以感測器圖譜之形式報導。

Biacore™ T100 (GE Healthcare, Uppsala, Sweden)用以進行本文中報導之所有實驗。感測器表面製備及相互作用分析在 25°C 下進行。緩衝液及 Biacore 試劑購自 GE Healthcare。含有 10 mM Hepes (pH 7.4)/150 mM NaCl、0.05% P20、0.5% BSA之操作緩衝液用於整個分析中。

NRG-1β1細胞外域(R&D Systems)與EZ-link磺酸基-NHS-LC-LC-生物素(Pierce)以5:1之莫耳比在冰上培育45分鐘。反應經由添加過量乙醇胺淬滅，且未偶合之生物素使用脫鹽離心管柱(Zeba)自生物素標記NRG移除。生物素標記NRG捕捉至用約3000 R.U. ssDNA-抗生蛋白鏈菌素(Biotin CAPture套組)預先固定之感測器晶片CAP上，得到在400-600 R.U.範圍內之神經調節蛋白表面密度。參考流槽藉由自注射步驟省略生物素標記NRG，使得僅ssDNA-抗生蛋白鏈菌素存在於流槽表面上產生。

HER3/抗體複合物藉由將10 nM人類HER3-Fc與遞增濃度(0-50 nM)之適當測試抗體一起在室溫下培育15分鐘，接著在Biacore™中在10°C下培育產生。相互作用分析藉由以60 μL/min之流速連續注射HER3/抗體複合物在參考及神經調節蛋白表面上180秒來進行，在60 μL/min之流速下監測複合物解離180秒。表面再生在每一分析循環結束時，使用在30 μL/min之流速下120秒注射8M胍:1M NaOH (3:1)，接著120秒注射30%乙腈/0.25 M NaOH進行。

實例15：活體內PD研究

如實例16及17中所描述，培養BxPC3及BT-474細胞且植

入雌性無胸腺 nu/nu Balb/C 小鼠 (Harlan Laboratories) 中。

一旦腫瘤達到適當尺寸，即檢查動物之腫瘤品質。腫瘤潰爛之動物或腫瘤充滿流體之動物自研究中排除。剩餘動物經由側面尾靜脈注射，靜脈內給與抗體。在既定時間點，動物經由 CO₂ 窒息處死，且經由心臟穿刺收集全血並置於 1.5 mL Eppendorf 收集管中。腫瘤組織立刻解剖，置於有螺旋蓋之聚丙烯樣品管中且在液氮中瞬間冷凍。組織儲存在 -80°C 下，直至溶解產物製備。

實例 16：活體內 BT-474 功效研究

BT-474 細胞在含有 10% 熱滅活胎牛血清且不含抗生素之 DMEM 中培養，直至植入時間。

細胞接種前一天，雌性無胸腺 nu/nu Balb/C 小鼠 (Harlan Laboratories) 皮下植入持續釋放之 17 β -雌二醇集結粒 (Innovative Research of America) 以維持血清雌激素含量。植入 17 β -雌二醇集結粒後一天，5 $\times 10^6$ 個細胞於含有 50% 無酚紅基質膠 (BD Biosciences) 於漢克平衡鹽溶液 (Hank's balanced salt solution) 中之懸浮液中正位注射至第 4 乳腺脂肪墊中。含有細胞於懸浮液中之總注射體積為 200 μ L。細胞植入後 20 天，腫瘤體積為約 200 mm³ 之動物入選功效研究。一般而言，每組共 10 隻動物入選功效研究。

對於單一藥劑研究，動物經由側面尾靜脈注射，靜脈內給與 MOR10701 或 MOR10703。第一次給藥給與 40 mg/kg 之起始劑量。初次給藥後，動物處於每隔一天 20 mg/kg 之時程，歷時整個研究時間。對於組合研究，動物給與

MOR10701或MOR10703 (20 mg/kg，靜脈內，2天1次)及次最佳劑量之曲妥珠單抗(1 mg/kg，靜脈內，一週2次)。

對於整個研究時間，腫瘤體積藉由每週測徑規量測2次來量測。使用下式計算處理/對照百分比(T/C)值：

$$\% T/C = 100 \times \Delta T / \Delta C \quad (\Delta T > 0 \text{ 時})$$

其中：

T=研究最後一天經藥物處理之組的平均腫瘤體積；

ΔT =研究最後一天經藥物處理之組的平均腫瘤體積-給藥起始之日經藥物處理之組的平均腫瘤體積；

C=研究最後一天對照組的平均腫瘤體積；且

ΔC =研究最後一天對照組的平均腫瘤體積-給藥起始之日對照組的平均腫瘤體積。

體重每週量測兩次且劑量根據體重調整。體重變化%計算為 $(BW_{\text{目前}} - BW_{\text{起始}}) / (BW_{\text{起始}}) \times 100$ 。數據呈現為自處理開始之日起的體重變化百分比。

所有數據均表示為平均值±平均值標準誤差(SEM)。Δ腫瘤體積及體重用於統計分析。使用單因子ANOVA，接著事後杜凱氏(post hoc Tukey)進行組間比較。對於所有統計學評價，顯著性水準定在 $p < 0.05$ 。報導與媒劑對照組相比之顯著性。

實例 17：活體內 BxPC3 功效研究

BxPC3細胞在含有10%熱滅活胎牛血清且不含抗生素之RPMI-1640培養基中培養，直至植入時間。

雌性無胸腺nu/nu Balb/C小鼠(Harlan Laboratories)皮下

植入含 10×10^6 個細胞之 50% 磷酸鹽緩衝鹽水與 50% 基質膠之混合物。含有細胞於懸浮液中之總注射體積為 200 μL 。一旦腫瘤尺寸達到約 200 mm^3 ，動物即入選功效研究。一般而言，每組共 10 隻動物入選研究。若動物在入選之前顯示異常的腫瘤生長特徵，則其不入選。

動物經由側面尾靜脈注射，靜脈內給藥。第一次給藥給與 40 mg/kg 之起始劑量。初次給藥後，動物處於每隔一天 20 mg/kg 之時程，歷時整個研究時間(治療下 25 天)。腫瘤體積及 T/C 值如先前所詳述來計算。

實例 18：磷酸化 Akt (S473) 活體內 PD 分析

約 50 mm^3 冷凍腫瘤(例如 BT-474 或 BXP-3)組織在冰上解凍且 100-300 μL 含有磷酸酶 (Roche) 及蛋白酶抑制劑 (Roche) 之 T-PER 緩衝液 (Pierce) 添加至每一樣品中。所添加之溶解緩衝液的體積視腫瘤樣品尺寸而定。組織使用 1.5 mL 研棒 (Fisher Scientific) 搗碎且所得懸浮液在冰上培育 15 分鐘，接著在 -80°C 下冷凍隔夜。樣品解凍且在 13000 g 、 4°C 下離心 15 分鐘，接著藉由 BCA 分析 (Thermo Scientific) 定量上清液蛋白質濃度。組織上清液用溶解緩衝液 (Mesoscale Discovery) 稀釋且 25 μg 添加至多點 96 孔磷酸化 Akt 碳盤 (Mesoscale Discovery) 中，該碳盤已預先用阻斷溶液 -A (Mesoscale Discovery) 阻斷。盤在室溫下在震盪下培育 1 小時，接著吸出溶解產物，且孔用 Tris 洗滌緩衝液 (Mesoscale Discovery) 洗滌 4 次。磷酸化 Akt 使用 25 μL 在抗體稀釋緩衝液中稀釋之 SULFO-TAG 抗磷酸化 Akt (S473) 抗

體(Mesoscale Discovery)，藉由在室溫下在震盪下培育1小時來偵測。該等孔用Tris洗滌緩衝液洗滌4次，接著添加150 μ L閱讀緩衝液T（具有界面活性劑）(Mesoscale Discovery)且使用Mesoscale Sector成像器定量信號。

實例19：磷酸化HER3 (Y1197)活體內PD分析

約50 mm³冷凍腫瘤(例如BXP-3)組織在冰上解凍，且100-300 μ L含有磷酸酶(Roche)及蛋白酶抑制劑(Roche)之T-PER緩衝液(Pierce)添加至各樣品中。組織使用1.5 mL研棒(Fisher Scientific)搗碎，且所得懸浮液在冰上培育15分鐘，接著在-80°C冷凍隔夜。樣品解凍且在13000 g、4°C離心15分鐘，接著由BCA分析(Thermo Scientific)定量上清液蛋白質濃度。組織上清液用溶解緩衝液稀釋且150 μ g添加至多點96孔碳盤(Mesoscale Discovery)中，該碳盤已預先用4 μ g/mL MAB3481 (R&D Systems)塗佈隔夜且用3%牛奶阻斷。盤在室溫震盪培育2小時，接著吸出溶解產物，且孔用Tris洗滌緩衝液(Mesoscale Discovery)洗4次。使用經阻斷緩衝液稀釋1/8000之抗-HER3 pY1197結合磷酸化HER3。在室溫培育1小時後，孔用Tris洗滌緩衝液洗，且使用在阻斷緩衝液中稀釋1/1000之S-Tag標記之抗兔抗體(Mesoscale Discovery)，藉由在室溫震盪培育1小時來偵測抗-pY1197抗體。該等孔用Tris洗滌緩衝液洗4次，接著添加150 μ L之1/4稀釋閱讀緩衝液T（具有界面活性劑）(Mesoscale Discovery)且使用Mesoscale Sector成像器定量信號。

實例20：活體外藥物組合研究

為評估HER3靶向抗體與靶向療法組合之能力，在細胞活力分析中MOR09825或MOR10703與曲妥珠單抗、拉帕替尼、BEZ235、BKM120、BYL719、RAD001、厄羅替尼及西妥昔單抗組合。約1000-1500個SK-Br-3 (McCoy's)、MDA-MB-453 (RPMI)、FaDu (EMEM)或L3.3 (RPMI)細胞接種至384孔盤中補充有2% FBS之適當培養基中且在37°C黏著隔夜。適當藥物組合(拉帕替尼、BKM120及BYL719之典型最終藥物濃度在3 μ M至13 nM範圍內；RAD001在27 nM至0.0041 nM範圍內；厄羅替尼在1 μ M至0.0025 nM範圍內；MOR1073在100 nm至0.01 nm範圍內；西妥昔單抗在100 nM至0.0015 nM範圍內；及曲妥珠單抗在300 nM至0.046 nM範圍內)隨後添加至孔中，使得各盤含有各藥物呈二維矩陣之劑量反應曲線。盤回至培育箱中3-6天，接著使用CellTiter-Glo (Promega)評估細胞活力。CellTiter-Glo溶液添加至各孔中且在室溫輕輕震盪培育10分鐘。使用SpectraMax盤讀數器(Molecular Devices)測定發光量。計算各組合得到之生長抑制程度，且使用Loewe疊加模型突顯組合活性。

實例21：L3.3細胞中活體內藥物組合研究

胰臟L3.3細胞在含有10%熱滅活胎牛血清之DMEM培養基中培養，直至植入時間。雌性Foxn1裸小鼠(Harlan Laboratories)皮下植入於無FBS之DMEM中之 3×10^6 個細胞。含有細胞於懸浮液中之總注射體積為100 μ L。細胞植

入後12天，所有組中平均腫瘤體積為約100 mm³之動物入選功效研究。一般而言，每組共8隻動物入選功效研究。若動物在入選之前顯示異常的腫瘤生長特徵，則其不入選。

以每隔一天20 mg/kg之時程，經由側面尾靜脈注射靜脈內給與動物MOR10703，歷時整個研究時間(治療下14天)。厄羅替尼以50 mg/kg (經口)按每日之時程，作為單一藥劑或與MOR10703組合給與。腫瘤體積及T/C值如先前所詳述來計算。

結果與討論

總而言之，此等結果表明一類抗體結合於HER3之構形抗原決定基之域2及域4內的胺基酸殘基且將HER3穩定化於不活化或閉合構形。此等抗體之結合抑制配位體依賴性與非配位體依賴性信號傳導。此等抗體亦能夠同時與HER3配位體結合。

(i) 親和力測定

抗體親和力藉由如上所述之溶液平衡滴定(SET)測定。結果概述於表9中且MOR10701之實例滴定曲線含於圖1中。資料指示鑑別出許多緊密結合人類、食蟹獼猴、大鼠及鼠類HER3之抗體。

表9：如藉由溶液平衡滴定(SET)測定之抗-HER3 IgG之K_D值。Hu (人類)、Cy (食蟹獼猴)、Mu (鼠類)及ra (大鼠)

MOR#	SET K _D (pM)			
	hu HER3-標籤	cy HER3-標籤	mu HER3-標籤	ra HER3-標籤
09823	9	4	2	11
09824	3	3	2	7
09825	25	56	24	96
09974	350	200	120	n.d.
10701	4	4	6	10
10702	3	3	5	6
10703	26	23	20	40
12609	10	n.d	n.d	n.d
12610	37	n.d	n.d	n.d
10703 N52S	57	n.d	n.d	n.d
10703 N52G	60	n.d	n.d	n.d
10703_A50V_N52S	16	n.d	n.d	n.d
10703_A50V_N52G	22	n.d	n.d	n.d
10701 R55G	18	n.d	n.d	n.d
10701 R55K	11	n.d	n.d	n.d

(ii) SK-Br-3 細胞 EC₅₀ 測定

所鑑別之抗體結合表現HER3之細胞的能力藉由計算其結合於HER2擴增細胞株SK-Br-3之EC₅₀值(參見圖2及表10)來確定。

表 10：SK-Br-3 細胞上抗-HER3 IgG之FACS EC₅₀值。

n.d.(未測定)

MOR#	SK-Br-3 FACS EC ₅₀ (pM)
09823	630
09824	324
09825	839
09974	n.d.
10701	n.d.
10702	n.d.
10703	2454

(iii) HER3 域結合

在ELISA分析中對抗-HER3抗體子集結合人類HER3之各種細胞外域之能力進行表徵。為實現此，HER3之細胞外域分成其4個組成性域，且此等域之各種組合如上所述選殖、表現及純化為獨立蛋白質。使用此策略，以下域成功產生為可溶性蛋白質：域1及2 (D1-2)、域2 (D2)、域3及4 (D3-4)以及域(D4)。許多內部產生之小鼠抗人類HER3抗體(8D7、1F5及8P2)亦作為陽性對照測試以證明每一分離域之完整性。

如圖3中所示，MOR09823與MOR09825均觀測到成功結合HER3細胞外域，但在此分析中幾乎未觀測到此等抗體結合於分離域。此結合模式存在若干可能解釋：

a) MOR09823及MOR09825可能結合跨越域邊界之線性抗原決定基，因此當域表現為分離蛋白質時結合抗原決定基之一部分將丟失。

b) MOR09823及MOR09825可結合橋連多個域之非線性抗原決定基。因此，HER3分成其組分單元可能破壞該結合位點。

c) HER3之形狀/構形可為MOR09823及MOR09825結合於HER3之組分，因此僅僅HER3之全長細胞外域能夠採用此形狀/構形，而分離域無法完全採用此構形。

(vi) 使用氫/氘交換質譜分析定位HER3抗原決定基

HER3 抗原決定基藉由在 MOR09823、MOR09824、MOR09825及MOR09974之Fab型式存在及缺乏下HDX-MS

分析 HER3 ECD 進一步探測。圖 4A 顯示在缺乏結合 Fab 下，約 69% HER3 ECD 序列由至少一個肽覆蓋。覆蓋中之間隙可歸因於此等區域內之殘基糖基化或富半胱氨酸區域中二硫鍵還原不足，在域 2 中尤其明顯。有趣地，雖然每一 Fab 產生個別保護模式，但在 MOR09823、MOR09824、MOR09825 及 MOR09974 下一致觀測到強保護之一個區域(參見圖 4B)，表明此等高度相關抗體家族以一致方式結合 HER3。觀測到最強保護為域 2 殘基 269-286 (TFQLEPNPHTKYQYGGVC)(SEQ ID NO: 146)，表明此附近之殘基對 mAb 結合可為重要的。公開 HER3 晶體結構 (Cho & Leahy, (2002) Science 297:1330-1333) 上 Fab 保護之殘基的定位突出顯示殘基 269-286 在域 2 內之功能重要之 β -髮夾環內及附近(參見圖 4C)。

(vii) *HER3/MOR09823* 晶體結構

對結合於 HER3 細胞外域之 MOR09823 Fab 片段的 3.2Å 解析度 X 射線晶體結構進行解析，以進一步確定由此相關抗體家族識別之 HER3 抗原決定基(參見圖 5A)。另外，對結合於人類 HER3 之 MOR09825 Fab 片段的 3.4Å 結構進行解析。在 MOR09823/HER3 與 MOR09825/HER3 晶體結構中，HER3 呈繫栓(不活化)構形(參見圖 5A、B、C 及 D)。此構形特徵為域 2 與 4 之間藉由域 2 中之 β -髮夾二聚化環介導的顯著相互作用。所觀測到之 HER3 構形類似於 Cho 等人先前所描述之構形 (Cho 及 Leahy, (2002), Science 297:1330-1333)，Cho 等人公開在缺乏神經調節蛋白下 HER3 細胞外

域之晶體結構。因為神經調節蛋白可活化HER3，所以HER3之繫栓構形假定為不活化。在相關EGFR家族成員HER4 (Bouyain等人，(2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 102:15024-15029)及HER1 (Ferguson等人，(2003) *Molec. Cell* 11:507-517)結晶時，亦觀測到類似繫栓構形。

呈不活化(繫栓)狀態之HER3之域1至4之間的空間關係明顯不同於延伸(活化)狀態。此發現係基於相關EGFR家族成員HER2及配位體結合HER1之晶體結構(Cho等人，(2003) *Nature* 421:756-760；Ogiso等人，(2002) *Cell* 110:775-787；Garrett等人，(2002) *Cell* 110:763-773)，兩者均處於延伸(活化)狀態。在延伸狀態中，域2之 β -髮夾二聚化環自其與4之抑制相互作用釋放，因此能夠自由與其二聚化搭配物蛋白質相互作用。因此，域2之 β -髮夾二聚化環在功能上對維持繫栓(不活化)狀態及介導處於延伸狀態之EGF受體之二聚化而言為重要的，引起細胞內激酶域活化。因此，MOR09823/HER3及MOR09825/HER3晶體結構(參見圖5)表明MOR09823與MOR09825均藉由HER3之不活化構形來起作用。

晶體結構亦展示由MOR09823與MOR09825識別之HER3抗原決定基為包括來自域2與4之殘基的非線性抗原決定基(參見圖5C及D、表11、12、13及14)。由此高度相關抗體家族識別之HER3抗原決定基因此可界定為：

域2：殘基265-277、315

域4殘基：571、582-584、596-597、600-602、609-615

因此，MOR09823 或 MOR09825 結合域 2 與 4 將穩定化 HER3 之繫栓構形，因此拮抗其信號傳導之能力。

在晶體結構中觀測到之 MOR09823/MOR09825 結合模式與其他抗原決定基定位研究一致。確切言之，ELISA 域結合實驗證明 MOR09823 及 MOR09825 對完整 HER3 細胞外蛋白質之親和力顯著大於對任何分離域之親和力(例如 D1、D1-D2、D3 或 D3-D4 片段)(參見圖 3)。亦與 HER3 HDX-MS 資料(參見圖 4B)一致，其鑑別出域 2 之 β -髮夾為抗體識別抗原決定基之一部分。最後，兩個晶體結構均表明已藉由類似於 HER1 定位於域 1 及 3 的 HER3 之配位體結合表面(Ogiso 等人，(2002) Cell, 110:775-787；Garrett 等人，(2002) Cell, 110:763-773)未由 MOR09823 或 MOR09825 結合閉合(參見圖 5B)。此與以下發現一致：MOR09823 與 MOR09825 均不阻斷神經調節蛋白結合於 MCF7 細胞(參見圖 9)，且在 biacore 研究中 HER3/MOR09823 複合物可結合於固定神經調節蛋白(參見圖 10)。

表 11：MOR09823 Fab 重鏈與人類 HER3 之間的相互作用。Fab VH 殘基基於其線性胺基酸序列(SEQ ID NO: 15)編號。HER3 殘基基於 NP_001973 編號。所示 HER3 殘基具有至少一個在 MOR09823 Fab 中一個原子之 5Å 內的原子。

MOR09823 Fab			人類HER3		
殘基	編號	鏈	殘基	編號	域
Ser	30	VH	Pro	276	2
Ser	31	VH	Pro	274	2
			Asn	275	2

			Pro	276	2
Tyr	32	VH	Pro	276	2
			His	277	2
Ala	33	VH	Asn	266	2
			Leu	268	2
Ser	35	VH	Leu	268	2
Val	50	VH	Leu	268	2
			Thr	269	2
Gly	52	VH	Glu	273	2
			Thr	269	2
Ala	53	VH	Glu	273	2
			Pro	274	2
Val	54	VH	Glu	273	2
Tyr	58	VH	Pro	583	4
			Asp	571	4
			His	584	4
			Thr	269	2
			Gln	271	2
Asn	73	VH	Asn	315	2
Ser	74	VH	Asn	315	2
Trp	98	VH	Leu	268	2
			Lys	267	2
			Asn	266	2
Asp	100	VH	Ala	596	4
			Lys	597	4
			Pro	276	2
			His	277	2
Glu	101	VH	Lys	267	2
			Lys	597	4
Phe	103	VH	Leu	268	2

表 12：MOR09823 Fab 輕鏈與人類 HER3 之間的相互作用。Fab VL 殘基基於其線性胺基酸序列 (SEQ ID NO: 14) 編號。HER3 殘基基於 NP_001973 編號。所示 HER3 殘基具有至少一個在 MOR09823 Fab 中一個原子之 5Å 內的原子。

MOR09823 Fab			人類HER3		
殘基	編號	鏈	殘基	編號	域
Gln	27	VL	Arg	611	4
			Glu	609	4
Gly	28	VL	Arg	611	4
			Pro	612	4
Ile	29	VL	Pro	612	4
Ser	30	VL	Pro	612	4
			Cys	613	4
			His	614	4
			Glu	615	4
Asn	31	VL	Glu	615	4
			Cys	613	4
Trp	32	VL	Lys	267	2
			Tyr	265	2
			Pro	612	4
			Cys	613	4
			Ile	600	4
			Lys	602	4
Tyr	49	VL	Lys	597	4
Gly	66	VL	Glu	615	4
Ser	67	VL	His	614	4
			Glu	615	4
Gln	89	VL	Leu	268	2
Tyr	91	VL	Lys	267	2
			Leu	268	2
			Phe	270	2
Ser	92	VL	Phe	270	2
			Lys	602	4
			Pro	612	4
Ser	93	VL	Phe	270	2
			Glu	609	4
Phe	94	VL	Phe	270	2
			Leu	268	2
			Gly	582	4
			Pro	583	4
Thr	96	VL	Leu	268	2

表 13：MOR09825 Fab 重鏈與人類 HER3 之間的相互作

用。Fab VH殘基基於其線性胺基酸序列(SEQ ID NO: 51)編號。HER3殘基基於NP_001973編號。所示HER3殘基具有至少一個在MOR09825 Fab中一個原子之5Å內的原子。

MOR09825 Fab			人類HER3		
殘基	編號	鏈	殘基	編號	域
Ser	30	VH	Asn	315	2
Ser	31	VH	Pro	274	2
			Pro	276	2
Tyr	32	VH	Pro	276	2
			His	277	2
Ala	33	VH	Asn	266	2
			Thr	269	2
Ser	35	VH	Leu	268	2
Trp	47	VH	Leu	268	2
Ala	50	VH	Leu	268	2
Asn	52	VH	Glu	273	2
			Gln	271	2
			Thr	269	2
Ser	53	VH	Glu	273	2
			Pro	274	2
Gln	54	VH	Glu	273	2
			Pro	274	2
Ser	57	VH	Gln	271	2
Tyr	59	VH	Pro	583	4
			Asp	571	4
			His	584	4
			Thr	269	2
			Gln	271	2
Asn	74	VH	Asn	315	2
Trp	99	VH	Leu	268	2
			Lys	267	2
			Asn	266	2
Asp	101	VH	Ala	596	4
			Lys	597	4
			Pro	276	2
			His	277	2
Glu	102	VH	Lys	267	2
			Lys	597	4
Phe	104	VH	Leu	268	2

表 14：MOR09825 Fab 輕鏈與人類 HER3 之間的相互作用。Fab VL 殘基基於其線性胺基酸序列 (SEQ ID NO: 50) 編號。HER3 殘基基於 NP_001973 編號。所示 HER3 殘基具有至少一個在 MOR09825 Fab 中一個原子之 5Å 內的原子。

MOR09825 Fab			人類HER3		
殘基	編號	鏈	殘基	編號	域
Gln	27	VL	Arg	611	4
Gly	28	VL	Arg	611	4
			Pro	612	4
Ile	29	VL	Pro	612	4
Ser	30	VL	Pro	612	4
			Cys	613	4
			His	614	4
			Glu	615	4
Asn	31	VL	Glu	615	4
			His	614	4
			Cys	613	4
Trp	32	VL	Lys	267	2
			Tyr	265	2
			Pro	612	4
			Cys	613	4
			Ile	600	4
			Lys	602	4
Tyr	49	VL	Lys	597	4
Gly	66	VL	Glu	615	4
Ser	67	VL	His	614	4
			Glu	615	4
Gln	89	VL	Leu	268	2
Tyr	91	VL	Lys	267	2
			Leu	268	2
			Phe	270	2
Ser	92	VL	Phe	270	2
			Lys	602	4
			Pro	612	4
			Arg	611	4
Ser	93	VL	Phe	270	2
			Glu	609	4
Phe	94	VL	Phe	270	2
			Gly	582	4
			Pro	583	4
Thr	96	VL	Leu	268	2

目測檢查MOR09823/MOR09825晶體結構突出顯示HER3殘基Lys267及Leu268與各種抗體CDR形成多種相互作用，表明其對抗體結合而言可為重要的。因此，Lys267及/或Leu268突變為丙胺酸，表現且所得重組蛋白質純化，以評估其對抗體結合之影響。ELISA結合分析指示Lys267或Leu268之突變取消MOR10703結合於HER3 (圖5F)，表明兩個殘基為HER3抗原決定基之不可分割的部分，因此證明所提出的MOR09823/MOR09825與HER3之間的相互作用。

(viii) 抑制細胞信號傳導

為確定抗-HER3抗體對配位體依賴性HER3活性之作用，MCF7細胞與IgG一起培育，接著用神經調節蛋白刺激。實例抑制曲線例示於圖6A中且概述於表15中。亦使用HER2擴增細胞株SK-Br-3，研究抗-HER3抗體對HER2介導之HER3活化的作用(圖6B及表15)。

表 15：MCF7及SK-Br-3細胞中抗-HER3 IgG之pHER3 IC₅₀及抑制程度值。

MOR#	MCF7 pHER3		SK-Br-3 pHER3	
	IC ₅₀ (pM)	抑制%	IC ₅₀ (pM)	抑制%
09823	181	89	56	59
09824	103	91	110	64
09825	399	80	169	66
09974	3066	69	1928	67
10701	n.d.	n.d.	370	74
10702	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
10703	333	80	167	69
12609	5	86	241	71
12610	126	84	192	75

為確定抑制HER3活性是否影響下游細胞信號傳導，亦

在 *HER2* 擴增細胞中，在用抗-*HER3* 抗體處理後量測 Akt 磷酸化 (參見圖 7 及表 16)。

表 16：SK-Br-3、BT-474 及 MCF7 細胞中抗-*HER3* IgG 之 pAkt (S^{473}) IC_{50} 及抑制程度值

MOR#	SK-Br-3 pAkt		BT-474 pAkt	MCF7 pAkt	
	IC_{50} (pM)	抑制%	抑制%	IC_{50} (pM)	抑制%
09823	55	92	57	n.d.	n.d.
09824	62	93	46	n.d.	n.d.
09825	156	91	69	294	79
09974	814	85	n.d.	n.d.	n.d.
10701	n.d.	n.d.	59	n.d.	n.d.
10702	n.d.	n.d.	55	n.d.	n.d.
10703	70	89	62	449	79

總之，MOR09823、MOR09824、MOR09825、MOR09974、MOR10701、MOR10702、MOR10703、MOR12609 及 MOR12610 每一者均能夠以配位體依賴性與非配位體依賴性方式抑制細胞 *HER3* 活性。

(ix) 抑制增殖

因為 MOR09823、MOR09824、MOR09825、MOR09974、MOR10701、MOR10702 及 MOR10703 均抑制 *HER3* 活性及下游信號傳導，所以測試其阻斷配位體依賴性及非依賴性活體外細胞生長之能力 (實例資料展示於圖 8 中且概述於表 17 中)。測試之抗-*HER3* 抗體均為細胞增殖之有效抑制劑。

表 17：在 SK-Br-3、BT-474 及 MCF7 細胞中在用 10 $\mu\text{g/ml}$ 抗-*HER3* IgG 處理後抑制增殖

MOR#	抑制%		
	SK-Br-3	BT-474	MCF7
09823	39	39.8	82
09824	33	36.8	82
09825	41	37.2	63
09974	35	n.d.	20
10701	n.d.	43.6	n.d.
10702	n.d.	43.8	n.d.
10703	35	41.6	81

(x) 配位體阻斷評估

所述抗-HER3抗體阻斷配位體結合之能力藉由檢查神經調節蛋白結合於預先用 MOR09823 或 MOR09825 處理之 MCF7 細胞來評估。MOR09823 或 MOR09825 之存在對神經調節蛋白結合 MCF7 細胞之能力無顯著作用，而用於實驗之陽性對照 (Mab3481) 能夠深度干擾神經調節蛋白結合 (參見圖 9)。此等結果與晶體結構一致，因為 MOR09823 與域 2 及 4 相互作用，而 HER3 與神經調節蛋白相互作用之主要接觸點猜測主要叢集在域 1 及 3 內。假定神經調節蛋白能夠結合 HER3 之不活化構形 (Kani 等人，(2005) Biochemistry 44: 15842-15857)，MOR09823 及 MOR09825 可能藉由阻止信號傳導所需之 HER3 域重排或藉由干擾受體二聚化來起作用。

(xi) 配位體阻斷評估 (生物化學)

為探測 MOR09823 與神經調節蛋白是否可同時結合 HER3，使用 Biacore™ 技術建立生物化學分析。相互作用分析藉由生物素標記神經調節蛋白利用 Biotin CAPture 套組 (GE Healthcare) 捕捉在 Biacore™ 感測器晶片 CAP (GE

Healthcare)之表面上進行。HER3複合物藉由將人類HER3-Fc與遞增濃度之MOR09823、105.5 (Thermo Scientific)或人類IgG一起培育來產生。預先形成之HER3/抗體複合物注射於參考及活性表面上且觀測到HER3與神經調節蛋白之相互作用。

對照IgG對HER3/神經調節蛋白複合物之形成無影響，而觀測到105.5顯著抑制HER3結合神經調節蛋白之能力，證實其作為配位體阻斷抗體之描述(圖10)。相比之下，HER3/MOR09823複合物能夠結合神經調節蛋白，證明MOR09823不阻止配位體結合。有趣地，當注射MOR09823/HER3複合物時，獨特觀測到RU值之劑量依賴性增加。此資料指示含有神經調節蛋白、HER3及MOR09823之三聚複合物在晶片表面上產生。此三聚複合物形成之能力藉由HER3/MOR09823晶體結構預測，因為MOR09823結合不閉合HER3之配位體結合位點，表明神經調節蛋白及MOR09823之結合不相互排斥。

在另一個實施例中，抗體或其片段結合於HER3之域2與域4且不阻斷諸如神經調節蛋白之HER3配位體同時結合。雖然不需提供理論，但可能的是抗體或其片段結合於HER3之域2與域4，保持HER3處於不活化構形，且不阻斷HER3上之配位體結合位點。因此，HER3配位體(例如神經調節蛋白)能夠與抗體同時結合於HER3。

本發明之抗體或其片段在不阻止配位體結合下抑制配位體依賴性與非依賴性HER3活化。由於以下原因，認為此

為有利的：

(i)與靶向HER3活化之單一機制(亦即配位體依賴性或非配位體依賴性)之抗體相比，治療抗體臨床應用於許多腫瘤，因為不同腫瘤類型由各自機制驅動。

(ii)治療抗體在HER3活化之兩種機制同時涉及之腫瘤類型中有效。靶向HER3活化之單一機制(亦即配位體依賴性或非配位體依賴性)之抗體在此等腫瘤類型中幾乎未顯示功效。

(iii)在不阻止配位體結合下抑制配位體依賴性HER3活化之抗體的功效將不太可能受配位體濃度增加不利地影響。此將轉化為在藉由很高濃度HER3配位體驅動之腫瘤類型中功效增加，或在抗性由HER3配位體上調介導之情況下藥物抗性傾向性降低。

(iv)藉由穩定化不活化形式來抑制HER3活化之抗體將不太會有HER3活化之替代機制所驅動之藥物抗性傾向。

因此，本發明之抗體可用於治療已存在之治療抗體在臨床上無效的病狀。

(xii) HER3活性之活體內抑制及對腫瘤生長之作用

為確定所述抗-HER3抗體之活體內活性，在BxPC-3與BT-474腫瘤模型中測試MOR09823。如腫瘤pHER3含量明顯減少所證明，MOR09823顯示抑制HER3活性(圖11)。如BxPC-3與BT-474中pAkt含量降低所說明，HER3下游之信號傳導類似抑制(圖11)。在HER2驅動之BT-474功效研究中，重複MOR10701處理得到74%腫瘤生長抑制(參見圖

12A)，而 MOR10703 得到 83% 抑制。在 BxPC3 腫瘤生長模型中，MOR10701 與 MOR10703 非常有效地抑制配位體驅動之腫瘤生長(參見圖 13)。

(xiii) 活體外藥物組合及對細胞生長之影響

因為腫瘤細胞生長時常由多個信號傳導路徑驅動，所以評估 MOR09823 或 MOR10703 與各種靶向藥劑之組合是否有益於阻斷細胞增殖。所選靶向藥劑主要抑制 HER2 (曲妥珠單抗、拉帕替尼)、EGFR (西妥昔單抗、厄羅替尼)、PI3K/mTOR (BEZ235)、PI3K (BKM120)、PIK3CA (BYL719) 及 mTOR (RAD001)，因為此等標靶通常在人類腫瘤中活化。等效線圖分析(參見圖 14)指示 MOR09823 及 MOR10703 呈現與曲妥珠單抗、拉帕替尼、厄羅替尼、西妥昔單抗、BEZ235、BKM120、BYL719 及 RAD001 之協同藥物組合。此資料表明 HER3 信號傳導之抑制特別有益於靶向受體酪氨酸激酶或 PI3K 信號傳導路徑之抑制劑。

(xiv) 活體內 MOR10703 藥物組合

因為活體外與受體酪氨酸激酶靶向劑組合抑制 HER3，所以評估 MOR10701 或 MOR10703 與曲妥珠單抗及厄羅替尼組合在活體內之影響。在 BT-474 異種移植物(參見圖 15A)，MOR10701 或 MOR10703 (20 mg/kg) 與次最佳劑量之曲妥珠單抗 (1 mg/kg) 組合足以引發腫瘤消退(分別 %T/C=-50 及 -37)。在 L3.3 胰臟異種移植物中，MOR10703 (20 mg/kg) 與每日厄羅替尼 (50 mg/kg) 之組合引起腫瘤停滯 (%T/C=3，參見圖 15B)。在兩個模型中，兩種藥物之組合

比單獨每一藥物顯著有效得多，因此證明早先活體外有關HER3靶向抗體與ErbB靶向藥劑組合之益處的發現。

總之，此抗體家族穩定化HER3之不活化構形的獨特能力在HER3以配位體依賴性或非依賴性方式活化之模型中產生顯著活體內功效。此外，此抗體家族對HER3之抑制在與多種靶向療法組合時呈現為有益的。

實例22：針對良性前列腺增生(BPH)、男子女乳症及子宮內膜異位之HER3抗體

實驗程序

約9週齡性成熟IGS Wistar Hannover大鼠經由靜脈內注射，以每週兩次之時程，給與30、75及200 mg/kg MOR10703。在13週給藥時間結束後，10隻來自每一劑量組之大鼠處死且收集主要器官供進一步分析。另外，來自200 mg/kg劑量組之6隻大鼠自MOR10703恢復10週，接著處死，以確定任何觀測到之變化的可逆性。動物處死後，記錄器官重量，接著固定在10%中性緩衝福馬林(formalin)中。製備組織切片且藉由微觀檢驗評估。

結果

在雄性大鼠中，在所有劑量下均觀測到前列腺重量減少，此與前列腺及精囊分泌減少有關(表18)。此等作用在10週恢復後可逆。對比對照之絕對平均值的差如下：30 mg/kg：-31%，75 mg/kg：-40%，及200 mg/kg：-35%。乳腺萎縮大部分中度或顯著，存在於所有給藥雄性動物中，且在10週恢復後不可逆。此變化藉由雄性乳腺中看到通常

豐富之腺泡及小葉發育缺乏表徵。與對照對比，稀少的膽管要素存在於所有處理雄性動物之乳腺中。

表 18. 雄性大鼠中 MOR10703 相關之器官重量差異

性別	雄性			
劑量(mg/kg)	0	30	75	200
檢查數目	10	10	10	10
體重平均值(g)	412	390	392	397
(差異%)	(-)	-5	-4	-4
腦重量平均值(g)	2.1	2.1	2.1	2.1
(差異%)	(-)	-3	-3	-1
前列腺				
絕對值(g)	0.9	0.6 ^c	0.6 ^c	0.6 ^c
(差異%)	(-)	-31	-40	-35
相對 ^b 於體重(%)	0.22	0.16 ^c	0.14 ^c	0.15 ^c
(差異%)	(-)	-28	-38	-33
相對於腦重量	43	31	27 ^c	28 ^c
(差異%)	(-)	-29	-38	-35

^a 表示為組平均值之差異百分比(差異%)。

^b 相對

^c 基於組平均值之統計分析，值顯著不同於對照組。

在雌性中，在所有劑量下均觀測到子宮重量減少，其在 10 週恢復後可逆(表 19)。對比對照之絕對平均值的差為 30 mg/kg：-24%，75 mg/kg：-27%，及 200 mg/kg：-19%。體現在 ≥30 mg/kg 之所有劑量下子宮中腺上皮大大減少的子宮內膜萎縮與在處理結束時觀測到之子宮重量下降有關。此在 10 週恢復後略微可逆，因為存在增加之量之腺上皮，不過不如對照動物中多。考慮到可觀測之循環的不同階

段，其他生殖器官：卵巢、輸卵管、子宮頸及陰道似乎在正常範圍內。

表 19. 雌性大鼠中 MOR10703 相關之器官重量差異

性別	雌性			
劑量(mg/kg)	0	30	75	200
檢查數目	10	10	10	10
體重平均值(g)	237	246	239	241
(差異%)	(-)	-4	-1	-2
腦重量平均值(g)	1.9	2.0	1.9	2.0
(差異%)	(-)	-1	-1	-2
子宮				
絕對平均值(g)	0.48	0.36 ^c	0.35 ^c	0.39
(差異%)	(-)	-24	-27	-19
相對 ^b 於體重(%)	0.20	0.15 ^c	0.15 ^c	0.16
(差異%)	(-)	-26	-27	-21
相對於腦重量	25	18 ^c	18 ^c	20 ^c
(差異%)	(-)	-29	-38	-35

^a 表示為組平均值之差異百分比(差異%)。

^b 相對。

^c 基於組平均值之統計分析，值顯著不同於對照組。參考實際顯著性水準及所用測試之數據表。

討論

良性前列腺增生(BPH)為老年男性中特徵為前列腺非贅生性擴大，在尿道上產生壓力且引起排尿及膀胱問題的常見疾病{Mahapokail W, van Sluijs FJ及Schalken JA. 2000 Prostate Cancer and Prostatic Diseases 3, 28-33}。在約55% 60-70歲男性中屍檢時存在BPH之解剖或微觀證據。經尿道切除前列腺已成為選擇治療多年。因此，BPH為在老年男性中進行外科手術之最常見原因之一。侵入性較低之治療

方法包括：

(i) $\alpha 1$ -阻斷劑(多沙唑嗪、哌唑嗪、坦索羅辛、特拉唑嗪及阿夫唑嗪)為一類亦用以治療高血壓之藥物。此等藥物放鬆膀胱頸及前列腺之肌肉，因此使排尿更容易。

(ii)非那雄胺及度他雄胺降低雄激素含量，因此減小前列腺尺寸，提高尿流速且減輕BPH症狀。觀察到症狀改善可能花費3至6個月。與使用非那雄胺及度他雄胺相關之潛在副作用包括性慾衝動減少及性無能。

實驗部分中之結果首次證明BPH為神經調節蛋白依賴性適應症。MOR10703在性成熟大鼠中在不影響激素含量下顯著減小前列腺尺寸的發現表明MOR10703可用於治療BPH。

為進一步測試MOR10703及其他HER3抗體作為BPH之治療劑，初級人類BPH手術標本可移植至無胸腺小鼠或大鼠中且使用模型研究Her3抗體之作用(Otto U等人Urol Int 1992; 48: 167 -170)。或者，BPH之態樣可在閹割狗中經由長期投與5 α -雄甾烷-3 α ,17 β -二醇加雌二醇誘發，且在此等犬模型中測試HER3抗體(Walsh PC, Wilson JD. J Clin Invest 1976; 57: 1093-1097)。

男子女乳症之實體表現為男性的乳房擴大，其通常發生在兩個乳房上，但有時可僅在一個中，稱為不對稱或單側男子女乳症。男子女乳症通常由以下引起：

(i)雌激素水平升高，引起睪固酮與雌激素之比率不平衡。

(ii)用於治療前列腺癌或BPH之雄激素拮抗劑或抗雄激素。此等藥物抑制睪固酮，但藉由抑制睪固酮，雌激素開始上升。

雖然目前正評估許多實驗藥物，但目前男子女乳症尚無認可之治療。因此，男子女乳症經由手術上移除乳房組織來治療。MOR10703誘發男性乳腺不可逆萎縮之觀察結果指示其可能有益於治療男子女乳症。

為進一步測試MOR10703及其他HER3抗體用於治療人類男子女乳症，可使用男子女乳症之轉殖基因小鼠模型。此等模型已藉由在小鼠乳腺中表現人類芳香酶來發展且概括人類男子女乳症之許多態樣(Li等人，Endocrinology 2002; 143:4074-4083；Tekmal等人，Cancer Res 1996; 56:3180-318)。

亦可檢查MOR10703及其他HER3抗體用於治療子宮內膜異位，該病症為來自子宮內層(子宮內膜)之細胞出現且活躍在子宮腔外面的婦科病狀。子宮內膜異位之主要但不普遍症狀為各種表現形式之骨盆疼痛。雖然子宮內膜異位之根本原因未充分表徵，但認為其視雌激素之存在而定。因為MOR10703在雌性小鼠中誘發子宮內膜萎縮，引起子宮重量下降，所以其可用以治療子宮內膜異位。為進一步研究MOR10703及其他HER3抗體對子宮內膜異位之作用，可將增生期中之人類子宮內膜植入正常循環且切除卵巢之無胸腺小鼠或循環非肥胖型糖尿病(NOD)-嚴重聯合免疫缺乏(SCID)小鼠的腹膜腔中，且此等SCID小鼠用作模型

(Grummer 等人，2001. Human Reproduction; 16; 1736-1743)。

實例23：評估HER3抗體用於食道癌之活體外研究

活體外食道藥物組合研究

為評估HER3靶向抗體與靶向療法組合之能力，在細胞活力分析中MOR10703與西妥昔單抗或BYL719組合。約1000-1200個KYSE140及KYSE180細胞於補充有2% FBS之適當培養基中接種至384孔盤中且在37°C下黏著隔夜。適當藥物組合(BYL719之典型最終藥物濃度在2.8 μ M至3.8 nM範圍內；西妥昔單抗在93 nM至0.13 nM範圍內；MOR10703在100 nM至4.1 nM範圍內)隨後添加至孔中，使得每一盤均含有每一藥物呈二維矩陣之劑量反應曲線。處理細胞隨後培育96-120小時。在藥物處理結束時，CellTiter-Glo試劑添加至每一孔中，以溶解細胞，且使用Envision盤式讀數器記錄發光信號。計算由每一組合得到之生長抑制程度且使用Loewe疊加模型突出顯示組合活性。

食道活體外藥物組合及對細胞生長之影響

因為腫瘤細胞生長時常由多個信號傳導路徑驅動，所以評估MOR10703與西妥昔單抗或BYL719之組合以確定其是否有益於阻斷食道癌細胞株增殖。所選靶向藥劑主要抑制EGFR (西妥昔單抗)及PIK3CA (BYL719)，因為此等標靶通常在人類腫瘤中活化。等效線圖分析(參見圖16)指示MOR10703與西妥昔單抗及BYL719呈現協同藥物組合。此

資料表明HER3信號傳導之抑制特別有益於靶向受體酪氨酸激酶或PI3K信號傳導路徑之抑制劑。

實例24：評估HER3抗體用於食道癌之活體內研究

為評估活體內HER3靶向抗體與靶向療法組合之能力，MOR10703與西妥昔單抗或BYL719組合且在兩個活體內異種移植模型中測試。

(i) 活體內KYSE140異種移植物

KYSE140細胞在含有10%熱滅活胎牛血清且不含抗生素之RPMI 1640培養基中培養，直至植入時間。KYSE140細胞以指數生長收穫。一千萬個細胞與PBS/基質膠(50:50)混合，皮下植入SCID-Beige小鼠之右上腹部。第28天，量測腫瘤且腫瘤體積為約200 mm³之動物入選功效研究。一般而言，每組共10隻動物入選功效研究。對於單一藥劑及組合研究，動物經由側面尾靜脈注射，靜脈內給與MOR10703或西妥昔單抗。BYL719於0.5%甲基纖維素中調配且經由經口管飼法給與。

(ii) 活體內KYSE180異種移植物

KYSE180細胞在含有10%熱滅活胎牛血清且不含抗生素之RPMI 1640培養基中培養，直至植入時間。KYSE180細胞以指數生長收穫。五百萬個細胞皮下植入裸小鼠之右上腹部。第18天，量測腫瘤且腫瘤體積為約200 mm³之動物入選功效研究。一般而言，每組共10隻動物入選功效研究。對於單一藥劑及組合研究，動物經由側面尾靜脈注射，靜脈內給與MOR10703或西妥昔單抗。BYL719於0.5%

甲基纖維素中調配且經由經口管飼法給與。

(iii) 活體內原發性食道異種移植物

人類食道原發性腫瘤在小鼠中繼代。當腫瘤尺寸達到約 150 mm³時，動物入選功效研究。對於單一藥劑及組合研究，動物經由側面尾靜脈注射，靜脈內給與 MOR10703 或西妥昔單抗。BYL719 於 0.5% 甲基纖維素中調配且經由經口管飼法給與。

HER3 之活體內抑制及對食道腫瘤生長之作用

為確定所述抗-HER3 抗體之活體內活性，在 KYSE140 與 KYSE180 食道腫瘤模型以及兩個原發性食道腫瘤模型 CHES007 及 CHES015 中測試 MOR10703。在 KYSE140 與 KYSE180 活體內模型中，用單一藥劑 MOR10703 處理證實有效抑制腫瘤生長(圖 17)。在 KYSE180 中，MOR10703 與 BYL719 之組合足以引起顯著腫瘤消退。此等發現延伸至原發性食道腫瘤模型，其中 MOR10703 與西妥昔單抗或 BYL719 之組合亦引起有效的腫瘤消退(圖 18)。總之，此等資料進一步證明早先活體外關於 HER3 靶向抗體與 EGFR 或 PI3K 靶向藥劑組合之益處的發現。

實例 25：評估胃癌中 HER3 與 BYL719 組合之活體內研究

為評估胃癌中活體內 HER3 靶向抗體與靶向療法組合之能力，MOR10703 與 BYL719 組合且在活體內異種移植模型中測試。

(i) 活體內 NCI-N87 異種移植物

NCI-N87 細胞在含有 4.5 g/l 葡萄糖之補充有 10% 熱滅活

FCS、2 mM L-麩醯胺酸、1 mM丙酮酸鈉的DMEM培養基中生長，直至植入時刻。NCI-N87腫瘤藉由皮下注射 8×10^6 至 1×10^7 個細胞(於含有50% v/v基質膠之HBSS中)建立。第10天，量測腫瘤且腫瘤體積為約250 mm³之動物入選功效研究。對於單一藥劑及組合臂，動物經由側面尾靜脈注射，靜脈內給與MOR10703。BYL719於0.5%甲基纖維素中調配且經由經口管飼法給與。

組合處理對N87胃腫瘤生長之作用

如關於食道腫瘤所見，MOR10703與BYL719之組合足以在N87胃腫瘤模型中引起顯著長期的腫瘤消退，因此進一步證明HER3靶向抗體與PI3K靶向藥劑組合之益處(參見圖19)。

實例26：評估頭頸部鱗狀細胞癌(SCCHN)中HER3與西妥昔單抗組合之活體內研究

為評估SCCHN中活體內HER3靶向抗體與靶向療法組合之能力，MOR10703與西妥昔單抗組合且在活體內異種移植模型中測試。

(i) 活體內A253異種移植物

A253細胞在含有10%熱滅活胎牛血清且不含抗生素之DMEM中培養，直至植入時間。A253細胞以指數生長收穫。五百萬個細胞於200 µl PBS中皮下植入裸小鼠之右上腹部。第25天，量測腫瘤且腫瘤體積為約200 mm³之動物入選功效研究。一般而言，每組共9隻動物入選功效研究。對於單一藥劑及組合研究，動物經由側面尾靜脈注

射，靜脈內給與MOR10703或西妥昔單抗。

組合處理對A253 SCCHN腫瘤生長之作用

在A253 SCCHN模型中，用MOR10703或西妥昔單抗作為單一藥劑處理引起腫瘤停滯。MOR10703與西妥昔單抗組合明顯更具活性且引起腫瘤消退(參見圖20)。

總而言之，此等結果顯示MOR10703作為單一藥劑可抑制腫瘤生長。該等結果亦表明當MOR10703與靶向其他受體酪胺酸激酶或PI3K信號傳導路徑之抑制劑組合時對腫瘤消退具有協同效應。

以引用的方式併入本文中

本文中引用之所有參考文獻，包括專利、專利申請案、論文、教科書及其類似物以及其中引用之參考文獻在其尚未引用的程度上以全文引用的方式併入本文中。

同等物

認為前述書面說明書足以使熟習此項技術者能夠實施本發明。以上描述及實例詳述本發明之某些較佳實施例且描述本發明者所預期之最佳模式。然而，應瞭解，不管如何詳述以上內容出現在本文中，本發明均可用許多方式實施且本發明應根據隨附申請專利範圍及其任何同等物解釋。

【圖式簡單說明】

圖1：用人類、小鼠、大鼠及食蟹獼猴HER3獲得之代表性MOR10701 SET曲線。

圖2：藉由FACS滴定測定SK-Br-3細胞結合

圖3：HER3域結合ELISA

圖 4：氫氙交換抗原決定基定位。A)在 HDX-MS 分析後回收之 HER3 ECD 肽由虛線指示。潛在 N-連接之糖基化位點突出顯示。B)由 MS 鑑別的肽中觀測到之相對氙化程度。C)定位至公開 HER3 晶體結構上之經保護之殘基。

圖 5：A) HER3/MOR09823 及 HER3/MOR09825 x 射線晶體結構之表面圖。HER3 (較淡灰色)呈閉合構形，且 MOR09823 或 MOR09825 (最深灰色)結合於域 2 與 4。B)以與(A)類似取向展示之來自 HER3/MOR09823 結構的 HER3 之表面圖。為求清晰，MOR09823 省略。C)以自圖(A)、(B)及(D)旋轉 90°看，圖示為帶狀結構之 HER3/MOR09823 結構。D)由 MOR09823 Fab 識別之不活化 HER3 構形的帶狀圖以及域 2/域 4 界面之放大視圖，突出顯示在 Fab 之 5Å 內的 HER3 殘基。E)藉由 ELISA 滴定測定突變 HER3/MOR10703 結合。

圖 6：配位體誘發之(A)或非配位體依賴性(B) HER3 磷酸化之抑制。

圖 7A 及 7B：HER2 擴增之細胞株中 HER3 依賴性下游信號傳導路徑之抑制。

圖 8：HER3 抑制對 A) BT-474 細胞及 B) 神經調節蛋白刺激之 MCF7 細胞中細胞生長的影响。

圖 9：MOR09823 及 MOR09825 對神經調節蛋白結合於 MCF7 細胞之作用。

圖 10：如藉由 Biacore™ 評估，MOR09823 結合對 HER3/神經調節蛋白複合物形成之影響。無抗體(黑色條)、

MOR09823 (白色條)、105.5 (灰色)及對照IgG (條紋條)。

圖 11：活體內(A)非配位體依賴性(BT-474)及(B)配位體依賴性(BxPC3) HER3信號傳導的MOR09823介導之抑制。

圖 12：MOR10701 (A)及MOR10703 (B)對BT-474腫瘤生長之影響。

圖 13：MOR10701及MOR10703對BxPC3腫瘤生長之影響。

圖 14：MOR10703活體外藥物組合等效線圖：(A) MOR09823/曲妥珠單抗、(B) MOR09823/拉帕替尼、(C) MOR10703/BEZ235、(D) MOR10703/BKM120、(E) MOR10703/BYL719、(F) MOR10703/RAD001、(G) MOR10703/西妥昔單抗及(H) MOR10703/厄羅替尼。

圖 15：BT-474及L3.3中MOR10701或MOR10703與(A)曲妥珠單抗及(B)厄羅替尼之活體內組合。

圖 16：食道細胞上單獨MOR10703或MOR10703與(A)西妥昔單抗及(B) BYL719之活體外組合。

圖 17：KYSE140及KYSE180食道腫瘤模型中單獨MOR10703或MOR10703與(A)西妥昔單抗及(B) BYL719之活體內組合。

圖 18：CHE007食道腫瘤模型中單獨MOR10703或MOR10703與(A)西妥昔單抗及(B) BYL719之活體內組合，及CHES015食道腫瘤模型中單獨MOR10703或MOR10703與西妥昔單抗之活體內組合。

圖 19：N87胃腫瘤模型中顯示延長腫瘤消退之單獨

MOR10703或MOR10703與BYL719之活體內組合。

圖 20：A253 SCCHN模型中單獨MOR10703或MOR10703與西妥昔單抗之活體內組合，用MOR10703或西妥昔單抗作為單一藥劑治療引起腫瘤停滯。MOR10703與西妥昔單抗之組合引起腫瘤消退。

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號：

101145482 ✓

※ 申請日：

101. 12. 4

※IPC 分類：

A61K 39/395 (2006.01)

C07K 16/28 (2006.01)

A61P 15/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

表皮生長因子受體3 (HER3)之抗體

ANTIBODIES FOR EPIDERMAL GROWTH FACTOR RECEPTOR 3
(HER3)

二、中文發明摘要：

本發明係關於與HER受體家族(例如HER3受體)相互作用之抗體或其片段。特別地，本發明係關於抗體或其片段，其識別HER3受體之包含域2與4殘基的構形抗原決定基，從而抑制配位體依賴性與非配位體依賴性信號傳導，且允許配位體(例如神經調節蛋白)結合，同時防止配位體誘發信號傳導之活化。此等抗體或片段可用於治療特徵為HER3表現量增加之許多疾病或病症(例如食道癌)。此等抗體或片段可用於治療特徵為該等抗體或片段能夠減少組織重量(例如前列腺或子宮重量)或誘發組織萎縮(例如男性乳房萎縮)之許多疾病或病症。

三、英文發明摘要：

This invention relates to antibodies or fragments thereof which interact with HER family of receptors, e.g., HER3 receptor. In particular, it relates to antibodies or fragments thereof that recognize a conformational epitope of HER3 receptor comprising residues from both domains 2 and 4 resulting in inhibition of both ligand-dependent and ligand-independent signal transduction; and allow ligand binding (e.g., neuregulin), whilst preventing ligand-induced activation of signal transduction. These antibodies or fragments can be used to treat a number of diseases or disorders characterized by increased levels of HER3 expression (e.g., esophageal cancer). These antibodies or fragments can be used to treat a number of diseases or disorders characterized by the antibodies or fragments ability to decrease tissue weight (e.g., prostate or uterine weights) or to induce atrophy of tissue (e.g., atrophy of male breast).

七、申請專利範圍：

1. 一種抗體或其片段之用途，該抗體或其片段特異性結合於HER3受體，使得該抗體或其片段結合於包含該HER3受體之域2及域4內之胺基酸殘基的構形抗原決定基且阻斷配位體依賴性與非配位體依賴性信號傳導，其係用於製造供治療特徵為食道中HER3表現量增加之病症的藥劑。
2. 如請求項1之用途，其中該病症係選自由食道癌及巴雷特氏食道癌(Barretts esophageal cancer)組成之群。
3. 如請求項1之用途，其中該抗體或其片段藉由選自由經口、皮下、腹膜內、肌肉內、腦室內、實質內、鞘內、顱內、經頰、經黏膜、經鼻及經直腸投與組成之群之途徑投與。
4. 如請求項1之用途，其中該抗體或片段調配成包含生理學上可接受之載劑、賦形劑或稀釋劑的醫藥組合物。
5. 如請求項4之用途，其中該醫藥組合物進一步包含另一治療劑。
6. 如請求項5之用途，其中該另一治療劑係選自由HER1抑制劑、HER2抑制劑、HER3抑制劑、HER4抑制劑、mTOR抑制劑及PI3激酶抑制劑組成之群。
7. 如請求項6之用途，其中該另一治療劑為：HER1抑制劑，其選自由馬妥珠單抗(Matuzumab)(EMD72000)、Erbix®/西妥昔單抗(Cetuximab)、Vectibix®/帕尼單抗(Panitumumab)、mAb 806、尼妥珠單抗(Nimotuzumab)、

Iressa®/吉非替尼(Gefitinib)、CI-1033 (PD183805)、拉帕替尼(Lapatinib)(GW-572016)、Tykerb®/二甲苯磺酸拉帕替尼(Lapatinib Ditosylate)、Tarceva®/鹽酸厄羅替尼(Erlotinib HCL)(OSI-774)、PKI-166及Tovok®組成之群；HER2抑制劑，其選自由帕妥珠單抗(Pertuzumab)、曲妥珠單抗(Trastuzumab)、MM-111、來那替尼(neratinib)、拉帕替尼或二甲苯磺酸拉帕替尼/Tykerb®組成之群；HER3抑制劑，其選自由MM-121、MM-111、IB4C3、2DID12 (U3 Pharma AG)、AMG888 (Amgen)、AV-203 (Aveo)、MEHD7945A (Genentech)、MOR10703 (Novartis)及抑制HER3之小分子組成之群；及HER4抑制劑。

8. 如請求項6之用途，其中該另一治療劑為mTOR抑制劑，選自由西羅莫司(Temsirolimus)/Torisel®、雷達莫司(ridaforolimus)/德佛莫司(Deforolimus)、AP23573、MK 8669、依維莫司(everolimus)/Affinitor®組成之群。
9. 如請求項6之用途，其中該另一治療劑為PI3激酶抑制劑，選自由GDC 0941、BEZ235、BMK120及BYL719組成之群。
10. 一種抗體或其片段之用途，該抗體或其片段特異性結合於HER3受體，使得該抗體或其片段結合於包含該HER3受體之域2及域4內之胺基酸殘基的構形抗原決定基且阻斷配位體依賴性與非配位體依賴性信號傳導，其係用於製造供治療胃癌之藥劑。

11. 如請求項10之用途，其中該抗體或其片段藉由選自由經口、皮下、腹膜內、肌肉內、腦室內、實質內、鞘內、顱內、經頰、經黏膜、經鼻及經直腸投與組成之群之途徑投與。
12. 如請求項10之用途，其中該抗體或片段調配成包含生理學上可接受之載劑、賦形劑或稀釋劑的醫藥組合物。
13. 如請求項12之用途，其中該醫藥組合物進一步包含另一治療劑。
14. 如請求項13之用途，其中該另一治療劑係選自由HER1抑制劑、HER2抑制劑、HER3抑制劑、HER4抑制劑、mTOR抑制劑及PI3激酶抑制劑組成之群。
15. 如請求項14之用途，其中該另一治療劑為：HER1抑制劑，其選自由馬妥珠單抗(EMD72000)、Erbix®/西妥昔單抗、Vectibix®/帕尼單抗、mAb 806、尼妥珠單抗、Iressa®/吉非替尼、CI-1033 (PD183805)、拉帕替尼(GW-572016)、Tykerb®/二甲苯磺酸拉帕替尼、Tarceva®/鹽酸厄羅替尼(OSI-774)、PKI-166及Tovok®組成之群；HER2抑制劑，其選自由帕妥珠單抗、曲妥珠單抗、MM-111、來那替尼、拉帕替尼或二甲苯磺酸拉帕替尼/Tykerb®組成之群；HER3抑制劑，其選自由MM-121、MM-111、IB4C3、2DID12 (U3 Pharma AG)、AMG888 (Amgen)、AV-203 (Aveo)、MEHD7945A (Genentech)、MOR10703 (Novartis)及抑制HER3之小分子組成之群；及HER4抑制劑。

16. 如請求項14之用途，其中該另一治療劑為mTOR抑制劑，選自由西羅莫司/Torisel®、雷達莫司/德佛莫司、AP23573、MK8669、依維莫司/Affinitor®組成之群。
17. 如請求項14之用途，其中該另一治療劑為PI3激酶抑制劑，選自由GDC 0941、BEZ235、BMK120及BYL719組成之群。
18. 一種抗體或其片段之用途，該抗體或其片段特異性結合於HER3受體，使得該抗體或其片段結合於包含該HER3受體之域2及域4內之胺基酸殘基的構形抗原決定基且阻斷配位體依賴性與非配位體依賴性信號傳導，其係用於製造供治療頭頸癌之藥劑。
19. 如請求項18之用途，其中該抗體或其片段藉由選自由經口、皮下、腹膜內、肌肉內、腦室內、實質內、鞘內、顱內、經頰、經黏膜、經鼻及經直腸投與組成之群之途徑投與。
20. 如請求項18之用途，其中該抗體或片段調配成包含生理學上可接受之載劑、賦形劑或稀釋劑的醫藥組合物。
21. 如請求項20之用途，其中該醫藥組合物進一步包含另一治療劑。
22. 如請求項21之用途，其中該另一治療劑係選自由HER1抑制劑、HER2抑制劑、HER3抑制劑、HER4抑制劑、mTOR抑制劑及PI3激酶抑制劑組成之群。
23. 如請求項22之用途，其中該另一治療劑為：HER1抑制劑，其選自由馬妥珠單抗(EMD72000)、Erbitux®/西妥

昔單抗、Vectibix®/帕尼單抗、mAb 806、尼妥珠單抗、Iressa®/吉非替尼、CI-1033 (PD183805)、拉帕替尼 (GW-572016)、Tykerb®/二甲苯磺酸拉帕替尼、Tarceva®/鹽酸厄羅替尼 (OSI-774)、PKI-166及Tovok®組成之群；HER2抑制劑，其選自由帕妥珠單抗、曲妥珠單抗、MM-111、來那替尼、拉帕替尼或二甲苯磺酸拉帕替尼/Tykerb®組成之群；HER3抑制劑，其選自由MM-121、MM-111、IB4C3、2DID12 (U3 Pharma AG)、AMG888 (Amgen)、AV-203 (Aveo)、MEHD7945A (Genentech)、MOR10703 (Novartis)及抑制HER3之小分子組成之群；及HER4抑制劑。

24. 如請求項22之用途，其中該另一治療劑為mTOR抑制劑，選自由西羅莫司/Torisel®、雷達莫司/德佛莫司、AP23573、MK8669、依維莫司/Affinitor®組成之群。
25. 如請求項22之用途，其中該另一治療劑為PI3激酶抑制劑，選自由GDC 0941、BEZ235、BMK120及BYL719組成之群。
26. 一種抗體或其片段之用途，該抗體或其片段特異性結合於HER3受體，使得該抗體或其片段結合於包含該HER3受體之域2及域4內之胺基酸殘基的構形抗原決定基且阻斷配位體依賴性與非配位體依賴性信號傳導，其係用於製造供治療良性前列腺增生(BPH)之藥劑。
27. 如請求項26之用途，其中該抗體或其片段藉由選自由經口、皮下、腹膜內、肌肉內、腦室內、實質內、鞘內、

顱內、經頰、經黏膜、經鼻及經直腸投與組成之群之途徑投與。

28. 如請求項26之用途，其中該抗體或片段調配成包含生理學上可接受之載劑、賦形劑或稀釋劑的醫藥組合物。
29. 如請求項28之用途，其中該醫藥組合物進一步包含另一治療劑。
30. 如請求項29之用途，其中該另一治療劑係選自由HER1抑制劑、HER2抑制劑、HER3抑制劑、HER4抑制劑、mTOR抑制劑及PI3激酶抑制劑組成之群。
31. 如請求項30之用途，其中該另一治療劑為：HER1抑制劑，其選自由馬妥珠單抗(EMD72000)、Erbix®/西妥昔單抗、Vectibix®/帕尼單抗、mAb 806、尼妥珠單抗、Iressa®/吉非替尼、CI-1033 (PD183805)、拉帕替尼(GW-572016)、Tykerb®/二甲苯磺酸拉帕替尼、Tarceva®/鹽酸厄羅替尼(OSI-774)、PKI-166及Tovok®組成之群；HER2抑制劑，其選自由帕妥珠單抗、曲妥珠單抗、MM-111、來那替尼、拉帕替尼或二甲苯磺酸拉帕替尼/Tykerb®組成之群；HER3抑制劑，其選自由MM-121、MM-111、IB4C3、2DID12 (U3 Pharma AG)、AMG888 (Amgen)、AV-203 (Aveo)、MEHD7945A (Genentech)、MOR10703 (Novartis)及抑制HER3之小分子組成之群；及HER4抑制劑。
32. 如請求項30之用途，其中該另一治療劑為mTOR抑制劑，選自由西羅莫司/Torisel®、雷達莫司/德佛莫司、

AP23573、MK8669、依維莫司/Affinitor®組成之群。

33. 如請求項30之用途，其中該另一治療劑為PI3激酶抑制劑，選自由GDC 0941、BEZ235、BMK120及BYL719組成之群。
34. 一種抗體或其片段之用途，該抗體或其片段特異性結合於HER3受體，使得該抗體或其片段結合於包含該HER3受體之域2及域4內之胺基酸殘基的構形抗原決定基且阻斷配位體依賴性與非配位體依賴性信號傳導，其係用於製造供治療男子女乳症之藥劑。
35. 如請求項34之用途，其中該抗體或其片段藉由選自由經口、皮下、腹膜內、肌肉內、腦室內、實質內、鞘內、顱內、經頰、經黏膜、經鼻及經直腸投與組成之群之途徑投與。
36. 如請求項34之用途，其中該抗體或片段調配成包含生理學上可接受之載劑、賦形劑或稀釋劑的醫藥組合物。
37. 如請求項36之用途，其中該醫藥組合物進一步包含另一治療劑。
38. 如請求項37之用途，其中該另一治療劑係選自由HER1抑制劑、HER2抑制劑、HER3抑制劑、HER4抑制劑、mTOR抑制劑及PI3激酶抑制劑組成之群。
39. 如請求項38之用途，其中該另一治療劑為：HER1抑制劑，其選自由馬妥珠單抗(EMD72000)、Erbix®/西妥昔單抗、Vectibix®/帕尼單抗、mAb 806、尼妥珠單抗、Iressa®/吉非替尼、CI-1033 (PD183805)、拉帕替尼

(GW-572016)、Tykerb®/二甲苯磺酸拉帕替尼、Tarceva®/鹽酸厄羅替尼(OSI-774)、PKI-166及Tovok®組成之群；HER2抑制劑，其選自由帕妥珠單抗、曲妥珠單抗、MM-111、來那替尼、拉帕替尼或二甲苯磺酸拉帕替尼/Tykerb®組成之群；HER3抑制劑，其選自由MM-121、MM-111、IB4C3、2DID12 (U3 Pharma AG)、AMG888 (Amgen)、AV-203 (Aveo)、MEHD7945A (Genentech)、MOR10703 (Novartis)及抑制HER3之小分子組成之群；及HER4抑制劑。

40. 如請求項38之用途，其中該另一治療劑為mTOR抑制劑，選自由西羅莫司/Torisel®、雷達莫司/德佛莫司、AP23573、MK8669、依維莫司/Affinitor®組成之群。
41. 如請求項38之用途，其中該另一治療劑為PI3激酶抑制劑，選自由GDC 0941、BEZ235、BMK120及BYL719組成之群。
42. 一種抗體或其片段之用途，該抗體或其片段特異性結合於HER3受體，使得該抗體或其片段結合於包含該HER3受體之域2及域4內之胺基酸殘基的構形抗原決定基且阻斷配位體依賴性與非配位體依賴性信號傳導，其係用於製造供治療子宮內膜異位之藥劑。
43. 如請求項42之用途，其中該抗體或其片段藉由選自由經口、皮下、腹膜內、肌肉內、腦室內、實質內、鞘內、顱內、經頰、經黏膜、經鼻及經直腸投與組成之群之途徑投與。

44. 如請求項42之用途，其中該抗體或片段調配成包含生理學上可接受之載劑、賦形劑或稀釋劑的醫藥組合物。
45. 如請求項44之用途，其中該醫藥組合物進一步包含另一治療劑。
46. 如請求項45之用途，其中該另一治療劑係選自由HER1抑制劑、HER2抑制劑、HER3抑制劑、HER4抑制劑、mTOR抑制劑及PI3激酶抑制劑組成之群。
47. 如請求項46之用途，其中該另一治療劑為：HER1抑制劑，其選自由馬妥珠單抗(EMD72000)、Erbix®/西妥昔單抗、Vectibix®/帕尼單抗、mAb 806、尼妥珠單抗、Iressa®/吉非替尼、CI-1033 (PD183805)、拉帕替尼(GW-572016)、Tykerb®/二甲苯磺酸拉帕替尼、Tarceva®/鹽酸厄羅替尼(OSI-774)、PKI-166及Tovok®組成之群；HER2抑制劑，其選自由帕妥珠單抗、曲妥珠單抗、MM-111、來那替尼、拉帕替尼或二甲苯磺酸拉帕替尼/Tykerb®組成之群；HER3抑制劑，其選自由MM-121、MM-111、IB4C3、2DID12 (U3 Pharma AG)、AMG888 (Amgen)、AV-203 (Aveo)、MEHD7945A (Genentech)、MOR10703 (Novartis)及抑制HER3之小分子組成之群；及HER4抑制劑。
48. 如請求項46之用途，其中該另一治療劑為mTOR抑制劑，選自由西羅莫司/Torisel®、雷達莫司/德佛莫司、AP23573、MK8669、依維莫司/Affinitor®組成之群。
49. 如請求項46之用途，其中該另一治療劑為PI3激酶抑制

劑，選自由 GDC 0941、BEZ235、BMK120 及 BYL719 組成之群。

八、圖式：

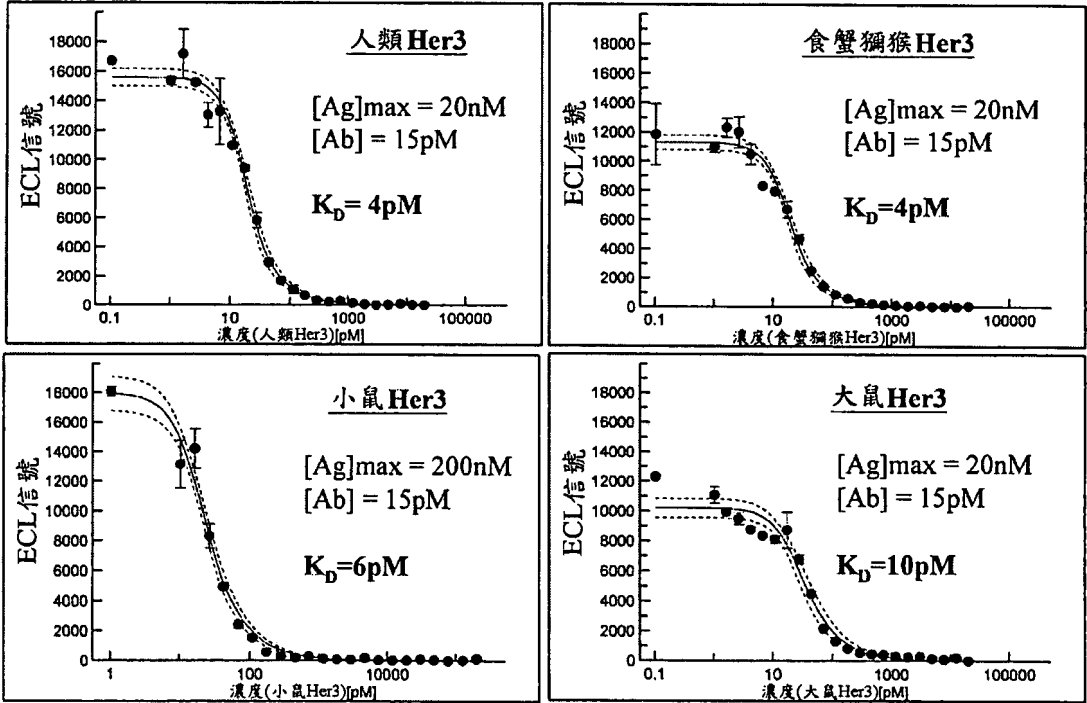


圖 1

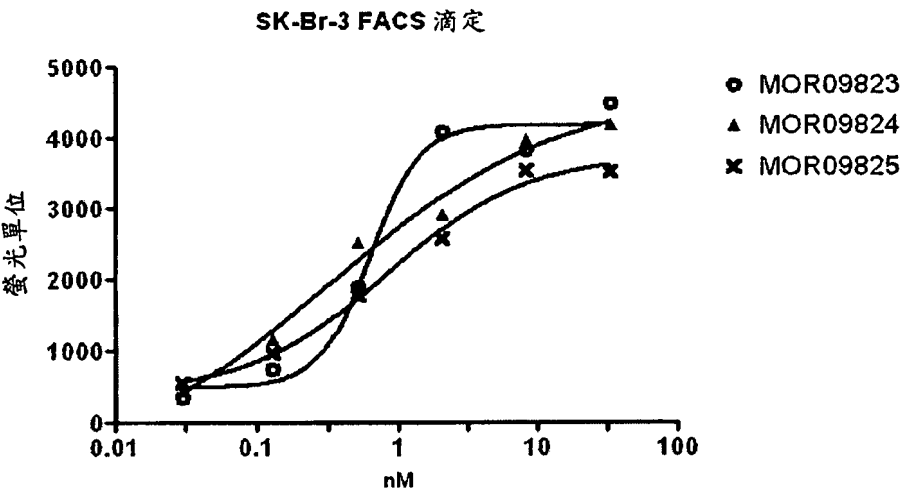


圖2

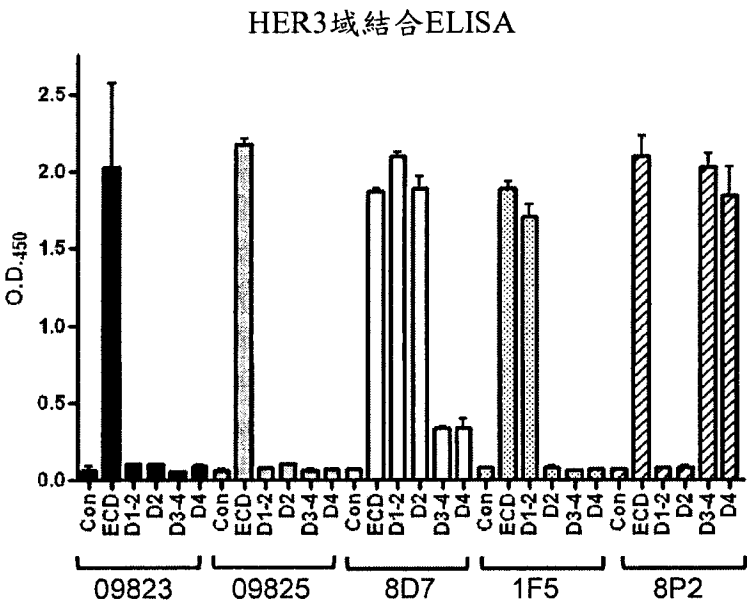


圖3

```

20 SEVGNSQAVC PGTNLGLSVT GDAENQYQTL YKLYERCEVV MGNLEIVLTG HNADLSFLOW IREVTGYVLV AMNEFSTLPL
-----
-----
-----
-----
-----
-----
-----
-----

100 PNLRVVRGTQ VYDGKFAIFV MLNNTINSSH ALRQLRLTQL TEILSGGVYI EKNDKLCHMD TIDWRDIVRD RDAEIVVKDN
-----
-----
-----
-----
-----
-----
-----
-----

180 GRSCPPCHEV CKGRCWGPS EDCQTLTKTI CAPQCNGHCF GPNNPQCCHD ECAGGCSGPQ DTDCFACRHF NDSBACVPRC
-----
-----
-----
-----
-----
-----
-----
-----

260 PQPLVYNKLT FQLEPNPHTK YQYGGVCVAS CPHNFVVDQT SCVRACPPDK MEVDKNGLM CEPCGGLCPK ACEGTSGSGR
-----
-----
-----
-----
-----
-----
-----
-----

340 FQTVDSNID GFVNCTKILG NLDPLITGLN GDPWHKIPAL DPEKLNVRT VREITGYLNI QSWPPHMFNF SVFSNLITIG
-----
-----
-----
-----
-----
-----
-----
-----

420 GRSLYNRGFS LLIMKNINVT SLGFRSLKEI SAGRIYISAN RQLCYHHSIN WIKVLRGPTE ERLDIKHNRP RRDCVAEGKV
-----
-----
-----
-----
-----
-----
-----
-----

500 CDPLCSSGGC WGPFGQCCLS CRNYSRGGVC VTHCNFLNGE PREFAEAEAC FSCHPECQPM EGTATQNGSG SDTCAQCAHF
-----
-----
-----
-----
-----
-----
-----
-----

580 RDGPHCVSSC PHGVLGAKGP IYKYPDVQNE CRPCHNCTQ GCKGPELQDC LGQTLVLIGK TEFRHDS
-----
-----
-----
-----
-----
-----
-----
-----

```

圖 4A

[HER3:Fab] 對比HER3之 ΔD

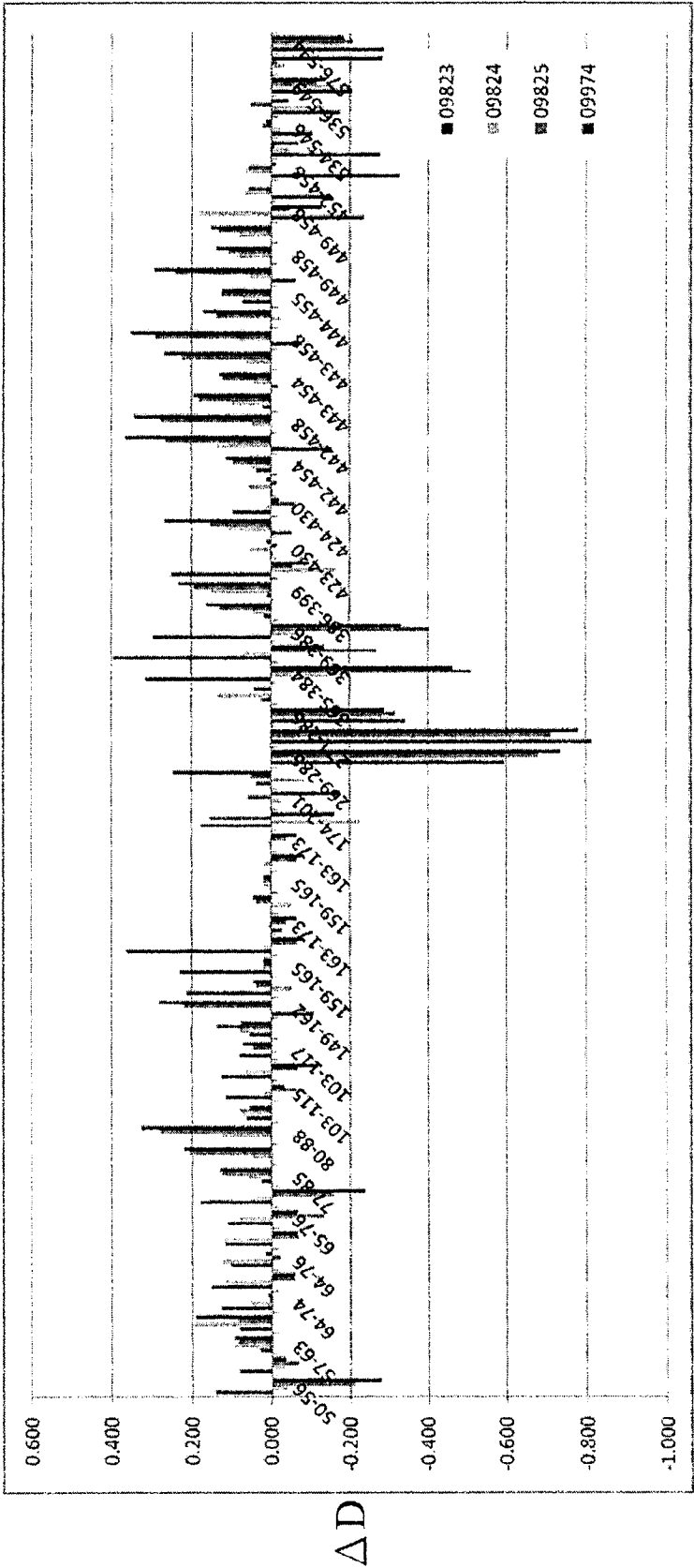


圖 4B

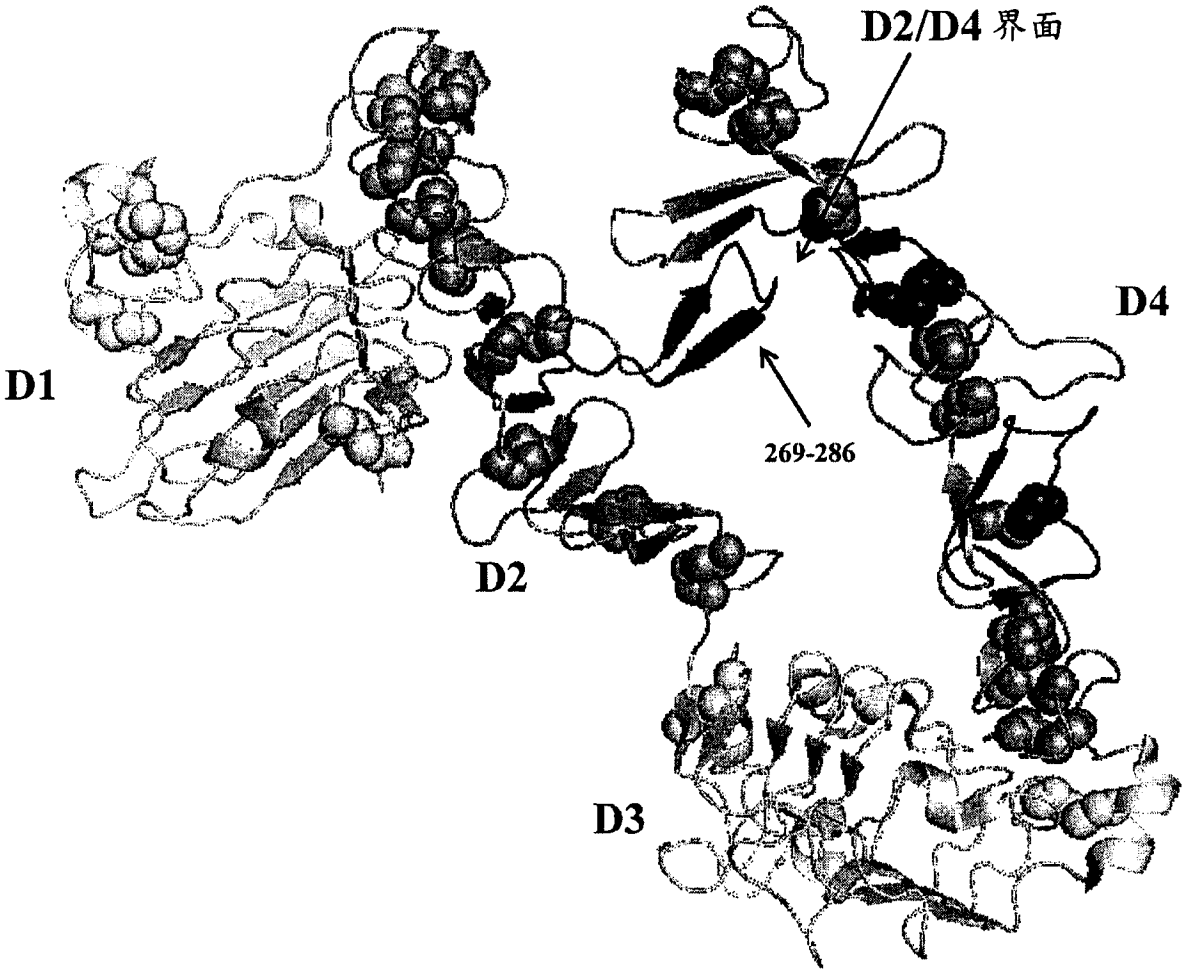


圖 4C

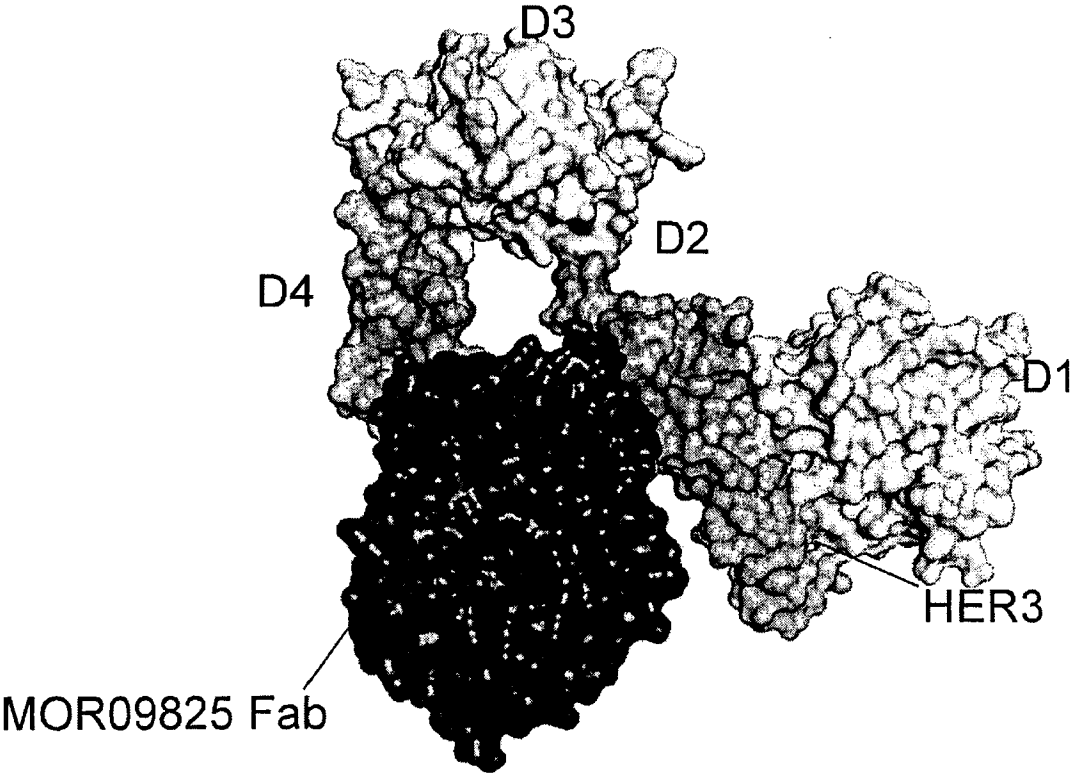
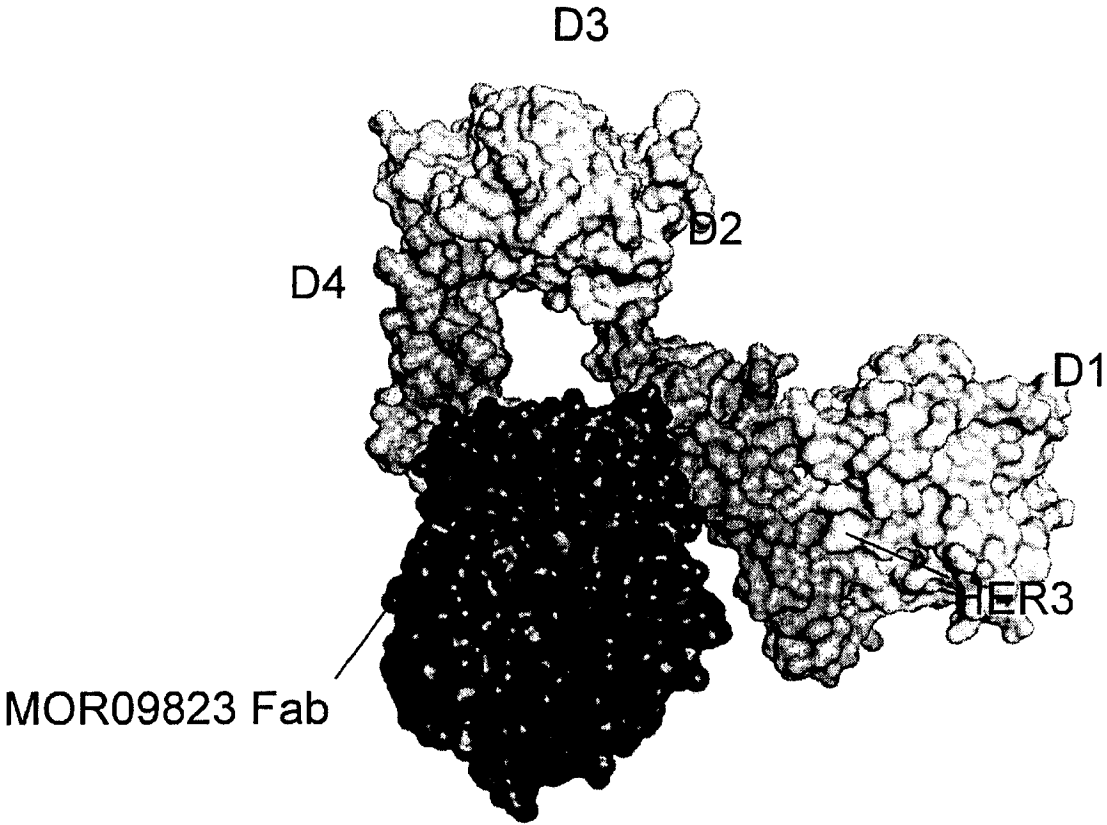


圖 5A

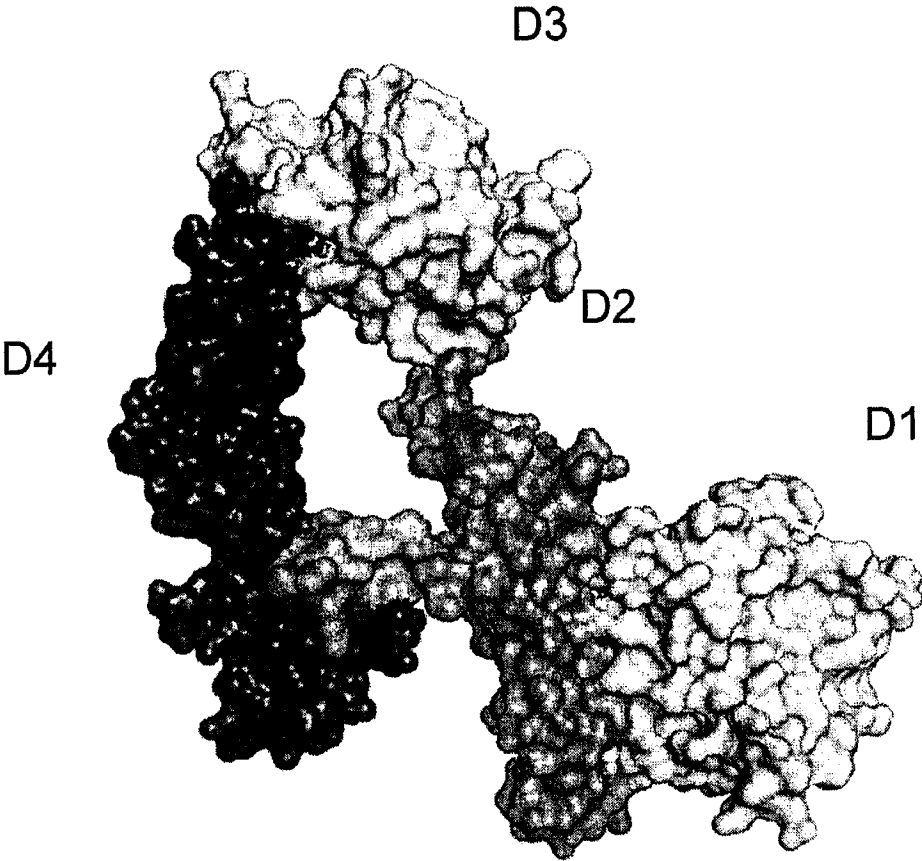


圖5B

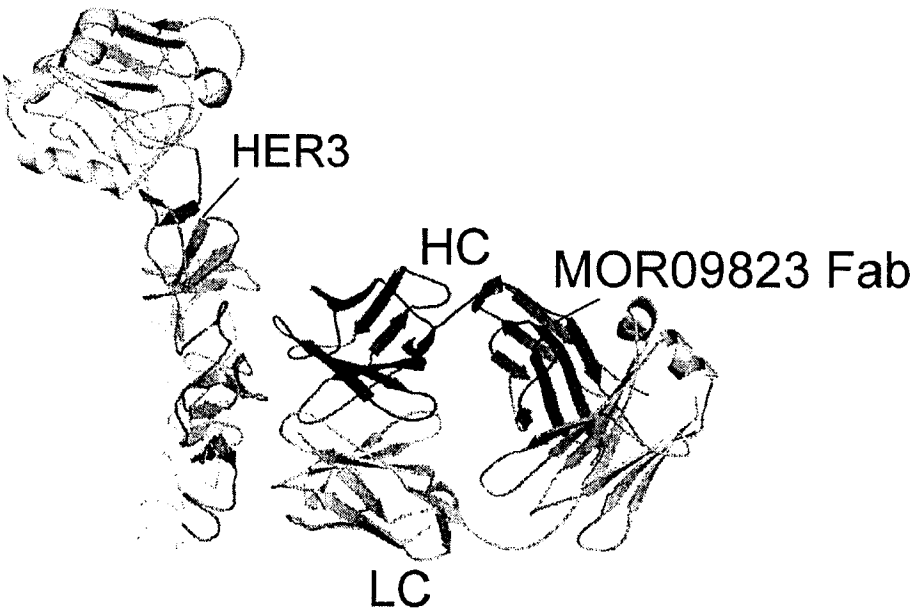


圖 5C

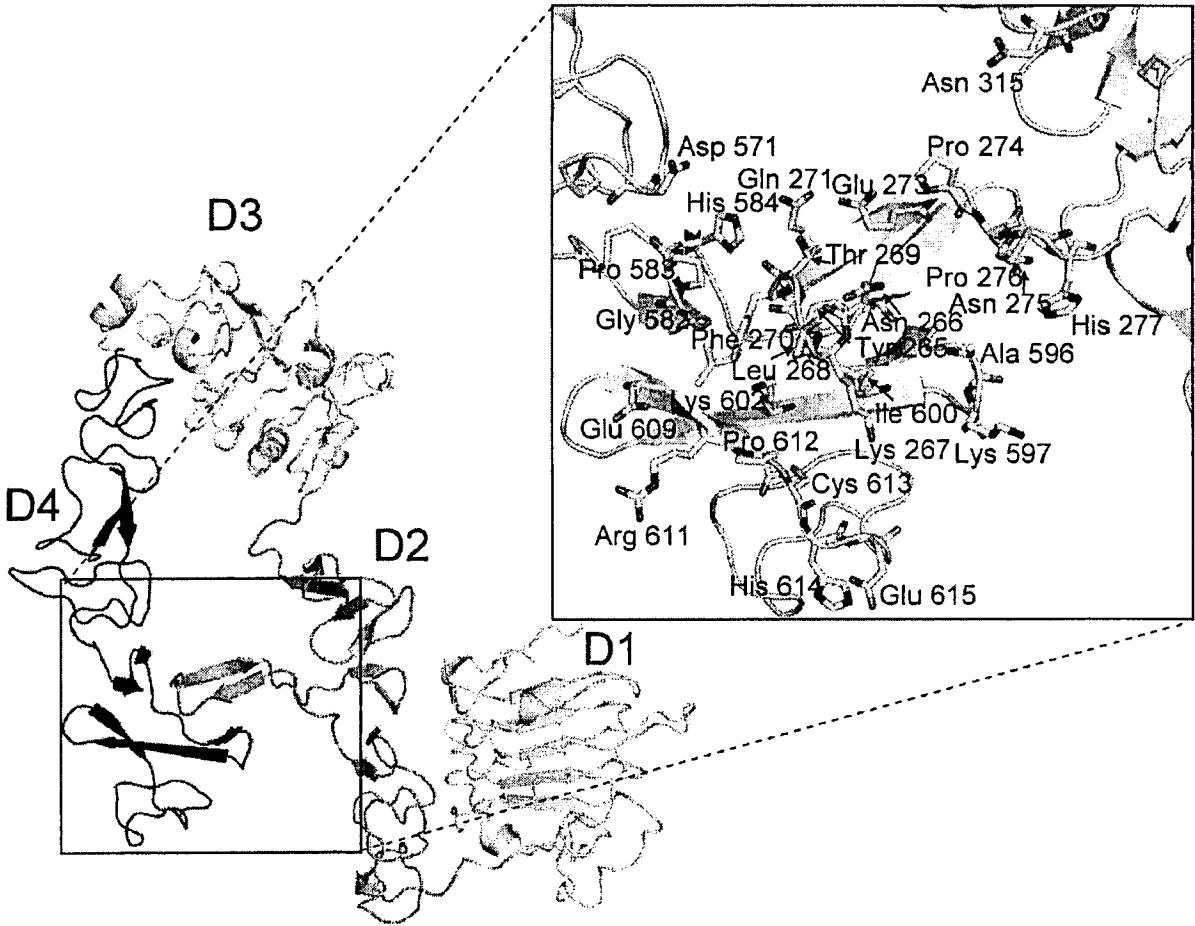


圖 5D

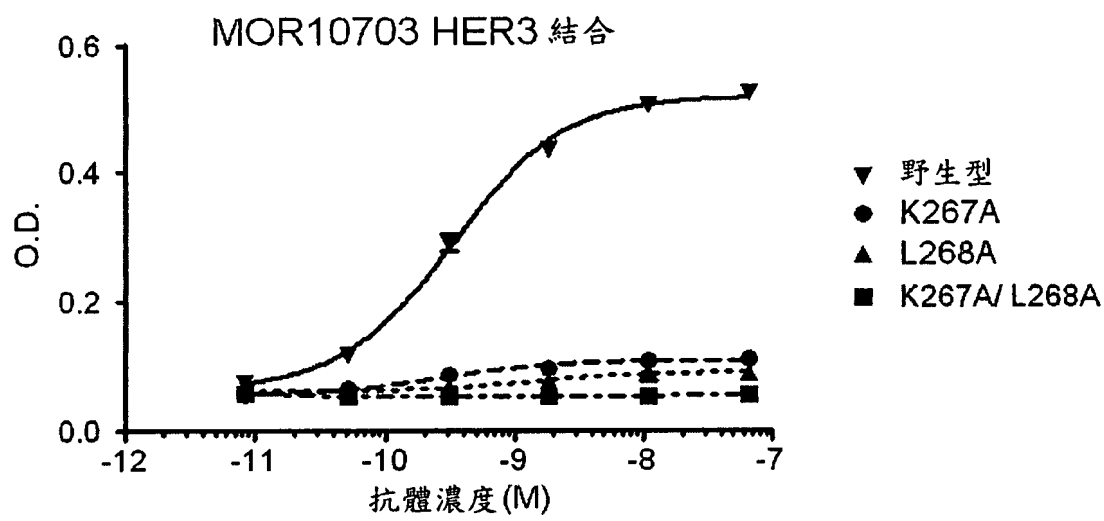


圖5E

經刺激之MCF7細胞中HER3磷酸化之抑制

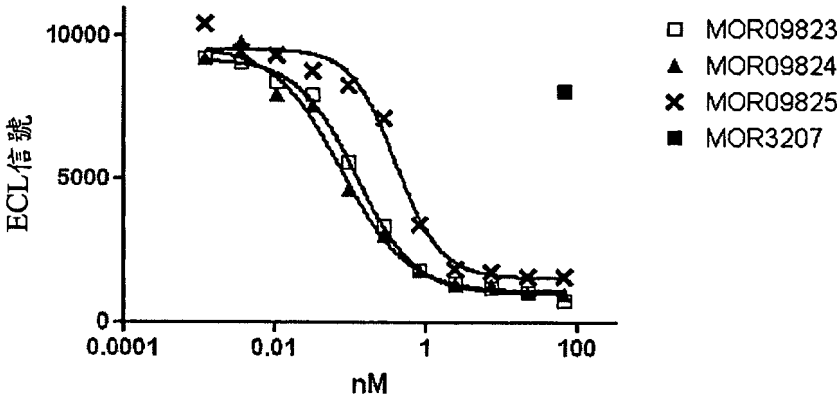


圖 6A

SKBR3細胞中HER3磷酸化之抑制

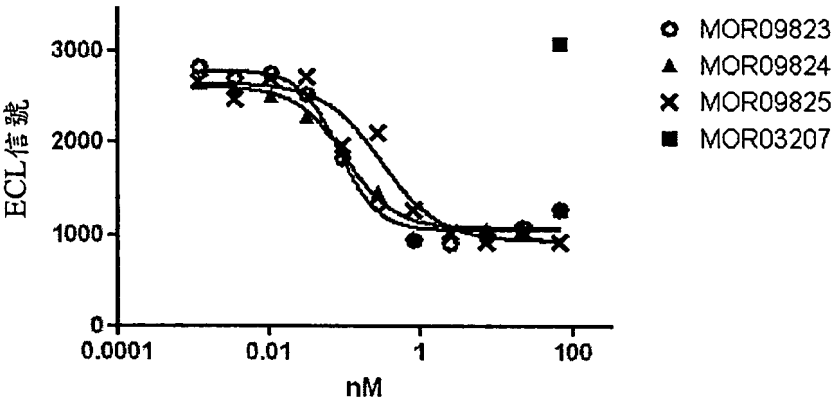


圖 6B

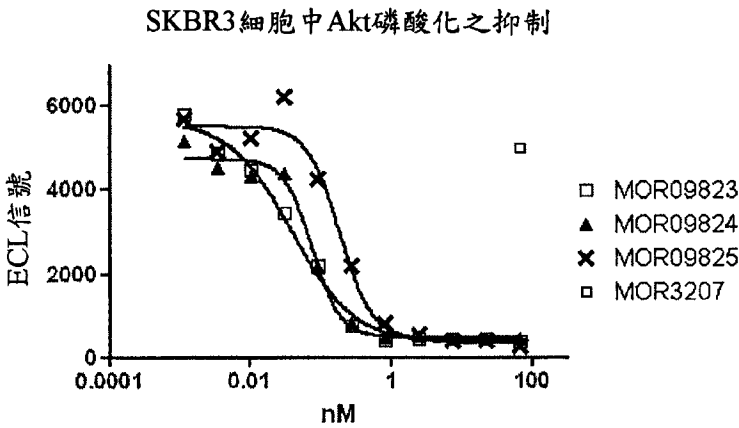


圖 7A

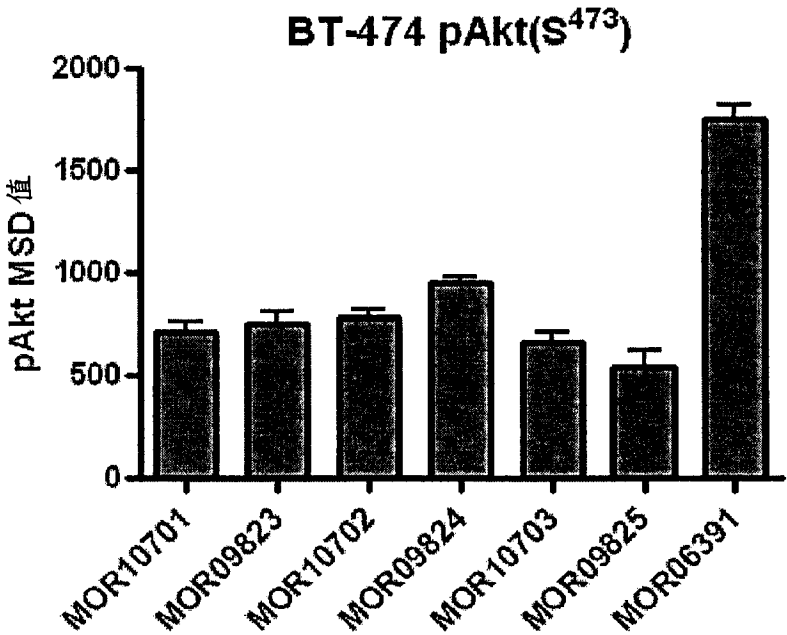


圖 7B

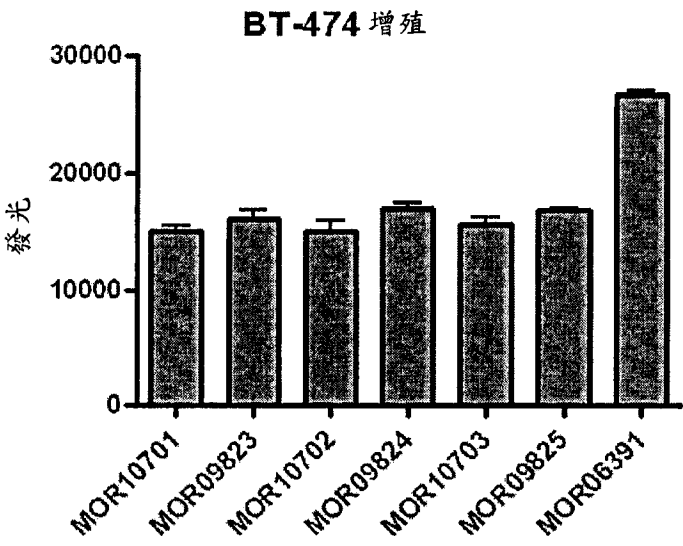


圖 8A

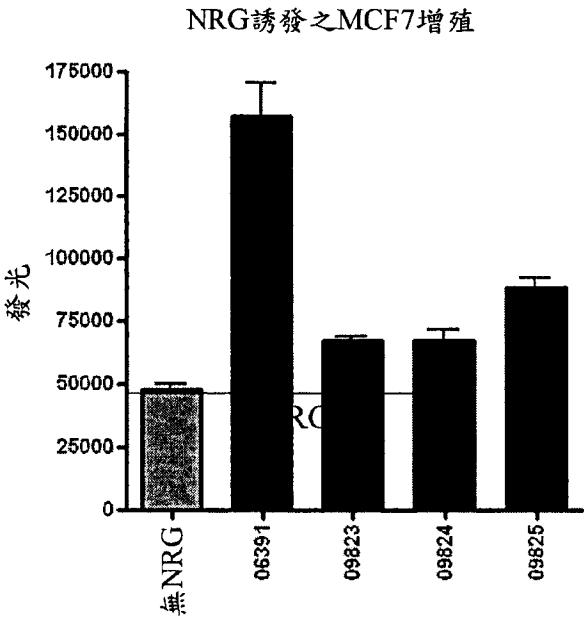


圖 8B

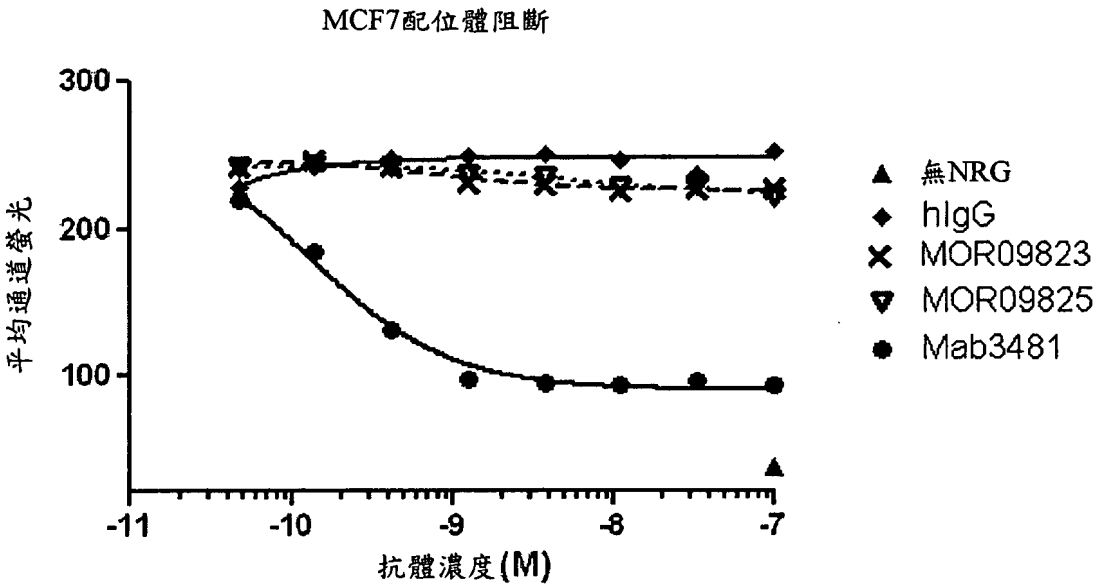


圖9

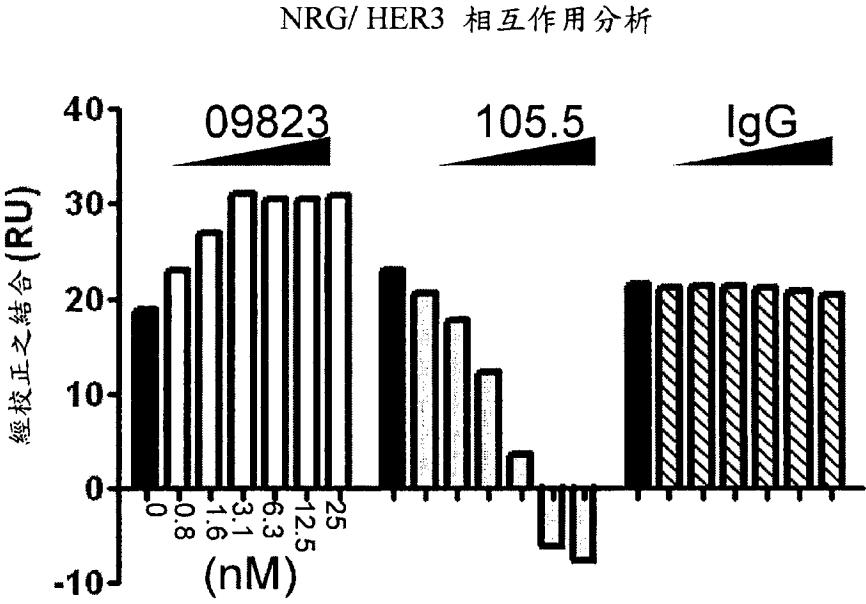


圖 10

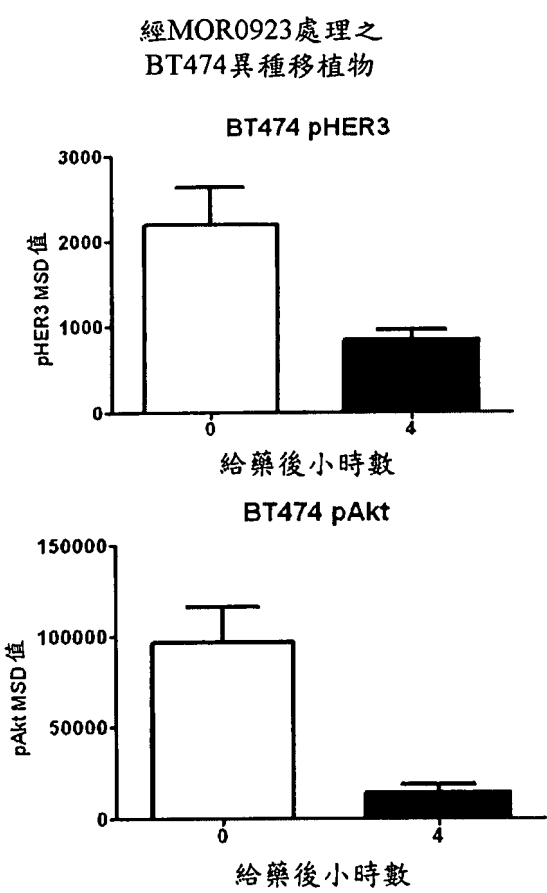


圖11A

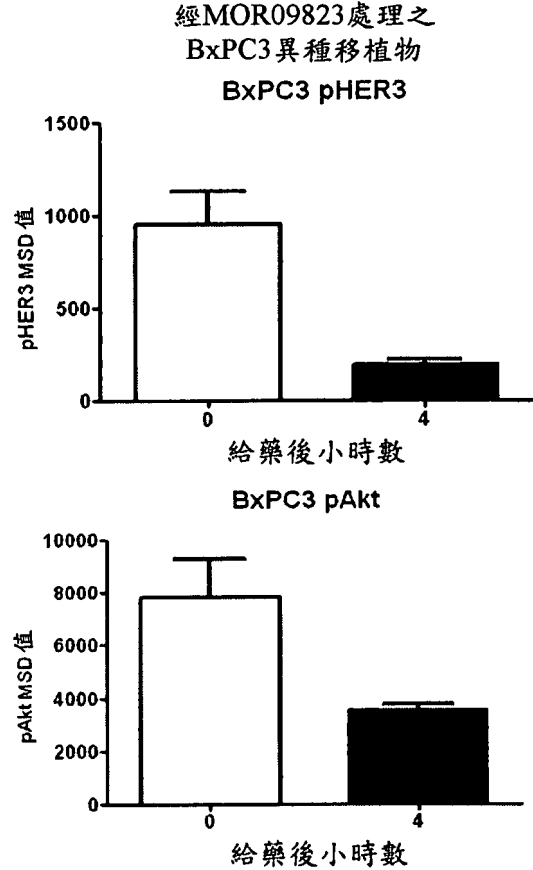


圖11B

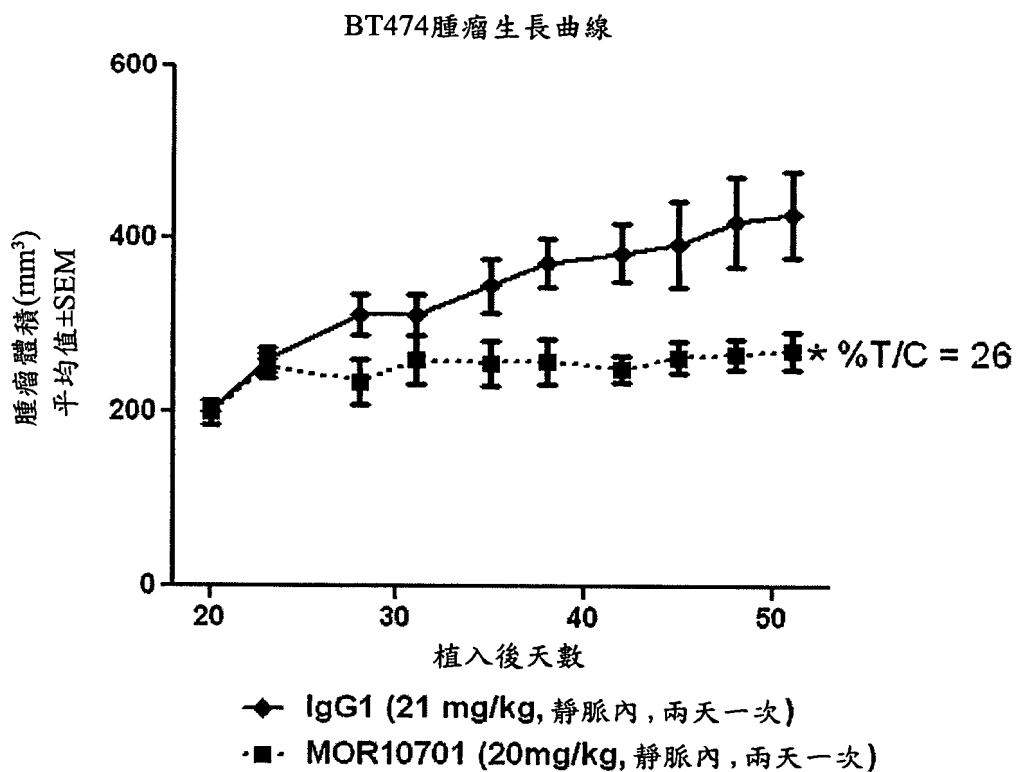


圖12A

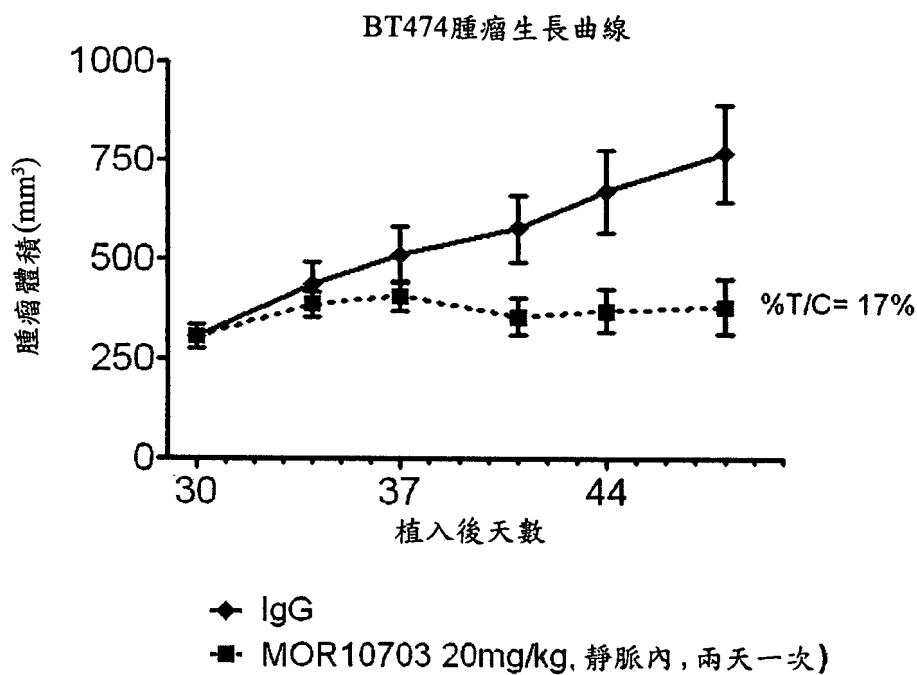


圖12B

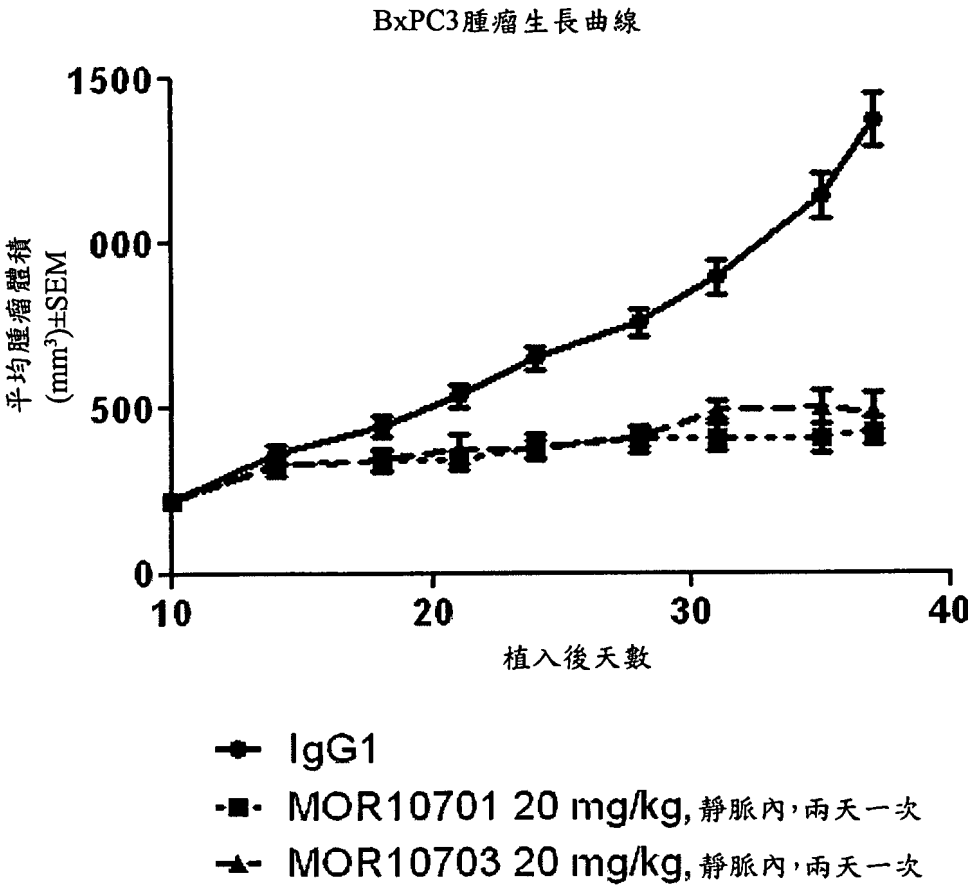


圖13

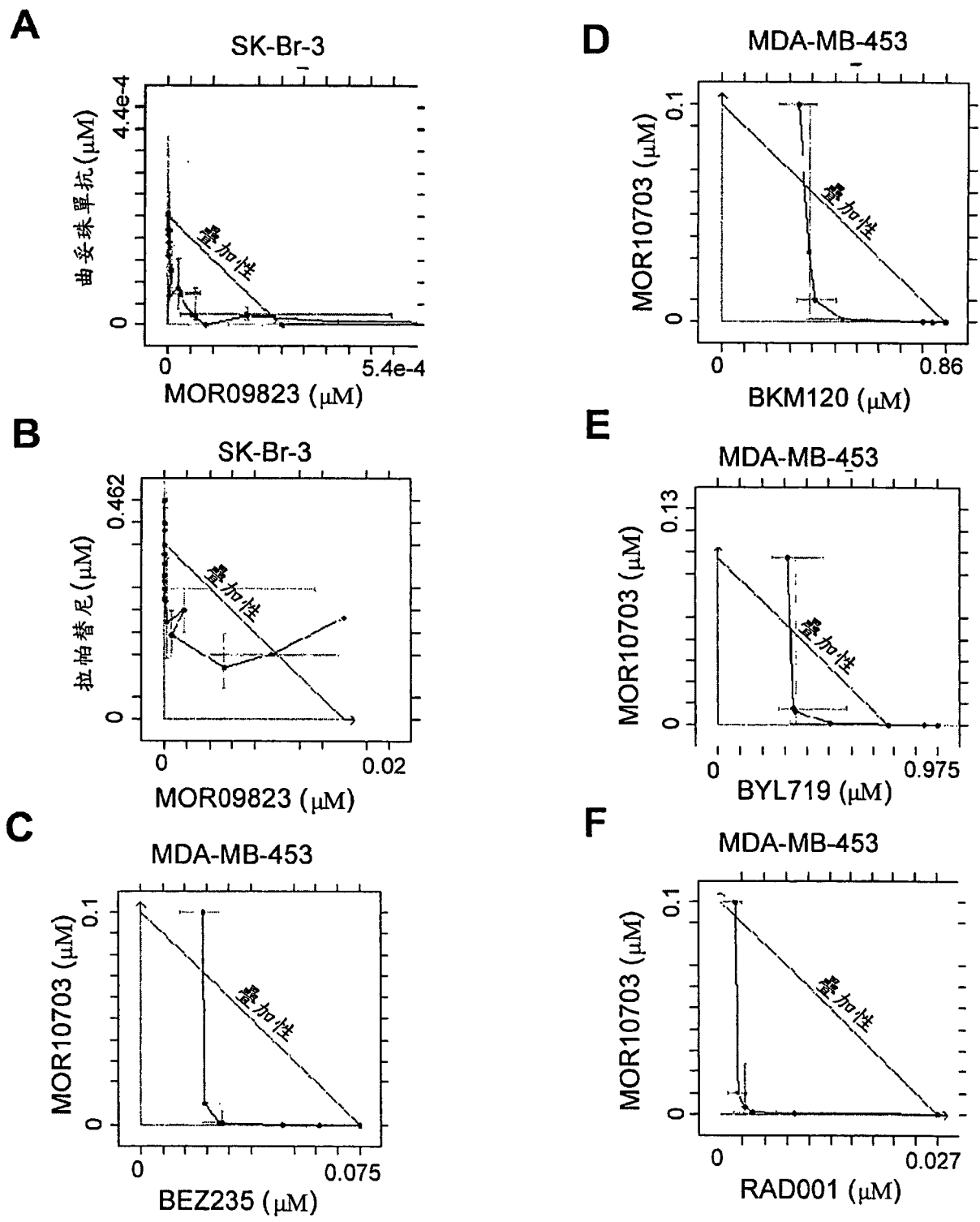
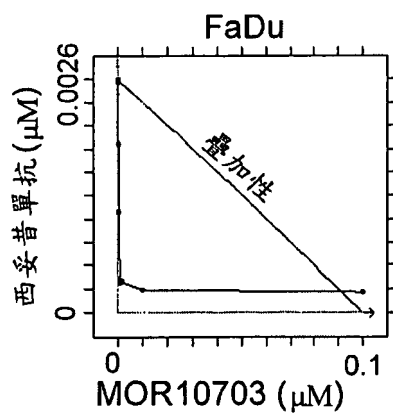


圖14

G



H

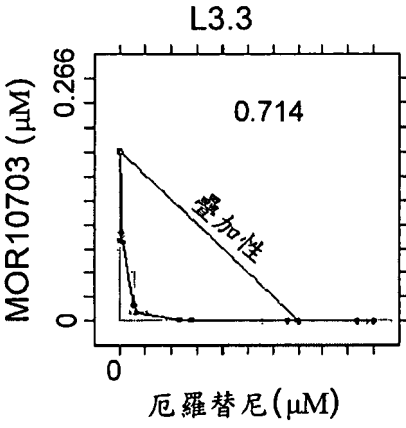


圖14(續)

BT474 腫瘤生長曲線

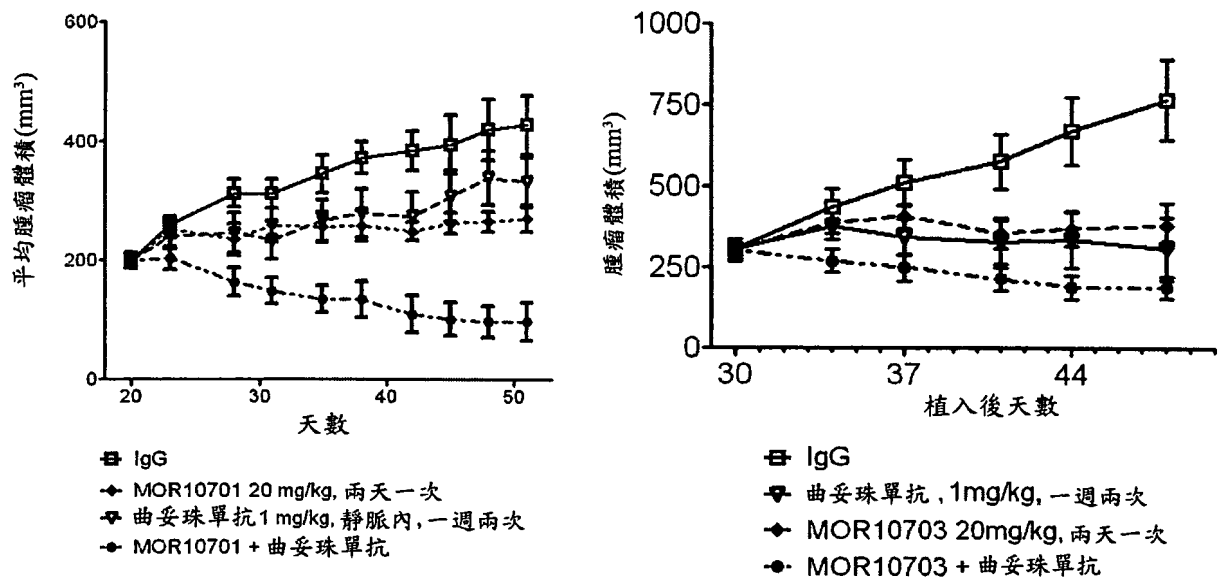


圖15A

L3.3 腫瘤生長曲線

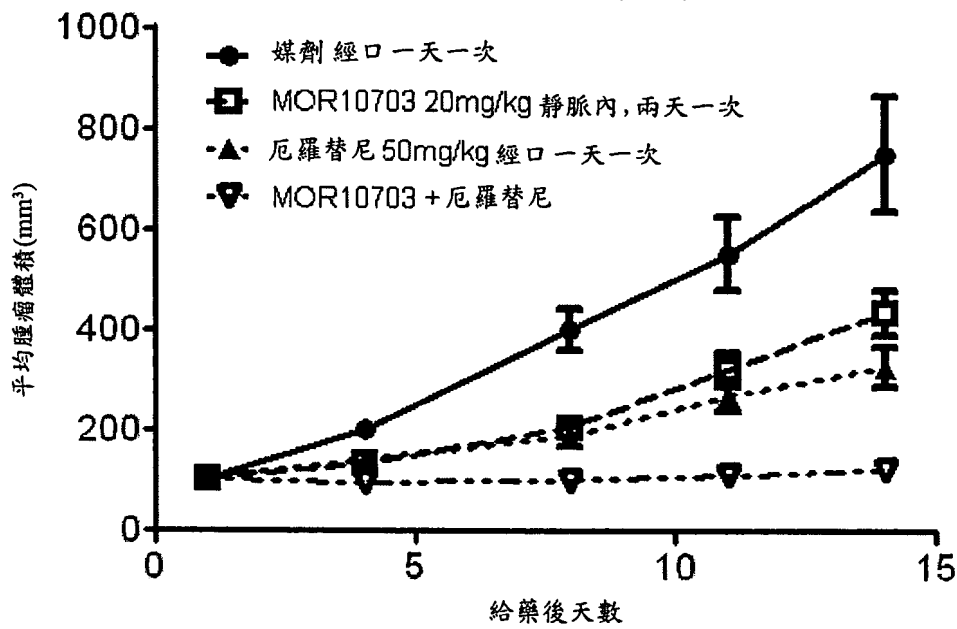


圖15B

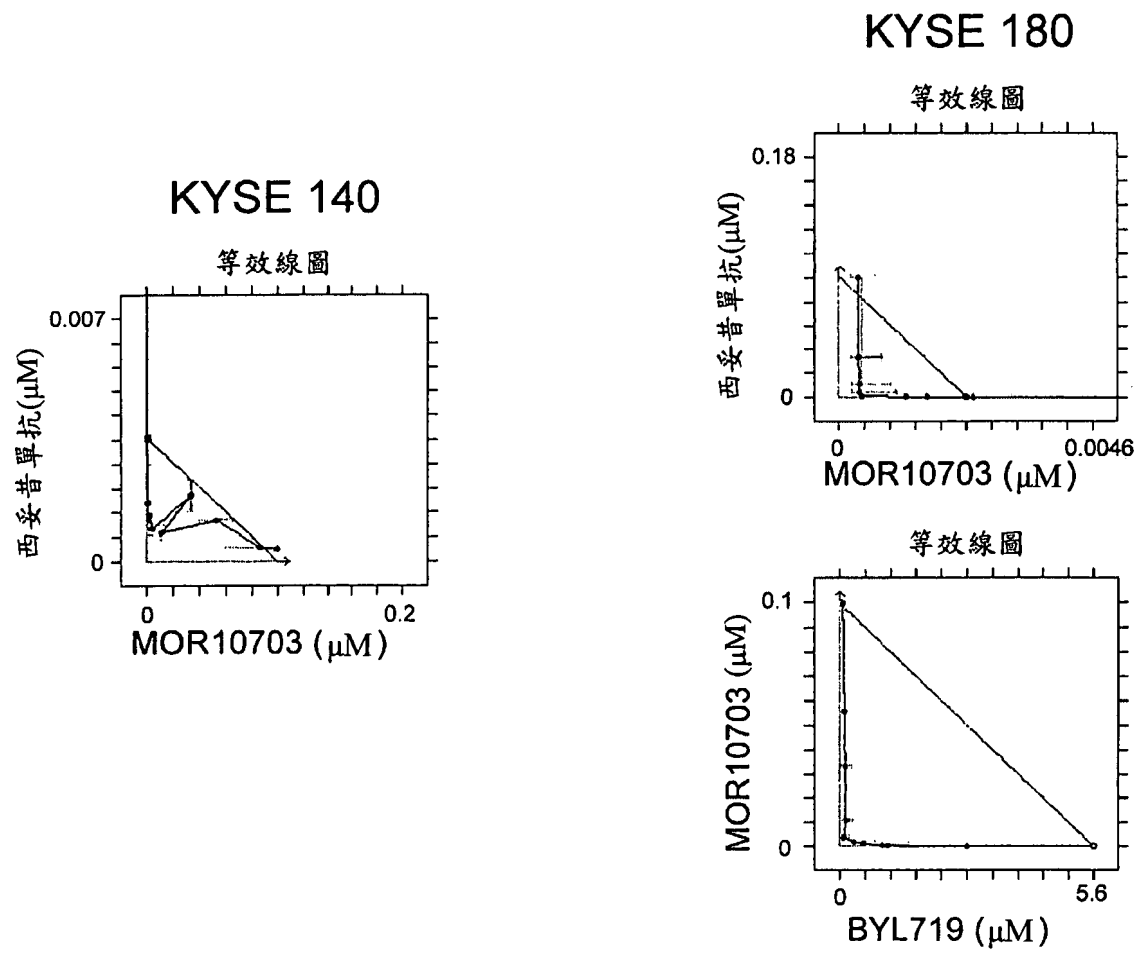


圖16

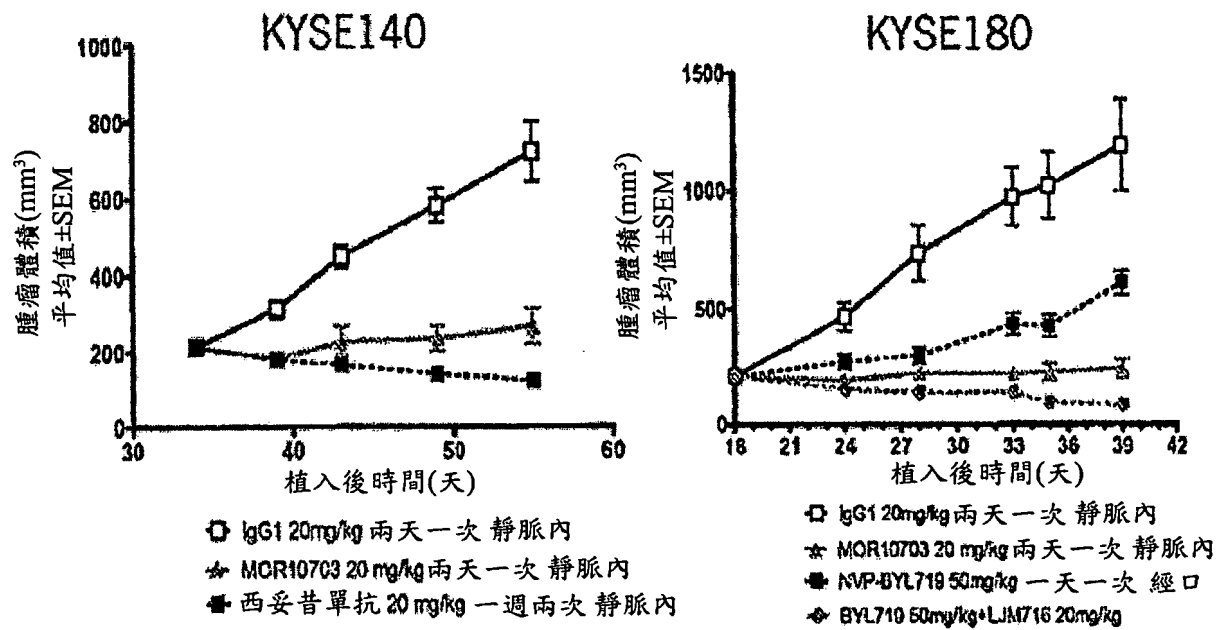


圖17

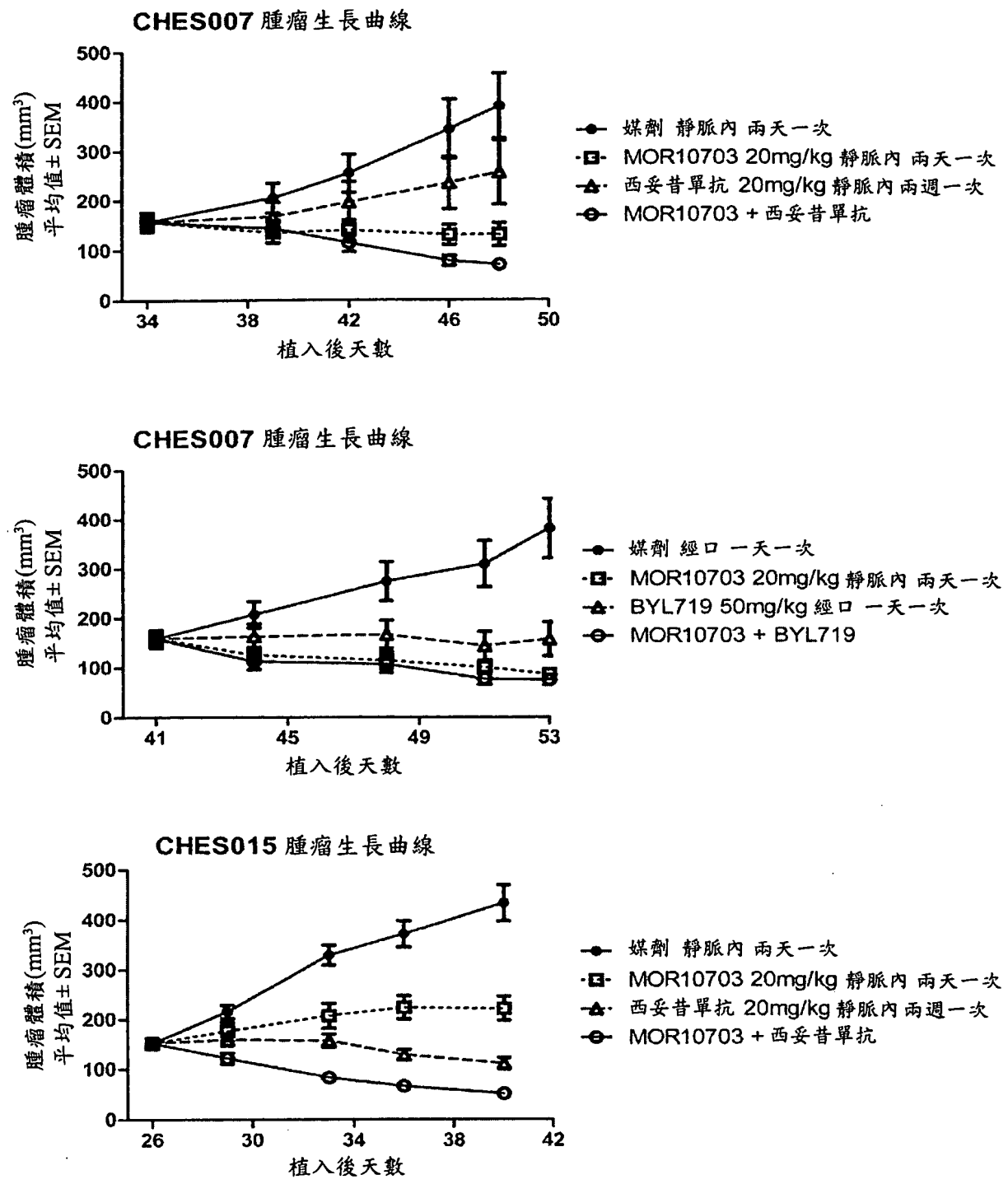


圖18

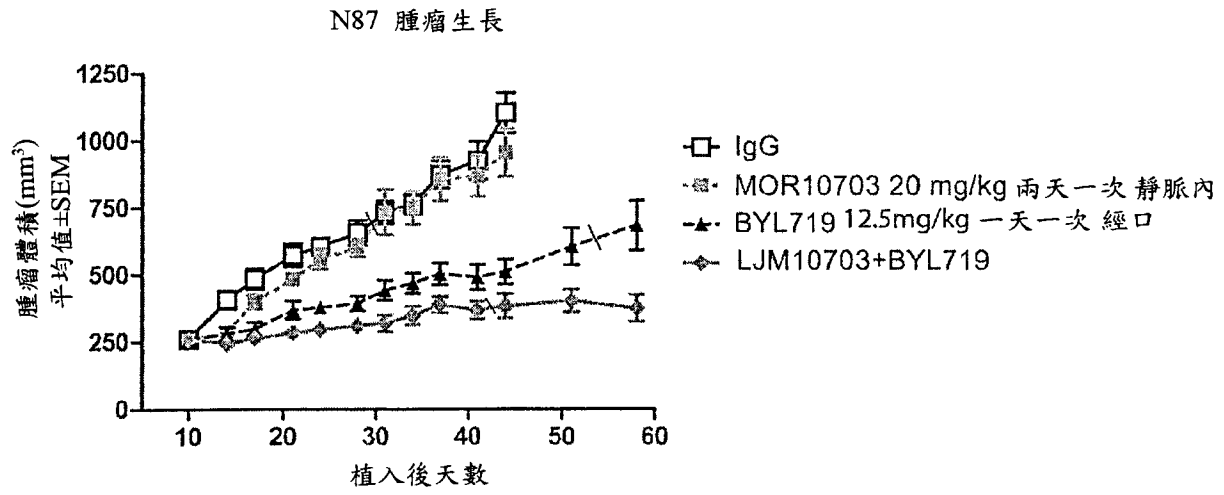


圖19

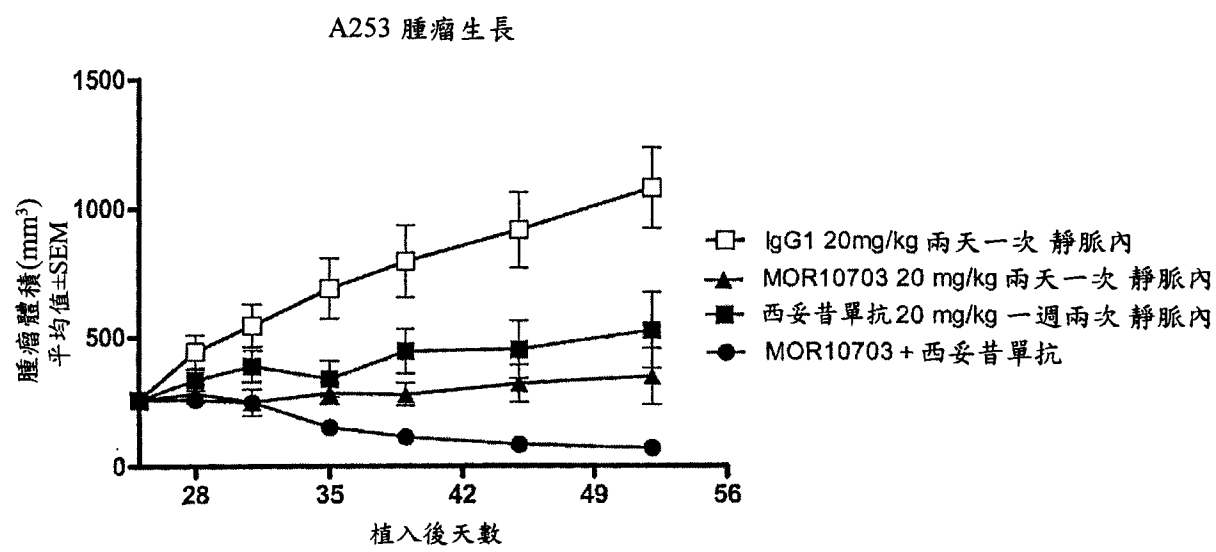


圖20

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第 (1) 圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

(無元件符號說明)

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

(無)